



نشریه علمی پژوهشهای علوم دامی ایران

جلد ۱۷ شماره ۱
سال ۱۴۰۴

شماره پیاپی: ۶۱
شاپا ۳۱۰۶-۲۰۰۸

(شماره پیاپی: ۶۱)

عنوان مقالات

تغذیه نشخوار کنندگان

اثر عمل آوری شیمیایی همزمان با فرآوری فیزیکی دانه جو (*Hordeum vulgare*) بر تولید و فراسنجه‌های تخمیر در

شکمبه گاوهای شیرده هلشتاین..... ۳

امیر هنرمند، سید علیرضا وکیلی، محسن دانش مسگران، عبدالمنصور طهماسبی

تأثیر غنی‌سازی شیر با مکمل متکنز به شکل‌های آلی و معدنی بر عملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی

و رفتار مصرف گوساله‌های شیرخوار..... ۲۳

آیدا تیموری، عبدالحکیم توغدری، تقی قورچی، محمد اسدی

اثرات تغذیه سین‌بیوتیک دی پرو پلاس بر عملکرد رشد، وضعیت سلامت، شاخص‌های اسکلتی و فراسنجه‌های خونی

در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین..... ۳۷

وحید واحدی، محراب همد، طاهر یلچی، صیاد سیف زاده

تغذیه طیور

مطالعه تأثیر منبع و سطح عناصر روی، مس، متکنز و آهن بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و ویژگی‌های استخوان

درشت‌نی مرغ گوشتی در دو دوره رشد و پایداری..... ۵۱

علی طیبی پور، رضا مجیدزاده هروی، حسن کرمانشاهی

اثرات پروبیوتیک تجاری بر صفات اسپرم، ریخت‌شناسی روده، جمعیت میکروبی روده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی

خروس‌های مادر گوشتی راس ۳۰۸ در سن ۶۵ هفتگی..... ۶۵

آرش هادوی، فاروق کارگر، نجیب اله فیاض، علی طیبی پور، محمد امین نمازی زادگان

بررسی اثرات پروبیوتیک بومی بر عملکرد، پاسخ ایمنی، ریخت‌شناسی و جمعیت لاکتوباسیلوسی روده جوجه‌های گوشتی..... ۷۹

رامین صیقلاتی، مریم رویان، مجید متقی طلب، فاطمه زارع

کاهش حساسیت به آسمت در جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی با مکمل‌سازی اسید گوانیدینوآستیک..... ۹۵

موسی عزتی کیا، پرویز فرهمند، سینا پیوستگان، بهرام پیروزی، نگین دلفانی

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 ۱۷ شماره ۱ بهار ۱۴۰۴

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: دکتر حسن نصیری مقدم

سرمدبیر: دکتر رضا ولی زاده

اعضای هیئت تحریریه:

دکتر رضا ولی زاده	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر محسن دانش مسگران	استاد تغذیه نشخوارکنندگان	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر 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 خواجهلی	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 مکاری، 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 ۹۱۷۷۵-۱۱۶۳

نمابر: ۰۵۱-۳۸۷۸۷۴۳۰

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

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

این نشریه در پایگاه های زیر نمایه می شود:

DOAJ, CABI, Google Scholar, AGRIS, Internet Archive, Ebsco, Europub

پایگاه استنادی جهان اسلام (ISC)، بانک اطلاعات نشریات کشور (MAGIRAN)

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

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

صفحه	تغذیه نشخوارکنندگان
۳	اثر عمل آوری شیمیایی همزمان با فرآوری فیزیکی دانه جو (<i>Hordeum vulgare</i>) بر تولید و فراسنجه‌های تخمیر در شکمبه گاوه‌های شیرده هلستاین امیر هنرمند، سید علیرضا و کیلی، محسن دانش مسگران، عبدالمنصور طهماسبی
۲۳	تأثیر غنی‌سازی شیر با مکمل منگنز به شکل‌های آلی و معدنی بر عملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و رفتار مصرف گوساله‌های شیرخوار آیدا تیموری، عبدالحکیم توغدری، تقی قورچی، محمد اسدی
۳۷	اثرات تغذیه سین‌بیوتیک دی پرو پلاس بر عملکرد رشد، وضعیت سلامت، شاخص‌های اسکلتی و فراسنجه‌های خونی در گوساله - های شیرخوار هلستاین وحید واحدی، محراب همدم، طاهر یلچی، صیاد سیف زاده
	تغذیه طیور
۵۱	مطالعه تأثیر منبع و سطح عناصر روی، مس، منگنز و آهن بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و ویژگی‌های استخوان درشت‌نی مرغ‌گوشتی در دو دوره رشد و پایداری علی طیبی پور، رضا مجیدزاده هروی، حسن کرمانشاهی
۶۵	اثرات پروبیوتیک تجاری بر صفات اسپرم، ریخت‌شناسی روده، جمعیت میکروبی روده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی خروس‌های مادر گوشتی راس ۳۰۸ در سن ۶۵ هفتگی آرش هادوی، فاروق کارگر، نجیب‌اله فیاض، علی طیبی پور، محمد امین نمازی زادگان
۷۹	بررسی اثرات پروبیوتیک بومی بر عملکرد، پاسخ ایمنی، ریخت‌شناسی و جمعیت لاکتوباسیلوسی روده جوجه‌های گوشتی رامین صیقلانی، مریم رویان، مجید متقی طلب، فاطمه زارع
۹۵	کاهش حساسیت به آسیت در جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی با مکمل‌سازی اسید گوانیدینوآستیک موسی عزتی کیا، پرویز فرهمند، سینا پیوستگان، بهرام پیروز، نگین دلفانی



Effect of Chemical Processed Barley Grain (*Hordeum vulgare*) Through Steam Infrared Flaking on Productive and Parameters of Ruminal Fermentation in Holstein Lactating Cows

Amir Honarmand ¹, Alireza Vakili ^{2*}, Mohsen Danesh Mesgaran ², Abdolmansour Tahmasebi ²

1 and 2- Ph.D. Candidate and Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.

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

Received: 19-06-2024
Revised: 21-08-2024
Accepted: 15-09-2024
Available Online: 23-04-2025

How to cite this article:

Honarmand, A., Vakili, A., Danesh Mesgaran, M., & Tahmasebi, A. (2024). Effect of chemical processed barley grain through steam infrared flaking on productive and parameters of ruminal fermentation in Holstein lactating cows. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(1), 1-19. (in Persian with English abstract).
<http://doi.org/10.22067/IJASR.2024.88578.1206>

Introduction: Barley grain can provide energy and protein to lactating dairy cows; however, feeding high levels of barley grain may increase the risk of developing rumen disorders with extensive consequences for health, welfare and continuity of milk production. Various barley processing (chemically and physically) is critical to prevent ruminal acidosis, enhance digestion, nutrient utilization, and promote productivity. Steam-infrared heated-flaking is a physical-specific process and it impresses on starch gelatinization and protein denaturation which may modify both site and rate of digestion. Treating barley grain with lactic acid have been shown to alter the chemical composition and the nutritional value of treated grains. Barley grains ammuniton treatment increased nitrogen content, effective rumen degradable and intestinal digestibility of nitrogen. Plant extract through the selective effect on certain rumen bacteria and the attachment and pattern of their colonization of starchy grain such as barley grain may alter starch degradation.

Materials and Methods: To prepare *Acanthophyllum* (Ap) extract, 1 Kg of dried sample was solved in 5 liter distilled water and manually mixed for 48 h at 30 min hiatuses. Barley grains treated with 5% solution of *Acanthophyllum* or 5.6% ammonium bicarbonate, simultaneously treated with 1% lactic acid. Consequently, non-treated and chemically treated barley grain steamed for 50 min. Then, steam cooked grains were exposed under an infrared -heated for 55 seconds to attain surface kernel temperatures of 100°C. Finally, passed through the roller mill in a flaker machine and were flaked. Thus, experimental treatments were: 1) Steam- infrared heated -flaked of barley grain, 2) Steam- infrared heated -flaked of barley grain treated with extract of *Acanthophyllum* and lactic acid, 3) Steam- infrared heated -flaked of barley grain treated with ammonium bicarbonate and lactic acid. This experiment with a 3 × 3 Latin square design were conducted with three rumen-cannulated Holstein cows (average BW: 690± 13, DIM: 96± 9) in three 21-day periods. Productive responses and dry matter intake were evaluated during the last 4 d of each period. Blood sample was collected on day 21 of



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/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.2024.88578.1206>

the experimental period before the morning feeding and 2, 4 and 6 h after morning feeding to evaluate the concentration of serum glucose, albumin, total protein and blood urea nitrogen concentration. Acid insoluble ash as an internal marker was used to measure the apparent digestibility of nutrients. The ruminal pH and $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration were continuously measured.

Results and Discussion: Results illustrated that the experimental diets did not affect ($P > 0.05$) on DMI, milk production, FCM and ECM. Milk fat and lactose concentrate were higher in cows fed by the diet containing the steam- infrared heated -flaked of barley grain treated with extract of *Acanthophyllum* and lactic acid and/ or treated with ammonium bicarbonate and lactic acid treatments than the steam- infrared heated -flaked of barley grain treatment ($P < 0.05$). Milk total solid, protein and MUN concentrate were increased in response to fed the steam- infrared heated -flaked of barley grain treated with ammonium bicarbonate and lactic acid compared to the control ($P < 0.05$). Generally, serum BUN concentration was significantly affected by the chemical treating during 2, 4 and 6 h after the morning feeding ($P < 0.05$). The consuming of steam- infrared heated -flaked of barley grain treated with ammonium bicarbonate and lactic acid resulted in increased total blood protein concentration (at 6 h after the morning feeding) in the cows ($P < 0.05$). When the chemical treatment was used, the apparent digestibility of dietary DM, CP and starch was increased in the cows consuming these diets ($P < 0.05$). Ruminal pH and also redoex potential were not affected by treatments and sampling time ($P > 0.05$). In this study, data showed that cows fed the $\text{SIFB}_{\text{LaAb}}$ had greater ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration when compared with the other treatments ($p < 0.05$).

Conclusion: Feeding chemical treated barley grain with 5% extract of *Acanthophyllum* and/or 5.6% ammonium bicarbonate plus 1% lactic acid did not affect DMI and milk production in dairy cow, but improved the milk composition, with higher milk fat, lactose, protein and total solid. In animals fed chemicallym, treated barley grain the nutrient apparent digestibility, enhanced significantly. The MUN, BUN and ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration increased in cows fed the diet with $\text{SIFB}_{\text{LaAb}}$.

Keywords: *Acanthophyllum* extract, Ammonium bicarbonate, Lactic acid, Steam flake

اثر عمل‌آوری شیمیایی همزمان با فرآوری فیزیکی دانه جو (*Hordeum vulgare*) بر تولید و فراسنجه‌های تخمیر در شکمبه گاوهای شیرده هلشتاین

امیر هنرمند^۱، سید علیرضا وکیلی^{۲*}، محسن دانش مسگران^۲، عبدالمنصور طهماسبی^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۵

چکیده

هدف از این آزمایش، بررسی اثر عمل‌آوری شیمیایی دانه جو با عصاره آبی ریشه چوبک (*Acanthophyllum*)، بی‌کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک همراه با فرآوری فیزیکی بخارپز- امواج مادون قرمز- پولکی بر عملکرد تولیدی، فراسنجه‌های خونی، شکمبه‌ای و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در گاوهای شیرده بود. این آزمایش در قالب طرح مربع لاتین در سه دوره ۲۱ روزه (هفت روز تغییر جیره، ۱۰ روز عادت‌پذیری و چهار روز نمونه‌گیری) و با استفاده از سه راس گاو فیستولا شده شیرده نژاد هلشتاین انجام شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: (۱) دانه جو بخارپز- امواج مادون قرمز - پولکی بدون هیچ عمل‌آوری شیمیایی (۲) دانه جو بخارپز- امواج مادون قرمز - پولکی عمل‌آوری شده با عصاره ریشه گیاه چوبک و اسید لاکتیک (۳) دانه جو بخارپز- امواج مادون قرمز - پولکی عمل‌آوری شده با بی‌کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک. در روزهای نمونه‌گیری، رکورد روزانه تولید شیر، ترکیب شیر شامل چربی، پروتئین، لاکتوز و مواد جامد، فراسنجه‌های خونی (گلوکز، آلبومین، پروتئین کل و نیتروژن اورهای خون در ساعت‌های مختلف پس از مصرف خوراک)، pH شکمبه، نیتروژن آمونیاکی و پتانسیل ردوکس مایع شکمبه و قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، پروتئین خام و نشاسته اندازه‌گیری شدند. مصرف ماده خشک، تولید شیر، شیر تصحیح شده براساس انرژی و نیز تصحیح شده براساس ۳/۵ درصد چربی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. عمل‌آوری‌های شیمیایی، درصد چربی شیر را نسبت به تیمار بدون عمل‌آوری افزایش داد. عمل‌آوری شیمیایی با بی‌کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک موجب افزایش درصد پروتئین، مواد جامد و غلظت نیتروژن اورهای شیر در گاوها شد. نیتروژن اورهای خون در ساعت‌های ۲، ۴ و ۶ پس از خوراک‌دهی صبحگاهی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و برای تیمار دانه جو عمل‌آوری شده با بی‌کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک بیشتر بود. قابلیت هضم ظاهری ماده خشک در تیمار حاوی دانه جو بخارپز- امواج مادون قرمز - پولکی عمل‌آوری شده با عصاره چوبک و اسید لاکتیک از سایر تیمارها بیشتر بود، این در حالی است که قابلیت هضم ظاهری نشاسته و پروتئین در تیمار دانه جو بخارپز- امواج مادون قرمز - پولکی عمل‌آوری شده با بی‌کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک بیشترین بود. به‌طور کلی، pH و پتانسیل ردوکس مایع شکمبه تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند. غلظت نیتروژن آمونیاکی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی و زمان پس از مصرف خوراک قرار گرفت، و در تیمار دانه جو عمل‌آوری شده با بی‌کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک افزایش یافت. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عمل‌آوری شیمیایی دانه جو همراه با فرآوری فیزیکی بخارپز- امواج مادون قرمز - پولکی می‌تواند بر درصد چربی، پروتئین و مواد جامد شیر و همچنین قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، پروتئین و نشاسته اثر مثبت گذارد.

واژه‌های کلیدی: اسید لاکتیک، بخارپز- پولکی، بی‌کربنات آمونیوم، عصاره چوبک

مقدمه

از نکات مهم در تغذیه نشخوارکنندگان، پیش‌بینی بهترین عملکرد حیوان بر پایه مواد خوراکی تشکیل‌دهنده جیره و ترکیب مواد مغذی آن‌ها است (Dehghan-Banadaky et al., 2007). دانه جو از رایج‌ترین غلاتی است که در کشور ما برای تغذیه حیوانات مزرعه‌ای (گاو، گوسفند و بز) استفاده می‌شود. دانه جو منبع غنی از نشاسته است

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی دکتری و استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(Email: savakili@um.ac.ir)

(*) نویسنده مسئول:

<http://doi.org/10.22067/IJASR.2024.88578.1206>

(Malekkhahi et al., 2021). فرآوری شیمیایی با تغییر میزان هضم نشاسته در شکمبه بر قابلیت جذب آمونیاک شکمبه توسط ریزجانداران اثر گذاشته و بازدهی استفاده از نیتروژن را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Naseroleslami et al., 2022). با توجه به اثرات مفید فرآوری‌ها بر نشاسته غلات این گونه بیان شده است که عبور (Bypass) نشاسته از شکمبه و جذب آن در روده کوچک علاوه بر اینکه گلوکز بیشتری را برای حیوان فراهم می‌کند، یک پیش‌ساز مهم برای لاکتوز بوده و احتمالاً اسیدهای آمینه را برای اهدافی غیر از ساخت پروتئین همانند اکسیداسیون و گلوکونئوژنز ذخیره می‌کند (Naseroleslami et al., 2022) که تمامی این موارد بر تولید و ترکیب شیر اثرگذار است. هدف از مطالعه حاضر، انجام عمل‌آوری شیمیایی دانه جو با اسید لاکتیک، بی‌کربنات آمونیوم و یا عصاره گیاهی چوبک همراه با فرآوری فیزیکی بخارپز-امواج مادون قرمز-پولکی بر مقدار پروتئین دانه جو و هضم‌پذیری آن و نیز مقدار و میزان هضم نشاسته و تأثیر آن بر وضعیت تخمیری شکمبه، تولید و ترکیب شیر و برخی از فراسنجه‌های خونی می‌باشد. انجام همزمان هر دو نوع فرآوری روی دانه جو به‌عنوان یک روش جدید، می‌تواند امکان استفاده از آن در جیره گاوهای شیری را به حداکثر برساند که این امر در کاهش اثرات منفی بیماری‌های متابولیکی ناشی از مصرف جو و نیز افزایش سودآوری گله مؤثر می‌باشد.

مواد و روش

عمل‌آوری شیمیایی و فرآوری فیزیکی دانه جو

دانه‌های جو استفاده شده در این آزمایش از نوع وارداتی از کشور قزاقستان بود. مقدار غلظت مواد مغذی (گرم در کیلوگرم) دانه‌های جو خام اولیه عبارت بودند از: ماده خشک = ۹۲۴، پروتئین خام = ۱۱۶، دیواره سلولی (NDF) = ۲۰۴، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز (ADF) = ۷۳ و نشاسته = ۵۴۹ گرم در کیلوگرم. عصاره ریشه گیاه چوبک^۱ (Ap) با روش خیساندن در آب مقطر به‌دست آمد. ریشه گیاه چوبک از شهرستان بیرجند تهیه و در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد اصالت آن تأیید گردید. ابتدا مواد خارجی از آن‌ها جدا شد، سپس با نسبت یک به پنج با آب مقطر مخلوط شدند و به‌مدت ۴۸ ساعت خیسانده و به‌فاصله هر ۳۰ دقیقه یک‌بار هم زده شدند. پس از صاف کردن، محلول به‌دست آمده ۶۰ دقیقه روی شعله ملایم قرار گرفتند تا غلیظ شوند، پس از سرد شدن جهت عمل‌آوری دانه‌های جو استفاده شد. بی‌کربنات آمونیوم^۲ (Ab) از شرکت فجر پارسیان تهیه شد. همچنین از اسید لاکتیک (La) با خلوص ۸۵ درصد در عمل‌آوری دانه جو استفاده گردید. به منظور عمل‌آوری، در یک

که در آندوسپرم دانه قرار دارد و بین ۵۴ تا ۷۵ درصد از وزن دانه جو را تشکیل می‌دهد (Chen et al., 2020). نشاسته جو به‌طور معمول حاوی ۲۷ درصد آمیلوز و ۷۳ درصد آمیلوپکتین است (Jacob and Pescatore, 2012). بخش عمده (بین ۸۰ تا ۹۰ درصد) از نشاسته دانه جو به‌سرعت در شکمبه تخمیر می‌شود که ممکن است مشکلات متابولیکی جدی مانند افزایش تولید گاز و کاهش راندمان تخمیر را برای حیوان ایجاد نماید. در نتیجه، نشاسته سریع تجزیه‌شونده اثرات منفی بر محصولات تخمیری شکمبه مانند تولید پروتئین میکروبی دارد (Zebeli et al., 2008). استفاده از اسیدهای آلی و عصاره‌های گیاهی در فرآوری دانه جو از جمله روش‌هایی است که در جلوگیری از اثرات منفی ناشی از مصرف آن و نیز بهبود مسیر تخمیر، مورد توجه قرار گرفته است (Kheirandish et al., 2022). عمل‌آوری شیمیایی غلات با اسید لاکتیک عملی رایج است، زیرا که این اسید آلی کاملاً بی‌ضرر (Inoffensive) بوده و نتایج مطلوبی را به‌دنبال داشته است (Deckardt et al., 2014). جلوگیری از فعالیت آنزیم آمیلاز در اثر فرآوری دانه جو با اسید لاکتیک گزارش شده است که نشان‌دهنده کاهش تجزیه‌پذیری نشاسته در دانه‌های جو عمل‌آوری شده است (Östman et al., 2002). فرآوری دانه جو با عصاره‌های یونجه و چغندر قند منجر به تغییر در میزان و محل هضم نشاسته آن می‌شود (Naseroleslami et al., 2018). عصاره‌های گیاهی با اثر انتخابی روی برخی از باکتری‌های شکمبه بر نحوه اتصال و الگوی کلونیزاسیون آن‌ها و همچنین سوبسترا غنی از نشاسته تأثیر گذاشته و در نتیجه، روی هضم آن‌ها اثر می‌گذارند (Hart et al., 2008). گیاه چوبک (*Acanthophyllum Caryophyllaceae*) منبع غنی از ساپونین است و دارای خصوصیت شویندگی است، همچنین به‌عنوان یک فعال‌کننده سطحی شناخته می‌شود (Dabestani et al., 2021). علاوه بر موارد ذکر شده بالا، عمل‌آوری شیمیایی با ترکیبات آمونیوم دار علاوه بر افزایش غلظت پروتئین خام، منجر به تغییر میزان تجزیه نشاسته و پروتئین در شکمبه و همچنین افزایش عملکرد حیوان می‌شود (Humer and Zebeli, 2017). فرآوری فیزیکی غلات انواع مختلفی دارند که در بین آن‌ها فرآوری بخارپز-پولکی (Steam-flaking)، روشی مطمئن بوده که با افزایش سطح تماس در دانه و نیز آسیب به ماتریکس پروتئینی پیرامون گرانول‌های نشاسته، قابلیت دسترسی و هضم را افزایش می‌دهد (Plascencia et al., 2018). استفاده از یک فرآوری حرارتی مانند به‌کارگیری امواج حرارتی مادون قرمز (Micronizing) به همراه روش بخارپز-پولکی (به‌عنوان تکمیل‌کننده) می‌تواند بیشینه استفاده از مواد مغذی توسط ریزجانداران شکمبه و دام را در پی داشته باشد (Ebrahimi, 2020). فرآوری فیزیکی غلات، پتانسیل تولید شیر و قابلیت هضم مواد مغذی به‌ویژه نشاسته را افزایش می‌دهد، همچنین با تغییر pH و نسبت اسیدهای چرب فرار شکمبه‌ای بر سلامت متابولیکی حیوان اثر می‌گذارد

1- *Acanthophyllum* (Ap)

2- Ammonium Bicarbonate

جیره کاملاً مخلوط (TMR) در سه نوبت و در حد اشتها تغذیه شدند و دسترسی آزاد به آب نیز داشتند. خوراک روزانه در ساعت‌های ۶، ۱۴ و ۲۲ داده می‌شد. در روز بعد و قبل از خوراک‌دهی صبح، پس‌مانده خوراک روز قبل جمع‌آوری می‌گردید. تعداد دفعات دوشیدن در این گاوها دو بار در روز و در ساعات ۶ صبح و ۶ بعدازظهر انجام گرفت.

اندازه‌گیری مصرف خوراک، غلظت مواد مغذی، تولید و ترکیب شیر

در روزهای نمونه‌برداری، از خوراک تازه همان روز و باقی‌مانده خوراک روز قبل، ۵۰۰ گرم نمونه تهیه و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌های خوراک و باقی‌مانده در طول چهار روز به‌ازای هر گاو با هم مخلوط و یک نمونه جهت آنالیز استفاده شد. اندازه‌گیری پروتئین خام با روش کج‌لدال، لیاف نامحلول در شوینده خنثی (دیواره سلولی، NDF) و لیاف نامحلول در شوینده اسیدی (دیواره سلولی بدون همی‌سلولز، ADF) براساس روش ون سوست و همکاران (Van Soest et al., 1991) و نشاسته توسط روش رز و همکاران (Rose et al., 1991) و با استفاده از پرکلریک اسید و معرف آنترن اندازه‌گیری شد. در طول دوره نمونه‌برداری، رکورد روزانه تولید شیر گاوها ثبت و از هر وعده شیردوشی نمونه‌گیری شد و بعد از مخلوط کردن نمونه‌های هر وعده براساس میزان تولید و افزودن دی‌کرومات پتاسیم به آن‌ها جهت اندازه‌گیری ترکیب شیر (چربی، پروتئین، لاکتوز و مواد جامد شیر) به آزمایشگاه ارسال شد. اندازه‌گیری ترکیبات توسط دستگاه لاکتو اسکوپ (LactoScope™ FT-B Milk Analyzer) ساخت کشور آمریکا انجام شد. اندازه‌گیری نیتروژن اوره‌ای شیر به‌وسیله دستگاه میلو اسکن (FOSS Analytical, Hillerød, Denmark) ساخت کشور دانمارک انجام شد.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی

به‌منظور اندازه‌گیری فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، نمونه قبل از خوراک‌دهی صبحگاهی، دو، چهار و شش ساعت پس از مصرف خوراک، از ورید گردن با استفاده از سوزن ونوجکت و لوله‌های حاوی EDTA اخذ شد. نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰g سانتریفیوژ شده و سرم آن جهت آنالیز به میکروتیوپ منتقل و در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. مقادیر گلوکز، آلبومین، پروتئین کل و نیتروژن اوره‌ای خون (BUN) با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و دستگاه (BS-800M Modular System) (MINDRAY GLOBAL, China) اندازه‌گیری شدند.

وان پلاستیکی، ۵۰۰ کیلوگرم دانه جو الک شده ریخته شد و به مقدار پنج درصد از وزن آن‌ها، عصاره آبی ریشه چوبک به آن‌ها اضافه شد و با پارو کاملاً مخلوط گردید، همچنین در این حین به مقدار یک درصد از وزن دانه‌ها، اسید لاکتیک به دانه‌ها اسپری شد. در تیمار بی‌کربنات آمونیوم بعد از اینکه پنج درصد وزن دانه‌ها، آب اضافه شد و با پارو شروع به مخلوط کردن شد، همچنین در این حین به‌صورت لایه‌ای ۵/۶ درصد وزن دانه بی‌کربنات آمونیوم و نیز یک درصد اسید لاکتیک به دانه‌های جو اضافه شد. برای شاهد نیز فقط قبل از قرارگیری در محفظه بخار به‌میزان ۱۰ درصد وزن دانه به آن‌ها آب افزوده شد. دانه‌های جو بلافاصله بعد اضافه کردن انواع افزودنی‌های ذکر شده، با بالابر به درون محفظه بخار رفته و در بخار اشباع با دمای ۹۶ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵۰ دقیقه مورد پخت واقع شدند. بلافاصله پس از خروج از محفظه بخار در دستگاه میکرونایزر فرآوری صورت گرفت. منبع حرارتی سرامیک‌های بودند که با شعله گاز حرارت داده می‌شدند. دانه‌ها روی نوار نقاله که با ویبراتور تکان داده می‌شد، قرار گرفتند. سرعت نوار نقاله به‌گونه‌ای تنظیم شده بود که دانه‌ها ۵۵ ثانیه مورد تابش با امواج مادون قرمز قرار گرفتند و دمای سطحی آن‌ها به ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد رسید (ثبت دمای سطحی دانه به‌وسیله دماسنج انجام شد). بلافاصله بعد از قرارگیری در معرض امواج مادون قرمز در دستگاه فلیکر، دانه‌ها توسط غلطک‌ها که فاصله آن‌ها با فیلر گیج صنعتی ۵/۰ میلی‌متر تنظیم شده بود، به‌صورت پولک در آمدند (SIF). در انتها، در دستگاه کولر قرار گرفتند و پس از خنک شدن کیسه شده، تا اینکه در زمان انجام آزمایش استفاده شوند.

جیره‌های آزمایشی و مدیریت دام‌ها

آزمایش در پاییز سال ۱۴۰۱ در مرکز تحقیقات گاوشیری دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. این آزمایش با استفاده از سه راس گاو فیستولا شیرده نژاد هلشتاین در قالب طرح مربع لاتین در سه دوره ۲۱ روزه (هفت روز تغییر جیره، ۱۰ روز عادت‌پذیری و چهار روز نمونه‌گیری) انجام شد. گاوها میانگین وزن زنده 13 ± 690 کیلوگرم، روزهای شیردهی 9 ± 96 روز و شکم زایش 1 ± 2 داشتند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) دانه جو بخار پز- تشعشعی مادون قرمز- پولکی بدون عمل‌آوری شیمیایی (شاهد، SIFB₀)، ۲) دانه جو بخار پز- امواج مادون قرمز - پولکی عمل‌آوری شده با عصاره ریشه گیاه چوبک و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAp}) و ۳) دانه جو بخار پز- امواج مادون قرمز - پولکی عمل‌آوری شده با بی‌کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAb}) بودند. تنها تفاوت بین جیره‌های آزمایشی در استفاده از اوره در تیمار یک بود (جدول ۱). جیره‌های آزمایشی با نرم‌افزار انجمن تحقیقات ملی (NRC، ۲۰۰۱) با توجه به ویژگی گاوهای مورد آزمایش تنظیم گردید. گاوها در جایگاه انفرادی و با

اندازه‌گیری pH، نیتروژن آمونیاکی و پتانسیل ردوکس مایع شکمبه

برای تعیین pH مایع شکمبه، از دستگاه pH متر مدل (Metrohm744, Switzerland) استفاده شد. اندازه‌گیری pH در زمان صفر تا یک ساعت پس از خوراک‌دهی هر ۱۰ دقیقه یک‌بار، از یک تا دو ساعت پس از خوراک‌دهی هر ۲۰ دقیقه یک‌بار، از دو تا چهار ساعت پس از خوراک‌دهی هر ۳۰ دقیقه یک‌بار و نیز در چهار تا شش ساعت پس از خوراک‌دهی انجام شد. همچنین، نمونه جهت تعیین نیتروژن آمونیاکی (۲/۵ سی‌سی مایع شکمبه و ۲/۵ سی‌سی اسید هیدروکلریک (HCL) ۰/۲ نرمال در هر تیوپ) در زمان‌های صفر، یک، دو، سه و چهار ساعت پس از خوراک‌دهی از مایع شکمبه گرفته شد. نیتروژن آمونیاکی با دستگاه اسپکتروفتومتر و براساس روش ویدربورن (Weatherburn, 1967) اندازه‌گیری شد. پتانسیل ردوکس مایع شکمبه در زمان‌های صفر و چهار ساعت پس از خوراک‌دهی و با استفاده از دستگاه OPR (PCE Instruments, Germany) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی

اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، پروتئین خام و نشاسته در کل دستگاه گوارش با استفاده از نشانگر خاکستر نامحلول در اسید (AIA^۱) و براساس روش ون کولن و یانگ (Van Keulen and Young, 1977) انجام شد. به‌طور خلاصه، پنج گرم نمونه خوراک و مدفوع در کروسیل ریخته شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در کوره الکتریکی با دمای ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، بعد از خروج از کوره به درون بشر ریخته شده و ۱۰۰ میلی لیتر اسید هیدروکلریک (HCL) دو نرمال به آن اضافه و روی هیتر و زیر هود حرارت داده شد. خاکستر نامحلول در اسید به‌دست آمده، با کاغذ واتمن شماره ۴۱ صاف شده و سپس با آب مقطر با دمای ۸۵ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد شسته و کاغذ صافی و محتویات روی آن به آون انتقال داده شد تا خشک شوند. بعد از خشک شدن مجدداً در داخل کروسیل قرار گرفتند و به‌مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴۵۰ سانتی‌گراد در کوره الکتریکی خاکسترگیری شدند. پس از خروج کروسیل‌ها از کوره ابتدا سرد و سپس وزن‌گیری شدند.

$$\text{AIA\%} = (W_f - W_e) / W_s \times 100 \quad \text{معادله (۱)}$$

که در آن، W_f : وزن کروزه با خاکستر، W_e : وزن خالی کروزه و W_s : وزن نمونه خشک است.

تجزیه آماری

در این آزمایش، داده‌های به‌دست آمده در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با رویه MIXED و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ویرایش ۹/۴ مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. قبل از آنالیز داده‌ها، سنجش نیکویی برازش (AIC) انجام شد و بهترین مدل پیشنهادی برای تجزیه داده‌ها، بلوک کاملاً تصادفی بود. در نهایت، اثر گاوها به‌عنوان اثر متغیر (Random effect) حذف شد، زیرا خطای استاندارد باقی‌مانده (Residual standard error) کاهش پیدا می‌کرد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده شد. تفاوت بین میانگین‌ها در سطح احتمال کمتر از پنج درصد به‌عنوان معنی‌دار گزارش شد. مدل ریاضی طرح آماری استفاده شده عبارت از $Y_{ijk} = \mu + D_i + T_j + e_{ijk}$ بود که در آن، Y_{ijk} : متغیر وابسته، μ : اثر ثابت میانگین، D_i : اثر تیمار، T_j : اثر زمان (روز) و e_{ijk} : خطای آزمایش است.

نتایج و بحث

جدول ۲، میزان ماده خشک مصرفی (DMI^۲)، میزان تولید شیر و ترکیبات آن را نشان می‌دهد. در مطالعه حاضر، DMI تحت تأثیر انواع فرآوری دانه جو قرار نگرفت ($P > 0.05$). صفایی و همکاران (Safaei et al., 2017) دانه جو پولکی شده با بخار با جرم‌های توده‌ای مختلف^۳ (۳۹۰، ۳۴۰ و ۲۹۰ گرم بر لیتر) را در جیره گاوهای شیری استفاده کرده و گزارش کردند که دانه جو پولکی شده با انواع مختلف جرم توده‌ای هیچ تأثیر معنی‌داری بر مصرف ماده خشک ندارد، که آزمایش حاضر نتایج آن‌ها را تأیید می‌کند. هرچند که در این آزمایش علاوه بر پولکی کردن با بخار، پخت با مادون قرمز و همچنین عمل آوری شیمیایی نیز اتفاق افتاده است. افزایش نشاسته خوراک و بهبود قابلیت استفاده از آن موجب افزایش غلظت پروپینوات در مایع شکمبه و جریان آن به سمت کبد شده که افزایش فعالیت اکسیداتیو کبدی و تولید ATP را در پی دارد. این عوامل نقش مهمی در کاهش مصرف ماده خشک در چنین جیره‌هایی دارند (Albornoz and Allen, 2018). افزایش میزان پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (RDP^۴) بر میزان مصرف ماده خشک اثرگذار است، زیرا که نیتروژن مورد نیاز برای تخمیر میکروبی را فراهم می‌کند (Shahri et al., 2019). یکی دیگر از دلایل عدم تفاوت مصرف ماده خشک احتمالاً مشابه بودن میزان انرژی و پروتئین جیره‌های مصرفی است. تولید شیر، تولید شیر تصحیح شده براساس انرژی و نیز شیر تولیدی تصحیح شده براساس چربی ۳/۵ درصد تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارها نشان نداد ($P < 0.05$). یکی از عوامل دیگر مؤثر بر تولید شیر، تولید پروپینوات در شکمبه است (Malekkhahi et al., 2021).

2- Dry matter intake

3- Bulk density

4- Rumen degradable protein

1- Acid Insoluble Ash

$$\text{معادله (۲)} \quad \left(\frac{\text{مواد مغذی در مدفوع (درصد)}}{\text{مواد مغذی در خوراک (درصد)}} \right) \times \left(\frac{\text{نشانگر در خوراک (درصد)}}{\text{نشانگر در مدفوع (درصد)}} \right) \times (100 - 100 = \text{قابلیت هضم مواد مغذی})$$

جدول ۱- اجزاء و ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در تغذیه گاوهای شیری به صورت کاملاً مخلوط

Table 1- Ingredients and nutrient composition of experimental diets fed to dairy cows as TMR

اجزاء جیره (درصد ماده خشک) Ingredients (% DM)	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments		
	SIFB ₀	SIFB _{LaAp}	SIFB _{LaAb}
سیلاژ ذرت Corn silage	27.4	27.4	27.4
علوفه یونجه Alfalfa hay	21.9	21.9	21.9
کاه گندم Wheat straw	3.0	3.3	3.3
دانه جو بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - پولکی SIFB ₀	14.6	-	-
دانه جو بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - پولکی عمل آوری شده با عصاره ریشه گیاه چوبک و اسید لاکتیک SIFB _{LaAp}	-	14.6	-
دانه جو بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - پولکی عمل آوری شده با بی کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک SIFB _{LaAb}	-	-	14.6
دانه ذرت Corn grain	8.8	8.8	8.8
کنجاله سویا Soybean meal	11.6	11.6	11.6
تخم پنبه Cottonseed whole	6.4	6.4	6.4
دانه گندم Wheat grain	3.7	3.7	3.7
اوره Urea	0.3	-	-
اکسید منیزیم Magnesium oxide	0.2	0.2	0.2
بی کربنات سدیم Sodium bicarbonate	0.9	0.9	0.9
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	0.4	0.4	0.4
ویتامین ای و سلنیوم Vitamin E and selenium	0.4	0.4	0.4
پودر چربی Fat powder	0.4	0.4	0.4
ترکیب مواد مغذی (گرم در ۱۰۰۰ گرم ماده خشک) Nutrient content (g/100g DM)			
ماده خشک DM	501.2	519.7	509.4
پروتئین خام Crude protein	165.0	165.1	165.1
نشاسته Starch	240.5	240.6	240.6
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (دیواره سلولی) NDF	303.0	302.7	302.9
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (دیواره سلولی بدون همی سلولز) ADF	197.0	196.7	196.8
انرژی خالص شیردهی (مگا کالری بر کیلوگرم) NEL (Mcal/kg)	1.64	1.64	1.64

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) دانه جو بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - پولکی بدون هیچ عمل آوری شیمیایی (شاهد، SIFB₀)، ۲) دانه جو بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - پولکی عمل آوری شده با عصاره ریشه گیاه چوبک و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAp}) و ۳) دانه جو بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - پولکی عمل آوری شده با بی کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAb})

Experimental treatments were: 1) steam- infrared-flaked of barley grain (SIFB₀), 2) Steam- infrared-flaked of barley grain treated with extract of *Acanthophyllum* and lactic acid (SIFB_{LaAp}), 3) Steam- infrared-flaked of barley grain treated with ammonium bicarbonate and lactic acid (SIFB_{LaAb}).

2012). مطالعات گذشته نشان داده‌اند که درصد پروتئین شیر با افزایش مقدار کربوهیدرات‌های قابل تخمیر افزایش پیدا می‌کند (Zhong et al., 2008). در آزمایش حاضر، قابلیت هضم نشاسته و پروتئین در تیمار $SIFB_{LaAb}$ نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0.05$) و این یکی از دلایل افزایش درصد پروتئین در شیر گاوهای مصرف‌کننده آن‌ها است که احتمالاً جریان نیتروژن میکروبی به دئودنوم را افزایش داده است. به دلیل تغییر محل نشاسته از شکمبه به روده باریک در اثر عمل‌آوری شیمیایی با اسید لاکتیک، جذب گلوکز در روده باریک افزایش یافته و استفاده از اسیدهای آمینه برای ساخت گلوکز در کبد و روده کاهش می‌یابد و بدین ترتیب، اسید آمینه بیشتری در پستان فراهم شده و در نتیجه، پروتئین شیر افزایش می‌یابد (Piccioli-Cappelli et Nocek and Tamminga, 1991; al., 2014). احتمالاً استفاده از بی‌کربنات آمونیوم، سطح RDP را افزایش داده که موجب افزایش تولید پروتئین میکروبی و به دنبال آن ایجاد ترکیبی مناسب از اسیدهای آمینه برای ساخت پروتئین شیر می‌شود. افزایش RDP، فراهمی اسیدهای آمینه لیزین و میتوئین را برای حیوان بهبود می‌دهد و به دنبال آن درصد پروتئین شیر افزایش می‌یابد (Brzóska, 2005). احتمالاً یکی از دلایل افزایش درصد لاکتوز شیر در تیمار $SIFB_{LaAb}$ ، افزایش هضم‌پذیری نشاسته در آن‌هاست که موجب افزایش جذب گلوکز در روده حیوان می‌شود. گلوکز به‌عنوان پیش‌ساز لاکتوز شیر عمل می‌کند. افزایش سطح RDP در شکمبه به دلیل عمل‌آوری شیمیایی، احتمالاً دلیل افزایش غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر در تیمارهای $SIFB_{LaAb}$ و $SIFB_{LaAp}$ نسبت به تیمار $SIFB_0$ است. همچنین یکی از دلایلی که می‌توان تفاوت غلظت MUN را به آن نسبت داد، تفاوت در غلظت نیتروژن اوره‌ای خون (BUN) در بین تیمارهاست. همبستگی مثبتی بین MUN و BUN وجود دارد (Kohn et al., 2005). غلظت MUN همزمانی انرژی و پروتئین در شکمبه را نشان می‌دهد. مازاد پروتئین در شکمبه به آمونیاک تبدیل می‌شود (در اثر دامیناسیون اسیدهای آمینه) که موجب جذب آن توسط سیاهرگ باب کبدی شده و به کبد منتقل و در آن‌جا به اوره تبدیل می‌گردد و منبعی برای BUN و MUN می‌شود (Røjen and Kristensen, 2012).

متوسط غلظت سرمی گلوکز، آلبومین، BUN و پروتئین کل در ساعت‌های قبل از خوراک‌دهی صبحگاهی، دو، چهار و شش ساعت پس از آن در جدول ۳ آمده است. غلظت گلوکز در قبل از خوراک‌دهی صبحگاهی و تمامی ساعت‌های نمونه‌گیری پس از آن تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$). غلظت BUN جز در زمان قبل از خوراک‌دهی، در ساعت‌های دو، چهار و شش ساعت بعد از مصرف خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$).

همچنین یکی از دلایل افزایش شیر تولیدی در تیمارهای مذکور احتمالاً افزایش RDP در آن‌هاست، زیرا کمبود RDP باعث کاهش تولید شیر می‌شود (Malekjahani et al., 2017). فرآوری دانه جو با اسید لاکتیک یک درصد همراه با اعمال حرارت ۵۵ درجه سانتی‌گراد تأثیری بر تولید شیر نداشت (Gruber et al., 2017) که نتایج این آزمایش، آن را تأیید می‌کند. درصد چربی شیر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$). درصد چربی شیر در دامنه ۳/۳۵ تا ۳/۴۹ درصد بود و گاوهای تیمار $SIFB_0$ کمترین درصد چربی شیر را داشتند و میزان درصد چربی شیر در آن‌ها نسبت به درصد چربی شیر گاوهای تیمارهای $SIFB_{LaAb}$ و $SIFB_{LaAp}$ به ترتیب افزایش ۴/۰۱ و ۳/۴۶ درصدی داشت (جدول ۲). کمترین درصد پروتئین شیر در تیمار $SIFB_0$ با ۳/۲۶ درصد مشاهده شد، در مقابل بیشترین درصد پروتئین شیر با ۳/۳۵ درصد در تیمار $SIFB_{LaAb}$ مشاهده گردید. همچنین فرآوری دانه جو با اسید لاکتیک و عصاره ریشه چوبک ($SIFB_{LaAp}$)، درصد پروتئین شیر را نسبت به تیمار $SIFB_0$ ۱/۲۳ درصد، افزایش داد (۳/۳۰ در مقابل ۳/۲۶ درصد). برطبق نتایج به‌دست آمده، بیشترین درصد لاکتوز شیر در تیمار $SIFB_{LaAb}$ مشاهده شد (۴/۳۷ درصد). بیشترین غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر (MUN) با ۱۵/۴۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در تیمار $SIFB_{LaAb}$ مشاهده شد. کمترین غلظت MUN با ۱۳/۴۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در تیمار $SIFB_0$ مشاهده شد. تولید چربی، پروتئین و لاکتوز شیر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. اقبال و همکاران (Iqbal et al., 2012)، افزایش درصد چربی شیر را در طی عمل‌آوری با اسید لاکتیک گزارش کردند که نتایج آزمایش حاضر، نتایج آن‌ها را تأیید می‌کند. عمل‌آوری با اسید لاکتیک منجر به افزایش زمان تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای می‌شود و همچنین میزان نشاسته قابل دسترس در روده را که در ساخت چربی شیر مؤثر است، برای جذب افزایش داده است (Iqbal et al., 2009). زبلی و همکاران (Zebeli et al., 2008) بیان داشتند که درصد چربی شیر به‌عنوان یک شاخص برای نشان دادن سلامت شکمبه به کار می‌رود و افزایش آن نشان‌دهنده مناسب بودن شرایط محیطی شکمبه است. فرآوری فیزیکی بخارپز-امواج مادون قرمز-پولکی همراه با عمل‌آوری شیمیایی احتمالاً بر ماتریکس پروتئینی پیرامون گرانول‌های نشاسته دانه جو اثر گذاشته و میزان دسترسی ریزجانداران شکمبه به نشاسته را افزایش داده و سبب افزایش تجزیه‌پذیری آن می‌گردد که به تبع آن، بر درصد چربی شیر تأثیر می‌گذارد. استات به‌عنوان اسید چرب فرار شکمبه‌ای، همبستگی مثبت با تولید چربی شیر دارد که افزایش غلظت آن در مایع شکمبه به هنگام عمل‌آوری دانه جو با اسید لاکتیک مشاهده شده است (Iqbal et al., 2012). به‌طور کلی، تفاوت در درصد چربی شیر نشان‌دهنده تفاوت الگوهای تخمیری در شکمبه است (Shen et al.,).

جدول ۲- تاثیر انواع دانه جو عمل آوری تیمیانی شده همراه با افروری فیزیکی بخارآبی- امواج مادون قرمز- پیلکی در جیره گاوهای شیرری فستولا شده بر ماده خشک مصرفی، تولید و ترکیب شیر

فراسنجیه Parameters	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments			میانگین خطای استاندارد SEM	سطح معنی‌داری P-value	
	SF1B ₀	SIFB ₀	SIFB ₀ + SIFB ₀		تیمار Treatment	زمان Time
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز) DMI (kg/day)	22.93	23.06	22.87	1.22	0.800	0.988
تولید شیر (کیلوگرم در روز) Milk yield (kg/day)	20.78	21.65	21.97	1.29	0.816	0.973
شیر تصحیح شده براساس انرژی (کیلوگرم در روز) Energy corrected milk (kg/day)	20.88	21.86	22.87	1.02	0.414	0.996
شیر تصحیح شده براساس چربی ۳٪ (کیلوگرم در روز) Fat 3.5% corrected milk (kg/day)	20.26	21.54	21.90	1.79	0.797	0.987
چربی شیر (درصد) Milk fat (%)	3.35 ^b	3.47 ^a	3.49 ^a	0.019	<0.0001	0.630
پروتئین شیر (درصد) Milk protein (%)	3.26 ^c	3.30 ^b	3.35 ^a	0.008	<0.0001	0.639
لاکتوز شیر (درصد) Milk lactose (%)	4.29 ^{ab}	4.28 ^b	4.37 ^a	0.021	0.002	0.248
مواد جامد شیر (درصد) Milk total solid (%)	11.03 ^c	11.25 ^b	11.38 ^a	0.026	<0.0001	0.433
نیترژن اورهی شیر (میلی گرم / دسی‌لیتر) Milk urea nitrogen (mg/dl)	13.45 ^c	14.38 ^b	15.45 ^a	0.266	0.001	0.986
چربی شیر (کیلوگرم در روز) Milk fat (%)	0.696	0.751	0.765	0.0617	0.710	0.997
پروتئین شیر (کیلوگرم در روز) Milk protein (%)	0.677	0.714	0.736	0.0597	0.994	0.996
لاکتوز شیر (کیلوگرم در روز) Milk lactose (%)	0.879	0.928	0.960	0.0789	0.769	0.943

میانگین های یا حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی داری می باشند ($P < 0.05$)
 تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) نان جو بخار پز - نمغنسی مادن قرمز- بولکی بدون هیچ عمل آوری تیمیاسی (SIFB)، ۲) نان جو بخار پز - نمغنسی مادن قرمز - بولکی عمل آوری شده با عصاره ریشه گیاه چوبک و اسید لاکتیک (SIFB+LAK) و ۳) نان جو بخار پز - نمغنسی مادن قرمز - بولکی عمل آوری شده با عصاره ریشه گیاه چوبک و اسید لاکتیک (SIFB+LAK)

Means with different superscript letters in each row indicate significant different ($P < 0.05$). Experimental treatments were: 1) steam-irradiated flaked of barley grain (SIFB), 2) Steam-irradiated flaked of barley grain treated with extract of *Acetophophyllum* and lactic acid (SIFB_{LAB}), 3) Steam-irradiated flaked of barley grain treated with ammonium bicarbonate and lactic acid (SIFB_{LAB}). ECM yield = (kg of milk $\times$ 0.3246) + (kg of milk fat $\times$ 12.96) + (kg of milk protein $\times$ 7.04), as described by Orth (1992). 2.5% FCM yield = (0.432 $\times$ kg of average milk yield) + (16.216 $\times$ kg of fat); Erdman (2011).

تیمار $SIFB_{LaAp}$ در دو ساعت پس از خوراک‌دهی با $19/33$ میلی گرم در دسی لیتر، بیشترین غلظت را در بین تیمارها داشت و نسبت به تیمار $SIFB_0$ تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0/05$). چهار ساعت پس از مصرف خوراک، تیمارهای $SIFB_0$ و $SIFB_{LaAb}$ به ترتیب کمترین و بیشترین غلظت BUN را داشتند (به ترتیب $18/67$ و $22/16$ میلی گرم بر دسی لیتر). غلظت BUN در شش ساعت پس از مصرف خوراک در تیمار $SIFB_{LaAb}$ به ترتیب $23/42$ و $13/05$ درصد نسبت به تیمارهای $SIFB_0$ و $SIFB_{LaAp}$ بیشتر بود ($P < 0/05$). همچنین، اختلاف غلظت BUN بین تیمارهای $SIFB_0$ و $SIFB_{LaAp}$ معنی‌دار ($P > 0/05$) بود ($21/47$ در مقابل $23/44$ میلی گرم بر دسی لیتر، به ترتیب برای $SIFB_0$ و $SIFB_{LaAp}$). غلظت آلبومین سرم به جز در قبل از خوراک‌دهی که برای تیمار $SIFB_{LaAp}$ ($3/95$ گرم بر دسی لیتر) کمترین مقدار بود و با $SIFB_0$ و $SIFB_{LaAb}$ تفاوت معنی‌دار داشت ($P < 0/05$)، در بقیه ساعت‌ها تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. غلظت پروتئین کل سرم تنها در شش ساعت پس از مصرف خوراک تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت ($P < 0/05$) و تیمارهای $SIFB_{LaAb}$ و $SIFB_0$ بیشترین و کمترین غلظت را داشتند (به ترتیب $7/77$ و $7/14$ گرم بر دسی لیتر). در مطالعه حاضر، شاید یکی از دلایل عدم تفاوت بین غلظت سرمی گلوکز، مشابه بودن مصرف ماده خشک در بین تیمارها است. مطالعات گذشته نشان داد که استفاده از جو پولکی شده همراه با کنجاله سویا عمل‌آوری شده با زایلاناز غلظت BUN را در گاوهای مصرف‌کننده آن‌ها افزایش داد ($Shahri et al., 2019$). افزایش سطح BUN در جوهای عمل‌آوری شیمیایی شده احتمالاً به دلیل افزایش سطح RDP و نیتروژن آمونیاکی در شکمبه است. مطالعه حاضر، نتایج واناپات و همکاران ($Wanapat et al., 2008$) را که بیان کردند، سطح BUN با غلظت نیتروژن آمونیاکی ارتباط مستقیم دارد، تأیید می‌نماید. آلبومین به عنوان پروتئین التهابی فاز حاد منفی شناخته می‌شود که به هنگام التهاب، مقدار آن کاهش می‌یابد ($Bertoni et al., 2008$). احتمالاً یکی از دلایل تفاوت غلظت آلبومین در ساعت قبل از خوراک‌دهی، شرایط دام در لحظه نمونه‌برداری باشد. تفاوت در غلظت پروتئین کل سرم در شش ساعت پس از خوراک‌دهی احتمالاً با غلظت BUN و قابلیت هضم پروتئین در کل دستگاه گوارش مرتبط است، زیرا که در تیمار $SIFB_{LaAb}$ ، بیشترین قابلیت هضم پروتئین مشاهده شد و این احتمالاً علت افزایش غلظت پروتئین تام در این تیمار باشد (به دلیل افزایش تأمین پروتئین متابولیسمی برای حیوان).

نتایج مربوط به قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، پروتئین خام و نشاسته در جدول ۴ آمده است. براساس نتایج به دست آمده تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری ($P < 0/05$) بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی داشتند. بیشترین قابلیت هضم ظاهری ماده خشک مربوط به

تیمار $SIFB_{LaAp}$ با $63/02$ درصد بود. عمل‌آوری‌های شیمیایی دانه‌های جو، قابلیت هضم ظاهری ماده خشک را در تیمارهای $SIFB_{LaAp}$ و $SIFB_{LaAb}$ نسبت به تیمار بدون عمل‌آوری شیمیایی ($SIFB_0$) به ترتیب $4/90$ و $2/99$ درصد افزایش داد. قابلیت هضم ظاهری پروتئین خام در دامنه $63/87$ تا $67/67$ درصد بود و بیشترین و کمترین مقادیر آن به ترتیب در تیمارهای $SIFB_{LaAb}$ ($67/67$ درصد) و $SIFB_0$ ($63/87$ درصد) مشاهده شد. متوسط قابلیت هضم ظاهری نشاسته در این مطالعه $79/05$ درصد بود و بیشترین مقدار آن با $80/13$ درصد در تیمار $SIFB_{LaAb}$ مشاهده شد. در مطالعه حاضر، عمل‌آوری شیمیایی با عصاره ریشه چوبک همراه با اسید لاکتیک منجر به افزایش قابلیت هضم ظاهری ماده خشک شد. گیاه چوبک از گذشته به عنوان یک شوینده شناخته شده و منبع غنی از ساپونین است و از آن به عنوان یک سورفاکتانت (کاهش کشش سطحی و لیزکنندگی) استفاده می‌شود ($Khosrow Shahi et al., 2021$). این خاصیت شویندگی احتمالاً با افزایش شسته شدن لیاف خوراک منجر به افزایش قابلیت هضم ظاهری ماده خشک شده است. استفاده از سورفاکتانت‌ها با تغییر کشش سطحی مایع شکمبه بر رشد و فعالیت (تحریک تولید آنزیم‌های گوارشی) باکتری‌های شکمبه تأثیر می‌گذارند ($Tang et al., 2021$) که این امر می‌تواند توجیه مناسبی برای افزایش قابلیت هضم ظاهری ماده خشک در اثر عمل‌آوری با عصاره ریشه چوبک باشد. عمل‌آوری شیمیایی دانه جو با اسید لاکتیک و حرارت باعث افزایش تجزیه‌پذیری ترکیبات همی سلولزی شده و غلظت دیواره سلولی (NDF) را کاهش می‌دهد که می‌تواند بر هضم‌پذیری مواد مغذی اثرگذار باشد ($Harder et al., 2015$). هیرستو و همکاران ($Hristov et al., 2007$) بیان کردند که عمل‌آوری دانه ذرت با ساپونین و پولکی کردن آن با بخار منجر به افزایش $17/2$ و $6/7$ درصدی تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و نشاسته نسبت به دانه‌های خام پولکی شد. بی‌کربنات آمونیوم (NH_4HCO_3) یک ترکیب آمونیاک‌دار است، بیان شده است که عمل‌آوری دانه جو با ترکیبات آمونیاکی موجب افزایش محتویات نیتروژن و قابلیت هضم مواد مغذی در گاوهای شیری و گوشتی شده است ($Belanche et al., 2021$). که نتایج ما، آن را تأیید می‌کند. قابلیت هضم ظاهری پروتئین خام در تیمار $SIFB_{LaAb}$ نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود و این احتمالاً به دلیل افزایش سطح RDP است، زیرا منبع نیتروژن برای ساخت پروتئین میکروبی فراهم شده است. عمل‌آوری شیمیایی با ترکیبات گیاهی و مواد آلكالینی موجب افزایش هضم‌پذیری و تغییر محل هضم نشاسته از شکمبه به روده باریک می‌شود ($Naseroleslami et al., 2018$).

جدول ۳- تأثیر انواع دانه جو عمل آوری شیمیایی شده همراه با فرآوری فیزیکی بخارپز- امواج مادون قرمز- پولکی در جیره گاوهای شیری فیستولا شده بر غلظت متابولیت‌های خون در زمان‌های قبل خوراک‌دهی، دو، چهار و شش ساعت پس از خوراک‌دهی

Table 3- The effect of various chemically processed barley grain accompany through steam-infrared-flaked in rumen-fistulated Holstein dairy cows diets on Concentration of blood metabolites at the before and 2, 4 and 6 h after feeding

فراسنجه Parameters	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments			میانگین خطای استاندارد SEM	سطح معنی‌داری P-value
	SFIB ₀	SIFB _{LaAp}	SIFB _{LaAb}		
قبل از خوراک‌دهی صبحگاهی Before the morning feeding					
گلوکز (میلی گرم بر دسی‌لیتر) Glucose (mg/dl)	55.60	56.03	55.36	1.90	0.969
نیتروژن اورهای خون (میلی گرم بر دسی‌لیتر) Blood urea nitrogen (mg/dl)	17.69	18.71	18.01	0.558	0.272
آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر) Albumin (g/dl)	4.14 ^a	3.95 ^b	4.26 ^a	0.063	0.031
پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر) Total proteins (g/dl)	6.65	6.86	6.83	0.139	0.558
دو ساعت بعد از خوراک‌دهی صبحگاهی After the morning feeding, 2 h					
گلوکز (میلی گرم بر دسی‌لیتر) Glucose (mg/dl)	55.77	56.28	56.19	1.89	0.980
نیتروژن اورهای خون (میلی گرم بر دسی‌لیتر) Blood urea nitrogen (mg/dl)	17.68 ^b	19.33 ^a	19.12 ^a	0.428	0.047
آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر) Albumin (g/dl)	4.18	4.13	4.24	0.060	0.190
پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر) Total proteins (g/dl)	6.79	7.00	6.84	0.125	0.360
چهار ساعت پس از خوراک‌دهی صبحگاهی After the morning feeding, 4 h					
گلوکز (میلی گرم بر دسی‌لیتر) Glucose (mg/dl)	58.16	59.29	58.17	1.78	0.878
نیتروژن اورهای خون (میلی گرم بر دسی‌لیتر) Blood urea nitrogen (mg/dl)	18.67 ^c	20.66 ^b	22.16 ^a	0.616	0.02
آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر) Albumin (g/dl)	4.24	4.11	4.16	0.085	0.582
پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر) Total proteins (g/dl)	6.97	7.27	7.12	0.162	0.547
شش ساعت پس از خوراک‌دهی صبحگاهی After the morning feeding, 6 h					
گلوکز (میلی گرم بر دسی‌لیتر) Glucose (mg/dl)	59.08	60.03	59.36	2.18	0.952
نیتروژن اورهای خون (میلی گرم بر دسی‌لیتر) Blood urea nitrogen (mg/dl)	21.47 ^c	23.44 ^b	26.50 ^a	0.533	0.001
آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر) Albumin (g/dl)	4.21	4.22	4.03	0.077	0.219
پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر) Total proteins (g/dl)	7.14 ^c	7.47 ^b	7.77 ^a	0.138	0.049

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ($P < 0.05$)

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) دانه جو بخارپز- تشعشعی مادون قرمز- پولکی بدون هیچ عمل آوری شیمیایی (شاهد، SIFB₀)، ۲) دانه جو بخارپز- تشعشعی مادون قرمز- پولکی عمل آوری شده با عصاره ریشه گیاه چوبک و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAp}) و ۳) دانه جو بخارپز- تشعشعی مادون قرمز- پولکی عمل آوری شده با بی‌کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAb})

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

Experimental treatments were: 1) steam- infrared-flaked of barley grain (SIFB₀), 2) Steam- infrared-flaked of barley grain treated with extract of *Acanthophyllum* and lactic acid (SIFB_{LaAp}), 3) Steam- infrared-flaked of barley grain treated with ammonium bicarbonate and lactic acid (SIFB_{LaAb}).

pH در شکمبه از تأثیرات نامطلوب آن در حیوان جلوگیری کرده و دوماً محیط مطلوب و فرصت کافی برای تجزیه نشاسته در شکمبه را فراهم می‌آورد علاوه بر آن، ورود و جذب نشاسته به روده باریک را افزایش می‌دهد که می‌تواند هضم‌پذیری نشاسته در کل دستگاه گوارش را تحت تأثیر قرار دهد.

استفاده از بی‌کربنات آمونیوم احتمالاً با تأمین نیتروژن کافی برای ریزجاندانان شکمبه و متعادل کردن pH شکمبه‌ای نقش مهمی در ایجاد کلونی میکروبی روی ذرات نشاسته و افزایش هضم‌پذیری آن دارد. اسید لاکتیک موجب کاهش بخش سریع تجزیه نشاسته و افزایش بخش کند تجزیه آن در شکمبه می‌شود (Deckardt et al., 2014). این از آن جهت مهم است که اولاً با ممانعت از کاهش شدید

جدول ۴- تأثیر انواع دانه جو عمل‌آوری شیمیایی شده همراه با فرآوری فیزیکی بخارپز- امواج مادون قرمز- پولکی در جیره گاوهای شیری فیستولا شده بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی

Table 4- The effect of various chemically processed barley grain accompany through steam-infrared-flaked in rumen-fistulated Holstein dairy cows diets on nutrient apparent digestibility

Holstein dairy cows diets on nutrient apparent digestibility							
فراسنجه Parameters	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments			میانگین خطای استاندارد SEM	سطح معنی داری P-value		
	SFIB ₀	SIFB _{LaAp}	SIFB _{LaAb}		تیمار	زمان	تیمار × زمان
					Treatment	Time	Treatment × time
ماده خشک (درصد) DMI (%)	60.08 ^b	63.02 ^a	61.88 ^{ab}	0.689	0.033	0.615	0.658
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	63.87 ^c	65.08 ^b	67.67 ^a	0.571	0.01	0.002	0.922
نشاسته (درصد) Starch (%)	77.58 ^b	79.45 ^a	80.13 ^a	0.876	0.05	0.578	0.426

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ($P < 0.05$)

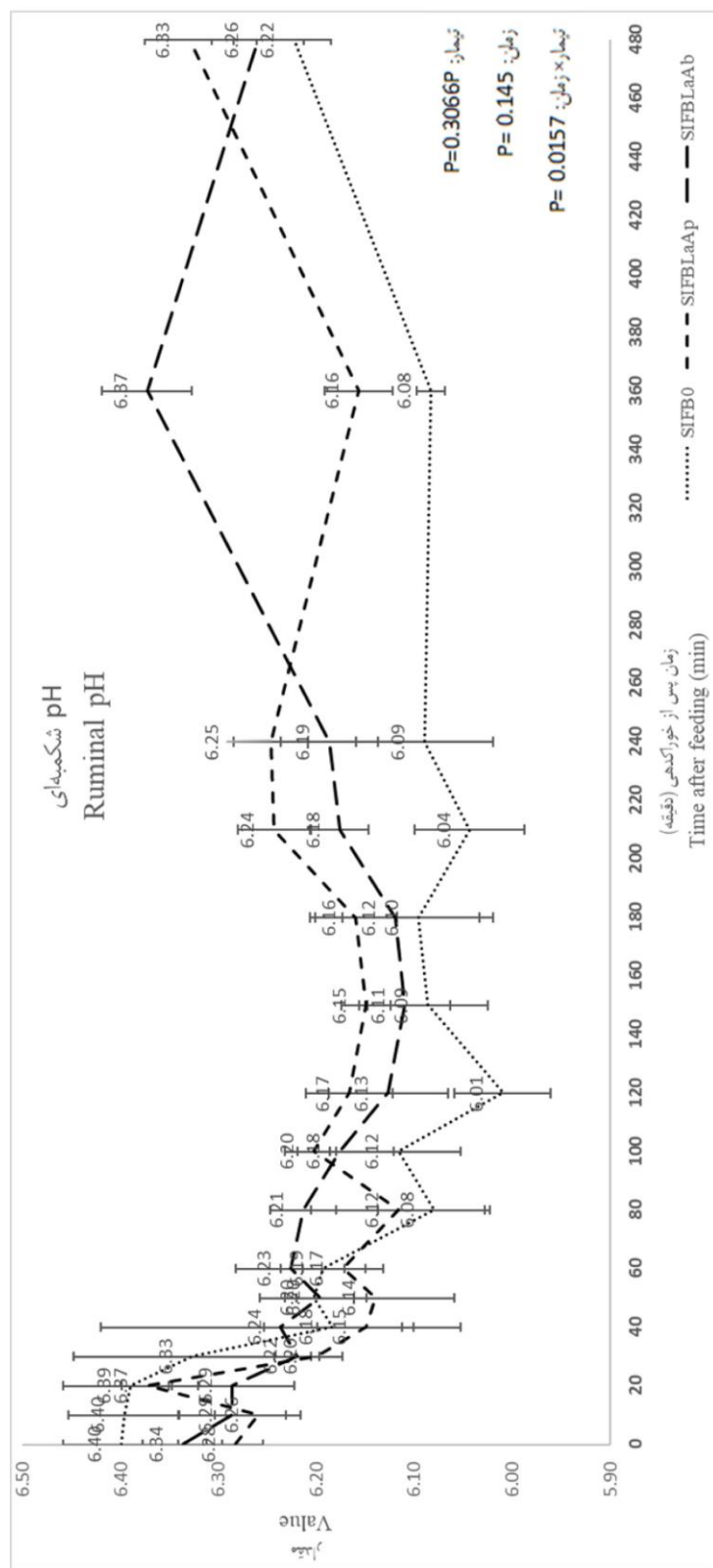
تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) دانه جو بخارپز- تشعشعی مادون قرمز- پولکی بدون هیچ عمل‌آوری شیمیایی (شاهد، SIFB₀)، ۲) دانه جو بخارپز- تشعشعی مادون قرمز- پولکی عمل‌آوری شده با عصاره ریشه گیاه چوبک و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAp}) و ۳) دانه جو بخارپز- تشعشعی مادون قرمز- پولکی عمل‌آوری شده با بی‌کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAb})

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

Experimental treatments were: 1) steam- infrared-flaked of barley grain (SIFB₀), 2) Steam- infrared-flaked of barley grain treated with extract of *Acanthophyllum* and lactic acid (SIFB_{LaAp}), 3) Steam- infrared-flaked of barley grain treated with ammonium bicarbonate and lactic acid (SIFB_{LaAb}).

دسی‌لیتر به تیمار SIFB₀ اختصاص داشت. دامنه غلظت نیتروژن آمونیاکی در دو ساعت پس از خوراک‌دهی بین ۹/۹۶ تا ۱۶/۳۴ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود که بیشترین و کمترین آن به‌ترتیب در تیمارهای SIFB_{LaAb} و SIFB₀ مشاهده شد. در زمان‌های ۳ و ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی، غلظت نیتروژن آمونیاکی در تیمار SIFB_{LaAb} نسبت به تیمار SIFB₀ به‌ترتیب ۴۱/۸۵ و ۳۶/۲۳ درصد و نیز نسبت به تیمار SIFB_{LaAp} به‌ترتیب ۳۴/۷۹ و ۳۵/۱۵ درصد، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$). تفاوت غلظت نیتروژن آمونیاکی در زمان‌های ۳ و ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی بین تیمارهای SIFB_{LaAp} و SIFB₀ معنی‌دار نبود. پتانسیل ردوکس شکمبه‌ای در زمان‌های صفر و ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (شکل ۳). میانگین پتانسیل ردوکس شکمبه‌ای در زمان ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی نسبت به زمان صفر افزایش یافت (۲۵۶/۷- به ۲۴۷/۷- میلی‌ولت)، اما معنی‌دار نبود.

شکل ۱، روند تغییرات pH شکمبه‌ای را در ساعات مختلف پس از خوراک‌دهی را نشان می‌دهد. تیمارهای آزمایشی و زمان‌های اندازه‌گیری به‌طور کلی، تأثیر معنی‌داری بر روند تغییرات pH شکمبه‌ای نداشتند. اما اثر متقابل تیمار آزمایشی در زمان معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در زمان‌های ۱۲۰، ۲۱۰ و ۳۶۰ دقیقه پس از مصرف خوراک، pH شکمبه بین تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). تیمار SIFB₀ کمترین pH را با ۶/۰۱، ۶/۰۴ و ۶/۰۸ در دقایق ۱۲۰، ۲۱۰ و ۳۶۰ و تیمار SIFB_{LaAb} بیشترین pH را با ۶/۱۷، ۶/۲۴ و ۶/۳۷ در دقایق مذکور به خود اختصاص داده بود. روند تغییرات غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در طول زمان چهار ساعت پس از خوراک‌دهی در **شکل ۲** نشان داده شده است. اثر تیمارهای آزمایشی، زمان نمونه‌گیری و اثر متقابل آن‌ها بر غلظت نیتروژن آمونیاکی معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بیشترین غلظت نیتروژن آمونیاکی در یک ساعت پس از خوراک‌دهی مربوط به تیمار SIFB_{LaAb} با ۱۱/۹۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود و کمترین غلظت با ۹/۱۳ میلی‌گرم بر



شکل ۱ - تأثیر انواع دانه جو عمل آوری شیمیایی شده همراه با فراوری فیزیکی بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - بولکی در جیره گاوهای شیری فستولا شده بر تغییرات دقیقه ایی pH شکمبه

Figure 1 - The effect of various chemically processed barley grain accompany through steam-infrared-flaked in rumen-fistulated Holstein dairy cows' diets on minute variation of ruminal pH

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) دانه جو بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - بولکی بدون هیچ عمل آوری شیمیایی (شاهد، SIFB₀)، ۲) دانه جو بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - بولکی عمل آوری شده با یی کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAp})، ۳) دانه جو بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - بولکی عمل آوری شده با یی کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAb})

Experimental treatments were: 1) steam- infrared-flaked of barley grain (SIFB₀), 2) Steam- infrared-flaked of barley grain treated with ammonium bicarbonate and lactic acid (SIFB_{LaAp}), 3) Steam- infrared-flaked of barley grain treated with ammonium bicarbonate and lactic acid (SIFB_{LaAb}).

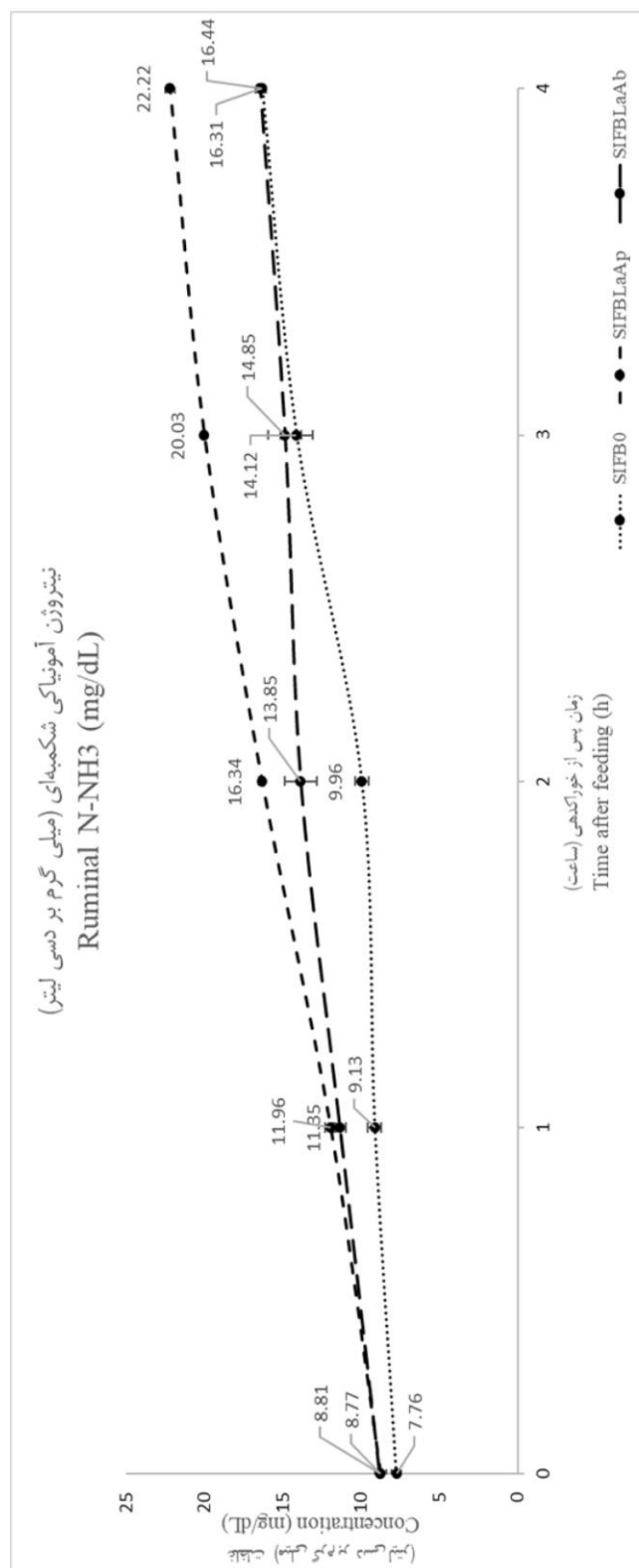
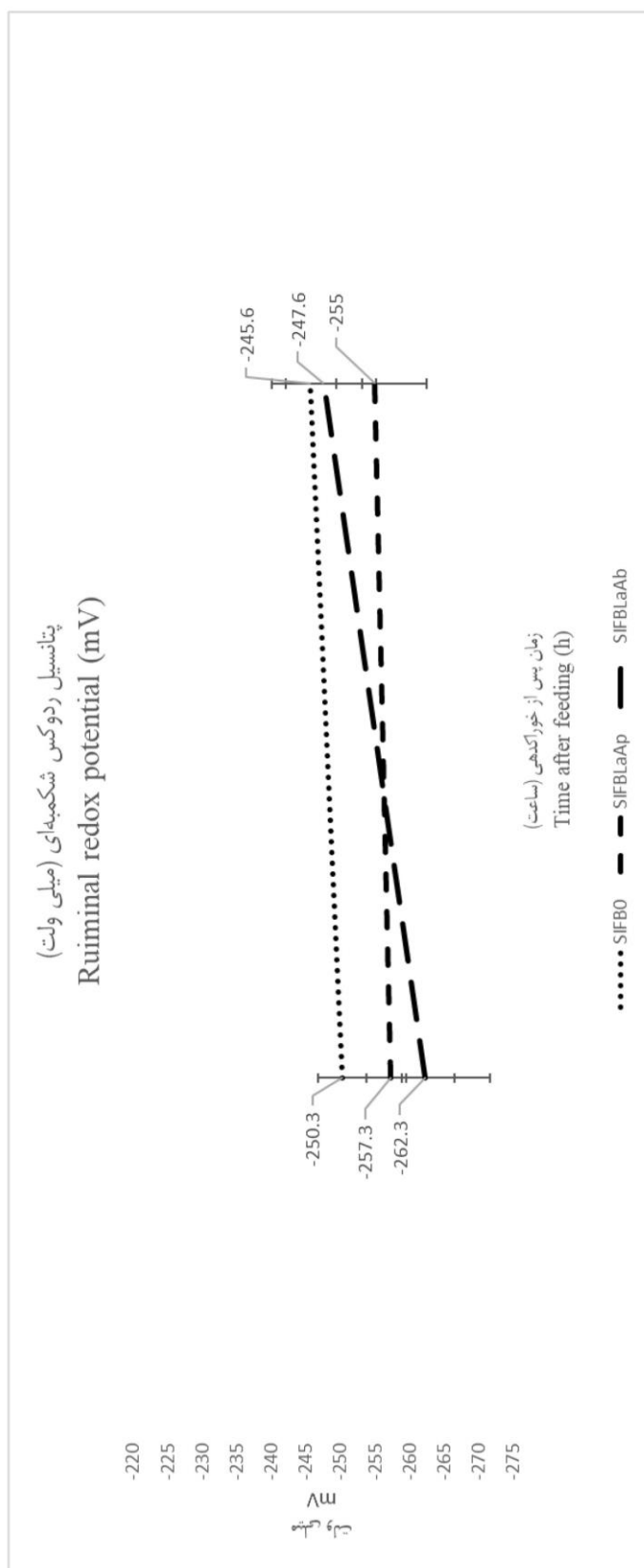


Figure 2- The effect of various chemically processed barley grain accompany through steam-infrared-flaked in rumen-fistulated Holstein dairy cows diets on hourly variation of ruminal N-NH₃ (SIFB₀) and (SIFB_{LaAp}) تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) دانه جو بخار پز - تشمشی مادون قرمز - پولکی بدون هیچ عمل آوری شیمیایی (شاهد، SIFB₀)، ۲) دانه جو بخار پز - تشمشی مادون قرمز - پولکی عمل آوری شیمیایی (شاهد، SIFB_{LaAp})، ۳) دانه جو بخار پز - تشمشی مادون قرمز - پولکی عمل آوری شده با بی کربرات آمونیوم و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAb})

Experimental treatments were: 1) steam- infrared-flaked of barley grain (SIFB₀), 2) Steam- infrared-flaked of barley grain treated with ammonium bicarbonate and lactic acid (SIFB_{LaAp}), 3) Steam- infrared-flaked of barley grain treated with ammonium bicarbonate and lactic acid (SIFB_{LaAb}).



شکل ۳- تأثیر انواع دانه جو عمل آوری شیمیایی شده همراه با فرآوری فیزیکی بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - پولکی در جیره گاوهای شیری فستولا شده بر تغییرات پتانسیل ردوکس شکمبه

Figure 3-The effect of various chemically processed barley grain accompany through steam-infrared-flaked in rumen-fistulated Holstein dairy cows diets on variation of redox potential

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) دانه جو بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - پولکی بدون هیچ عمل آوری شیمیایی (شاهد، SIFB₀)، ۲) دانه جو بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - پولکی عمل آوری شده با بی کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAb})، ۳) دانه جو بخار پز - تشعشعی مادون قرمز - پولکی عمل آوری شده با بی کربنات آمونیوم و اسید لاکتیک (SIFB_{LaAp})

Experimental treatments were: 1) steam- infrared-flaked of barley grain (SIFB₀), 2) Steam- infrared-flaked of barley grain treated with extract of *Acanthophyllum* and lactic acid (SIFB_{LaAp}), 3) Steam- infrared-flaked of barley grain treated with ammonium bicarbonate and lactic acid (SIFB_{LaAb}).

ردوکس، منعکس کننده عدم وجود اکسیژن و قدرت کاهندگی قوی محیط اکسیژن است (Huang et al., 2022). پتانسیل ردوکس مایع شکمبه در کنترل فعالیت‌های آنزیمی ریزجانداران شکمبه نقش دارد (Dijkstra et al., 2020). بر طبق گزارش تورس تینسون و همکاران (Thorsteinsson et al., 2023) و نیز ریت من و همکاران (Rietmann et al., 2023) بین pH شکمبه و مقدار پتانسیل ردوکس شکمبه همبستگی منفی وجود دارد.

نتیجه‌گیری کلی

در این آزمایش، از عصاره ریشه چوبک (غنی از ساپونین) و بی‌کربنات آمونیوم همراه با اسید لاکتیک استفاده شد. به دنبال عمل‌آوری شیمیایی، فرآوری فیزیکی با روش بخارپز-امواج مادون قرمز-پولکی انجام شد. نتایج نشان داد که مصرف ماده خشک، تولید شیر، شیر تصحیح شده براساس انرژی و نیز تصحیح شده براساس ۳/۵ درصد چربی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. عمل‌آوری‌های شیمیایی سبب افزایش درصد چربی، پروتئین، مواد جامد و نیتروژن اوره‌ای شیر شد. نیتروژن اوره‌ای خون و پروتئین کل سرم در ساعت‌های متفاوت پس از خوراک‌دهی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، نشاسته و پروتئین در نتیجه عمل‌آوری شیمیایی دانه جو افزایش پیدا کرد. غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی و زمان پس از مصرف خوراک قرار گرفت، از سویی دیگر، pH و پتانسیل ردوکس مایع شکمبه تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند. انجام همزمان هر دو نوع فرآوری روی دانه جو به‌عنوان یک روش جدید باعث بهبود ترکیب شیر و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در گاوهای مصرف‌کننده این نوع از دانه‌ها شود.

در ارتباط با عمل‌آوری شیمیایی با اسید لاکتیک و تأثیر آن بر pH شکمبه‌ای، بیان شده است که مقدار آن با غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه‌ای ارتباط معکوس دارد (Iqbal et al., 2012). بیان شده است که یکی از دلایل تغییر pH شکمبه‌ای، تغییر در غلظت مواد مغذی است که این امر می‌تواند بر pH شکمبه‌ای اثر بگذارد (Humer et al., 2015). تغییر در فعالیت ریزجانداران شکمبه از دیگر عوامل تغییر pH به هنگام فرآوری با اسید لاکتیک است، چرا که باعث افزایش مدت زمان تأخیر (Lag time) فعالیت ریزجانداران شده که این امر بر فرآیند تجزیه‌پذیری مواد مغذی به‌ویژه نشاسته تأثیر گذاشته و می‌تواند از افت ناگهانی pH جلوگیری کند (Deckardt et al., 2014). یک احتمال دیگر برای افزایش pH در زمان عمل‌آوری با اسید لاکتیک، افزایش فعالیت باکتری‌های مصرف‌کننده لاکتات و کاهش غلظت آن در مایع شکمبه است (Mao et al., 2008). ناصرالاسلامی و همکاران (Naseroleslami et al., 2022) بیان کردند که عمل‌آوری شیمیایی دانه جو با ترکیبات گیاهی و مواد آلكالینی، غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه را نسبت به دانه‌های جو خام افزایش می‌دهد، که نتایج این پژوهش، آن را تأیید می‌کند. آن‌ها کاهش تجزیه‌پذیری نشاسته در شکمبه و عدم تأمین انرژی کافی برای ریزجانداران برای جذب آمونیاک را، علت تفاوت غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه بیان کردند. عمل‌آوری شیمیایی دانه ذرت با آمونیاک هیچ تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه نداشت، که نتایج آزمایش حاضر، آن را تأیید نمی‌کند (Huang et al., 2022). عمل‌آوری با بی‌کربنات آمونیوم احتمالاً نیتروژن را برای ریزجانداران شکمبه فراهم کرده و در نتیجه، غلظت نیتروژن آمونیاکی افزایش پیدا می‌کند.

پتانسیل ردوکس مایع شکمبه در ناحیه بین ۵۰- تا ۴۴۰- گزارش شده است (Friedman et al., 2017). مقادیر منفی پتانسیل

References

- Albornoz, R. I., & Allen, M. S. (2018). Highly fermentable starch at different diet starch concentrations decreased feed intake and milk yield of cows in the early postpartum period. *Journal of Dairy Science*, 101(10), 8902-8915. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14843>
- Belanche, A., Martín-García, I., Jiménez, E., Jonsson, N. N., & Yañez-Ruiz, D. R. (2021). A novel ammoniation treatment of barley as a strategy to optimize rumen pH, feed degradability and microbial protein synthesis in sheep. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(13), 5541-5549. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11205>
- Bertoni, G., Trevisi, E., Han, X., & Bionaz, M. (2008). Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91(9), 3300-3310. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-0995>
- Brzóška, F. (2005). Effect of soybean meal protected with Ca salts of fatty acids on cows' yield, protein and fat components in milk and blood. *Annals of Animal Science*, 5, 111-123.
- Chen, X., Shao, S., Chen, M., Hou, C., Yu, X., & Xiong, F. (2020). Morphology and physicochemical properties of starch from waxy and non-waxy barley. *Starch-Stärke*, 72(5-6), 1900206. <https://doi.org/10.1002/star.201900206>
- Dabestani, M., Yeganehzad, S., & Miller, R. (2021). A natural source of saponin: Comprehensive study on

- interfacial properties of Chubak (*Acanthophyllum Glandulosum*) root extract and related saponins. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 630, 127594 .
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127594>
7. Deckardt, K., Khiaosa-ard, R., Grausgruber, H., & Zebeli, Q. (2014). Evaluation of various chemical and thermal feed processing methods for their potential to enhance resistant starch content in barley grain. *Starch-Stärke*, 66(5-6), 558-565. <https://doi.org/10.1002/star.201300200>
8. Dehghan-Banadaky, M., Corbett, R., & Oba, M. (2007). Effects of barley grain processing on productivity of cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 137(1-2), 1-24 .<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.11.021>
9. Dijkstra, J., Van Gastelen, S., Dieho, K., Nichols, K., & Bannink, A. (2020). Rumen sensors: Data and interpretation for key rumen metabolic processes. *Animal*, 14(S1), s176-s186 .
<https://doi.org/10.1017/s1751731119003112>
10. Erdman, R. A. 2011. Monitoring feed efficiency in dairy cows using fat-corrected milk per unit dry matter intake. Pages 69–79 in Proc. Mid-Atlantic Nutrition Conference, University of Maryland, College Park. Mid-Atlantic Feed Industry Council.
11. Ebrahimi, S. H. (2020). Feeding complete concentrate pellets containing ground grains or blend of steam-flaked grains and other concentrate ingredients in ruminant nutrition—A review. *Annals of Animal Science*, 20(1), 11-28 .
<https://doi.org/10.2478/aoas-2019-0055>
12. Friedman, N., Shriker, E., Gold, B., Durman, T., Zarecki, R., Rupp, E., & Mizrahi, I. (2017). Diet-induced changes of redox potential underlie compositional shifts in the rumen archaeal community. *Environmental Microbiology*, 19(1), 174-184. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13551>
13. Gruber, L., Khol-Parisini, A., Humer, E., Abdel-Raheem, S. M., & Zebeli, Q. (2017). Long-term influence of feeding barley treated with lactic acid and heat on performance and energy balance in dairy cows. *Archives of Animal Nutrition*, 71(1), 54-66. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2016.1253226>
14. Harder, H., Khol-Parisini, A., & Zebeli, Q. (2015). Modulation of resistant starch and nutrient composition of barley grain using organic acids and thermal cycling treatments. *Starch-Stärke*, 67(7-8), 654-662. <https://doi.org/10.1002/star.201500040>
15. Hart, K., Yáñez-Ruiz, D. R., Duval, S., McEwan, N., & Newbold, C. (2008). Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 147(1-3), 8-35. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.007>
16. Hristov, A., 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>
17. Huang, Y., Jones, R., Compiani, R., Grossi, S., Johnson, P., Eckersall, P., Rossi, C. S., & Jonsson, N. (2022). Effects of ammonia-treated maize on growth performance of beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 290, 11535 .<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115350>
18. Huang, Y., Marden, J., Julien, C., & Bayourthe, C. (2018). Redox potential: An intrinsic parameter of the rumen environment. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(2), 393-402. .
<https://doi.org/10.1111/jpn.12855>
19. Humer, E., Khol-Parisini, A., Gruber, L., Gasteiner, J., Abdel-Raheem, S. M., & Zebeli, Q. (2015). Long-term reticulorumen pH dynamics and markers of liver health in early-lactating cows of various parities fed diets differing in grain processing. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 6433-6448. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9522>
20. Humer, E., & Zebeli, Q. (2017). Grains in ruminant feeding and potentials to enhance their nutritive and health value by chemical processing. *Animal Feed Science and Technology*, 226, 133-151 .
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.02.005>
21. Iqbal, S., Terrill, S., Zebeli, Q., Mazzolari, A., Dunn, S., Yang, W., & Ametaj, B. (2012). Treating barley grain with lactic acid and heat prevented sub-acute ruminal acidosis and increased milk fat content in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 172(3-4), 141-149 .<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.024>
22. Iqbal, S., Zebeli, Q., Mazzolari, A., Bertoni, G., Dunn, S., Yang, W., & Ametaj, B. (2009). Feeding barley grain steeped in lactic acid modulates rumen fermentation patterns and increases milk fat content in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92(12), 6023-6032 .<https://doi.org/10.3168/jds.2009-2380>
23. Jacob, J., & Pescatore, A. (2012). Using barley in poultry diets—A review. *Journal of Applied Poultry Research*,

- 21(4), 915-940. <https://doi.org/10.3382/japr.2012-00557>
24. Kheirandish, P., Mesgaran, M. D., Javadmanesh, A., Mohri, M., Khafipour, E., & Vakili, S. A. (2022). Effect of processed barley grain on in vitro rumen fermentation and fate of nitrogen metabolism. https://ijas.rasht.iau.ir/article_697486_46aff2394cff507ae15ef4141bab1c7.pdf
 25. Khosrow Shahi, S., Didar, Z., Hesarinejad, M. A., & Vazifedoost, M. (2021). Optimized pulsed electric field-assisted extraction of biosurfactants from Chubak (*Acanthophyllum squarrosum*) root and application in ice cream. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(9), 3693-3706. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11000>
 26. Kohn, R., Dinneen, M., & Russek-Cohen, E. (2005). Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats. *Journal of Animal Science*, 83(4), 879-889. <https://doi.org/10.2527/2005.834879x>
 27. Malekjahani, F., Mesgaran, M. D., Vakili, A., Sadeghi, M., & Yu, P. (2017). A novel approach to determine synchronization index of lactating dairy cow diets with minimal sensitivity to random variations. *Animal Feed Science and Technology*, 225, 143-156. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.11.010>
 28. Malekhhahi, M., Naserian, A. A., Rahimi, A., Bazgir, A., Vyas, D., & Razzaghi, A. (2021). Effects of ground, steam-flaked, and super-conditioned corn grain on production performance and total-tract digestibility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104(6), 6756-6767. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19202>
 29. Mao, S., Zhang, G., & Zhu, W. (2008). Effect of disodium fumarate on ruminal metabolism and rumen bacterial communities as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA. *Animal Feed Science and Technology*, 140(3-4), 293-306. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.001>
 30. Naseroleslami, R., Danesh Mesgaran, M., Tahmasbi, A., Vakili, A., & Danesh Mesgaran, S. (2022). Diets containing processed barley grain as a potential rumen bypass starch source enhance productive responses of lactating Holstein dairy cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 106(3), 506-516. <https://doi.org/10.1111/jpn.13635>
 31. Naseroleslami, R., Mesgaran, M. D., Tahmasbi, A., Vakili, S. A., & Ebrahimi, S. H. (2018). Influence of barley grain treated with alkaline compounds or organic extracts on ex vivo site and extent of digestion of starch. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(2), 230. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0212>
 32. Nocek, J. E., & Tamminga, S. (1991). Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3598-3629. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78552-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78552-4)
 33. Orth, R. 1992. Sample day and lactation report. DHIA 200 Fact Sheet A-2. Mid-states DRPC.
 34. Östman, E. M., Nilsson, M., Elmståhl, H. L., Molin, G., & Björck, I. (2002). On the effect of lactic acid on blood glucose and insulin responses to cereal products: mechanistic studies in healthy subjects and *in vitro*. *Journal of Cereal Science*, 36(3), 339-346. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2002.0469>
 35. Piccioli-Cappelli, F., Loor, J., Seal, C., Minuti, A., & Trevisi, E. (2014). Effect of dietary starch level and high rumen-undegradable protein on endocrine-metabolic status, milk yield, and milk composition in dairy cows during early and late lactation. *Journal of Dairy Science*, 97(12), 7788-7803. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8336>
 36. Plascencia, A., González-Vizcarra, V. M., & Zinn, R. A. (2018). Comparative effects of grain source on digestion characteristics of finishing diets for feedlot cattle: Steam-flaked corn, barley, wheat, and oats. *Canadian Journal of Animal Science*, 98(4), 794-800. <https://doi.org/10.1139/cjas-2018-0018>
 37. Rietmann, S. J., Gäbel, G., & Dengler, F. (2023). The intraruminal redox potential is stabilised by opposing influences during fermentation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 107(1), 53-61. <https://doi.org/10.1111/jpn.13697>
 38. Røjen, B. A., & Kristensen, N. B. (2012). Effect of time duration of ruminal urea infusions on ruminal ammonia concentrations and portal-drained visceral extraction of arterial urea-N in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 95(3), 1395-1409. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4475>
 39. 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>
 40. Safaei, K., Ghorbani, G., Alikhani, M., Sadeghi-Sefidmazgi, A., & Yang, W. (2017). Response of lactating dairy cows to degree of steam-flaked barley grain in low-forage diets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 101(5), e87-e97. <https://doi.org/10.1111/jpn.12565>
 41. Shahri, A. K., Mesgaran, M. D., & Zahmatkesh, D. (2019). Effect of feeding of various types of soybean meal and

- differently processed barley grain on performance of high producing lactating Holstein dairy cows .
42. Shen, J., Chai, Z., Song, L., Liu, J., & Wu, Y. (2012). Insertion depth of oral stomach tubes may affect the fermentation parameters of ruminal fluid collected in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 5978-5984 .
<https://doi.org/10.3168/jds.2012-5499>
 43. 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>
 44. Thorsteinsson, M., Maigaard, M., Lund, P., Weisbjerg, M. R., & Nielsen, M. O. (2023). Effect of fumaric acid in combination with *Asparagopsis taxiformis* or nitrate on in vitro gas production, pH, and redox potential. *JDS Communications*, 4(5), 335-339. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2022-0259>
 45. Van Keulen, J., & Young, B. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44(2), 282-287 .<https://doi.org/10.2527/jas1977.442282x>
 46. Van Soest, P. v., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
 47. Wanapat, M., Cherdthong, A., Pakdee, P., & Wanapat, S. (2008). Manipulation of rumen ecology by dietary lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.) powder supplementation. *Journal of Animal Science*, 86(12), 3497-3503. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-0885>
 48. Weatherburn, M. W. (1967). Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 39(8), 971-974. <https://doi.org/10.1021/ac60252a045>
 49. Zebeli, Q., Dijkstra, J., Tafaj, M., Steingass, H., Ametaj, B., & Drochner, W. (2008). Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. *Journal of Dairy Science*, 91(5), 2046-2066 .<https://doi.org/10.3168/jds.2007-0572>
 50. Zhong, R., Li, J., Gao, Y., Tan, Z., & Ren, G. (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>



Impact of Milk Enrichment with Manganese Supplement in Organic and Inorganic Forms on Performance, Biochemical, Antioxidant Parameters and Feeding Behavior of Suckling Calves

Ayda Teymouri¹, Abdolhakim Toghdory^{2*}, Taghi Ghoorchi³, Mohammad Asadi⁴

1, 2, 3 and 4- M.Sc. Graduated, Assistant Professor, Professor, and Ph.D. Graduated, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran, respectively

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

How to cite this article:

Received: 07-10-2024
Revised: 08-12-2024
Accepted: 11-12-2024
Available Online: 23-04-2025

Teymouri, A., Toghdory, A., Ghoorchi, T., & Asadi, M. (2025). Impact of milk enrichment with manganese supplement in organic and inorganic forms on performance, biochemical, antioxidant parameters and feeding behavior of suckling calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(1), 21-33. (in Persian with English abstract).
<http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.89957.1216>

Introduction: Newborn calves have special needs to accelerate their growth performance and improve their immune systems. Minerals are one of the most important metabolic improvers that can help the health of calves at overnutrition levels. Manganese is a necessary trace mineral that is a key ingredient in the metabolism of carbohydrates, lipids and, proteins, as well as playing an important role as a cofactor in the activity of several enzyme systems such as superoxide dismutase (MnSOD) activity, bone development (mucopolysaccharide synthesis) and blood cell regeneration. Manganese plays several important roles in the immune system, including its involvement in antioxidant pathways, its contribution to phagocytic activity, and its role in maintaining the structural integrity of epithelial barriers against infections. Manganese can be supplemented in both inorganic and organic forms, each with differing levels of bioavailability and absorption. Therefore, this study was conducted to investigate the impact of milk enrichment with manganese supplements, in both organic and inorganic forms, on the performance, biochemical and antioxidant parameters, and feeding behavior of suckling calves.

Materials and Methods: 24 newborn calves were randomly divided into 3 groups with 8 replications. Experimental treatments include: 1) control group (without manganese supplementation), 2) Adding mineral manganese supplement to milk consumption and 3) Adding organic manganese supplements to milk consumption. The amount of manganese used in the milk of each calf was 30 mg per day. Manganese is dissolved in milk and consumed by calves. Calves were milked twice in the morning and evening and had free access to water and starter feed during the day. The length of the trial period was 63 days. Calves were weighed every 21 days. The amount of feed consumed and post-feed was recorded daily. To measure blood metabolites including biochemical parameters, concentration of blood elements, antioxidant status and activity of liver enzymes, blood samples were taken from calf vein on day 60. Finally, during the 61st to 63rd days of the experimental period, nutritional behaviors were



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/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.2024.89957.1216>

measured for a duration of 48 hours. Data analysis was done using SAS statistical software version 9/1 (2004) and comparisons of means were done with Tukey's test at a significance level of 5 percent.

Results and Discussion: The obtained results showed that the calves fed with milk enriched with manganese in organic and inorganic forms compared to the calves of the control group, a significant improvement in final weight, period weight gain, daily weight gain and dry matter consumption was observed. The use of organic and inorganic forms of manganese in the feeding of suckling calves did not have a significant effect on the feed conversion ratio of the calves. There was no significant effect on the amount of iron, zinc, copper, calcium and phosphorus of different treatments. The amount of plasma manganese in the treatment using organic manganese was associated with a significant increase compared to the treatment using inorganic manganese and the control treatment. The use of organic and mineral sources of manganese in the feeding of calves had no significant effect on triglyceride, cholesterol, urea, globulin and the ratio of albumin to globulin in the blood of calves. Organic and mineral sources of manganese increased the amount of glucose, total protein and albumin in the blood, so that the most significant increase was seen in the treatment of organic manganese users. Inorganic and organic forms of manganese did not cause significant changes in the amount of malondialdehyde, aspartate aminotransferase, and alkaline phosphatase in the blood of supplement consuming groups. In treatments using manganese, there was a significant decrease in total antioxidant status and a significant increase in the amount of catalase, superoxide dismutase, and alanine aminotransferase. The use of manganese supplement in organic and inorganic forms had no effect on the nutritional behaviors of calves such as milking, feeding, rumination, jaw rest, drinking water, unusual behavior, standing and lying down.

Conclusion: Enriching milk with manganese supplement in organic and inorganic forms improved performance, weight gain, dry matter intake, total antioxidant status, and catalase and alanine aminotransferase and biochemical status in groups consuming milk containing manganese. Based on the results of this study, it is recommended to supplement the milk of newborn calves with 30 mg of organic manganese. Organic manganese showed improved effects on key parameters, including plasma manganese concentration, glucose levels, total protein, and superoxide dismutase (SOD) activity.

Keywords: Antioxidant status, Blood parameters, Manganese, Performance, Suckling calves

تأثیر غنی سازی شیر با مکمل منگنز به شکل های آلی و معدنی بر عملکرد، فراسنجه های بیوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و رفتار مصرف گوساله های شیرخوار

آیدا تیموری^۱، عبدالحکیم توغدوری^{۲*}، تقی قورچی^۳، محمد اسدی^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۱

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر غنی سازی شیر با منگنز به شکل های آلی و معدنی بر عملکرد رشد، فراسنجه های بیوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و رفتار مصرف گوساله های شیرخوار، با استفاده از ۲۴ رأس گوساله تازه به دنیا آمده به مدت ۶۳ روز در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و هشت تکرار انجام شد. گوساله های شاهد با شیر بدون مکمل منگنز تغذیه شدند. گوساله های سایر گروه ها به ترتیب با شیر غنی شده با ۳۰ میلی گرم از مکمل منگنز معدنی و آلی (به ازای هر رأس گوساله در روز) تغذیه شدند. نتایج نشان داد که تیمارهای دریافت کننده منگنز آلی و معدنی، افزایش معنی داری در وزن نهایی، افزایش وزن روزانه، افزایش وزن دوره و ماده خشک مصرفی نسبت به شاهد داشتند. همچنین غلظت منگنز پلاسما، گلوکز، پروتئین کل و آلبومین در گروه دریافت کننده منگنز آلی نسبت به سایر گروه ها بیشترین افزایش را داشت. در رابطه با فراسنجه های آنتی اکسیدانی و آنزیم های کبدی نیز، در گروه های دریافت کننده منگنز به شکل های معدنی و آلی در وضعیت آنتی اکسیدانی کل، کاتالاز و آلانین ترانس آمیناز بهبود مشاهده شد و فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در گروه دریافت کننده منگنز آلی با افزایش همراه بود. استفاده از منگنز به شکل های آلی و معدنی در تغذیه گوساله شیرخوار می تواند اثرات سودمندی بر عملکرد رشد، فراسنجه های خونی و وضعیت آنتی اکسیدانی دام داشته باشد، اما به طور کلی، با توجه به نتایج حاضر، افزودن ۳۰ میلی گرم منگنز آلی به شیر گوساله ها توصیه می شود.

واژه های کلیدی: عملکرد، فراسنجه های خونی، گوساله شیرخوار، منگنز، وضعیت آنتی اکسیدانی

مقدمه

مکمل شده از مواد معدنی مورد نیاز تغذیه شوند. منگنز از جمله عناصر معدنی کم مصرف است که به عنوان جزئی از متالوآنزیم های مختلف و یک کوفاکتور برای بسیاری از آنزیم ها، در متابولیسم لیپید، کربوهیدرات و پروتئین نقش دارد (Gresakova et al., 2016). علاوه بر این، نقش مهمی در محافظت از سلول ها در برابر آسیب اکسیداتیو، تشکیل کلاژن و استخوان و سیستم های تولید مثل و ایمنی ایفا می کند (Spears, 2019). منگنز با ساخت غضروف جهت تشکیل صفحات استخوانی، به طور مستقیم رشد استخوان های بلند را تحت تأثیر قرار می دهد (Moazeni Zadeh et al., 2023). همچنین با حضور در آنزیم منگنز-سوپراکسیددیسموتاز موجود در ماتریکس میتوکندری باعث تبدیل رادیکال های سوپراکسید به هیدروژن پراکسید و متعاقباً تشکیل سد آنتی اکسیدانی می گردد. کمبود منگنز می تواند موجب اختلال در رشد و ناهنجاری های اسکلتی شود (McDowell, 2005).

کمتر از ۰/۰۱ درصد وزن بدن دام ها از مواد معدنی کم مصرف تشکیل شده است، اما وظایف و نقش آن ها در بدن بسیار حیاتی است (Asadi et al., 2022). گوساله های تازه متولد شده به دلیل احتیاجات ویژه ای که جهت بهبود و تسریع رشد، تکمیل سیستم ایمنی خود دارند، و همچنین به علت اینکه گوساله های شیرخوار در مقایسه با گاو های بزرگسال بیشتر دچار کمبود مواد معدنی شده و ظرفیت کمی برای ذخیره دارند و به هنگام کمبود، دسترسی به ذخایر موجود در بدن ندارند (Kasiani et al., 2020)، بنابراین باید از شیر یا خوراک

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استادیار، استاد و دانش آموخته دکتری گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

(*) نویسنده مسئول:

(Email: toghdory@gau.ac.ir)

<http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.89957.1216>

غنی شده با ۳۰ میلی گرم از مکمل منگنز معدنی و آلی (به ازای هر رأس گوساله در روز) تغذیه شدند. مکمل معدنی منگنز به شکل منگنز سولفات (Manganese sulfate) از شرکت کیمیا رشد واقع در استان گلستان و مکمل آلی منگنز به شکل منگنز کیلات شده با اسید آمینه (Amino Mn) از شرکت توسعه مکمل فناوری آریانا واقع در شهر مشهد تهیه شدند. برای اندازه گیری غلظت منگنز شیر، ۱۰ نمونه ۱۵-۲۰ میلی لیتری تهیه شد و از دستگاه طیف سنج جذب اتمی شعله ای مدل (Shimadzu-AA-670) با طول موج ۲۷۹/۵ نانومتر استفاده شد. غلظت منگنز شیر ۰/۳-۰/۴ میلی گرم بر لیتر برآورد شد. گوساله ها در طول دوره به صورت روزانه به مقدار ۱۰ درصد وزن بدن، در دو نوبت هفت صبح و هفت عصر شیر دریافت کردند؛ پیش از تغذیه شیر، مکمل های منگنز مربوط به هر تیمار در شیر کاملاً حل شد و به گوساله ها تغذیه شد. جیره آغازین مورد استفاده و مواد مغذی در جدول ۱ آمده است. گوساله ها در طول آزمایش به طور آزاد به آب و خوراک دسترسی داشتند.

تغییرات وزنی

به منظور بررسی فاکتورهای عملکردی و بررسی تغییرات وزنی روزانه و کل، گوساله ها هر ۲۱ روز وزن کشی شدند، خوراک روزانه به صورت کاملاً مخلوط به دام ها عرضه شده و باقی مانده خوراک برای هر دام در هر روز توزین و ثبت می شد. خوراک مصرفی هر دام نیز از تفاوت جیره ارائه شده و باقی مانده خوراک هر دام محاسبه گردید. همچنین افزایش مقدار خوراک ارائه شده به دام ها بر اساس باقی مانده خوراک هر دام در روز بعد مشخص شد، به طوری که اگر دام در سه روز متوالی پس آخور کمتر از ۱۰ درصد باقی گذاشت، خوراک دام افزایش یافت (Asadi et al., 2019). برای محاسبه تغییرات وزن، وزن کشی دام ها به صورت هفتگی، پس از ۱۶ ساعت گرسنگی با استفاده از ترازوی دیجیتال صورت گرفت.

مصرف ماده خشک با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد:

معادله (۱)

$۸۸\% \times \text{خوراک آغازین مصرفی} + ۱۲\% \times \text{مصرف شیر} = \text{مصرف ماده خشک}$

فراسنجه های خونی

جهت بررسی تغییرات فراسنجه های خونی تیمارها، در روز پایانی پژوهش از شش رأس گوساله در هر تیمار، از سیاهرگ و داج گوساله ها با استفاده از لوله های ونوجکت خون گیری انجام شد و بلافاصله نمونه ها به منظور جداسازی سرم از پلاسما، در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و تا روز آزمایش در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

منگنز مورد استفاده در تغذیه دام، به دو شکل معدنی و آلی است. وجود بار الکتریکی منفی در نمک های معدنی مانند منگنز سولفات و منگنز اکسید باعث رقابت در جذب این عناصر در دستگاه گوارش و در نتیجه کاهش قابلیت دسترسی آن ها می گردد (Toghdory et al., 2023). شکل آلی مواد معدنی، قابلیت دسترسی بهتری در دستگاه گوارش دارد و می تواند اثرات مثبتی بر دام بگذارد (Siciliano et al., 2008). پایداری بالقوه بالاتر کمپلکس منگنز-اسید آمینه در دستگاه گوارش و محافظت از تشکیل کمپلکس با سایر اجزاء رژیم غذایی ممکن است منجر به جذب بهتر منگنز و در نتیجه، رسوب بالاتر آن در بافت های حیوانی شود (Gresakova et al., 2016). در مطالعات متعددی گزارش شده است که شکل آلی مواد معدنی نسبت به شکل معدنی آن ها باعث بهبود رشد، عملکرد و جذب عناصر و همچنین کاهش دفع عناصر از بدن می گردد (Henry Meng et al., 2021; et al., 1992). در مطالعه ای، استفاده از منگنز آلی سبب افزایش منگنز پلاسما، پروتئین کل، گلوکز، و سوپراکسید دیسموتاز در میش های مادر و بره های آن ها شد (Toghdory et al., 2023). در پژوهش دیگری، استفاده از منگنز معدنی به همراه عناصر روی، مس و آهن در تغذیه گوساله های شیرخوار سبب بهبود استخوان سازی، فراسنجه های بیوشیمیایی، هورمونی، آنزیمی و سوخت و ساز پایه سلول ها شد (Moazeni Zadeh et al., 2023). از طرفی دیگر، جایگزینی شکل آلی عناصر منگنز، روی، مس و سلنیوم با شکل معدنی آن ها باعث افزایش منگنز سرم خون شد و تأثیر مثبت در رشد و بازدهی مصرف خوراک آغازین گوساله ها داشت (Kasiani et al., 2020).

با توجه به اینکه تاکنون مطالعات و آزمایشات معدودی در مورد تأثیر منگنز به شکل های معدنی و آلی در تغذیه گوساله ها انجام شده است، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر غنی سازی شیر با مکمل منگنز به شکل های آلی و معدنی بر عملکرد، فراسنجه های بیوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و رفتار مصرف گوساله های شیرخوار صورت گرفت.

مواد و روش ها

این پژوهش، در واحد دامپروری صنعتی دام نمونه زروان واقع در شهر گرگان به مدت ۶۳ روز انجام گردید. در این پژوهش، از تعداد ۲۴ رأس گوساله تازه متولد شده نژاد هلشتاین، در سه تیمار با هشت تکرار بر پایه طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. گوساله ها پس از تولد به مدت پنج روز تحت مراقبت های ویژه بهداشتی و دریافت آغوز قرار گرفتند و سپس وارد طرح آزمایشی شدند. گوساله های شاهد با شیر بدون مکمل منگنز تغذیه شدند. گوساله های سایر گروه ها به ترتیب با شیر

جدول ۱- اجزاء جیره و مواد مغذی و انرژی جیره آغازین

Table 1- Feed ingredient and nutrients and energy of the starter diet

اجزاء مواد خوراکی Feed ingredient	مقدار Amount
ذرت (درصد) Corn (%)	40.00
جو (درصد) Barley (%)	12.50
کنجاله سویا (درصد) Soybean meal (%)	35.00
تفاله چغندر قند (درصد) Sugar beet pulp (%)	5.00
سبوس گندم (درصد) Wheat bran (%)	5.00
مکمل معدنی ^۱ (درصد) Mineral supplement ¹ (%)	0.30
مکمل ویتامینی ^۲ (درصد) Vitamin supplement ² (%)	0.30
سنگ آهک (درصد) Limestone (%)	0.80
نمک (درصد) Salt (%)	0.50
جوش شیرین (درصد) Bicarbonate (%)	0.50
مخمر (درصد) Yeast (%)	0.05
پودر چربی (درصد) Fat powder (%)	0.05
مواد مغذی و انرژی Nutrients and energy	
ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	90.00
انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم) Metabolizable energy (Mcal/kg DM)	2.51
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	18.32
چربی خام (درصد) Crude fat (%)	3.54
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) Neutral detergent fiber (%)	20.74
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد) Acid detergent fiber (%)	9.80
خاکستر (درصد) Ash (%)	7.30
کلسیم (درصد) Calcium (%)	1.42
فسفر (درصد) Phosphorus (%)	0.71

^۱ مکمل معدنی: ۱۹۵ گرم کلسیم، ۹۰ گرم فسفر، ۲۰ گرم منیزیم، ۳ گرم روی، ۱۰۰ میلی گرم کبالت، ۱۰۰ میلی گرم ید، ۴۰۰ میلی گرم آنتی اکسیدان‌ها، ۱۰ میلی گرم سلنیت سدیم در هر کیلوگرم مکمل

^۲ مکمل ویتامینی: ویتامین A ۱۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین D₃ ۲۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی در هر کیلوگرم مکمل

¹ Mineral supplement: 195 g calcium; 90 g phosphorus; 20 g magnesium; 3 g Zinc; 3 g iron; 280 mg copper; 100 mg cobalt; 100 mg iodine; 400 mg antioxidants; 10 mg sodium selenite per kg supplement

² Vitamin A 1000000 IU, Vitamin D₃ 250000 IU, Vitamin E 3000 IU per kg supplement

فراسنجه‌های بیوشیمیایی (گلوکز، کلوسترول، تری‌گلیسرید، اوره و پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین) نمونه‌های مورد مطالعه توسط کیت شرکت پارس آزمون به روش فتومتریک اندازه‌گیری شد و عناصر معدنی سرم خون (منگنز، آهن، روی، کلسیم، فسفر و مس) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و کیت‌های خودکار شرکت پارس آزمون تعیین شدند. مقدار آنتی‌اکسیدانی کل، کاتالاز، مالون‌دی‌آلدئید و سوپراکسید دیسموتاز، در پلاسماي خون اندازه‌گیری شد.

رفتار مصرف خوراک

طی روزهای ۶۲ و ۶۳ دوره آزمایش، رفتار مصرف خوراک به‌صورت ثبت فعالیت برای طول مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. زمان صرف‌شده برای فعالیت‌های خوردن، استراحت و نشخوار کردن به‌فاصله هر پنج دقیقه به‌صورت چشمی و با فرض اینکه آن فعالیت در پنج دقیقه گذشته نیز ادامه داشته است برای تمام دام‌ها در طی ساعات شبانه‌روز ثبت گردید (Webster and Saville, 1982).

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از مدل آماری زیر استفاده شد:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad (2) \text{ معادله}$$

که در آن، Y_{ij} : مقدار مشاهده، μ : اثر میانگین، T_i : اثر تیمار و e_{ij} : اثر خطای آزمایشی است. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به تأثیر غنی‌سازی شیر با مکمل منگنز به شکل‌های آلی و معدنی بر عملکرد گوساله‌های شیرخوار در جدول ۲ نشان داده شده است. استفاده از شکل‌های آلی و معدنی منگنز در تغذیه گوساله‌ها، تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی گوساله‌ها نداشت ($P > 0.05$). در گوساله‌های تغذیه‌شده با شیر غنی‌شده با منگنز آلی و معدنی نسبت به گوساله‌های گروه شاهد، بهبود معنی‌داری در وزن نهایی، افزایش وزن دوره، افزایش وزن روزانه، مصرف کل ماده خشک، مصرف ماده خشک آغازین و مصرف ماده خشک شیر مشاهده شد ($P < 0.05$). در پژوهشی، جایگزینی منابع آلی با منابع غیرآلی مواد معدنی منگنز، روی، مس و سلنیوم تأثیر معنی‌داری بر کل ماده خشک مصرفی، وزن در هنگام شیرگیری، میانگین افزایش وزن روزانه و بازدهی خوراک گوساله‌ها نداشت (Kasiani et al., 2020). ایوان و هیدیراوغلو (Ivan and Hidirouglou, 1980)

گزارش کردند که سطوح مختلف منگنز تأثیری افزایش وزن گوسفندان نداشت، باین‌حال استفاده از مکمل‌های معدنی حاوی منگنز تغییری در میانگین افزایش وزن روزانه گوساله‌ها ایجاد نکرد (George et al., 1997). در پژوهشی، وزن نهایی، افزایش وزن روزانه، میانگین مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل خوراک گوساله‌های دریافت‌کننده شکل معدنی عناصر منگنز، روی، مس و آهن تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نداشت (Moazeni Zadeh et al., 2023). همچنین تغذیه مکمل معدنی عناصر مس، روی و منگنز در گوساله‌ها تأثیر معنی‌داری بر وزن بدن، افزایش وزن روزانه و مصرف ماده خشک روزانه نداشت (Ryan et al., 2015). استفاده از سه سطح کم، متوسط و زیاد مکمل منگنز، ید و مس در جیره گاومیش‌ها ابتدا باعث افزایش وزن و سپس کاهش وزن در تیمارهای استفاده‌کننده از مکمل شد و گروه مصرف‌کننده سطح متوسط بیشترین افزایش وزن را نسبت به گروه شاهد داشت، اما در رابطه با مصرف خوراک تغییری مشاهده نشد (Lu et al., 2023). استفاده از منگنز در تغذیه گوساله‌ها باعث افزایش اشتها، مصرف خوراک و به دنبال آن بهبود در عملکرد گوساله‌ها شده است. نتایج مختلف می‌تواند به دلیل نوع گونه، شکل و سطح مکمل منگنز، سن حیوان و توسعه دستگاه گوارش حیوان باشد.

نتایج مربوط به تأثیر غنی‌سازی شیر با مکمل منگنز به شکل‌های آلی و معدنی بر غلظت عناصر خون گوساله‌های شیرخوار در جدول ۳ نشان داده شده است. استفاده از اشکال مختلف منگنز تأثیر معنی‌داری بر مقدار آهن، روی، مس، کلسیم و فسفر تیمارهای مختلف نداشت ($P > 0.05$). مقدار منگنز پلاسما در تیمار مصرف‌کننده منگنز آلی، با افزایش معنی‌داری همراه بود ($P < 0.05$). برخلاف نتایج مطالعه حاضر، مکمل معدنی مس، آهن، روی و منگنز باعث افزایش معنی‌دار غلظت منگنز خون گوساله‌های شیرخوار نشد (Moazeni Zadeh et al., 2023). تجویز خوراکی منگنز به گاوهای شیری نیز باعث افزایش سطح پلاسمایی منگنز شد (Sansom et al., 1978). در مطالعه غلامی و همکاران (Gholami et al., 2021)، افزودن مکمل منگنز با شکل‌های آلی و معدنی سبب افزایش معنی‌داری در غلظت منگنز پلاسماي خون نسبت به گاوهای گروه شاهد نشد. در جایگزینی شکل غیرآلی با شکل آلی منگنز، روی، مس و سلنیوم در گوساله‌های شیرخوار، تنها افزایش معنی‌داری در سطح منگنز خون گوساله‌های تغذیه‌شده با منگنز آلی مشاهده شد (Kasiani et al., 2020). همچنین، گزارش شده است که شکل آلی منگنز نسبت به شکل اکسیده و سولفات آن، قابلیت جذب بهتری در دستگاه گوارش دارد (Henry et al., 1992). سازوکار جذب منگنز از طریق جذب بین سلولی غیراشباع است (Goff, 2017).

جدول ۲- تأثیر غنی‌سازی شیر با مکمل منگنز بر عملکرد گوساله‌های شیرخوار
Table 2- The effect of milk enrichment with manganese supplement on the performance of suckling calves

متغیر Variable	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments			SEM ¹	P-value
	شاهد	منگنز معدنی	منگنز آلی		
	Control	Inorganic manganese	Organic manganese		
وزن تولد (کیلوگرم) Born weight (kg)	34.12	35.08	34.89	2.001	0.4766
وزن نهایی (کیلوگرم) Final weight (kg)	62.79 ^b	66.73 ^a	67.49 ^a	2.692	0.0011
افزایش وزن کل دوره (کیلوگرم) Total weight gain (kg)	28.67 ^b	31.65 ^a	32.60 ^a	1.877	0.0469
افزایش وزن روزانه (گرم) Daily gain (g/d)	455.07 ^b	502.38 ^a	517.46 ^a	29.844	0.0218
ماده خشک مصرفی شیر (گرم/روز) Starter dry matter intake (g/d)	146.46 ^b	157.35 ^a	161.11 ^a	11.433	0.0627
ماده خشک مصرفی آغازین (گرم/روز) Milk dry matter intake (g/d)	1074.06 ^b	1153.89 ^a	1181.44 ^a	47.914	0.0011
کل ماده خشک مصرفی (گرم/روز) Total Dry matter intake (g/d)	1220.52 ^b	1311.24 ^a	1342.55 ^a	91.367	0.0001
ضریب تبدیل غذایی دوره Feed conversion rate	2.68	2.61	2.59	0.464	0.1501

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

^۱ خطای استاندارد تیمارها

a, b, c Means with different superscripts within a row differ ($P \leq 0.05$).

¹ Standard error of treatments

جدول ۳- تأثیر غنی‌سازی شیر با مکمل منگنز بر غلظت عناصر خون گوساله‌های شیرخوار
Table 3- The effect of milk enrichment with manganese supplement on Concentration of blood elements of suckling calves

عناصر Elements	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments			SEM ¹	P-value
	شاهد	منگنز معدنی	منگنز آلی		
	Control	Inorganic manganese	Organic manganese		
منگنز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Manganese (mg/dL)	0.87 ^b	0.92 ^b	1.12 ^a	0.0177	0.0001
آهن (میکروگرم/دسی‌لیتر) Iron (µg/dL)	1.76	1.81	1.79	0.543	0.7633
روی (میکروگرم/دسی‌لیتر) Zinc (µg/dL)	1.72	1.81	1.78	0.145	0.4359
کلسیم (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Calcium (mg/dL)	3.01	3.18	3.12	0.167	0.6798
فسفر (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Phosphorus (mg/dL)	1.82	1.76	1.89	0.191	0.3112
مس (میکروگرم/دسی‌لیتر) Copper (µg/dL)	0.78	0.72	0.82	0.107	0.3456

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

^۱ خطای استاندارد تیمارها

a, b, c Means with different superscripts within a row differ ($P \leq 0.05$).

¹ Standard error of treatments

(Baly et al., 1984) و فعال کننده در پیروات کربوکسیلاز (Rognstad, 1981) و فسفونول پیروات کربوکسی کیناز (Tolbert et al., 1981) و همچنین بسیج گلیکوزن کیدی از طریق ترشح گلوکاگون باشد (Baly et al., 1985). منگنز از طریق فعال سازی آنزیم‌ها بر متابولیسم پروتئین‌ها عمل می‌کند (Asadi et al., 2024) افزایش سطح آلبومین نیز ممکن است به دلیل افزایش جذب یا سنتز آلبومین در کبد باشد (Kerkaert et al., 2021; Suttle, 2010).

نتایج مربوط به تأثیر غنی سازی شیر با مکمل منگنز به شکل‌های آلی و معدنی بر وضعیت آنتی اکسیدانی و آنزیم‌های کیدی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۵ نشان داده شده است. شکل‌های معدنی و آلی منگنز تغییر معنی داری در مقدار مالون دی آلدئید، آسپارات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز خون گروه‌های مصرف کننده ایجاد نکرد ($P > 0.05$). در تیمارهای مصرف کننده منگنز در وضعیت آنتی اکسیدانی کل کاهش معنی دار و در میزان کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آلانین آمینوترانسفراز افزایش معنی داری مشاهده شد ($P < 0.05$). استفاده از سطوح مختلف منگنز آلی در جیره میش‌های آبستن، سبب افزایش معنی دار سطح سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز میش‌ها و بره‌ها شد، اما وضعیت آنتی اکسیدانی آن‌ها تغییر معنی داری نداشت (Asadi et al., 2024). در پژوهشی، استفاده از منابع آلی و غیر آلی منگنز، روی، مس و سلنیوم در تغذیه گوساله‌های شیرخوار، تغییر معنی داری در مقدار سوپراکسید دیسموتاز ایجاد نکرد (Kasiani et al., 2020). در پژوهشی گزارش شد که فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بین گاوهای گروه شاهد و گروه دریافت کننده مکمل حاوی مس، روی و منگنز تغییری ایجاد نکرد (Ahola et al., 2005). از نظر میزان آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و وضعیت آنتی اکسیدانی تام تفاوت معنی داری بین گوساله‌های گروه شاهد و تیمارهای دریافت کننده مکمل معدنی حاوی آهن، روی، منگنز و مس گزارش نشد (Moazeni Zadeh et al., 2023). مکمل تزریقی عناصر مس، روی، منگنز و سلنیوم بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز تأثیر معنی داری نداشت (Teixeira et al., 2014). همچنین استفاده از مکمل روی، مس و منگنز به شکل‌های آلی و معدنی تفاوت معنی داری در مقدار سوپراکسید دیسموتاز و وضعیت آنتی اکسیدانی کل ایجاد نکرد (Gholami et al., 2021). ارتباط تنگاتنگی بین وضعیت آنتی اکسیدانی بدن و سلامتی وجود دارد (Matés et al., 1999). سیستم دفاعی حیوانات شامل دو سازوکار آنزیمی و غیر آنزیمی است. سیستم‌های آنتی اکسیدانی آنزیمی شامل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتیون پراسیداز، مالون دی آلدئید و همچنین وضعیت آنتی اکسیدانی کل هستند (Masella et al., 2005). سوپراکسید دیسموتاز از آنزیم‌های مهم وابسته به منگنز و سایر عناصر معدنی بوده و یک متالوآنزیم بسیار قوی است، این آنزیم

شکل معدنی منگنز دارای بار الکتریکی مثبت است که باعث ایجاد رقابت با کاتیون‌های دیگر در جایگاه جذب جهت عبور از لایه مخاطی روده کوچک شده و میزان جذب منگنز را کاهش می‌دهد؛ این در حالی است که شکل آلی منگنز فاقد بار الکتریکی بوده و هنگام جذب هیچ گونه تداخل و رقابتی با سایر کاتیون‌ها ایجاد نمی‌نماید و به سرعت از دیواره روده عبور و به صورت مطلوب به وسیله دام جذب و مورد استفاده قرار می‌گیرد (Siciliano et al., 2008; McDowell, 2003). از سوی دیگر، شکل آلی منگنز باند شده با اسیدهای آمینه، کمتر تحت تأثیر pH و شرایط شکمبه و شیردان قرار می‌گیرد و در نهایت بهتر به مکان‌های جذب روده کوچک می‌رسند (Roshanzamir et al., 2019).

نتایج مربوط به تأثیر غنی سازی شیر با مکمل منگنز به شکل‌های آلی و معدنی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون گوساله‌های شیرخوار در جدول ۴ نشان داده شده است. استفاده از منابع آلی و معدنی منگنز بر تری گلیسیرید، کلسترول، اوره، گلوبولین و نسبت آلبومین به گلوبولین خون گوساله‌ها تأثیر معنی داری نداشت ($P > 0.05$). منابع منگنز باعث افزایش مقدار گلوکز، پروتئین کل و آلبومین در خون شد، به طوری که بیشترین افزایش معنی دار در تیمار مصرف کننده منگنز آلی دیده شد ($P < 0.05$). استفاده از منگنز آلی در جیره میش‌های آبستن، سبب افزایش معنی داری در غلظت گلوکز، پروتئین کل، آلبومین و انسولین در میش‌ها و گلوکز و انسولین در بره‌ها شد (Toghdory et al., 2023). استفاده از مکمل معدنی روی، مس، آهن و منگنز بر پارامترهای اندازه گیری شده در پژوهش حاضر در گوساله‌های شیرخوار تأثیر معنی داری نداشت (Moazeni Zadeh et al., 2023). سطوح مختلف و نوع منابع معدنی عناصر روی و مس تأثیر محسوسی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون گاوها نداشت (Roshanzamir et al., 2019). مطابق با پژوهش حاضر، مکمل منگنز بر غلظت کلسترول پلاسمایی تلیسه‌های آنگوس و سیمنتال تأثیری نداشت (Hansen et al., 2006). غلظت کلسترول و گلوکز در گاوهای شیری هلشتاین تحت تأثیر مکمل منگنز آلی (منگنز-گلیسین) قرار گرفت (Qashqai et al., 2020). منگنز سولفات تأثیری بر سطح گلوکز پلاسمای گاوهای آنگوس نداشت (Legleiter et al., 2005). شا کویر و همکاران (Shakweer et al., 2010) گزارش کردند که با استفاده از منگنز، سطح پروتئین کل و آلبومین پلاسما افزایش یافته است. همچنین در گوسفند، غلظت آلبومین در گروه مصرف کننده منگنز-گالاسین نسبت به گروه شاهد و گروه منگنز-سولفات بیشتر بود (Makov'a et al., 2019). مواد معدنی کمیاب، به ویژه منگنز، در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و پروتئین‌ها مهم هستند (Suttle, 2010; Kerkaert et al., 2021). افزایش گلوکز پلاسما ممکن است به دلیل گلوکونئوز از طریق نقش منگنز به عنوان یک متالوآنزیم

موجب تجمع اکسیژن فعال در میتوکندری شده و در عملکرد سیستم ایمنی نیز نقش مهمی ایفا می‌کند (Asadi et al., 2023). از طرفی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز وابسته به منگنز (MnSOD) در

چندین بافت مانند قلب و کبد بازتابی از مقدار منگنز مصرفی است (Davis et al., 1990).

جدول ۴- تأثیر غنی‌سازی شیر با مکمل منگنز بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون گوساله‌های شیرخوار

Table 4- The effect of milk enrichment with manganese supplement on blood biochemical parameters of suckling calves

فراسنجه‌های بیوشیمیایی Biochemical parameters	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments			SEM ¹	P-value
	شاهد	منگنز معدنی	منگنز آلی		
	Control	Inorganic manganese	Organic manganese		
گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر) Glucose (mg/dL)	69.08 ^b	71.11 ^b	76.08 ^a	3.976	0.0001
تری‌گلیسیرید (میلی گرم/دسی لیتر) Triglyceride (mg/dL)	33.07	34.11	32.96	2.9511	0.5711
کلسترول (میلی گرم/دسی لیتر) Cholesterol (mg/dL)	66.12	67.08	68.19	4.0871	0.3131
اوره (میلی گرم/دسی لیتر) Urea (mg/dL)	8.21	7.99	8.09	0.2569	0.4778
پروتئین کل (گرم/دسی لیتر) Total protein (g/dL)	6.92 ^b	7.11 ^{ab}	7.49 ^a	0.0978	0.0001
آلبومین (گرم/دسی لیتر) Albumin (g/dL)	3.96 ^b	4.12 ^{ab}	4.48 ^a	0.0185	0.0011
گلوبولین (گرم/دسی لیتر) Globulin (g/dL)	2.96	2.99	3.01	0.2609	0.7505
آلبومین/گلوبولین Albumin:globulin	1.34	1.38	1.48	0.0667	0.3164

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

¹ خطای استاندارد تیمارها

a, b, c Means with different superscripts within a row differ ($P \leq 0.05$).

¹ Standard error of treatments

(Overton and Yasui, 2014).

نتایج تأثیر غنی‌سازی شیر با مکمل منگنز به شکل‌های معدنی و آلی بر رفتار مصرف خوراک گوساله‌های شیرخوار در جدول ۶ آمده است. مکمل منگنز به شکل‌های آلی و معدنی تأثیری بر رفتارهای تغذیه‌ای گوساله‌ها نداشت. اطلاعات محدودی در مورد تأثیر مکمل مواد معدنی بر رفتارهای تغذیه‌ای وجود دارد. در پژوهشی آمده است که سن بر مدت زمانی که گوساله‌ها دراز می‌کشند، تأثیرگذار است (McFarlane et al., 1988). بین هفته ۲ و ۱۶، زمان دراز کشیدن از ۶۹/۵ به ۷۶/۶ درصد کل زمان افزایش یافت، که در تمام سنین به‌طور قابل توجهی از مدت زمان گزارش‌شده توسط سایر محققین بیشتر است (Webster and Van Putten and Elshof, 1982; Saville, 1982). اما همسو با نتایج پژوهش حاضر، سانداز و همکاران (Sandhage et al., 1983) و وینترز و همکاران (Winters et al., 1984) گزارش کردند که تیمارهای آزمایشی بر درصد کل زمان دراز کشیدن گوساله‌ها تأثیری نداشت.

جیره گاوهای شیری مکمل‌شده با منگنز - متیونین روی برخی از آنزیم‌های کبدی (ALT و AST) تأثیر معنی‌دار نداشت (El Ashry et al., 2012). ماکوآ و همکاران (Makov'a et al., 2019) بیان کردند که تجویز خوراکی منگنز آلی و معدنی در گوسفند بر آنزیم‌های کبدی خون تأثیر نمی‌گذارد. استفاده از منگنز آلی در جیره میش، تغییری در آنزیم‌های کبدی میش‌ها و بره‌های آن‌ها ایجاد نکرد (Toghdory et al., 2023). در پژوهشی، با استفاده از مکمل معدنی روی، مس، آهن و منگنز در تغذیه گوساله‌ها تنها غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز با افزایش معنی‌داری همراه بود (Moazeni Zadeh et al., 2023). همچنین استفاده از مکمل‌های آلی و معدنی روی، مس و منگنز تأثیر معنی‌داری بر آلکالین فسفاتاز و آسپاراتات آمینوترانسفراز نداشت (Gholami et al., 2021). عملکرد بهتر آنزیم کبدی در استفاده از کمپلکس آلی می‌تواند به‌واسطه درجات پایین‌تری از تنش اکسیداتیو و التهاب کبدی باشد که فرآیند متابولیسمی مثل گلوکونئوزن را بالا برده و در نهایت، باعث افزایش گلوکز پلاسما شده است

جدول ۵- تأثیر غنی‌سازی شیر با مکمل منگنز بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های کبدی گوساله‌های شیرخوار

Table 5- The effect of milk enrichment with manganese supplement on antioxidant status and liver enzymes of suckling calves

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments			SEM ¹	P-value
	شاهد	منگنز معدنی	منگنز آلی		
	Control	Inorganic maganese	Organic manganese		
وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل (میلی‌مول/لیتر) Total antioxidant status (mmol/l)	1.14 ^a	0.98 ^b	0.97 ^b	0.119	0.0001
کاتالاز (واحد/میلی‌گرم) Catalase (U/mg)	0.42 ^b	0.54 ^a	0.61 ^a	0.022	0.0001
مالون دی‌آلدئید (نانومول/میلی‌لیتر) Malondialdehyde (nmol/ml)	1.26	1.22	1.29	0.412	0.2885
سوپراکسید دیسموتاز (واحد/میلی‌گرم) Superoxide dismutase (U/mg)	30.86 ^b	31.07 ^b	34.92 ^a	2.796	0.0011
آسپاراتات آمینوترانسفراز (واحد/لیتر) Aspartate aminotransferase (U/l)	46.59	47.09	49.22	4.798	0.7822
آلانین آمینوترانسفراز (واحد/لیتر) Alanine aminotransferase (U/l)	15.82 ^b	17.10 ^a	18.95 ^a	1.561	0.0312
آلکالین فسفاتاز (واحد/لیتر) Alkaline phosphatase (U/l)	198.11	202.11	212.56	14.956	0.6682

در هر ردیف میانگین‌های با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).¹ خطای استاندارد تیمارهاa, b, c Means with different superscripts within a row differ ($P \leq 0.05$).¹ Standard error of treatments

جدول ۶- تأثیر غنی‌سازی شیر با مکمل منگنز بر رفتار تغذیه‌ای گوساله‌های شیرخوار

Table 6- The effect of milk enrichment with manganese supplement on feeding behavior of suckling calves

رفتارهای تغذیه‌ای (دقیقه/روز) Feeding behavior (min/day)	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments			SEM ¹	P-value
	شاهد	منگنز معدنی	منگنز آلی		
	Control	Inorganic maganese	Organic manganese		
شیر خوردن Drinking milk	28/50	32/60	31/77	1/881	0/3311
خوراک خوردن Eating	157/12	149/86	153/33	16/302	0/2736
نشخوار Ruminantion	196/33	207/67	209/01	13/772	0/4651
جویدن Chewing	353/45	357/53	362/34	17/688	0/5751
استراحت فک Resting	1012/72	1008/02	1004/81	38/705	0/5241
آب خوردن Drinking water	18/40	17/65	19/00	2/003	0/6133
رفتار نامتعارف Abnormal behavior	26/93	24/20	22/08	0/879	0/4253
ایستادن Standing	889/60	912/00	908/80	33/625	0/3206
دراز کشیدن Lying down	550/40	528/00	531/20	28/563	0/1249

در هر ردیف میانگین‌های با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).¹ خطای استاندارد تیمارهاa, b, c Means with different superscripts within a row differ ($P \leq 0.05$).¹ Standard error of treatments

نتیجه‌گیری کلی

غنی‌سازی شیر با مکمل منگنز به شکل‌های آلی و معدنی باعث بهبود عملکرد نظیر افزایش وزن کل، مصرف ماده خشک کل و بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل، کاتالاز، آلانین آمینوترانسفراز و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون در گروه‌های مصرف‌کننده شیر حاوی منگنز شد. با این حال، با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه، افزودن ۳۰ میلی‌گرم منگنز آلی به شیر مصرفی گوساله‌های تازه به دنیا آمده توصیه می‌شود، زیرا تیمار حاوی منگنز آلی نسبت به تیمار حاوی

منگنز معدنی سبب افزایش غلظت منگنز پلاسما، گلوکز، پروتئین کل و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز شد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان جهت فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی و واحد دام نمونه زروان به‌واسطه در اختیار گذاشتن امکانات مزرعه‌ای پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

References

- Ahola, J. K., Sharpe, L. R., Dorton, K. L., Burns, P. D., Stanton, T. L., & Engle, T. E. (2005). Effects of lifetime copper, zinc, and manganese supplementation and source on performance, mineral status, immunity, and carcass characteristics of feedlot cattle. *The Professional Animal Scientist*, 21(4), 305-317. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)31222-5](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31222-5)
- Asadi, M., Toghdory, A., Ghoorchi, T., & Hatami, M. (2024). The effect of maternal organic manganese supplementation on performance, immunological status, blood biochemical and antioxidant status of Afshari ewes and their newborn lambs in transition period. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 108, 493-499. <https://doi.org/10.1111/jpn.13909>
- Asadi, M., Toghdory, A., Ghoorchi, T., & Hatami, M. (2023). Influence of organic manganese supplementation on performance, digestibility, milk yield and composition of Afshari ewes in the transition period, and the health of their lambs. *Animal Production Research*, 12(1), 1-12. <https://doi.org/10.22124/AR.2023.23808.1752>
- Asadi, M., Toghdory, A., Hatami, M., & Ghassemi Nejad, J. (2022). Milk supplemented with organic iron improves performance, blood hematology, iron metabolism parameters, biochemical and immunological parameters in suckling Dalagh lambs. *Animals*, 12, 510. <https://doi.org/10.3390/ani12040510>
- Asadi, M., Toghdory, A., Ghoorchi, T., & Kargar, S. (2019). Effect of physical form of the concentrate and buffer type on the rumen and blood parameters and microbial protein synthesis in fattening Dalagh lamb. *Animal Science Journal (Pajouhesh and Sazandegi)*, 32(122), 143-158. (In Persian).
- Baly, C. L., Lonnerdal, D. L., & Keen, B. (1985). Effects of high doses of manganese on carbohydrate homeostasis. *Toxicology Letters*, 25, 95-102. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(85\)90106-7](https://doi.org/10.1016/0378-4274(85)90106-7)
- Baly, D. L., Curry, D. L., Keen, C. L., & Hurley, L. S. (1984). Effect of manganese deficiency on insulin secretion and carbohydrate homeostasis in rats. *The Journal of Nutrition*, 114, 1438-1446. <https://doi.org/10.1093/jn/114.8.1438>
- Davis, C. D., Ney, D. M., & Greger, J. L. (1990). Manganese, iron and lipid interactions in rats. *The Journal of Nutrition*, 120, 507-513. <https://doi.org/10.1093/jn/120.5.507>
- El Ashry, G. M. E., Hassan, A. A. M., & Soliman, S. M. (2012). Effect of feeding a combination of zinc, manganese and copper methionine chelates of early lactation high producing dairy cow. *Food and Nutrition Sciences*, 03, 1084-1091. <https://doi.org/10.4236/fns.2012.38144>
- George, M. H., Nockels, C. F., Stanton, T. L., Johnson, B., Cole, N. A., & Brown, M. A. (1997). Effect of source and amount of zinc, copper, manganese, and cobalt fed to stressed heifers on feedlot performance and immune function. *The Professional Animal Scientist*, 13, 84-89. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)31850-7](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31850-7)
- Gholami, V., Amanlou, H., Zahmatkesh, D., & Sadeghi, N. (2021). Effect of high dietary zinc, copper and manganese concentration and source on plasma progesterone and reproductive performance in repeat breeder cows. *Iranian Journal of animal Science*, 51(4), 263-273. (In Persian). <https://doi.org/10.22059/ijas.2020.305609.653786>
- Goff, J. P. (2017). Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid-base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. *Journal of Animal Science*, 101, 2763-2813. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13112>
- Gresakova, L., Venglovska, K., & Cobanova, K. (2016). Dietary manganese source does not affect Mn, Zn and Cu tissue deposition and the activity of manganese-containing enzymes in lambs. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 38, 138-143. <http://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.05.003>
- Hansen, S. L., Spears, J. W., Lloyd, K. E., & Whisnant, C. S. (2006). Growth, reproductive performance, and manganese status of heifers fed varying concentrations of manganese. *Journal of Animal Science*, 84, 3375-3380.

- <https://doi.org/10.2527/jas.2005-667>
15. Henry, P. R., Ammerman, C. B., & Litell, R. C. (1992). Relative bioavailability of manganese from a manganese-methionine complex and inorganic sources for ruminant. *Journal of Dairy Science*, 75, 3473-3478. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78123-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78123-5)
16. Ivan, M., & Hidirolou, M. (1980). Effect of dietary manganese on growth and manganese metabolism in sheep. *Journal of Dairy Science*, 63, 385-390. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82944-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82944-4)
17. Kasiani, A., Rezayazdi, K., & Zhandi, M. (2021). Effects of replacing inorganic forms of manganese, zinc, copper and selenium with their organic source on growth performance of suckling Holstein calves. *Journal of Ruminant Research*, 9(1), 55-68. (In Persian). <https://doi.org/10.22069/ejrr.2020.18424.1764>
18. Kerkaert, H. R., Woodworth, J. C., Derouchey, J. M., Dritz, S. S., Tokach, M. D., Goodband, R. D., & Manzke, N. E. (2021). Determining the effects of manganese source and level on growth performance and carcass characteristics of growing-finishing pigs. *Translational Animal Science*, 13(5), txab067. <https://doi.org/10.1093/tas/txab067>
19. Legleiter, L. R., Spears, J. W., & Lloyd, K. E. (2005) Influence of dietary manganese on performance, lipid metabolism, and carcass composition of growing and finishing steers. *Journal of Animal Science*, 83, 2434-2439. <https://doi.org/10.2527/2005.83102434x>
20. Lu, H., Wu, W., Zhao, X., Abbas, M. W., Liu, S., Hao, L., & Xue, Y. (2023). Effects of diets containing different levels of copper, manganese, and iodine on rumen fermentation, blood parameters, and growth performance of Yaks. *Animals*, 13, 2651. <https://doi.org/10.3390/ani13162651>
21. Makov'a, Z., Faixov'a, Z., Tarabov'a, L., Pie'sov'a, E., Venglovsk'a, K., Cobanov'a, K., Gre's'akov'a, L., & Faix, S. (2019). Effects of different dietary manganese sources on thickness of mucus layer and selected biochemical and haematological indicators in sheep. *Acta Veterinaria Brno*, 87, 351-356. <https://doi.org/10.2754/avb201887040351>
22. Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16, 577-586. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.05.013>
23. MatEs, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32, 595-603. [https://doi.org/10.1016/s0009-9120\(99\)00075-2](https://doi.org/10.1016/s0009-9120(99)00075-2)
24. McDowell, L. R. (2005). Minerals for grazing ruminants in tropical regions, No. Ed.4, v + 86 pp. Center for Tropical Agriculture, University of Florida, Gainesville, Florida, USA.
25. McDowell, L. R. (2003). Minerals in Animal and Human Nutrition (2nd Ed.). Netherlands: Elsevier Science B. V., Amsterdam.
26. McFarlane, J. M., Morris, G. L., Curtis, S. E., Simon, J., & McGlone, J. J. (1988). Some indicators of welfare of crated veal calves on three dietary iron regimens. *Journal of Animal Science*, 66(2), 317-325. <https://doi.org/10.2527/jas1988.662317x>
27. Meng, T., Gao, L., Xie, C., Xiang, Y. K., Huang, Y. Q., & Zhang, Y. W. (2021). Manganese methionine hydroxy analog chelated affects growth performance, trace element deposition and expression of related transporters of broilers. *Animal Nutrition*, 7, 481-487. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.09.005>
28. Moazeni Zadeh, M. H., Towhidi, A., Zhandi, M., & Rezayazdi, K. (2023). Effects of supplementation of some trace minerals on growth performance, biochemical, enzymatic, antioxidant, hormonal and hematological parameters in Holstein suckling calves. *Journal of Ruminant Research*, 11(1), 75-92. (In Persian). <https://doi.org/10.22069/ejrr.2022.20590.1863>
29. Overton, T. R., & Yasui T. (2014). Practical applications of trace minerals for dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 92, 416-426. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7145>
30. Qashqai, H., Amanlou, H., Farahani, T. A., Farsuni, N. E., & Bakhtiary, M. K. (2020). Effects of supplemental manganese on ovarian cysts incidence and reproductive performance in early lactation Holstein cows. *Animal Feed Science and Technology*, 269, 114660. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114660>
31. Rognstad, R. (1981) Manganese effects of gluconeogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 256, 1608-1610. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)69849-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)69849-2)
32. Roshanzamir, H., Rezaei, J., & Fazaali, H. (2023). Effect of using organic complexes of Mn, Zn and Cu (compound with glycine- or methionine-) instead of sulphate forms (equal to or twice NRC recommendation) on health, fertility and blood metabolites of dairy cows and calves. *Animal Production Research*, 8(1), 1-15. (In Persian). <https://doi.org/10.22124/ar.2019.11272.1343>
33. Ryan, A. W., Kegley, E. B., Hawley, J., Powell, J. G., Hornsby, J. A., Reynolds, J. L., & Laudert, S. B. (2015). Supplemental trace minerals (zinc, copper, and manganese) as sulfates, organic amino acid complexes, or hydroxy trace-mineral sources for shipping-stressed calves. *The Professional Animal Scientist*, 31(4), 333-341. <https://doi.org/10.15232%2Fpas.2014-01383>
34. Sandhage, M. E., Albright, J. L., Van Dame, L. M., & Walker, S. C. (1983). Veal calf behavior in standard wooden crates. *American Dairy Science Association*. 78th Annual Meeting University of Wisconsin, Madison. p. 48.

35. Sansom, B. F., Symonds, H. W., & Vago, M. J. (1978). The absorption of dietary manganese by dairy cows. *Research in Veterinary Science*, 24, 366–369. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)33049-2](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)33049-2)
36. Siciliano, J. L., Socha, M. T., Tomlinson, D. J., & Defrain, J. M. (2008). Effect of trace mineral source on lactation performance, claw integrity and fertility of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 91(5), 1985–1995. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0779>
37. Shakweer, I., Mustafa, G., Ahmed, G., & Ismail M. (2010) Effect of zinc or/and manganese methionine supplements on performance of lactating buffaloes. *Journal of Animal and Poultry Production*, 1, 589–602. <https://doi.org/10.21608/jappmu.2010.86271>
38. Spears, J. W. (2019). Boron, chromium, manganese, and nickel in agricultural animal production. *Biological Trace Element Research*, 188, 35–44. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1529-1>
39. Suttle, N. (2010). Mineral Nutrition of Livestock, 4th edition. CAB International, Wallingford, United Kingdom, p. 579.
40. Teixeira, A. G. V., Lima, F. S., Bicalho, M. L. S., Kussler, A., Lima, S. F., Felipe, M. J., & Bicalho, R. C. (2014). Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on immunity, health, and growth of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 97(7), 4216–4226. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7625>
41. Toghdory, A., Asadi, M., Ghoorchi, T., & Hatami, M. (2023). Impacts of organic manganese supplementation on blood mineral, biochemical, and hematology in Afshari Ewes and their newborn lambs in the transition period. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 79, 127215. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127215>
42. Tolbert, M. E. M., Kamalu, J. A., & Draper, G. D. (1981). Effects of cadmium, zinc, copper and manganese on hepatic parenchymal cell gluconeogenesis. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 16, 575–585. <https://doi.org/10.1080/03601238109372280>
43. Van Putten, G., & Elshof, W. Y. (1982). The lying behaviour of veal calves up to 220 kg. In *Welfare and Husbandry of Calves* (pp. 83-97). Martinus Nijhoff the Hague, Boston, London.
44. Webster, A. J. F., & Saville, C. (1982). The effect of rearing systems on the development of behaviour in calves. In *Welfare and Husbandry of Calves* (pp. 168-179). Martinus Nijhoff the Hague.
45. Winters, T. A., Allrich, R. D., Albright, J. L., Walker, S. C., & Sandhage, M. E. (1984). Behavior and cortisol measurement in veal calves reared under commercial conditions. *Journal of Animal Science*, 59(Suppl. 1), 148.



Effects of Supplementation of Synbiotic (DiPro Plus) on Growth Performance, Health Status, Skeletal parameters and Blood Parameters in Holstein Suckling Calves

Vahid Vahedi^{1*}, Mehrab Hamdam², Taher Yalchi³, Sayyad Seifzadeh⁴

1, 2, 3- Associate Professor, Graduated M.Sc., and Associate Professor, Department of Animal Science, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

4- Ph.D. Graduate, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

*Corresponding Author's Email: vahediv@uma.ac.ir

How to cite this article:

Received: 15-10-2024
Revised: 26-11-2024
Accepted: 07-12-2024
Available Online: 07-12-2024

Vahedi, V., Hamdam, M., Yalchi, T., & Seifzadeh, S. (2024). Effects of supplementation of synbiotic (DiPro Plus) on growth performance, health status, skeletal parameters and blood parameters in Holstein suckling calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(1), 35-48. (in Persian with English abstract).

<http://doi.org/10.22067/IJASR.2024.90255.1218>

Introduction: Prior to weaning, dairy calves are vulnerable to various pathogens and nutritional challenges. For many years, antibiotics have been employed to address these issues while also providing economic advantages by enhancing calf performance and lowering medication expenses. However, the use of antibiotics in livestock management is under scrutiny due to concerns about microorganisms developing antibiotic resistance. To eliminate antibiotics from animal feed, numerous alternatives have been suggested, including probiotics, prebiotics, and Synbiotics. Prebiotics and probiotics, along with their combinations, can serve as alternatives to treat gastrointestinal tract (GIT) disorders and enhance the host's immune system. Prebiotics are non-digestible oligo- and polysaccharides that cannot be broken down by digestive enzymes, allowing gut microbes to utilize them for growth and development. Common prebiotics, such as oligosaccharides and dietary fibers, are employed for their health benefits. Oligosaccharides may also play a role in regulating rumen fermentation by raising protein and volatile fatty acid levels while lowering ammonia nitrogen. Probiotics, which are beneficial live microorganisms, help protect the GIT from pathogens and encourage the production of substances that combat these harmful microbes. Recently, probiotics have been recognized for their ability to improve animal health, growth performance, nutrient digestibility, gut microbial balance, and immune responses. Synbiotics, a combination of prebiotics and probiotics, may offer synergistic health benefits, improving the survival and colonization of beneficial microorganisms in the GIT more effectively than either prebiotics or probiotics alone. However, there is a lack of research on the impact of synbiotic supplementation on suckling calves. Therefore, the present study was carried out to investigate the effect of synbiotic DiPro Plus on growth performance, health status and some blood parameters of Holstein suckling calves.



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/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.2024.90255.1218>

Materials and Methods: This study was conducted in Animal Husbandry dairy herd of Moghan Agro-Industrial (Parsabad, Ardabil province, Iran). Thirty-two newborn Holstein calves with an average age of 1 to 5 days and an average weight of 37 ± 1 kg were randomly divided into four experimental groups in a completely randomized design (8 calves / group) for 63 days. The experimental treatments include: 1) Basal diet without additives, 2) Basic diet with 1.5 g of synbiotic per day, 3) Basic diet with 3 g of synbiotic per day, 4) Basic diet with 4.5 g of synbiotic per day. The diet containing feed and milk was given at two times a day i.e. in the morning (8:00 am) and evening (18:00 pm). Daily feed intake (DFI) was measured by measuring daily feed offered and refusal. Body weight change was determined on 42 and 63 of experimental period before the morning feeding. The morphometric measurements related to skeletal growth in calves were taken at birth, 42 days, and at the end of the study using a tape measure. Blood samples were taken from all calves from jugular veins puncture on the 30 and 63th of trial to measure blood metabolites concentrations. The fecal scores and overall health status of the calves were assessed daily according to the rating system developed by the University of Wisconsin (Health Score Chart, Wisconsin). In this system, a score of zero was assigned for optimal health and fecal condition, while a score of three indicated the worst health and fecal quality. Statistical analysis was performed based on ANOVA, general linear model procedure by SAS software.

Results and Discussion: The results showed that the addition of 4.5 g of synbiotic in the milk of suckling calves increased the final weight and average daily gain compared to the control group ($P < 0.05$). The feed conversion ratio was not affected by different synbiotic levels. At the end of the experiment, the calves receiving synbiotic had greater height from the withers and body length compared to the control group ($P < 0.05$), but Heart girth and hip width were not affected by different levels of synbiotic ($P > 0.05$). Calves receiving 3 and 4.5 g of synbiotic in milk caused a significant increase in glucose and total protein concentration compared to 1.5 g of synbiotic and the control group on day 35 and 63 ($P < 0.05$). But the concentration of triglyceride could not be affected by different levels of synbiotic. The results showed that the use of 4.5 g of synbiotic improved the feces consistency compared to the control group, and the health condition of the calves receiving synbiotic was better than the control group ($P < 0.05$).

Supplementing with synbiotics is an important strategy for enhancing growth and mitigating the adverse effects associated with raising calves. Synbiotics are recognized for their positive influence on feed intake, growth performance, and gastrointestinal health. Our results demonstrated a favorable impact on nutrient consumption, average daily gain, and a decrease in fecal scores. The findings of this study indicated that synbiotic formulations significantly influenced the daily weight gain of calves by positively affecting the beneficial microbiota in the gastrointestinal tract, leading to improved nutrient absorption and, consequently, better growth rates. In conclusion, the findings of this study indicate that 4.5 g of Synbiotic (DiPro Plus) as fermented milk was beneficial in terms of average daily gain, average daily gain, and reduced faecal score and diarrhea incidence. Additionally, suckling calves showed improvements in Withers height Abd body length. However, further research is required to fully understand the fundamental aspects of future synbiotics research on structure and gut microbiota, as well as host-microbe relationship. Similarly, there is a need to investigate the feasibility of developing a commercial synbiotic formulation for use as prophylaxis in pre-ruminant calves.

Conclusion: In summary, the supplementation of 4.5 g of synbiotic in the diet of suckling calves provided benefits in terms of feed intake, average daily gain, reduced fecal scores, and decreased incidence of diarrhea. But the feed conversion ratio of suckling calves was not significantly affected by supplementation of synbiotic. Additionally, suckling calves exhibited improvements in withers height and body length. However, further research is needed to comprehensively understand the essential aspects of future synbiotic studies, particularly regarding the structure and gut microbiota, as well as the host-microbe relationship.

Keywords: Blood metabolites, Growth performance, Suckling calves, Synbiotic

اثرات تغذیه سین بیوتیک دی پرو پلاس بر عملکرد رشد، وضعیت سلامت، شاخص های اسکلتی و فراسنجه های خونی در گوساله های شیرخوار هلشتاین

وحید واحدی^{۱*}، محراب همدم^۲، طاهر یلچی^۳، صیاد سیف زاده^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۷

چکیده

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات تغذیه سین بیوتیک دی پرو پلاس بر عملکرد رشد، وضعیت سلامت و برخی از فراسنجه های خونی در گوساله های شیرخوار هلشتاین بود. تعداد ۳۲ رأس گوساله شیرخوار با میانگین سنی یک الی پنج روز و میانگین وزنی 37 ± 1 کیلوگرم در آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و هشت تکرار به مدت ۶۳ روز مورد استفاده قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره پایه بدون افزودنی، ۲- جیره پایه به همراه ۱/۵ گرم سین بیوتیک در روز، ۳- جیره پایه به همراه سه گرم سین بیوتیک در روز و ۴- جیره پایه به همراه ۴/۵ گرم سین بیوتیک در روز بودند. نتایج نشان داد که افزودن ۴/۵ گرم سین بیوتیک در شیر گوساله های شیرخوار، وزن نهایی و میانگین افزایش وزن روزانه را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد ($P < 0.05$). در کل دوره پرورشی، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند. ارتفاع از جدوگاه و طول بدن در گوساله های دریافت کننده ۴/۵ گرم سین بیوتیک نسبت به گروه شاهد بیشتر بود ($P < 0.05$). اما صفات دور سینه و عرض لگن تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. گوساله های دریافت کننده ۳ و ۴/۵ گرم سین بیوتیک، غلظت گلوکز خون بیشتری نسبت به گروه شاهد نشان دادند ($P < 0.05$). استفاده از سطوح مختلف سین بیوتیک سبب بهبود قوام مدفوع، ترشحات چشمی و امتیاز گوش در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0.05$). به طور کلی نتایج نشان داد که استفاده از ۴/۵ گرم سین بیوتیک دی پرو پلاس در شیر سبب بهبود عملکرد رشد و وضعیت سلامتی در گوساله های شیرخوار شد.

واژه های کلیدی: سین بیوتیک، عملکرد رشد، فراسنجه های خونی، گوساله شیرخوار

مقدمه

تغییرات رژیم غذایی، شرایط محیطی، بیماری و تنش که روی فلور میکروبی تأثیر می گذارند، بسیار حساس هستند. این دستگاه به عنوان اندام اصلی جذب مواد مغذی عمل کرده و تا زمانی که سلول های سیستم ایمنی به طور کامل توسعه نیابند، به عنوان اولین خط دفاعی بدن عمل می کند (Uyeno et al., 2015). تخمین زده می شود که حدود ۲۰ درصد از تلفات گوساله در گله ها، می تواند درآمد خالص را تا ۴۰ درصد کاهش دهد. بروز اسهال قبل از شیرگیری، علت اصلی مرگ و میر گوساله ها در پرورش گاو شیری به شمار می رود (Caffarena et al., 2021). در پرورش دام های اهلی همچون گاو و گوسفند، آنتی بیوتیک ها به طور سنتی برای پیشگیری و درمان عفونت های گوارشی و همچنین بهبود بازده خوراک مصرفی استفاده می شود، اما استفاده بی رویه از این داروها منجر به ایجاد باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک شده و عواقب بلندمدتی به همراه داشته و

گوساله های شیری برای تضمین سلامت و تولید بهتر در آینده به یک رژیم غذایی متعادل و مدیریت مناسب نیاز دارند. دستگاه گوارش این گوساله ها قبل از تولد استریل است، اما پس از زایمان به وسیله میکروب های موجود در محیط و کانال زایمان آلوده می شود. ریزجانداران موجود در دستگاه گوارش گوساله های تازه متولد شده به

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشیار، دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۴- دانش آموخته دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(Email: vahediv@uma.ac.ir)

(*)- نویسنده مسئول:

همچنین میکروفلور سالم دستگاه گوارش را تخریب می‌کند. بنابراین، برای تولید محصولات دامی سالم، مصرف این مواد از سوی اتحادیه اروپا ممنوع شد. پس از اعمال این ممنوعیت در بسیاری از کشورهای جهان، توجه زیادی به یافتن جایگزین‌های مناسبی برای این ترکیبات جلب شده است (Andremont et al., 2021).

پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها، و همچنین ترکیب آن‌ها، می‌توانند به‌عنوان جایگزینی برای درمان بیماری‌های گوارشی و تقویت عملکرد سیستم ایمنی میزبان مورد استفاده قرار گیرند. پری‌بیوتیک‌ها، الیگومرهای هستند که توسط آنزیم‌های گوارشی قابل متابولیسم نیستند و بنابراین می‌توانند به‌عنوان منبع غذایی برای میکروب‌های روده‌ای جهت تسریع رشد و تکامل آن‌ها مورد استفاده قرار گیرند (Azad et al., 2020). آن‌ها با محافظت از دیواره‌های روده در برابر عوامل بیماری‌زا و کاهش گسترش میکروب‌ها در دستگاه گوارش، موجب تقویت رشد و فعالیت باکتری‌های مفید می‌شوند (Markowiak and Slizewska, 2017). سوبستراهای کربوهیدراتی مانند الیگوساکاریدها و الیاف‌های خوراکی، رایج‌ترین پری‌بیوتیک‌ها برای بهبود سلامت محسوب می‌شوند. در پژوهشی، مکمل الیگوساکاریدها (سلوالیگوساکارید) با بهبود تخمیر شکمبه و افزایش سطح پروپیونات و همچنین اسیدهای چرب کل در دوره پس از شیرگیری، باعث بهبود بازدهی خوراک گوساله‌ها شد (Hasunuma et al., 2011). علاوه بر این، الیگوساکاریدها ممکن است با افزایش سطح پروتئین و اسیدهای چرب فرار شکمبه و کاهش نیتروژن آمونیاکی، مفید واقع شوند (Li et al., 2018). در آزمایشی، استفاده از گالاتیکولیگوساکاریدها به بهبود بازدهی خوراک، افزایش لیپوپروتئین با چگالی بالا در سرم خون و کاهش بروز اسهال در گوساله‌های شیری منجر شد (Chang et al., 2022).

پروبیوتیک‌ها، ریزجانداران زنده مفیدی هستند که از دستگاه گوارش در برابر عوامل بیماری‌زا محافظت کرده و تولید مواد ضدباکتری را برای مقابله با این عوامل تحریک می‌کنند. اخیراً پروبیوتیک‌ها به‌منظور بهبود سلامت حیوانات، عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، تعادل میکروبی روده و پاسخ‌های ایمنی پیشنهاد شده‌اند (Sato et al., 2020). همچنین، شواهد نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌ها با تقویت پاسخ ایمنی میزبان از طریق ترشح ایمنوگلوبولین A، اینترلوکین‌ها و حذف رقابتی باکتری‌های مضر، به بهبود جمعیت میکروبی مفید در حیوانات کمک می‌کنند (Kober et al., 2022). در مطالعه‌ای، پروبیوتیک لاکتوباسیلوس توانست تولید سیتوکین‌های ضدالتهابی را تحریک کند، پاسخ ایمنی را تنظیم نماید و به بهبود عملکرد رشد و قابلیت هضم مواد مغذی کمک کند، همچنین تنش را در گوساله‌ها کاهش دهد (Zhang et al., 2016). در مطالعه‌ای دیگر، مکمل پروبیوتیک موجب کاهش باکتری اشریشیا شد و به افزایش فلور میکروبی طبیعی از جمله باکتری‌های اسید

لاکتیک و جمعیت بیفیدوباکتریوم کمک کرد (Khaziakhmetov et al., 2020). وانگ و همکاران (Wang et al., 2022) گزارش کردند که افزودن مخلوطی از پروبیوتیک‌ها (شامل لاکتوباسیل پلاتناروم، پدیوکوکوس/اسیدی لاکتیزی، پدیوکوکوس پنتوساسئوس و باسیلوس سوتیلیس) به جیره گوساله‌ها موجب بهبود تخمیر شکمبه، ایمنی و وضعیت سلامت آن‌ها شد و امتیاز مدفوع را در سن سه هفتگی کاهش داد.

سین‌بیوتیک‌ها ترکیبی از پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها هستند که باعث بهبود بقاء و کلون‌سازی ریزجانداران مفید در دستگاه گوارش می‌شوند. استفاده از این ترکیبات در جیره برای سلامت میزبان مفیدتر از پروبیوتیک‌ها یا پری‌بیوتیک‌ها می‌باشند. ترکیب پری‌بیوتیک اینولین و پروبیوتیک/تتروکوکوس فاسیوم می‌تواند رشد و عملکرد شکمبه پس از تولد را بهبود بخشد (Arne and Ilgaza, 2021). همچنین مخلوط پری‌بیوتیک اینولین و پروبیوتیک ساکارومایسس سرویزیه، رشد شکمبه و سیستم گوارشی گوساله‌های دورگ نژاد هلشتاین را بهبود بخشید (Jonova et al., 2021). با توجه به موارد ذکر شده می‌توان سین‌بیوتیک‌ها را به‌عنوان جایگزینی برای آنتی-بیوتیک‌ها در پرورش گوساله‌های شیرخوار استفاده کرد و عملکرد رشد و سلامتی گوساله‌ها را بهبود داد. بنابراین، هدف از این مطالعه، بررسی اثرات تغذیه سین‌بیوتیک دی پرو پلاس بر عملکرد رشد، وضعیت سلامت و برخی فراسنجه‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از اردیبهشت تا تیر ماه ۱۴۰۲ در مجتمع دامپروری شرکت کشت و صنعت مغان واقع در شهرستان پارس‌آباد استان اردبیل صورت پذیرفت. بدین منظور از ۳۲ رأس گوساله هلشتاین تازه متولدشده با میانگین سنی یک الی پنج روز و میانگین وزنی 37 ± 1 کیلوگرم با چهار تیمار و هشت تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۶۳ روز استفاده گردید. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره پایه بدون افزودنی، ۲- جیره پایه به همراه ۱/۵ گرم سین‌بیوتیک در روز، ۳- جیره پایه به همراه سه گرم سین‌بیوتیک در روز و چهار) جیره پایه به همراه ۴/۵ گرم سین‌بیوتیک در روز بودند. سین‌بیوتیک مورد استفاده محصول تجاری شرکت تک ژن زیست از نوع پودری با نام تجاری دی پرو پلاس (DiPro Plus) بود. بخش پروبیوتیک این محصول شامل باسیلوس سوتیلیس، باسیلوس لیکنی فورمیس، پدیوکوکوس/اسیدی لاکتیزی، لاکتوباسیلوس پاراکازئی، لاکتوباسیلوس برویس و لاکتوباسیلوس پلاتناروم به میزان CFU/g 4×10^8 و بخش پری‌بیوتیک آن از مانان اولیگوساکارید تشکیل شده است. گوساله‌ها در ۲۴ ساعت اول پس از تولد، از مادران خود

وضعیت قرار گرفتن گوش‌ها، ترشحات چشم، ترشحات بینی و تنفس) روزانه و براساس روش معرفی شده توسط دانشگاه ویسکانسین انجام شد (چارت اسکور سلامتی، ویسکانسین). به بهترین وضعیت سلامت و قوام مدفوع امتیاز صفر و به بدترین وضعیت سلامت و مدفوع امتیاز سه داده شد. داده‌های به‌دست‌آمده در این آزمایش، ابتدا در نرم‌افزار اکسل مرتب‌سازی، سپس تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ و رویه GLM انجام شد. اثر تیمار به-عنوان اثر ثابت و وزن اولیه به‌عنوان متغیر کمکی در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSMEANS صورت گرفت و سطح احتمال پنج درصد به‌عنوان سطح معنی‌داری منظور گردید. معادله مدل آماری مورد استفاده $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ بود که در آن، Y_{ij} : متغیر وابسته، μ : میانگین هر یک از مشاهدات، T_i : اثر تیمار و e_{ij} : اثر اشتباه آزمایشی است.

نتایج و بحث

عملکرد رشد

نتایج مربوط به اثر سطوح مختلف سین‌بیوتیک بر عملکرد رشد گوساله‌های شیرخوار در جدول ۲ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، افزودن ۴/۵ گرم سین‌بیوتیک، وزن نهایی بدن گوساله‌های شیرخوار را در مقایسه با گروه شاهد و گوساله‌های دریافت‌کننده ۱/۵ گرم سین‌بیوتیک افزایش داد ($P < 0.05$). میانگین افزایش وزن روزانه در ۴۲ روزگی و همچنین در کل دوره پرورشی تحت تأثیر سطوح مختلف سین‌بیوتیک قرار گرفت، به‌طوری‌که افزودن ۴/۵ گرم سین‌بیوتیک در شیر، میانگین افزایش وزن روزانه گوساله‌ها را در مقایسه با گروه شاهد و گروه ۱/۵ گرم سین‌بیوتیک افزایش داد ($P < 0.05$). مصرف خوراک گوساله‌ها از ۴۲ الی ۶۳ روزگی آزمایش تحت تأثیر سین‌بیوتیک قرار گرفت، به‌طوری‌که گوساله‌های تغذیه‌شده با شیر حاوی ۴/۵ گرم سین‌بیوتیک، مصرف خوراک بالاتری نسبت به سایر گروه‌ها داشتند ($P < 0.05$)، اما اختلاف معنی‌داری در مصرف خوراک گوساله‌ها در کل دوره پرورشی مشاهده نشد. ضریب تبدیل غذایی در گوساله‌ها تحت تأثیر سطوح مختلف سین‌بیوتیک قرار نگرفت (جدول ۲).

یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که سین‌بیوتیک با تأثیر مثبت بر سلامت و جمعیت میکروبی مفید دستگاه گوارش که نشان‌دهنده جذب بهتر مواد مغذی است، اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه گوساله‌ها داشت. لوسی و همکاران (Lucey et al., 2021) گزارش کردند که ترکیب مانان-لیگوساکارید و باسیلوس سوبتیلیس، میانگین افزایش وزن روزانه و وضعیت سلامتی گوساله‌ها را بهبود بخشید. همچنین، شارما و همکاران (Sharma et al., 2023) در تحقیقی نشان دادند که استفاده از

جدا شده و ضدعفونی ناف با محلول نتنورید انجام گرفت و پس از وزن‌کشی به جایگاه‌های انفرادی به اندازه 1×2 متر در محل گوساله‌دانی منتقل شدند. سپس با چهار لیتر آغوز در دو نوبت و در هشت ساعت اولیه تولد تغذیه شدند. دادن آغوز برای دو روز دیگر بر مبنای ۱۰ درصد وزن بدن ادامه یافت. تا هنگام شیرگیری، الگوی تغذیه شیر برای تیمارها یکسان و به‌صورت الگوی کاهش‌ی تدریجی (چهار لیتر تا ۱۴ روزگی، شش لیتر تا ۵۵ روزگی و ذو لیتر تا ۶۳ روزگی) بود. همه گوساله‌ها در روز ۶۳ آزمایش از شیر گرفته شدند. شیردهی به گوساله‌ها روزانه در دو نوبت (ساعت ۸ صبح و ساعت ۱۸) انجام شد. استارتر از روز چهارم پس از تولد به‌صورت آزاد در اختیار گوساله قرار گرفت. آب آشامیدنی نیز همراه با استارتر از روز چهارم تولد به‌صورت مصرف آزاد در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. مقدار ۱۰ درصد یونجه خشک از روز ۲۰ پس از تولد به‌صورت خردشده در اندازه قطعات ۲-۱ سانتی‌متر به جیره استارتر گوساله‌ها اضافه شد. شاخ-سوزی گوساله‌ها بعد از سن دو هفتگی انجام شد. آب آشامیدنی نیز همراه با استارتر از روز چهارم تولد به‌صورت مصرف آزاد در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. جیره‌های آزمایشی و ترکیب شیمیایی آن‌ها در جدول ۱ گزارش شده است.

در طول ۶۳ روز دوره آزمایشی، خوراک مصرفی انفرادی گوساله‌ها به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شد. برای انجام این کار، مقدار خوراک اختصاص داده‌شده به هر گوساله به‌صورت روزانه ثبت و باقی‌مانده خوراک نیز در روز بعد جمع‌آوری و توزین شد. مقدار خوراک مصرفی با کسر خوراک اختصاص داده‌شده و خوراک باقی‌مانده به‌دست آمد. گوساله‌ها هر دو هفته یک بار با اعمال محرومیت قبلی ۱۲ ساعت از آب و خوراک جهت جلوگیری تغییرات وزن، وزن‌کشی شدند. گزارش وزن گوساله‌ها به‌صورت وزن اولیه، وزن نهایی و مقدار افزایش وزن روزانه بود. بازدهی خوراک نیز در انتهای دوره به‌صورت نسبت افزایش وزن روزانه تقسیم بر مقدار ماده خشک کل مصرفی (استارتر + شیر) محاسبه شد (Ansari et al., 2024). فراسنجه‌های مربوط به رشد اسکلتی گوساله‌ها شامل ارتفاع از جدوگاه، طول بدن، دور سینه و عرض لگن در روزهای تولد، ۴۲ روزگی و نیز در انتهای آزمایش با استفاده از متر نواری اندازه‌گیری شدند (Vahedi et al., 2022). نمونه‌برداری از خون در روزهای ۳۰ و ۶۳ آزمایشی از سیاهرگ وداجی گوساله‌ها انجام شد. نمونه‌ها بلافاصله بعد از خون‌گیری به آزمایشگاه منتقل و به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ (با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه) شد. نمونه‌های سرم با استفاده از سمپلر جدا شده و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل و نیتروژن اوردهای خون با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، ایران) و با کمک دستگاه اتوآنالایزر (مدل BS-120، ساخت کشور آلمان) اندازه‌گیری شد. بررسی قوام مدفوع و وضعیت سلامت گوساله‌ها

سین بیوتیک (فروکتو الیگوساکارید + لاکتوباسیل پلانتروم) در جیره گوساله‌های شیرخوار گاومیش تأثیر معنی‌داری بر میانگین افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک داشت، که با یافته‌های این مطالعه هم‌خوانی دارد. زاپاتا و همکاران (Zapata et al., 2021) نیز گزارش کردند که ترکیب پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها (ساکارومایسس

سرویزیه + مانان الیگوساکارید)، هضم و تخمیر شکمبه را در بره‌های پرواری تغذیه‌شده با جیره‌های پرانرژی بهبود می‌بخشد. در یک پژوهش دیگر، تغذیه ساکارومایسس سرویزیه با تعادل محیط شکمبه، قابلیت هضم مواد مغذی را در گاوها افزایش داد (Estrada-Angulo et al., 2021).

جدول ۱- جیره پایه و ترکیب شیمیایی جیره

Table 1- Basal diet and chemical composition of die

براساس ماده خشک	ترکیبات شیمیایی	ماده خشک (%)	اقلام خوراکی
Dry matter basis	Chemical composition	Dry matter (%)	Feed ingredients
90.7	ماده خشک (درصد)	40.5	ذرت
	Dry matter (%)		Corn
19.8	پروتئین خام (درصد)	14.0	جو
	Crude protein (%)		Barley
15.7	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)	4.0	سبوس گندم
	ADF (%)		Wheat bran
29.4	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	38.6	کنجاله سویا
	NDF (%)		Soybean meal
2.2	عصاره اتری (درصد)	0.4	نمک
	EE (%)		Salt
0.94	کلسیم (درصدی)	1.0	پودر صدف
	Calcium (%)		Shelf powder
0.78	فسفر (درصد)	0.5	مخلوط ویتامینه ^۱
	Phosphorus (%)		Vitamin premix ¹
20.0	مس (میلی گرم در کیلوگرم)	0.5	مخلوط معدنی ^۲
	Copper (mg/kg)		Mineral premix ²
398.0	آهن (میلی گرم در کیلوگرم)	0.5	سدیم بیکربنات
	Iron (mg/kg)		Sodium bicarbonate

^۱ مکمل ویتامین: ویتامین A، ۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم، ویتامین E، ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم، ویتامین D₃، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم.

^۲ مکمل‌های معدنی: کلسیم ۱۹۵۰۰۰ میلی گرم، فسفر ۹۰۰۰۰ میلی گرم، منیزیم ۹۰۰۰۰ میلی گرم، سدیم ۵۵۰۰۰ میلی گرم، روی ۳۰۰۰ میلی گرم، آهن ۳۰۰ میلی گرم، منگنز ۲۰۰۰ میلی گرم، کبالت ۱۰۰ میلی گرم، سلنیوم ۱ میلی گرم، آنتی‌اکسیدان ۴۰۰ میلی گرم.

¹ Vitamin supplement: vitamin A 500,000 IU/kg; vitamin E 100 mg/kg; vitamin D₃ 100,000 IU/kg.

² Mineral supplements: calcium 195,000 mg; phosphorus 90,000 mg; magnesium 90,000 mg; sodium 55000 mg; zinc 3000 mg; iron 300 mg; manganese 2000 mg; cobalt 100 mg; selenium 1 mg; antioxidant 400 mg.

شود، که این امر منجر به بهبود استفاده از اجزاء خوراک و افزایش عملکرد کلی رشد در دام‌ها خواهد شد (Tang et al., 2005). افزایش تولید ویتامین‌های گروه B در شکمبه و بهبود فرآیندهای متابولیکی در روده ناشی از مصرف مکمل‌های پروبیوتیک می‌تواند به رشد بهتر حیوانات کمک کند (Quigley et al., 1997). تحقیقات استرادا و همکاران (Estrada-Angulo et al., 2021) نشان دادند که استفاده از مکمل پروبیوتیک ساکارومایسس سرویزیه به همراه پری‌بیوتیک مانان-الیگوساکارید و بتا گلوکان، بر بازده خوراک و انرژی خالص جیره تأثیر مثبت دارد. از آنجاکه این مکمل‌ها به‌تنهایی تأثیر قابل توجهی بر عملکرد رشد ندارند، ترکیب پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها اثر هم‌افزایی ایجاد کرده و منجر به بهبود بازده خوراک و مصرف انرژی می‌شود.

در مطالعه‌ای، سین بیوتیک‌ها به بهبود عملکرد رشد و ترکیب میکروبی مدفوع به‌خصوص به‌دلیل افزایش قابلیت هضم جیره و بازده خوراک در بره‌های شیری کمک کرد. سین بیوتیک‌ها با محدود کردن رشد باکتری‌های مضر مانند /شریشیاکلی، امکان هضم و جذب بهتر مواد مغذی را در دستگاه گوارش فراهم کرده و با کاهش وقوع اسهال، احتمال خروج مواد غذایی به‌صورت هضم‌نشده را کاهش می‌دهند (Moarrab et al., 2016). ژانگ و همکاران (Zhang et al., 2019) نیز گزارش کردند که مکمل لاکتوباسیلوس رامنوسوس در جیره گوساله‌های شیرخوار، بهبود عملکرد رشد و افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار، بوتیرات و پروپیونات در مایعات شکمبه نسبت به گروه شاهد را به همراه دارد، که این امر به‌دلیل تعدیل میکروب‌های شکمبه و روده است. علاوه‌براین، مصرف الیگوساکاریدها به‌عنوان پری‌بیوتیک می‌تواند موجب افزایش سطح هورمون رشد و انسولین

جدول ۲- اثرات سطوح مختلف سین‌بیوتیک بر عملکرد گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 2- Effects of different levels of Synbiotic on performance of Holstein suckling calves

صفات Traits	شاهد Control	۱/۵ گرم سین‌بیوتیک Synbiotic 1.5 g	۳ گرم سین‌بیوتیک Synbiotic 3 g	۴/۵ گرم سین‌بیوتیک Synbiotic 4.5 g	میانگین خطای استاندارد SEM	اثرات معنی‌داری P value
وزن تولد (کیلوگرم) Birth weight (kg)	36.62	36.75	37.00	37.87	1.02	0.822
وزن پایان دوره (کیلوگرم) End of period weight (kg)	69.62 ^b	70.00 ^b	74.50 ^{ab}	87.79 ^a	2.42	0.018
میانگین افزایش وزن روزانه (گرم در روز) Average daily gain (g/d)						
روز ۴۲ 42 d	431.2 ^b	462.5 ^b	525.0 ^{ab}	581.2 ^a	34.27	0.021
روز ۶۳ 63 d	815.3 ^b	794.1 ^b	848.1 ^{ab}	1005.3 ^a	59.54	0.073
۶۳-۱ روزگی 1-63 d	523.7 ^b	527.7 ^b	595.1 ^{ab}	792.7 ^a	30.06	0.006
مصرف خوراک (گرم در روز) Feed intake (g/d)						
روز ۴۲ 42 d	311.7	331.3	335.1	389.7	25.43	0.18
روز ۶۳ 63 d	809.6 ^b	819.1 ^b	849.0 ^b	970.8 ^a	26.45	0.006
۶۳-۱ روزگی 1-63 d	444.8	489.2	528.1	546.8	28.95	0.085
ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio						
روز ۴۲ 42 d	0.74	0.72	0.65	0.68	0.05	0.682
روز ۶۳ 63 d	1.03	1.06	1.05	1.02	0.09	0.992
۶۳-۱ روزگی 1-63 d	1.06	1.08	1.01	0.95	0.07	0.579

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) هستند.

In each row, means with different superscript letters are significantly ($P < 0.05$) different.

رشد اسکلتی

اثر مصرف سطوح مختلف سین‌بیوتیک بر فراسنجه‌های رشد اسکلتی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۳ گزارش شده است. در ۴۲ و ۶۳ روزگی گوساله‌های دریافت‌کننده ۴/۵ گرم سین‌بیوتیک ارتفاع از جدوگاه بالاتری در مقایسه با گروه شاهد داشتند ($P < 0.05$). در پایان دوره آزمایش، گوساله‌هایی که ۴/۵ گرم سین‌بیوتیک دریافت کردند نسبت به گروه شاهد افزایش طول بدنی بیشتری داشتند ($P < 0.05$). اندازه دور سینه و عرض لگن در گوساله‌ها تحت تأثیر سطوح مختلف سین‌بیوتیک قرار نگرفتند (جدول ۳).

طول بدن و ارتفاع جدوگاه به‌عنوان پارامترهای رشد استخوان شناخته می‌شوند، درحالی‌که اندازه دور سینه معیاری برای ارزیابی رشد

ماهچه‌ها، استخوان‌ها و چربی‌ها است که متناسب با وزن بدن است. توجه به عامل وزن و همچنین ویژگی‌های بیومتریکی برای بهینه‌سازی کارایی تولید گوشت در برنامه‌های اصلاح نژاد دام از اهمیت بالایی برخوردار است (Didarkhah and Bashtani, 2018). نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن ۴/۵ گرم سین‌بیوتیک موجب افزایش طول بدن و ارتفاع جدوگاه گوساله‌های شیرخوار شده است. مطابق با یافته‌های این پژوهش، شارما و همکاران (Sharma et al., 2018) اثر مثبت پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها بر ارتفاع جدوگاه و دور سینه را به‌دلیل افزایش مصرف ماده خشک و در دسترس بودن مواد مغذی و انرژی گزارش کردند. باین‌حال، تحقیقات عظیم‌زاده و همکاران (Azimzadeh et al., 2016)، جمالی و همکاران (Jamali

به طریقه مصرف سین بیوتیک (مخلوط در کنسانتره یا شیر)، ترکیب جیره، دز مصرفی افزودنی، شرایط محیطی، سطح مدیریت و شرایط آزمایش در مزرعه باشد. این نتایج متناقض، ضرورت تحقیقات بیشتر برای درک بهتر اثرات سین بیوتیک‌ها بر رشدونمو در گونه‌های مختلف حیوانی را مورد تأکید قرار می‌دهد.

(*et al.*, 2020) و دیدارخواه و همکاران (Didarkhah and Bashtani, 2018) نشان داد که استفاده از سین بیوتیک در جیره گوساله‌های شیرخوار تأثیر معناداری بر رشد اسکلتی ندارد که با نتایج این تحقیق تناقض دارد. تفاوت در نتایج می‌تواند به دلیل نوع پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌های مورد استفاده در ترکیب سین بیوتیک،

جدول ۳- اثرات سطوح مختلف سین بیوتیک بر رشد اسکلتی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین
Table 3- Effects of different levels of Synbiotic on skeletal growth of Holstein suckling calves

صفات (سانتی‌متر) Traits (cm)	شاهد Control	۱/۵ گرم سین بیوتیک Synbiotic 1.5 g	۳ گرم سین بیوتیک Synbiotic 3 g	۴/۵ گرم سین بیوتیک Synbiotic 4.5 g	میانگین خطای استاندارد SEM	اثرات معنی داری P value
ارتفاع جدوگاه Withers height						
روز تولد Birth day	72.5	72.6	73.5	73.3	0.78	0.120
روز ۴۲ 42 d	82.7 ^b	84.2 ^{ab}	83.5 ^b	86.1 ^a	0.73	0.019
روز ۶۳ 63 d	87.1 ^b	86.4 ^b	88.9 ^{ab}	91.6 ^a	1.23	0.026
طول بدن Body length						
روز تولد Birth day	48.8	48.5	50.0	51.3	0.83	0.321
روز ۴۲ 42 d	61.5	63.6	62.7	63.8	0.82	0.195
روز ۶۳ 63 d	66.7 ^b	68.4 ^{ab}	68.6 ^{ab}	70.0 ^a	0.71	0.029
دور سینه Heart girth						
روز تولد Birth day	76.7	77.4	79.4	78.1	1.02	0.091
روز ۴۲ 42 d	87.2	88.6	88.7	91.0	1.13	0.157
روز ۶۳ 63 d	94.6	97.8	97.6	98.9	1.50	0.247
عرض لگن Hip width						
روز تولد Birth day	15.4	16.6	14.5	16.5	0.21	0.141
روز ۴۲ 42 d	19.3	19.1	18.3	18.6	0.28	0.085
روز ۶۳ 63 d	20.4	20.6	19.8	21.1	0.32	0.449

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک از نظر آماری دارای اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) هستند.

In each row, means with different superscript letters are significantly ($P < 0.05$) different.

فراسنجه‌های خونی

در جدول ۴ گزارش شده است. مکمل کردن جیره با سطوح ۳ و ۴/۵ گرم سین بیوتیک، غلظت گلوکز خون را در مقایسه با گروه شاهد به-طور معنی داری در ۳۰ و ۶۳ روزگی افزایش داد ($P < 0.05$). صرف نظر از سطح مصرف، گوساله‌های دریافت‌کننده سین بیوتیک نسبت به

نتایج مربوط به برخی فراسنجه‌های خونی گوساله‌های مصرف‌کننده سطوح مختلف سین بیوتیک در دوره پیش از شیرگیری

گروه شاهد غلظت کلسترول کمتری در ۳۰ روزگی داشتند ($P < 0.05$) افزایش داد ($P < 0.05$). در پژوهش حاضر، غلظت تری‌گلیسیرید و پروتئین کل خون را در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری (۴۲ روزگی، افزودن ۳ و ۴/۵ گرم سین‌بیوتیک در جیره غلظت نیترژن اورهای خون در بین تیماری‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$)).

جدول ۴- اثر سطوح مختلف سین‌بیوتیک بر متغیرهای خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین پیش از شیرگیری
Table 4- Effects of different levels of Synbiotic on blood variables of Holstein suckling calves

متغیر Variable	شاهد Control	۱/۵ گرم سین‌بیوتیک Synbiotic 1.5 g	۳ گرم سین‌بیوتیک Synbiotic 3 g	۴/۵ گرم سین‌بیوتیک Synbiotic 4.5 g	میانگین خطای استاندارد SEM	اثرات معنی‌داری P value
گلوکز (میلی‌گرم در دسی لیتر) Glucose (mg/dL)						
روز ۳۰ 30 d	90.25 ^b	101.12 ^{ab}	107.00 ^a	106.25 ^a	4.04	0.024
روز ۶۳ 63 d	84.37 ^c	84.50 ^c	98.87 ^b	116.62 ^a	3.91	0.001
کلسترول (میلی‌گرم در دسی لیتر) Cholesterol (mg/dL)						
روز ۳۰ 30 d	128.00 ^a	112.25 ^b	111.37 ^b	106.12 ^b	4.77	0.019
روز ۶۳ 63 d	139.12	137.87	126.00	136.50	4.64	0.194
تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم در دسی لیتر) Triglyceride (mg/dL)						
روز ۳۰ 30 d	30.87	27.50	25.93	29.87	2.43	0.447
روز ۶۳ 63 d	20.80	30.37	29.50	27.62	3.18	0.933
پروتئین کل (گرم در دسی لیتر) Total protein (mg/dL)						
روز ۳۰ 30 d	6.21 ^b	6.90 ^b	7.80 ^a	7.98 ^a	0.30	0.001
روز ۶۳ 63 d	7.22	7.50	7.03	7.00	0.23	0.449
نیترژن اورهای خون (میلی‌گرم در دسی لیتر) Blood urea nitrogen (mg/dL)						
روز ۳۰ 30 d	10.48	10.40	11.01	10.87	0.78	0.949
روز ۶۳ 63 d	10.25	9.63	10.52	11.20	0.67	0.447

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) هستند.

In each row, means with different superscript letters are significantly ($P < 0.05$) different.

روزگی افزایش دادند، ولی غلظت آلبومین و پروتئین کل تحت تأثیر قرار نگرفت. افزایش غلظت گلوکز در جیره‌های مکمل‌شده در این مطالعه احتمالاً ناشی از افزایش غلظت پروپیونات در مایع شکمبه و پلاسما است، زیرا پروپیونات پیش‌ساز اصلی گلوکز در فرآیند گلوکونئوژنز می‌باشد. سازوکار این امر این است که مخمر می‌تواند موجب تغییرات در جمعیت میکروبی شکمبه شود، به‌طوری‌که پروتئین

در پژوهشی، زمانی و همکاران (Zamani et al., 2020) گزارش کردند که افزودن دو و چهار گرم سین‌بیوتیک به جیره بره‌های شیرخوار، باعث کاهش غلظت کلسترول و افزایش غلظت گلوکز و پروتئین خون شد که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. عظیم‌زاده و همکاران (Azimzadeh et al., 2016) نشان دادند که گوساله‌های دریافت‌کننده سین‌بیوتیک، غلظت گلوکز خون را از ۳۰ روزگی تا ۶۵

میکروبی افزایش یافته و میزان اوره خون به دلیل همبستگی بالا با سطح آمونیاک مایع شکمبه، کاهش می یابد. هنگام تخمیر نشاسته به- وسیله ریزجانداران شکمبه، اسید پروپیونیک به عنوان محصول نهایی تولید می شود و در کبد به گلوکز تبدیل می گردد (Afshar Mazandaran and Rajabi, 2003). سوبستراهای اصلی برای ساخت گلوکز، شامل اسیدهای آلی حاصل از تخمیر، اسکلت کربنی اسیدهای آمینه دی آمین شده و گلیسرول حاصل از تجزیه تری گلیسیریدها هستند. بنابراین، با افزایش فعالیت این باکتری ها به واسطه مصرف مکمل سین بیوتیک، یکی از سوبستراهای اصلی برای به وجود آمدن گلوکز که همان پروپیونات است، افزایش یافته و به تبع آن، می توان انتظار داشت که غلظت گلوکز خون نیز افزایش یابد (Afshar Mazandaran and Rajabi, 2003).

در این مطالعه، سطح کلسترول سرم با استفاده از سین بیوتیک کاهش یافته است که این نتیجه با یافته های آنتونویچ و همکاران (Antunović et al., 2006)، توغدوری و همکاران (Toghdroy et al., 2022) و معرب و همکاران (Moarrab et al., 2016) هم راستا می باشد. به نظر می رسد که سین بیوتیک ها با مهار سنتز کلسترول، سطح کلسترول خون را تحت تأثیر قرار دهند یا به طور مستقیم با کاهش جذب آن، سطح کلسترول را پایین آورند. همچنین، لاکتوباسیل ها می توانند کلسترول را در غشاء خود جذب کرده و به این ترتیب سطح کلسترول خون را کاهش دهند. برخی از باکتری های گرم مثبت مانند لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکترها با تجزیه اسیدهای صفراوی، باعث کاهش کلسترول خون می شوند (Sadik, 1989). در تضاد با نتایج این تحقیق، معرب و همکاران (Moarrab et al., 2016) بیان کردند که پروتئین کل و آلبومین خون بره های شیرخوار

تحت تأثیر مصرف سین بیوتیک قرار نگرفتند. همچنین مسلمی پور و همکاران (Moslemipur and Mostafaloo, 2014) گزارش کردند که غلظت پروتئین کل خون گوساله ها تحت تأثیر افزودن پروبیوتیک یا سین بیوتیک به آغوز و شیر قرار نگرفته است. پروتئین کل نمایانگر مقدار کل پروتئین های موجود در سرم از جمله آلبا، بتا و گاما گلوبولین، آلبومین و ایمونوگلوبولین است. سین بیوتیک ها با تحریک تکثیر لنفوسیت ها می توانند تولید ایمونوگلوبولین ها را افزایش دهند. میزان پروتئین کل خون با افزایش غلظت ایمونوگلوبولین ها در خون، رابطه مستقیم دارد و با افزایش غلظت ایمونوگلوبولین ها، غلظت پروتئین کل نیز افزایش می یابد (Chamoro, 2009). در تحقیق حاضر، غلظت پروتئین کل خون در گروه های ۳ و ۴/۵ گرم سین بیوتیک افزایش یافت. این پاسخ ممکن است به این دلیل باشد که سین بیوتیک در این آزمایش با افزایش ایمونوگلوبولین ها در خون، موجب افزایش پروتئین کل خون شده است.

وضعیت سلامتی

نتایج مربوط به اثرات سطوح مختلف سین بیوتیک بر وضعیت سلامتی گوساله های شیرخوار در جدول ۵ ارائه شده است. گوساله های دریافت کننده ۱/۵ و ۴/۵ گرم سین بیوتیک، امتیاز مدفوع کمتری در مقایسه با گروه شاهد داشتند. صرف نظر از سطح مصرف، گوساله های دریافت کننده سین بیوتیک نسبت به گروه شاهد، ترشحات چشمی کمتر و همچنین نحوه قرارگیری گوش در این گوساله ها وضعیت بهتری داشتند ($P < 0.05$). ترشحات بینی و تعداد سرفه تحت تأثیر سطوح مختلف سین بیوتیک قرار نگرفت.

جدول ۵- اثر سطوح مختلف سین بیوتیک بر وضعیت سلامتی گوساله های شیرخوار هلشتاین پیش از شیرگیری
Table 5- Effects of different levels of Synbiotic on health status of Holstein suckling calves

صفات Traits	شاهد Control	۱/۵ گرم سین بیوتیک Synbiotic 1.5 g	۳ گرم سین بیوتیک Synbiotic 3 g	۴/۵ گرم سین بیوتیک Synbiotic 4.5 g	میانگین خطای استاندارد SEM	اثرات معنی داری P value
امتیاز مدفوع Fecal score	1.18 ^a	1.06 ^{bc}	1.13 ^{ab}	1.04 ^c	0.02	0.006
ترشحات چشم Ocular discharge	0.055 ^a	0.019 ^b	0.00 ^b	0.007 ^b	0.01	0.003
ترشحات بینی Nasal discharge	0.034	0.030	0.009	0.003	0.01	0.185
وضعیت گوش Ear position	0.059 ^a	0.015 ^b	0.018 ^b	0.009 ^b	0.01	0.003
تعداد سرفه Cough score	0.040	0.005	0.007	0.001	0.01	0.206

در هر ردیف میانگین های دارای حروف غیرمشترک از نظر آماری دارای اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) هستند.

In each row, means with different superscript letters are significantly ($P < 0.05$) different.

گوساله های شیرخوار، وضعیت سلامتی آن ها را بهبود بخشید. توغدوری

نتایج این مطالعه نشان داد که اضافه کردن سین بیوتیک به جیره

شرایط مطلوب برای باکتری‌های مفید دستگاه گوارش و در نتیجه افزایش تعداد لاکتوباسیل‌ها بود. ترکیب لاکتوباسیل‌س پلانتاروم و باسیلوس سوبتیلی در خوراک می‌تواند به تعادل فلور روده و جلوگیری از اسهال در گوساله‌ها کمک کند (Lee et al., 2012). به گفته کاواکامی و همکاران (Kawakami et al., 2011)، ارائه جایگزین‌های شیر به گوساله‌ها که حاوی مخمر و باکتری‌های اسید لاکتیک هستند، به شکل قابل توجهی باعث افزایش ضریب تبدیل خوراک، کاهش نمره قوام مدفوع شده و از بروز اسهال جلوگیری می‌کند. همچنین، سین‌بیوتیک‌ها ممکن است به بهبود ایمنی روده و عملکرد سد مخاطی روده کمک کنند که این امر می‌تواند در کاهش اسهال نیز مؤثر باشد. افزودن اینولین و لاکتوباسیلوس کارژی به‌طور مؤثری وزن بدن و سلامت روده را در بره‌ها با کاهش کلی‌فرم‌ها و بروز اسهال بهبود بخشید. در نهایت، پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها می‌توانند از طریق تقویت سیستم ایمنی، کاهش تنش و پیشگیری از اسهال تأثیرات مثبتی داشته باشند (Ayala-Monter et al., 2019).

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از ۴/۵ گرم سین‌بیوتیک منجر به بهبود عملکرد رشد (وزن نهایی، افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک) و رشد اسکلتی (ارتفاع از جدوگاه و طول بدن) در گوساله‌های شیرخوار هلستاین گردید، اما ضریب تبدیل غذایی تحت تأثیر مصرف سین‌بیوتیک قرار نگرفت. همچنین، مکمل کردن جیره با سطوح ۳ و ۴/۵ گرم سین‌بیوتیک باعث افزایش غلظت گلوکز و پروتئین کل خون و کاهش غلظت کلسترول شد. مصرف سین‌بیوتیک همچنین به بهبود امتیاز قوام مدفوع و دیگر شاخص‌های سلامتی در گوساله‌ها کمک کرد. در کل، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این افزودنی سازگار با محیط و سلامت گوساله‌ها می‌تواند به عنوان جایگزینی مناسب برای مواد مضر و دارای عوارض جانبی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها عمل کند. بنابراین با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، استفاده از ۴/۵ گرم سین‌بیوتیک دی پرو پلاس در جیره گوساله‌های شیرخوار قابل پیشنهاد است.

و همکاران (Toghdory et al., 2022) گزارش کردند که افزودن پنج گرم سین‌بیوتیک به جیره بره‌های شیرخوار، نمره قوام مدفوع را نسبت به گروه شاهد بهبود داد. عظیم‌زاده و همکاران (Azimzadeh et al., 2016) گزارش کردند که افزودن سین‌بیوتیک از سه روزگی تأثیر معنی‌داری بر نمره قوام مدفوع نداشت، اما از ۳۰ روزگی به کاهش نمره قوام مدفوع در مقایسه با گروه شاهد انجامید. در این مطالعه در تمامی تیمارها نمره قوام مدفوع کمتر از دو بود که براساس نظر تیمرمن و همکاران (Timmerman et al., 2005) در محدوده طبیعی برای دام‌های در حال رشد محسوب می‌شود و نشان‌دهنده سلامت و عدم ابتلای دام‌ها به اسهال شدید است. اسهال یکی از مشکلات عمده در گوساله‌های شیرخوار است که می‌تواند منجر به مرگومیر آن‌ها و تأثیر منفی بر اقتصاد گله شود (Ghosh et al., 2011). در مراحل ابتدایی که میزان مصرف خوراک کم است، نمره مدفوع و شدت اسهال تحت تأثیر عوامل فیزیولوژیکی، محیطی، بهداشتی و مدیریتی است و کمتر به نوع و ترکیب جیره خوراکی وابسته است. با این حال، به نظر می‌رسد که اثر سین‌بیوتیک‌ها را باید بیشتر از نظر تأثیر مثبت آن‌ها بر سلامت ارزیابی کرد تا افزایش عملکرد (Krehbiel et al., 2003). تغییرات ناگهانی در رژیم غذایی یا شرایط محیطی که به عنوان عوامل تنش‌زا شناخته می‌شوند، می‌توانند منجر به عدم تعادل در جمعیت میکروبی روده و افزایش خطر ابتلا به اسهال شوند (Azimzadeh et al., 2016). در مطالعه‌ای، مسلمی‌پور و همکاران (Moslemipur and Mostafaloo, 2014) گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره گوساله تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر نمره مدفوع و وضعیت سلامتی نداشت. برخی گزارش‌ها نشان می‌دهند که در مطالعاتی که عوامل تنش‌زا وجود نداشته یا کنترل شده‌اند، تأثیر سین‌بیوتیک‌ها در پیشگیری از اسهال مشاهده نشده است (Krehbiel et al., 2003). در مطالعه شارما و همکاران (Sharma et al., 2023)، افزودن ترکیب پری‌بیوتیک و پروبیوتیک منجر به کاهش بروز اسهال در گوساله‌های شیرخوار گاو میش شد که این به دلیل کاهش تعداد باکتری‌های بیماری‌زای کلستریدیوم و کلی‌فرم‌ها و همچنین ایجاد

References

1. Afshar Mazandaran, N., & Rajabi, A. (2003). Probiotics and Their Application in Livestock and Poultry Nutrition, Second Edition, Nourbakhsh Publications, Iran. Pp. 105-101 (In Persian).
2. Andreumont, A., Cervesi, J., Bandinelli, P. A., Vitry, F., & Gunzburg, J. D. (2021). Spare and repair the gut microbiota from antibiotic-induced dysbiosis: State-of-the-art. *Drug Discovery Today*, 26, 2159–2163. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.02.022>.
3. Ansari, M., Kargar, S., Falahati, R., Kanani, M., & Ghaffari, M. H. (2024). Effects of pre-weaning supplementation with fennel seed powder in two terms on growth performance, health status, and blood metabolites of Holstein dairy calves. *Animal Feed Science and Technology*, 308, 115861. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4578035>.
4. Antunović, Z., Šperanda, M., Amidžić, D., Šerić, V., Stainer, Z., Domačinović, M., & Boli, F. (2006). Probiotic application in lamb's nutrition. *Agriculture. Animal Sciences and Food Sciences*, 48(4), 175-180.

5. Arne, A., & Ilgaza, A. (2021). Prebiotic and synbiotic effect on rumen papilla length development and rumen pH in 12-week-old calves. *Veterinary World*, 14, 2883–2888. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2883-2888>.
6. Ayala-Monter, M. A., Hernández-Sánchez, D., González-Muñoz, S., Pinto-Ruiz, R., Martínez-Aispuro, J. A., Torres-Salado, N., Herrera-Pérez, J., & Gloria-Trujillo, A. (2019). Growth performance and health of nursing lambs supplemented with inulin and *Lactobacillus casei*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32(8), 1137. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0630>.
7. Azad, M. A., Gao, J., Ma, J., Li, T., Tan, B., Huang, X., & Yin, J. (2020). Opportunities of prebiotics for the intestinal health of monogastric animals. *Animal Nutrition*, 6(4), 379-388. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.08.001>.
8. Azimzadeh, V., Assadi-Alamouti, A., Khadem, A., Bagheri Varzaneh, M., & Mohammad Moradi, J. (2016). Effects of supplementation of a symbiotic product on growth performance and health of Holstein calves. *Research on Animal Production*, 6(12), 105-114. (In Persian).
9. Caffarena, R. D., Casaux, M. L., Schild, C. O., Fraga, M., Castells, M., Colina, R., Maya, L., Corbellini, L.G., Riet-Correa, F., & Giannitti, F. (2021). Causes of neonatal calf diarrhea and mortality in pasture-based dairy herds in Uruguay: A farm-matched case-control study. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(2), 977-988. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00440-3>.
10. Chamoro, M. (2009). Environment, dam, management: Factors influencing passive transfer of immunoglobulins to neonatal calves. *Veterinary Quarterly Research Gate*, 12, 1-7.
11. Chang, M., Wang, F., Ma, F., Jin, Y., & Sun, P. (2022). Supplementation with galacto-oligosaccharides in early life persistently facilitates the microbial colonization of the rumen and promotes growth of preweaning Holstein dairy calves. *Animal Nutrition*, 10, 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2022.04.009>.
12. Didarkhah, M., & Bashtani, M. (2018). Effects of probiotic and peribiotic supplementation in milk on performance and nutrition digestibility in Holstein calves. *Research on Animal Production*, 9(20), 70-78. <https://doi.org/10.29252/rap.9.20.70>.
13. Estrada-Angulo, A., Zapata-Ramírez, O., Castro-Pérez, B. I., Urías-Estrada, J. D., Gaxiola-Camacho, S., Angulo-Montoya, C., Ríos-Rincón, F. G., Barreras, A., Zinn, R. A., Leyva-Morales, J. B., & Plascencia, A. (2021). The effects of single or combined supplementation of probiotics and prebiotics on growth performance, dietary energetics, carcass traits, and visceral mass in lambs finished under subtropical climate conditions. *Biology*, 10(11), 1137. <https://doi.org/10.3390/biology10111137>.
14. Ghosh, S., Mehla, R. K., Sirohi, S. K., & Tomar, S. K. (2011). Performance of crossbred calves with dietary supplementation of garlic extract. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 95(4), 449-455. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2010.01071.x>
15. Hasunuma, T., Kawashima, K., Nakayama, H., Murakami, T., Kanagawa, H., Ishii, T., Akiyama, K., Yasuda, K., Terada, F., & Kushibiki, S. (2011). Effect of cellooligosaccharide or synbiotic feeding on growth performance, fecal condition and hormone concentrations in Holstein calves. *Animal Science Journal*, 82(4), 543-548. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2010.00861.x>.
16. Jamali, M., Mirzaei Aghjehgheshlagh, F., Seifdavati, J., Navidshad, B., Seyedsharifi, R., & Valizadeh Yonjalli, R. (2020). Effect of different levels of probiotics and organic acid supplements on performance, skeletal growth, nutrition activity, blood and immune metabolites in Holstein calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 12(3), 307-322. <https://doi.org/10.22067/ijasr.v12i3.79924>.
17. Jonova, S., Ilgaza, A., & Zolovs, M. (2021). The impact of inulin and a novel synbiotic (yeast *Saccharomyces cerevisiae* strain 1026 and inulin) on the development and functional state of the gastrointestinal canal of calves. *Veterinary Medicine International*, 201, 8848441. <https://doi.org/10.1155/2021/8848441>.
18. Kawakami, S. I., Yamada, T., Nakanishi, N., & Cai YiMin, C. Y. (2011). Feeding of lactic acid bacteria and yeast affects fecal flora of Holstein calves. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10, 269–271. <https://doi.org/10.3923/javaa.2011.269.271>.
19. Krehbiel, C. R., Rust, S. R., Zhang, G., & Gilliland, S. E. (2003). Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *Journal of Animal Science*, 81(14_suppl_2), E120-E132. https://doi.org/10.2527/2003.8114_suppl_2E120x.
20. Khaziakhmetov, F., Khabirov, A., Tagirov, K., Avzalov, R., Tsapalova, G., & Basharov, A. (2020). The influence of “Stimix Zoostim” and “Normosil” probiotics on fecal microflora, hematologic indicators, nutrient digestibility, and growth of mother-bonded calves. *Veterinary World*, 13(6), 1091. <https://doi.org/10.14202/vetworld.rld.2020.1091-1097>.
21. Kober, A. K. M. H., Riaz Rajoka, M. S., Mehwish, H. M., Villena, J., & Kitazawa, H. (2022). Immunomodulation potential of probiotics: A novel strategy for improving livestock health, immunity, and productivity. *Microorganisms*, 10, 388.

21. Lee, Y. E., Kang, I. J., Yu, E. A., Kim, S., & Lee, H. J. (2012). Effect of feeding the combination with *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* on fecal microflora and diarrhea incidence of Korean native calves. *Korean Journal of Veterinary Service*, 35, 343–346. <https://doi.org/10.7853/kjvs.2012.35.4.343>.
22. Li, Z., Bai, H., Zheng, L., Jiang, H., Cui, H., Cao, Y., & Yao, J. (2018). Bioactive polysaccharides and oligosaccharides as possible feed additives to manipulate rumen fermentation in Rusitec fermenters. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 1088–1094. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.098>.
23. Lucey, P. M., Lean, I. J., Aly, S. S., Golder, H. M., Block, E., Thompson, J. S., & Rossow, H. A. (2021). Effects of mannan-oligosaccharide and *Bacillus subtilis* supplementation to preweaning Holstein dairy heifers on body weight gain, diarrhea, and shedding of fecal pathogens. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4290–4302. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19425>.
24. Markowiak, P., & Slizewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9, 1021. <https://doi.org/10.3390/nu9091021>.
25. Moarrab, A., Ghoorchi, T., Ramezanpour, S., Ganji, F., & Koochakzadeh, A. R. (2016). Effect of synbiotic on performance, intestinal morphology, fecal microbial population and blood metabolites of suckling lambs. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6, 621–628.
26. Moslemipur, F., & Mostafaloo, Y. (2014). Effects of using probiotic and synbiotic in colostrum and milk on passive immunoglobulin transfer rate, growth and health parameters of calf. *Journal of Ruminant Research*, 1(4), 19–30. (In Persian). <https://doi.org/20.1001.1.23454253.1392.1.4.2.9>.
27. Quigley, J. D., Drewry, V. L., Murray, M., & Ivey, S. J. (1997). Body weight gain, feed efficiency, and fecal scores of dairy calves in response to galactosyl-lactose or antibiotics in milk replacers. *Journal Dairy Science*, 80, 1751–1754. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76108-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76108-3).
28. Sadik, M. F. (1989). Effect of *Lactobacillus concentrate* (LBC) as a new growth promoter on the performance of growing buffalo heifers raised on milk replacer. Doctoral dissertation, M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Ain Shams University, Cairo, Egypt.
29. Sato, N., Garcia-Castillo, V., Yuzawa, M., Islam, M. A., Albarracin, L., Tomokiyo, M., Ikeda-Ohtsubo, W., Garcia-Cancino, A., Takahashi, H., Villena, J., & Kitazawa, H. (2020). Immunobiotic *Lactobacillus jensenii* TL2937 alleviates dextran sodium sulfate-induced colitis by differentially modulating the transcriptomic response of intestinal epithelial cells. *Frontiers in Immunology*, 11, 2174. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02174>.
30. Sharma, A. N., Chaudhary, P., Kumar, S., Grover, C. R., & Mondal, G. (2023). Effect of synbiotics on growth performance, gut health, and immunity status in pre-ruminant buffalo calves. *Scientific Reports*, 13(1), 10184. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37002-6>.
31. Sharma, A. N., Kumar, S., & Tyagi, A. K. (2018). Effects of mannan-oligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* supplementation on growth performance, nutrient utilization and faecal characteristics in Murrah buffalo calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102, 679–689. <https://doi.org/10.1111/jpn.12878>.
32. Tang, Z. R., Yin, Y. L., Nyachoti, C. M., Huang, R. L., Li, T. J., Yang, C., Yang, X. J., Gong, J., Peng, J., Qi, D. S., & Xing, J. J. (2005). Effect of dietary supplementation of chitosan and galacto-mannan-oligosaccharide on serum parameters and the insulin-like growth factor-I mRNA expression in early-weaned piglets. *Domestic Animal Endocrinology*, 28(4), 430–441. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.02.003>.
33. Timmerman, H. M., Mulder, L., Everts, H., Van Espen, D. C., Van Der Wal, E., Klaassen, G., Rouwers, S. M. G., Hartemink, R., Rombouts, F. M., & Beynen, A. C. (2005). Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *Journal of Dairy Science*, 88(6), 2154–2165. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72891-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72891-5).
34. Toghdory, A., Asadi, M., & Ghoorchi, T. (2022). Effect of adding different levels of synbiotic to milk on performance, digestibility, blood parameters and fecal score on Dalaq sucking lambs. *Animal Science Research*, 32(2), 31–46. (In Persian). <https://doi.org/10.22034/as.2022.44424.1604>.
35. Uyeno, Y., Shigemori, S., & Shimosato, T. (2015). Effect of probiotics/prebiotics on cattle health and productivity. *Microbes and Environments*, 30, 126–132. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14176>.
36. Vahedi, V., Balapour, N., Yalchi, T., Seyfzadeh, S., & Seifdavati, J. (2022). Evaluation of the effects of copper nanoxide and celmanax prebiotic on growth performance and blood cell count in Holstein suckling calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 14(4), 459–470. (In Persian). <https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.68668.1006>.
37. Wang, H., Yu, Z., Gao, Z., Li, Q., Qiu, X., Wu, F., Guan, T., Cao, B., & Su, H. (2022). Effects of compound probiotics on growth performance, rumen fermentation, blood parameters, and health status of neonatal Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 105(3), 2190–2200. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20721>.
38. Zamani, M., Chashnidel, Y., Teymori Yansari, A., Kazemifard, M., & Deldar, H. (2020). effect of yeast riched with mannan oligosacharid and symbiotic on growth performance, blood parameters and carcasses charchtristics in

- weaning male zel lambs. *Research On Animal Production*, 11(28), 84-95. (In Persian). <https://doi.org/10.52547/rap.11.28.84>.
39. Zapata, O., Cervantes, A., Barreras, A., Monge-Navarro, F., González-Vizcarra, V. M., Estrada-Angulo, A., Urías-Estrada, J. D., Corona, L., Zinn, R. A., Martínez-Alvarez, I. G., & Plascencia, A. (2021). Effects of single or combined supplementation of probiotics and prebiotics on ruminal fermentation, ruminal bacteria and total tract digestion in lambs. *Small Ruminant Research*, 204, 106538. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106538>
40. Zhang, L., Jiang, X., Liu, X., Zhao, X., Liu, S., Li, Y., & Zhang, Y. (2019). Growth, health, rumen fermentation, and bacterial community of Holstein calves fed *Lactobacillus rhamnosus* GG during the preweaning stage. *Journal of Animal Science*, 97(6), 2598-2608. <https://doi.org/10.1093/jas/skz126>.
41. Zhang, R., Zhou, M., Tu, Y., Zhang, N. F., Deng, K. D., Ma, T., & Diao, Q. Y. (2016). Effect of oral administration of probiotics on growth performance, apparent nutrient digestibility and stress-related indicators in Holstein calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100(1), 33-38. <https://doi.org/10.1111/jpn.12338>.



Investigating the Effects of Different Sources and Levels of Zinc, Copper, Manganese, and Iron on the Performance, Blood Parameters, and Tibia Characteristics of Broiler Chickens During the Grower and Finisher Periods

Ali Tayebipour¹, Reza Majidzadeh Heravi^{2*}, Hassan Kermanshahi³

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

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

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

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

How to cite this article:

Received: 14-06-2024
Revised: 19-11-2024
Accepted: 02-12-2024
Available Online: 23-04-2025

Tayebipour, A., Majidzadeh Heravi, R., & Kermanshahi, H. (2024). Investigating the effects of different sources and levels of zinc, copper, manganese, and iron on the performance, blood parameters, and tibia characteristics of broiler chickens during the grower and finisher periods. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(1), 49-61. (in Persian with English abstract).
<http://doi.org/10.22067/IJASR.2024.88496.1204>

Introduction: Insufficient minerals play a crucial role in various physiological functions such as digestive, and metabolic processes within the body. They act as cofactors in many enzymes and serve as catalysts in enzyme systems. These substances also contribute to the immune system and hormone secretion pathways (Tom *et al.*, 2003). Zinc, copper, manganese, and iron are micro-elements that play essential roles in the growth, development, bone tissue formation, and immunity of broiler chickens (Echeverry *et al.*, 2016; M'Sadeq *et al.*, 2018). Zinc acts as an antioxidant, protecting cell membranes against peroxidation (Olivares *et al.*, 2007). It also exhibits synergistic effects with vitamin E and polyphenols (Wołonciej *et al.*, 2016). Copper is vital for growth, enzyme activity, and reproduction. It plays a significant role in various enzyme activities, such as ceruloplasmin, cytochrome oxidase, and superoxide dismutase, which help protect cells against oxidative stress (Hussein and Staufenbiel, 2012). Iron interacts with other elements, particularly copper, acting as a catalyst in oxidation reactions (Wołonciej *et al.*, 2016). Manganese is also crucial for fetal growth, body weight gain, bone growth, and reproduction (Olgun, 2017).

Materials and Methods: To investigate the impact of different sources and levels of zinc, copper, manganese, and iron on the performance, blood parameters, and tibia characteristics of broiler chickens during the grower and finisher periods, 1250 broiler chickens from the Ross 308 strain were divided into 10 experimental treatments. Each treatment consisted of 5 replicates with 25 observations in a completely randomized design. The experimental treatments included mineral elements (zinc, copper, manganese, iron) from two organic and inorganic sources at levels of 40, 60, 80, 100, and 120% of the requirements during the grower and finisher periods. Blood samples were collected from two chicks in each replicate at 42 days of age



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/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.2024.88496.1204>

and analyzed for various parameters at the laboratory of Razavi Hospital in Mashhad.

Results and Discussion: The effects of different levels of organic and inorganic minerals (zinc, copper, manganese, iron) on the performance of Ross 308 broiler chickens during the grower, finisher, and entire experimental periods are presented in Table 2. The results indicated significant effects of different treatments on body weight gain, feed consumption, and feed conversion ratio across all periods. The highest body weight gain during the grower period was observed in groups receiving 120%, 100%, and 80% of organic mineral requirements and 120% of inorganic requirements. Daily feed consumption was highest in the group receiving 40% of inorganic and organic mineral requirements and lowest in groups receiving 80%, 100%, and 120% of inorganic and 60%, 80%, 100%, and 120% of organic requirements. The feed conversion ratio was significantly higher in groups receiving 40% of organic and inorganic requirements compared to other groups during the grower period. In the finisher period, the highest daily body weight gain was observed in groups receiving 120%, 100%, 80% of organic mineral requirements and 120%, 100% of inorganic mineral requirements. Daily feed consumption was significantly lower in groups receiving 100%, 120% of inorganic mineral requirements and 120%, 100%, 80%, 60% of organic requirements during the finisher period. Throughout the rearing period (11-42 days), daily body weight gain was significantly higher in groups receiving 120%, 100% of organic mineral requirements and 120% of inorganic mineral requirements. Daily feed consumption was highest in the group receiving 40%, 60% of mineral requirements from inorganic sources.

Conclusion: The study results demonstrate that different sources and levels of recommended mineral requirements have significant effects on performance, bone mineral storage, and bone physical properties. The lowest feed conversion ratio during the entire rearing period was observed in groups receiving 80%, 100%, and 120% of the requirements from organic and mineral sources. Daily weight gain was significantly higher in groups receiving 100%, 120% of the recommended requirements of organic minerals compared to other groups. Zinc, copper, manganese, and iron stored in bones were significantly higher in groups receiving 80%, 100%, 120% of the recommended requirements of organic minerals and 100%, 120% of the recommended inorganic requirements. Fracture energy was significantly higher in groups receiving 120%, 100%, 80% organic and inorganic minerals. Based on the findings, it is recommended to use 80% of minerals in organic form due to its high storage capacity in the tibia bone and its ability to achieve performance similar to 100% and 120% of the requirements from organic and inorganic sources.

Keywords: Blood parameters, Broiler chickens, Minerals, Performance, Tibia

مطالعه تأثیر منبع و سطح عناصر روی، مس، منگنز و آهن بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و ویژگی‌های استخوان درشت‌نی مرغ‌گوشتی در دو دوره رشد و پایانی

علی طیبی پور^۱، رضا مجیدزاده هروی^{۲*}، حسن کرمانشاهی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۲

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر منابع و سطوح مختلف عناصر معدنی بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و ویژگی‌های استخوان درشت‌نی مرغ‌گوشتی در دو دوره رشد و پایانی انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل 5×2 با دو منبع عناصر کیلاته آلی و غیرآلی در پنج سطح (۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ درصد احتیاجات توصیه‌شده) با استفاده از ۱۲۵۰ قطعه مرغ‌گوشتی سویه راس ۳۰۸ در پنج تکرار و ۲۵ قطعه مرغ در هر تکرار اجرا شد. افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراک در دوره رشد، پایانی و کل دوره، همچنین فراسنجه‌های خونی و استحکام و محتوای عناصر معدنی استخوان درشت‌نی در ۴۲ روزگی اندازه‌گیری شد. در کل دوره پژوهش (۴۲-۱۱ روزگی) افزایش روزانه به‌طور معنی‌داری در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۲۰ و ۱۰۰ درصد احتیاجات مواد معدنی به‌شکل آلی و ۱۲۰ درصد احتیاجات به‌شکل غیرآلی بیشتر از سایر گروه‌ها مشاهده شد. بیشترین میزان مصرف خوراک روزانه به‌طور معنی‌داری مربوط به گروه دریافت‌کننده ۴۰ و ۶۰ درصد احتیاجات از مواد معدنی غیرآلی بود. در کل دوره آزمایش، کمترین ضریب تبدیل خوراک در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۲۰ و ۱۰۰ درصد احتیاجات مواد معدنی آلی و ۱۲۰ درصد احتیاجات مواد معدنی غیرآلی به‌دست آمد. ذخیره مواد معدنی استخوان در گروه‌های دریافت‌کننده ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ درصد احتیاجات توصیه‌شده مواد معدنی آلی و ۱۰۰ و ۱۲۰ درصد احتیاجات توصیه‌شده مواد معدنی غیرآلی به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، استفاده از ۸۰ درصد مواد معدنی به‌شکل آلی به‌دلیل عملکرد مشابه با ۱۰۰ و ۱۲۰ درصد احتیاجات منابع آلی و غیرآلی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: استخوان درشت‌نی، عملکرد، فراسنجه‌های خونی، مرغ‌گوشتی، مواد معدنی

مقدمه

پراکسیداسیون محافظت می‌کند (Olivares et al., 2007) همچنین با ویتامین E و پلی فنل‌ها اثرات هم‌افزایی ایجاد می‌کند (Wołonciej et al., 2016). این عنصر جزئی از آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بوده و از تولید رادیکال‌های آزاد در بدن جلوگیری می‌کند (Winiarska-Mieczan et al., 2020). مس نقش مهمی در رشد، فعالیت آنزیم‌ها و تولیدمثل دارد. از جمله آنزیم‌هایی که عنصر مس در آن‌ها نقش دارد می‌توان به آنزیم سرولوپلاسمین (جابه‌جایی آهن برای سنتز هموگلوبین)، سیتوکروم اکسیداز (زنجیره انتقال الکترون با سنتز فسفولیپید) سوپراکسید دیسموتاز (تبدیل رادیکال آزاد سوپراکسید به پراکسید هیدروژن، محافظت از سلول‌ها در مقابل تنش اکسیداتیو) اشاره کرد (Hussein and Staufenbiel, 2012). عنصر آهن با سایر عناصر به‌ویژه با مس که یک کاتالیزور در واکنش‌های اکسیداسیون است، تعامل دارد. (Wołonciej et al., 2016). عنصر منگنز نیز در رشد جنین، افزایش وزن بدن، رشد استخوان و تولیدمثل

مواد معدنی کم‌نیاز در چندین فرآیند فیزیولوژیکی، گوارشی و سوخت‌وساز بدن و همچنین در ساختار بسیاری از آنزیم‌ها نقش دارند. همچنین این مواد در سیستم ایمنی و مسیرهای ترشح هورمون شرکت می‌کنند (Tom et al., 2003). عناصر کم‌نیاز روی، مس، منگنز و آهن از جمله عناصری هستند که در رشدونمو، شکل‌گیری بافت استخوانی و ایمنی مرغ‌گوشتی نقش ایفا می‌کنند (Echeverry M'Sadeq et al., 2018et al., 2016). عنصر روی به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان میانی عمل می‌کند و از غشاهای سلولی در برابر

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

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

<http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.88496.1204>

یکسان دریافت کردند.

میزان روی، مس و منگنز و آهن موجود در هر کدام از جیره‌های غذایی ۲۳-۱۱ روزگی و ۴۲-۲۴ روزگی در آزمایش در جدول ۲ به صورت محاسبه و آنالیز شده گزارش شده است.

اندازه‌گیری‌ها

عملکرد و فراسنجه‌های خونی

افزایش وزن روزانه، میزان خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک در انتهای دوره‌های رشد (۱۱-۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) و در کل دوره آزمایش (۱۱-۴۲ روزگی) با استفاده از رکوردبرداری‌های انجام‌شده هر تکرار به کمک ترازوی دیجیتال با دقت یک گرم محاسبه گردید. خوراک مصرفی تلفات با استفاده از معادله روز مرغ در مصرف خوراک هر تکرار محاسبه شد. ضریب تبدیل از تقسیم مجموع خوراک مصرف‌شده بر مجموع افزایش وزن هر دوره در هر تکرار محاسبه گردید.

جهت تعیین فراسنجه‌های خونی در سن ۴۲ روزگی از هر تکرار دو قطعه جوجه به صورت تصادفی انتخاب و خون‌گیری از طریق ورید بال با استفاده از سرنگ‌های هیپارینه انجام گرفت. نمونه‌ها بلافاصله با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و پلاسما جداسازی شده به داخل میکروتیوب انتقال یافت و در یخچال ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید تا به منظور اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی (میزان کلسترول، پروتئین کل، HDL، LDL، آلبومین فسفاتاز و اسپاراتات آمینوترانسفراز) به آزمایشگاه (بیمارستان فوق تخصص رضوی مشهد) انتقال یافت.

تخمین ذخایر روی، مس، منگنز، آهن و استحکام استخوان درشتنی

جهت ارزیابی استحکام استخوان درشتنی در سن ۴۲ روزگی از هر تکرار دو قطعه مرغ کشتار شد و استخوان درشتنی پای چپ آن که عاری از هرگونه بافت و گوشت شده بود، درون یک پلاستیک فریزر نگهداری شده و به آزمایشگاه انتقال داده شد و طول و قطر با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۵ میلی‌متر و وزن با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم و وزن مخصوص آن از طریق قانون ارشمیدس اندازه‌گیری گردید (Asmundson and Baker, 1940) برای تخمین وزن مخصوص وزن استخوان در هوا و در آب اندازه‌گیری و در معادله ۱ قرار داده شد.

$$\rho = \frac{m}{v} \quad \text{معادله (۱)}$$

نقش دارد (Olgun, 2017). همچنین در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و لیپیدها نقش دارد و در حین متابولیسم آن‌ها، آنزیم‌هایی را فعال می‌کند که می‌توان به پیرووات کربوکسیلاز، گلیکوزید ترانسفراز، آرژیناز، گلوتامین سنتتاز و سوپراکسید دیسموتاز اشاره کرد (Suttle, 2022). عناصر آهن، روی، مس و منگنز میزان ذخیره‌سازی بسیار پایینی دارند، در ارتباط با مصرف مواد معدنی، در سویه‌های تجاری جدید جوجه‌گوشی مقادیر بالاتر از حد نیاز در تنظیم جیره در نظر گرفته می‌شود و این امر منجر به ایجاد فشار متابولیکی به حیوان و همچنین دفع مواد معدنی مازاد می‌شود. مواد معدنی آلی با داشتن قابلیت جذب بالاتر و اثرات متقابل بین عناصر کمتر، زیست‌فراهمی بالاتر و دفع کمتر از مواد معدنی سولفات و اکسید، مشکلات آلودگی محیط زیست را کمتر کرده و با زیست‌فراهمی بالاتر میزان مصرف را نیز کمتر می‌کند (Zhu et al., 2019). امروزه تلاش بسیاری جهت شناسایی، ارزیابی و جایگزینی عناصر آلی کم‌نیاز با عناصر معدنی آن که دارای زیست‌فراهمی بهتر نیز هستند، صورت گرفته است (Nollet et al., 2007; Dobrzanski et Ghasemi et al., 2020; al., 2008). بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی اثر سطوح مختلف منابع معدنی و آلی عناصر مس، آهن، منگنز بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و خصوصیات استخوان درشتنی در مرغ گوشتی در دوره رشد و پایانی بود.

مواد و روش‌ها

تقسیم‌بندی پرندوها و گروه‌های آزمایشی

به منظور بررسی اثر منابع و سطوح مختلف عناصر روی، مس، منگنز و آهن بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و ویژگی‌های استخوان درشتنی مرغ گوشتی در دو دوره رشد و پایانی، تعداد ۱۲۵۰ جوجه گوشتی راس ۳۰۸ یک روزه در ۱۰ تیمار آزمایشی و هر تیمار دارای پنج تکرار با ۲۵ مشاهده در قالب طرح کاملاً تصادفی تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل مکمل عناصر روی، مس، منگنز و آهن، با دو منبع آلی (کیلاته با متیونین) و معدنی (به شکل اکسید) در سطوح ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ درصد احتیاجات طی دوره رشد و پایانی بود. مواد معدنی کیلاته و معدنی از شرکت زیست پایش پارس (تهران- ایران) تهیه شد.

جیره‌های آزمایشی

جیره‌های آزمایشی براساس احتیاجات جوجه گوشتی راس ۳۰۸ (۲۰۱۸) با استفاده از جیره‌های بر پایه ذرت و سویا تنظیم شد (جدول ۱). طبق دستورالعمل پرورش این سویه، پرندوها در سه دوره آغازین، رشد و پایانی پرورش یافتند که جوجه‌ها در دوره آغازین، خوراک

جدول ۱- اجزاء تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه مرغ‌های گوشتی (۱۱-۴۲ روزگی)

Table 1- The ingredient and nutrient composition of basal diet to broiler chickens (11-42 days)

اقلام خوراکی (درصد) Ingredients (percentage)	رشد ۱۱-۲۳ روزگی Grower 11-23 days	پایانی ۲۴-۴۲ روزگی Finisher 24-42 days
ذرت Corn	56.34	61.50
(پروتئین خام ۴۴٪) کنجاله سویا Soybean meal (CP 44%)	28.72	23.27
گلوتن ذرت Corn gluten	7.00	7.00
روغن گیاهی Vegetable oil	3.67	4.24
کلسیم کربنات Calcium carbonate	1.13	1.05
دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate	1.57	1.42
نمک طعام NaCl	0.37	0.37
دی ال - متیونین DL-methionine	0.24	0.21
ال - لایزین L-lysine	0.38	0.38
ترئونین Threonine	0.08	0.06
مکمل ویتامینه ^۱ Vitamin- premix ¹	0.25	0.25
مکمل معدنی ^۲ Mineral- premix	0.25	0.25
ترکیبات شیمیایی جیره Chemical compounds of the diet		
انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری بر کیلوگرم) ME, kcal/kg	3100	3200
پروتئین خام (درصد) CP %	21.5	19.5
کلسیم (درصد) Ca%	0.87	0.79
فسفر قابل دسترس (درصد) Available P %	0.43	0.39
لایزین قابل هضم (درصد) Digestible lysine %	1.29	1.16
متیونین قابل هضم (درصد) Digestible methionine %	0.62	0.47
متیونین + سیستین قابل هضم (درصد) Digestible methionine + cysteine %	0.99	0.91
ترئونین قابل هضم (درصد) Digestible threonine %	0.88	0.78

^۱ هر کیلوگرم مکمل ویتامینه شامل ۱۱۰۲۵ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۳۵۲۸ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۳۳ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۰/۹۱ میلی گرم ویتامین K₃، ۰/۱۸ گرم ویتامین B₁، ۰/۸۲۵ گرم ویتامین B₂، یک گرم ویتامین B₃، سه گرم ویتامین B₅، ۰/۳ گرم ویتامین B₆، ۰/۱۲۵ گرم ویتامین B₉، ۰/۱۵ گرم ویتامین B₁₂ و ۵۰ گرم کولین کلراید است.

^۲ هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی ۱/۲۵ میلی گرم ید و ۰/۳ میلی گرم سلنیوم است.

¹ Vitamin premix supplied the following, per kilogram of diet: vitamin A, 11025 IU; vitamin D₃, 3528 IU; vitamin E, 33 mg; vitamin K₃, 0.91 mg; Vitamin B₁, 0.18 g; Vitamin B₂, 0.825 g; Vitamin B₃, 1.00g; Vitamin B₅, 3.00 g; Vitamin B₆, 0.30g; Vitamin B₉, 0.125g; Vitamin B₁₂, 0.15g; choline chloride, 50g.

² Mineral premix supplied the following per kilogram of diet: I (calcium iodate), 1.25g; Se (Sodium selenite), 0.3 g.

جدول ۲- مقادیر روی، مس، منگنز و آهن اضافه شده به جیره و مقدار اندازه گیری شده در جیره

Table 2- Amounts of zinc, copper, manganese and iron added to the diet and the amount measured in the diet

متغیر Item	درصد احتیاجات Requirements (%)	رشد ۱۱-۲۳ روزگی Grower 11-23 days								پایانی ۲۴-۴۲ روزگی Finisher 24-42 days							
		محاسبه شده Calculated				اندازه گیری شده Measured				محاسبه شده Calculated				اندازه گیری شده Measured			
		روی Zn	مس Cu	منگنز Mn	آهن Fe	روی Zn	مس Cu	منگنز Mn	آهن Fe	روی Zn	مس Cu	منگنز Mn	آهن Fe	روی Zn	مس Cu	منگنز Mn	آهن Fe
		(میلی گرم در کیلوگرم) (mg/kg)															
مکمل غیر آلی Inorganic mineral	40	44	6.4	48	8	46	7	52	9	44	6.4	48	8	48	8.3	52	9.1
	60	66	9.6	72	12	67	10	77	14	66	9.6	72	12	67	9.4	76	12
	80	88	12.8	96	16	89	13	100	15	88	12.8	96	16	83	13	100	16
	100	110	16.0	120	20	111	19	118	23	110	16.0	120	20	112	17	124	22
	120	132	19.2	144	24	136	21	145	24	132	19.2	144	24	124	20	148	25
مکمل آلی Organic mineral	40	44	6.4	48	8	45	6	53	8	44	6.4	48	8	46	8.1	56	9
	60	66	9.6	72	12	65	9	72	12	66	9.6	72	12	63	9.7	77	13
	80	88	12.8	96	16	91	13	98	16	88	12.8	96	16	83	13	98	15
	100	110	16.0	120	20	115	16	122	21	110	16.0	120	20	119	18	121	23
	120	132	19.2	144	24	136	22	151	24	132	19.2	144	24	131	19	146	24

استفاده شد.

مدل آزمایشی به صورت زیر بود.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk} \quad \text{معادله (۲)}$$

که در آن، Y_{ijk} : مقدار هر مشاهده، μ : میانگین صفت مورد اندازه گیری، A_i : اثر منبع، B_j : اثر سطح، AB_{ij} : اثر متقابل منبع در سطح و e_{ijk} : اثر خطای آزمایشی است.

نتایج و بحث

اثر سطوح مختلف مواد معدنی آلی و معدنی روی، مس، منگنز و آهن بر عملکرد مرغ گوشتی سویه راس ۳۰۸ در دو دوره رشد و پایانی و همچنین کل دوره آزمایش در جدول ۳ گزارش شده است. نتایج نشان داد که اثر سطح مصرف مواد معدنی تأثیر معنی داری بر عملکرد در سه دوره رشد، پایانی و کل دوره آزمایش داشت ($P < 0.05$)، ولی منبع ماده معدنی مورد استفاده (آلی یا معدنی) تأثیری بر این مؤلفه‌ها نداشت (جدول ۲ پیوست). اثرات متقابل منبع و سطح ماده معدنی نیز اثر معنی داری بر افزایش وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک در هر سه دوره داشتند. در دوره رشد، بیشترین افزایش وزن بدن مربوط به گروه‌های دریافت کننده ۱۲۰، ۱۰۰، ۸۰ درصد احتیاجات مواد معدنی آلی و ۱۲۰ درصد احتیاجات مواد معدنی غیر آلی بود ($P < 0.05$). بیشترین مصرف خوراک روزانه در دوره رشد مربوط به گروه دریافت کننده ۴۰ درصد احتیاجات مواد معدنی غیر آلی و آلی بود و کمترین، مربوط به گروه‌های ۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰ غیر آلی و ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ آلی بود ($P < 0.05$). در دوره رشد ضریب تبدیل خوراک

که در آن، m : وزن استخوان در هوا و v : تفاوت وزن استخوان در هوا و در آب می باشد.

استحکام استخوان با استفاده از روش کوکاباگلی (Kocabagli, 2001) اندازه گیری شد. استخوان درشت نی پای راست نیز برای ارزیابی میزان ذخیره مواد معدنی مورد استفاده قرار گرفت. برای ارزیابی میزان خاکستر و منگنز، استخوان‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه خشک و آسیاب شده و سپس در کوره در دمای ۶۰۰ درجه قرار داده شد و میزان خاکستر آن‌ها محاسبه گردید و سپس میزان روی، مس، منگنز و آهن موجود در خاکستر استخوان با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد (Liu et al., 2000). مقادیر فسفر نمونه‌ها با استفاده از روش رنگ سنجی با معرف مولیبدات-وانادات و در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف سنج نوری (اسپکتروفتومتر) و میزان کلسیم استخوان نیز به روش عیارسنجی (تیتراسیون) اندازه گیری شد (Gordon and Roland, 1998).

آنالیز آماری

نتایج به دست آمده از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل با استفاده از نرم افزار SAS ویرایش 9.3 (2003) روش مدل عمومی خطی (GLM) تجزیه و تحلیل آماری شدند. میانگین‌های مربوط به با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ($P < 0.05$) مورد مقایسه قرار گرفتند. برای بررسی رگرسیون معنی دار بین سطوح متفاوت مواد معدنی و صفات مورد بررسی از ضرایب چند جمله‌ای متعامد (Orthogonal polynomial)

در جدول ۴، اثر متقابل منبع و سطح ماده معدنی بر فراسنجه‌های خونی مرغ گوشتی سویه راس ۳۰۸ گزارش شده است. سطح فراسنجه‌های مورد آزمایش (گلوکز، پروتئین کل، آلبومین، اوریک اسید، آلکالین فسفاتاز، مالون‌دی‌آلدئید و کاتالاز) تحت تأثیر منبع ماده معدنی یا سطوح آن و همچنین اثرات متقابل آن‌ها قرار نگرفت و اثر معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳ پیوست). در مطالعه‌ای که حاجی‌لاری و همکاران (*Hajilari et al., 2018*) به بررسی مقایسه اثرات مس و روی آلی و غیرآلی در سطح ۱۰۰ درصد احتیاجات در جیره مرغ گوشتی پرداختند، گزارش کردند که افزودن مس و روی آلی در مقایسه با مس و روی غیرآلی سبب کاهش معنی‌دار غلظت کلسترول شد، اما تأثیر معنی‌داری در غلظت خونی پروتئین کل و تری‌گلیسرید نداشت. کونگ و همکاران (*Kong et al., 2022*) بیان کردند که تغذیه مواد معدنی ضروری آلی به مرغ گوشتی در کاهش سطح کلسترول تام مؤثرتر از مصرف اشکال غیرآلی بود. در مطالعه‌ای دیگر، اثر روی آلی بر عملکرد و فراسنجه‌های خونی مورد بررسی قرار گرفت و گزارش شد که سطوح مختلف روی آلی، اثر معنی‌داری بر میزان آلبومین، پروتئین کل، اسید اوریک، گلوکز و کلسترول خون نداشت (*Salim et al., 2011*).

اثرات متقابل منابع و سطوح مختلف روی، مس، منگنز و آهن بر ذخایر معدنی استخوان درشتی در مرغ‌های راس ۳۰۸ در جدول ۵ گزارش شده است. اثر سطح مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر ذخایر روی، مس، منگنز و آهن در استخوان درشت نی داشتند (جدول ۴ پیوست). در مورد روی، اثر متقابل منبع و سطح مکمل‌های معدنی تأثیر معنی‌داری بر محتوای روی استخوان داشت ($P < 0.05$). مرغ‌های تغذیه‌شده با ۱۲۰ و ۱۰۰ درصد احتیاجات، بیشترین میزان روی ذخیره‌شده در استخوان را داشتند که اختلاف آن با سایر سطوح معنی‌دار بود، همچنین گروه تغذیه‌شده با ۸۰ درصد احتیاجات روی آلی، ذخیره استخوانی بیشتری نسبت به گروه ۸۰ درصد روی غیرآلی داشت ($P < 0.05$). میزان ذخیره مس، منگنز و آهن استخوان در گروه‌های تغذیه‌شده با ۱۰۰ و ۱۲۰ درصد احتیاجات در هر دو منبع غیرآلی و منبع آلی به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($P < 0.05$). نتایج بررسی روابط رگرسیون بین سطوح مصرف مواد معدنی و محتوای آن‌ها در استخوان نشان می‌دهد که در مورد عناصر روی، منگنز و آهن با افزایش مصرف، میزان آن در استخوان به‌صورت خطی افزایش می‌یابد، ولی در مورد مس این ارتباط از نوع درجه دو است ($P < 0.05$) و از ۸۰ درصد به بالاتر، افزایشی در محتوای مس استخوان مشاهده نخواهد شد. مس، منگنز، روی و آهن برای رشد، توسعه و سلامت استخوان مورد نیاز می‌باشد (*Beattie and Avenell, 1992*).

در گروه‌های دریافت‌کننده ۴۰ درصد آلی و ۴۰ درصد معدنی به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود و کمترین آن مربوط به گروه‌های تغذیه‌شده با ۱۲۰، ۱۰۰ و ۸۰ درصد احتیاجات مواد معدنی آلی و معدنی بود. در دوره پایانی، بیشترین افزایش وزن بدن روزانه مربوط به گروه‌های تغذیه‌شده با ۱۲۰، ۱۰۰ و ۸۰ درصد احتیاجات مواد معدنی آلی و ۱۲۰ و ۱۰۰ درصد احتیاجات مواد معدنی غیرآلی بود که اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت. در دوره پایانی، بیشترین میزان مصرف خوراک روزانه در گروه‌های دریافت‌کننده ۴۰ و ۶۰ درصد احتیاجات مواد معدنی از منبع غیرآلی و ۴۰ درصد احتیاجات توصیه‌شده از منبع آلی بود ($P < 0.05$). در کل دوره آزمایش (۴۲-۱۱ روزگی)، افزایش روزانه وزن بدن به‌طور معنی‌داری در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۲۰ و ۱۰۰ درصد احتیاجات مواد معدنی آلی و ۱۲۰ درصد احتیاجات مواد معدنی غیرآلی بیشتر از سایر گروه‌ها مشاهده شد. بیشترین میزان مصرف خوراک روزانه مربوط به گروه دریافت‌کننده ۴۰ و ۶۰ درصد احتیاجات مواد معدنی از مواد غیرآلی بود که اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت. در خصوص ضریب تبدیل خوراک در کل دوره آزمایش، کمترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به گروه‌های دریافت‌کننده ۱۲۰، ۱۰۰ درصد احتیاجات مواد معدنی آلی و ۱۲۰ درصد احتیاجات مواد معدنی غیرآلی بود. باتوجه به نتایج به‌دست آمده، منابع مورد استفاده در کل دوره آزمایشی اثر معنی‌داری بر صفات عملکردی نداشتند، اما اثر سطوح مورد استفاده معنی‌دار بود.

مطالعات بسیاری، اثر سطوح و منابع مختلف مواد معدنی و آلی را بر عملکرد مرغ گوشتی مورد بررسی قرار داده‌اند. در مطالعه انجام‌شده در سال ۲۰۲۰، ویرا و همکاران گزارش کردند که استفاده از مواد معدنی آلی حتی در سطوح پایین‌تر در مقایسه با مواد معدنی غیرآلی با سطوح برابر و بالاتر سبب بهبود وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک گردید (*Vieira et al., 2020*). در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که استفاده از مکمل کیلاته مس-متیونین و مس-پروپیونات در دوره آغازین تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن بدن نداشت، اما در دوره رشد سبب افزایش وزن بدن مرغ‌های گوشتی گردید (*Deo et al., 2018*). عبدالله و همکاران (*Abdallah et al., 2014*) نیز گزارش کردند که تغذیه مرغ گوشتی با ۱۰۰ درصد مواد معدنی آلی (روی، مس، منگنز و آهن) در مقایسه با گروه تغذیه‌شده با ۵۰ درصد مواد معدنی آلی و ۵۰ درصد مواد معدنی غیرآلی و همچنین گروه تغذیه‌شده با ۱۰۰ مواد معدنی غیرآلی در ۳۵ روزگی، وزن بدن را به‌طور قابل توجهی افزایش داد. در تحقیقی دیگر نشان داده شد که افزودن سطوح پایین‌تر مواد معدنی آلی روی، مس و منگنز در جیره نسبت به گروه شاهد سبب افزایش وزن بدن مرغ‌های گوشتی گردید (*Aksu et al., 2011*).

جدول ۳- اثرات مکمل آلی و معدنی بر عملکرد رشد مرغ‌های گوشتی در دوره رشد و پایانی

Table 3- The effects of inorganic and organic supplements on the growth performance of broiler chickens in the growing and finishing periods

متغیر Item	سطوح Level	دوره رشد Grower period			دوره پایانی Finisher period			کل دوره پرورشی Whole period		
		افزایش وزن بدن Body weight gain	مصرف خوراک Feed intake	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	افزایش وزن بدن Body weight gain	مصرف خوراک Feed intake	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	افزایش وزن بدن Body weight gain	مصرف خوراک Feed intake	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio
مکمل غیرآلی Inorganic mineral	40	41.72 ^d	71.67 ^a	1.72 ^a	65.18 ^c	134.80 ^a	2.06 ^a	55.65 ^d	109.15 ^a	1.96 ^a
	60	42.02 ^d	69.64 ^{ab}	1.67 ^b	67.59 ^c	133.07 ^{ab}	1.97 ^b	57.20 ^d	107.30 ^{ab}	1.88 ^b
	80	43.46 ^{bcd}	68.06 ^{bc}	1.57 ^c	73.61 ^b	131.60 ^{bc}	1.79 ^c	61.36 ^c	105.79 ^{cde}	1.72 ^c
	100	44.89 ^{bc}	67.36 ^c	1.53 ^{cd}	74.82 ^{ab}	131.42 ^c	1.76 ^c	62.25 ^{bc}	105.40 ^{de}	1.69 ^c
	120	44.79 ^{abc}	67.28 ^c	1.50 ^{de}	74.87 ^{ab}	130.21 ^c	1.74 ^c	62.65 ^{bc}	104.64 ^e	1.67 ^{cd}
مکمل آلی Organic mineral	40	41.93 ^d	70.98 ^a	1.69 ^{ab}	67.09 ^c	133.64 ^{ab}	1.99 ^{ab}	56.87 ^d	108.18 ^{ab}	1.90 ^{ab}
	60	43.12 ^{cd}	68.16 ^{bc}	1.58 ^c	73.58 ^b	132.24 ^{bc}	1.80 ^c	61.20 ^c	106.20 ^{cd}	1.73 ^b
	80	44.10 ^{abc}	67.35 ^c	1.53 ^{cd}	75.49 ^{ab}	130.68 ^c	1.73 ^{cd}	62.74 ^c	104.95 ^{de}	1.67 ^{bc}
	100	44.88 ^{ab}	66.74 ^c	1.49 ^{de}	76.97 ^a	130.34 ^c	1.69 ^d	63.93 ^{ab}	104.50 ^e	1.63 ^{cd}
	120	45.78 ^a	66.54 ^c	1.45 ^{de}	77.31 ^a	130.29 ^c	1.68 ^d	64.50 ^a	104.39 ^e	1.62 ^d
خطای استاندارد SEM		0.362	0.425	0.012	0.653	0.482	0.018	0.417	0.322	0.014
احتمال سطح معنی‌داری P value										
کل Total		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
منبع Source		0.8356	0.6891	0.2489	0.2588	0.1492	0.2119	0.5188	0.3598	0.2148
سطح level		0.0428	0.0092	0.0367	0.0638	0.0596	0.0280	0.0382	0.0024	0.0180
سطح × منبع Source × level		0.2148	0.3212	0.1515	0.3128	0.3519	0.3890	0.0351	0.0925	0.1692
مقایسه مستقل Contrast										
خطی Liner		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
درجه دوم Quadratic		0.8849	0.0053	0.0120	0.0005	0.2080	0.0001	0.0012	0.0099	0.0001
درجه سوم Qubic		0.2385	0.8459	0.1185	0.0352	0.4071	0.0221	0.0191	0.4005	0.0134

a-b میانگین‌ها در هر ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ($P < 0.05$).a-b Means with different letters within a column are significantly different ($P < 0.05$).

این عناصر در استخوان درشت نی نسبت به فرم غیرآلی شد. محققان با بررسی اثرات سطوح مختلف مکمل معدنی آلی و غیرآلی در جیره گزارش دادند که استفاده از شکل آلی روی، مس و منگنز با مقادیر ۱۱۰، ۱۶ و ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در مقایسه با منبع غیرآلی آن‌ها سبب افزایش مقدار منگنز و مس استخوان درشت‌نی مرغ گوشتی شد (Hajilari et al., 2018). همچنین محققان بیان کردند که استفاده از مکمل معدنی آلی و غیرآلی، تأثیر معنی‌داری بر میزان کلسیم، فسفر، روی، آهن و مس استخوان درشت‌نی ندارد، اما میزان منگنز

در این راستا، محققان گزارش کردند که استفاده از مکمل منگنز، روی، مس و آهن در جیره مرغ گوشتی در بازه زمانی ۱ الی ۳۵ روز میزان مس، منگنز و روی استخوان درشت‌نی را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد، اما تأثیر معنی‌داری بر میزان آهن استخوان درشت‌نی ایجاد نکرد (Bao et al., 2009). در مطالعه دیگری، بائو و همکاران (Bao et al., 2007) گزارش کردند که افزودن سطوح پایین‌تر از احتیاجات توصیه‌شده از فرم آلی عناصر مس، منگنز، روی و آهن در جیره جوجه‌های گوشتی، باعث افزایش میزان ذخیره‌سازی

استخوان درشتنی در اثر افزودن مکمل معدنی به فرم غیرآلی بیشتر از فرم آلی بود (M'Sadeq et al., 2018).

جدول ۴- اثرات مکمل آلی و معدنی بر فراسنجه‌های خونی مرغ‌های گوشتی در دوره رشد و پایی

Table 4- The effects of inorganic and organic supplements on the blood parameters of broiler chickens in the growing and finishing periods

متغیر Item	سطوح level	گلوکز Glucose (mg/dl)	پروتئین کل Protein total (mg/dl)	آلبومین Albumin (mg/dl)	اوریک اسید Uric acid (mg/dl)	آلکالین فسفاتاز ALP(U/l)	مالون دی‌آلدئید MDA (μmol/l)	کاتالاز CAT (U/l)
مکمل غیرآلی Inorganic mineral	40	210	5.86	2.068	0.592	57.0	8.8	5.356
	60	215	5.78	2.248	0.574	59.0	8.902	5.696
	80	211.2	5.78	2.108	0.594	58.0	9.094	5.278
	100	204.8	5.76	2.066	0.62	52.6	9.14	5.72
	120	214.6	5.82	2.132	0.604	54.2	9.138	5.252
مکمل آلی Organic mineral	40	198.6	5.82	2.128	0.634	61.2	8.616	5.678
	60	211.2	5.86	2.090	0.572	60.2	9.068	5.55
	80	210.4	5.76	2.042	0.626	57.4	9.356	5.572
	100	198.8	5.90	2.136	0.60	55.8	9.43	5.55
	120	221.4	5.70	2.17	0.574	54.0	9.116	5.628
خطای استاندارد SEM		5.572	0.177	0.053	0.021	2.985	0.244	0.278
احتمال سطح معنی‌داری P-Value								
کل Total		0.1352	0.9992	0.2790	0.3691	0.5498	0.4635	0.9345
منبع Source		0.3659	0.3495	0.3485	0.3598	0.3648	0.2849	0.6589
سطح Level		0.7589	0.2147	0.1158	0.2548	0.7586	0.6289	0.5248
سطح × منبع Source × level		0.6258	0.5257	0.6627	0.8249	0.6254	0.1587	0.6257
مقایسه مستقل Contrast								
خطی Liner		0.4409	0.7061	0.5401	0.2755	0.2938	0.2735	0.5906
درجه دوم Quadratic		0.3125	0.8668	0.0420	0.3019	0.2223	0.9092	0.8553
درجه سوم Qubic		0.8048	0.8999	0.0845	0.7355	0.9170	0.8299	0.2004

ALP: آلکالین فسفاتاز، MDA: مالون دی‌آلدئید، CAT: کاتالاز

ALP: alkaline phosphatase; MDA: malondialdehyde; CAT: catalase

که اختلاف معنی‌دار بود. بیشترین درصد ماده خشک استخوان مربوط به گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۲۰ درصد احتیاجات منبع غیرآلی و آلی و کمترین میزان نیز در گروه دریافت‌کننده ۴۰ و ۶۰ درصد احتیاجات مواد معدنی آلی و غیرآلی مشاهده شد. انرژی شکست در گروه‌های تغذیه‌شده با ۱۲۰، ۱۰۰ و ۸۰ درصد احتیاجات در منابع آلی و غیرآلی بیشتر بود، به‌طوری‌که در هر دو منبع با افزایش سطح مواد معدنی، انرژی شکست به‌صورت خطی افزایش پیدا کرد ($P < 0.05$) این تأثیر در میانگین انرژی شکست استخوان پرندگان مصرف‌کننده سطوح مختلف مواد معدنی قابل مشاهده است ($P < 0.05$).

اثرات متقابل منابع و سطوح مختلف مواد معدنی (روی، مس، منگنز و آهن) بر خصوصیات فیزیکی استخوان درشتنی مرغ‌های گوشتی در جدول ۶ گزارش شده است. طول، قطر، خاکستر، سختی و خمش استخوان تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. اثرات متقابل منبع و سطح مواد معدنی، اثرات معنی‌داری بر درصد ماده خشک، وزن مخصوص و انرژی شکست داشت ($P < 0.05$). بیشترین وزن مخصوص استخوان مربوط به گروه‌های تغذیه‌شده با ۱۰۰، ۱۲۰ درصد احتیاجات مواد معدنی با منبع آلی و ۱۲۰، ۱۰۰ و ۸۰ درصد احتیاجات با منبع غیرآلی و کمترین مقدار در گروه‌های تغذیه‌شده با ۴۰ و ۶۰ درصد منابع غیرآلی مس، روی، منگنز و آهن به‌دست آمد.

جدول ۵- اثرات مکمل آلی و معدنی بر مواد معدنی استخوان درشت نی مرغ‌های گوشتی در دوره رشد و پایداری

Table 5- The effects of inorganic and organic supplements on the mineral contents of broiler chickens in the growing and finishing periods

متغیر Item	سطوح Level	کلسیم Calcium (ppm)	فسفر Phosphorus (ppm)	روی Zinc (ppm)	مس Copper (ppm)	منگنز Manganese (ppm)	آهن Iron (ppb)
مکمل غیرآلی Inorganic mineral	40	36.54	18.37	79.93 ^e	0.43 ^d	1.87 ^c	81.71 ^d
	60	36.70	16.99	80.80 ^{de}	0.51 ^{bc}	2.04 ^{bc}	85.71 ^{cd}
	80	35.53	17.20	83.14 ^c	0.58 ^a	2.57 ^a	116.87 ^b
	100	36.65	17.01	86.49 ^{ab}	0.57 ^a	2.67 ^a	139.23 ^a
	120	36.94	17.19	86.96 ^a	0.55 ^a	2.70 ^a	143.15 ^a
مکمل آلی Organic mineral	40	36.68	16.76	79.14 ^e	0.44 ^d	1.84 ^c	88.99 ^{cd}
	60	36.55	16.93	81.91 ^{dc}	0.49 ^c	1.88 ^c	101.02 ^{bc}
	80	37.26	16.80	85.03 ^b	0.50 ^{bc}	2.19 ^b	139.50 ^a
	100	37.09	16.93	87.34 ^a	0.55 ^a	2.63 ^a	142.59 ^a
	120	37.03	16.91	87.03 ^a	0.55 ^a	2.67 ^a	132.96 ^a
خطای استاندارد SEM		0.363	0.524	0.623	0.013	0.061	5.586
احتمال سطح معنی‌داری P-Value							
کل Total		0.8482	0.6307	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
منبع Source		0.8579	0.5518	0.4194	0.4928	0.4219	0.2519
سطح Level		0.8254	0.5269	0.0001	0.0018	0.0418	0.0189
سطح × منبع Source × level		0.6851	0.06254	0.0234	0.0965	0.2358	0.1453
مقایسه مستقل Contrast							
خطی Liner		0.9214	0.1068	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
درجه دوم Quadratic		0.9560	0.2680	0.0567	0.0030	0.0628	0.1103
درجه سوم Qubic		0.7025	0.4015	0.8693	0.2839	0.0145	0.1620

^{a-b} میانگین‌ها در هر ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ($P < 0.05$).

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

معنی‌داری باعث افزایش طول و وزن استخوان درشت نی شد (Hajilari et al., 2018). بائو و همکاران (Bao et al., 2007) گزارش کردند که پرندگان تغذیه‌شده با سطوح کافی مس، آهن و روی تأثیر معنی‌داری بر عرض و استحکام استخوان درشت نی نداشت. در مطالعه بائو و همکاران (Bao et al., 2009) نشان داده شد که استفاده از مس، آهن و روی به‌تنهایی تأثیر معنی‌داری بر استحکام استخوان درشت نی نداشت، اما استفاده همزمان این مکمل‌ها به‌طور معنی‌داری سبب بهبود عرض و استحکام استخوان درشت نی شد.

در مطالعه‌ای گزارش شد که جوجه‌هایی که با ۵۰ درصد سطح توصیه‌شده با مکمل روی، منگنز و مس آلی تغذیه شدند در مقایسه با جوجه‌های تغذیه‌شده با ۱۰۰ درصد احتیاجات توصیه‌شده با مکمل روی، منگنز و مس غیرآلی تا سن ۳۵ روزگی، تأثیری بر وزن، طول و قطر درشت نی مشاهده نشد (El-Husseiny et al., 2012). گزارش شده است که استفاده از مکمل‌های معدنی (مس، روی، ید، سلنیوم و منگنز) به فرم‌های آلی و غیرآلی در جیره مرغ گوشتی نتوانسته است تأثیر معنی‌داری بر وزن، طول، عرض، استحکام استخوان درشت نی داشته باشد (M'Sadeq et al., 2018). محققان گزارش کردند که استفاده از شکل آلی روی، مس و منگنز به‌ترتیب با مقادیر ۱۱۰، ۱۶ و ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره نسبت به فرم غیرآلی، به‌طور

جدول ۶- اثرات مکمل آلی و معدنی بر خصوصیات فیزیکی استخوان درشت نی مرغ‌های گوشتی در دوره رشد و پایانی

Table 6- the effects of inorganic and organic supplements on the physical property of tibia bone in broiler chickens in the growing and finishing periods

متغیر Item	سطوح Level	ماده خشک Dry matter (%)	وزن مخصوص Weight (N/m ³)	طول Length (mm)	قطر Diameter (mm)	خاکستر Ash (%)	سختی Stiffness (N/mm)	خمش Fracture deflection (mm)	انرژی شکست Shear force (N/m ²)
مکمل غیرآلی Inorganic mineral	40	44.40 ^c	1.086 ^{bc}	68.02	8.77	22.81	197.73	2.51	0.477 ^c
	60	46.95 ^c	1.082 ^{bc}	69.83	9.65	20.96	219.85	2.70	0.511 ^c
	80	50.82 ^{ab}	1.094 ^{abc}	69.91	8.96	21.29	234.10	2.58	0.532 ^{ab}
	100	50.43 ^{abc}	1.124 ^{ab}	68.85	9.54	22.24	217.00	2.52	0.524 ^{ab}
مکمل آلی Organic mineral	120	50.78 ^{abc}	1.113 ^{ab}	72.21	9.78	21.70	220.13	2.73	0.530 ^a
	40	47.41 ^{bc}	1.096 ^{abc}	68.70	9.59	22.88	243.42	3.98	0.481 ^{bc}
	60	51.51 ^{ab}	1.078 ^{bc}	69.46	9.42	18.75	212.24	2.22	0.522 ^b
	80	52.96 ^{ab}	1.073 ^c	67.88	9.60	22.88	235.95	2.92	0.527 ^{ab}
	100	53.10 ^{ab}	1.116 ^{ab}	69.68	9.55	20.64	215.36	2.01	0.542 ^a
	120	54.22 ^a	1.135 ^a	70.24	9.39	20.41	243.52	2.57	0.537 ^a
خطای استاندارد SEM		1.84	0.01	1.05	0.22	1.32	16.24	0.24	0.0125
احتمال سطح معنی‌داری P-Value									
کل Total		0.0508	0.0373	0.2180	0.0618	0.4542	0.5867	0.4880	0.0055
منبع Source		0.2951	0.5127	0.6719	0.4895	0.0625	0.1580	0.7824	0.0514
سطح Level		0.0267	0.0624	0.3495	0.5290	0.6281	0.3521	0.2864	0.0182
سطح × منبع Source × level		0.2807	0.2381	0.5270	0.4489	0.4621	0.2589	0.5291	0.0462
مقایسه مستقل Contrast									
Liner		0.5420	0.0537	0.5881	0.1145	0.8154	0.3269	0.9346	0.0113
Quadratic		0.1083	0.2420	0.1816	0.5069	0.2981	0.2347	0.5993	0.1420
Qubic		0.0852	0.9622	0.9030	0.0069	0.7926	0.7472	0.7232	0.7179

^{a-b} میانگین‌ها در هر ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ($P < 0.05$).

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

نتیجه‌گیری کلی

توصیه‌شده غیرآلی به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود. انرژی شکست در گروه‌های دریافت‌کننده مواد معدنی آلی در سطوح ۱۲۰، ۱۰۰ و ۸۰ آلی و غیرآلی به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، استفاده از ۸۰ درصد مواد معدنی به‌شکل آلی به‌دلیل ایجاد عملکرد مشابه با ۱۰۰ و ۱۲۰ درصد احتیاجات منابع آلی و غیرآلی توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از دانشگاه فردوسی مشهد جهت حمایت‌های فنی و مالی در این طرح سپاسگزاری می‌گردد. همچنین از آقای دکتر حمیدرضا سلیمان‌پور لیجایی و آقای سبحانی به‌خاطر تأمین مواد اولیه

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از منابع و سطوح مختلف احتیاجات توصیه‌شده بر عملکرد، ذخیره مواد معدنی استخوان و خصوصیات فیزیکی استخوان اثرات معنی‌داری داشت. کمترین ضریب تبدیل خوراک در کل دوره پرورش مربوط به گروه‌های دریافت‌کننده ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ درصد احتیاجات از منابع آلی و معدنی بود. افزایش وزن روزانه در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰ و ۱۲۰ درصد احتیاجات توصیه‌شده مواد معدنی آلی به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود. به‌طور کلی، در خصوص روی، مس، منگنز و آهن ذخیره شده در استخوان در گروه‌های دریافت‌کننده ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ درصد احتیاجات توصیه‌شده مواد معدنی آلی و ۱۰۰ و ۱۲۰ درصد احتیاجات

References

1. Abdallah, A. G., Khalil, H. M., El-Sahn, A. A., El-Saadany, A. S., Shreif, E. Y., & El-Salam, A. (2014). Effect of supplementing organic minerals (zinc, manganese, iron, copper and selenium) on productive, reproductive and immune performance of Gimmizah chickens. *Egyptian Poultry Science Journal*, 34(4).
2. Aksu, T., Ozsoy, B., Aksu, D., Yörük, M., & Gül, M. (2011). The effects of lower levels of organically complexed zinc, copper and manganese in broiler diets on performance, mineral concentration of tibia and mineral excretion. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 17, 141-146. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2010.2735>
3. Asmundson, V. S., & Baker, G. A. (1940). Percentage shell as a function of shell thickness, egg volume, and egg shape. *Poultry Science*, 19(4), 227-232. <http://doi.org/10.3382/ps.0190227>
4. Bao, Y. M., Choct, M., Iji, P. A., & Bruerton, K. (2007). Effect of organically complexed copper, iron, manganese, and zinc on broiler performance, mineral excretion, and accumulation in tissues. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(3), 448-455. <http://doi.org/10.1093/japr/16.3.448>
5. Bao, Y. M., Choct, M., Iji, P. A., & Bruerton, K. (2009). Optimal dietary inclusion of organically complexed zinc for broiler chickens. *British Poultry Science*, 50(1), 95-102. <http://doi.org/10.1080/00071660802590377>
6. Beattie, J. H., & Avenell, A. (1992). Trace element nutrition and bone metabolism. *Nutrition Research Reviews*, 5(1), 167-188. <http://doi.org/10.1079/NRR19920013>
7. Deo, C., Mandal, A. B., & Tyagi, P. K. (2018). Response of supplementary sources and levels of copper in diet on the performance of broiler chickens. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 18(1), 89-96. <http://doi.org/10.5958/0974-181X.2018.00008.2>
8. Dobrzański, Z., Korczyński, M., Chojnacka, K., Górecki, H., & Opaliński, S. (2008). Influence of organic forms of copper, manganese and iron on bioaccumulation of these metals and zinc in laying hens. *Journal of Elementology*, 13(3), 309-319.
9. Echeverry, H., Yitbarek, A., Munyaka, P., Alizadeh, M., Cleaver, A., Camelo-Jaimes, G., & Rodriguez-Lecompte, J. C. (2016). Organic trace mineral supplementation enhances local and systemic innate immune responses and modulates oxidative stress in broiler chickens. *Poultry Science*, 95(3), 518-527. <http://doi.org/10.3382/ps/pev374>
10. El-Husseiny, O. M., Hashish, S. M., Ali, R. A., Arafa, S. A., Abd El-Samee, L. D., & Olemy, A. A. (2012). Effects of feeding organic zinc, manganese and copper on broiler growth, carcass characteristics, bone quality and mineral content in bone, liver and excreta. *International Journal of Poultry Science*, 11(6), 368. <https://doi.org/10.3923/ijps.2012.368.377>
11. Ghasemi, H. A., Hajkhodadadi, I., Hafizi, M., Taherpour, K., & Nazaran, M. H. (2020). Effect of advanced chelate technology based trace minerals on growth performance, mineral digestibility, tibia characteristics, and antioxidant status in broiler chickens. *Nutrition and Metabolism*, 17, 1-12. <http://doi.org/10.1186/s12986-020-00520-5>
12. 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://doi.org/10.1093/ps/77.2.290>
13. Hajilari, D., Shams Shargh, M., & Ashayerizade, O. (2019). Effects of various levels of organic and inorganic trace minerals on performance, carcass characteristics and blood parameters of broiler chickens. *Animal Sciences Journal*, 32(124), 3-16. <http://doi.org/10.22092/asj.2018.121016.1655>
14. Hussein, H. A., & Staufenbiel, R. (2012). Variations in copper concentration and ceruloplasmin activity of dairy cows in relation to lactation stages with regard to ceruloplasmin to copper ratios. *Biological Trace Element Research*, 146, 47-52. <http://doi.org/10.1007/s12011-011-9226-3>
15. Kocabagli, N. (2001). The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25(5), 797-802.
16. Kong, J., Qiu, T., Yan, X., Wang, L., Chen, Z., Xiao, G., & Zhang, H. (2022). Effect of replacing inorganic minerals with small peptide chelated minerals on production performance, some biochemical parameters and antioxidant status in broiler chickens. *Frontiers in Physiology*, 13, 1027834. <http://doi.org/10.3389/fphys.2022.1027834>
17. Liu, J. F., Jiang, G. B., & Feng, Y. D. (2000). Flow injection spectrophotometric determination of copper, iron, manganese, and zinc in animal feeds using a common manifold. *Journal of AOAC International*, 83(6), 1293-1298. <http://doi.org/10.1093/jaoac/83.6.1293>

18. M'Sadeq, S. A., Wu, S. B., Choct, M., & Swick, R. A. (2018). Influence of trace mineral sources on broiler performance, lymphoid organ weights, apparent digestibility, and bone mineralization. *Poultry Science*, 97(9), 3176-3182. <http://doi.org/10.3382/ps/pey197>
19. Nollet, L., Van der Klis, J. D., Lensing, M., & Spring, P. (2007). The effect of replacing inorganic with organic trace minerals in broiler diets on productive performance and mineral excretion. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(4), 592-597. <http://doi.org/10.3382/japr.2006-00115>
20. Olgun, O. (2017). Manganese in poultry nutrition and its effect on performance and eggshell quality. *World's Poultry Science Journal*, 73(1), 45-56. <http://doi.org/10.1017/S0043933916000891>
21. Olivares, M., Pizarro, F., & Ruz, M. (2007). Zinc inhibits nonheme iron bioavailability in humans. *Biological Trace Element Research*, 117, 7-14. <http://doi.org/10.1007/BF02698079>
22. Salim, H. M., Lee, H. R., Jo, C., Lee, S. K., & Lee, B. D. (2012). Effect of sex and dietary organic zinc on growth performance, carcass traits, tissue mineral content, and blood parameters of broiler chickens. *Biological Trace Element Research*, 147, 120-129. <http://doi.org/10.1007/s12011-011-9282-8>
23. Suttle, N. F. (2022). *Mineral Nutrition of Livestock*. Cabi. 194. <http://doi.org/10.1079/9781845934729.0000>
24. tom Dieck, H., Doring, F., Roth, H. P., & Daniel, H. (2003). Changes in rat hepatic gene expression in response to zinc deficiency as assessed by DNA arrays. *The Journal of Nutrition*, 133(4), 1004-1010. <http://doi.org/10.1093/jn/133.4.1004>
25. Vieira, R., Ferket, P., Malheiros, R., Hannas, M., Crivellari, R., Moraes, V., & Elliott, S. (2020). Feeding low dietary levels of organic trace minerals improves broiler performance and reduces excretion of minerals in litter. *British Poultry Science*, 61(5), 574-582. <http://doi.org/10.1080/00071668.2020.1764908>
26. Winiarska-Mieczan, A., Mieczan, T., & Wójcik, G. (2020). Importance of redox equilibrium in the pathogenesis of psoriasis—impact of antioxidant-rich diet. *Nutrients*, 12(6), 1841. <https://doi.org/10.3390/nu12061841>
27. Wołonciej, M., Milewska, E., & Roszkowska-Jakimiec, W. (2016). Trace elements as an activator of antioxidant enzymes. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*, 70, 1483-1498. <https://doi.org/10.5604/17322693.1229074>
28. Zhu, Z., Yan, L., Hu, S., An, S., Lv, Z., Wang, Z., & Zhang, A. (2019). Effects of the different levels of dietary trace elements from organic or inorganic sources on growth performance, carcass traits, meat quality, and faecal mineral excretion of broilers. *Archives of Animal Nutrition*, 73(4), 324-337. <http://doi.org/10.1080/1745039X.2019.1620050>



Effects of Commercial Probiotics on Sperm Traits, Intestinal Morphology, Gut Microflora, and Antioxidant Status in 65-Week-Old Ross 308 Broiler Breeder Roosters

Arash Hadavi¹, Farogh kargar², Najeebullah Fayaz^{3*}, Ali tayebipour⁴, Muhammad amin namaz zadagan⁵

1,2,4 and 5- Ph.D. Student and Ph.D. Graduated, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.

Assistant Professor, Department of Animal Science, Laghman University Faculty of Agriculture, Afghanistan

*Corresponding Author's Email: nfayaz343@lu.edu.af

Received: 04-08-2024
Revised: 26-11-2024
Accepted: 30-11-2024
Available Online: 30-11-2024

How to cite this article:

Hadavi, A., Kargar, F., Fayaz, N., Tayebipour, A., Namaz Zadagan, M., & (2024). Effects of commercial probiotics on sperm traits, intestinal morphology, gut microflora, and antioxidant status in 65-week-old ross 308 broiler breeder roosters. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(1), 63-75. (in Persian with English abstract).

<http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.89135.1211>

Introduction: Probiotics are live microbial feed supplements that exert beneficial effects on host animals by enhancing the balance of intestinal microbes (Fesseha, 2019). In poultry production, probiotics are increasingly viewed as alternatives to oral antibiotics due to growing concerns regarding antimicrobial resistance (Ogbuewu *et al.*, 2022). Bacillus probiotics, in particular, have shown significant promise thanks to their spore-forming capabilities and resistance to feed processing (Ogbuewu *et al.*, 2022). The stability of Bacillus spores in various stressful conditions, along with their ability to produce a range of enzymes such as protease, amylase, and lipase, makes them suitable food additives (Lei *et al.*, 2013). Research indicates that probiotic supplementation can enhance growth performance, feed conversion efficiency, and antioxidant status in broilers (Jadhav *et al.*, 2015; Ogbuewu *et al.*, 2022). Additionally, probiotics contribute to improved intestinal health by promoting beneficial microflora and enhancing intestinal morphology (Ogbuewu *et al.*, 2022). Likewise, probiotics can boost various performance and health parameters in poultry, including body weight gain, feed conversion ratio, and overall intestinal health (Alhefny *et al.*, 2022; Aziz *et al.*, 2022; Hassan *et al.*, 2023; Prentza *et al.*, 2022; Smolovskaya *et al.*, 2023). The administration of synbiotics has been associated with positive effects on gut health, survival rates, and the composition of gut microbiota in broiler hens, suggesting potential benefits for reproductive performance and overall health in later life (Prentza *et al.*, 2022). Furthermore, the use of probiotics does not lead to antibiotic resistance in intestinal bacteria, nor does it cause the accumulation of antibiotics in bird tissues (Angelakis, 2017; Blajman *et al.*, 2015). Common probiotic strains utilized in poultry include species of Lactobacillus, Enterococcus, and Bacillus (Fesseha, 2019). Although probiotics demonstrate potential as growth promoters, their effects can vary depending on the specific strains used and their dosages (Ahmad, 2006). The characteristics



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/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.2024.89135.1211>

of an effective probiotic include the following: 1. It is non-pathogenic. 2. It exerts a positive effect on the host animal. 3. It can survive in the intestinal environment. 4. It remains viable under storage conditions. 5. It has a high shelf life during processing. 6. It competes effectively with harmful bacteria (Smirnov *et al.*, 2005).

Materials and Methods: This experiment aimed to investigate the effects of commercial probiotics on sperm traits, intestinal morphology, gut microflora, and antioxidant status in 65-week-old Ross 308 male broiler breeders. A completely randomized design was used with 5 treatments, 10 replications, and one male per unit, totaling 50 males. Sperm characteristics were assessed by collecting samples using the abdominal rub method every ten days. The eosin and nigrosine staining method determined the percentage of live and dead sperm. Antioxidant capacity and glutathione peroxidase activity were also measured. At the experiment's conclusion, all roosters were slaughtered to evaluate intestinal morphology and quantify *E. coli* and *Lactobacillus* populations.

Results and Discussion: The effects of varying levels of commercial probiotics on sperm parameters—such as volume, motility, live sperm percentage, sperm count, and abnormal sperm percentage—in 65-week-old Ross 308 broiler breeders are detailed in Table 3. The study found that the experimental treatments did not significantly affect sperm volume, motility, or live sperm percentage. However, during the first and second months, sperm counts in groups receiving 100, 150, and 200 mg/kg of probiotics were significantly higher than in the control group ($P < 0.05$). *Bacillus* supplementation notably increased live sperm counts (Mazanko *et al.*, 2018). Additionally, the percentage of abnormal sperm was significantly lower ($P < 0.01$) in the 100, 150, and 200 mg/kg probiotic groups compared to controls. Consistent with our findings, vitamin E has been reported to enhance semen volume, sperm motility, and egg fertility, while vitamin C reduces dead sperm percentages (Khan *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2013). In the first month, supplementation with 150 and 200 mg/kg of probiotics, and in the second month with 50, 150, and 200 mg/kg, significantly increased total antioxidant capacity ($P < 0.05$). Probiotics also significantly increased villi length, with the highest jejunum villi length observed in the 150 mg/kg group (1231 micrometers) compared to the control (1156 micrometers). The villus-to-crypt depth ratio was highest in the 150 mg/kg group, showing significant improvement over controls. Probiotic addition significantly increased *Lactobacillus* numbers in the jejunum and ileum ($P < 0.05$), while *E. coli* counts in the jejunum were significantly reduced compared to the control group.

Conclusion: The study demonstrated that probiotics in poultry nutrition enhance the immune system by settling in the digestive tract, preventing pathogens from adhering to intestinal villi, creating acidic conditions, and producing bactericides. This, in turn, improves nutrient digestion. Additionally, roosters fed with 100, 150, and 200 mg/kg probiotics showed a significantly higher number of live sperm compared to the control group. Overall, based on sperm characteristics, intestinal morphology, gut microflora, and antioxidant status, 100 mg/kg of probiotics is recommended as the optimal dosage.

Keywords: Antioxidant, Broiler Breeder Roosters, Commercial probiotic, Gut Microflora, Intestinal morphology

اثرات پروبیوتیک تجاری بر صفات اسپرم، ریخت‌شناسی روده، جمعیت میکروبی روده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی خروس‌های مادر گوشتی راس ۳۰۸ در سن ۶۵ هفتگی

آرش هادوی^۱، فاروق کارگر^۲، نجیب اله فیاض^{۳*}، علی طیبی پور^۲، محمد امین نمازی زادگان^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۰

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر پروبیوتیک تجاری بر صفات اسپرم، ریخت‌شناسی روده، جمعیت میکروبی روده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از تعداد ۵۰ قطعه خروس مادر گوشتی سویه راس (۳۰۸) در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار، ۱۰ تکرار و یک قطعه پرنده در هر تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم پروبیوتیک در کیلوگرم خوراک بود. نتایج آزمایش نشان داد که افزودن ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک به جیره باعث افزایش تعداد اسپرم‌های زنده و کاهش معنی‌دار درصد اسپرم‌های غیرطبیعی شد ($P < 0.05$). خروس‌های دریافت‌کننده ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بیشتری از سایر گروه‌ها داشتند ($P < 0.05$). بیشترین طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت در ژژنوم در گروه دریافت‌کننده ۱۵۰ و در ایلئوم در گروه دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک بود که اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشتند ($P < 0.05$). تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس موجود در ژژنوم و ایلئوم در گروه‌های دریافت‌کننده ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود و تعداد باکتری *ای‌کلای* موجود در ژژنوم کمتری داشتند. براساس نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه، استفاده از پروبیوتیک در تغذیه خروس‌های مادر اثرات مثبتی داشته است و مصرف ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم خوراک پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پروبیوتیک تجاری، جمعیت میکروبی روده، خروس مادر گوشتی، ریخت‌شناسی روده

مقدمه

زنده ماندن در محیط روده ۴- زنده ماندن در شرایط ذخیره‌سازی ۵- ماندگاری بالا در شرایط فرآوری ۶- قابلیت حذف رقابتی با باکتری‌های مضر را داشته باشد (Smirnov et al., 2005). سویه های رایج پروبیوتیک مورد استفاده در طیور شامل گونه‌های لاکتوباسیلوس، *انتروکوکوس* و *باسیلوس* است (Fesseha, 2019). درحالی که پروبیوتیک‌ها توانایی خود را به‌عنوان تقویت‌کننده رشد نشان می‌دهند، اثرات آن‌ها براساس دوز و نوع سویه‌های استفاده‌شده متفاوت است. (Ahmad, 2006). پروبیوتیک‌ها به‌دلیل قابلیت اسپورسازی و توانایی تحمل شرایط فرآوری خوراک، امیدبخش هستند. (Ogbuewu et al., 2022). همچنین به‌دلیل پایداری اسپورهای آن‌ها در حضور تنش‌های متعدد و توانایی تولید انواع آنزیم‌ها مانند پروتئاز، آمیلاز و لیپاز، افزودنی‌های خوراکی مناسبی هستند (Lei et al., 2013). مطالعات نشان داده‌اند که مکمل‌های

پروبیوتیک‌ها، باکتری‌های مفید زنده‌ای هستند که با بهبود تعادل میکروبی روده، اثر مفیدی بر حیوانات میزبان دارند (Fesseha, 2019). در پرورش طیور، پروبیوتیک‌ها به‌عنوان جایگزینی برای آنتی-بیوتیک‌های خوراکی، به‌دلیل نگرانی‌های مربوط به مقاومت ضد میکروبی، مورد توجه قرار گرفته است (Ogbuewu et al., 2022). خصوصیات و ویژگی‌های یک پروبیوتیک مناسب شامل موارد زیر است: ۱- عدم بیماری‌زایی ۲- تأثیر مثبت بر حیوان میزبان ۳- قابلیت

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته دکتری و دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لغمان، افغانستان

(Email: nfayaz343@gmail.com)

(*)- نویسنده مسئول:

<http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.89135.1211>

همچنین، استفاده از پروبیوتیک‌ها برخلاف آنتی‌بیوتیک‌ها باعث ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های روده و تجمع آنتی‌بیوتیک‌ها در بافت‌های پرنده نمی‌شود (Blajman et al., Angelakis, 2017; 2015). با توجه به مطالب فوق‌الذکر، این آزمایش به‌منظور بررسی اثرات پروبیوتیک تجاری بر صفات اسپرم، ریخت‌شناسی روده، جمعیت میکروبی روده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی خروس‌های مادر گوشتی راس ۳۰۸ در سن ۶۵ هفتگی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه پروبیوتیک

پروبیوتیک مورد استفاده از شرکت چیتیکا با برند تجاری پاورپرو چیتیکا تهیه گردید که دارای هشت سویه باکتری (لاکتوباسیلوس رامنوسوس، باسیلوس ساب‌تلیس، باسیلوس لیچینی‌فورمیس، انتروکوکوس فاسیوم، پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس اسیدی‌فیلوس و لاکتوباسیلوس پلانتاروم) با ۱۰^{۱۲} کلنی باکتری در هر گرم بود. به‌منظور افزودن پروبیوتیک به جیره‌ها، ابتدا مقدار مورد نیاز با مقدار کمی خوراک مخلوط گردید و سپس با کل جیره مخلوط گردید.

پرندگان، جایگاه و شرایط پرورش

در این آزمایش ۵۰ قطعه خروس مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸، در سن ۶۵ هفتگی انتخاب و به‌طور تصادفی بین قفس انفرادی که دارای ۳۰ سانتی متر طول، ۴۰ سانتی متر عمق و ۴۵ سانتی متر ارتفاع و به آب‌خوری پستانکی خودکار، دان‌خوری ناودانی دستی و سینی کشویی گالوانیزه مجهز بود، توزیع شدند. خروس‌ها به‌مدت دو هفته جهت عادت‌پذیری با جیره آزمایشی تغذیه شدند. دمای سالن در محدوده ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید، همچنین برنامه نوری ۱۵ ساعت روشنایی و نه ساعت تاریکی در شبانه روز بود.

تیمارهای آزمایشی

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار (شاهد، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم پروبیوتیک در کیلوگرم خوراک) و ۱۰ تکرار و یک قطعه خروس در هر تکرار انجام شد. جیره پایه براساس جدول استاندارد احتیاجات خروس‌های مادر گوشتی توصیه‌شده توسط راهنما سویه راس ۳۰۸ و آنالیز خوراک به‌کمک نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA تنظیم شد (جدول ۱).

پروبیوتیک می‌تواند اثر مثبتی بر عملکرد رشد، ایمنی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی داشته باشند (Jadhav et al., 2015). در مطالعه‌ای، اثر دو پروبیوتیک تجاری چند سویه (Protexin® و Bio-Poul®) بر جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت و گزارش شد که استفاده از پروبیوتیک باعث بهبود ریخت‌شناسی روده، کاهش اکسیداسیون لیپید، تعدیل جمعیت میکروبی ایلئوم به‌نفع حیوان، افزایش ارتفاع پرزها و تعداد سلول‌های مخاطی در ژژنوم و ایلئوم، کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید، افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس و کاهش گونه‌های کلستریدیوم شد (Kazemi et al., 2019). علاوه‌براین، پروبیوتیک‌ها می‌توانند عملکرد (افزایش وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک) و سلامت روده را بهبود دهند (Aziz and Al-Hawezy, 2022; Alhefny et al., 2022; Hassan et al., 2023; Prentza et al., 2022; Smolovskaya et al., 2023). در خروس‌های مادر گوشتی بهبود پتانسیل تولیدمثلی بسیار مهم است (Fouad et al., 2020). با افزایش سن، خروس‌ها با چالش‌های فیزیولوژیکی از جمله کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تغییرات در ترکیب جمعیت میکروبی روده مواجه می‌شوند که می‌تواند بر کیفیت اسپرم و پتانسیل تولیدمثل تأثیر منفی بگذارد (Musa et al., 2021). افزودن پروبیوتیک در جیره غذایی، پتانسیل مقابله با این اثرات منفی مرتبط با افزایش سن را با بهبود جمعیت میکروبی روده، بهبود ساختار پرزهای روده و بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی نشان داده است (Mountzouris et al., 2007). در برخی از مطالعات، اثرات پروبیوتیک‌ها بر خروس‌های مادر گوشتی مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه انجام‌شده در سال ۲۰۱۸ گزارش شد که استفاده از سویه *Bacillus amyloliquefaciens* باعث بهبود ریخت‌شناسی روده، جمعیت میکروبی روده، فعالیت اکسیداتیو و کیفیت اسپرم در خروس‌های مادر گوشتی شد (Inatomi and Otomaru, 2018). در جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی، ترکیب پروبیوتیک از گونه‌های *باسیلوس* و *لاکتوباسیلوس*، اثر مثبتی بر عملکرد روده داشت (Song et al., 2014). پروبیوتیک‌ها به‌دلیل نقشی که در کاهش استرس اکسیداتیو دارند، یکی از عوامل اصلی مؤثر بر بهبود صفات مختلف اسپرم در حیوانات مسن هستند (Krysiak et al., 2021). علاوه‌براین، پروبیوتیک‌ها با تقویت جمعیت میکروبی مفید و افزایش جذب مواد مغذی از طریق بهبود ریخت‌شناسی روده، که در مجموع سلامت کلی و قابلیت تولیدمثل خروس‌های مادر را ارتقا می‌دهند، از سلامت روده حمایت می‌کنند (Poorghasemi et al., 2018). گزارش شده است که استفاده از سین‌بیوتیک‌ها اثرات مثبتی بر سلامت روده، بقاء و ترکیب باکتری‌های مفید روده در خروس‌های مادر گوشتی دارند که نشان‌دهنده مزایای بالقوه برای عملکرد تولیدمثلی و سلامت کلی در سنین بالا است (Prentza et al., 2022).

جدول ۱- اجزاء تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه (%)

Table 1- The ingredient and nutrient composition of basal diet (%)

اقلام خوراکی Ingredients	درصد Percentage	مواد مغذی Nutrient	
ذرت Corn	58.40	انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوگرم / کیلوکالری) Metabolizable Energy (kcal/kg)	2731
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین) Soybean meal (44% CP)	30.00	پروتئین خام (درصد) Crude Protein (%)	15.80
روغن گیاهی Vegetable oil	1.20	کلسیم (درصد) Calcium (%)	4.40
کربنات کلسیم Calcium carbonate	7.00	فسفر قابل دسترس (درصد) Available Phosphorus (%)	0.52
دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate	2.00	لیزین قابل هضم (درصد) Digestible Lysine (%)	0.94
نمک طعام Common salt	0.27	متیونین + سیستین قابل هضم (درصد) Digestible Methionine. + Cystine. (%)	0.70
دی-ال-متیونین DL-methionine	0.20	تریپتوفان قابل هضم (درصد) Digestible Tryptophan	0.19
دی-ال-لیزین L-lysine	0.12	ترئونین قابل هضم (درصد) Digestible Threonine (%)	0.71
مکمل ویتامینه ^۱ Vitamin- premix	0.25	متیونین قابل هضم (درصد) Digestible Methionine (%)	0.45
مکمل معدنی ^۲ Mineral- premix	0.25		

^۱ هر کیلوگرم مکمل ویتامینه شامل ۱۱۰۲۵ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۳۵۲۸ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۳۳ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۰/۹۱ میلی‌گرم ویتامین K₃، ۰/۱۸ گرم ویتامین B₁، ۰/۸۲۵ گرم ویتامین B₂، یک گرم ویتامین B₃، سه گرم ویتامین B₅، ۰/۳ گرم ویتامین B₆، ۰/۱۲۵ گرم ویتامین B₉، ۰/۱۵ گرم ویتامین B₁₂ و ۵۰ گرم کولین کلراید است.

^۲ هر کیلوگرم مکمل معدنی شامل ۵۰ گرم آهن، ۱۱ گرم روی، ۱۱۰ میلیگرم منگنز، شش گرم مس، یک گرم ید و ۰/۲ گرم سلنیوم است.

^۱ Vitamin premix supplied the following, per kilogram of diet: vitamin A, 11025 IU; vitamin D₃, 3528 IU; vitamin E, 33 mg; vitamin K₃, 0.91 mg; Vitamin B₁, 0.18 g; Vitamin B₂, 0.825 g; Vitamin B₃, 1.00 g; Vitamin B₅, 3.00 g; Vitamin B₆, 0.30 g; Vitamin B₉, 0.125 g; Vitamin B₁₂, 0.15 g; choline chloride, 50 g;

^۲ Mineral premix supplied the following per kilogram of diet: Fe (Fe-sulfate), 50 g; Zn (Zn-sulfate), 11 g; Mn (Mn-sulfate), 110 mg; Cu (Cu-sulfate), 6 g; I (calcium iodate), 1 g; Se (sodium selenite), 0.2 g.

ارزیابی فراسنجه تحرک اسپرم

به منظور بررسی صفات اسپرم و تأثیر تیمارهای پروبیوتیک بر آن هر ۱۰ روز یک بار (شش بار در کل دوره) از همه خروس‌ها به روش مالش شکمی اسپرم‌گیری شد (Akhlaghi et al., 2014). به منظور رقیق‌سازی اسپرم برداشت شده از بلستویل تعدیل‌یافته با اسیدیت ۷/۴ و اسمولاریته ۳۱۰ mosm/kg استفاده شد (Amini et al., 2015). همچنین برای ارزیابی در کل دوره از لوله‌های اسپرم‌گیری مدرج که دقت بالایی در اندازه‌گیری حجم اسپرم دارند، استفاده شد (Zamiri et al., 2010). پس از اسپرم‌گیری بلافاصله نمونه‌ها به داخل آب با دمای ۴۱ درجه سانتی‌گراد منتقل و دو قطره سدیم سیترات ۲/۵ درصد به آن اضافه شد و سپس پنج میکرولیتر از آن روی لام ریخته شد و به آرامی روی آن پخش گردید و در ادامه با استفاده از میکروسکوپ نوری (میکروسکوپ سه چشمی بیولوژی مدل B-383-PL شرکت اپتیکا کشور ایتالیا) با بزرگ‌نمایی ۴۰۰، تحرک اسپرم در

مقیاس صفر تا پنج (براساس جدول ۲) تعیین گردید (Assersohn et al., 2021).

ارزیابی فراسنجه زنده‌مانی اسپرم

برای تعیین درصد اسپرم‌های زنده و مرده از روش رنگ‌آمیزی با اتوزین و نیگروزین استفاده شد. بعد از اضافه کردن نمونه اسپرم روی لام، رنگ‌های اتوزین و نیگروزین به نسبت سه برابر حجم اسپرم به آن اضافه شد و بعد از ۳۰ ثانیه با هم مخلوط و روی لام پخش گردید و سپس با قرار دادن لام روی صفحه گرمایی اسپرم‌ها تثبیت شدند و با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ توسط میکروسکوپ (میکروسکوپ سه چشمی بیولوژی مدل B-383-PL شرکت اپتیکا کشور ایتالیا) بررسی گردید (اسپرم‌های مرده رنگ را جذب و زنده مانع ورود رنگ به غشاء خود می‌شوند (Andraszek et al., 2018)).

جدول ۲- مقیاس تحرک اسپرم

Table 2- Sperm motility scale

مقیاس	درصد اسپرم‌های محرک	ارزیابی حرکت
Scale	The percentage of stimulating sperm	Movement assessment
0	صفر Zero	فاقد حرکت No movement
1	کمتر از ۲۰ درصد حرکت پیش رونده دارند Less than 20% have progressive movement	حرکت پیش رونده خیلی ضعیف Very weak forward movement
2	۲۰ تا ۴۰ درصد حرکت پیش رونده دارند 20 to 40% have progressive movement	حرکت پیش رونده ضعیف و کند Weak and slow progressive movement
3	۴۰ تا ۷۰ درصد حرکت پیش رونده دارند 40 to 70% have progressive movement	حرکت پیش رونده متوسط و عمدتاً یک سویه Moderate progressive movement and mostly unidirectional
4	۷۰ تا ۹۰ درصد حرکت پیش رونده دارند 70 to 90% have progressive movement	حرکت پیش رونده خوب و یک سویه Good forward and unidirectional movement
5	بیش از ۹۰ درصد حرکت پیش رونده دارند More than 90% have progressive movement	حرکت پیش رونده سریع و یک سویه Fast and unidirectional forward movement

ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسپرم

جهت اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از سانتیفریوژ یونیورسال هشت‌شاخه ساخت ایران به مدت ۱۵ دقیقه (۱۵۰۰×g) سانتیفریوژ گردید و پلاسما جدا شده به فریزر با دمای منفی ۲۰ منتقل گردید. از روش توانایی احیاکنندگی آهن‌فریک توسط قدرت آنتی‌اکسیدانی برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز از طریق روش نشانگر مقدار NADPH مصرف‌شده در مایع اسپرم با استفاده از کیت‌های تجاری نوند (Naxifer™-Total Antioxidant Capacity Assay Kit-TAC) و مطابق دستورالعمل آن‌ها با کمک دستگاه الایزا ریدر (مدل MR4 ساخت کشور آلمان) اندازه‌گیری شد (Shakouri et al., 2021).

شمارش باکتری ای‌کلای از محیط کشت مکانیکی و برای شمارش لاکتوباسیل‌ها از محیط کشت MRS Broth استفاده شد. محتویات رقیق‌شده روده پس از تزریق به محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت در داخل انکوباتور (کلاس B ساده ساخت ایران) با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت و سپس تعداد کلنی‌های رشدیافته به صورت چشمی شمارش گردید. شمارش میکروبی ژژنوم و ایلئوم به عنوان واحدهای کلنی تشکیل‌دهنده بر پایه لگاریتم ۱۰ در هر گرم محتویات ژژنوم و ایلئوم گزارش شد (Lei et al., 2015). همچنین برای اندازه‌گیری pH روده کوچک، نمونه‌های ۲/۵ گرم از دو طرف دیورتیکول زائده میکل (Meckel's diverticulum) جمع‌آوری و به روش Jeacocke اندازه‌گیری شد (Jeacocke, 1977).

آنالیز آماری

نتایج به‌دست آمده از آزمایش قبل از تجزیه آماری مورد تست نرمالیت قرار گرفت. و سپس در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS و ویرایش ۹/۳ (SAS, 2003) روش مدل عمومی خطی (GLM) تجزیه و تحلیل شدند. میانگین‌های مربوطه با آزمون چند دامنه‌ای توکی در سطح احتمال پنج درصد ($P < 0.05$) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

اثر سطوح مختلف پروبیوتیک تجاری روی برخی از پارامترهای اسپرم (حجم اسپرم، تحرک اسپرم، درصد اسپرم زنده، تعداد اسپرم و درصد اسپرم غیرطبیعی) در خروس‌های مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ در سن ۶۵ هفتگی در جدول ۳ گزارش شده است. نتایج نشان داد که استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک اثر معنی‌داری بر حجم اسپرم، تحرک اسپرم، درصد اسپرم زنده نسبت به گروه شاهد نداشت

ارزیابی ریخت‌شناسی روده

در روز آخر آزمایش به‌منظور اندازه‌گیری ریخت‌شناسی روده و تعداد باکتری‌های ای-کلای و لاکتوباسیلوس موجود در روده، کل خروس‌ها با استفاده از روش ذبح گردنی کشتار شدند. بعد از کشتار و بیرون آوردن امعاء و احشاء، روده جدا شده و از ژژنوم و ایلئوم نمونه برداری شد و با استفاده از سرم فیزیولوژیک شستشو گردید و سپس در داخل فرمالین ۱۰ درصد تثبیت گردید و به آزمایشگاه جهت اندازه‌گیری طول پرز، و عمق کریپت منتقل و با استفاده از دوربین عکس برداری اندازه‌گیری شد و نسبت طول پرز به عمق کریپت نیز با استفاده از تقسیم طول پرز به عمق کریپت به‌دست آمد (Touchette et al., 2002). برای شمارش باکتری‌های ای‌کلای و لاکتوباسیلوس موجود در ژژنوم و ایلئوم، از محتویات آن‌ها یک گرم بعد از کشتار برداشته شد و درون لوله‌های آزمایش منتقل گردید و با استفاده از آب مقطر دیونیزه رقیق‌سازی انجام گرفت و به‌منظور

کیلوگرم پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کمتر از گروه شاهد بود. مطابق با نتایج این آزمایش گزارش شده است که مکمل ویتامین E باعث افزایش حجم مایع منی، تحرک اسپرم و باروری تخمک شد، درحالی‌که ویتامین C، درصد اسپرم مرده را کاهش داد (Khan et al., 2012, 2013a). همچنین استفاده از مکمل گوآنیدینوآستیک اسید (GAA)، به‌میزان ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش غلظت مایع منی، تعداد کل اسپرم و حرکت رو به جلوی اسپرم و در نهایت افزایش نرخ باروری در مرغ‌های مادر شد (Tapeh et al., 2017).

($P > 0.05$). برخلاف نتایج این آزمایش گزارش شده است که بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس، سویه‌های رایج پروبیوتیک، به‌طور قابل توجهی تحرک اسپرم را در شرایط آزمایشگاهی کاهش دادند (Haines et al., 2013). در ماه اول و دوم آزمایش، تعداد اسپرم‌های گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ($P < 0.05$). مشابه با نتایج این آزمایش، گزارش شده است که افزودن باسیلوس در جیره خروس‌های مادر باعث افزایش معنی‌دار تعداد اسپرم‌های زنده شد (Mazanko et al., 2018). همچنین درصد اسپرم‌های غیرطبیعی در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ گرم در

جدول ۳- اثر سطوح مختلف پروبیوتیک تجاری بر برخی از پارامترهای اسپرم در خروس‌های مادر گوشتی راس ۳۰۸ در سن ۶۵ هفتگی

Table 3- The effect of different levels of commercial probiotics on some sperm parameters in Ross 308 breeder rooster at the age of 65 weeks

تیمارهای آزمایشی *								
Experimental treatments *								
متغیر Item	ماه Month	شاهد Control	50	100	150	200	خطای استاندارد SEM	سطح احتمال معنی‌داری P value
حجم اسپرم (میلی‌لیتر) Sperm volume (ml)	ماه اول First month	0.49	0.50	0.51	0.51	0.51	0.010	0.3051
	ماه دوم Second month	0.50	0.52	0.52	0.50	0.51	0.009	0.6057
تحرک اسپرم (سطح ۱-۵) Sperm motility (score 1-5)	ماه اول First month	3.60	3.8	4.0	3.9	4.1	0.257	0.6937
	ماه دوم Second month	3.70	0.4	4.4	4.1	4.1	0.259	0.4520
درصد اسپرم زنده Percentage of live sperm	ماه اول First month	90.4	91.4	91.9	92.5	92.7	0.604	0.0687
	ماه دوم Second month	90.5	91.8	92.5	92.0	92.3	0.691	0.2870
تعداد اسپرم Sperm count	ماه اول First month	22.67 ^b	23.27 ^{ab}	23.81 ^{ab}	24.02 ^a	24.25 ^a	0.337	0.0349
	ماه دوم Second Month	22.23 ^c	22.98 ^{bc}	23.72 ^{ab}	23.90 ^{ab}	24.66 ^a	0.418	0.0023
اسپرم غیرطبیعی (%) Abnormal sperm (%)	ماه اول First month	9.61 ^a	8.45 ^{ab}	7.71 ^b	7.23 ^b	7.02 ^b	0.228	0.0001
	ماه دوم Second month	9.68 ^a	9.16 ^a	7.73 ^b	7.21 ^b	7.29 ^b	0.220	0.0001

* تیمارهای آزمایشی شامل شاهد، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم پروبیوتیک در کیلوگرم خوراک
a-d میانگین‌ها با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد هستند.

* Experimental treatments include control treatment, 50, 100, 150, and 200 mg of probiotics per kg of feed.

a-d Means with different letters in the same column have a significant difference at the 5% level.

در ماه دوم ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ($P < 0.05$). مطابق با نتایج این آزمایش گزارش شد که استفاده از مخمر در جیره باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سرم شد (Aluwong et al., 2013). به‌طور مشابه، یک پروبیوتیک *Enterococcus faecium* سنتز آنتی اکسیدان‌ها با وزن مولکولی کم را تحریک کرد و نشانگرهای اکسیداسیون را در خون کاهش داد (Ognik et al., 2017). همچنین پروبیوتیک‌های *Lactobacillus fermentum* و *Enterococcus faecium* به‌طور قابل توجهی وضعیت آنتی اکسیدانی کل را در جوجه‌های گوشتی افزایش داد (Capcarová et al., 2011). علاوه‌براین استفاده از ترکیب پروبیوتیک‌های *Bacillus subtilis* و *Bacillus* *licheniformis* غلظت آنتی اکسیدانی را در جوجه‌های گوشتی بهبود بخشید (Ebeid et al., 2021). برخلاف نتایج این آزمایش، گزارش شده است که افزودن پروبیوتیک به جیره خروس‌های مادر گوشتی، به‌طور معنی‌داری باعث افزایش سطح گلوکوتاتیون پراکسیداز در اسپرم شد (Inatomi and Otomaru, 2018).

به‌طور مشابه، پروبیوتیک‌های حاوی *Bacillus amyloliquefaciens* TOA5001 ریخت‌شناسی روده، جمعیت میکروبی، فعالیت اکسیداتیو و کیفیت مایع منی را در خروس‌های مادر گوشتی بهبود داد (Inatomi and Otomaru, 2018). کاهش باروری در گله‌های مرغ مادر، یکی از اصلی‌ترین دغدغه‌ها به‌دلیل کاهش سود اقتصادی است. اگرچه کاهش باروری به هر دو جنس (خروس و خروس مادر) نسبت داده می‌شود، اما در تحقیقات پیشین بیشترین اثرات را مربوط به خروس‌های مادر گزارش کرده‌اند و نشان داده‌اند که با حذف خروس‌های مسن از گله و افزودن خروس‌های جوان، باروری گله افزایش یافته است (Sabzian-Melei et al., 2022).
اثر سطوح مختلف پروبیوتیک بر سطح گلوکوتاتیون پراکسیداز و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در پلاسمای اسپرم خروس‌های مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ در سن ۶۵ هفتگی طی ماه اول و دوم در **جدول ۴** گزارش شده است. نتایج نشان داد که در ماه اول و دوم آزمایش، سطح گلوکوتاتیون پراکسیداز اسپرم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$)، اما ظرفیت آنتی اکسیدانی کل ماه اول در خروس‌های دریافت‌کننده ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و

جدول ۴- اثر سطوح مختلف پروبیوتیک بر سطح گلوکوتاتیون پراکسیداز و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل پلاسمای اسپرم در خروس‌های مادر گوشتی راس ۳۰۸ در ماه اول و دوم آزمایش (سن ۶۵ هفته)

Table 4- Effect of different probiotic levels on glutathione peroxidase level and total antioxidant capacity of sperm plasma in Ross 308 broiler hens in the first and second months of the experiment (age 65 weeks)

تیمارهای آزمایشی* Experimental treatments*	ظرفیت آنتی اکسیدانی کل Total antioxidant capacity (U/ml)		گلوکوتاتیون پراکسیداز Glutathione peroxidase (U/ml)	
	ماه اول First month	ماه دوم Second month	ماه اول First month	ماه دوم Second month
شاهد Control	3.92 ^b	3.89 ^b	31.44	30.46
50	4.08 ^b	4.17 ^a	31.33	31.33
100	4.04 ^b	4.07 ^a	31.60	31.51
150	4.28 ^a	4.23 ^a	23.07	32.23
200	4.30 ^a	4.18 ^a	31.59	32.01
خطای استاندارد SEM	0.064	0.948	0.948	1.068
سطح احتمال معنی‌داری P value	0.0005	0.0362	0.0699	0.7968

* تیمارهای آزمایشی شامل شاهد، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم پروبیوتیک در کیلوگرم خوراک

^{a-b} میانگین‌هایی با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد هستند.

* Experimental treatments include control treatment, 50, 100, 150 and 200 mg of probiotics per kg of feed.

^{a-d} Means with different letters in the same column have a significant difference at the 5% level.

است. طول پرز در گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$) بیشترین طول پرز ژژنوم در گروه دریافت‌کننده ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک و کمترین مربوط

اثر استفاده از سطوح مختلف پروبیوتیک بر ریخت‌شناسی ژژنوم و ایلئوم و اسیدیته (pH) آن‌ها در خروس‌های مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ در انتهای دوره (سن ۶۵ هفتگی) در **جدول ۵** گزارش شده

۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک داشتند. عمق کریپت در ایلئوم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. نسبت طول پرز به عمق کریپت در ایلئوم در گروه‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. با توجه به نتایج این آزمایش، در بسیاری از مطالعات گزارش شده است که طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت در مرغ‌های گوشتی تغذیه‌شده با پروبیوتیک افزایش یافته است (Lei et Jayaraman et al., 2013; Shamoto and Yamauchi, 2000al., 2014). اسیدیتیه محتویات ایلئوم در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود. ساختار و یکپارچگی اپیتلیوم روده از جمله عوامل مهمی هستند که با سلامت روده و ظرفیت گوارش در ارتباط هستند. به‌طور کلی، طول پرز به‌عنوان یک شاخص مناسب جهت ارزیابی عملکرد روده شناخته می‌شود.

به گروه شاهد بود که به‌ترتیب ۱۲۳۱ و ۱۱۵۶ میکرومتر بود. طول پرز به عمق کریپت در ژژنوم تحت تأثیر مصرف پروبیوتیک قرار گرفت که بیشترین نسبت طول پرز به عمق کریپت مربوط به گروه دریافت‌کننده ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و کمترین نسبت در گروه شاهد به‌دست آمد و اختلاف بین آن‌ها نیز معنی‌داری بود ($P < 0.05$). مطابق با نتایج این آزمایش گزارش شد که استفاده از مکمل پروبیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی باعث بهبود ریخت‌شناسی روده (افزایش ارتفاع پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت) شد (Abd El-Hack et al., 2020). بیشترین اسیدیتیه (pH) در ژژنوم مربوط به گروه‌های شاهد و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک و کمترین مقدار مربوط به گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک بود. مصرف پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری باعث افزایش طول پرز در ایلئوم شد ($P < 0.05$). خروس‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری طول پرز بیشتری از گروه‌های شاهد و دریافت‌کننده

جدول ۵- اثر سطوح مختلف پروبیوتیک بر ریخت‌شناسی روده و اسیدیتیه (pH) ژژنوم و ایلئوم در خروس‌های مادر گوشتی راس ۳۰۸ در سن ۶۵ هفته‌گی
Table 5- The effect of different levels of probiotics on intestinal morphology and jejunum and ileum acidity in Ross 308 broilers at the age of 65 weeks

تیمارهای آزمایشی* Experimental treatments*								
	متغیر Item	شاهد Control	50	100	150	200	خطای استاندارد SEM	سطح احتمال معنی‌داری P value
ژژنوم Jejunum	طول پرز (میکرومتر) Villus height (μm)	1156 ^d	1183 ^c	1198 ^{bc}	1231 ^a	1209 ^b	7.467	0.0001
	عمق کریپت (میکرومتر) Crypt depth (μm)	297.8	301.6	300.9	296.9	299.2	2.229	0.5631
	طول پرز به عمق کریپت Villus height to crypt depth ratio	3.88 ^c	3.92 ^{bc}	3.98 ^{bc}	4.15 ^a	4.04 ^{ab}	0.043	0.0005
	pH	6.59 ^a	6.53 ^a	6.50 ^{bc}	6.48 ^{bc}	6.46 ^c	0.016	0.0001
ایلئوم Ilium	طول پرز (میکرومتر) Villus height (μm)	488.7 ^d	500.3 ^c	508.6 ^b	512.4 ^{ab}	518.9 ^a	2.675	0.0001
	عمق کریپت (میکرومتر) Crypt depth (μm)	150.1	149.9	150.7	152.7	299.2	1.289	0.5689
	طول پرز به عمق کریپت Villus height to crypt depth ratio	3.26 ^b	3.34 ^{ab}	3.38 ^{ab}	3.36 ^{ab}	4.04 ^a	0.037	0.0265
	pH	6.83 ^a	6.80 ^{ab}	6.77 ^b	6.76 ^b	6.46 ^{bc}	0.014	0.0031

* تیمارهای آزمایشی شامل شاهد، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم پروبیوتیک در کیلوگرم خوراک
^{a-b} میانگین‌ها با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد هستند.

*Experimental treatments include control treatment, 50, 100, 150 and 200 mg of probiotics per kg of feed.

^{a-d} Means with different letters in the same column have a significant difference at the 5% level.

از گروه شاهد بود و همچنین کمترین تعداد این باکتری مربوط به گروه دریافت کننده ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک بود که اختلاف معنی داری با سایر گروه‌ها داشتند ($P < 0.05$). مشابه با این نتایج گزارش شده است که پروبیوتیک‌ها بر جمعیت میکروبی روده تأثیر مثبت می‌گذارند به طوری که باکتری‌های مفید را افزایش و در عین حال باکتری‌های مضر مانند کلیفرم‌ها و کلوستریدیوم را کاهش می‌دهند (Song et al., 2014; Kazemi et al., 2019). همچنین پروبیوتیک‌ها با استفاده از حذف عوامل بیماری‌زا در روده به جلوگیری از چسبیدن آن‌ها به اپیتلیوم روده کمک می‌کنند و در نتیجه مانع از ایجاد پاسخ‌های التهابی ناشی از عوامل بیماری‌زا و سموم می‌شوند، بنابراین سرکوب باکتری‌های بیماری‌زا به بهبود طول پرز منجر می‌شود (Fan et al., 1997). اثرات بازدارندگی پروبیوتیک‌ها بر رشد عوامل بیماری‌زا در جوجه‌های گوشتی در مطالعات زیادی گزارش شده است (Taheri et al., 2010). بسیاری از مطالعات، این اثر را به دلیل رقابت باکتری‌های پروبیوتیکی با پاتوژن‌ها برای چسبیدن به دیواره روده گزارش کرده اند، بنابراین افزایش باکتری‌های پروبیوتیکی در روده، شرایط را برای رشد و تکثیر عوامل بیماری‌زا سخت می‌کند. از طرفی دیگر، باکتری‌های پروبیوتیکی از طریق تولید اسیدلاکتیک، ترکیبات ضدباکتریایی، و محیط را برای باکتری‌های بیماری‌زا نامناسب و مانع رشد و تکثیر آن‌ها می‌شوند (Klaenhammer, 1993).

طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت یکی از عوامل نشان دهنده بهبود قابلیت هضم مواد مغذی و ظرفیت جذب روده کوچک محسوب می‌شود (Inatomi and Otomaru, 2018). مطالعات بسیاری، افزایش طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت را در مرغ‌های گوشتی تغذیه شده با پروبیوتیک گزارش کرده‌اند (Shamoto et al., 2013; Jayaraman et al., 2014; Lei et al., 2014; 2000).

اثر سطوح مختلف پروبیوتیک تجاری بر جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس و ای-کالای در ژژنوم و ایلئوم خروس‌های مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ در جدول ۶ گزارش شده است. نتایج نشان داد که استفاده از پروبیوتیک اثر معنی داری بر تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس و ای-کالای در ژژنوم و ایلئوم داشت ($P < 0.05$). با افزودن پروبیوتیک به جیره، تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلی در ژژنوم و ایلئوم به طور معنی داری افزایش یافت که بیشترین تعداد باکتری لاکتوباسیلوس در ژژنوم مربوط به گروه‌های دریافت کننده ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک بود و کمترین آن مربوط به گروه شاهد بود. مطابق با نتایج این آزمایش گزارش شده است که پروبیوتیک‌ها بر جمعیت میکروبی روده تأثیر مثبت می‌گذارند و باکتری‌های مفید مانند لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم را افزایش می‌دهند (Song et al., 2014; Kazemi et al., 2019). تعداد باکتری‌های ای-کالای ژژنوم در گروه‌های دریافت کننده ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک به طور معنی داری کمتر

جدول ۶- اثر سطوح مختلف پروبیوتیک بر میکروفلور ژژنوم و ایلئوم در خروس‌های مادر گوشتی راس ۳۰۸ در سن ۶۵ هفتگی
Table 6- The effect of different levels of probiotics on jejunum and ileum microflora in Ross 308 broiler hens

تیمارهای آزمایشی Experimental treatments*	ژژنوم Jejunum		ایلئوم Ileum	
	لاکتوباسیلوس <i>Lactobacillus</i>	ای-کالای <i>E-Coli</i>	لاکتوباسیلوس <i>Lactobacillus</i>	ای-کالای <i>E-Coli</i>
	log ₁₀ (CFU/g)			
شاهد Control	7.52 ^c	6.81 ^a	7.40 ^c	6.55 ^a
50	7.59 ^b	6.72 ^b	7.48 ^b	6.51 ^b
100	7.65 ^b	6.64 ^c	7.58 ^a	6.49 ^b
150	7.67 ^a	6.57 ^d	7.71 ^a	6.49 ^b
200	7.66 ^a	6.54 ^d	7.64 ^a	6.51 ^b
خطای استاندارد SEM	0.020	0.014	0.022	0.014
سطح احتمال معنی داری P value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0122

* تیمارهای آزمایشی شامل شاهد، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم پروبیوتیک در کیلوگرم خوراک

^{a-b} میانگین‌هایی با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی داری در سطح پنج درصد هستند.

* Experimental treatments include control treatment, 50, 100, 150 and 200 mg of probiotics per kg of feed.

^{a-d} Means with different letters in the same column have a significant difference at the 5% level.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از پروبیوتیک‌ها در تغذیه طیور با استفاده از استقرار در دستگاه گوارش و ممانعت از چسبیدن پاتوژن‌ها به پرزهای روده، ایجاد شرایط اسیدی و تولید باکتری کش باعث افزایش قابلیت هضم مواد مغذی می‌گردد. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که تعداد اسپرم‌های زنده در خروس‌های مادر گوشتی تغذیه‌شده با ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم

پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود. به‌طور کلی، با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از صفات اسپرم، ریخت‌شناسی روده، جمعیت میکروبی روده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی خروس مادر در این آزمایش و همچنین بحث قیمت تمام‌شده جیره، می‌توان ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروبیوتیک را مناسب‌ترین سطح مورد استفاده گزارش نمود.

References

1. Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Shafi, M. E., Qattan, S. Y., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., & Alagawany, M. (2020). Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(6), 1835-1850. <https://doi.org/10.1111/jpn.13454>
2. Ahmad, I. (2006). Effect of probiotics on broilers performance. *International Journal of Poultry Science*, 5(6), 593-597. ISSN 1682-8356. <https://doi.org/10.3923/ijps.2006.593.597>
3. Akhlaghi, A., Ahangari, Y. J., Navidshad, B., Pirsaraei, Z. A., Zhandi, M., Deldar, H., & Poureslami, R. (2014). Improvements in semen quality, sperm fatty acids, and reproductive performance in aged Cobb 500 breeder roosters fed diets containing dried ginger rhizomes (*Zingiber officinale*). *Poultry Science*, 93(5), 1236-1244. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03617>
4. Alhefny, S. A., Ismail, Z., & Hassan, H. (2022). Influence of feed form and probiotic levels on growth performance, carcass traits, some blood parameters and nutrients digestibility of broiler chicks. *SVU-International Journal of Agricultural Sciences*, 4(4), 58-66. <https://doi.org/10.21608/svuijas.2022.180592.1251>
5. Aluwong, T., Kawu, M., Raji, M., Dzenda, T., Govwang, F., Sinkalu, V., & Ayo, J. (2013). Effect of yeast probiotic on growth, antioxidant enzyme activities and malondialdehyde concentration of broiler chickens. *Antioxidants*, 2(4), 326-339. <https://doi.org/10.3390/antiox2040326>
6. Amini, M. R., Kohram, H., Zare Shahaneh, A., Zhandi, M., Sharideh, H., & Nabi, M. M. (2015). The effects of different levels of vitamin E and vitamin C in modified Beltsville extender on rooster post-thawed sperm quality. *Cell and Tissue Banking*, 16, 587-592. <https://doi.org/10.1007/s10561-015-9506-9>
7. Andrasz, K., Banaszewska, D., & Biesiada-Drzazga, B. (2018). The use of two staining methods for identification of spermatozoon structure in roosters. *Poultry Science*, 97(7), 2575-2581. <https://doi.org/10.3382/ps/pey056>
8. Angelakis, E. (2017). Weight gain by gut microbiota manipulation in productive animals. *Microbial Pathogenesis*, 106, 162-170. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.11.002>
9. Assersohn, K., Brekke, P., & Hemmings, N. (2021). Physiological factors influencing female fertility in birds. *Royal Society Open Science*, 8(7), 202274. <https://doi.org/10.1098/rsos.202274>
10. Aziz, H., & Al-Hawezy, D. (2022). Effects of probiotic, prebiotic and symbiotic on broiler breeder performance, egg production at different stock density. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 53(3), 636-644. <https://doi.org/10.36103/ijas.v53i3.1573>
11. Bakst, M. (1980). Fertilizing capacity and morphology of fowl and turkey spermatozoa in hypotonic extender. *Reproduction*, 60(1), 121-127. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0600121>
12. Blajman, J. E., Zbrun, M. V., Astesana, D. M., Berisvil, A. P., Fusari, M., Soto, L., & Frizzo, L. (2015). Probiotics in broilers' rearing: A strategy for intensive production models. *Revista Argentina de Microbiologia*, 47(4), 360-367. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.08.002>
13. Capcarová, M., Kolesář, A., Petruš, P., Kalafová, A., & Gabriel, P. (2011). Effect of probiotic supplementation on selected indices of energy profile and antioxidant status of chickens. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 1(2), 225-235.
14. Ebeid, T., Al-Homidan, I., Fathi, M., Al-Jamaan, R., Mostafa, M., Abou-Emera, O., Abd El-Raz, M., & Alkhalaf, A. (2021). Impact of probiotics and/or organic acids supplementation on growth performance, microbiota, antioxidative status, and immune response of broilers. *Italian Journal of Animal Science*, 20(1), 2263-2273. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.2012092>
15. Fan, Y., Croom, J., Christensen, V., Black, B., Bird, A., Daniel, L., & Eisen, E. (1997). Jejunal glucose uptake and oxygen consumption in turkey poults selected for rapid growth. *Poultry Science*, 76(12), 1738-1745.

<https://doi.org/10.1093/ps/76.12.1738>

16. Fesseha, H. (2019). Probiotics and its potential role in poultry production: A review. *Veterinary Medicine-Open Journal*, 4(2), 69-76 . <https://doi.org/10.17140/vmoj-4-138>
17. Fouad, A. M., El-Senousey, H. K., Ruan, D., Xia, W., Chen, W., Wang, S., & Zheng, C. (2020). Nutritional modulation of fertility in male poultry. *Poultry Science*, 99(11), 5637-5646. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.083>
18. Haines, M. D., Parker, H. M., McDaniel, C. D., & Kiess, A. S. (2013). Impact of 6 different intestinal bacteria on broiler breeder sperm motility in vitro. *Poultry Science*, 92(8), 2174-2181. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03109>
19. Hassan, W., Mustafa, M., & Isa, R. (2023). Effect of herbal extracts as alternatives to antibiotics in the first week of age on broiler performance, serum biochemistry, and intestinal morphology under commercial farm conditions. *South African Journal of Animal Science*, 53(3), 455-465 <https://doi.org/10.4314/sajas.v53i3.14>
20. Inatomi, T., & Otomaru, K. (2018). Effect of dietary probiotics on the semen traits and antioxidative activity of male broiler breeders. *Scientific Reports*, 8(1), 5874. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24345-8>
21. Jadhav, K., Sharma, K., Katoch, S., Sharma, V., & Mane, B. (2015). Probiotics in broiler poultry feeds: A review. *Journal of Animal Nutrition Physiology*, 1, 4-16 .
22. Jayaraman, S., Thangavel, G., Kurian, H., Mani, R., Mukkalil, R., & Chirakkal, H. (2013). *Bacillus subtilis* PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. *Poultry Science*, 92(2), 370-374 <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02528>
23. Jeacocke, R. E. (1977). Continuous measurements of the pH of beef muscle in intact beef carcasses. *International Journal of Food Science and Technology*, 12(4), 375-386. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb00120.x>
24. Kazemi, S. A., Ahmadi, H., & Karimi Torshizi, M. A. (2019). Evaluating two multistrain probiotics on growth performance, intestinal morphology, lipid oxidation and ileal microflora in chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103(5), 1399-1407. <https://doi.org/10.1111/jpn.13124>
25. Klaenhammer, T. R. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1-3), 39-85 .
26. Khan, R. U., Rahman, Z. U., Javed, I., & Muhammad, F. (2012). Effect of vitamins, probiotics and protein on semen traits in post-molt male broiler breeders. *Animal Reproduction Science*, 135(1-4), 85-90. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.09.005>
27. Khan, R. U., Javed, I., & Muhammad, F. (2013). Supplementation of dietary vitamins, protein and probiotics on semen traits and immunohistochemical study of pituitary hormones in zinc-induced molted broiler breeders. *Acta Histochemica*, 115(7), 698-704. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2013.02.006>
28. Krysiak, K., Konkol, D., & Korczyński, M. (2021). Overview of the use of probiotics in poultry production. *Animals*, 11(6), 1620. <https://doi.org/10.3390/ani11061620>
29. Lei, K., Li, Y., Yu, D., Rajput, I., & Li, W. (2013). Influence of dietary inclusion of *Bacillus licheniformis* on laying performance, egg quality, antioxidant enzyme activities, and intestinal barrier function of laying hens. *Poultry Science*, 92(9), 2389-2395 <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02686>
30. Lei, X., Piao, X., Ru, Y., Zhang, H., Péron, A., & Zhang, H. (2015). (Effect of *Bacillus amyloliquefaciens*-based direct-fed microbial on performance, nutrient utilization, intestinal morphology and cecal microflora in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(2), 239. <https://doi.org/10.5713/ajas.14.0330>
31. Lei, X., Ru, Y., & Zhang, H. (2014). Effect of *Bacillus amyloliquefaciens*-based direct-fed microbials and antibiotic on performance, nutrient digestibility, cecal microflora, and intestinal morphology in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 23(3), 486-493 <https://doi.org/10.3382/japr.2014-00965>
32. Mazanko, M. S., Gorlov, I. F., Prazdnova, E. V., Makarenko, M. S., Usatov, A. V., Bren, A. B., & Mosolova, N. I. (2018). *Bacillus* probiotic supplementations improve laying performance, egg quality, hatching of laying hens, and sperm quality of roosters. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10, 367-373. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9369-4>
33. Mountzouris, K., Tsirtsikos, P., Kalamara, E., Nitsch, S., Schatzmayr, G., & Fegeros, K. (2007). Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Science*, 86(2), 309-317. <https://doi.org/10.1093/ps/86.2.309>
34. Musa, A., Anwar, H., & Sadeghi, A. (2021). Age-related changes in reproductive traits of poultry: Influence of dietary supplementation. *Journal of Animal Science*, 10(3), 229-238.
35. Ogbuewu, I. P., Mabelebele, M., Sebola, N. A., & Mbajiorgu, C. (2022). *Bacillus* probiotics as alternatives to in-feed antibiotics and its influence on growth, serum chemistry, antioxidant status, intestinal histomorphology, and lesion scores in disease-challenged broiler chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 876725.

- <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.876725>
36. Ognik, K., Krauze, M., Cholewińska, E., & Abramowicz, K. (2017). The effect of a probiotic containing DSM 7134 on redox and biochemical parameters in chicken blood. *Annals of Animal Science*, 17(4), 1075-1088. <https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0097>
37. Poorghasemi, M., Chamani, M., Mirhosseini, S. Z., Sadeghi, A. A., & Seidavi, A. (2018). Effect of probiotic and different sources of fat on performance, carcass characteristics, intestinal morphology and ghrelin gene expression on broiler chickens. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(2). <https://doi.org/10.9775/kvfd.2017.18433>
38. Prentza, Z., Castellone, F., Legnardi, M., Antlinger, B., Segura-Wang, M., Kefalas, G., Fortomaris, P., Argyriadou, A., Papaioannou, N., Stylianaki, I., Franzo, G., Cecchinato, M., Papatsiros, V., & Koutoulis, K., (2022). Effects of a multi-genus synbiotic (PoultryStar® sol) on gut health and performance of broiler breeders. *Journal of World's Poultry Research*, 12(4), 212-229. <https://doi.org/10.36380/jwpr.2022.24>
39. Sabzian-Melei, R., Zare-Shahneh, A., Zhandi, M., Yousefi, A. R., & Rafieian-Naeini, H. R. (2022). Effects of dietary supplementation of different sources and levels of selenium on the semen quality and reproductive performance in aged broiler breeder roosters. *Poultry Science*, 101(10), 101908. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101908>
40. SAS. (2003). User's Guide: Statistics, Version 9.1: SAS Institute Inc., Cary, NC.
41. Shakouri, N., Soleimanzadeh, A., Rakhshanpour, A., & Bucak, M. N. (2021). Antioxidant effects of supplementation of 3, 4-dihydroxyphenyl glycol on sperm parameters and oxidative markers following cryopreservation in canine semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 56(7), 1004-1014. <https://doi.org/10.1111/rda.13944>
42. Shamoto, K., & Yamauchi, K. (2000). Recovery responses of chick intestinal villus morphology to different refeeding procedures. *Poultry Science*, 79(5), 718-723. <https://doi.org/10.1093/ps/79.5.718>
43. Smirnov, A., Perez, R., Amit-Romach, E., Sklan, D., & Uni, Z. (2005). Mucin dynamics and microbial populations in chicken small intestine are changed by dietary probiotic and antibiotic growth promoter supplementation. *The Journal of Nutrition*, 135(2), 187-192. <https://doi.org/10.1093/jn/135.2.187>
44. Smolovskaya, O., Pleshkov, V., Zubova, T., & Bormina, L. (2023). Probiotics in industrial poultry farming. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 18(1), 1-8. <https://doi.org/10.3844/ajavsp.2023.1.8>
45. Song, J., Xiao, K., Ke, Y., Jiao, L., Hu, C., Diao, Q., Shi, B., & Zou, X. (2014). Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress. *Poultry Science*, 93(3), 581-588. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03455>
46. Taheri, H. R., Moravej, H., Malakzadegan, A., Tabandeh, F., Zaghari, M., Shivazad, M., & Adibmoradi, M. (2010). Efficacy of *Pediococcus acidilactici*-based probiotic on intestinal Coliforms and villus height, serum cholesterol level and performance of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 9(44), 7564-7567. <https://doi.org/10.5897/AJB10.535>
47. Tapeh, R. S., Zhandi, M., Zaghari, M., & Akhlaghi, A. (2017). Effects of guanidinoacetic acid diet supplementation on semen quality and fertility of broiler breeder roosters. *Theriogenology*, 89, 178-182. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.11.012>
48. Touchette, K., Carroll, J., Allee, G., Matteri, R., Dyer, C., Beausang, L., & Zannelli, M. (2002). Effect of spray-dried plasma and lipopolysaccharide exposure on weaned pigs: I. Effects on the immune axis of weaned pigs. *Journal of Animal Science*, 80(2), 494-501. <https://doi.org/10.2527/2002.802494x>
49. Zamiri, M., Khalili, B., Jafaroghl, M., & Farshad, A. (2010). Seasonal variation in seminal parameters, testicular size, and plasma testosterone concentration in Iranian Moghani rams. *Small Ruminant Research*, 94(1-3), 132-136. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.07.013>



Investigation of the Effects of Native Probiotics on the Performance, Immune Response, Morphology, and Intestinal *Lactobacillus* Population in Broiler Chicks

Ramin Seighalani^{1*}, Maryam Royan², Majid Mottaghitalab³, Fatemeh Zare⁴

1- Instructor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), North Region Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

2- Assistant Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), North Region Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran

4- Instructor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), North Region Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

*Corresponding Author's Email: raminseighalani@abrii.ac.ir

How to cite this article:

Received: 03-07-2024

Revised: 24-12-2024

Accepted: 28-12-2024

Available Online: 23-04-2025

Seighalani, R., Royan, M., Mottaghitalab, M., & Zare, F. (2025). Investigation of the effects of native probiotics on the performance, immune response, morphology, and intestinal *Lactobacillus* population in broiler chicks. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(1), 77-92. (in Persian with English abstract).

<https://doi.org/10.22067/ijasr.2024.88990.1209>

Introduction: Various factors have been reported to influence broiler chicken performance, including environmental conditions, nutrition, management practices, and genetics. One of the priorities in poultry production is the availability of effective alternatives to antibiotics, and the native strains of this type of alternative have various advantages. Probiotics as live microbial supplements in feed improve the microbial balance of the gastrointestinal tract and then improve animal health. Probiotics can enhance growth performance, support the immune system, aid nutrient digestion, and positively influence the microbial population of the gastrointestinal tract. Commercial probiotics are the most commonly used; however, screening the natural flora of the gastrointestinal tract has become a valuable approach in identifying effective probiotic strains. Selecting the optimal species for use in probiotic supplements is largely experimental and depends on their proven impact on the performance of living organisms. This project aimed to investigate the effects of indigenous probiotics on broiler chickens.

Materials and Methods: The probiotics included strains of *Lactobacillus reuteri* isolated from native chickens in Oshnavieh, Shush, Shaft, and Masal, as well as *Lactobacillus salivarius* isolated from native ducks in Mazandaran. The study aimed to assess the impact of these probiotics on the performance, immune response, morphology, and gut lactobacillus population in broiler chickens. The single strain (Plr2) and combination strains (Plr9, Plr10, Plr11, and Plr12) were evaluated in a completely randomized design. There were seven treatments, each with four replicates, and 16 one-day-old Ross 308 broiler chickens per replicate. Treatments include 1) control: basic diet without any additive, 2) Positive control 2: basic diet + commercial probiotic, 3) Basic ration + 1.36×10^9



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/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.

 <https://doi.org/10.22067/ijasr.2024.88990.1209>

CFU/g *L. Reuteri* isolated from Oshnavieh native hen (Plr₂), 4) Basic ration + 1.36×10^9 CFU/g *L. Reuteri* isolated from Oshnavieh native hen and *L. salivarius* isolated from Mazandaran native duck (Plr₉), 5) Basic ration + 1.36×10^9 CFU/g *L. Reuteri* isolated from Oshnavieh native hen and *L. salivarius* isolated from Mazandaran native duck and *L. Reuteri* isolated from Shush native hen (Plr₁₀), 6) Basic ration + 1.36×10^9 CFU/g *L. Reuteri* isolated from Oshnavieh native hen and *L. salivarius* isolated from Mazandaran native duck and *L. Reuteri* isolated from Shush native hen and *L. Reuteri* isolated from Shaft native hen (Plr₁₁) and 7) Basic ration + 1.36×10^9 CFU/g *L. Reuteri* isolated from Oshnavieh native hen and *L. salivarius* isolated from Mazandaran native duck and *L. Reuteri* isolated from Shush native hen and *L. Reuteri* isolated from Shaft native hen and *L. Reuteri* isolated from Masal native hen (Plr₁₂).

Results and Discussion: There were no significant differences in feed intake, daily weight gain, or feed conversion ratio among the probiotic treatment groups. However, evaluation of antibody production against sheep red blood cells (SRBC) injected during the first 30 days of rearing showed that the Plr12 probiotic combination significantly increased IgG levels compared to the control group (without additives). The secondary immune response, measured 42 days after SRBC injection, showed an even greater increase in antibody levels. Additionally, all probiotic combinations significantly enhanced antibody levels compared to the control. It appears that as the chicks mature, their immune system continues to develop, and the memory cells generated during the initial immune response led to an increased production of antibodies during the subsequent response. Results derived from the broilers jejunum morphology study in the first experiment showed that the addition of the native probiotic combination Plr9, Plr11, and Plr12 to the diet resulted in a significant increase in the length of the intestinal villi of jejunum in chickens from the experimental groups when compared to chickens from the control group. Also, investigation of villus length/crypt depth and surface villus area indicated a significant increase in these traits in all probiotic treatments used compared to control treatments and commercial probiotic. The examination of the lactobacillus population in the cecal contents of broiler chickens showed that the combination of strains Plr9, Plr11, and Plr12 significantly increased the population of these beneficial bacteria compared to the control and commercial probiotic treatments. Each strain had specific probiotic properties. When these strains were combined and administered to broiler chickens, there was a significant increase in beneficial bacteria and a reduction in harmful bacteria.

Conclusions: This study demonstrates that probiotic bacteria, isolated from the microbial population of the digestive system of native birds, have the potential to serve as valuable dietary supplements in poultry nutrition. Each probiotic strain confers varying levels of optimal efficacy; as a result, these probiotics can be used individually or in combination, and they can replace antibiotics and commercial probiotics.

Keywords: Broiler chicken, Immune response, Intestinal morphology, Microbial population, Probiotic

بررسی اثرات پروبیوتیک بومی بر عملکرد، پاسخ ایمنی، ریخت‌شناسی و جمعیت لاکتوباسیلوسی روده جوجه‌های گوشتی

رامین صیقلانی^{۱*}، مریم رویان^۲، مجید متقی طلب^۳، فاطمه زارع^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۰۸

چکیده

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر پروبیوتیک‌های بومی شامل لاکتوباسیلوس روترنی و لاکتوباسیلوس سالیاریوس جدا شده از مرغ‌ها و اردک بومی به‌صورت سوبیه‌های تکی (Plr2) و ترکیبی (Plr9, Plr10, Plr11, Plr12) بر ویژگی‌های عملکردی، پاسخ ایمنی و جمعیت لاکتوباسیلوسی روده در ۵۱۲ جوجه گوشتی نر نژاد راس ۳۰۸ بود. نتایج نشان داد که از نظر میزان خوراک مصرفی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای پروبیوتیکی مورد استفاده مشاهده نشد. بررسی آنتی‌بادی تولیدی علیه SRBC تزریق شده در ۳۰ روز اول پرورش نشان داد که ترکیب پروبیوتیکی Plr12 منجر به افزایش معنی‌داری IgG در مقایسه با شاهد گردید ($P < 0.01$). پاسخ ثانویه در افزایش میزان این آنتی‌بادی در ۴۲ روز پس از تزریق SRBC با قدرت بیشتری همراه بود و در تمام ترکیبات پروبیوتیکی مورد استفاده به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده گردید ($P < 0.01$). بررسی جمعیت لاکتوباسیلوسی سکوم جوجه‌های گوشتی مورد مطالعه نیز حاکی از آن بود که سوبیه‌های ترکیبی Plr9, Plr11 و Plr12 سبب افزایش معنی‌دار جمعیت این باکتری‌های مفید در مقایسه با شاهد و بیوپول (پروبیوتیک تجاری) گردید ($P < 0.01$). مطالعه حاضر مشخص کرد که باکتری‌های با قابلیت پروبیوتیکی جدا شده از جمعیت میکروبی موجود در دستگاه گوارش طیور بومی، چه به‌صورت تکی و چه در ترکیب با هم این پتانسیل را دارند که به‌عنوان یک مکمل غذایی بالارزش، جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌های تجاری در تغذیه طیور شوند.

واژه‌های کلیدی: پاسخ ایمنی، پروبیوتیک، جمعیت میکروبی، جوجه گوشتی، ریخت‌شناسی روده

مقدمه

نژادهای مختلف مرغ بومی که در طولانی‌مدت در محیط‌های جغرافیایی متفاوت (از نظر توپوگرافی و آب‌وهوا) پرورش می‌یابند،

به‌لحاظ ریزجانداران روده با یکدیگر تفاوت دارند. این تفاوت‌ها بیانگر نقش برجسته موقعیت جغرافیایی در شکل‌گیری جمعیت میکروبی روده مرغ می‌باشد. جمعیت میکروبی روده جوجه‌ها به‌عنوان یکی از عوامل مؤثر بر سلامت و رشد آن‌ها شناخته می‌شود و به همین دلیل می‌تواند به منبعی برای جداسازی پروبیوتیک‌های بومی تبدیل شود (Amir Ebrahimi et al., 2022; Clavijo and Flórez, 2018). در سال‌های اخیر، پروبیوتیک‌ها به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در تولید طیور مطرح شده‌اند. این ترکیبات قادرند که رشد باکتری‌های مفید را تقویت کنند و از رشد باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری کنند (Elbaz et al., 2021). همچنین آنزیم‌های گوارشی مختلف تولید کرده و مولکول‌های تعدیل‌کننده ایمنی را برای حفظ تعادل جمعیت میکروبی روده در دام و طیور بهبود می‌بخشند. این عوامل به‌نوبه خود سبب کاهش بیماری‌های

۱- مربی، پژوهشکده بیوتکنولوژی جانوری، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران
۲- استادیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی جانوری، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران

۳- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۴- مربی، پژوهشکده بیوتکنولوژی جانوری، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران
(Email: raminseighalaani@abrii.ac.ir)
* - نویسنده مسئول

مواد و روش‌ها

محل و زمان اجرای آزمایش

آزمایش با هدف بررسی اثر پروبیوتیک‌های بومی با منشأ داخلی در بهمن سال ۱۳۹۸ به مدت ۴۲ روز در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه گیلان انجام شد. ۵۱۲ قطعه جوجه گوشتی نر یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ با میانگین وزن یک‌روزگی $43/6 \pm 0/7$ گرم، از شرکت رامسر طیور تهیه گردید. سالن پرورش دارای ابعاد ۱۱/۶ متر عرض، ۴۶ متر طول و سه متر ارتفاع در وسط و دو متر در کناره‌ها بود. داخل سالن با استفاده از دیواره‌هایی به طول ۱/۵، عرض یک و ارتفاع یک متر به ۳۲ پن جداگانه تقسیم شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار آزمایشی (هر تیمار دارای چهار تکرار و ۱۶ قطعه جوجه در هر تکرار) انجام گردید. تیمارهای آزمایش در **جدول ۱** نشان داده شده است.

جیره‌های غذایی

جیره پایه، یک جیره تجاری فاقد آنتی‌بیوتیک بود که بر پایه ذرت و سویا برای دوره آغازین (۰ تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) فرموله شده بود. این جیره به صورت پودری تهیه شده بود و دو بار در روز (صبح و عصر) در ظروف دان‌خوری پر می‌شدند. جوجه‌ها در طول شبانه‌روز به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند.

تهیه پروبیوتیک بومی

سویه‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در این پژوهش از یک پروژه غربالگری و جداسازی پروبیوتیکی به دست آمده‌اند که باکتری‌هایی با پتانسیل پروبیوتیکی را از منابع مختلف دام، طیور، آبزیان و حشرات صنعتی شناسایی کرده است. این باکتری‌ها شامل باکتری‌های اسید لاکتیکی گرم مثبت هستند که در برابر رنگ‌آمیزی گرم واکنش مثبتی نشان داده و با جذب کریستال ویوله توسط پپتیدوگلیکان موجود در دیواره به رنگ آبی تیره و بنفش دیده می‌شوند. همچنین، این باکتری‌ها کاتالاز منفی و KOH منفی (مخلوط نمودن کلنی باکتریایی با KOH سه درصد از جمله تست‌های افتراق باکتری گرم مثبت از باکتری گرم منفی است) نیز بودند. باکتری‌های انتخاب شده تمام تست‌های مربوط به تعیین خصوصیات پروبیوتیکی نظیر توانایی تحمل اسید معده، توانایی تحمل صفرای موجود در روده کوچک، مهار بیمارگرهای *سالمونلا* / *یئیریتیدیس*، *سالمونلا* تیفی *موریوم* و فقدان همولیز را پشت سر گذاشته و به منظور شناسایی مولکولی از نظر ناحیه 16S باکتریایی بررسی شدند. پس از خوانش، میزان شباهت قطعات مذکور با قطعات مشابه در بانک NCBI با استفاده از نرم‌افزار بلاست

روده‌ای، افزایش هضم و جذب خوراک، بهبود عملکرد ایمنی و در نهایت، افزایش عملکرد کلی می‌شوند (Rehman et al., 2020; Zhang et al., 2021; Kulkarni et al., 2022). پروبیوتیک‌ها ممکن است حاوی یک یا تعداد بیشتری سویه میکروارگانیسمی باشند و می‌توانند به تنهایی یا در ترکیب با افزودنی‌های دیگر در آب یا غذا استفاده شوند. پروبیوتیک‌ها از طریق تأثیر بر بهبود جمعیت ریزجاندان دستگاه گوارش که ارتباط نزدیکی با تکامل سیستم ایمنی دارد، اثرات مفیدی بر سلامت و افزایش پتانسیل طیور ایجاد می‌کنند (Broom and Kogut, 2018). هنگامی که روده توسط یک گونه باکتریایی خاص اشغال شود، به دلیل محدودیت فضای قابل سکونت، استقرار میکروب‌های دیگر در میان این جامعه دشوار می‌گردد (Cisek et al., 2014). لاکتوباسیلوس، پدیوکوک، لاکتوکوک، لاکتوکوک، انتروکوک، /ستریتوکوک و بیفیدوباکتیریا می‌توانند پروتئین‌ها یا باکتریوسین‌هایی (پپتیدهای ضد میکروبی) تولید کنند که رشد باکتری‌های مضر را به حداقل برسانند. الگوی اصلی دفع بیمارگر به واسطه باکتریوسین، شامل نفوذ به غشاء سیتوپلاسمی باکتری‌های بیماری‌زا است که باعث مهار سنتز DNA و RNA می‌شود (Van Zyl et al., 2020). باکتریوسین‌ها می‌توانند توانایی سلول‌های بیمارگر برای کلونیزاسیون دستگاه گوارش را محدود کرده و با سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک مبارزه کنند (Lajis, 2020). همچنین پروبیوتیک‌ها با افزایش سرعت هضم، قابلیت هضم را افزایش داده (Zhang and Kim, 2014)، و منجر به بهبود ساختار ریزجاندانان سکوم و هضم مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی می‌شوند (Khalid et al., 2021). پژوهش‌های فراوانی به بررسی اثرات پروبیوتیک‌ها بر بهبود رشد و عملکرد پرندگان پرداخته‌اند. مطالعات نشان داده‌اند که غنی‌سازی جیره با یک جدایه تکی لاکتوباسیلوس (*L. fermentum* *L. casei*، *L. reuteri* و *L. bulgaricus*) منجر به بهبود وزن بدن و کارایی خوراک در جوجه‌های گوشتی می‌گردد (Apata, 2008; Nakphaichit et al., 2011). علاوه بر بهبود عملکرد رشد، غنی‌سازی با پروبیوتیک‌ها منجر به ارتقاء عملکرد ایمنی جوجه‌های گوشتی نیز می‌گردد که این امر از طریق افزایش سطح ایمونوگلوبولین سرم / پلاسما، افزایش تیترا آنتی‌بادی در برابر به بیمارگرها و تغییر در تعداد سلول‌های ایمنی مشهود است (Ahmed et al., 2013; al., 2014). این پژوهش با هدف بررسی آثار سویه‌های لاکتوباسیلوس روترئی مرغ‌های بومی اشنویه، شوش، شفت و ماسال و یک سویه لاکتوباسیلوس *سالیاریوس* جداسازی شده از اردک بومی مازندران به صورت جداگانه و ترکیبی بر صفات عملکرد، پاسخ ایمنی، ریخت‌شناسی و جمعیت میکروبی دستگاه گوارش در طیور گوشتی انجام شد.

کن انجمادی خشک شدند. پودرهای خشک‌شده به مدت چند ماه در یخچال و در دمای چهار درجه نگهداری شد. سپس هر یک از جدایه‌ها به منظور استفاده در تغذیه جوجه‌های گوشتی به میزان 1.36×10^9 CFU/g در آرد ذرت به منظور مخلوط نمودن با خوراک روزانه رقیق شدند.

مشخص شد و قطعات مذکور در بانک ژنی NCBI ثبت گردیدند (Royan et al., 2017). باکتری‌های انتخاب‌شده به‌طور جداگانه در محیط کشت MRS مایع، در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوازی کشت شدند. بعد از کشت جدایه‌ها، سلول‌های باکتریایی توسط سانتریفوژ جداسازی شده و سوپرناتانت این باکتری‌ها دور ریخته شد. پس از شست‌وشوی پلیت‌های باکتریایی، آن‌ها جداگانه توسط خشک

جدول ۱ - فهرست هفت گروه تیمار آزمایشی

Table 1- List of seven experimental treatment groups

تیمار	Treatment
1	جیره پایه (برمبنای ذرت و سویا)، کنترل منفی Basal ration (based on corn and soybean meal), negative control
2	پروبیوتیک تجاری (بیوپول) + جیره پایه، کنترل مثبت Basal ration + commercial probiotic (Biopol), positive control
3	جیره پایه + 1.36×10^9 CFU/g باکتری <i>L. Reuteri</i> جداسازی شده از مرغ بومی اشنویه (Plr2) Basal ration + 1.36×10^9 CFU/g <i>L. Reuteri</i> isolated from Oshnavieh native hen (Plr2)
4	جیره پایه + 1.36×10^9 CFU/g باکتری <i>L. Reuteri</i> جداسازی شده از مرغ بومی اشنویه و <i>L. Salivarius</i> جداسازی شده از اردک بومی مازندران (Plr9) Basal ration + 1.36×10^9 CFU/g <i>L. Reuteri</i> isolated from Oshnavieh native hen and <i>L. salivarius</i> isolated from Mazandaran native duck (Plr9)
5	جیره پایه + 1.36×10^9 CFU/g باکتری <i>L. Reuteri</i> جدا شده از مرغ‌های بومی اشنویه، شوش و <i>L. Salivarius</i> جداسازی شده از اردک بومی مازندران (Plr10) Basal ration + 1.36×10^9 CFU/g <i>L. Reuteri</i> isolated from Oshnavieh, Shush native hens and <i>L. salivarius</i> isolated from Mazandaran native duck (Plr10)
6	جیره پایه + 1.36×10^9 CFU/g باکتری <i>L. Reuteri</i> جدا شده از مرغ‌های بومی اشنویه، شوش، شفت و <i>L. Salivarius</i> جداسازی شده از اردک بومی مازندران (Plr11) Basal ration + 1.36×10^9 CFU/g <i>L. Reuteri</i> isolated from Oshnavieh, Shush, Shaft native hens and <i>L. salivarius</i> isolated from Mazandaran native duck (Plr11)
7	جیره پایه + 1.36×10^9 CFU/g باکتری <i>L. Reuteri</i> جدا شده از مرغ‌های بومی اشنویه، شوش، شفت، ماسال و <i>L. Salivarius</i> جداسازی شده از اردک بومی مازندران (Plr12) Basal ration + 1.36×10^9 CFU/g <i>L. Reuteri</i> isolated from Oshnavieh, Shush, Shaft, Masal native hen and <i>L. salivarius</i> isolated from Mazandaran native duck (Plr12)

صفات مورد اندازه‌گیری آزمایش

خوراک مصرفی روزانه

مصرف خوراک روزانه (گرم/جوجه/روز) از تفاضل خوراک باقی‌مانده در آخر دوره مورد نظر از وزن خوراک ابتدای همان دوره و با استفاده از معادله ۱ براساس روز/مرغ محاسبه شد.

افزایش وزن روزانه

با استفاده از معادله ۲، میزان افزایش وزن روزانه جوجه‌ها (برحسب گرم) براساس روز/مرغ محاسبه شد.

ضریب تبدیل خوراک

ضریب تبدیل خوراک از تقسیم میانگین مصرف خوراک روزانه هر دوره به میانگین افزایش وزن روزانه همان دوره طبق معادله ۳ محاسبه شد.

$$\text{معادله (۱)} \quad \text{روز مرغ} = (\text{تعداد تلفات} \times \text{تعداد روز دوره}) + (\text{تعداد روزهای زنده‌مانی تلفات} \times \text{تعداد جوجه در پایان دوره})$$

$$\text{خوراک مصرفی روزانه} = \frac{\text{وزن خوراک باقی‌مانده در انتهای دوره (گرم)} - \text{وزن خوراک در ابتدای دوره (گرم)}}{\text{روز مرغ}}$$

$$\text{معادله (۲)}$$

$$\text{افزایش وزن زنده روزانه} = \frac{\text{وزن تلفات تا انتهای دوره} + \text{وزن جوجه‌ها در ابتدای دوره} - \text{وزن جوجه‌ها در انتهای دوره}}{\text{روز مرغ}}$$

$$\text{معادله (۳)} \quad \text{ضریب تبدیل خوراک} = \frac{\text{میانگین مصرف خوراک روزانه (گرم)}}{\text{میانگین افزایش وزن روزانه (گرم)}}$$

اندازه‌گیری ایمنی هومورال

به منظور اندازه‌گیری پاسخ ایمنی هومورال، از تست هم‌گلوتیناسیون (تستی برای تعیین حساسیت ایمنی در جوجه‌ها با استفاده از آنتی‌بادی‌های هم‌گلوتینه‌کننده گلبول‌های قرمز گوسفندی) استفاده شد (Grasman, 2010). بدین منظور، ابتدا سوسپانسیون قابل تزریق SRBC تهیه شد و در مرحله بعد در روزهای ۲۲ و ۳۵ دوره پرورش، دو جوجه به‌طور تصادفی از هر قفس انتخاب و میزان ۰/۱ سی‌سی محلول ۲۵ درصد SRBC به‌وسیله سرنگ انسولین به عضله سینه جوجه‌ها تزریق گردید. برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی هومورال، در روزهای ۳۰ و ۴۲ از ورید بال جوجه‌ها یک سی‌سی خون گرفته شد و آنتی‌بادی‌های IgM، IgG و ایمونوگلوبولین کل مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

ریخت‌شناسی روده کوچک

به منظور بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی روده کوچک، در روز ۴۲ از هر تکرار سه پرنده انتخاب شد و نمونه‌های تهی‌روده (ژژونوم) آن‌ها جدا و پس از شست‌وشو با محلول نرمال سالین، در محلول ۱۰ درصد فرمالین قرار گرفت. سپس بافت‌ها آماده‌سازی، آب‌گیری و پارافینه شدند. به منظور آب‌گیری بافت، نمونه‌ها به مدت یک ساعت به ترتیب در الکل ۵۰ درصد، ۷۰ درصد، ۹۰ درصد و مطلق قرار داده شدند تا آب بافت جذب الکل شده و الکل جایگزین آن شود. بعد از آن، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در داخل محلول زایلن قرار داده شدند تا زایلن جایگزین الکل شود (Ehsani tabatabaei and Pourrahimi, 2015). در مرحله پارافینه کردن بافت‌ها و قالب‌گیری، نمونه‌ها در داخل پارافین مذاب قرار گرفتند تا پارافین به داخل بافت نفوذ کند.

برش بافت‌ها

نمونه‌ها همراه با قالب پارافین به‌وسیله دستگاه میکروتوم به ضخامت هفت میکرومتر برش داده شدند و بعد از آن در آب ۴۸ تا ۵۳ درجه سلسیوس قرار داده شدند تا چین‌وچروک احتمالی آن‌ها باز و بافت حالت برش یک‌دست پیدا کند. سپس نمونه‌های مورد نظر روی لام منتقل شدند (Ehsani tabatabaei and Pourrahimi, 2015). بعد از خارج کردن پارافین موجود در بافت‌ها با گزین و الکل، نمونه‌ها با رنگ هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شدند. برای اندازه‌گیری طول و عرض پرز و عمق کریپت، با استفاده از میکروسکوپ لایکا (Leica DM 1000، آمریکا) و دوربین دیجیتال Sony واقع در دانشکده گیاه‌پزشکی دانشگاه گیلان با لنز ۱۰x از لام‌های به‌دست‌آمده عکس برداری صورت گرفت. نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت برحسب

میکرومتر (Ebrahimi et al., 2017) و مساحت سطح پرز مطابق معادله ۴ (Gangali et al., 2015) محاسبه گردید.

$$\text{VSA} = \frac{1}{2} \times \text{VW} \times \text{VH} \times 2\pi \quad (\text{معادله } 4)$$

که در آن، VSA: مساحت سطح پرز، VW: عرض پرز و VH: ارتفاع پرز می‌باشند.

تعیین جمعیت باکتریایی دستگاه گوارش با استفاده از

روش Real-Time PCR

برای بررسی جمعیت لاکتوباسیلوسی دستگاه گوارش در ۴۲ روزگی، دو جوجه از هر قفس انتخاب و سکوم آن‌ها جدا شد. سپس سکوم‌ها داخل فالتون ۵۰ قرار گرفتند و تا انجام آزمایش‌ها داخل فریزر نگهداری شدند (Shokryazdan et al., 2017).

استخراج DNA از سکوم

DNA نمونه‌ها براساس دستورالعمل کیت Favorgen محصول کشور تایوان (Biotech Corp) استخراج شد. بعد از آنکه نمونه‌های DNA با استفاده از دستگاه نانودراپ (NanoDrop 2000) مورد غلظت‌سنجی قرار گرفتند و کیفیت آن‌ها با استفاده از ژل آگارز دو درصد مورد ارزیابی قرار گرفت، برای رسیدن به غلظت ۱۰۰ نانوگرم و در حجم ۲۵ میکرولیتر، رقیق شدند.

Real time-PCR

به منظور سنجش Real-time PCR، DNA کل از نمونه‌های سکوم استخراج شد. منحنی‌های استاندارد با استفاده از تعداد کپی‌های ژن 16S rRNA در برابر چرخه کمی (Cq) به‌دست‌آمده از رقت‌های سریالی ۱۰ برابری محصولات PCR از کشت خالص هر گروه باکتریایی رسم شد. به منظور آماده‌سازی منحنی‌های استاندارد، DNA از کشت خالص باکتری هدف (لاکتوباسیلوس) استخراج شد و PCR معمول برای تکثیر DNA باکتریایی مورد استفاده قرار گرفت. فرآورده‌های PCR باکتری‌های هدف روی ژل آگارز یک درصد ران شدند و باندهای اختصاصی با استفاده از کیت خالص‌سازی، جدا شدند. خلوص و غلظت ژن 16S rRNA در هر نمونه نیز با استفاده از نانودراپ اندازه‌گیری شد. تعداد کپی‌های ژن 16S rRNA در هر میلی‌لیتر از elution buffer با استفاده از معادله ۵ محاسبه گردید.

$$\text{copy number} = \left| \frac{\text{amount of DNA } (\mu\text{g ml}) * \frac{6}{0.22} * 10^{23}}{\text{length (bp)} * 10^9 * 650} \right|$$

آغازگر مورد استفاده در کمی‌سازی جمعیت باکتری

بود. اتصال آغازگر در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد، همچنین گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه بود. به محض تکمیل تکثیر، اختصاصی بودن فرآورده‌های تکثیر شده به وسیله آنالیز منحنی ذوب تأیید شد. برای این منظور، فرآورده‌های Real-time PCR با افزایش دما از ۵۵ به ۹۵ با افزایش ۰/۵ درجه‌ای به مدت پنج ثانیه در هر افزایش انکوبه شدند. نتایج به صورت $\log_{10}$ تعداد کپی در هر گرم محتوای سکوم بیان شد (Shokryazdan et al., 2017).

لاکتوباسیلوس در جدول ۲ نشان داده شده است. واکنش در حجم کلی ۱۵ میکرولیتر با استفاده از SYBR Green Master Mix انجام شد. هر واکنش شامل ۷/۵ میکرولیتر SYBR Green Master Mix، ۰/۵ میکرولیتر از هریک از آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ میکرومولار، دو میکرولیتر نمونه DNA و ۴/۵ میکرولیتر آب دو بار تقطیر بود. هر نمونه با واکنش‌های با دو تکرار مورد سنجش قرار گرفت. شرایط چرخه زمان واقعی PCR شامل یک دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه و به دنبال آن ۴۰ چرخه واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه

جدول ۲- آغازگرهای مورد استفاده جهت تعیین جمعیت *Lactobacillus* با استفاده از تکنیک Real-time PCR

Table 2- Primer sequence used for *Lactobacillus* population using Real-time PCR

مرجع	توالی‌ها	گروه هدف
Reference	Sequences	Target group
Shokryazdan et al., 2017	CATCCAGTGCAAACCTAAG	F لاکتوباسیلوس
	GATCCGCTTGCCTTCG	R <i>Lactobacillus</i>

(*L. casei*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium*) به میزان یک درصد در آب آشامیدنی اثرات مثبت روی افزایش مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی دارد (Zhang et al., 2021). یافته‌های هه و همکاران (He et al., 2019) نیز نشان‌دهنده تأثیر مثبت مکمل پروبیوتیک (باسیلوس سوتیلیس، باسیلوس لیکنیفورمیس و ساکارومایسس سرویزیه) به مقدار ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در جیره، بر افزایش میزان خوراک مصرفی بود. پاسخ پرنده به افزودنی‌های خوراکی به مواردی همچون عوامل تنش‌زای محیطی و میزان آن‌ها، ترکیبات جیره، ویژگی‌های پرنده (سن، جنس، گونه و مرحله پرورش) و ویژگی‌های محصول پروبیوتیکی مانند نوع و مقدار مصرف، ترکیب گونه باکتری، روش و دفعات استفاده بستگی دارد که به عنوان علل اختلاف در نتایج تحقیقات مختلف مطرح می‌شوند (Mikulski et al., 2012). همچنین بیان شده است که اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها در جوجه‌های گوشتی با سرعت رشد بالا، کمتر از پرندگان دارای سرعت رشد پائین می‌باشد (Timmerman et al., 2006). تمامی عوامل گفته شده در بالا می‌توانند در عدم تأثیر این صفت از مصرف پروبیوتیک‌ها مؤثر باشند.

افزایش وزن روزانه

طی دوره آغازین و رشد پرورش، هیچ یک از تیمارهای پروبیوتیکی بومی مورد استفاده اختلاف معنی‌داری با شاهد و بیوپول نشان ندادند. در دوره پایانی رشد یا ۴۲-۲۵ روزگی از نظر عددی بالاترین افزایش وزن روزانه مربوط به تیمارهای Plr2 و Plr12 بود. همچنین تیمار Plr10 منجر به کمترین میزان افزایش وزن روزانه در مقایسه با سایر ترکیبات پروبیوتیکی در این دوره از رشد گردید. در کل

طرح آماری و تجزیه داده‌ها

بعد از جمع‌آوری اطلاعات، تجزیه آماری داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از رویه GLM بسته نرم‌افزاری SAS انجام شد (Rastad et al., 2008). مقایسه میانگین تیمارها برای صفات مورد بررسی با استفاده از آزمون دانکن در سطح پنج درصد ($P < 0.05$) انجام شد.

نتایج و بحث

میانگین مصرف خوراک روزانه

در دوره‌های آغازین و رشد، از نظر میزان خوراک مصرفی هیچ یک از تیمارهای پروبیوتیک بومی مورد استفاده با شاهد (بدون افزودنی) اختلاف معنی‌داری نداشتند. بررسی میزان خوراک مصرفی در ۲۵-۴۲ روزگی و در کل دوره پرورش نیز نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای پروبیوتیک بومی با شاهد و تیمار پروبیوتیک تجاری مورد استفاده بود (جدول ۳). همسو با نتایج به دست آمده از این تحقیق، تعدادی از مطالعات عدم تأثیر پروبیوتیک‌ها بر صفات عملکرد (Sarangi et al., 2016) در جوجه‌های گوشتی را گزارش نمودند. محمودتبار و همکاران (Mahmood Tabar et al., 2018) نیز که به مقایسه اثر پروبیوتیک‌های مختلف بر مؤلفه‌های عملکردی طیور پرداختند، گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری از لحاظ صفت مقدار خوراک مصرفی در سه دوره آغازین، رشد و پایانی بین تیمار پروبیوتیک و گروه شاهد مشاهده نشد.

در تضاد با نتایج به دست آمده، محققان در پژوهشی دیگر به این نتیجه رسیدند که استفاده از مکمل پروبیوتیک چند سویه‌ای

گوشته روی مقدار ضریب تبدیل غذایی تأثیر مثبت و معنی‌داری ندارد (Jacquier et al., 2019; Sarangi et al., 2016). تفاوت در نتایج به‌دست‌آمده از آزمایشات متفاوت ممکن است به‌دلیل تفاوت در سویه باکتری پروبیوتیک مورد استفاده، تعداد سویه، دوز مصرفی، سن جوجه و ترکیب جیره (به‌ویژه میزان پروتئین آن) باشد (Chen et al., 2017).

تیتراهای آنتی‌بادی علیه SRBC تزریق‌شده

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین مقدار آنتی‌بادی‌های IgM و IgG در روزهای ۳۰ و ۴۲ در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان داد که همه تیمارهای پروبیوتیک بومی مورد استفاده به‌غیر از Plr2 در ۳۰ روز اول پرورش منجر به افزایش در میزان آنتی‌بادی IgG در مقایسه با شاهد شدند که این افزایش در تیمار Plr12 نسبت به شاهد بیشتر و معنی‌دار بود ($P < 0.01$). علاوه‌براین در این دوره از رشد تفاوت معنی‌داری میان ترکیبات پروبیوتیک بومی و پروبیوتیک تجاری به لحاظ افزایش در میزان آنتی‌بادی IgG مشاهده نشد. از لحاظ تولید IgM در ۳۰ روز اول پرورش نیز تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای پروبیوتیک بومی، بیوپول و شاهد مشاهده نشد. بررسی میزان تولید IgG پس از دومین تزریق نیز حاکی از آن بود که تمام ترکیبات پروبیوتیک بومی مورد استفاده منجر به افزایش معنی‌دار این آنتی‌بادی در مقایسه با شاهد بدون افزودنی شدند که این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0.01$). IgM تولیدی نیز در ۴۲ روز پس از تزریق SRBC تیمارهای بیوپول، Plr9، Plr10، Plr11 و Plr12 به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بدون افزودنی بود ($P < 0.01$)، اما تیمار Plr2 اختلاف معنی‌داری با شاهد به‌لحاظ تولید این آنتی‌بادی نشان نداد. پروبیوتیک‌ها با تأثیر بر باکتری‌های مضر دستگاه گوارش و تحریک ایمنی موضعی، موجب افزایش فاکتورهای ایمنی هومورال می‌شوند. بهبود و تحریک سیستم ایمنی به‌وسیله پروبیوتیک‌ها ممکن است به سه طریق انجام شود: ۱- افزایش تولید ایمونوگلوبولین‌های M، G و اینترفرون‌ها، ۲- افزایش تولید آنتی‌بادی موضعی در سطوح مخاطی بدن از قبیل دیواره روده که معمولاً از نوع IgA هستند (Villena et al., 2008) و ۳- افزایش فعالیت ماکروفاژهایی که از طریق افزایش فاگوسیتوز میکروارگانیزم‌ها نمایان می‌شوند (Jing et al., 2017). تأثیر و کارایی پروبیوتیک‌ها در تحریک سیستم ایمنی و تقویت پاسخ آنتی‌بادی به عواملی چون نوع پادتن، تعداد باکتری‌های موجود در پروبیوتیک، دوز مؤثر مصرف‌شده و زمینه ژنتیکی میزبان وابسته است (Haghighi et al., 2005). اجزاء دیواره سلولی باکتری‌ها، مانند پتیدوگلیکان‌ها و لیپوپلی‌ساکاریدها، نیز در تعامل با باکتری‌ها و ریزجاندانان دیگر نقش مهمی دارند.

دوره پرورش نیز افزایش وزن روزانه در تیمارهای Plr2، Plr11 و Plr12 بالا بود، اما نسبت به تیمارهای شاهد و بیوپول تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. در تضاد با نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق، گزارشی مبنی بر تأثیر معنی‌دار پروبیوتیک‌ها بر افزایش وزن روزانه وجود دارد. در این راستا، اسدی و همکاران (Asadi et al., 2019) گزارش کردند که تأثیر پروبیوتیک بر افزایش وزن، ممکن است به‌دلیل رقابت میان باکتری‌های موجود در ترکیبات پروبیوتیک با جمعیت‌های میکروبی دستگاه گوارش باشد. لذا هرچه باکتری‌ها زمان بیش‌تری داشته باشند (مدت زمان مصرف پروبیوتیک و استقرار در دستگاه گوارش)، در رقابت با جمعیت‌های میکروبی دستگاه گوارش مؤثرتر خواهند بود. نتایج تحقیق هوانگ و همکاران (Huang et al., 2019) ناظر بر اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها بر افزایش وزن روزانه در طیور می‌باشد. گادی و همکاران (Gadde et al., 2017) نیز تغییرات قابل توجهی در افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی در پاسخ به پروبیوتیک در روز ۱۴م دوره پرورش ثبت کردند. همچنین در پژوهشی دیگر، ما و همکاران (Ma et al., 2018) مشاهده کردند که وزن جوجه‌های گوشتی در اثر استفاده از مکمل پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلوس به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است. علت عدم تطابق نتایج به‌دست‌آمده با یافته‌های محققین فوق ممکن است به تفاوت در نوع ترکیبات مورد استفاده و شرایط آزمایش مربوط باشد.

ضریب تبدیل خوراک

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های مختلف پرورش در جدول ۳ نشان داده شده است. این نتایج حاکی از آن است که در دوره آغازین پرورش، هیچ یک از تیمارهای پروبیوتیک مورد استفاده نسبت به شاهد و بیوپول تفاوت معنی‌داری نداشتند و نتوانستند در مقایسه با این تیمارها منجر به کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک گردند. در دوره رشد (۲۴-۱۱ روزگی) نیز ترکیبات پروبیوتیکی Plr2، Plr11 و Plr12 در مقایسه با تیمار بیوپول منجر به کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل شدند ($P < 0.05$) که این امر نشان‌دهنده برتری ترکیبات پروبیوتیک بومی مورد استفاده بر پروبیوتیک تجاری بیوپول می‌باشد. لی و همکاران (Li et al., 2014) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره طیور منجر به بهبود ضریب تبدیل خوراک می‌گردد که این امر به‌دلیل تقویت میکروفلور مفید، حذف رقابتی بیمارگرها با آزادسازی باکتریوسین‌ها و تحریک سیستم ایمنی، افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی (مانند پانکراتوزیداز، آلفا آمیلاز و ...) می‌باشد که در نهایت، سبب افزایش راندمان هضم و جذب مواد مغذی شده و در نتیجه، عملکرد رشد حیوانات را بهبود می‌بخشند (Jadhav et al., 2015; Hack et al., 2020; Soomro et al., 2019). برخی محققان نیز به این نتیجه رسیده‌اند که استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره جوجه‌های

برخی از باکتری‌های پروبیوتیک، به‌ویژه لاکتوباسیل‌ها، می‌توانند سیستم ایمنی را تحریک کرده و به‌عنوان سلول‌های زنده در دیواره روده تکثیر شوند. این باکتری‌ها قادرند که پادتن‌های آزادشده توسط ریزجانداران مرده را جذب کرده و به‌طور مستقیم بر سیستم ایمنی تأثیر بگذارند. همچنین، ریزجانداران موجود در پروبیوتیک پس از ورود به دستگاه گوارش و آزادسازی متابولیت‌های خود، موجب فعال‌سازی سیستم ایمنی می‌شوند که این امر می‌تواند پاسخ ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی میزبان را تقویت کند و به مهار بیماری‌های عفونی کمک کند. نتایج این تحقیق، با یافته‌های تعدادی از مطالعات که تأثیر پروبیوتیک‌ها بر تقویت سیستم ایمنی را نشان داده‌اند، مطابقت دارد (Bilal et al., 2021; Terada et al., 2020; Fazelnia et al., 2021) نشان دادند که مکمل غذایی پروبیوتیک و

سین‌بیوتیک، پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی را بهبود می‌بخشد. در پژوهشی دیگر، آوایس و همکاران (Awais et al., 2019) گزارش کردند که گنجاندن یک گرم پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس و ساکارومایسس در جیره غذایی می‌تواند سیستم ایمنی بدن را تحریک و تکثیر ریزجانداران مفید در روده را افزایش دهد. با توجه به افزایش آنتی‌بادی تولیدی علیه SRBC، می‌توان گزارش نمود که ترکیبات پروبیوتیک ترکیبی مورد استفاده در این پژوهش منجر به بهبود وضعیت ایمنی شدند. پاسخ ثانویه آنتی‌بادی در ۴۲ روز پس از تزریق SRBC با قدرت بیشتری همراه است، زیرا با افزایش سن جوجه‌ها، سیستم ایمنی آن‌ها تکامل بیشتری می‌یابد و سلول‌های خاطره تولید شده در پاسخ ایمنی اولیه، منجر به تشدید تولید آنتی‌بادی در پاسخ ثانویه می‌شوند.

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ ایمنی علیه SRBC تزریق‌شده در روزهای ۳۰ و ۴۲ پرورش (اعداد بر مبنای $\log_2$ است)^۱
Table 4- Effect of experimental treatments on immune response against injected SRBC in 30 and 42 days of growth (values are $\log_2$ base)¹

تیمارها Treatments	NC	Pbio	Plr2	Plr9	Plr10	Plr11	Plr12	SEM	P-value
ایمونوگلوبولین G (در روز ۳۰ ام) IgG (30)	3.37 ^b	5.25 ^{ab}	2.75 ^{bc}	5.75 ^{ab}	4.87 ^{ab}	5.07 ^{ab}	5.92 ^a	0.3601	0.0021
ایمونوگلوبولین M (در روز ۳۰ ام) IgM (30)	2.00	2.25	2.37	2.37	2.12	2.12	2.62	0.2711	0.1835
ایمونوگلوبولین G (در روز ۴۲ ام) IgG (42)	4.12 ^b	5.00 ^{ab}	6.87 ^a	6.75 ^a	6.12 ^a	6.87 ^a	6.75 ^a	0.3479	0.0008
ایمونوگلوبولین M (در روز ۴۲ ام) IgM (42)	2.12 ^c	3.12 ^{ab}	2.37 ^{bc}	3.87 ^a	2.75 ^{ab}	3.12 ^{ab}	3.62 ^{ab}	0.2977	0.0062

^۱ جیره پایه (بر مبنای ذرت و سویا)، NC: بدون افزودنی، کنترل منفی، Pbio: پروبیوتیک تجاری (بیوپول) + جیره پایه، کنترل مثبت، Plr2: جیره پایه + 1.36×10^9 CFU/g باکتری *L. Reuteri* جداسازی شده از مرغ بومی اشونیه، Plr9: جیره پایه + 1.36×10^9 CFU/g باکتری *L. Reuteri* جداسازی شده از مرغ بومی اشونیه و *L. Salivarius* جداسازی شده از اردک بومی مازندران، Plr10: جیره پایه + 1.36×10^9 CFU/g باکتری *L. Reuteri* جداسازی شده از مرغ بومی اشونیه و *L. Salivarius* جداسازی شده از اردک بومی مازندران و *L. Reuteri* جداسازی شده از مرغ بومی شوش، Plr11: جیره پایه + 1.36×10^9 CFU/g باکتری *L. Reuteri* جداسازی شده از مرغ بومی اشونیه، *L. Salivarius* جداسازی شده از اردک بومی مازندران و *L. Reuteri* جداسازی شده از مرغ بومی شوش، Plr12: جیره پایه + 1.36×10^9 CFU/g باکتری *L. Reuteri* جداسازی شده از مرغ بومی اشونیه، *L. Salivarius* جداسازی شده از اردک بومی مازندران، *L. Reuteri* جداسازی شده از مرغ بومی شفت، Plr12: جیره پایه + 1.36×10^9 CFU/g باکتری *L. Reuteri* جداسازی شده از مرغ بومی اشونیه، *L. Reuteri* جداسازی شده از مرغ بومی شفت، *L. Reuteri* جداسازی شده از مرغ بومی شوش.

جداسازی شده از مرغ بومی ماسال

^۱ Basal ration (based on corn and soybean meal), non-additive, negative control (NC), Basal ration + commercial probiotic (Biopol), positive control, Basal ration + 1.36×10^9 CFU/g *L. Reuteri* isolated from Oshnavieh native hen (Plr2), Basal ration + 1.36×10^9 CFU/g *L. Reuteri* isolated from Oshnavieh native hen and *L. salivarius* isolated from Mazandaran native duck (Plr9), Basal ration + 1.36×10^9 CFU/g *L. Reuteri* isolated from Oshnavieh native hen and *L. salivarius* isolated from Mazandaran native duck and *L. Reuteri* isolated from Shush native hen (Plr10), Basal ration + 1.36×10^9 CFU/g *L. Reuteri* isolated from Oshnavieh native hen and *L. salivarius* isolated from Mazandaran native duck and *L. Reuteri* isolated from Shush native hen and *L. Reuteri* isolated from Shaft native hen (Plr11), Basal ration + 1.36×10^9 CFU/g *L. Reuteri* isolated from Oshnavieh native hen and *L. salivarius* isolated from Mazandaran native duck and *L. Reuteri* isolated from Shush native hen and *L. Reuteri* isolated from Shaft native hen and *L. Reuteri* isolated from Masal native hen (Plr12)

ریخت‌شناسی روده کوچک

نتایج مربوط به ریخت‌شناسی تهی‌روده جوجه‌های گوشتی در

جدول ۵ نشان داده شده است. براساس نتایج مندرج در این جدول،

تیمارهای Plr9، Plr11 و Plr12 بیشترین تأثیر را در افزایش طول

عمق کریپت بین تیمارهای مختلف از نظر آماری معنی‌دار نیست. همچنین، بررسی نسبت‌های به‌دست‌آمده برای طول پرز به عمق کریپت نشان داد که این نسبت در تمامی تیمارهای پروبیوتیکی مورد استفاده نسبت به گروه شاهد بدون افزودنی و پروبیوتیک تجاری بیوپول به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0.01$). با توجه به اینکه نسبت طول پرزها به عمق کریپت یک معیار کارآمد برای تخمین ظرفیت گوارشی در روده کوچک محسوب می‌شود (Montagne et al., 2003)، افزایش این نسبت نشان‌دهنده بهبود ریخت‌شناسی ناشی از مصرف پروبیوتیک‌ها است. همچنین، افزایش مساحت پرزها نیز در ترکیبات پروبیوتیکی تک و چند سویه نسبت به گروه شاهد بدون افزودنی به‌طور معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.01$). پروبیوتیک تجاری بیوپول نیز تفاوت معنی‌داری از نظر این ویژگی با گروه شاهد داشت، اما اختلاف آن با تیمارهای Plr2، Plr10 و Plr12 معنی‌دار نبود.

جمعیت باکتریایی دستگاه گوارش

نتایج حاصل از تعیین جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس جوجه‌های گوشتی در جدول ۵ آورده شده است. نتایج به‌دست‌آمده نشان‌دهنده افزایش جمعیت باکتری‌های مفید دستگاه گوارش در اثر مصرف سویه‌های پروبیوتیکی مورد بررسی در آزمایش می‌باشد، به‌گونه‌ای که تیمارهای Plr9، Plr11 و Plr12 سبب افزایش معنی‌دار جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس در مقایسه با شاهد و بیوپول شدند ($P < 0.01$). تیمارهای Plr2 و Plr10 نیز اختلاف معنی‌داری ($P < 0.01$) نسبت به شاهد داشتند، اما اختلاف آن‌ها نسبت به بیوپول معنی‌دار نشد.

اثر پروبیوتیک‌ها به عملکرد فیزیولوژیکی دستگاه گوارش مربوط می‌شود (هضم، جذب). پروبیوتیک‌ها می‌توانند بروز و طول مدت برخی از بیماری‌ها را به دلیل افزایش مقاومت کلونیزاسیون و اثرات بازدارنده مستقیم در برابر بیمارگرها کاهش دهند. آن‌ها می‌توانند ریزجانداران بیماری‌زا را به‌طور رقابتی از دستگاه گوارش میزبان حذف کنند (Mookiah et al., 2014). این سازوکار ضدبیماری‌زا (حذف رقابتی) نشان می‌دهد که گونه‌های باکتریایی به‌شدت برای اتصال به گیرنده‌ها در مکان‌های اتصال خاص در دستگاه گوارش مبارزه و ممکن است که ترشح مواد ضد میکروبی و رقابت برای مواد مغذی در دسترس را با هم ترکیب کنند و منجر به افزایش باکتری‌های مفید و کاهش باکتری‌های مضر شوند (Van Zyl et al., 2020). علاوه‌براین، پروبیوتیک‌ها با کاهش pH در روده، رشد و تشکیل کلنی باکتری‌های بیماری‌زا را کاهش می‌دهند. در یک مطالعه مشخص شد که pH پایین‌تر در روده می‌تواند به تحریک رشد باکتری‌های مفید و کاهش رشد و تشکیل کلنی عوامل بیماری‌زای روده، به‌ویژه

پرز داشتند که نسبت به شاهد و پروبیوتیک تجاری بیوپول از نظر آماری افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.01$). توسعه روده می‌تواند منعکس‌کننده وضعیت یکپارچگی و سلامت دستگاه گوارش حیوان باشد. از آن‌جاکه روده محل اصلی هضم و جذب مواد مغذی است، کارایی جذب تا حد زیادی به ریخت‌شناسی آن بستگی دارد (Awad et al., 2008). تحقیقات قبلی نشان داده است که ریخت‌شناسی روده، به‌ویژه ساختارهایی مانند پرز و کریپت، با ترکیب جیره غذایی تغییر می‌کند (Nain et al., Samanya and Yamauchi, 2002). افزایش طول پرزها می‌تواند به افزایش سطح آن‌ها منجر شود که این امر قابلیت جذب مواد مغذی را بهبود می‌بخشد. تحقیقات نشان داده‌اند که پروبیوتیک‌های مبتنی بر لاکتوباسیلوس‌ها موجب افزایش غلظت آنزیم آمیلاز و ارتفاع پرزها در روده می‌شوند (Fuentes et al., 2013). با این حال، سازوکار دقیق تأثیر باکتری‌های اسید لاکتیک بر بهبود ارتفاع پرز و فعالیت آنزیم آمیلاز هنوز به‌طور کامل مشخص نیست. اما شواهد نشان می‌دهد که باکتری‌های لاکتوباسیلوس می‌توانند باکتری‌های روده‌ای را تعدیل کرده و این امر به بهبود ارتفاع پرز و فعالیت آنزیم در سلول‌های پوششی روده کمک می‌کند (Van Immerseel et al., 2006). بنابراین، افزایش طول پرزها در این مطالعه ممکن است ناشی از افزایش ظرفیت جذبی آن‌ها در پاسخ به مکمل‌سازی باکتری‌های لاکتوباسیلوس باشد. همچنین، احتمال دارد که افزایش تولید اسیدهای چرب فرار ناشی از هضم کربوهیدرات‌ها توسط این باکتری‌ها، به افزایش ارتفاع پرزها منجر شده باشد. نتایج این تحقیق با یافته‌های دیگر پژوهش‌ها که بهبود ویژگی‌های ریخت‌شناسی روده، از جمله طول پرزها را در اثر استفاده از پروبیوتیک‌ها گزارش کرده‌اند، هم‌خوانی دارد (Awad et al., 2006; Chamani, 2016; Alagawany et al., 2018). در یک تحقیق نشان دادند که پروبیوتیک‌هایی که شامل چند نوع باکتری مختلف هستند، می‌توانند ارتفاع پرزهای تهی‌روده را افزایش و عمق کریپت‌ها را کاهش دهند. این موضوع با نتایج تحقیق حاضر که نشان‌دهنده افزایش طول پرزهای تهی‌روده در نتیجه استفاده از سویه‌های ترکیبی Plr9، Plr11 و Plr12 هم‌خوانی دارد. با این حال، برخی از مطالعات نیز وجود دارند که هیچ تأثیر مثبتی از مکمل‌سازی پروبیوتیک‌ها بر طول پرزها و عمق کریپت‌ها گزارش نکرده‌اند. به‌عنوان مثال، اوهایمان و اوفونگو (Ohimain and Ofongo, 2012) هیچ تغییری در طول پرزها و عمق کریپت‌ها در روده کوچک پس از مصرف لاکتوباسیلوس روترژی، انتروکوکوس فاسیوم، بیفیدوباکتریوم/انیمالیس، پدیوکوکوس/اسیدیلکتیکی و لاکتوباسیلوس سالیواریوس مشاهده نشد. به نظر می‌رسد که ریزجانداران به‌کاررفته به‌عنوان پروبیوتیک تأثیرات متفاوتی روی مخاط روده‌ای دارند.

ارزیابی ریخت‌شناسی تهی‌روده در این مطالعه نشان داد که تفاوت

استفاده از مقادیر ۳۰ و ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم پروبیوتیک (باسیلوس *أمیلولیکفاسینس*) در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی نتایج مثبتی در افزایش تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس روده داشته است، هم‌خوانی دارد. ما و همکاران (Ma et al., 2018) نیز نشان دادند که مکمل‌های غذایی با پروبیوتیک *باسیلوس سوبتیلیس* باعث بهبود ترکیب میکروبی سکوم جوجه‌های گوشتی می‌شوند.

Table 5- Effects of experimental treatments on jejunum morphology and *Lactobacillus* population in broilrs chickens cecum¹

در سکوم جوجه‌های گوشتی <i>Lactobacillus</i> اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت باکتری‌های									
Effects of experimental treatments on <i>Lactobacillus</i> population in broiler chickens cecum									
لاکتوباسیلوس									
<i>Lactobacillus</i> (log ₁₀ copy number g ⁻¹ cecal content)	6.32 _c	6.81 ^b	6.74 ^b	7.78 ^a	6.93 ^b	7.93 ^a	7.98 ^a	0.051 ₆	0.0004

Effects of experimental treatments on *Lactobacillus* population in broiler chickens cecum

Lactobacillus (log₁₀ copy number g⁻¹ cecal content)

از مرغ بومی ماسال

روزانه را نشان دادند. همچنین، این پروبیوتیک‌ها منجر به افزایش تولید آنتی‌بادی‌های IgG و IgM شدند که نشان‌دهنده بهبود پاسخ ایمنی در جوجه‌ها است. از نظر ریخت‌شناسی روده کوچک، تیمارهای پروبیوتیکی تأثیر مثبتی بر طول پرزها و نسبت طول پرز به عمق کریپت داشتند که می‌تواند به بهبود جذب مواد مغذی کمک کند. علاوه بر این، نتایج نشان‌دهنده افزایش جمعیت باکتری‌های مفید *لاکتوباسیلوس* در اثر مصرف این پروبیوتیک‌ها بود که می‌تواند به کاهش بروز بیماری‌ها و بهبود عملکرد گوارش منجر شود. به‌طور

نتیجہ گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از پروبیوتیک‌های بومی در پرورش جوجه‌های گوشتی تأثیرات مثبتی بر عملکرد، سلامت و ایمنی پرندگان دارد. اگرچه در برخی موارد، تفاوت‌های معنی‌داری در میزان مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه بین تیمارهای پروبیوتیکی و شاهد مشاهده نشد، اما برخی از ترکیبات پروبیوتیکی مانند Plr2 و Plr12 به‌طور عددی بالاترین افزایش وزن

کلی، این یافته‌ها اهمیت استفاده از پروبیوتیک‌های بومی را در صنعت طیور تأیید می‌کند و پیشنهاد می‌کند که تحقیقات بیشتری برای بررسی اثرات طولانی‌مدت و سازوکارهای دقیق عملکرد این پروبیوتیک‌ها انجام شود.

References

1. Ahmed, S. T., Hoon, J., Mun, H. S., & Yang, C. J. (2014). Evaluation of *Lactobacillus* and *Bacillus*-based probiotics as alternatives to antibiotics in enteric microbial challenged weaned piglets. *African Journal of Microbiology Research*, 8(1), 96-104. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.6355>
2. Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., Farag, M. R., Sachan, S., Karthik, K., & Dhama, K. (2018). The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition. *Environmental Science Pollution Reserch*, 25, 10611-10618. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1687-x>
3. Amir Ebrahimi, N., Salehi Jouzani, G., & Ebrahimi, M. A. (2022). Native chicken-derived *Lactobacillus* spp. strains with high probiotic, cholesterol-assimilation and aflatoxin-degradation capabilities. *Iranian Journal of Microbiology*, 14(2), 227-237. <https://doi.org/10.18502/ijm.v14i2.9192>
4. Apata, D. F. (2008). Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(7), 1253-1258. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3214>
5. Asadi, A., Faeleh, H., & Razzaghzadeh, S. (2019). Effect of given probiotic type on broiler chicken performance and carcass properties. *Applied Research in Animal Science*, 31, 51-58. <https://doi.org/10.22092/aasrj.2019.123658.1164>
6. Awad, W. A., Böhm, J., Razzazi-Fazeli, E., Ghareeb, K., & Zentek, J. (2006). Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens. *Poultry Science*, 85(6), 974-979. <https://doi.org/10.1093/ps/85.6.974>
7. Awad, W., Ghareeb, K., & Böhm, J. (2008). Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a synbiotic containing *Enterococcus faecium* and oligosaccharides. *Italian Journal of Molecular Science*, 9, 2205-2216. <https://doi.org/10.3390/ijms9112205>
8. Awais, M. M., Jamal, M. A., Akhtar, M., Hameed, M. R., Anwar, M. I., & Ullah, M. I. (2019). Immunomodulatory and ameliorative effects of *Lactobacillus* and *Saccharomyces* based probiotics on pathological effects of eimeriasis in broilers. *Microbiology Pathogen*, 126, 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.10.038>
9. Bai, S. P., Wu, A. M., Ding, X. M., Lei, Y., Bai, J., Zhang, K. Y., & Chio, J. S. (2013). Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens. *Poultry Science*, 92(3), 663-670. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02813>
10. Bilal, M., Si, W., Barbe, F., Chevaux, E., Sienkiewicz, O., & Zhao, X. (2021). Effects of novel probiotic strains of *Bacillus pumilus* and *Bacillus subtilis* on production, gut health, and immunity of broiler chickens raised under suboptimal conditions. *Poultry Science*, 100(3), 100871. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.11.048>
11. Broom, L. J., & Kogut, M. H. (2018). The role of the gut microbiome in shaping the immune system of chickens. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 204, 44-51. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2018.10.002>
12. Chen, F., Zhu, L., & Qiu, H. (2017). Isolation and probiotic potential of *Lactobacillus salivarius* and *Pediococcus pentosaceus* in specific pathogen free chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19, 325-332. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0413>
13. Cisek, A. A., & Binek, M. (2014). Chicken intestinal microbiota function with a special emphasis on the role of probiotic bacteria. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 17(2), 385-394. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2014-0057>
14. Chamani, M. (2016). Efficacy of Bactocell® and Toyocerin® as probiotics on growth performance, blood parameters and intestinal morphometry of turkey poults. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6, 211-218. (In Persian).
15. Clavijo, V., & Flórez, M. J. V. (2018). The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: A review. *Poultry Science*, 97(3), 1006-1021. <https://doi.org/10.3382/ps/pex359>
16. Dibner, J. J., & Richards, J. D. (2005). Antibiotic growth promoters in agriculture: History and mode of action. *Poultry Science*, 84(4), 634-643. <https://doi.org/10.1093/ps/84.4.634>
17. Ebrahimi, E., Sobhani, R. S., & Zarghi, H. (2017). Effect of triticale level and exogenous enzyme in the grower diet on performance, gastrointestinal tract relative weight, jejunal morphology and blood lipids of Japanese quality. *Journal of Agricultural Science Technology*, 19, 569-580. <http://dorl.net/dor/20.1001.1.16807073.2017.19.3.3.2>
18. Ehsani Tabatabaei, F., & Pourrahimi, F. (2015). *Cell Biology Laboratory*. Payame Noor University Press, Iran. pp. 121-134. (In Persian).
19. Elbaz, A. M., Ibrahim, N. S., Shehata, A. M., Mohamed, N. G., & Abdel-Moneim, A. E. (2021). Impact of multi-

- strain probiotic, citric acid, garlic powder or their combinations on performance, ileal histomorphometry, microbial enumeration and humoral immunity of broiler chickens. *Tropical Animal Health and Production*, 53(1), 115. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02554-0>
20. Fazelnia, K., Fakhraei, J., Yarahmadi, H. M., & Amini, K. (2021). Dietary supplementation of potential probiotics *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, and *Saccharomyces cerevisiae* and synbiotic improves growth performance and immune responses by modulation in intestinal system in broiler chicks challenged with *Salmonella typhimurium*. *Probiotics Antimicrobial Proteins*, 13(4), 1081-1092. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09737-5>
21. Fuentes, C., Orozco, L., Vicente, J., Velasco, X., & Menconi, A. (2013). Effect of a lactic acid bacteria based probiotic, Floramax-B11®, on performance, bone qualities, and morphometric analysis of broiler chickens: an economic analysis. *Biological Systems*, 2(113), 2.
22. Gadde, U., Kim, W. H., Oh, S. T., & Lillehoj, H. S. (2017). Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: A review. *Animal Health Research Review*, 18, 26-45. <https://doi.org/10.1017/S1466252316000207>
23. Gangali, H., Raji, A. R., & Zarghi, H. (2015). Effect of post hatch delayed access to feed on performance, GIT physical and histological development and yolk absorption in young broiler chicks. *Biomedical Pharmacology Journal*, 8, 945-955. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.023>
24. Grasman, K. A. (2010). In vivo functional test for assessing immunotoxicity in birds. *Methods in Molecular Biology*, 598, 387-398. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-401-2_25
25. Hack, M. E. A., Saadony, M. T., Shafi, M. E., Qattan, S. Y. A., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., Moneim, A. M. E., & Alagawany, M. (2020). Probiotics in poultry feed: a comprehensive review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(6), 1835-1850. <https://doi.org/10.1111/jpn.13454>
26. Haghighi, H. R., Gong, J., Gyles, C. L., Hayes, M. A., Sanei, B., Parvizi, P., Gisavi, H., Chambers, J. R., & Sharif, S. (2005). Modulation of antibody-mediated immune response by probiotics in chickens. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12(12), 1387-1392. <https://doi.org/10.1128/CDLI.12.12.1387-1392.2005>
27. He, T., Long, S., Mahfuz, S., Wu, D., Wang, X., Wei, X., & Piao, X. (2019). Effects of probiotics as antibiotics substitutes on growth performance, serum biochemical parameters, intestinal morphology, and barrier function of broilers. *Animals*, 9, 985-995. <https://doi.org/10.3390/ani9110985>
28. Huang, T., Peng, X. Y., Gao, B., Wei, Q. L., Xiang, R., Yuan, M. G., & Xu, Z. H. (2019). The effect of *Clostridium butyricum* on the gut microbiota, immune response and intestinal barrier function during the development of necrotic enteritis in chickens. *Frontiers Microbiology*, 10, 2309. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02309>
29. Jacquier, V., Nelson, A., Jiali, M., Rhayat, L., Brinch, K. S., & Devillard, E. (2019). *Bacillus subtilis* 29784 induces a shift in broiler gut microbiome toward butyrate producing bacteria and improves intestinal histomorphology and animal performance. *Poultry Science*, 98, 2548-2554. <https://doi.org/10.3382/ps/pey602>
30. Jadhav, K., Katoch, S., Sharma, K., & Mane, B. G. (2015). Probiotics in broiler poultry feeds: A review. *Journal of Animalal Nutrition Physiology*, 1, 4-16.
31. Jing, G. C., Jing, G., Sun, Z., Wang, H., Gong, Y., Huang, S., Ning, K., XU, J., & SU, X. (2017). Parallel META 3: Comprehensive taxonomical and functional analysis platform for efficient comparison of microbial communities. *Scientific Reports*, 7, 40371. <https://doi.org/10.1038/srep40371>
32. Khalid, A. H., Ullah, K. S., Naveed, S., Latif, F., Pasha, T. N., Hussain, I., & Qaisrani, S. N. (2021). Effects of spray dried yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth performance and carcass characteristics, gut health, cecal microbiota profile and apparent ileal digestibility of protein, amino acids and energy in broilers. *Tropical Animal Health and Production*, 53(5), 252-263. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02684-5>
33. Kulkarni, R. R., Gaghan, C., Gorrell, K., Sharif, S., & Taha-Abdelaziz, K. (2022). Probiotics as alternatives to antibiotics for the prevention and control of *Necrotic Enteritis* in chickens. *Pathogens*, 11(6), 692. <https://doi.org/10.3390/pathogens11060692>
34. Lajis, A. F. B. (2020). Biomanufacturing process for the production of bacteriocins from Bacillaceae family. *Bioresource Bioprocess*, 7(8). <https://doi.org/10.1186/s40643-020-0295-z>
35. Lei, X., Piao, X., Ru, Y., Zhang, H., Péron, A., & Zhang, H. (2015). Effect of *Bacillus amyloliquefaciens*-based direct-fed microbial on performance, nutrient utilization, intestinal morphology and cecal microflora in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 28(2), 239-246. <https://doi.org/10.5713/ajas.14.0330>
36. Li, Y. B., Xu, Q. Q., Yang, C. J., Yang, X., Lv, L., Yin, C. H., & Yan, H. (2014). Effects of probiotics on the growth performance and intestinal micro flora of broiler chickens. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27, 713-717.
37. Ma, K., Chen, W., Yan, S. Q., Liu, Z. Z., Lin, X. Q., Zhang, J. B., Gao, Y., Wang, T., Zhang, J. G., & Yang, Y. J. (2022). Purification, characterization, mode of action, and application of Jileicin, a novel antimicrobial from *Paenibacillus jilinensis* YPG26. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 70(18), 5570-5578. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c01458>

38. Ma, Y., Wang, W., Zhang, H., Wang, J., Zhang, W., Gao, J., Wu, S., & Qi, G. (2018). Supplemental *Bacillus subtilis* DSM 32315 manipulates intestinal structure and microbial composition in broiler chickens. *Science Reports*, 8, 15358. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33762-8>
39. Mahmood Tabar, A., Amir Karimi Torshizi, M., Sharafi, M., & Mozhgani, N. (2018). The effect of some poultry probiotics produced in Iran on performance parameters, economic indices and small intestinal morphology of broilers. *Iranian Journal of Animal Science*, 49(3), 415-425. (In Persion).
40. Mikulski, D. 1., Jankowski, J., Naczmanski, J., Mikulska, M., & Demey, V. (2012). Effects of dietary probiotic (*Pedococcus acidilactici*) supplementation on performance, nutrient digestibility, egg traits, egg yolk cholesterol, and fatty acid profile in laying hens. *Poultry science*, 91(10), 2691-2700. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02370>
41. Montagne, L., Pluske, J. R., & Hampson, D. H. (2003). A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Animal Feed Science Technology*, 108, 95-117. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(03\)00163-9](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00163-9)
42. Mookiah, S., Sieo, C. C., Ramasamy, K., Abdullah, N., & Ho, Y. W. (2014). Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance, caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(2), 341-348. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6365>
43. Nain, S. Renema, R. A., Zuidhof, M. J., & Korver, D. R. (2012). Effect of metabolic efficiency and intestinal morphology on variability in n-3 polyunsaturated fatty acid enrichment of eggs. *Poultry Science*, 91, 888-898. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01661>
44. Nakphaichit, M., Thanomwongwattana, S., Phraephaisarn, C., Sakamoto, N., Keawsompong, S., Nakayama, J., & Nitisinprasert, S. (2011). The effect of including *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5 during post-hatch feeding on the growth and ileum microbiota of broiler chickens. *Poultry Science*, 90(12), 2753-2765. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01637>
45. Ohimain, E. I., & Ofongo, R. T. (2012). The effect of probiotic and prebiotic feed supplementation on chicken health and gut microflora: a review. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(2), 135-143.
46. Rastad, A. H., Samie, A., & Daneshvar, F. (2008). Effect of Bactocell and dry whey on performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Journal of Crop Production and Processing*, 12(43), 473-480. (In Persion)
47. Rehman, A., Arif, M., Sajjad, N., Al-Ghadi, M. Q., Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., Alhimaidi, A. R., Elnesr, S. S., Almutairi, B. O., Amran, R. A.; Hussein, E. O. S., & Swelum, A. A. (2020). Dietary effect of probiotics and prebiotics on broiler performance, carcass, and immunity. *Poultry Science*, 99(12), 6946-6953. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.043>
48. Royan, M., Alaie Kordghashlaghi, H., Afraz, F., Hashemi, M., Vahidi, S. M. F., & Seighalani, R. (2017). Screening *Lactobacilli* isolates from Northern Iran Backyard chickens as bio-control strategy against *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 24(3), 423-430. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2017.19109>
49. Samanya, M., & Yamauchi, K. (2002). Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis*. var. natto. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 133, 95-104. [https://doi.org/10.1016/s1095-6433\(02\)00121-6](https://doi.org/10.1016/s1095-6433(02)00121-6)
50. Sarangi, N. R., Babu, L. K., Kumar, A., Pradhan, C. R., Pati, P. K., & Mishra, J. P. (2016). Effect of dietary supplementation of prebiotic, probiotic, and synbiotic on growth performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Veterinary World*, 9, 313-319. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.313-319>
51. Shokryazdan, P., Faseleh, M., Jahromi, J. B., Liang, K., Ramasamy, C. C., & Ho, Y. W. (2017). Effects of *Lactobacillus salivarius* mixture on performance, intestinal health and serum lipids of broiler chickens. *PLoS ONE*, 12(5), e0175959. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175959>
52. Soomro, R. N., Abd El-Hack, M. E., Shah, S. S., Taha, A. E., Alagawany, M., Swelum, A. A., Hussein, E. O. S., Ba-Aawdh, H. A., Saadeldin, I., El-Edel M. A., & Tufarelli, V. (2019). Impact of restricting feed and probiotic supplementation on growth performance, mortality and carcass traits of meat-type quails. *Animal Science Journal*, 90, 1388-1395. <https://doi.org/10.1111/asj.13290>
53. Terada, T., Nii, T., Isobe, N., & Yoshimura, Y. (2020). Effects of probiotics *Lactobacillus reuteri* and *Clostridium butyricum* on the expression of toll-like receptors, pro- and anti-inflammatory cytokines, and antimicrobial peptides in broiler chick intestine. *The Journal of Poultry Science*, 57(4), 310-318. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0190098>
54. Timmerman, H. M., Veldman, A., Van den Elsen, E., Rombouts, F. M., & Beynen, A. C. (2006). Mortality and growth performance of broilers given drinking water supplemented with chicken-specific probiotics. *Poultry Science*, 85(8), 1383-1388. <https://doi.org/10.1093/ps/85.8.1383>
55. Van Immerseel, F., Russell, J. B., Flythe, M. D., Gantois, I., Timmermont, L., Pasmans, F., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R. (2006). The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: A mechanistic explanation of the efficacy. *Avian Pathology*, 35(3), 182-188. <https://doi.org/10.1080/03079450600711045>
56. Van Zyl, W. F., Deane, S. M., & Dicks, L. M. T. (2020). Molecular insights into probiotic mechanisms of action employed against intestinal pathogenic bacteria. *Gut Microbes*, 12(1), 1831339.

- <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1831339>
57. Villena, J., Medina, M., Vintiñi, E., & Alvarez, S. (2008). Stimulation of respiratory immunity by oral administration of *Lactococcus lactis*. *Canadian Journal of Microbiology*, 54(8), 630-638. <https://doi.org/10.1139/W08-052>
 58. Zhang, Z. F., & Kim, I. H. (2014). Effects of multistrain probiotics on growth performance, apparent ileal nutrient digestibility, blood characteristics, cecal microbial shedding, and excreta odor contents in broilers. *Poultry Science*, 93(2), 364-370. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03314>
 59. Zhang, L., Zhang, R., Jia, H., Zhu, Z., Li, H., & Ma, Y. (2021). Supplementation of probiotics in water beneficial growth performance, carcass traits, immune function, and antioxidant capacity in broiler chickens. *Open Life Science*, 16, 311-322. <https://doi.org/10.1515/biol-2021-0031>



Reduction of Ascites Susceptibility in Broiler Chickens under Cold Stress by Guanidinoacetic Acid Supplementation

Mousa Ezatikia¹, Parviz Farhoomand², Sina Payvastegan^{3*}, Bahram Piruz⁴, Negin Delfani⁴

1, 2, 3 and 4- M.Sc. Graduated, Professor, Assistant Professor and Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, respectively

*Corresponding Author's Email: s.payvastegan@urmia.ac.ir

How to cite this article:

Received: 13-07-2024

Revised: 03-12-2024

Accepted: 13-01-2025

Available Online: 23-04-2025

Ezatikia, M., Farhoomand, P., Payvastegan, S., Piruz, B., & Delfani, N. (2025). Reduction of ascites susceptibility in broiler chickens under cold stress by guanidinoacetic acid supplementation. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(1), 93-105. (in Persian with English abstract).
<http://doi.org/10.22067/ijasr.2025.88919.1208>

Introduction: Arginine, as a precursor of nitric oxide, one of the main vasodilators, plays a significant role in inhibiting the pathogenesis of ascites (Khajali *et al.*, 2014). Adding arginine to the diet can increase endothelial nitric oxide synthase activity, subsequently increasing nitric oxide production and reducing hematocrit. By reducing blood viscosity and pulmonary vascular resistance, the right ventricle of the heart will require less force to pump blood to the organs (Delfani *et al.*, 2023). One of the most important applications of arginine in the body is its use in the production of guanidinoacetic acid, which is a precursor for creatine synthesis in the body (DeGroot *et al.*, 2018). Guanidinoacetic acid is produced during the transfer of the amidino group from the amino acid arginine to the amino acid glycine by the enzyme arginine-glycine amidinotransferase, along with the amino acid ornithine (Kodambashi Emami *et al.*, 2017; Asiriwardhana and Bertolo, 2022). Guanidinoacetic acid is the only precursor of creatine in the bodies of vertebrates (Kodambashi Emami *et al.*, 2017). Adding guanidinoacetic acid to the diet can conserve arginine by providing creatine, especially in young growing chicks that have a higher need for creatine for rapid muscle growth (Asiriwardhana and Bertolo, 2022). To ensure optimal growth performance and various physiological responses, sufficient amounts of arginine in the diet of birds are essential. However, the level of arginine required for optimal growth is not sufficient for the activity of macrophages and the pulmonary vascular epithelium to produce maximum nitric oxide (Khajali and Wideman, 2010). Despite the beneficial effects of arginine in reducing the incidence of pulmonary hypertension syndrome (Khajali and Wideman, 2010), arginine supplementation in the diet is costly. Using an alternative compound such as guanidinoacetic acid, due to its diverse effects and lower cost compared to creatine and arginine, is more desirable in the diet of broilers (Khajali and Lemme, 2020). Therefore, the aim of this study is to investigate the effects of replacing different levels of guanidinoacetic acid with arginine on performance, carcass characteristics, susceptibility to ascites, and some blood parameters of broilers reared under cold stress conditions.

Materials and Methods: A total of 200 male Ross 308 broiler chicks with an average weight of 42 ± 1.5 g were used. The chicks were individually weighed at 11 days of age and divided into 20 experimental units in such a way that there was no difference in the initial weight of the experimental units. The current study was conducted in a completely randomized design with 4 treatments, 5 replicates, and 10 chicks per replicate. The experimental period started at 12 days of age and lasted until 42 days of age. Body weight gain, feed intake, feed



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/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.2025.88919.1208>

conversion ratio, and ascites-related mortality were measured throughout the entire period (12-42 days of age). On day 42, one chick from each replicate (five chicks from each treatment) was randomly selected and slaughtered. Carcass components including carcass, breast, leg, and internal organs including heart, gizzard, pancreas, proventriculus, bursa, abdominal fat, pancreas, spleen, duodenum, jejunum, and ileum were weighed and their ratios to live weight were calculated. Additionally, after removing the heart, the right ventricle was separated from the septum between the ventricles. After washing, the weight of the right ventricle and total ventricles was measured using a digital scale with an accuracy of 0.001 g to calculate the ascites index. On day 41, blood samples were taken from the wing vein of two chicks per replicate (10 chicks from each treatment). The blood samples were placed in tubes containing the anticoagulant heparin. A portion of the blood samples was centrifuged at 2500 RPM for 10 minutes to separate the plasma for measuring nitric oxide levels, and the remaining samples were sent to the laboratory for analysis of blood characteristics including partial pressure of oxygen, partial pressure of carbon dioxide, pH, hemoglobin concentration, percentage of red blood cells, and red blood cell count. All data were analyzed using the ANOVA option of the general linear model of SAS software. Significant differences between treatment means were determined by Tukey's multiple range test. Differences in means were regarded as significant at $P < 0.05$.

Results and Discussion: The results of this experiment showed that supplementation with 0.5% arginine or 0.18% guanidinoacetic acid significantly improved feed conversion ratio compared to the control group. In addition to its role in preserving arginine and glycine for other metabolic pathways, guanidinoacetic acid plays a crucial role in nitric oxide synthesis and improves energy efficiency through ATP production via the creatine-phosphocreatine shuttle (Khalil *et al.*, 2021). Additionally, increasing the level of guanidinoacetic acid supplementation linearly increased breast muscle yield and decreased relative weights of the small intestine, duodenum, and ileum. Khajali and Wideman (2010) stated that increasing arginine availability resulting from adding guanidinoacetic acid to the diet promotes cell proliferation and protein synthesis, which plays an important role in improving carcass traits. Supplementing with 0.18% guanidinoacetic acid also led to reductions in relative heart weight and the ratio of right ventricle weight to total ventricles compared to the control group. Nitric oxide concentration also significantly increased with supplementation of 0.18% guanidinoacetic acid and 0.5% arginine compared to the control group. Arginine is an essential substrate for nitric oxide synthesis produced by endothelial cells lining blood vessels. Nitric oxide acts as a potent vasodilator, expanding smooth muscle cells of blood vessels and regulating or inhibiting the production of vasoconstrictors such as endothelin-1 and serotonin, thereby reducing pulmonary vascular resistance (Khajali *et al.*, 2011; Delfani *et al.*, 2023). Reduced synthesis and availability of nitric oxide are contributing factors to increased pulmonary hypertension (Fathima *et al.*, 2024). Hypoxic vasoconstriction of pulmonary arteries can be alleviated by increasing the synthesis of nitric oxide, which acts as a vasodilator (Khajali *et al.*, 2014).

Conclusion: Generally, the results of the current study indicate that guanidinoacetic acid can effectively substitute arginine in the diet of broiler chickens raised under cold stress conditions.

Keywords: Blood gasses, Carcass characteristics, Growth performance, Guanidinoacetic acid, Nitric oxide

کاهش حساسیت به آسیت در جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی با مکمل‌سازی اسید گوانیدینواستیک

موسی عزتی کیا^۱، پرویز فره‌مند^۲، سینا پیوستگان^{۳*}، بهرام پیروز^۴، نگین دلفانی^۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۴

چکیده

به‌منظور بررسی اثرات سطوح مختلف اسید گوانیدینواستیک بر عملکرد، خصوصیات لاشه، اوزان نسبی اندام‌های داخلی و حساسیت به آسیت در جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی، ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس-۳۰۸-۱ بر قالب طرح کاملاً تصادفی به چهار تیمار، پنج تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار اختصاص یافتند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره پایه بدون افزودنی به‌عنوان شاهد ۲- جیره شاهد + ۰/۵ درصد آرژنین ۳- جیره شاهد + ۰/۹ + ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک و ۴- جیره شاهد + ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک بودند. جهت القاء تنش سرمایی، از روز یازدهم تا انتهای آزمایش (۴۲ روزگی) دمای سالن به 16 ± 1 درجه سانتی‌گراد کاهش داده شد. نتایج این آزمایش نشان داد که مکمل‌سازی سطح ۰/۵ درصد آرژنین یا سطح ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک در مقایسه با گروه شاهد شد. همچنین افزایش سطح مکمل‌سازی اسید گوانیدینواستیک موجب افزایش خطی بازده عضله سینه و کاهش خطی اوزان نسبی روده باریک، دوازدهه و ایلئوم شد. مکمل‌سازی سطح ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک موجب کاهش وزن نسبی قلب و نسبت وزن بطن راست به مجموع بطن‌ها در مقایسه با گروه شاهد شد. غلظت نیتریک اکسید نیز با مکمل‌سازی سطح ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک و سطح ۰/۵ درصد آرژنین در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌دار یافت. همچنین کاهش خطی در تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین نیز به‌دنبال افزایش سطح مکمل‌سازی اسید گوانیدینواستیک مشاهده شد. به‌طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اسید گوانیدینواستیک می‌تواند به‌طور مؤثری جایگزین آرژنین در جیره جوجه‌های گوشتی پرورش‌یافته تحت تنش سرمایی شود.

واژه‌های کلیدی: اسید گوانیدینواستیک، اکسید نیتریک، خصوصیات لاشه، عملکرد رشد، گازهای خون

مقدمه

شده است. رشد سریع و دمای پایین محیط منجر به افزایش نرخ متابولیسم می‌شود که در نتیجه آن نیاز به اکسیژن بالا می‌رود. ناهماهنگی بین تقاضای اکسیژن و تأمین اکسیژن منجر به کاهش عرضه یا دسترسی اکسیژن به بافت‌های بدن می‌شود (Delfani et al., 2023). دانشیار و همکاران (Daneshyar et al., 2009) نشان دادند که مواجهه با تنش سرمایی، نسبت بطن راست به مجموع بطن‌ها و تلفات ناشی از آسیت را در جوجه‌های گوشتی افزایش می‌دهد.

آرژنین به‌عنوان پیش‌ساز نیتریک اکسید که (از اصلی‌ترین گشادکننده‌های عروق) نقش مهمی در مهار پاتوژنز عارضه آسیت دارد (Khajali et al., 2014). افزودن ال-آرژنین به جیره می‌تواند باعث افزایش فعالیت نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی و متعاقباً افزایش تولید نیتریک اکسید و کاهش هماتوکریت شود. با کاهش ویسکوزیته خون

امروزه با افزایش سرعت رشد، کوتاه شدن دوره پرورش و بهبود راندمان خوراک در جوجه‌های گوشتی، زمینه برای بروز ناهنجاری‌های متابولیکی فراهم شده است. آسیت یکی از مهم‌ترین ناهنجاری‌های متابولیکی می‌باشد که ناشی از افزایش مصرف مواد مغذی است و می‌تواند تا پنج درصد نیز تلفات ایجاد کند (Motallebi et al., 2022). آسیت که به‌عنوان سندروم فشارخون ریوی نیز شناخته می‌شود، در جوجه‌های گوشتی با رشد سریع در سراسر جهان مشاهده

۱، ۲، ۳ و ۴- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد، استادیار و دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
(*)- نویسنده مسئول: s.payvastegan@urmia.ac.ir (Email:)

مواد و روش‌ها

پرورش و جیره‌های آزمایشی

تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ با میانگین وزنی $42 \pm 1/5$ گرم استفاده شد. جوجه‌ها در سن ۱۱ روزگی به صورت انفرادی وزن و بین ۲۰ واحد آزمایشی (با میانگین وزن اولیه یکسان) تقسیم شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار، پنج تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار انجام شد. دوره آزمایشی از ۱۲ روزگی آغاز و تا سن ۴۲ روزگی به طول انجامید. در طول دوره پرورش، جوجه‌ها به آب و خوراک به صورت آزاد دسترسی داشتند. برنامه نوردهی به صورت ۲۳ ساعت روشنائی و یک ساعت تاریکی اعمال شد. دمای سالن در هنگام ورود جوجه‌ها به سالن ۳۱-۳۲ درجه سانتی‌گراد بود. جهت القاء تنش سرمایی، از روز یازدهم تا انتهای آزمایش (۴۲ روزگی) دمای سالن به 16 ± 1 درجه سانتی‌گراد کاهش یافته و حفظ شد. جیره‌های آزمایشی عبارت بودند از: ۱- جیره پایه بدون افزودنی به عنوان شاهد ۲- جیره شاهد به همراه ۰/۵ درصد آرژنین ۳- جیره شاهد به همراه ۰/۰۹ درصد اسید گوانیدینوآستیک ۴- جیره شاهد به همراه ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینوآستیک. جیره‌های آزمایشی بر پایه ذرت - کنجاله سویا و توسط نرم‌افزار جیره‌نویسی WUFFDA براساس اسیدآمینه قابل هضم تنظیم شدند. مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ نشان داده شده است. مکمل اسید گوانیدینوآستیک مورد استفاده در این آزمایش از شرکت ایوانیک دگوسا ایران تهیه شد. آرژنین مورد استفاده در این آزمایش نیز ساخت شرکت مرک و با درصد خلوص ۹۹ درصد بود.

صفات مورد بررسی

در طول دوره ۴۲ روزه آزمایش، جوجه‌ها در سنین ۱۱ و ۴۲ روزگی پس از چهار ساعت گرسنگی (جهت حذف خطای ناشی از پر بودن دستگاه گوارش) و خوراک مصرفی مربوط به هر پن به صورت گروهی توزین شدند. طی دوره پرورش، تلفات کالبدشکافی شده و تلفات ناشی از آسیب مورد بررسی قرار گرفتند. تلفات ناشی از آسیب تجمع مایعات در آبشامه قلب و حفره شکمی و همچنین نسبت بطن راست به مجموع بطن‌ها بالاتر از ۰/۲۵ تعیین شد (Varmaghany et al., 2015; Kodambashi Emami et al., 2017). افزایش وزن بدن، خوراک مصرفی، ضریب تبدیل خوراک و تلفات ناشی از آسیب در کل دوره (۴۲-۱۱ روزگی) اندازه‌گیری شد. شاخص کارایی تولید اروپایی نیز مطابق معادله ذکر شده محاسبه شد: شاخص کارایی تولید = (درصد زنده‌مانی × میانگین وزن (کیلوگرم)) / (ضریب تبدیل غذایی × تعداد روزهای پرورش) × ۱۰۰. در سن ۴۲ روزگی (روز ۳۱ آزمایش) از

و مقاومت عروق ریوی، بطن راست قلب جهت پمپاژ خون به سمت اندام‌ها به نیروی کمتری نیاز خواهد داشت (Delfani et al., 2023). مکمل‌سازی ۱۰ گرم در کیلوگرم آرژنین در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش غلظت نیتریک اکسید سرم، کاهش هماتوکریت و کاهش نسبت وزن بطن راست به کل بطن شد (Khajali et al., 2014).

از مهم‌ترین کاربردهای آرژنین در بدن، استفاده جهت تولید اسید گوانیدینوآستیک می‌باشد که پیش‌ساز ساخت کراتین در بدن است (DeGroot et al., 2018). اسید گوانیدینوآستیک طی انتقال گروه آمیدینو از اسیدآمینه آرژنین به اسیدآمینه گلايسین توسط آنزیم آرژنین-گلايسین آمیدینوترانسفراز به همراه اسیدآمینه اورنیتین ساخته می‌شود (Asiriwardhana Kodambashi Emami et al., 2017; and Bertolo, 2022). اسید گوانیدینوآستیک تنها پیش‌ساز فوری کراتین در بدن جانوران مهره‌دار می‌باشد (Kodambashi Emami et al., 2017). افزودن اسید گوانیدینوآستیک به جیره می‌تواند از طریق تأمین کراتین به‌ویژه در جوجه‌های جوان در حال رشد که نیاز بیشتری به کراتین جهت رشد سریع عضلات خود دارند، باعث صرفه‌جویی در مصرف آرژنین شود (Asiriwardhana and Bertolo, 2022). مطالعات نشان داده است که فراهمی کراتین و یا اسید گوانیدینوآستیک موجب کاهش نیاز به استفاده از آرژنین در مسیر سنتز کراتین شده و لذا آرژنین می‌تواند در مسیرهای متابولیک دیگر مانند سنتز نیتریک اکسید مورد استفاده قرار گیرد (Khajali and Wideman, 2010; Delfani et al., 2023).

برای تضمین عملکرد مطلوب رشد و پاسخ‌های فیزیولوژیک مختلف، وجود مقادیر کافی آرژنین در جیره پرندگان الزامی است. باین‌حال، سطح آرژنین مورد نیاز برای رشد مطلوب جهت فعالیت ماکروفازها و اپیتلیوم عروقی - ریوی جهت تولید حداکثر نیتریک اکسید کافی نیست (Khajali and Wideman, 2010). علی‌رغم اثرات سودمندی که آرژنین بر کاهش بروز سندرم فشارخون ریوی دارد (Khajali and Wideman, 2010)، مکمل‌سازی آرژنین در جیره پرهزینه است و استفاده از ترکیب جایگزین مانند اسید گوانیدینوآستیک به علت اثرات متنوع و همچنین قیمت پایین‌تر نسبت به کراتین و آرژنین در جیره جوجه‌های گوشتی مطلوب‌تر است (Khajali and Lemme, 2020). لذا هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثرات جایگزینی سطوح مختلف اسید گوانیدینوآستیک با آرژنین بر عملکرد، خصوصیات لاشه، حساسیت به آسیب و برخی فراستجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی پرورش‌یافته تحت شرایط تنش سرمایی می‌باشد.

کلیه داده‌های حاصل از این آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی توسط رویه GLM نرم‌افزار SAS آنالیز و مقایسه میانگین‌ها برای هریک از صفات براساس آزمون توکی و در سطح پنج درصد انجام شد. مدل آماری برای داده‌های تک مشاهده به صورت زیر بود.

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

که در آن، Y_{ij} : مقدار صفت مورد نظر، μ : میانگین کل، T_i : اثر سطح i ام اسید گوانیدینواستیک و e_{ij} : اثر خطای آزمایشی یا عوامل ناشناخته در هر مشاهده است. مدل آماری برای داده‌های چند مشاهده‌ای نیز به صورت زیر بود.

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + e_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad \text{معادله (۲)}$$

که در آن، Y_{ijk} : مقدار صفت مورد نظر، μ : میانگین کل، T_i : اثر سطح i ام اسید گوانیدینواستیک، e_{ij} : اثر خطای آزمایشی یا عوامل ناشناخته در هر مشاهده و ε_{ijk} : اثر خطای نمونه‌برداری است. به علاوه برای بررسی روند پاسخ تمام متغیرها به اثر سطوح افزایشی اسید گوانیدینواستیک، مقایسات چندجمله‌ای متعامد توسط رویه GLM نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

عملکرد

نتایج صفات عملکردی و تلفات ناشی از آسیت طی دوره ۱۲-۴۲ روزگی در جدول ۲ ارائه شده است. مصرف خوراک و افزایش وزن بدن تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P > 0.05$)، اما ضریب تبدیل خوراک با مکمل‌سازی سطح ۰/۵ درصد آرژنین و سطح ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک به طور معنی‌داری بهبود یافت ($P < 0.05$). شاخص کارایی تولید اروپایی نیز با مکمل‌سازی آرژنین و اسید گوانیدینواستیک در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت ($P < 0.05$). همچنین مقایسات چندجمله‌ای متعامد نیز نشان‌دهنده کاهش خطی ضریب تبدیل خوراک به دنبال افزایش سطوح مکمل-سازی اسید گوانیدینواستیک در جیره بود. روند پاسخ در شاخص کارایی تولید اروپایی به سطوح افزایشی مکمل‌سازی اسید گوانیدینواستیک نیز به شکل افزایش خطی ($P < 0.05$) و درجه دوم ($P < 0.01$) بود. در مطالعه حاضر، تلفات آسیت نیز با مکمل‌سازی سطح ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک و ۰/۵ درصد آرژنین در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت ($P < 0.01$). آنالیز رگرسیون نیز حاکی از کاهش خطی تلفات آسیت با افزایش سطح مکمل‌سازی اسید گوانیدینواستیک در جیره بود ($P < 0.05$).

تنش سرمایی از تنش‌های محیطی بسیار تأثیرگذار در بروز آسیت و کاهش عملکرد در صنعت پرورش جوجه‌های گوشتی می‌باشد (Asiriwardhana and Bertolo, 2022). اثرات مطلوب آرژنین بر بهبود بازده مصرف خوراک در شرایط طبیعی پرورش گزارش شده

هر تکرار یک جوجه (پنج جوجه از هر تیمار) به طور تصادفی انتخاب و کشتار شد و اجزای لاشه شامل لاشه آماده طبخ، سینه، ران و اندام‌ها شامل قلب، سنگدان، پانکراس، پیش‌معه، بورس فابریسیوس، چربی حفره شکمی، پانکراس، طحال، دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم توزین و نسبت به وزن زنده محاسبه شد. همچنین پس از جدا کردن عروق بزرگ، دهلیزها و چربی‌های اطراف قلب، بطن راست از محل اتصال به دیواره بین دو بطن جدا و پس از شست‌وشوی با آب معمولی، جهت محاسبه شاخص آسیت، وزن بطن راست و کل بطن‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

در روز ۴۱، خون‌گیری از ورید بال از دو جوجه در هر تکرار (۱۰ جوجه از هر تیمار) انجام گرفت. نمونه‌های خون درون لوله حاوی ماده ضدانعقاد هپارین ریخته و بخشی از نمونه‌های خون گرفته شده جهت جداسازی پلاسما خون به منظور اندازه‌گیری میزان نیتریک اکسید در RPM ۲۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و مابقی جهت بررسی خصوصیات خون شامل فشار جزئی اکسیژن، فشار جزئی دی‌اکسید کربن، pH، غلظت هموگلوبین، درصد گلبول‌های قرمز در خون و تعداد گلبول‌های قرمز به آزمایشگاه منتقل شدند. غلظت پلاسمایی نیتریک اکسید به وسیله دستگاه الیزا مطابق با دستورالعمل ارائه شده کیت تشخیصی تجاری اندازه‌گیری شد (NatrixTM, West Azerbaijan, Iran). فراسنجه‌های مربوط به گازهای خون (فشار جزئی اکسیژن، فشار جزئی دی‌اکسید کربن، غلظت دی‌اکسید کربن، غلظت بی‌کربنات، pH) نیز توسط دستگاه ارزیابی‌کننده خون اندازه‌گیری شد (Nova Biomedical Blood Gas Analyzer, Phox Plus Diamond Dagnostics Inc, USA). اندازه‌گیری غلظت هموگلوبین نیز به روش رنگ‌سنجی (سیانومت هموگلوبین) با استفاده از کیت زیست‌شیمی انجام گرفت. به منظور اندازه‌گیری درصد گلبول‌های قرمز در خون، لوله‌های موئین حاوی خون با سه تکرار برای هر پرنده به مدت سه دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سپس با استفاده از خط‌کش مخصوص، درصد گلبول‌های قرمز در خون تعیین شد. تعداد گلبول‌های قرمز نیز با استفاده از لام هماسیتومتر شمارش و در نهایت به صورت ضربی از 10^6 در هر میکرولیتر خون بیان شد.

آنالیز آماری

فرض نرمال بودن توزیع داده‌ها و باقیمانده داده‌ها توسط رویه UNIVARIATE نرم‌افزار SAA بررسی شد. همچنین با استفاده از آزمون‌های بارتلت، لوین، براون-فورست و اوبرین (رویه GLM و امکان HOVTEST در فرمان MEANS) یکنواختی واریانس‌های داخل گروهی نیز مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های تلفات آسیت که از توزیع نرمال انحراف داشتند، با تبدیل داده لگاریتمی نرمال شدند.

2019) نیز نشان دادند که مکمل سازی سطح ۰/۱۵ درصد اسید گوانیدینواستیک موجب کاهش تلفات ناشی از آسیت در جوجه های گوشتی گردید. همچنین در مطالعه دیگری، دلفانی و همکاران (Delfani et al., 2024) نیز گزارش نمودند که مکمل سازی سطح ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک موجب کاهش تلفات آسیت در جوجه های گوشتی تغذیه شده با جیره بر پایه کنجاله کانولا و پرورش یافته تحت تنش سرمایی گردید. افزایش سطح نیتریک اکسید در پلاسما نقش مهمی در مقابله با انقباض و کاهش مقاومت عضلات صاف عروق ریوی ایفا می کند و لذا می تواند با کاهش فشار خون ریوی از حساسیت به بروز آسیت بکاهد (Kodambashi Emami et al., 2017; Delfani et al., 2023a).

خصوصیات لاشه، اوزان نسبی اندام های داخلی بدن و

خصوصیات روده باریک

نتایج مربوط به خصوصیات لاشه، اوزان نسبی اندام های داخلی بدن و خصوصیات روده باریک جوجه های گوشتی تحت تنش سرمایی به ترتیب در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است. مطابق با نتایج مطالعه حاضر، مکمل سازی سطح ۰/۵ درصد آرژنین و سطوح ۰/۰۹ و ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک در جیره بر بازده لاشه، ران و سینه و اوزان نسبی چربی حفره شکمی، سنگدان، پیش معده، پانکراس، کبد و بورس اثر معنی داری نداشت ($P>0.05$). وزن نسبی طحال به دنبال مکمل سازی سطح ۰/۵ درصد آرژنین در جیره نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت ($P<0.05$). نتایج آزمایش در ارتباط با خصوصیات روده باریک حاکی از کاهش معنی دار وزن نسبی روده باریک ($P<0.01$) و ژژنوم ($P<0.05$) در پرندگان تغذیه شده با جیره های حاوی سطوح ۰/۵ درصد آرژنین یا ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک در مقایسه با گروه شاهد بود. وزن نسبی دئودنوم نیز با مکمل سازی سطح ۰/۵ درصد آرژنین نسبت به تیمارهای شاهد و ۰/۰۹ درصد اسید گوانیدینواستیک کاهش یافت ($P<0.01$). همچنین مکمل سازی سطح ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک نیز موجب کاهش معنی دار وزن نسبی دئودنوم در مقایسه با گروه شاهد شد ($P<0.01$). به علاوه مکمل سازی آرژنین و اسید گوانیدینواستیک موجب کاهش معنی دار وزن نسبی ایلئوم شد ($P<0.05$). همچنین نتایج آنالیز رگرسیون نیز بیان کننده کاهش خطی اوزان نسبی روده باریک ($P<0.01$)، دئودنوم ($P<0.05$)، ایلئوم ($P<0.05$)، طحال ($P<0.05$)، و افزایش خطی بازده سینه ($P<0.05$) به دنبال افزایش سطح مکمل سازی اسید گوانیدینواستیک در جیره جوجه های گوشتی پرورش یافته تحت شرایط تنش سرمایی بود.

است (Brugaletta et al., 2023; Oliveira et al., 2022). در ارتباط با مکمل سازی اسید گوانیدینواستیک موافق با نتایج مطالعه حاضر، بونی و همکاران (Boney et al., 2020) مشاهده کردند که مکمل سازی سطح ۰/۶ گرم در کیلوگرم اسید گوانیدینواستیک موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک در جوجه های گوشتی طی ۱-۴۲ روزگی شد، ولی افزایش وزن بدن و مصرف خوراک تحت تأثیر افزودن اسید گوانیدینواستیک قرار نگرفتند. بهبود ضریب تبدیل خوراک جوجه های گوشتی بدون تغییر میزان مصرف خوراک و افزایش وزن بدن به دنبال مکمل سازی سطوح ۰/۶ و ۱/۲ گرم در کیلوگرم اسید گوانیدینواستیک در مطالعه خلیل و همکاران (Khalil et al., 2021) طی ۱-۴۲ روزگی نیز گزارش شده است. در مطالعه شارما و همکاران (Sharma et al., 2022) نیز ضریب تبدیل خوراک با مکمل سازی سطوح یک و دو گرم در کیلوگرم اسید گوانیدینواستیک کاهش یافت. علاوه بر اینکه اسید گوانیدینواستیک قادر به حفظ آرژنین و گلايسین برای مسيرهای متابولیک دیگر بوده و همچنین نقش مهمی در سنتز نیتریک اکسید بر عهده دارد، کارایی استفاده از انرژی را نیز از طریق تأمین ATP به واسطه شاتل کراتین-فسفو کراتین بهبود می بخشد که در نهایت موجب به حداکثر شدن عملکرد رشد جوجه های گوشتی می شود (Khalil et al., 2021). در مطالعه دیگری، بهبود ضریب تبدیل خوراک ایجاد شده به دنبال مکمل سازی اسید گوانیدینواستیک در جیره جوجه های گوشتی را به کاهش کالری مصرفی به ازای هر کیلوگرم افزایش وزن بدن و یا لاشه ارتباط دادند (Mousavi et al., 2012). هگر و همکاران (Heger et al., 2014) نیز مشاهده نمودند که اسید گوانیدینواستیک موجب بهبود کارایی استفاده از انرژی متابولیسمی ظاهری تصحیح شده براساس ازت در جوجه های گوشتی می شود. با توجه مطالب فوق و کاهش عددی مصرف خوراک در این آزمایش، علت بهبود بازده خوراک با مکمل سازی سطح ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک را می توان به افزایش کارایی مصرف خوراک نیز ارتباط داد. شاخص کارایی تولید اروپایی در مطالعه چنسيز و همکاران (Çenesiz et al., 2020) نیز به دنبال مکمل سازی سطح ۰/۶ گرم در کیلوگرم اسید گوانیدینواستیک در جوجه های گوشتی بهبود یافت، که موافق با نتایج مطالعه حاضر می باشد. ماجدیان و همکاران (Majdeddin et al., 2020) نیز افزایش شاخص کارایی تولید اروپایی را با مکمل سازی سطح ۱/۲ گرم در کیلوگرم اسید گوانیدینواستیک در جیره جوجه های گوشتی مشاهده نمودند. با توجه به بهبود ضریب تبدیل خوراک به همراه کاهش درصد تلفات ناشی از آسیت در جوجه های گوشتی تغذیه شده با جیره مکمل شده با اسید گوانیدینواستیک، افزایش شاخص کارایی تولید اروپایی نیز قابل انتظار بود. در راستای کاهش تلفات آسیت با مکمل سازی اسید گوانیدینواستیک در مطالعه حاضر، فرجی و همکاران (Faraji et al.,

جدول ۱- مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های پایه (%)

Table 1- Ingredients and chemical composition of basal diets (%)

ماده خوراکی Ingredients	آغازین (۱-۱۰ روزگی) Starter (1-10 d)	رشد (۱۱-۲۴ روزگی) Grower (11-24 d)	پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) Finisher (25-42 d)
ذرت Corn	55.75	50.49	62.87
کنجاله سویا (۴۵ درصد پروتئین) Soybean meal (45% CP)	38.89	35.51	30.56
روغن سویا Soybean oil	0.72	1.82	2.07
دی کلسیم فسفات DiCalcium phosphate	2.38	2.13	1.93
کربنات کلسیم Calcium carbonate	0.80	0.74	0.68
مکمل ویتامینه ^۱ Vitamin premix	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی ^۲ Mineral premix	0.25	0.25	0.25
نمک Salt	0.34	0.34	0.34
ال- لیزین هیدروکلرید L- lysine HCL	0.19	0.13	0.13
دی- ال- متیونین DL- methionine	0.32	0.27	0.24
ال- ترئونین L- threonine	0.12	0.08	0.06

ترکیب مواد مغذی محاسبه‌شده (درصد)

Calculated nutrient composition (%)

انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg)	2900	3000	3100
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	22.23	20.81	18.89
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.93	0.84	0.77
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorous (%)	0.46	0.42	0.36
آرژنین (درصد) Arginine (%)	1.36	1.27	1.13
لیزین (درصد) Lysine (%)	1.24	1.11	1.00
متیونین + سیستین (درصد) Methionine + cysteine (%)	0.92	0.84	0.78
(میلی اکی والان در کیلوگرم) تعادل الکترولیتی Dietary electrolytes balance (mEq/kg)	233	221	190

^۱ هر کیلوگرم مکمل ویتامینی شامل: ۳۶۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۸۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۷/۲ گرم ویتامین E، ۰/۸ گرم ویتامین K، ۰/۷ گرم ویتامین B₁، ۲/۶۴ گرم ویتامین B₂، ۱۱/۸۸ گرم ویتامین B₃، ۳/۹۲ گرم کلسیم پنتوتات، ۱/۱۷۶ گرم ویتامین B₆، ۰/۴ گرم ویتامین B₉، ۶ میلی‌گرم ویتامین B₁₂ و ۴۰ میلی‌گرم H₂.^۲ هر کیلوگرم مکمل معدنی شامل: ۱۰۰ گرم کولین کلراید، ۳۹/۶۸ گرم منگنز (اکسید)، ۳۳/۸۸ گرم روی، ۲۰ گرم آهن، ۴ گرم مس، ۰/۳۹ گرم ید، ۰/۰۸ گرم سلنیوم.

^۱ Every kilogram vitamin supplement containing: vitamin A, 3600000 IU; vitamin D₃, 800000 IU; vitamin K, 0.8 g; vitamin B₁, 0.7 g; vitamin B₂, 2.64 g; D- calcium pantothenate, 3.92 g; vitamin B₆, 1.176 g; vitamin B₉, 0.4 g; vitamin B₁₂, 6 mg; H₂, 40 mg.

^۲ Every kilogram mineral supplement containing: choline chloride, 100g; manganese (oxide), 39.68 g; Zinc, 33.88 g; iron, 20 g; copper, 4 g; iodine, 0.396 g and selenium, 0.08 g.

جدول ۲- اثرات جیره‌های آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی طی ۱۱-۴۲ روزگی

Table 2- The effect of experimental diets on performance in broiler chickens under cold stress during 11-42 d

متغیرها Variables	تیمارها ^۱ Treatments ¹				خطای معیار میانگین SEM	سطح احتمال P-value	مقایسه‌های چندجمله‌ای متعامد Orthogonal polynomial contrasts	
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4			اثر خطی Linear	اثر درجه دوم Quadratic
مصرف خوراک (گرم) Feed intake (g)	4350	3849	3936	3952	201.74	0.332	0.204	0.418
افزایش وزن بدن (گرم) Body weight gain (g)	1857	2029	1972	2025	76.37	0.374	0.096	0.708
ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	2.34 ^a	1.91 ^b	1.99 ^{ab}	1.95 ^b	0.088	0.013	0.003	0.136
شاخص کارایی تولید اروپایی European production efficiency factor	162.11 ^b	264.83 ^a	290.53 ^a	257.21 ^a	21.34	0.011	0.013	0.008
تلفات (درصد) Mortality (%)	32.50 ^a	15.00 ^b	25.00 ^{ab}	17.00 ^b	3.18	0.007	0.010	0.880

a,b میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ردیف، دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).^۱ تیمار ۱: شاهد، تیمار ۲: شاهد + ۰/۵ درصد آرژنین، تیمار ۳: شاهد + ۰/۰۹ درصد اسید گوانیدینواسیتیک و تیمار ۴: شاهد + ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواسیتیک.a,b Means within a row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).¹ T1: control, T2: control + 0.5% arginine, T3: control + 0.09% guanidinoacetic acid, and T4: control + 0.18% guanidinoacetic acid.

Wideman, 2010) نیز بیان داشتند که افزایش دسترسی به آرژنین ناشی از افزودن اسید گوانیدینواسیتیک در جیره موجب افزایش تکثیر سلولی و سنتز پروتئین می‌شود که نقش مهمی در بهبود صفات لاشه خواهد داشت. کاهش وزن نسبی روده باریک، دئودنوم و ژژنوم با مکمل‌سازی اسید گوانیدینواسیتیک در جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی در مطالعه دلفانی و همکاران (Delfani et al., 2023) نیز گزارش شده است، که آن را به بهبود ظرفیت جذبی و وضعیت ریخت‌شناسی بافت پوششی روده باریک پرندگان تغذیه‌شده با اسید گوانیدینواسیتیک ارتباط دادند. همچنین تغییرات مشاهده‌شده در اوزان نسبی بخش‌های مختلف روده باریک را می‌توان به اثر صرفه‌جویی اسید گوانیدینواسیتیک در کاهش نیاز به آرژنین برای سنتز کراتین و در نتیجه افزایش در دسترس بودن آرژنین برای سایر مسیرهای متابولیک نسبت داد. علاوه‌براین، اسید گوانیدینواسیتیک موجود در جیره با جذب از روده کوچک به کراتین تبدیل می‌شود. گلاور و همکاران (Glover et al., 2013) دریافتند که مکمل کراتین در خوراک به‌واسطه افزایش انرژی سلول‌های بافت پوششی باعث بهبود بازسازی بافت پوششی روده و التهابات مخاطی می‌شود. علاوه‌براین، اسید گوانیدینواسیتیک می‌تواند تأمین انرژی برای تکثیر سلولی و سنتز پروتئین از طریق سایر متابولیت‌های مرتبط با انرژی مانند فسفوکراتین و ATP را افزایش دهد.

میچلیس و همکاران (Michiels et al., 2012) در مطالعه‌ای با افزودن سطوح صفر، ۰/۶ و ۱/۲ گرم در کیلوگرم اسید گوانیدینواسیتیک در جیره‌های بر پایه ذرت-سویا مشاهده کردند که بازده عضله سینه با افزایش سطح مکمل‌سازی اسید گوانیدینواسیتیک به شکل خطی افزایش یافت. آل صاحب فصول و همکاران (Ale Saheb Fosoul et al., 2019) نیز افزایش خطی بازده سینه را به دنبال مکمل‌سازی سطوح افزایشی اسید گوانیدینواسیتیک (صفر، ۰/۶، ۱/۲ و ۱/۸ درصد) در جوجه‌های گوشتی جوان گزارش کردند. دگروت و همکاران (DeGroot et al., 2018) افزایش در نسبت فسفوکراتین و ATP عضله سینه را در پاسخ به مکمل‌سازی اسید گوانیدینواسیتیک در سطوح ۰/۰۶ و ۰/۱۲ درصد مشاهده نمودند. مکمل‌سازی اسید گوانیدینواسیتیک احتمالاً می‌تواند منجر به بهبود هموستازی انرژی در سلول‌های عضلانی شود که خود موجب بهبود بازده عضله می‌شود. دلیل دیگر بهبود خطی بازده سینه احتمالاً صرفه‌جویی در مصرف آرژنین به‌واسطه مکمل‌سازی اسید گوانیدینواسیتیک می‌باشد که آرژنین بیشتری برای مسیرهای دیگر مانند سنتز پروتئین در دسترس قرار خواهد داد (Delfani et al., 2023). نقش آرژنین در تحریک مسیر کمپلکس یک راپاماسین هدف پستانداران که موجب افزایش سنتز پروتئین و کاهش تجزیه پروتئین می‌شود، معین شده است (Oliveira et al., 2022). همچنین میچلیس و همکاران (Michiels et al., 2012) گزارش کردند که مکمل‌سازی اسید گوانیدینواسیتیک موجب افزایش غلظت پلاسمایی هورمون رشد شبه انسولین ۱ شد که موجب رشد بهینه ماهیچه‌ها می‌شود. خواجلی و ویدمن (Khajali and

حساسیت به آسیت و تلفات ناشی از آسیت

نتایج مربوط به حساسیت به آسیت شامل وزن نسبی قلب، نسبت وزن بطن راست به مجموع بطن‌ها، غلظت نیتریک اکسید پلاسما، گازهای خون و صفات خون‌شناسی در سن ۴۲ روزگی در **جدول ۵** ارائه گردیده است. وزن نسبی قلب با مکمل‌سازی آرژنین و اسید گوانیدینواسیتیک به شکل معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت ($P < 0.05$). همچنین نسبت وزن بطن راست به مجموع وزن دو بطن نیز به دنبال مکمل‌سازی سطح ۰/۵ درصد آرژنین یا سطح ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواسیتیک نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت ($P < 0.01$). مکمل‌سازی سطح ۰/۵ درصد آرژنین و سطوح ۰/۰۹ و ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواسیتیک بر فشار جزئی اکسیژن، فشار جزئی دی‌اکسید کربن و pH خون اثر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های مکمل‌سازی‌شده با سطح ۰/۵ درصد آرژنین و یا ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواسیتیک از غلظت

نیتریک اکسید بالاتری نسبت به گروه شاهد برخوردار بودند ($P < 0.01$). درصد گلبول‌های قرمز خون، تعداد گلبول‌های قرمز خون و غلظت هموگلوبین تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P > 0.05$). با این حال، تلفات ناشی از آسیت با مکمل‌سازی سطح ۰/۵ درصد آرژنین و سطح ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواسیتیک به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.01$).

همچنین طی انجام آنالیز رگرسیون نیز مشخص شد که با افزایش سطح مکمل‌سازی اسید گوانیدینواسیتیک در جیره جوجه‌های گوشتی پرورش‌یافته تحت تنش سرمایی، pH خون و غلظت نیتریک اکسید پلاسما به شکل خطی افزایش ($P < 0.05$)، و وزن نسبی قلب، نسبت وزن بطن راست به مجموع بطن‌ها ($P < 0.01$)، غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و تلفات ناشی از آسیت به شکل خطی کاهش یافت ($P < 0.05$).

جدول ۳- اثرات جیره‌های آزمایشی بر خصوصیات لاشه و اوزان نسبی اندام‌های داخلی (درصدی از وزن بدن) جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی در سن ۴۲ روزگی

Table 3- Effects of experimental diets on carcass characteristics and relative weights of internal organs (percentage of body weight) in broiler chickens under cold stress at 42 days of age

متغیرها Variables	تیمارها ^۱ Treatments ¹				خطا معیار میانگین SEM	سطح احتمال P-value	مقایسه‌های چندجمله‌ای متعامد Orthogonal polynomial contrasts	
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4			اثر خطی Linear	اثر درجه دوم Quadratic
لاشه (%) Carcass (%)	63.08	64.63	63.94	65.88	1.040	0.315	0.119	0.715
ران (%) Thigh (%)	18.84	19.88	19.38	20.50	0.809	0.531	0.227	0.799
سینه (%) Breast	25.45	27.14	26.41	28.96	0.918	0.087	0.035	0.547
چربی شکمی (%) Abdominal fat	1.32	1.15	1.06	1.21	0.074	0.152	0.219	0.017
سنگدان (%) Gizzard (%)	1.49	1.46	1.46	1.48	0.103	0.992	0.943	0.801
پیش‌معه (%) Proventriculus (%)	0.362	0.348	0.352	0.374	0.019	0.754	0.642	0.469
پانکراس (%) Pancreas (%)	0.228	0.251	0.268	0.219	0.018	0.247	0.749	0.092
کبد (%) Liver (%)	2.07	2.03	1.98	2.05	0.104	0.943	0.940	0.574
بورس (%) Bursa of Fa (%)	0.149	0.181	0.169	0.173	0.009	0.114	0.107	0.501
طحال (%) Spleen (%)	0.090 ^a	0.072 ^b	0.081 ^{ab}	0.080 ^{ab}	0.003	0.018	0.044	0.316

^{a,b} میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ردیف، دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

^۱ تیمار ۱: شاهد، تیمار ۲: شاهد + ۰/۵ درصد آرژنین، تیمار ۳: شاهد + ۰/۰۹ درصد اسید گوانیدینواسیتیک و تیمار ۴: شاهد + ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواسیتیک.

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

¹ T1: control, T2: control + 0.5% arginine, T3: control + 0.09% guanidinoacetic acid, and T4: control + 0.18% guanidinoacetic acid

در راستای نتایج مطالعه حاضر، مشاهده شده است که مکمل - سازی سطوح دو و چهار گرم در کیلوگرم آرژنین در جیره جوجه‌های گوشتی موجب کاهش وزن نسبی قلب، شاخص آسیت و تلفات آسیت و همچنین افزایش غلظت نیتریک اکسید در مقایسه با پرندگان تغذیه‌شده با جیره کم پروتئین شد (Khajali et al., 2014). کدامباشی امامی و همکاران (Kodambashi Emami et al., 2017) در آزمایش دیگری با بررسی اثرات مکمل‌سازی سطوح مختلف آرژنین (صفر، ۰/۸۶ و ۱/۷۲ گرم در کیلوگرم) در جوجه‌های گوشتی پرورش‌یافته تحت تنش سرمایی و شرایط طبیعی مشاهده کردند که افزودن سطح ۰/۸۶ گرم در کیلوگرم آرژنین موجب کاهش نسبت وزن بطن راست به وزن مجموع بطن‌ها (شاخص آسیت) در مقایسه با گروه شاهد در جوجه‌های پرورش‌یافته تحت تنش سرمایی شد. به‌علاوه جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره مکمل‌شده با سطح ۰/۸۶ گرم در کیلوگرم آرژنین در مقایسه با گروه شاهد پرورش‌یافته تحت شرایط طبیعی از نسبت وزن بطن راست به وزن مجموع بطن‌ها مشابهی برخوردار بودند. دلفانی و همکاران (Delfani et al., 2023) نیز کاهش شاخص آسیت، تلفات آسیت و افزایش غلظت اکسید نیتریک پلاسمایی را با مکمل‌سازی سطح ۲/۵۷ گرم آرژنین در جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیره بر پایه کنجاله کانولا و پرورش یافته تحت تنش سرمایی مشاهده نمودند. آرژنین، سوبسترای ضروری برای سنتز نیتریک اکسید می‌باشد که توسط سلول‌های بافت پوششی عروق تولید می‌شود. نیتریک اکسید یک گشادکننده قوی عروق است و با متسع کردن ماهیچه صاف عروق و تنظیم یا مهار تولید منقبض‌کننده‌های عروق مانند اندوتلین ۱ و سروتونین باعث کاهش مقاومت عروق ریوی می‌شود (Delfani et al., 2011; al., 2023). کاهش سنتز و فراهمی نیتریک اکسید از عوامل مؤثر در ایجاد افزایش فشارخون ریوی است (Fathima et al., 2024). انقباض ناشی از کم‌اکسیژنی در عروق ریوی را می‌توان با افزایش سنتز نیتریک اکسید برطرف کرد (Khajali et al., 2014).

افزایش غلظت نیتریک اکسید پلاسمایی با مکمل‌سازی گوانیدینواستیک اسید در مطالعات صورت‌گرفته توسط احمدی پور و همکاران (Ahmadipour et al., 2018)، آل صاحب فصول و همکاران (Ale Saheb Fosoul et al., 2019) و راعی و همکاران (Raei et al., 2020) نیز گزارش شده است. همچنین موافق با نتایج مطالعه حاضر، مکمل‌سازی سطوح ۰/۱۸ درصد گوانیدینواستیک اسید در جیره جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیره بر پایه کنجاله کانولا و پرورش‌یافته تحت تنش سرمایی موجب کاهش وزن نسبی قلب، شاخص آسیت و افزایش غلظت نیتریک اکسید پلاسمایی در مقایسه

با گروه شاهد شد (Delfani et al., 2023). علت افزایش غلظت نیتریک اکسید به‌دنبال مکمل‌سازی اسید گوانیدینواستیک را می‌توان به علت اثر کاهنده اسید گوانیدینواستیک بر مصرف آرژنین جهت سنتز کراتین دانست. چنین فرض می‌شود که اثر کاهنده اسید گوانیدینواستیک بر مصرف آرژنین موجب فراهمی آرژنین جهت سنتز نیتریک اکسید می‌شود. افزایش سنتز نیتریک اکسید موجب کاهش فشار وارده بر بطن راست می‌شود (Kodambashi Emami et al., 2017). با توجه به افزایش غلظت نیتریک اکسید در پرندگان تغذیه‌شده با سطح ۰/۵ درصد آرژنین و ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک در مقایسه با گروه شاهد، کاهش وزن نسبی قلب، وزن بطن راست و شاخص آسیت در مطالعه حاضر را می‌توان به افزایش غلظت نیتریک اکسید ارتباط داد. همچنین ویسکوزیته بالای خون موجب کارکرد بالای بطن راست برای پمپاژ خون ویسکوز از طریق عروق ریوی باریک می‌شود (Dobosz et al., 2005). در مطالعه حاضر، تعداد گلبول‌های قرمز خون و غلظت هموگلوبین به شکل خطی با افزایش سطح گوانیدینواستیک اسید کاهش یافت که دلیلی بر کاهش ویسکوزیته خون است. کاهش تلفات ناشی از آسیت در جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیره مکمل‌شده با آرژنین نیز احتمالاً به‌دلیل اثر مثبت آرژنین بر سیستم قلبی-عروقی به‌واسطه نقش آن بر فعالیت نیتریک اکسید سنتتاز اندوتلیالی و تولید نیتریک اکسید است. به نظر می‌رسد که اسید گوانیدینواستیک نیز به‌واسطه نقش مؤثر در جبران کمبود آرژنین برای سیستم قلبی-عروقی، از طریق بهبود شاخص‌هایی مانند تولید اکسید نیتریک، کاهش نسبت وزن بطن راست به مجموع بطن‌ها و وزن نسبی قلب موجب کاهش تلفات ناشی از آسیت شده است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که مکمل‌سازی سطح ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواستیک موجب بهبود ضریب تبدیل، کاهش تلفات آسیت، بهبود بازده عضله سینه و کاهش وزن نسبی روده باریک در جوجه‌های گوشتی پرورش‌یافته تحت تنش سرمایی شد. نتایج مشابهی نیز با مکمل‌سازی سطح ۰/۵ درصد آرژنین در جوجه‌های گوشتی پرورش‌یافته تحت تنش سرمایی حاصل شد. با توجه به قیمت بالاتر آرژنین در مقایسه با اسید گوانیدینواستیک، جایگزینی اسید گوانیدینواستیک به‌جای آرژنین در جیره جوجه‌های گوشتی پرورش‌یافته تحت تنش سرمایی جهت بهبود بازده خوراک و کاهش تلفات آسیت توصیه می‌گردد.

جدول ۴- اثرات جیره‌های آزمایشی بر اوزان نسبی بخش‌های مختلف روده باریک در جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی در سن ۴۲ روزگی**Table 4-** The effects of experimental diets on the relative weights of different sections of the small intestine in 42-day-old broiler chickens under cold stress

متغیرها Variables	تیمارها ^۱ Treatments ¹				خطا معیار میانگین SEM	سطح احتمال P-value	مقایسه‌های چندجمله‌ای متعامد Orthogonal polynomial contrasts	
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4			اثر خطی Linear	اثر درجه دوم Quadratic
روده باریک (%) Small intestine (%)	3.65 ^a	2.86 ^b	3.23 ^{ab}	3.02 ^b	0.128	0.002	0.006	0.557
دوازدهه (%) Duodenum (%)	0.651 ^a	0.492 ^c	0.584 ^{ab}	0.557 ^{cb}	0.022	0.001	0.013	0.506
ژوژنوم (%) Jejunum (%)	1.67 ^a	1.29 ^b	1.40 ^{ab}	1.38 ^{ab}	0.91	0.049	0.057	0.310
ایلئوم (%) Ileum (%)	1.32 ^a	1.07 ^a	1.25 ^a	1.08 ^a	0.069	0.048	0.043	0.637

^{a,b} میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ردیف، دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).^۱ تیمار ۱: شاهد، تیمار ۲: شاهد + ۰/۵ درصد آرژنین، تیمار ۳: شاهد + ۰/۰۹ درصد اسید گوانیدینواسیتیک و تیمار ۴: شاهد + ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواسیتیک.^{a,b} Means within a row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).¹ T1: control, T2: control + 0.5% arginine, T3: control + 0.09% guanidinoacetic acid, and T4: control + 0.18% guanidinoacetic acid**جدول ۵-** اثر جیره‌های آزمایشی بر حساسیت به آسیت در جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی در سن ۴۲ روزگی**Table 5 –** Effect of experimental diets on susceptibility to ascites in broiler chickens under cold stress at 42 days of age

متغیرها Variables	تیمارها ^۱ Treatments ¹				خطا معیار میانگین SEM	سطح احتمال P-value	مقایسه‌های چندجمله‌ای متعامد Orthogonal polynomial contrasts	
	تیمار ۱ T1	تیمار ۲ T2	تیمار ۳ T3	تیمار ۴ T4			اثر خطی Linear	اثر درجه دوم Quadratic
قلب (%) Heart (%)	0.633 ^a	0.510 ^b	0.501 ^b	0.482 ^b	0.030	0.011	0.005	0.170
نسبت بطن راست به کل بطن‌ها (%) RV/TV ² (%)	28.47 ^a	23.23 ^b	25.47 ^{ab}	23.43 ^b	0.748	0.001	0.001	0.605
pH	7.26	7.31	7.33	7.36	0.030	0.154	0.030	0.569
فشار جزئی دی‌اکسید کربن (میلی‌متر جیوه) CO ₂ (mmHg)	55.60	47.00	53.60	50.80	0.59	0.144	0.208	0.900
فشار جزئی اکسیژن (میلی‌متر جیوه) O ₂ (mmHg)	36.20	40.60	36.80	39.60	2.26	0.470	0.273	0.675
نیتریک اکسید (میلی‌مول در لیتر) NO (mmol/L)	26.90 ^b	33.46 ^a	28.00 ^{ab}	32.00 ^a	1.37	0.070	0.019	0.358
گلبول‌های قرمز خون (%) Hematocrit (%)	30.40	29.00	30.00	26.40	1.59	0.319	0.111	0.442
تعداد گلبول‌های قرمز (×۱۰ ^۶ میکرولیتر) Red blood cell (×10 ⁶ μl)	3.44	2.93	3.31	2.86	0.181	0.096	0.031	0.295
هموگلوبین (گرم در دسی لیتر) Hemoglobin (g/dL)	12.84	11.52	12.04	11.44	0.362	0.053	1.016	0.821
تلفات آسیت (%) Ascites mortality (%)	32.50 ^a	15.00 ^b	25.00 ^{ab}	17.00 ^b	3.18	0.007	0.010	0.880

^{a,b} میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ردیف، دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).^۱ تیمار ۱: شاهد، تیمار ۲: شاهد + ۰/۵ درصد آرژنین، تیمار ۳: شاهد + ۰/۰۹ درصد اسید گوانیدینواسیتیک و تیمار ۴: شاهد + ۰/۱۸ درصد اسید گوانیدینواسیتیک.^۲ RV/TV: نسبت وزن بطن راست به وزن مجموع بطن‌ها^{a,b} Means within a row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).¹ T1: control, T2: control + 0.5% arginine, T3: control + 0.09% guanidinoacetic acid, and T4: control + 0.18% guanidinoacetic acid² RV/TV: right ventricle to total ventricle ratio

References

- Ahmadipour, B., Naeini, S. Z., Sharifi, M., & Khajali, F. (2018). Growth performance and right ventricular hypertrophy responses of broiler chickens to guanidinoacetic acid supplementation under hypobaric hypoxia. *The Journal of Poultry Science*, 55(1), 60-64. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0170044>
- Ale Saheb Fosoul, S. S., Azarfar, A., Gheisari, A., & Khosravinia, H. (2019). Performance and physiological responses of broiler chickens to supplemental guanidinoacetic acid in arginine-deficient diets. *British Poultry Science*, 60(2), 161-168. <https://doi.org/10.1080/00071668.2018.1562156>
- Asiriwardhana, M., & Bertolo, R. F. (2022). Guanidinoacetic acid supplementation: A narrative review of its metabolism and effects in swine and poultry. *Frontiers in Animal Science*, 3, 972868. <https://doi.org/10.3389/fanim.2022.972868>
- Boney, J. W., Patterson, P. H., & Solis, F. (2020). The effect of dietary inclusions of guanidinoacetic acid on D1-42 broiler performance and processing yields. *Journal of Applied Poultry Research*, 29(1), 220-228. <https://doi.org/10.1016/j.japr.2019.10.008>
- Brugaletta, G., Zampiga, M., Laghi, L., Indio, V., Oliveri, C., De Cesare, A., & Sirri, F. (2023). Feeding broiler chickens with arginine above recommended levels: Effects on growth performance, metabolism, and intestinal microbiota. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 14(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s40104-023-00839-y>
- Çenesiz, A. A., Yavaş, İ., Çiftci, İ., Ceylan, N., & Taşkesen, H.O. (2020). Guanidinoacetic acid supplementation is favourable to broiler diets even containing poultry by-product meal. *British Poultry Science*, 61(3), 311-319. <https://doi.org/10.1080/00071668.2020.1720909>
- Daneshyar, M., Kermanshahi, H., & Golian, A. (2009). Changes of biochemical parameters and enzyme activities in broiler chickens with cold-induced ascites. *Poultry Science*, 88(1), 106-110. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00170>
- DeGroot, A. A., Braun, U., & Dilger, R. N. (2018). Efficacy of guanidinoacetic acid on growth and muscle energy metabolism in broiler chicks receiving arginine-deficient diets. *Poultry Science*, 97(3), 890-900. <https://doi.org/10.3382/ps/pex378>
- Delfani, N., Daneshyar, M., Farhoomand, P., Alijoo, Y. A., Payvastegan, S., & Najafi, G. (2023). Effects of arginine and guanidinoacetic acid with or without phenylalanine on ascites susceptibility in cold-stressed broilers fed canola meal-based diet. *Journal of Animal Science and Technology*, 65(1), 69. <https://doi.org/10.5187/jast.2022.e68>
- Delfani, N., Daneshyar, M., Farhoomand, P., Payvastegan, S., Alijoo, Y. A., & Najafi, G. (2024). Attenuating susceptibility to ascites in cold-stressed broiler chickens fed canola meal-based diets by supplementing arginine or guanidinoacetic acid, either alone or in combination with phenylalanine. *Veterinary Medicine and Science*, 10(6), 1-13. <https://doi.org/10.1002/vms3.70011>
- Dobosz, M., Hac, S., Mionskowska, L., Dymecki, D., Dobrowolski, S., & Wajda, Z. (2005). Organ microcirculatory disturbances in experimental acute pancreatitis: A role of nitric oxide. *Physiological Research*, 54(4), 363.
- Faraji, M., Karimi Dehkordi, S., Zamiani Moghadam, A. K., Ahmadipour, B., & Khajali, F. (2019). Combined effects of guanidinoacetic acid, coenzyme Q10 and taurine on growth performance, gene expression and ascites mortality in broiler chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103(1), 162-169. <https://doi.org/10.1111/jpn.13020>
- Fathima, S., Al Hakeem, W. G., Selvaraj, R. K., & Shanmugasundaram, R. (2024). Beyond protein synthesis: the emerging role of arginine in poultry nutrition and host-microbe interactions. *Frontiers in Physiology*, 14, 1326809. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1326809>
- Glover, L. E., Bowers, B. E., Saeedi, B., Ehrentraut, S. F., Campbell, E. L., Bayless, A. J., Dobrinskikh, E., Kendrick, A. A., Kelly, C. J., Burgess, A. & Miller, L. (2013). Control of creatine metabolism by HIF is an endogenous mechanism of barrier regulation in colitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(49), 19820-19825. <https://doi.org/10.1073/pnas.1302840110>
- Heger, J., Zelenka, J., Machander, V., de la Cruz, C., Lešták, M., & Hampel, D. (2014). Effects of guanidinoacetic acid supplementation to broiler diets with varying energy content. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 62(3), 477-485. <https://doi.org/10.11118/actaun201462030477>
- Khajali, F., & Wideman, R. (2010). Dietary arginine: metabolic, environmental, immunological and physiological interrelationships. *World's Poultry Science Journal*, 66(4), 751-766. <https://doi.org/10.1017/S0043933910000711>
- Khajali, F., Lemme, A., & Rademacher-Heilshorn, M. (2020). Guanidinoacetic acid as a feed supplement for poultry. *World's Poultry Science Journal*, 76(2), 270-291. <https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1716651>
- Khajali, F., Moghaddam, M. H., & Hassanpour, H. (2014). An L-arginine supplement improves broiler hypertensive response and gut function in broiler chickens reared at high altitude. *International Journal of Biometeorology*, 58, 1175-1179. <https://doi.org/10.1007/s00484-013-0710-7>

19. Khajali, F., Tahmasebi, M., Hassanpour, H., Akbari, M. R., Qujeq, D., & Wideman, R. F. (2011). Effects of supplementation of canola meal-based diets with arginine on performance, plasma nitric oxide, and carcass characteristics of broiler chickens grown at high altitude. *Poultry Science*, 90(10), 2287-2294. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01618>
20. Khalil, S., Saenbungkhor, N., Kesnava, K., Sivapirunthep, P., Sitthigriping, R., Jumanee, S., & Chaosap, C. (2021). Effects of guanidinoacetic acid supplementation on productive performance, pectoral myopathies, and meat quality of broiler chickens. *Animals*, 11(11), 3180. <https://doi.org/10.3390/ani11113180>
21. Kodambashi Emami, N., Golian, A., Rhoads, D. D., & Danesh Mesgaran, M. (2017). Interactive effects of temperature and dietary supplementation of arginine or guanidinoacetic acid on nutritional and physiological responses in male broiler chickens. *British Poultry Science*, 58(1), 87-94. <https://doi.org/10.1080/00071668.2016.1257779>
22. Majdeddin, M., Braun, U., Lemme, A., Golian, A., Kermanshahi, H., De Smet, S., & Michiels, J. (2020). Guanidinoacetic acid supplementation improves feed conversion in broilers subjected to heat stress associated with muscle creatine loading and arginine sparing. *Poultry Science*, 99(9), 4442-4453. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.05.023>
23. Michiels, J., Maertens, L., Buyse, J., Lemme, A., Rademacher, M., Dierick, N. A., & De Smet, S. (2012). Supplementation of guanidinoacetic acid to broiler diets: effects on performance, carcass characteristics, meat quality, and energy metabolism. *Poultry Science*, 91(2), 402-412. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01585>
24. Motallebi, A. A., Shahir, M. H., & Nemat, M. H. (2022). Effect of ethanolic extracts of olive leaf, garlic and roselle on performance, blood parameters and immune response of broilers under ascites induction conditions. *Research on Animal Production*, 13(36), 19-26 (In Persian). <https://doi.org/10.52547/rap.13.36.19>
25. Mousavi, S. N., Afsar, A., & Lotfollahian, H. (2013). Effects of guanidinoacetic acid supplementation to broiler diets with varying energy contents. *Journal of Applied Poultry Research*, 22(1), 47-54. <https://doi.org/10.3382/japr.2012-00575>
26. Oliveira, C. H., Dias, K. M., Bernardes, R. D., Diana, T. F., Rodrigueiro, R. J., Calderano, A. A., & Albino, L. F. (2022). The effects of arginine supplementation through different ratios of arginine: lysine on performance, skin quality and creatine levels of broiler chickens fed diets reduced in protein content. *Poultry Science*, 101(11), 102148. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102148>
27. Raei, A., Karimi, A., & Sadeghi, A. (2020). Performance, antioxidant status, nutrient retention and serum profile responses of laying Japanese quails to increasing addition levels of dietary guanidinoacetic acid. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1), 75-85. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2019.1698325>
28. Sharma, N. K., Cadogan, D. J., Chrystal, P. V., McGilchrist, P., Wilkinson, S. J., Inhuber, V., & Moss, A. F. (2022). Guanidinoacetic acid as a partial replacement to arginine with or without betaine in broilers offered moderately low crude protein diets. *Poultry Science*, 101(4), 101692. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101692>
29. Varmaghany, S., Torshizi, M. A. K., Rahimi, S., Lotfollahian, H., & Hassanzadeh, M. (2015). The effects of increasing levels of dietary garlic bulb on growth performance, systolic blood pressure, hematology, and ascites syndrome in broiler chickens. *Poultry Science*, 94(8), 1812-1820. <https://doi.org/10.3382/ps/pev148>

Contents

Ruminant Nutrition

- Effect of Chemical Processed Barley Grain (*Hordeum vulgare*) Through Steam Infrared Flaking on Productive and Parameters of Ruminant Fermentation in Holstein Lactating Cows** 1
Amir Honarmand, Alireza Vakili, Mohsen Danesh Mesgaran, Abdolmansour Tahmasebi
- Impact of Milk Enrichment with Manganese Supplement in Organic and Inorganic Forms on Performance, Biochemical, Antioxidant Parameters and Feeding Behavior of Suckling Calves** 21
Ayda Teymouri, Abdolhakim Toghdory, Taghi Ghoorchi, Mohammad Asadi
- Effects of Supplementation of Synbiotic (DiPro Plus) on Growth Performance, Health Status, Skeletal parameters and Blood Parameters in Holstein Suckling Calves** 35
Vahid Vahedi, Mehrab Hamdam, Taher Yalchi, Sayyad Seifzadeh

Poultry Nutrition

- Investigating the Effects of Different Sources and Levels of Zinc, Copper, Manganese, and Iron on the Performance, Blood Parameters, and Tibia Characteristics of Broiler Chickens During the Grower and Finisher Periods** 49
Ali Tayebipour, Reza Majidzadeh Heravi, Hassan Kermanshahi
- Effects of Commercial Probiotics on Sperm Traits, Intestinal Morphology, Gut Microflora, and Antioxidant Status in 65-Week-Old Ross 308 Broiler Breeder Roosters** 63
Arash Hadavi, Farogh kargar, Najeebullah Fayaz, Ali tayebipour, Muhammad amin namaz zadagan
- Investigation of the Effects of Native Probiotics on the Performance, Immune Response, Morphology, and Intestinal *Lactobacillus* Population in Broiler Chicks** 77
Ramin Seighalani, Maryam Royan, Majid Mottaghtalab, Fatemeh Zare
- Reduction of Ascites Susceptibility in Broiler Chickens under Cold Stress by Guanidinoacetic Acid Supplementation** 93
Mousa Ezatikia, Parviz Farhoomand, Sina Payvastegan, Bahram Piruz, Negin Delfani

« Scientific Journal»
Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 17

No. 1

2025

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 Resources 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.)	Macquarie, 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>



Ferdows University
of Mashhad

Vol. 17 No. 1

2025

Iranian Journal of Animal Science Research

ISSN:2008-3106

Contents

Ruminant Nutrition

- Effect of Chemical Processed Barley Grain (*Hordeum vulgare*) Through Steam Infrared Flaking on Productive and Parameters of Ruminal Fermentation in Holstein Lactating Cows1
Amir Honarmand, Alireza Vakili, Mohsen Danesh Mesgaran, Abdolmansour Tahmasebi

- Impact of Milk Enrichment with Manganese Supplement in Organic and Inorganic Forms on Performance, Biochemical, Antioxidant Parameters and Feeding Behavior of Suckling Calves.....21
Ayda Teymouri, Abdolkhakim Toghdory, Taghi Ghoorchi, Mohammad Asadi

- Effects of Supplementation of Synbiotic (DiPro Plus) on Growth Performance, Health Status, Skeletal parameters and Blood Parameters in Holstein Suckling Calves.....35
Vahid Vahedi, Mehrab Hamdam, Taher Yalchi, Sayyad Seifzadeh

Poultry Nutrition

- Investigating the Effects of Different Sources and Levels of Zinc, Copper, Manganese, and Iron on the Performance, Blood Parameters, and Tibia Characteristics of Broiler Chickens During the Grower and Finisher Periods.....49
Ali Tayebipour, Reza Majidzadeh Heravi, Hassan Kermanshahi

- Effects of Commercial Probiotics on Sperm Traits, Intestinal Morphology, Gut Microflora, and Antioxidant Status in 65-Week-Old Ross 308 Broiler Breeder Roosters.....63
Arash Hadavi, Farogh kargar, Najeebullah Fayaz, Ali tayebipour, Muhammad amin namaz zadagan

- Investigation of the Effects of Native Probiotics on the Performance, Immune Response, Morphology, and Intestinal Lactobacillus Population in Broiler Chicks77
Ramin Seighalani, Maryam Royan, Majid Mottaghitalab, Fatemeh Zare

- Reduction of Ascites Susceptibility in Broiler Chickens under Cold Stress by Guanidinoacetic Acid Supplementation.....93
Mousa Ezatikia, Parviz Farhoomand, Sina Payvaestegan, Bahram Piruz, Negin Delfani