

نشریه علمی

پژوهشهای علوم دامی ایران

شماره پیاپی: ۶۲

شماره پیاپی: ۶۲

عنوان مقالات

تغذیه نشخوارکنندگان

تأثیر جیره فلاشیتک حاوی دانه کلزای (*Brassica napus*) خام و میکرونیزه فلیک بر عملکرد تولیدمثلیمیش‌های بالغ کردی ۱۰۹
زهره زرننگار، سید هادی ابراهیمی، رضا ولی زاده، عباسعلی ناصریانتأثیر افزودن سطوح مختلف گاه گندم به سیلاژ برگ پالونیا (*Paulownia sp.*) بر ترکیب شیمیایی وشاخص‌های تخمیر برون‌تنی ۱۲۷
ایوب عزیزی، علیرضا جولازاده، افروز شریفی، سعید حیدریتأثیر تزریق مکمل‌های ویتامینی و معدنی در دوره انتقال بر شاخص‌های التهابی و آنتی‌اکسیدانی گاوهای شیری ۱۴۳
محمد اسدی، رضا کمالی، نادر اسدزاده

تأثیر مخلوط اسانس‌های گیاهی کارواکرول، تیمول و اکالیپتول به شکل آزاد یا کپسوله‌شده بر عملکرد تولیدی،

گوارش‌پذیری مواد مغذی و متابولیت‌های خون گاوهای شیرده هلشاین ۱۵۷
امین خضری، حمیدرضا شقایخش، علی علیزادهاثرات قفاله گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) با یا بدون مکمل آنزیمی بر عملکرد، قابلیت هضم مواد مغذی،فراسنجه‌های خون و فعالیت آنزیم‌های کبدی در بره‌های پرواری ۱۶۹
فرزاد میرزانی آقچه قشلاق، میرمعصوم قاسمی، بهمن نوید شاد، رقیه ولی زاده یونجالی، مهدی جمالی

تغذیه طیور

بررسی تأثیر تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی و پروتئین بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خون و ریخت‌شناسی

روده کوچک جوجه‌های گوشتی ۱۸۱
الهه سوزی، احمد حسن آبادی

بررسی تأثیر نانوذرات سینامون تولیدی با امواج فراصوت بر عملکرد رشد، آنزیم‌های گوارشی، سطح هورمون‌های

تیروئیدی و جمعیت باکتریایی ایلنوم در جوجه‌های گوشتی ۱۹۵
مختار فتحی، علی هاشم محمد، کیانوش زرین کاویانی، زهرا بیرانوند

ژنتیک و اصلاح

بررسی پیوانفورماتیکی داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم در اردک پیکین به منظور تخمین میزان ضریب هم‌خونی

ژنومی و شناسایی جزایر الکوهای هموزیگوسی ۲۰۷
حسین محمدی، امیر حسین خلت‌آبادی فراعاتی

سایر

مقایسه روش‌های استفاده از نوار ضدکنه و محلول اسید اگزالیک بر میزان آلودگی کنه واروآ و رشد جمعیت

کلنی زنبور عسل (*Apis mellifera L.*) ۲۱۹
محمد حمیدی، بهروز دستار، وحید رحیمی نژاد، شهرام کتوک

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 ۲ تابستان 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

نشان: 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

- تغذیه نشخوارکنندگان
تأثیر جیره فلاشینگ حاوی دانه کلزای (*Brassica napus*) خام و میکرونیزه فلیک بر عملکرد تولیدمثلی میش‌های بالغ کردی
صفحه ۱۰۹
زهره زرنگار، سید هادی ابراهیمی، رضا ولی زاده، عباسعلی ناصریان
- تأثیر افزودن سطوح مختلف کاه گندم به سیلاژ برگ پالونیا (*Paulownia sp.*) بر ترکیب شیمیایی و شاخص‌های تخمیر برون‌تنی
۱۲۷
ایوب عزیزی، علیرضا جولازاده، افروز شریفی، سعید حیدری
- تأثیر تزریق مکمل‌های ویتامینی و معدنی در دوره انتقال بر شاخص‌های التهابی و آنتی‌اکسیدانی گاوهای شیری
۱۴۳
محمد اسدی، رضا کمالی، نادر اسدزاده
- تأثیر مخلوط اسانس‌های گیاهی کارواکرول، تیمول و اکالیپتول به‌شکل آزاد یا کپسوله‌شده بر عملکرد تولیدی، گوارش‌پذیری مواد مغذی و متابولیت‌های خون گاوهای شیرده هلستاین
۱۵۷
امین خضری، حمیدرضا شفاعخش، علی علیزاده
- اثرات تفاله گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) با یا بدون مکمل آنزیمی بر عملکرد، قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه-های خون و فعالیت آنزیم‌های کبدی در بره‌های پرواری
۱۶۹
فرزاد میرزائی آقچه قشلاق، میرمعصوم قاسمی، بهمن نوید شاد، رقیه ولی زاده یونجالی، مهدی جمالی
- تغذیه طیور
بررسی تأثیر تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی و پروتئین بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خون و ریخت‌شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی
۱۸۱
الهه سوزی، احمد حسن آبادی
- بررسی تأثیر نانوذرات سینامون تولیدی با امواج فراصوت بر عملکرد رشد، آنزیم‌های گوارشی، سطح هورمون‌های تیروئیدی و جمعیت باکتریایی ایلنوم در جوجه‌های گوشتی
۱۹۵
مختار فتحی، علی هاشم محمد، کیانوش زرین کاویانی، زهرا بیرانوند
- ژنتیک و اصلاح
بررسی بیوانفورماتیکی داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم در اردک پیکین به‌منظور تخمین میزان ضریب هم‌خونی ژنومی و شناسایی جزایر الگوهای هموزیگوسیتی
۲۰۷
حسین محمدی، امیر حسین خلت آبادی فراهانی
- سایر
مقایسه روش‌های استفاده از نوار ضدکنه و محلول اسید اگزالیک بر میزان آلودگی کنه واروآ و رشد جمعیت کلنی زنبورعسل (*Apis mellifera L.*)
۲۱۹
محمد حمیدی، بهروز دستار، وحید رحیمی نژاد، شهرام کتوک



Effects of Flushing Diets Containing Whole Flaked Raw and Micronized Rapeseed (*Brassica napus*) on Reproductive Performance of Mature Kurdish Ewes

Zohreh Zarnegar¹, Seyed Hadi Ebrahimi^{2*}, Reza Valizadeh³, Abbas Ali Naserian³

1, 2 and 3- Ph.D, Associate Professor and Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.

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

Received: 06-12-2023
Revised: 15-03-2024
Accepted: 02-04-2024
Available Online: 02-04-2024

How to cite this article:

Zarnegar, Z., Ebrahimi, S. H., Valizadeh, R., & Naserian, A. A. (2024). Effects of flushing diets containing whole flaked raw and micronized rapeseed (*Brassica napus*) on reproductive performance of mature Kurdish ewes. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(2), 107-123. (in Persian with English abstract)
<http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.85748.1184>

Introduction: Dietary supplementation with oilseeds is a widely recognized strategy for enhancing body condition in sheep around the mating period to improve reproductive performance. Rapeseed is the second most prevalent source of oilseeds globally and is known for its favorable profile of unsaturated fatty acids, including high levels of oleic acid, linoleic acid, and alpha-linolenic acid. These fatty acids contribute to improved production and reproductive outcomes in animals. The high energy and protein content of rapeseed and its desirable amino acids profile make rapeseed an excellent feed source for ruminants, and there is renewed interest in using it in the rations of high producing animal as a feed supplement. Micronization as a heat process has the potential of protecting fatty acid from ruminal biohydrogenation and reducing ruminal degradability of protein. We hypothesized that rapeseed supplementation around mating can improve productive and reproductive performance of ewes by supplying the energy and protein. In addition, an increase in unsaturated fatty acid and protein bypass can induce estrus and increase reproduction performance. Therefore, this study was conducted to investigate the reproductive performance of mature Kurdish ewes to the flushing diets containing whole flaked raw and micronized rapeseed.

Materials and Methods: In this experiment, full-fat rapeseed was micronized at 2.8 micron. The micronized and non-micronized rapeseeds separately flaked by passing between two rotating rollers with a 0.50 mm distance gap. To this end, 55 mature Kurdish ewes were randomly allocated into three treatments: 1) control (the receivers of basal flushing diet with no rapeseed), 2) basal diet plus supplementation with 0.18 kg/day/ewe raw flaked rapeseed, and 3) basal diet plus supplementation with 0.18 kg/day/ewe micronized flaked rapeseed in completely randomized design. Ewes live weight and body condition score measured at the beginning of the experiment and at lambing. The lamb birth weight was also measured. The number and diameter of follicles were determined on days of mating and 9 days after mating. Pregnancy was diagnosed at 30 days after mating. Blood samples were taken on days of mating, 9 and 30 days after mating. The data obtained from weight and



©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.2024.85748.1184>

BCS of ewes, lambs birth weight and blood hormones and metabolites were analyzed using GLM procedures of SAS software (9.4 version, SAS Institute Inc.). The data obtained from reproductive performance of ewes were analyzed using chi-square model and Proc Genmod procedures of SAS software. For all results, Least-square means for each treatment are reported in the tables and were compared using adjusted Tukey tests. Statistical significance was accepted at $P \leq 0.05$.

Results and discussion: The results of this study showed that the weight and body condition score of ewes as well as the lambs birth weight were significantly increased by dietary supplementation with raw and micronized whole flaked rapeseed.

Plasma glucose and triglycerides were significantly increased by supplemental flaked rapeseed. Lower BUN concentration was observed for ewes fed diets contained raw and micronized rapeseeds. Plasma estradiol levels at day of mating and progesterone levels at 9 and 30 days after mating were significantly higher in ewes on micronized and raw flaked rapeseed diets, respectively. Plasma insulin also were significantly increased in ewes fed micronized and raw flaked rapeseed, respectively. Dietary treatments had no significant effect on number of small and total follicles as well as the average size of small and medium follicles at the day of mating. The number of medium follicles on the day of mating as well as the corpus luteum size at 9 days after mating, were significantly higher for the ewes fed diets contained raw and micronized flaked rapeseeds. The average number and size of large follicles at the day of mating were significantly higher in ewes on micronized and raw flaked rapeseed diets, respectively. The fertility rate and female lamb rate were significantly increased by dietary supplementation with raw and micronized flaked rapeseed. Lambing intervals significantly decreased by dietary supplementation with micronized flaked rapeseed. The lambing rate was significant for both ewes on micronized and raw rapeseed diets. Supplementation diet with micronized rapeseed significantly increased twinning rate.

Conclusion: Overall, dietary inclusion of rapeseed especially micronized rapeseed around the mating can be an effective nutritional strategy to improve productive and reproductive performance of ewes in traditional sheep production systems.

Keywords: Flushing, Mature Kurdish ewe, Micronization, Reproductive performance, Whole flaked rapeseed

تأثیر جیره فلاشینگ حاوی دانه کلزای (*Brassica napus*) خام و میکرونیزه فلیک بر عملکرد تولیدمثلی میش‌های بالغ کردی

زهرة زرنگار^۱، سید هادی ابراهیمی^{۲*}، رضا ولی زاده^۳، عباسعلی نصریان^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۱۴

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر جیره فلاشینگ حاوی دانه کلزای (*Brassica napus*) خام و میکرونیزه فلیک بر عملکرد تولیدمثلی میش‌های بالغ آمیخته نژاد کردی در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. ۵۵ رأس میش بالغ آمیخته نژاد کردی به‌طور تصادفی با یکی از سه تیمار: ۱) جیره پایه فلاشینگ بدون دانه روغنی (شاهد)، ۲) جیره پایه به‌علاوه ۰/۱۸ کیلوگرم ماده خشک دانه کلزای میکرونیزه فلیک تغذیه شدند. فرآیند میکرونیزاسیون در طول موج ۲/۸ میکرون انجام شد. در شروع آزمایش و به‌هنگام زایمان، وزن بدن و امتیاز وضعیت بدنی میش‌ها ثبت گردید. وزن بره‌ها به‌هنگام تولد نیز اندازه‌گیری شد. تعداد و اندازه فولیکول‌های تخمدان در روز جفت‌گیری و نه روز پس از آن توسط دستگاه سونوگرافی ترانس رکتال مجهز به پروپ ۸ مگاهرتز در حالت ایستاده تعیین شد. تشخیص آبستنی ۳۰ روز پس از جفت‌گیری انجام شد. نمونه‌های خون در روز جفت‌گیری، ۹ و ۳۰ روز پس از آن از سیاهرگ گردنی اخذ شد. جیره‌های حاوی دانه کلزای خام یا میکرونیزه باعث افزایش وزن میش‌ها، وزن تولد بره‌ها شد. غلظت گلوکز، تری‌گلیسرید، انسولین، استروژن و پروژسترون تحت تأثیر جیره‌های حاوی دانه کلزای خام یا میکرونیزه افزایش یافت. کمترین غلظت ازت اوره‌ای خون در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای خام و میکرونیزه فلیک مشاهده شد. نرخ باروری و ماده‌زایی تحت تأثیر جیره‌های حاوی دانه کلزای خام یا میکرونیزه افزایش یافت. جیره حاوی دانه کلزای میکرونیزه باعث کاهش فاصله بره‌زایی و افزایش دوقلو زایی گردید. بیشترین نرخ بره‌زایی به‌ترتیب در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای میکرونیزه و خام فلیک مشاهده شد. به‌طور کلی، ارائه ۰/۱۸ کیلوگرم ماده خشک دانه کلزای خام و به‌ویژه میکرونیزه با تأمین سطوح بیشتری از انرژی و پروتئین و با تأثیر مثبت بر هورمون‌های کلیدی دخیل در تولیدمثل عملکرد تولیدی و تولیدمثلی میش‌ها را بهبود می‌بخشد.

واژه‌های کلیدی: دانه کلزا، عملکرد تولیدمثلی، فلاشینگ، میش‌های بالغ کردی، میکرونیزاسیون

مقدمه

پروژسترون (Scaramuzzi et al., 2006) و متعاقباً تحریک فولیکوژن، افزایش نرخ تخمک‌گذاری و در نهایت، بهبود عملکرد تولیدمثلی می‌گردد (Somchit-Assavacheep et al., 2013). مکمل‌های لیپیدی در زمان جفت‌گیری، انرژی لازم را برای فعالیت جنسی، غلبه بر هر گونه کمبود تغذیه‌ای و افزایش عملکرد تولیدمثلی فراهم می‌کنند (Abd El-Hamid et al., 2016). دانه کلزا (*Brassica napus*) به‌عنوان دومین منبع غالب دانه‌های روغنی در جهان، حاوی اسیدهای چرب غیراشباع سودمند با بیشترین میزان به‌ترتیب برای اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید آلفا-لینولئیک است که علاوه بر افزایش کیفیت محصولات حیوانی، عملکرد تولیدی و تولیدمثلی حیوانات را بهبود می‌بخشد (Chmielewska et al., 2016).

تغذیه مطلوب مؤثرترین راه برای دستیابی به تولیدمثل موفق در گونه‌های مختلف دام از جمله گوسفند است (Vargas-Bello-Pérez et al., 2020). افزایش سطح انرژی جیره قبل از جفت‌گیری با تعدیل عملکرد هیپوتالاموس-هیپوفیز-تخمدان (Abd El-Hamid et al., 2016) باعث افزایش ترشح هورمون‌های انسولین، استروژن و

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

(Email: shebrahimi@um.ac.ir)

(*- نویسنده مسئول)

<http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.85748.1184>

طراحی می‌شوند، جایگزین مناسبی برای درمان‌های پرهزینه هورمونی هستند (Martin et al., 2004). در این مطالعه فرض شده است که افزودن دانه کلزا به جیره قبل و بعد از جفت‌گیری به‌واسطه تأمین انرژی و پروتئین مورد نیاز دام قادر به بهبود صفات تولیدی و تولیدمثلی است. به‌علاوه، افزایش سطح اسیدهای چرب عبوری و محتوای RUP از طریق میکرونیزاسیون دانه کلزا می‌تواند موجب القای فحلی و افزایش شاخص‌های تولیدمثلی شود. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر جیره فلاشینگ حاوی دانه کلزای خام و میکرونیزه فلیک بر عملکرد تولیدمثلی میش‌های بالغ آمیخته نژاد کردی انجام شد.

مواد و روش‌ها

دانه کلزای مورد استفاده مطالعه حاضر رقم زمستانه (*Brassica napus*)، واریته نپتون بود. فرایند میکرونیزاسیون در طی مدت ۲۵ ثانیه با استفاده از میکرونایزر سرامیکی گازسوز (فرآورانه فردوسی مشهد، مشهد، ایران) در طول موج ۲/۸ میکرون به‌نحوی انجام شد که دمای سطح دانه در هنگام خروج ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد بود (Serna-Saldivar, 2016). دانه‌های میکرونیزه بلافاصله با عبور از میان دو غلطک دوار با فاصله ۰/۵ میلی‌متر به‌طور فیزیکی فلیک شدند. دانه‌های کلزای خام بدون اعمال میکرونیزاسیون به‌طور مشابهی فلیک شدند.

به‌منظور تعیین ترکیب شیمیایی، دانه کلزای خام و میکرونیزه فلیک توسط آسیاب (IKA Mills, Tube Mill 100 control) مجهز به توری یک میلی‌متر آسیاب شدند. محتوای ماده خشک با استفاده از آون (مدل Memmer854 شرکت Schwann کشور آلمان) با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت تعیین شد (AOAC, 2000). مقدار خاکستر با احتراق نمونه‌ها در کوره الکتریکی (Omszov مدل OH 63) با دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت شش ساعت تعیین شد (AOAC, 1990). محتوای نیتروژن کل (N) با روش کج‌للال اندازه‌گیری شد. با ضرب نیتروژن به‌دست آمده از نمونه‌ها در عدد ۶/۲۵ میزان پروتئین خام هر نمونه تعیین گردید (AOAC, 1990). محتوای چربی خام دانه کلزای خام و میکرونیزه فلیک با استفاده از حلال هگزان به‌مدت شش ساعت توسط دستگاه سوکسله (Tecato Soxetc) استخراج شد (AOAC, 1990).

پژوهش حاضر در یک واحد پرورش گوسفند کردی روستای زاوین شهر کلات نادری در اوایل تابستان ۱۴۰۰ با استفاده از ۵۵ رأس میش بالغ آمیخته نژاد کردی با میانگین سنی ۳/۵ سال و میانگین وزنی $37/62 \pm 4/18$ کیلوگرم و امتیاز بدنی $1/85 \pm 0/80$ در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. شرایط عمومی پرورش گله‌های کوچک در فصل بهار در این منطقه صرفاً مبتنی بر چرای

(2021). افزایش سطح انرژی جیره به‌واسطه تغذیه دانه کلزا در طول دوره جفت‌گیری، شاخص‌های تولیدمثلی از جمله نرخ باروری، بره‌زایی، دوقلو زایی را بهبود می‌بخشد (Chashnidel et al., 2016). مکمل جیره ای اسید اولئیک با افزایش سطح اسید اولئیک پلاسمای خون، مایع فولیکولی و بافت‌های تولیدمثلی، موجب بهبود وضعیت متابولیکی و فیزیولوژیکی تخمدان، رحم و جنین می‌گردد (Ferreira et al., 2014).

به‌منظور افزایش بازده تولیدی و تولیدمثلی، علاوه بر سطح انرژی جیره، توجه به کمیت و کیفیت پروتئین تغذیه شده نیز ضروری است. دانه کلزا به‌دلیل داشتن پروفایل مطلوب اسیدهای آمینه ضروری می‌تواند انتخاب مناسبی برای تغذیه نشخوارکنندگان باشد. محتوای پروتئین دانه کلزا پس از جذب از روده باریک، نرخ تخمک‌گذاری و باروری را در گوسفند افزایش می‌دهد (Lindsay, 1980). افزایش مصرف پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (RDP)^۱ به‌دلیل تأثیر منفی بر باروری و بقای جنین موجب کاهش بازدهی تولیدمثلی می‌گردد (Ababakri et al., 2021). افزایش غلظت ازت اوره‌ای خون (BUN)^۲ به دنبال مصرف بیش از حد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه، pH را کاهش می‌دهد و باعث تهدید بقای جنین می‌شود (Butler, 2000). مکمل‌های جیره‌ای حاوی منابع پروتئین تجزیه‌ناپذیر در شکمبه (RUP)^۳ با کاهش ازت اوره‌ای خون موجب بهبود شاخص‌های تولیدمثلی می‌گردند (McCormick et al., 1999).

میکرونیزاسیون به‌عنوان یک روش فرآوری حرارتی با دناتوراسیون و تغییر شکل پروتئین به یک ساختار مقاوم‌تر در برابر هضم شکمبه، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام و متعاقباً ناپدید شدن شکمبه‌ای اسیدهای آمینه ضروری و محتوای اسید آمینه کل دانه‌های روغنی را کاهش می‌دهد (Wang et al., 1999). به‌دلیل بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای، پروفایل اسید چرب که حیوان از طریق جیره دریافت می‌کند با آنچه که به روده باریک می‌رسد، یکسان نیست (Freitas et al., 2018). بنابراین، به‌منظور افزایش میزان اسیدهای چرب عبوری، محافظت از آن‌ها در برابر بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای بسیار حائز اهمیت است. با توجه به اینکه ذرات چربی به‌طور فیزیکی توسط ماتریکس غنی از پروتئین احاطه شده‌اند، دناتوراسیون محتوای پروتئینی در اثر میکرونیزاسیون موجب محافظت اسیدهای چرب غیراشباع دانه‌های روغنی در برابر بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای می‌گردد (Leduc et al., 2017; Gonthier et al., 2004).

راهکارهای تغذیه‌ای که به‌منظور افزایش عملکرد تولیدمثلی

- 1- Rumen Degradable Protein
- 2- Blood Urea Nitrogen
- 3- Rumen Undegradable Protein

استفاده از دستگاه سونوگرافی (پرتابل دیجیتال B-mode، مدل CTF-7700، شرکت SIUI) شکمی مجهز به پروب پنج مگاهرتز از روی سطح شکم صورت پذیرفت. نمونه‌های خون در روز جفت‌گیری، نهمین روز از چرخه فحلی و ۳۰ روز پس از جفت‌گیری قبل از تغذیه صبح از طریق سیاهرگ گردنی و با استفاده از لوله‌های خلأ دو میلی لیتری حاوی ماده ضد انعقاد پتاسیم اگزالات و سدیم فلوئوراید به‌منظور جداسازی پلاسما و بدون ماده ضد انعقاد به‌منظور جمع‌آوری سرم تهیه و به فلاسک حاوی یخ انتقال داده شد. نمونه‌های خون اخذ شده بلافاصله به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. متابولیت‌های خون گلوکز (Pars Azmon Co., 1-500-017 No. Karaj, Iran)، کلسترول (Pars Azmon Co., 1-500-010 No. Karaj, Iran)، ازت اوردهای خون (Pars Azmon Co., 1-400-030 No. Karaj, Iran)، تری گلیسرید با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر Abbott Alcyon 300, Abbott Laboratories, Inc. Irving, TX, USA) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری هورمون‌های خون شامل انسولین (Monobind Inc., Lake Forest, CA, USA, No. 2425-300)، استروژن (Monobind Inc., Lake Forest, CA, USA, No. 4925-300)، پروژسترون (Monobind Inc., Lake Forest, CA, USA, No. 4825-300) و پروژسترون (Monobind Inc., Lake Forest, CA, USA, No. 4825-300) با استفاده از دستگاه الیزا ریدر Stat Fax 3200 Microplate Reader, Awareness Technol-ogy Inc., Palm City, FL, USA) انجام شد.

داده‌های مربوط به وزن تولد بره‌ها، تعداد و قطر فولیکول‌های تخمدان و قطر جسم زرد در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM (General Linear Model) برنامه آماری SAS نسخه ۹/۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مدل آماری طرح به‌صورت زیر بود:

$$Y_i = \mu + M_i + e_i \quad \text{معادله (۱)}$$

که در آن، Y_i : مقدار مشاهده، μ : میانگین کل جمعیت، M_i : اثر اصلی تیمار و e_i : اثر خطای آزمایش بودند.

داده‌های مربوط به وزن بدن و BCS میش‌ها و فراسنجه‌ها و هورمون‌های خون با استفاده از روش PROC MIXED نرم افزار SAS (نسخه ۹/۴، SAS Institute Inc) تجزیه و تحلیل شد. مدل به شرح زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + M_i + T_j + T_j \times M_i + e_{ij} \quad \text{معادله (۲)}$$

که در این مدل، Y_{ij} : متغیر وابسته، μ : میانگین کل، M_i : اثر ثابت تیمار، T_j : اثر ثابت زمان، $T_j \times M_i$: اثر متقابل تیمار و زمان و e_{ij} : خطای باقی‌مانده است. اثر زمان و اثر متقابل تیمار و زمان در صورتی گزارش داده شد که معنی‌دار و یا گرایش برای معنی‌داری آن‌ها مشاهده شده باشد.

روزانه در کوهپایه‌های اطراف بود. بنابراین، براساس وزن، امتیاز وضعیت بدنی و پوشش گیاهی منطقه پرورش، میش‌ها در وضعیت تغذیه‌ای ضعیف و مستعد برنامه فلاشینگ بودند. قبل از شروع آزمایش، میش‌ها علیه بیماری آنتروکسمی، شاربن و بروسلوز واکسینه شدند و سپس بر مبنای وزن دسته‌بندی و به‌طور تصادفی به یکی از سه تیمار: (۱) جیره پایه فلاشینگ بدون دانه روغنی (شاهد، ۱۹ رأس میش)، (۲) جیره پایه به‌علاوه ۰/۱۸ کیلوگرم ماده خشک دانه کلزای خام (۱۸ رأس میش) و (۳) جیره پایه به‌علاوه ۰/۱۸ کیلوگرم ماده خشک دانه کلزای میکرونیزه (۱۸ رأس میش) اختصاص یافتند. با استفاده از نرم‌افزار SRNS^۱ نسخه (۶۶۳۰/۱۰/۱) احتیاجات میش خشک به وزن ۳۸/۵۰ کیلوگرم استخراج شد. تغذیه روزانه ۱۰۰۰ گرم (براساس ماده خشک) از جیره پایه می‌توانست ۰/۳۷۰ مگا کالری در کیلوگرم انرژی قابل متابولیسم و ۳/۸ درصد پروتئین خام بیشتر از نیاز نگهداری برای حیوان تأمین کند. (جدول ۱). یونجه به‌صورت قطعات چهار تا پنج سانتی‌متری خرد و روزانه در ساعت ۰۷:۰۰ در اختیار دام قرار گرفت. کاه گندم توسط خرمنکوب به ابعاد دو الی سه سانتی‌متر خرد و در ساعت ۱۹:۰۰ به دام‌ها ارائه شد. پس از ۴۲ روز از شروع تغذیه جیره‌های آزمایشی، تغذیه دانه کلزا به میش‌های گروه دوم و سوم متوقف و پس از آن تا زمان زایش میش‌های تمام گروه‌ها با جیره پایه مشابه تغذیه شدند. ترکیب شیمیایی دانه کلزای خام و میکرونیزه در جدول ۲ گزارش شده است.

میش‌ها در شروع آزمایش (قبل از تغذیه صبح) و در هنگام زایش توزین و امتیاز بدنی (BCS^۲) آن‌ها براساس میزان نفوذ انگشتان زیر زوائد عرضی مهره‌های کمری در سمت راست بدن دام تعیین شد. وزن بره‌ها به هنگام تولد نیز اندازه‌گیری شد. علاوه‌براین، جنسیت بره‌های متولد شده و تعداد بره به‌ازای هر میش به هنگام زایمان ثبت شد. به‌منظور اعمال اثر قوچ بر تحریک فحلی از ابتدای آزمایش، قوچ‌ها کاملاً دور از میش‌ها نگهداری شدند. سه هفته پس از تغذیه میش‌ها با جیره‌های آزمایشی، به هر گروه دام تعداد دو رأس قوچ ارائه گردید و تا پایان دوره رصد و نمونه‌گیری به همراه میش‌ها در جایگاه نگهداری شدند. تشخیص و شناسایی فحلی به‌طور شبانه‌روزی توسط دو ناظر و برای دو سیکل فحلی انجام شد. تعداد و اندازه فولیکول‌های تخمدان در روز جفت‌گیری (روز اول چرخه فحلی) و اندازه جسم زرد در روز نهم چرخه فحلی با انتخاب تصادفی نه رأس میش از هر یک از گروه‌های آزمایشی توسط دستگاه سونوگرافی (Piemedical, Falco100; Holland) ترانس رکتال مجهز به پروب هشت مگاهرتز در حالت ایستاده تعیین شد. تشخیص آبستنی براساس مشاهده حفره رحمی بزرگ و مایع فولیکولی و جنین ۳۰ روز پس از جفت‌گیری با

جدول ۱- اقلام تشکیل دهنده، مواد مغذی و انرژی جیره پایه فلاشینگ (شاهد)

Table 1- Ingredients and chemical compositions of the experimental basal diet

اجزای جیره (درصد ماده خشک) Dietary components (% dry matter)	
یونجه خشک Alfalfa hay	55.3
کاه گندم Wheat straw	13.7
دانه جو Barley	28.3
مکمل ویتامین و مواد معدنی ^۱ Mineral-vitamin premix	2.7
مواد مغذی و انرژی جیره Chemical composition of rations	
انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم) Metabolizable energy (Mcal/kg)	1.91
پروتئین خام (%) Crude protein (%)	13.30
چربی خام (%) Fat (%)	1.60
فیبر نامحلول در شوینده خنثی (%) Neutral detergent fiber (%)	48.10
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (%) Acid detergent fiber (%)	26.60
کلسیم (%) Calcium (%)	0.64
فسفر (%) Phosphorus (%)	0.34
کربوهیدرات غیر فیبری (%) Non-fibrous carbohydrates (%)	33.10

^۱ هر کیلوگرم مکمل ویتامینه و مواد معدنی حاوی ۵۰۰ هزار واحد بین المللی ویتامین A، ۱۰۰ هزار واحد بین المللی ویتامین D₃، ۲۵۰ واحد بین المللی ویتامین E، ۳ هزار میلی گرم آهن، ۳۰۰ میلی گرم مس، دو هزار میلی گرم منگنز، سه هزار میلی گرم روی، ۱۰۰ میلی گرم کبالت، ۱۰۰ میلی گرم ید، یک میلی گرم سلنیوم، ۵۰۰ میلی گرم آنتی اکسیدان، ۱۹ هزار میلی گرم منیزیم، ۹۰ هزار میلی گرم فسفر، ۱۸۰ هزار میلی گرم کلسیم، ۶۰ هزار میلی گرم سدیم است.

¹ Mineral-vitamin premix contained per kg: 500000 IU of vitamin A, 100000 IU of vitamin D₃, 250 IU of vitamin E, 3000 mg of Fe, 300 mg of Cu, 2000 mg of Mg, 3000 mg of Zn, 100 mg of Co, 100 mg of I, 1 mg of Se, 500 mg of Antioxidant, 19000 mg of Mn, 90000 mg of P, 180000 mg of Ca, 60000 mg of Na.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی دانه کلزای خام و میکرونیزه (تعداد تکرار=۳)

Table 2- Chemical composition of raw and micronized rapeseeds (n=3)

	دانه کلزای خام Raw rapeseed	دانه کلزای میکرونیزه Micronized rapeseed
ماده خشک (گرم در کیلوگرم ماده خشک) Dry matter (g/kg DM)	950	959
پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک) Crude protein (g/kg DM)	222	223
چربی خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک) Fat (g/kg DM)	375	401
خاکستر (گرم در کیلوگرم ماده خشک) Ash (g/kg DM)	47	53

بیشتر میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای میکرونیزه در مقایسه با میش‌های گروه دانه کلزای خام، BCS کمتر آن‌ها می‌تواند به دلیل افزایش اسید اولئیک ورودی به روده باریک در اثر میکرونیزاسیون (Zarnegar et al., 2024) و نقش آن در انتقال و ذخیره انرژی مازاد حاصل از جیره فلاشینگ در بافت چربی دمی باشد.

نتایج حاصل از آزمایش حاضر حاکی از افزایش معنی‌دار وزن تولد بره‌ها ($P=0/01$) و وزن تولد بره‌های ماده ($P=0/04$) و نر ($P=0/02$) در گروه‌های تغذیه شده با جیره حاوی دانه کلزای خام و میکرونیزه در مقایسه با گروه شاهد است (جدول ۳). این مطلب اهمیت وزن بدن و BCS میش‌ها را در زمان زایمان بر وزن تولد نتاج آن‌ها نشان می‌دهد. این تأثیر مثبت ممکن است به تأمین انرژی و پروتئین مورد نیاز برای رشد رویان، جنین و همچنین حفظ نیازهای فیزیولوژیکی حیوان نسبت داده شود (Raheem et al., 2022). مطالعات بسیاری به اثرات مثبت استفاده از دانه‌های روغنی در جیره دام بر افزایش وزن تولد بره‌ها اشاره نموده‌اند (El-ghousein, 2010; Jalilian et al., 2013).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت فراسنجه‌های خون در جدول ۴ گزارش شده است. غلظت گلوکز خون در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای خام یا میکرونیزه در روز جفت‌گیری ($P<0/0001$) و ۹ روز پس از آن ($P<0/0001$) در مقایسه با میش‌های گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. گلوکز از جمله سوبستراهای مهم است که نقش مهمی را در عملکرد تولیدمثلی دام از طریق تأثیر بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد ایفا می‌نماید (Hess et al., 2005). در مطالعه حاضر، افزودن دانه کلزای خام یا میکرونیزه به جیره میش‌ها با افزایش سطح چربی جیره ممکن است غلظت گلوکز خون را افزایش دهد. همان‌طور که توسط هس و همکاران (Hess et al., 2008) بیان شده است، گلیسرول حاصل از هیدرولیز چربی در دانه‌های روغنی به پروپیونات تبدیل می‌شود که از طریق فرایند گلوکونئوزنر موجب افزایش غلظت گلوکز خون می‌گردد. علاوه‌براین، افزایش سطح RUP جیره به‌واسطه میکرونیزاسیون دانه کلزا، با افزایش فراهمی و جذب روده‌ای اسیدهای آمینه باعث تولید مواد واسطه از چرخه اسید تری‌کربوکسیلیک یا تولید پیروات و در نهایت، افزایش تولید گلوکز می‌گردد (Lindsay, 1980). افزایش مشاهده شده در غلظت گلوکز در تیمارهای حاوی دانه کلزای خام یا میکرونیزه با نتایج ابابکری و همکاران (Ababakri et al., 2021) و میرزایی الموتی و همکاران (Mirzaei-Alamouti et al., 2018) مطابقت دارد.

متغیرهای طبقه‌بندی شده یا متغیرهای بیان شده به‌صورت درصد، از جمله نرخ باروری، نرخ بره‌زایی، نرخ دو قلوزایی، نرخ ماده‌زایی، نرخ نر‌زایی و فاصله زایمان با آزمون کای اسکوتر و رویه Proc Genmod تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی در سطح ۰/۰۵ خطا انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که افزودن ۰/۱۸ کیلوگرم دانه کلزای خام یا میکرونیزه فلیک به جیره میش‌ها باعث تفاوت معنی‌دار در وزن بدن ($P=0/001$) و امتیاز وضعیت بدنی ($P=0/03$) میش‌ها پس از زایمان شد (جدول ۳). دانه کلزا به‌واسطه تأمین انرژی، پروتئین و فیبر مورد نیاز حیوان موجب بهبود عملکرد دام می‌گردد (Chmielewska et al., 2021). این امر به‌ویژه در میش‌هایی که در مراتع ضعیف به چرا می‌پردازند و یا با جیره‌های با سطح انرژی و پروتئین کم تغذیه می‌شوند، برجسته‌تر است (Njoya et al., 2005). مطابق با نتایج مطالعه حاضر، رحیم و همکاران (Raheem et al., 2022) نشان دادند که افزودن دانه کلزا به جیره می‌تواند وزن بدن میش‌ها را به‌طور قابل توجهی افزایش دهد. در نژادهای دنبه‌دار اولین اولویت برای ذخیره چربی، دنبه است و نسبت چربی در دنبه بیشتر از چربی زیرپوستی و چربی احشایی است (Negussie et al., 2003; Yagoubi and Atti, 2020). با توجه به اینکه معیار اندازه‌گیری BCS، میزان ذخایر چربی و عضله در ناحیه مهره‌های کمر است؛ ذخیره چربی در نژادهای دنبه‌دار با BCS مشخص به مراتب بیشتر از نژادهای بدون دنبه با همان BCS است. از آنجایی که هدف از ذخیره چربی در بدن دام، تأمین هورمون لپتین برای حمایت از عملکرد تولیدمثلی است، امتیاز وضعیت بدنی برابر با ۲/۵ در نژادهای دنبه‌دار می‌تواند عملکرد مشابهی با امتیاز وضعیت بدنی برابر با ۳/۵ در نژادهای بدون دنبه را داشته باشد. بنابراین، افزودن یک امتیاز (از ۲/۵ به ۳/۵) از نظر اقتصادی هزینه تغذیه‌ای بسیار زیادی را طلب می‌کند. علاوه‌بر بافت چربی، مصرف منابع خوراکی حاوی سطوح بالایی از اسید اولئیک می‌تواند موجب افزایش غلظت لپتین گردد. اسید اولئیک علاوه‌بر سنتز و تحریک ترشح هورمون لپتین، با تقلید از وظایف هورمون مذکور می‌تواند نقش کلیدی در تنظیم میزان انرژی ذخیره شده در بافت چربی ایفا نماید (Obici et al., 2002; Pérez-Pérez et al., 2015). لپتین به‌عنوان یک هورمون ضد چاقی عمل می‌نماید که موجب جلوگیری از ذخیره مازاد انرژی در بافت چربی زیرپوستی می‌گردد (Tam et al., 2011). بنابراین، علی‌رغم وزن

جدول ۳- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن بدن و امتیاز وضعیت بدنی میش‌های بالغ کردی و وزن تولد بره‌ها

Table 3- Effect of experimental treatments on the blood metabolites of mature Kurdish ewes and lambs birth weight

عملکرد Performance	تیمارها Treatments			SEM ¹	P value
	شاهد Control	دانه کلزای خام Raw rapeseed	دانه کلزای میکرونیزه Micronized rapeseed		
وزن میش‌ها (کیلوگرم) Ewes weight (kg)					
وزن اولیه Initial body weight	37.18	37.92	37.75	1.23	0.34
پس از زایمان After lambing	42.14 ^c	44.32 ^b	45.95 ^a	0.07	0.001
امتیاز وضعیت بدنی Body condition score					
امتیاز وضعیت بدنی اولیه Initial body condition score	1.79	1.95	1.83	0.88	0.81
پس از زایمان After lambing	2.49 ^c	2.81 ^a	2.66 ^b	0.04	0.03
وزن تولد بره‌ها (کیلوگرم) Lambs birth wight (kg)					
وزن بره‌ها Lambs wight	3.52 ^b	4.27 ^a	4.32 ^a	0.21	0.01
بره‌های ماده Female lambs	3.43 ^b	4.04 ^a	4.19 ^a	0.21	0.04
بره‌های نر Male lambs	3.60 ^b	4.50 ^a	4.43 ^a	0.31	0.02

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

می‌یابد. عبدالحمید و همکاران (Abd El-Hamid et al., 2016) بیان نمودند که ارائه مکمل‌های چربی به‌ویژه اسید اولئیک محافظت شده قبل و بعد از جفت‌گیری باعث افزایش غلظت تری‌گلیسرید می‌شود.

ازت اورهای خون در میش‌های تغذیه شده با جیره حاوی دانه کلزای خام یا میکرونیزه در روز جفت‌گیری ($P < 0.0001$) و نه روز پس از آن ($P < 0.0001$) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. کاهش غلظت ازت اورهای مشاهده شده با افزودن دانه کلزای خام یا میکرونیزه در مطالعه حاضر ممکن است به‌دلیل تأثیر دانه کلزا در مهار جمعیت پروتوزوای شکمبه و افزایش بازدهی مصرف پروتئین باشد (Petit et al., 2002). افزایش اسیدهای چرب غیراشباع باعث بهبود وضعیت انرژی دام، کاهش میزان دی‌آمیناسیون اسیدهای آمینه بافتی برای تأمین انرژی و کاهش سطح ازت اورهای خون می‌گردد.

دقیق کیا و همکاران (Daghighi Kia et al., 2012) گزارش نمودند که استفاده از مکمل‌های مختلف دانه روغنی در جیره فلاشینگ موجب افزایش کلسترول پلاسما می‌گردد. در مطالعه حاضر، یک گرایش برای افزایش غلظت کلسترول در گروه‌های دریافت‌کننده جیره حاوی دانه کلزای خام یا میکرونیزه در روز جفت‌گیری ($0.08/P =$) و نه روز پس از آن ($P = 0.07$) مشاهده شد. غلظت تری‌گلیسرید پلاسمای خون در روز جفت‌گیری ($0.0001/P <$) و نه روز پس از آن ($P < 0.0001$) به‌طور معنی‌داری با افزودن دانه کلزای خام یا میکرونیزه به جیره افزایش یافت. افزایش سطح چربی جیره ممکن است دلیل افزایش مشاهده شده در غلظت تری‌گلیسرید پلاسمای خون در تیمارهای مذکور باشد. در توافق با نتایج ما پتیت و همکاران (Petit et al., 2002) و خراسانی و همکاران (Khorasani et al., 1992) مشاهده نمودند که سطح تری‌گلیسرید پلاسمای خون با افزودن دانه کلزا به جیره افزایش

جدول ۴- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های پلاسمای میش‌های بالغ کردی (میلی گرم در دسی لیتر)
Table 4- Effect of experimental treatments on the plasma metabolites in mature Kurdish ewes (mg/dL)

فراسنجه‌های پلازما Plasma metabolites	تیمارها Treatments			SEM ¹	P value
	شاهد Control	دانه کلزای خام Raw rapeseed	دانه کلزای میکرونیزه Micronized rapeseed		
روز جفت‌گیری Day of mating					
گلوکز Glucose	68.63 ^b	78.60 ^a	79.24 ^a	0.97	<0.0001
کلسترول Cholesterol	67.45	73.12	73.61	3.10	0.08
تری‌گلیسرید Triglycerides	34.83 ^b	41.93 ^a	42.12 ^a	0.66	<0.0001
ازت اورده‌ای BUN	14.47 ^a	12.26 ^b	11.97 ^b	0.66	<0.0001
۹ روز پس از جفت‌گیری 9 days after mating					
گلوکز Glucose	64.40 ^b	73.27 ^a	75.31 ^a	1.22	<0.0001
کلسترول Cholesterol	59.19	62.61	64.82	2.97	0.07
تری‌گلیسرید Triglycerides	37.52 ^b	43.52 ^a	44.58 ^a	0.86	<0.0001
ازت اورده‌ای BUN	19.92 ^a	16.21 ^b	16.09 ^b	0.60	<0.0001

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.

آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات اکسیداز احیا شده (NAD(P)H) باعث تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌گردد که تعدیل‌کننده مهم تحریک ترشح انسولین توسط گلوکز (GSIS) است (Morgan et al., 2007; Graciano et al., 2011; Santos et al., 2011). افزایش تولید ROS در میتوکندری سلول‌های بتا پانکراس موجب افزایش ترشح انسولین می‌شود (Morgan et al., 2009). بنابراین، بیشترین غلظت انسولین در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای میکرونیزه در مطالعه حاضر می‌تواند به افزایش میزان اسید اولئیک عبوری در نتیجه میکرونیزاسیون (Zarnegar et al., 2024) مرتبط باشد. غلظت استروژن در روز جفت‌گیری ($P < 0.0001$) و همچنین غلظت پروژسترون در روز نهم جفت‌گیری ($P < 0.0001$) و ۳۰ روز پس از آن ($P < 0.0001$) به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر

غلظت انسولین در روز جفت‌گیری ($P < 0.0001$) و همچنین نه روز پس از آن ($P < 0.0001$) به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت (جدول ۵). جیره‌های فلاشینگ می‌توانند از طریق محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد ترشح هورمون‌های انسولین، استروژن و پروژسترون را تحت تأثیر قرار دهند (Scaramuzzi et al., 2006). افزایش غلظت گلوکز در تیمارهای حاوی دانه کلزا می‌تواند یک دلیل محتمل برای افزایش مشاهده شده در غلظت انسولین در مطالعه حاضر باشد. اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر می‌توانند موجب تغییر عملکرد و ساختار لیپیدی غشای پلاسمایی سلول‌های بتا در پانکراس شوند و بدین طریق باعث افزایش انتقال گلوکز توسط گلوکز ترانسپورتر ۲ (GLUT2)^۱ از عرض غشاء سلولی و کانال‌های یونی غشاء سلولی و در نهایت، افزایش ترشح انسولین گردند (Burns, 2011). اسید اولئیک توسط نیکوتین

2- Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate

3- Reactive Oxygen Species

4- Glucose Stimulated Insulin Secretion

1- Glucose Transporter

میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای خام (۱/۵۷) و گروه شاهد (۱/۲۵) مشاهده شد ($P < ۰/۰۰۰۱$). قطر فولیکول‌های با اندازه بزرگ در میش‌هایی که جیره حاوی دانه کلزای میکرونیزه (۵/۷۰ میلی‌متر) دریافت کرده بودند در مقایسه با میش‌های گروه کلزای خام (۵/۳۵ میلی‌متر) و شاهد (۴/۲۶ میلی‌متر) بیشتر بود ($P < ۰/۰۰۰۱$). تغذیه جیره حاوی دانه کلزای خام یا میکرونیزه در مقایسه با جیره شاهد باعث تشکیل جسم زرد با اندازه بزرگ‌تر گردید ($P < ۰/۰۰۰۱$). مطابق با نتایج مطالعه حاضر، ابابکری و همکاران (Ababakri et al., 2021) اظهار داشتند که تغذیه جیره حاوی منابع اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیر باعث افزایش تعداد فولیکول‌های متوسط، افزایش تعداد و قطر فولیکول‌های بزرگ در روز جفت‌گیری می‌شود. اگرچه این سازوکار به‌طور کامل درک نشده است، با این حال، یکی از دلایل افزایش تعداد فولیکول‌های بزرگ در تخمدان میش‌های تغذیه شده با دانه کلزا می‌تواند تأثیر اسید اولئیک بر افزایش سیالیت فسفولیپیدهای غشاء سلول‌های تخمدان (که برای عملکرد بهینه سلول ضروری است) آن‌ها باشد که می‌تواند رشد و توسعه فولیکولی را از طریق افزایش حساسیت (پاسخ) سلول‌های فولیکولی به هورمون FSH و LH افزایش دهد (Zeron et al., 2002). افزایش سیالیت غشاء با بهبود تبادلات غشاء می‌تواند رشد و نمو فولیکولی را بهبود بخشد (Zeron et al., 2002) که ممکن است تا حدی تعداد بیشتر فولیکول‌های تخمدان میش‌های تغذیه شده با دانه کلزا به‌ویژه دانه کلزای میکرونیزه را توضیح دهد. افزایش قطر فولیکول بزرگ در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای میکرونیزه ممکن است تا حدی به غلظت بالاتر استروژن پلاسمای آن‌ها نسبت داده شود، زیرا هم ترشح LH از غده هیپوفیز قدامی و هم تعداد گیرنده‌های LH در سلول‌های گرانولوزا در پاسخ به استرادیول خون افزایش می‌یابد، که به نوبه خود می‌تواند باعث تقویت رشد فولیکول غالب شود (Rosenfeld et al., 2001). افزایش مشاهده شده در اندازه جسم زرد در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای میکرونیزه یا خام می‌تواند به تشکیل فولیکول‌های با اندازه بزرگ‌تر نسبت داده شود. تخمک‌گذاری از فولیکول‌های بزرگ‌تر باعث تشکیل جسم زرد بزرگ‌تر می‌شود که این امر به نوبه خود باعث تولید و ترشح پروژسترون بیشتر و در نهایت، افزایش نرخ آبستنی می‌گردد (Mattos et al., 2000).

تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (جدول ۵). در مطالعه حاضر، بیشترین غلظت استروژن و پروژسترون در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای میکرونیزه مشاهده شد. در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که لپتین در فیزیولوژی طبیعی سیستم تولیدمثلی با فعل و انفعالات پیچیده در تمام سطوح محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تخمدان (اثرات تحریک‌کننده در هیپوتالاموس و هیپوفیز و فعالیت‌های بازدارنده در تخمدان) نقش مهمی را ایفا می‌نماید. بنابراین، لپتین موجب ارتباط وضعیت متابولیسمی با محور تولیدمثلی می‌گردد (Michalakakis et al., 2013; Tessier et al., 2013). هورمون لپتین به‌طور مستقیم با اتصال به گیرنده خود در هیپوتالاموس و به‌طور غیرمستقیم به‌واسطه کیسپتین و پرواوپومیلانوکورتین موجب تسریع در ترشح GnRH^۱ از هیپوتالاموس می‌گردد (Yamada et al., 2007). لپتین علاوه بر اثر تحریک‌کننده در سطح هیپوتالاموس، با تأثیر مستقیم بر هیپوفیز قدامی موجب ترشح GnRH و متعاقباً LH^۲ و FSH^۳ می‌گردد (Jin et al., 1999). هورمون لپتین با فعال‌سازی نیتریک‌اکسید سنتاز در گنادوتروپ‌ها باعث ترشح LH و FSH و متعاقباً استروژن و پروژسترون می‌شود. همان‌طور که پیش‌تر بیان شد، اسید اولئیک علاوه بر تأثیر مستقیم بر سنتز هورمون لپتین، قادر به تقلید از وظایف هورمون مذکور است (Obici et al., 2002). بنابراین، افزایش غلظت استروژن و پروژسترون خون در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزا ممکن است به دلیل تأثیر محتوای اسید اولئیک دانه کلزا در ترشح هورمون لپتین باشد. افزایش معنی‌دار غلظت استروژن و پروژسترون خون در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای میکرونیزه در مقایسه با میش‌هایی که دانه کلزای خام دریافت کردند، منعکس‌کننده فراهمی سطوح بالایی از اسید اولئیک در روده باریک به‌واسطه میکرونیزاسیون است (Zarnegar et al., 2024). افزایش غلظت هورمون‌های انسولین، استروژن و پروژسترون در تیمارهای حاوی دانه کلزا در توافق با نتایج میرزایی الموتی و همکاران (Mirzaei-Alamouti et al., 2018) است که اظهار داشتند مصرف جیره حاوی اسیدهای چرب غیراشباع بلندزنجیر موجب افزایش غلظت هورمون‌های مذکور در میش می‌گردد.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر تعداد و قطر فولیکول‌های تخمدان و قطر جسم زرد در جدول ۶ گزارش شده است. تعداد فولیکول‌های متوسط در روز جفت‌گیری در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای خام یا میکرونیزه در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < ۰/۰۰۰۱$). بیشترین تعداد فولیکول‌های بزرگ در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای میکرونیزه (۱/۸۶) و سپس به‌ترتیب در

- 1- Gonadotropin-Releasing Hormone
- 2- Luteinizing Hormone
- 3- Follicle-Stimulating Hormone

جدول ۵- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت هورمون‌های پلازما میش‌های بالغ کردی

Table 5- Effect of experimental treatments on the plasma hormones in mature Kurdish ewes

هورمون Plasma metabolites	تیمارها Treatments			SEM ¹	P value
	شاهد Control	دانه کلزای خام Raw rapeseed	دانه کلزای میکرونیزه Micronized rapeseed		
روز جفت‌گیری Day of mating					
انسولین (واحد بین المللی در میلی لیتر) Insulin (IU/mL)	9.16 ^c	11.23 ^b	12.66 ^a	0.65	<0.0001
استروژن (پیکوگرم در میلی لیتر) Estradiol (pg/mL)	30.61 ^c	55.78 ^b	59.89 ^a	0.83	<0.0001
پروژسترون (نانوگرم در میلی لیتر) Progesterone (ng/mL)	1.17	1.25	1.29	0.54	0.48
نه روز پس از جفت‌گیری 9 days after mating					
انسولین (واحد بین المللی در میلی لیتر) Insulin (IU/mL)	10.31 ^c	12.65 ^b	14.73 ^a	0.72	<0.0001
استروژن (پیکوگرم در میلی لیتر) Estradiol (pg/mL)	20.24	21.21	21.49	0.69	0.27
پروژسترون (نانوگرم در میلی لیتر) Progesterone (ng/mL)	4.53 ^c	6.04 ^b	7.46 ^a	0.66	<0.0001
۳۰ روز پس از جفت‌گیری 30 days after mating					
پروژسترون (نانوگرم در میلی لیتر) Progesterone (ng/mL)	7.11 ^c	10.39 ^b	12.00 ^a	0.46	<0.0001

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

¹ خطای استاندارد تیمارها.

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

¹ Standard Error of treatments.

کلزا در مطالعه حاضر می‌تواند دلیل دیگری بر افزایش مشاهده شده در نرخ باروری باشد. استفاده از دانه کلزای میکرونیزه در جیره، فاصله بره‌زایی میش‌ها را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($P < 0.0001$). مصرف دانه‌های روغنی از سه هفته قبل از معرفی قوچ‌ها موجب افزایش بروز علائم فحلی و کاهش تعداد میش‌های با تخمک‌گذاری خاموش می‌گردد (Ben-Khlil et al., 2017). با این حال، علی‌رغم ارائه جیره‌های حاوی دانه کلزا از سه هفته قبل از قوچ‌اندازی، کاهش معنی‌دار فاصله زایمان تنها در میش‌های تغذیه شده با جیره حاوی دانه کلزای میکرونیزه ممکن است به افزایش میزان اسید اولئیک عبوری از شکمبه در نتیجه میکرونیزاسیون (Zarnegar et al., 2024) و تأثیر آن بر القاء و همزمان‌سازی فحلی‌ها مرتبط باشد.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد تولیدمثلی میش‌های بالغ کردی در جدول ۷ ارائه شده است. افزودن دانه کلزای خام یا میکرونیزه به جیره نرخ باروری را به‌طور معنی‌داری افزایش داد ($P = 0.03$). در تأیید نتایج حاصل از مطالعه حاضر، سامکیت-آساوچیپ (Somchit-Assavacheep, 2011) مشاهده نمودند که تغذیه میش‌های دارای وضعیت بدنی ضعیف با جیره فلاشینگ حاوی منابع انرژی برای چند هفته موجب تحریک علایم فحلی، جفت‌گیری و افزایش نرخ باروری می‌گردد. سطوح بالاتر گلوکز در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای خام یا میکرونیزه به‌وضوح نشان‌دهنده بهبود وضعیت متابولیکی میش‌ها و اثرات مثبتی است که ممکن است بر تولیدمثل و عمدتاً باروری آن‌ها داشته باشد (Habibizad et al., 2015). افزایش غلظت پروژسترون در میش‌های تغذیه شده با دانه

جدول ۶- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر تعداد و قطر فولیکول و قطر جسم زرد در میش‌های بالغ کردی

Table 6- Effect of experimental treatments on the mean number and diameter follicles and corpus luteum diameter in mature Kurdish ewes

متغیر Indices	تیمارها Treatments			SEM ¹	P value
	شاهد Control	دانه کلزای خام Raw rapeseed	دانه کلزای میکرونیزه Micronized rapeseed		
روز جفت‌گیری Day of mating					
تعداد فولیکول Follicle number					
کوچک (کوچک‌تر از سه میلی‌متر) Small (<3 mm)	4.54	4.78	4.98	0.76	0.15
متوسط (۳-۴ میلی‌متر) Medium (3-4 mm)	2.84 ^b	3.68 ^a	3.91 ^a	0.68	<0.0001
بزرگ (بزرگ‌تر از چهار میلی‌متر) Large (> 4 mm)	1.25 ^c	1.57 ^b	1.86 ^a	0.09	<0.0001
کل Total	8.63	10.03	10.75	1.29	0.20
قطر فولیکول Follicle diameter					
کوچک (کوچک‌تر از سه میلی‌متر) Small (<3 mm)	2.46	2.54	2.64	0.60	0.43
متوسط (۳-۴ میلی‌متر) Medium (3-4 mm)	3.52	3.68	3.70	0.85	0.37
بزرگ (بزرگ‌تر از چهار میلی‌متر) Large (> 4mm)	4.26 ^c	5.35 ^b	5.70 ^a	0.07	<0.0001
نه روز پس از جفت‌گیری 9 days after mating					
قطر جسم زرد (میلی‌متر) Corpus luteum diameter (mm)	6.32 ^b	7.74 ^a	8.43 ^a	0.44	<0.0001

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.

بزرگ در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای میکرونیزه ممکن است با افزایش تعداد فولیکول‌های قبل از تخمک‌گذاری، نرخ بره‌زایی و دوقلو زایی را افزایش دهد. نرخ بیشتر دو قلو زایی در گروه تغذیه شده با دانه کلزای میکرونیزه می‌تواند به دلیل افزایش پالس‌های LH و متعاقباً افزایش قطر فولیکول‌ها باشد (De Fries et al., 1998). افزودن دانه‌های روغنی به جیره به واسطه برخی از متابولیت‌ها و هورمون‌های متابولیکی که در ترشح GnRH مؤثر هستند، می‌تواند موجب رشد و توسعه فولیکول‌ها و در نهایت، افزایش نرخ بره‌زایی و دوقلو زایی گردد (Daghigh Kia et al., 2012).

اسید اولئیک با کنترل نورواندوکروینی تولیدمثل، به‌طور مستقیم موجب تنظیم ترشح گنادوتروپین از هیپوفیز می‌گردد که به نظر می‌رسد، مستقل از عملکرد هیپوتالاموس است. اسید چرب مذکور از طریق افزایش ترشح هورمون‌های مهم دخیل در تولیدمثل از جمله LH نیز می‌تواند موجب افزایش بروز علائم فحلی گردد (Hightshoe et al., 1991). نرخ بره‌زایی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P = 0.01$). نرخ دو قلو زایی در میش‌های تغذیه شده با دانه کلزای میکرونیزه در مقایسه با میش‌های تغذیه شده با جیره حاوی دانه کلزای خام و جیره پایه به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P = 0.04$). افزایش مشاهده شده در نرخ بره‌زایی در مطالعه حاضر احتمالاً به دلیل افزایش عملکرد تخمدان و تغییر در سنتز استروئیدها است (Daghigh Kia et al., 2012). افزایش تعداد فولیکول‌های

جدول ۷- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر پارامترهای تولیدمثلی میش‌های بالغ کردی (درصد)

Table 7- Effect of experimental treatments on the reproductive parameters in mature Kurdish ewes (%)

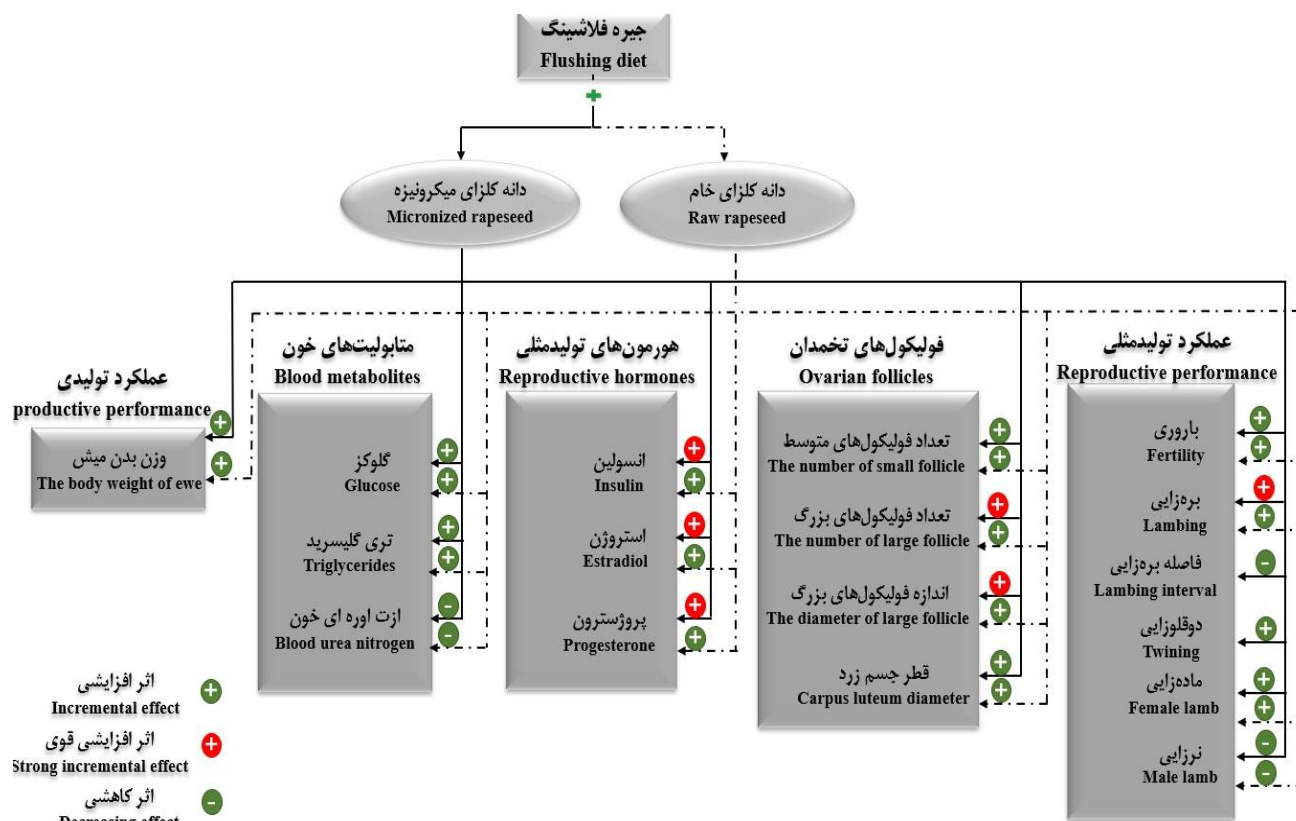
شاخص Traits	تیمارها Treatments			P value
	شاهد Control	دانه کلزای خام Raw rapeseed	دانه کلزای میکرونیزه Micronized rapeseed	
نرخ باروری Fertility rate	68.42 ^b	83.33 ^a	88.89 ^a	0.03
فاصله بره زایی (روز) Lambing interval (day)	53 ^a	50 ^a	36 ^b	<0.0001
نرخ بره زایی Lambing rate	73.68 ^c	94.44 ^b	116.67 ^a	0.01
نرخ دو قلو زایی Twining rate	7.69 ^b	13.33 ^b	31.25 ^a	0.04
نرخ ماده زایی Female lamb rate	35.71 ^b	52.94 ^a	61.90 ^a	0.02
نرخ نر زایی Male lamb rate	64.29 ^a	47.06 ^b	38.10 ^b	0.02

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

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

نقش تعیین‌کننده‌ای در افزایش درصد بره‌های ماده داشته باشند. تصویر کلی از تأثیر تیمارهای حاوی دانه کلزای خام یا میکرونیزه فلیک بر صفات تولیدی و تولیدمثلی میش‌های بالغ کردی در شکل ۱ نشان داده شده است. در سیستم‌های سنتی پرورش گوسفند، به دلیل عدم استفاده از مکمل‌های جیره‌ای، ضریب رشد و متعاقباً بازدهی تولیدمثلی پایین است. با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر، ارائه سطوح بیشتر انرژی و پروتئین به واسطه افزودن دانه کلزای خام یا میکرونیزه به جیره می‌تواند عملکرد تولیدی و تولیدمثلی را با حداقل هزینه افزایش دهد. همان‌طور که توسط زرنکار و همکاران (Zarnegar et al., 2024) گزارش شد، فرآیند میکرونیزاسیون می‌تواند موجب محافظت از اسیدهای چرب غیراشباع به‌ویژه اسید اولئیک در برابر بیوهیدروژناسیون شکمبه شود. بنابراین، در حیوانات پرمصرف که مدت زمان ماندگاری ذرات خوراکی در شکمبه آن‌ها کمتر است، احتمال افزایش غلظت اسیدهای چرب غیراشباع ورودی به دوازدهه بیشتر خواهد بود، لذا تأثیر قوی‌تر جیره حاوی دانه کلزای میکرونیزه بر هورمون‌ها و برخی از شاخص‌های تولیدمثلی در مطالعه حاضر می‌تواند به افزایش اسید اولئیک ورودی به روده باریک در اثر میکرونیزاسیون نسبت داده شود.

تغذیه میش‌ها با جیره حاوی دانه کلزای خام یا میکرونیزه باعث افزایش معنی‌دار درصد ماده‌زایی ($P = 0.02$) و کاهش معنی‌دار درصد نر زایی ($P = 0.02$) شد. نوع مکمل چربی مصرف شده (اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب غیراشباع بلندزنجیر) در زمان جفت‌گیری به‌عنوان عامل اصلی تعیین‌کننده برای جنسیت فرزندان شناخته شده است (Green et al., 2008). مکمل جیره‌ای اسیدهای چرب غیراشباع بلندزنجیر ممکن است از طریق تأثیر بر رویدادهای تولیدمثلی و pH واژن در زمان فحلی، تغییر در حساسیت به غلظت گلوکز، تغییر غلظت‌های هورمونی، تأثیر بر برهم‌کنش اسپرم‌های دارای کروموزوم X و Y با تخمک، جنسیت نتاج را تحت تأثیر قرار دهد (Green et al., 2008; Rosenfeld Clayton et al., 2016; et al., 2001). افزایش غلظت اسید اولئیک و اسید لینولئیک جیره در زمان جفت‌گیری می‌تواند نسبت ماده‌ها را در فرزندان حاصل افزایش می‌دهد (Clayton et al., 2016). بنابراین، ارائه جیره غنی از اسید اولئیک و اسید لینولئیک به‌واسطه افزودن دانه کلزای خام یا میکرونیزه ممکن است دلیل انحراف نسبت جنسی به سمت بره‌های ماده در مطالعه حاضر باشد. تأخیر در بلوغ اووسیت‌ها و فولیکول‌های غالب می‌تواند یک دلیل دیگر برای افزایش احتمال تشکیل جنین نر در اکثر گونه‌ها از جمله گوسفند باشد (Fountain et al., 2008). با توجه به نقش اسید اولئیک در حمایت پاراکرینی از رشد و بلوغ اووسیت، فولیکول و تخمک (Dunning et al., 2014)، انتظار می‌رود که تغذیه دانه‌های روغنی حاوی مقدار بالایی از اسید اولئیک



شکل ۱- تأثیر تیمارهای حاوی دانه کلزای خام و میکرونیزه فلیک بر صفات تولیدی و تولیدمثلی میش های بالغ کردی

Figure 1- The effect of diets containing raw and micronized rapeseeds on production and reproduction performance of mature Kurdish ewes

نتیجه گیری کلی

به طور کلی، ارائه دانه کلزای خام و میکرونیزه فلیک با تأمین سطوح بیشتری از انرژی و پروتئین و با تأثیر مثبت بر هورمون های کلیدی دخیل در تولیدمثل می تواند عملکرد تولیدی و تولیدمثلی میش ها را بهبود بخشد. کاهش غلظت ازت اوره ای خون در میش های تغذیه شده با دانه کلزای خام و میکرونیزه نشان می دهد که این حیوانات ممکن است در وضعیت مطلوب تری برای حمایت از رشد جنین و حفظ آبستنی خود باشند. با توجه به نقش اسید اولئیک در القا و همزمان سازی فحلی، محافظت از این اسید چرب در برابر بیوهیدروژناسیون شکمبه ای از طریق میکرونیزاسیون دانه کلزا می تواند گامی آشکار به سوی جایگزینی هورمون ها و داروها برای

کنترل و بهبود بازدهی تولیدمثلی نشخوارکنندگان کوچک باشد. علاوه بر این، کاهش فاصله زایمان و افزایش دوقلو زایی به واسطه تغذیه دانه کلزای میکرونیزه می تواند دستاورد مهمی در جهت افزایش راندمان تولیدمثلی گله با هدف سه مرتبه زایش در دو سال و متعاقباً افزایش سودآوری باشد.

سپاسگزاری

این پروژه با حمایت مالی مرکز مطالعات و همکاری های علمی بین المللی وزارت علوم تحقیقات و فناوری و همچنین دانشگاه فردوسی مشهد (طرح پژوهشی نوع ۳ با شماره ۵۳۹۲۸) انجام شد.

References

- Ababakri, R., Dayani, O., Khezri, A., & Naserian, A. A. (2021). Effects of extruded flaxseed and dietary rumen undegradable protein on reproductive traits and the blood metabolites in Baluchi ewes. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 30(3), 214–222. <http://dx.doi.org/10.22358/jafs/139153/2021>
- AOAC International. (1990). Official Methods of Analysis. 15th ed. AOAC International, Arlington, V. Kenneth.

1. <http://dx.doi.org/10.7312/seir17116-004>.
3. AOAC International. (2000). Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
4. Abd El-Hamid, I. S., Nour El-Din, A. N. M., Zaghloul, A. A., El-Bahrawy, K. A., Elshahawy, I. I., Allam, A. M., EL-Zarkouny, S. Z., & Hassan, G. A. (2016). Effects of calcium salts of fatty acids rich in palmitic and oleic fatty acids on reproduction and serum biochemistry in Barki ewes. *Small Ruminant Research*, 144, 113–118. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.08.001>.
5. Ben-Khlil, Z., Khnissi, S., Rekik, M., & Lassoued, N. (2017). Feed supplementation improves estrus response and increases fertility of sheep induced to breed out of season. *Tropical Animal Health and Production*, 49(3), 607–612. <http://dx.doi.org/10.1007/s11250-017-1236-5>.
6. Burns, T. (2011). Fatty Acids and Lipogenesis in Ruminant Adipocytes. Retrieved from https://tigerprints.clemson.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1840&context=all_dissertations.
7. Butler, W. R. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 60–61, 449–457. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00076-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00076-2).
8. Chashnidel, Y., Aghajani, M., & Dirandeh, E. (2016). Effects of different source of oilseeds on reproductive performance of Zell ewes. *Animal Science Journal (Pajouhesh and Sazandegi)*, 11(111), 35–44. (In Persian).
9. Chmielewska, A., Kozłowska, M., Rachwał, D., Wnukowski, P., Amarowicz, R., Nebesny, E., & Rosicka-Kaczmarek, J. (2021). Canola/rapeseed protein–nutritional value, functionality and food application: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(22), 3836–3856. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2020.1809342>.
10. Clayton, E. H., Friend, M. A., & Wilkins, J. F. (2016). Increasing the proportion of female lambs by feeding Merino ewes a diet high in omega-6 fatty acids around mating. *Animal Production Science*, 56(7), 1174–1184. <http://dx.doi.org/10.1071/AN14803>.
11. Daghigh Kia, H., Mohamadi Chapdareh, W., Hossein Khani, A., Moghaddam, G., Rashidi, A., Sadri, H., & Alijani, S. (2012). Effects of flushing and hormonal treatment on reproductive performance of Iranian Markhoz goats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96(6), 1157–1164. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0396.2011.01234.x>.
12. De Fries, C. A., Neuendorff, D. A., & Randel, R. D. (1998). Fat supplementation influences postpartum reproductive performance in brahman cows. *Journal of Animal Science*, 76(3), 864–870. <https://doi.org/10.2527/1998.763864x>.
13. Dunning, K. R., Russell, D. L., Robker, R. L. (2014). Lipids and oocyte developmental competence: The role of fatty acids and β -oxidation. *Reproduction*, 148(1), 1470–1626. <http://dx.doi.org/10.1530/REP-13-0251>.
14. El-ghousein, S. S. (2010). Effect of some medicinal plants as feed additives on lactating awassi ewe performance, milk composition, lamb growth and relevant blood items. *Egyptian Journal of Animal Production*, 47(1), 37–49. <http://dx.doi.org/10.21608/ejap.2010.94040>.
15. Ferreira, M^o. S., de Oliveira, D. N., Gonçalves, R. F., & Catharino, R. R. (2014). Lipid characterization of embryo zones by silica plate laser desorption ionization mass spectrometry imaging (SP-LDI-MSI). *Analytica Chimica Acta*, 807, 96–102. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2013.11.033>.
16. Fountain, E. D., Mao, J., Whyte, J. J., Mueller, K. E., Ellersieck, M. R., Will, M. J., Roberts, R. M., MacDonald, R., & Rosenfeld, C. S. (2008). Effects of diets enriched in omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids on offspring sex-ratio and maternal behavior in mice. *Biology of Reproduction*, 78(2), 211–217. <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.107.065003>.
17. Freitas, J. E., Takiya, C. S., Del Valle, T. A., Barletta, R. V., Venturelli, B. C., Vendramini, T. H. A., Mingoti, R. D., Calomeni, G. D., Gardinal, R., Gandra, J. R., Bettero, V. P., Ferreira de Jesus, E., Oliveira, M. D. S., & Rennó, F. P. (2018). Ruminant biohydrogenation and abomasal flow of fatty acids in lactating cows fed diets supplemented with soybean oil, whole soybeans, or calcium salts of fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 101(9), 7881–7891. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13666>.
18. Graciano, M. F., Santos, L. R., Curi, R., & Carpinelli, A. R. (2011). NAD(P)H oxidase participates in the palmitate-induced superoxide production and insulin secretion by rat islets. *Journal of Cellular Physiology*, 226, 1110–1117.
19. Gonthier, C., Mustafa, A. F., Berthiaume, R., Petit, H. V., Martineau, R., & Ouellet, D. R. (2004). Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87(6), 1854–1863. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73343-3](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73343-3).
20. Green, M. P., Spate, L. D., Parks, T. E., Kimura, K., Murphy, C. N., Williams, J. E., Kerley, M. S., Green, J. A., Keisler, D. H., & Roberts, R. M. (2008). Nutritional skewing of conceptus sex in sheep: Effects of a maternal diet enriched in rumen-protected polyunsaturated fatty acids (PUFA). *Reproductive Biology and Endocrinology*, 6(21). <http://dx.doi.org/10.1186/1477-7827-6-21>.
21. Habibizad, J., Riassi, A., Kohram, H., & Rahmani, H. R. (2015). Effect of long-term or short-term supplementation of high energy or high energy-protein diets on ovarian follicles and blood metabolites and hormones in ewes.

- Small Ruminant Research*, 132, 37-43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.10.004> .
22. Hess, B. W., Lake, S. L., Scholljegerdes, E. J., Weston, T. R., Nayigihugu, V., Molle, J. D. C., & Moss, G. E. (2005). Nutritional controls of beef cow reproduction. *Journal of Animal Science*, 83, E90-E106. http://dx.doi.org/10.2527/2005.8313_supplE90x .
23. Hess, B.W., Moss, G. E., and Rule, D. C. (2008). A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *Journal of Animal Science*, 86, 188-204.
24. Hightshoe, R. B., Cochran, R. C., Corah, L. R., Kiracofe, G. H., Harmon, D. L., & Perry, R. C. (1991). Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows. *Journal of Animal Science*, 69(10), 4097-4103. <http://dx.doi.org/10.2527/1991.69104097x> .
25. Jalilian, M. T., & Moeini, M. M. (2013). The effect of body condition score and body weight of sanjabi ewes on immune system, productive and reproductive performance. *Acta Agriculturae Slovenica*, 102(2), 99-106. <http://dx.doi.org/10.2478/acas-2013-0033>.
26. Jin, L., Burguera, B. G., Couce, M. E., Scheithauer, B. W., Lamsan, J., Eberhardt, N. L., Kulig, E., & Lloyd, R. V. (1999). Leptin and leptin receptor expression in normal and neoplastic human pituitary: evidence of a regulatory role for leptin on pituitary cell proliferation. *Journal of Clin Endocrinol Metabolism*, 84, 2903-11.
27. Khorasani, G. R., de Boer, G., Robinson, P. H., & Kennelly, J. J. (1992). Effect of canola fat on ruminal and total tract digestion, plasma hormones, and metabolites in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 75(2), 492-501. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)77786-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77786-8).
28. Leduc, M., Létourneau-Montminy, M. P., Gervais, R., & Chouinard, P. Y. (2017). Effect of dietary flax seed and oil on milk yield, gross composition, and fatty acid profile in dairy cows: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 8906-8927. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-12637>.
29. Lindsay, D. (1980). Biochemistry Department, ARC institute of animal physiology, Babraham, Cambridge CB2 +IT. *Proceedings of the Nutrition Society*, 39(May), 53-59.
30. Martin, G. B., Milton, J. T. B., Davidson, R. H., Banchemo Hunzicker, G. E., Lindsay, D. R., & Blache, D. (2004). Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 82-83(August), 231-245. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.05.014>.
31. Mattos, R., Staples, C. R., & Thatcher, W. W. (2000). Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Reviews of Reproduction*, 5(1), 38-45. <http://dx.doi.org/10.1530/ror.0.0050038>.
32. McCormick, M. E., French, D. D., Brown, T. F., Cuomo, G. J., Chapa, A. M., Fernandez, J. M., Beatty, J. F., & Blouin, D. C. (1999). Crude protein and rumen undegradable protein effects on reproduction and lactation performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 82(12), 2697-2708. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75526-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75526-8).
33. Mirzaei-Alamouti, H., Mohammadi, Z., Shahir, M. H., Vazirigohar, M., & Mansouryar, M. (2018). Effects of short-term feeding of different sources of fatty acids in pre-mating diets on reproductive performance and blood metabolites of fat-tailed Iranian Afshari ewes. *Theriogenology*, 113, 85-91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.02.007>.
34. Michalakakis, K., Mintziori, G., Kaprara, A., Tarlatzis, B. C., & Goulis, D. G. (2013). The complex interaction between obesity, metabolic syndrome and reproductive axis: A narrative review. *Metabolism*, 62(4), 457-78. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2012.08.012>.
35. Morgan, D., Oliveira-Emilio, H. R., Keane, D., Hirata, A. E., Santos, d., Rocha, M., Bordin, S., Curi, R., Newsholme, P., & Carpinelli, A. R. (2007). Glucose, palmitate and pro-inflammatory cytokines modulate production and activity of a phagocyte-like NADPH oxidase in rat pancreatic islets and a clonal β -cell line. *Diabetologia*, 50, 359-369.
36. Morgan, D., Rebelato, E., Abdulkader, F., Graciano, M. F., Oliveira- Emilio, H. R., Hirata, A. E., Rocha, M. S., Bordin, S., Curi, R., & Carpinelli, A. R. (2009). Association of NAD(P)H oxidase with glucose-induced insulin secretion by pancreatic β -cells. *Endocrinology*, 150, 2197-2201.
37. Negussie, E., Rottmann, O. J., Pirchner, F., & Rege, J. E. O. (2003). Patterns of growth and partitioning of fat depots in tropical fat-tailed Menz and Horro sheep breeds. *Meat Science*, 64, 491-498.
38. Njoya, A., Awa, D. N., & Chupamom, J. (2005). The effects of a strategic supplementation and prophylaxis on the reproductive performance of primiparous Fulbe ewes in the semi-arid zone of Cameroon. *Small Ruminant Research*, 56(1-3), 21-29. [http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00010-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00010-5).
39. Obici, S., Feng, Z., Morgan, K., Stein, D., Karkanias, G., & Rossetti, L. (2002). Central administration of oleic acid inhibits glucose production and food intake. *Diabetes*, 51, 271-275.
40. Pérez-Pérez, A., Sánchez-Jiménez, F., Maymó, J., Dueñas, J. L., & Varone, C. (2015). Role of leptin in female reproduction. *Clinical Chemistry Laboratory Medical*, 53(1), 15-28. <http://dx.doi.org/10.1515/cclm-2014-0387> .
41. Petit, H. V., Tremblay, G. F., Tremblay, E., & Nadeau, P. (2002). Ruminal biohydrogenation of fatty acids, protein degradability, and dry matter digestibility of flaxseed treated with different sugar and heat combinations. *Canadian Journal of Animal Science*, 82(2), 241-250. <http://dx.doi.org/10.4141/A01-083> .
42. Raheem, M., Fiaz, M., Mushtaq, M., Niazi, U., Saba, E., & Abdullah, M. (2022). Effect of supplementary crushed

- rapeseed on ewes and lambs performance of salt range sheep. *Pakistan Journal of Zoology*, 1–7.
43. Robinson, R. S., Pushpakumara, P. G. A., Cheng, Z., Peters, A. R., Abayasekara, D. R. E., & Wathes, D. C. (2002). Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction*, 124(1), 119–131. <http://dx.doi.org/10.1530/rep.0.1240119>.
44. Rosenfeld, C. S., Wagner, J. S., Roberts, R. M., & Lubahn, D. B. (2001). Intraovarian actions of oestrogen. *Reproduction*, 122(2), 215–226. <http://dx.doi.org/10.1530/rep.0.1220215>.
45. Santos, L. R.B., Rebelato, E., Graciano, M. F. R., Abdulkader, F., Curi, R., & Carpinelli, A. R. (2011). Oleic acid modulates metabolic substrate channeling during glucose-stimulated insulin secretion via NAD(P)H oxidase. *Endocrinology*, 152(10), 3614–3621. <http://dx.doi.org/10.1210/en.2011-0127>.
46. Scaramuzzi, R. J., Campbell, B. K., Downing, J. A., Kendall, N. R., Khalid, M., Muñoz-Gutiérrez, M., & Somchit, A. (2006). A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition Development*, 46(4), 339–354. <http://dx.doi.org/10.1051/rnd:2006016>.
47. Serna-Saldivar, S. O. (2016). Cereal Grains: Properties, Processing, and Nutritional Attributes, Food Preservation Technology. CRC Press.
48. Somchit-Assavacheep, A., Campbell, B. K., Khalid, M., Kendall, N. R., & Scaramuzzi, R. J. (2013). The effect of short-term nutritional supplementation of ewes with lupin grain (*Lupinus luteus*) on folliculogenesis, the concentrations of hormones and glucose in plasma and follicular fluid and the follicular levels of P 450 aromatase and IRS-1, -2 and -4. *Reproduction*, 145(4), 319–333. <http://dx.doi.org/10.1530/REP-12-0135>.
49. Tam, C. S., Lecoultre, V., & Ravussin, E. (2011). Novel strategy for the use of leptin for obesity therapy. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 11, 1677–1685.
50. Tessier, D. R., Ferraro, Z. M., & Gruslin, A. (2013). Role of leptin in pregnancy: consequences of maternal obesity. *Placenta*, 34(3), 205–11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2012.11.035>.
51. Yagoubi, Y., & Atti, N. (2020). Effects of the fat-tailed ewes' body condition scores at lambing on their metabolic profile and offspring growth. *Arch. Animal Breed*, 63, 183–191. <http://dx.doi.org/10.5194/aab-63-183-2020>.
52. Yamada, S., Uenoyama, Y., Kinoshita, M., Iwata, K., Takase, K., & Matsui, H. (2007). Inhibition of metastin (kisspeptin-54)-GPR54 signaling in the arcuate nucleus-median eminence region during lactation in rats. *Endocrinology*, 148, 2226–32.
53. Vargas-Bello-Pérez, E., de Oca, C. A. G. M., Salas, N. P., Flores, J. G. E., Bernal, J. R., Robles-Jimenez, L. E., & Gonzalez-Ronquillo, M. (2020). Productive performance, milk composition and milk fatty acids of goats supplemented with sunflower and linseed whole seeds in grass silage-based diets. *Animals*, 10(7), 1–12. <http://dx.doi.org/10.3390/ani10071143>.
54. Wang, Y., McAllister, T. A., Pickard, M. D., Xu, Z., Rode, L. M., & Cheng, K. J. (1999). Effect of micronizing full fat canola seed on amino acid disappearance in the gastrointestinal tract of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82(3), 537–544. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75265-3](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75265-3).
55. Zarnegar, Z., Lashkari, S., Ebrahimi, S. H., Valizadeh, R., Naserian, A. A., & Krogh Jensen, S. (2024). Effect of micronization and vitamin E supplementation on ruminal biohydrogenation kinetic of whole flaked rapeseed. *Journal of Applied Animal Research*, 52(1), 1–12. <http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2023.2290124>.
56. Zeron, Y., Sklan, D., & Arav, A. (2002). Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensitivity of ewe oocytes. *Molecular Reproduction and Development*, 61(2), 271–278. <http://dx.doi.org/10.1002/mrd.1156>.



The Effect of Adding Different Levels of Wheat Straw to *Paulownia* (*Paulownia* sp.) Leaf Silage on the Chemical Composition and *in vitro* Fermentation Indices

Ayoub Azizi¹, Alireza Jolazadeh^{2*}, Afrooz Sharifi³, Saeid Heidari⁴

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

2- Animal Science Research Department, Safiabad Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension (AREEO), Dezful, Iran

3- Animal Science Research Department, Khuzestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension (AREEO), Ahvaz, Iran

4- Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

*Corresponding Author's Email: a.jolazadeh@ut.ac.ir

Received: 19-02-2025

Revised: 13-04-2025

Accepted: 13-04-2025

Available Online: 13-04-2025

How to cite this article:

Azizi, A., Jolazadeh, A., Sharifi, A., & Heidari, S. (2025). The effect of adding different levels of wheat straw to paulownia (*Paulownia* sp.) leaf silage on the chemical composition and *in vitro* fermentation indices. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(2), 125-139. (in Persian with English abstract)
<http://doi.org/10.22067/ijasr.2025.92248.1238>

Introduction: The lack of water resources and the high water requirements of common forage plants have created significant limitations in the production of good quality forage in the country. Therefore, it is very important to identify and properly use new forage sources for inclusion in ruminant nutrition. A new fodder source must not only be fast-growing and resistant to hot and drought conditions, but also have acceptable nutritional value. Plants of the *Paulowniaceae* family in China and East Asia are a notable source of fodder in this regard. Several types of *Paulownia* are known in the world. These plants are known for their high growth rate and intense photosynthesis, which are specific to C₄ plants, and with wide leaves with a diameter of about 90 cm. The commercial production of *Paulownia* wood produces a large mass of leaves, which are usually used as natural fertilizers. At the age of about 6 to 8 years, the leaf production of each *Paulownia* tree reaches about 100 kg. When the leaves have a favorable nutritional value, they can be used as fodder in feeding ruminants. In Iran, about 20 million tons of wheat straw (WS) are produced annually, a large part of which is used as the main source of animal feed. However, the nutritional value of these by-products is very low. Wheat straw is deficient in crude protein (CP), mineral elements, and digestible energy, and has low palatability. Considering the large amount of WS produced in the country, and in order to optimize the dry matter (DM) content of silage and prevent wastes from it, it seems that silage with appropriate characteristics and nutritional value can be produced using a mixture of fresh *Paulownia* leaves (PL) and WS. Therefore, the purpose of the present study was to determine the nutritional value of PL and then to investigate the effects of adding different levels of WS to PL silage on chemical composition, gas production parameters, digestibility and fermentation parameters *in vitro*.



©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.2025.92248.1238>

Material and Methods: Paulownia leaves (Tebjoo hybrid variety) and wheat straw (WS) were first collected and analyzed for their chemical composition using standard methods. Subsequently, both forages were chopped into 2–4 cm pieces using a hand chopper to prepare them for silage. Experimental treatments included adding WS at levels 0 (PL silage only), 6, 12, 18, and 24% to PL on DM basis. The materials were compacted in the plastic containers and the silage period lasted two months. Determination of chemical composition of fresh fodders and the nutritional value of experimental silages including chemical composition, *in vitro* gas production and fermentation parameters, digestibility and enzyme activity were carried out.

Results and Discussion: Results showed that DM, organic matter (OM), CP, neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), ether extract (EE), lignin and non-fiber carbohydrates (NFC) content of fresh PL were 266, 911, 173, 402, 201, 35.5, 75.5 and 301 g/kg DM, respectively. The mentioned chemical composition in PL silage were 273, 896, 168, 394, 191, 36.8, 74.6 and 297 g/kg DM, respectively. With increasing the level of WS in PL silage content of DM, NDF, ADF, lignin and pH increased linearly ($P<0.05$), although CP and NFC content and ammonia-N concentration of silage decreased linearly ($P<0.05$). The OM and ether extract content of the experimental silages were not affected ($P<0.05$). With increasing the level of WS in PL silage, gas production at all investigated times, gas production potential (coefficient b), short-chain volatile fatty acids, DM and OM digestibility, estimated metabolizable energy, ammonia-N and microbial protein synthesis decreased linearly ($P<0.05$), but the gas production rate (coefficient c) was not affected ($P<0.05$). With increasing WS to PL silage, the activities of carboxymethyl cellulase, filter paper degradation activity, alpha-amylase and protease activity the culture medium decreased linearly ($P<0.05$), although microcrystalline cellulase enzymes activity was not affected ($P<0.05$).

Conclusion: The current study indicated that fresh or ensiled *Paulownia* leaves (Tebjoo hybrid variety) has a significant nutritional value as a new forage source for use in ruminant nutrition. Moreover, adding different levels of wheat straw to paulownia leaf silage is recommended as a method of enrichment and improving the palatability and nutritional value of wheat straw.

Keywords: Fermentation, Gas production, Nutritive value, *Paulownia* leaf, Ruminants

تأثیر افزودن سطوح مختلف کاه گندم به سیلاژ برگ پالونیا (*Paulownia sp.*) بر ترکیب شیمیایی و شاخص‌های تخمیر برون‌تنی

ایوب عزیزی^۱، علیرضا جولازاده^{۲*}، افروز شریفی^۳، سعید حیدری^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۲۴

چکیده

هدف از انجام مطالعه حاضر، تعیین ارزش غذایی برگ پالونیا (*Paulownia sp.*) و بررسی اثرات افزودن سطوح مختلف کاه گندم به سیلاژ برگ پالونیا بر ترکیب شیمیایی، تولید گاز، هضم‌پذیری و فراسطح‌های تخمیر برون‌تنی در شرایط آزمایشگاهی بود. خانواده پالونیا مختص به گیاهان C₄ بوده، دارای سرعت رشد و فتوسنتز زیاد هستند و قطر برگ‌های آن‌ها به حدود ۹۰ سانتی‌متر می‌رسد. تیمارهای آزمایشی شامل افزودن سطوح صفر (فقط سیلاژ برگ پالونیا)، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ درصد کاه گندم به سیلاژ برگ پالونیا براساس ماده خشک بود. نتایج نشان داد که محتوای ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، عصاره اتری، لیگنین و کربوهیدرات‌های غیرفیبری برگ پالونیای تازه به‌ترتیب برابر ۲۶۶، ۹۱۱، ۱۷۳، ۴۰۲، ۲۰۱، ۳۵/۵، ۷۵/۵ و ۳۰۱ گرم در کیلوگرم ماده خشک بود. این ترکیبات در سیلاژ برگ پالونیا به‌ترتیب برابر ۲۷۳، ۸۹۶، ۱۶۸، ۳۹۴، ۱۹۱، ۳۶/۸، ۷۴/۶ و ۲۹۷ گرم در کیلوگرم ماده خشک به دست آمد. با افزایش سطح کاه گندم به سیلاژ برگ پالونیا، میزان ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، لیگنین و pH به‌طور خطی افزایش یافت ($P < 0.05$)، هرچند میزان پروتئین خام، کربوهیدرات‌های غیرفیبری و غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژ به‌طور خطی کاهش یافت ($P < 0.05$). محتوای ماده آلی و عصاره اتری سیلاژهای آزمایشی تحت تأثیر قرار نگرفت ($P > 0.05$). با افزایش سطح کاه گندم در سیلاژ برگ پالونیا، تولید گاز در همه زمان‌های مورد بررسی، پتانسیل تولید گاز (ضریب b)، غلظت اسیدهای چرب فرار کوتاه‌زنجیر، گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی، تخمین انرژی قابل متابولیسم، غلظت نیتروژن آمونیاکی و سنتز پروتئین میکروبی به‌طور خطی کاهش یافت ($P < 0.05$)، اما نرخ تولید گاز (ضریب c) تحت تأثیر قرار نگرفت ($P > 0.05$). با افزایش نسبت کاه به برگ پالونیا در سیلاژ، فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و فعالیت پروتئازی محیط کشت به‌طور خطی کاهش یافت ($P < 0.05$)، هرچند فعالیت آنزیم میکروکریستالین سلولاز تحت تأثیر قرار نگرفت ($P > 0.05$). در کل، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که برگ پالونیای تازه یا سیلوشده دارای ارزش غذایی قابل توجهی به‌عنوان یک منبع علوفه‌ای جدید جهت کاربرد در تغذیه نشخوارکنندگان است. همچنین، امکان تولید سیلاژهای آزمایشی با مخلوط کردن سطوح مختلف کاه گندم تا سطح ۲۴ درصد ماده خشک در مخلوط سیلاژ وجود دارد و سیلاژهای حاصله دارای ارزش غذایی قابل قبولی هستند.

واژه‌های کلیدی: ارزش غذایی، برگ پالونیا، تخمیر، تولید گاز، نشخوارکنندگان

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲- بخش علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی‌آباد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، دزفول، ایران

۳- بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران

۴- گروه تولیدات گیاهی و ژنتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

(Email: a.jolazadeh@ut.ac.ir)

(*) نویسنده مسئول:

<http://doi.org/10.22067/ijasr.2025.92248.1238>

مقدمه

کمبود منابع آبی و زیاد بودن نیاز آبی عمده گیاهان علوفه‌ای رایج سبب ایجاد محدودیت‌های قابل توجهی در تولید علوفه با کیفیت مناسب در کشور شده است. عوامل دیگری از قبیل نوع ارقام مورد استفاده، مدیریت کاشت، داشت و برداشت علوفه و مدیریت نگهداری آن نیز سبب کاهش سطح و کیفیت علوفه تولیدی شده است. لذا، شناسایی و کاربرد صحیح منابع علوفه‌ای جدید جهت گنجاندن در تغذیه نشخوارکنندگان اهمیت بسیاری دارد (Huang et al., 2021). یک منبع علوفه‌ای جدید باید علاوه بر قابلیت رشد سریع و مقاوم بودن در برابر شرایط گرم و خشکسالی، ارزش غذایی قابل قبولی نیز داشته باشد (Huang et al., 2021). گیاهان خانواده پالونیای (Paulowniaceae) چینی و آسیای شرقی یکی از منابع علوفه‌ای مورد توجه در این زمینه هستند (Garcia-Morote et al., 2014). مهم‌ترین گونه‌های پالونیا شامل گونه آلبیفلوا (*P. albiphloea*)، آسترالیس (*P. australis*)، الونگاتا (*P. elongata*)، فارگسی (*P. fargesii*)، فوتونئی (*P. fortunei*)، کاتالیپوفلیا (*P. catalpifolia*)، کاواکامی (*P. kawakamii*) و تومنتوسا (*P. tomentosa*) می‌باشد (Yadav et al., 2013; Bodnar et al., 2014). گیاهان مذکور دارای سرعت رشد بالا و فتوسنتز شدید هستند (که مختص گیاهان C₄ بوده، و دارای برگ‌های پهن با قطر حدود ۹۰ سانتی‌متر هستند (Icka et al., 2016). کاربرد تنه درخت پالونیا در صنایع چوب می‌باشد، بنابراین تولید تجاری چوب آن، تولید توده بسیار زیادی از برگ را به همراه دارد. میزان برگ تولیدی سالانه هر درخت پالونیای شش تا هشت ساله حدود ۱۰۰ کیلوگرم است. برگ‌ها زمانی که ارزش غذایی مطلوبی دارند، قابل چیدن هستند و ارزش غذایی مناسبی برای استفاده در تغذیه دام دارند. میزان ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، عصاره اتری، الیاف نامحلول در شوینده خنثی^۱، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی^۲، کربوهیدرات‌های غیرفیبری^۳ و نشاسته برگ پالونیا اخیراً در پژوهشی به ترتیب، ۲۷۵، ۸۸۶، ۱۷۵، ۲۴/۴، ۳۴۱، ۲۹۵، ۳۴۵ و ۱۹/۶ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شد و محتوای انرژی خام آن ۱۴/۲ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک به دست آمده است (Huang et al., 2021). از طرفی، به دلیل وجود ترکیبات فنولی از جمله اسیدهای فنولی، ساپونین و فلاونوئید در برگ پالونیا، استفاده از آن در تغذیه نشخوارکنندگان ممکن است سبب بهینه کردن تخمیر شکمبه و ایجاد اثرات مطلوبی بر متابولیسم نیتروژن در شکمبه گردد (Huang et al., 2021; Özelcam et al., 2012).

- 1- Neutral Detergent Fiber (NDF)
- 2- Acid Detergent Fiber (ADF)
- 3- Non-Fiber Carbohydrates (NFC)

در ایران، سالانه حجم زیادی کاه غلات تولید می‌شود. به‌ازای تولید هر کیلوگرم دانه غله حدود ۱ تا ۱/۳ کیلوگرم کاه تولید می‌شود. لذا انتظار بر این است که سالانه حدود ۲۰ میلیون تن کاه در کشور تولید شود. بخش زیادی از کاه غلات و بقایای زراعی به‌عنوان اصلی‌ترین منبع خوراک دام در بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما ارزش غذایی این مواد خوراکی بسیار کم است (Arora et al., 1994). مواد مذکور از نظر پروتئین خام، عناصر معدنی و انرژی قابل هضم کمبود داشته و خوش‌خوراکی کمی نیز دارند. غنی‌سازی کاه غلات به روش‌های مختلف یا انجام فرآوری‌های مختلف روی این توده لیگنوسلولزی، ارزش غذایی آن را در مطالعات مختلفی بهبود داده است. با توجه به حجم زیاد کاه غلات تولیدی در کشور، و به‌منظور بهینه کردن مصرف کاه و محتوای ماده خشک سیلاژ و جلوگیری از هدرروی پساب حاصل از آن، به نظر می‌رسد که می‌توان با استفاده از مخلوطی از برگ‌های تازه پالونیا و کاه گندم، سیلاژی با خصوصیات و ارزش غذایی مناسب تهیه و تولید کرد و از این طریق، با تولید یک سیلاژ جدید، بخشی از کمبودهای خوراک دام به‌ویژه در مزارع کوچک دامپروری را تا حدودی رفع کرد. پرورش درخت پالونیا و به‌ویژه وارپته‌های اصلاح‌شده و هیبرید آن در بسیاری از مناطق ایران به جهت زراعت چوب در حال توسعه است. لذا در حوزه تغذیه دام، می‌توان به برگ‌های پالونیا به دید ارزش افزوده نگاه کرد و از آن در تغذیه نشخوارکنندگان استفاده نمود. متأسفانه راجع به سطح زیر کشت پالونیا در کشور اطلاعات دقیقی وجود ندارد، اما کشت این درخت در کشور به‌طور قابل توجهی در حال افزایش است. پراکنش پالونیا در ایران بیشتر در استان‌های فارس، اصفهان، مازندران، گیلان، گلستان و خراسان شمالی می‌باشد. تاکنون اکثر تحقیقات صورت گرفته روی برگ پالونیا روی دام، راجع به تغذیه برگ خشک یا سیلاژ آن بوده است. اخیراً در پژوهشی محتوای ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، عصاره اتری، لیگنین، کربوهیدرات‌های غیرفیبری و کربوهیدرات‌های محلول در سیلاژ برگ پالونیا به ترتیب برابر ۲۷۳، ۹۰۲، ۱۶۴، ۳۹۳، ۱۹۱، ۳۸/۸، ۷۴/۵، ۳۸۶ و ۲۵/۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک به دست آمد (Azizi, 2024). نتایج تحقیق مذکور نشان داد که سیلو کردن سطوح مختلف برگ پالونیا با ذرت علوفه‌ای تا سطح کامل جایگزینی به‌عنوان یک روش نگهداری مطلوب، سبب بهبود محتوای نیتروژن و کربوهیدرات‌های غیرفیبری مخلوط سیلاژ حاصله گردید (Azizi, 2024). در تحقیق دیگری افزودن ۶ درصد سیلاژ پالونیا به‌جای سیلاژ یونجه در جیره گاو شیری سبب افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی و پروپیونات و کاهش غلظت استات شکمبه شد، هرچند گوارش‌پذیری عمده مواد مغذی (شامل ماده خشک، ماده آلی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی) تحت تأثیر

مواد و روش‌ها

تهیه برگ پالونیا و تولید سیلاژهای آزمایشی

برگ پالونیای اصلاح شده رقم هیبرید طب جو (شرکت طب جویان، شیراز، استان فارس) از یک مزرعه پرورش پالونیای ۲-۳ ساله در اطراف شهر خرم‌آباد جمع‌آوری گردید. برگ‌ها به‌صورت دستی از ۲۵ درخت به‌طور تصادفی برداشت و مخلوط شد. در شکل ۱ نمایی از درخت پالونیا نشان داده شده است.

قرار نگرفت (Huang et al., 2022). در ایران تاکنون تحقیقات اندکی روی بررسی ارزش غذایی برگ پالونیای اصلاح شده یا سیلاژ آن جهت استفاده در تغذیه دام صورت گرفته است. لذا هدف از پژوهش حاضر، بررسی ترکیب شیمیایی برگ پالونیا و سپس بررسی ارزش غذایی، فراسنجه‌های تولید گاز، گوارش‌پذیری و تخمیر سیلاژ حاصل از مخلوط سطوح مختلف برگ پالونیای اصلاح شده رقم "طب جو" با کاه گندم در شرایط آزمایشگاهی بود.



شکل ۱- نمایی از درخت پالونیا

Figure 1- A view of a Paulownia tree

فشردن و خارج نمودن هوا توسط جارو برقی، از بی‌هوازی بودن آن‌ها اطمینان حاصل گردید. سپس، درب ظرف‌ها بسته شد و به‌مدت دو ماه در فصل تابستان عملیات سیلو کردن نمونه‌ها انجام شد. ظرف‌های حاوی مواد سیلویی حاوی روزه‌ای جهت خروج شیرابه بودند. شیرابه به‌میزان بسیار کمی از سیلاژ فقط پالونیا خارج شد و با افزایش میزان کاه در مخلوط سیلاژ، میزان خروج شیرابه به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. پس از طی این مدت، درب ظرف‌ها باز شد و ترکیب شیمیایی سیلاژها تعیین شد. میزان pH نمونه‌ها بلافاصله اندازه‌گیری شد. برای تعیین pH، ۵۰ گرم نمونه سیلاژ در یک بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری توزین شد و به آن ۱۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. نمونه‌ها طی یک ساعت به‌طور متناوب با هم مخلوط شد. پس از انتقال عصاره حاصله به یک بشر کوچک‌تر، میزان pH آن با استفاده از pH متر (مدل 744؛ شرکت Metrohm سوئیس) تعیین گردید (Faithfull, 2000).

برداشت برگ از درختان در انتهای ماه خرداد بود و برگ‌ها به‌صورت دستی از قسمت‌های پایین هر درخت برداشت شد. در ابتدا، براساس روش‌های مرسوم اقدام به تعیین ترکیب شیمیایی نمونه‌های کاه گندم و برگ پالونیای تازه شد (۵ تکرار به‌ازای هر علوفه). قبل از سیلو کردن برگ‌های جمع‌آوری شده پالونیا توسط دستگاه چاپر دستی آشپزخانه در اندازه‌های ۲-۴ سانتی‌متری خرد شد و از هر علوفه (کاه گندم یا برگ پالونیای خرد شده) به‌مقدار مورد نیاز برای تهیه مخلوط سیلاژهای آزمایشی نمونه‌برداری شد. سپس عملیات سیلو کردن مخلوطی از این دو علوفه به نسبت‌های مختلف صورت گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل افزودن کاه گندم به سیلاژ برگ پالونیا به‌ترتیب با سطوح صفر (فقط سیلاژ برگ پالونیا)، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ درصد ماده خشک بود. نحوه تهیه سیلاژهای آزمایشی به این صورت بود که هر سیلاژ در ۸ تکرار (در کل ۴۰ ظرف پلاستیکی) در ظرف‌های پلاستیکی با ظرفیت ۵ کیلوگرم قرار داده شد و پس از

تجزیه شیمیایی نمونه‌ها

قبل از تجزیه، ابتدا نمونه‌های علوفه و سیلاژ حاصل از آن‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون برای رسیدن به وزن ثابت، خشک شدند. سپس با استفاده از آسیاب مجهز به الک با قطر منافذ یک میلی‌متری آسیاب شدند. میزان ماده خشک، خاکستر خام، ماده آلی، پروتئین خام و عصاره اتری در نمونه‌های علوفه تازه و سیلاژ براساس روش‌های AOAC (۲۰۰۲) تعیین شد. میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و لیگنین توسط روش ون‌سوست و همکاران (Van Soest et al., 1991) محاسبه شد. برای تعیین میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی، از روش مرتنز و همکاران (Mertens et al., 2002) استفاده شد. برای تعیین میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نمونه‌ها از دستگاه فایبرتک (Fibertec System M, Tecator, 1020 Hot Extraction, Flawil, Switzerland) و بدون استفاده از سدیم سولفیت و آنزیم آلفا آمیلاز مقاوم به حرارت استفاده شد. محتوای NFC نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر تخمین زده شد (McDonald et al., 2011):

$$NFC (\%) = 100 - [NDF (\%) + CP (\%) + EE (\%) + Ash (\%)]$$

که در آن، NFC درصد کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی، NDF درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی، CP درصد پروتئین خام، EE درصد عصاره اتری و Ash درصد خاکستر خام است. میزان نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از معرف‌های فنول و هیپوکلریت اندازه‌گیری شد (Broderick and Kang, 1980).

تولید گاز آزمایشگاهی

به‌منظور انجام آزمون تولید گاز برون‌تنی، مایع شکمبه از سه رأس گوسفند نژاد لری-بختیاری بالغ که حداقل به‌مدت دو هفته با جیره غذایی حاوی ۶۰ درصد علوفه و ۴۰ درصد کنسانتره تغذیه شدند، قبل از تغذیه صبحگاهی از طریق لوله مری تهیه شد. جیره آزمایشی دام‌ها حاوی ۳۰ درصد کاه گندم، ۱۵ درصد سیلاژ ذرت، ۱۵ درصد یونجه خشک، ۱۸/۵ درصد بلغور ذرت، ۲۰ درصد سبوس گندم، ۰/۵ درصد اوره، ۰/۵ درصد کلسیم کربنات، ۰/۲۵ درصد مواد معدنی و ویتامینه و ۰/۲۵ درصد نمک برحسب ماده خشک بود که براساس جداول احتیاجات تغذیه‌ای نشخوارکنندگان کوچک فرموله شده بود (NRC, 2007). گوسفندان روزانه دو بار و در حد احتیاجات نگهداری تغذیه شدند. محتوای پروتئین خام و انرژی قابل متابولیسم جیره تغذیه‌شده به گوسفندان به‌ترتیب ۱۱/۸ درصد و ۲/۳۳ مگا‌کالری در کیلوگرم ماده خشک بود. محتویات شکمبه هر سه رأس گوسفند در هر مرحله در یک فلاسک عایق که از قبل توسط گاز دی‌اکسید کربن بی‌هوازی

شده بود، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌طور کامل مخلوط شد و بلافاصله در کمتر از ۲۰ دقیقه به آزمایشگاه انتقال داده شد. محتویات شکمبه قبل از تزریق به داخل ویال‌های آزمایشی، توسط چهار لایه پارچه متقال صاف شد. به‌طور همزمان دو آزمون تولید گاز و در سه سری (Run) مجزا صورت گرفت. در آزمون اول، ابتدا میزان ۲۵۰ میلی‌گرم نمونه سیلاژ کاملاً خشک آسیاب شده و با اندازه ذرات یک میلی‌متر به داخل هر ویال ۱۰۰ میلی‌لیتری برای تعیین پارامترهای آزمون تولید گاز قرار داده شد (شش تکرار به‌ازای هر تیمار در هر سری؛ ۳۰ ویال آزمایشی در هر سری به‌علاوه سه ویال بلانک، در مجموع ۳۳ ویال در هر سری، و در کل ۹۹ ویال در هر سه سری برای آزمایش تولید گاز). سپس، هر ویال که از قبل دمای آن با قرار دادن در بن‌ماری به دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد رسیده بود، با پنج میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف شده و ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی تلقیح شد (Marten and Barnes, 1980). جهت حصول اطمینان از ایجاد شرایط بی‌هوازی، گاز دی‌اکسید کربن به شیرابه شکمبه صاف‌شده و بزاق مصنوعی قبل و پس از تزریق به داخل ویال‌ها نیز تزریق گردید. میزان سه ویال نیز به‌عنوان بلانک (حاوی فقط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی) در نظر گرفته شد. سپس درب ویال‌ها بسته شد و در بن‌ماری با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. میزان گاز تولیدی هر ویال توسط دستگاه فشارسنج دیجیتالی (Tracker 200, Baley and Mackey, Ltd., Birmingham, UK) در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از انکوباسیون اندازه‌گیری شد. اعداد فشار گاز تعیین‌شده با استفاده از قانون گاز ایده‌آل و قانون آوگادرو و براساس معادله ۱ به مول گاز تولیدی تبدیل شد (ANKOM, 2018).

$$n = P(V/RT) \quad \text{معادله (۱)}$$

که در آن، n: میزان گاز تولیدی به مول، P: فشار گاز به psi، V: حجم گاز تولیدی به میلی‌لیتر، R: ثابت گاز و برابر ۸/۱۳۴۵ کیلوپاسکال به کیلومول و T: دما به‌صورت کلوین می‌باشد. سپس مول گاز تولیدی با استفاده از قانون آوگادرو تبدیل براساس معادله ۲ به حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر) شد.

$$\text{Gas volume (ml)} = n \times 22.4 \text{ L} \times 1000 \quad \text{معادله (۲)}$$

برای تعیین پارامترهای تولید گاز از معادله ۳ استفاده گردید (Blümmel et al., 2003).

$$P = b(1 - e^{-ct}) \quad \text{معادله (۳)}$$

که در آن، b: گاز تولیدی از بخش تخمیرپذیر (میلی‌لیتر)، c: سرعت تولید گاز در ساعت، t: زمان انکوباسیون برحسب ساعت و P: میزان گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان مورد نظر می‌باشد.

آزمون دوم تولید گاز با هفت تکرار به‌ازای هر تیمار و سه سری (هفت تکرار به‌ازای هر تیمار در هر سری؛ ۳۵ ویال آزمایشی در هر سری به‌علاوه سه ویال بلانک، در مجموع ۳۸ ویال در هر سری، و

GP: حجم گاز تولیدی در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون می‌باشد.

تعیین فعالیت آنزیم‌های هیدرولتیک میکروبی شکمبه

فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و پروتاز موجود در بخش میکروب‌های چسبیده به ذرات خوراکی (پلت‌های جمع‌آوری شده) براساس روش آگاروال (Agarwal, 2000) تخمین زده شد. روش کار به این صورت بود که پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ابتدا محتوای هر ویال (چهار ویال به ازای هر سیلاژ آزمایشی) به مدت ۲۰ دقیقه و با دور $500 \times g$ سانتریفیوژ گردید و بقایا جمع‌آوری گردید. سپس بقایا با تتراکلرید کربن و آنزیم لیزوزیم فرآیند شده و مخلوط آنزیم‌های مایع شکمبه در بافر فسفات در سانتریفیوژ با دور $2700 \times g$ در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه به دست آمد. برای تخمین فعالیت کربوکسی متیل سلولاز، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۵ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه صاف‌شده و ۰/۵ میلی‌لیتر کربوکسی متیل سلولز یک درصد (به عنوان سوپسترا) بوده که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت انکوبه گردید. مخلوط واکنش برای آنزیم میکروکریستالین سلولاز که شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، یک میلی‌لیتر شیرابه شکمبه صاف‌شده و یک میلی‌لیتر میکروکریستالین سلولز یک درصد (به عنوان سوپسترا) بوده که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت مورد انکوباسیون قرار گرفت. به منظور محاسبه فعالیت کاغذ صافی، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، یک میلی‌لیتر شیرابه شکمبه صاف‌شده و ۰/۵ گرم کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (به عنوان سوپسترا)، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت انکوبه گردید. جهت محاسبه فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۵ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته یک درصد بود که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید. در همه آزمون‌های مذکور، واکنش با افزودن سه میلی‌لیتر محلول دی‌نیتروسالسیلیک اسید متوقف شد. گلوکز آزاد شده در اثر فعالیت هر یک از آنزیم‌های مورد آزمون براساس روش میلر (Miller, 1959) تخمین زده شد. فعالیت‌های آنزیمی براساس این فرض که یک واحد آنزیمی، توانایی تولید یک میکرومول گلوکز در هر ساعت در هر میلی‌لیتر را تحت شرایط مخلوط واکنش دارد، محاسبه گردید. برای تعیین فعالیت پروتازای شکمبه، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۲۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف‌شده و ۰/۲۵ میلی‌لیتر کازئین (۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بود که در دمای

در کل ۱۱۴ ویال در هر سه سری) برای تعیین فراسنجه‌های هضم و تخمیر برون‌تنی طراحی گردید. صفات مورد بررسی در این بخش از آزمایش شامل گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و ماده آلی، تخمین انرژی قابل متابولیسم جیره‌های آزمایشی و نیز فراسنجه‌های تخمیر شامل pH، نیتروژن آمونیاکی، سنتز پروتئین میکروبی، اسیدهای چرب فرار کوتاه‌زنجیر و فعالیت آنزیمی شکمبه بود. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (Vercoe et al., 2010)، ابتدا میزان گاز تولیدی هر ویال ثبت گردید، سپس pH به وسیله pH متر (مدل 744؛ شرکت Metrohm سوئیس) قرائت شد. محتوای هر ویال با دور $2000 \times g$ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. بقایای هر ویال جمع‌آوری و خشک شده و میزان گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک از اختلاف وزن سوپسترای اولیه و وزن بقایا پس از انکوباسیون محاسبه گردید. جهت تعیین میزان نیتروژن آمونیاکی، نمونه‌های سوپرناتانت (پنج میلی‌لیتر) سریعاً با یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. میزان گوارش‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم سیلاژهای آزمایشی به ترتیب براساس معادله‌های زیر تخمین زده شد (Menke and Steingass, 1988):

$$\text{IVOMD (g/kg OM)} = 148.8 + 8.89 \quad (۴)$$

$$51 \text{ XA.GAS} + 4.50 \text{ CP} + 6$$

$$\text{ME (MJ/kg DM)} = 2.2 + 0.136\text{GP} + 0.0157\text{CP} + 0.00002859\text{CP}^2 \quad (۵)$$

که در آن‌ها، IVOMD: میزان گوارش‌پذیری ماده آلی، GAS: میزان گاز خالص تولیدی برای ۲۰۰ میلی‌گرم سوپسترا پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (Menke and Steingass, 1988)، CP: میزان پروتئین خام به صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک، XA: خاکستر به صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک و ME: انرژی قابل متابولیسم می‌باشد.

تولید پروتئین میکروبی (MPS) به صورت معادله ۶ محاسبه گردید (Blümmel et al., 1997):

$$\text{MPS (mg/g DM)} = \text{mg ADS} - (\text{ml gas} \times 2.2 \text{ mg/ml}) \quad (۶)$$

که در آن، ADS: سوپسترای هضم‌شده ظاهری پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ml gas: حجم گاز تولیدی پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته و ۲/۲: عامل استوکیومتری برحسب میلی‌گرم کربن، هیدروژن و اکسیژن مورد نیاز برای سنتز اسیدهای چرب کوتاه زنجیر است. غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر با استفاده از معادله ۷ محاسبه شد (Getachew et al., 2002):

$$\text{SCFA (mmol/200 mg DM)} = 0.0222\text{GP} - 0.0042 \quad (۷)$$

که در آن، SCFA: اسیدهای چرب فرار کوتاه‌زنجیر تولیدی و

استفاده از رویه MIXED و توسط نرم افزار (SAS, 2005) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. مدل آماری طرح آزمایشی به صورت مدل زیر بود.

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + Run_j + e_{ijk}$$

که در آن، Y_{ijk} ، μ ، T_i ، Run_j و e_{ijk} : به ترتیب رکورد مشاهده شده، میانگین کل، اثر ثابت تیمار آزمایشی μ ، اثر تصادفی دوره زام و اثر خطای آزمایشی است. میانگین های صفات به دست آمده با استفاده از مقایسه های متعامد (خطی و غیرخطی) و در سطح معنی داری پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی برگ پالونیا، کاه گندم و سیلاژهای آزمایشی حاصل از آنها

نتایج مربوط به ترکیب شیمیایی برگ پالونیای تازه و کاه گندم در جدول ۱ نشان داده شده است.

۳۹ درجه سانتی گراد به مدت دو ساعت انکوبه گردید. سپس، مخلوط واکنش با افزودن تری کلرو استیک اسید (۲۰۰ میلی لیتر در لیتر) متوقف شده و پروتئین براساس روش مربوطه تعیین شد (Lowry et al., 1951).

تجزیه آماری

تجزیه واریانس داده های مربوط به ترکیب شیمیایی برگ پالونیای تازه، کاه گندم و سیلاژهای آزمایشی حاصل از آنها با استفاده از رویه GLM و توسط نرم افزار (SAS, 2005) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. مدل آماری طرح آزمایشی به صورت مدل زیر بود.

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

که در آن، Y_{ij} ، μ ، T_i و e_{ij} : به ترتیب رکورد مشاهده شده، میانگین کل، اثر ثابت تیمار آزمایشی μ و اثر خطای آزمایشی است. میانگین های به دست آمده با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن و در سطح معنی داری پنج درصد مقایسه شدند.

تجزیه واریانس سایر داده ها شامل تولید گاز، گوارش پذیری مواد مغذی، فراسنجه های تخمیر و فعالیت آنزیمی سیلاژهای آزمایشی با

جدول ۱- ترکیب شیمیایی برگ پالونیای تازه و کاه گندم (گرم در کیلوگرم ماده خشک)

Table 1- Chemical composition of fresh *Paulownia* leaves and wheat straw (g/kg DM)

صفت Parameter	نوع علوفه Forage type		خطای استاندارد میانگین ها SEM	احتمال معنی داری P-value
	کاه گندم Wheat straw	برگ پالونیا <i>Paulownia</i> leaf		
ماده خشک Dry matter	925 ^a	266 ^b	6.72	<0.01
ماده آلی Organic matter	923	911	6.81	0.26
پروتئین خام Crude protein	33.2 ^b	173 ^a	3.20	<0.01
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	737 ^a	402 ^b	12.7	<0.01
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	486 ^a	201 ^b	12.2	<0.01
لیگنین Lignin	81.5	75.5	2.45	0.13
عصاره اتری Ether extract	16.5 ^b	35.5 ^a	1.53	<0.01
کربوهیدرات های غیر ساختمانی Non-fiber carbohydrates	136 ^b	301 ^a	11.5	<0.01

- اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد می باشند.

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

کربوهیدرات های غیر فیبری در برگ پالونیا به طور معنی داری بیشتر از کاه گندم بود ($P < 0.05$). در هر دو ماده خوراکی، از نظر محتوای ماده آلی و لیگنین تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

محتوای ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی کاه گندم به طور معنی داری بیشتر از برگ پالونیا بود ($P < 0.05$). هر چند، میزان پروتئین خام، عصاره اتری و

سیلاژهای آزمایشی تحت تأثیر نسبت کاه گندم و برگ پالونیا قرار نگرفت ($P>0.05$). باید عنوان نمود که به جز میزان ماده خشک که در سیلاژ برگ پالونیا مقداری از علوفه تازه آن بیشتر بود (جداول ۱ و ۲)، غلظت سایر ترکیبات شیمیایی در هر سیلاژ کمتر از میزان آن در علوفه تازه بود. این افزایش محتوای ماده خشک در سیلاژها در مقایسه با علوفه تازه ممکن است که ناشی از خروج بخشی از رطوبت آن‌ها به صورت شیرابه از سیلو بوده باشد.

نتایج مربوط به ترکیب شیمیایی سیلاژهای آزمایشی مخلوط حاوی نسبت‌های مختلف برگ پالونیا و کاه گندم در **جدول ۲** ارائه شده است. با افزایش نسبت کاه گندم در مخلوط سیلاژ تا سطح ۲۴ درصد، میزان ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، لیگنین و pH به‌طور خطی افزایش یافت ($P<0.05$)، این در حالی است که میزان پروتئین خام، کربوهیدرات‌های غیر فیبری و غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژ به‌طور خطی کاهش یافت ($P<0.05$). محتوای ماده آلی و عصاره اتری

جدول ۲- ترکیب شیمیایی (گرم در کیلوگرم ماده خشک یا واحد ذکر شده) سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف برگ پالونیا و کاه گندم
Table 2- Chemical composition (g/kg DM or as stated) of silages containing different proportion of *Paulownia* leaf (PL) and wheat straw (WS)

صفت Parameter	سطح کاه گندم به جای سیلاژ پالونیا (درصد ماده خشک) Level of WS instead of PL (% DM)					خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	مقایسات متعامد Contrast	
	کنترل (فقط پالونیا) Control (only PL)	۶ 6	۱۲ 12	۱۸ 18	۲۴ 24		خطی Linear	غیر خطی Quadratic
ماده خشک Dry matter	273 ^e	305 ^d	344 ^c	384 ^b	422 ^a	8.34	<0.01	0.74
ماده آلی Organic matter	896	911	913	913	914	5.66	0.09	0.18
پروتئین خام Crude protein	168 ^a	161 ^{ab}	154 ^{bc}	147 ^{dc}	141 ^d	3.42	<0.01	0.91
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	394 ^d	421 ^c	441 ^{bc}	463 ^{ab}	479 ^a	8.06	<0.01	0.49
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	191 ^d	219 ^c	237 ^b	253 ^b	272 ^a	5.95	<0.01	0.41
لیگنین Lignin	74.6 ^c	77.2 ^{bc}	77.7 ^{bc}	78.5 ^b	83.1 ^a	1.07	<0.01	0.32
عصاره اتری Ether extract	36.8	35.8	35.5	34.8	34.5	1.22	0.08	0.18
کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی Non-fiber carbohydrates	297 ^a	293 ^{ab}	282 ^{bc}	269 ^{bc}	260 ^c	4.33	<0.01	0.58
pH	3.81 ^b	3.94 ^{ab}	4.14 ^{ab}	4.24 ^{ab}	4.68 ^a	0.178	0.01	0.56
نیتروژن آمونیاکی (گرم در کیلوگرم کل نیتروژن) Ammonia-N (g/kg total N)	58.3 ^a	55.9 ^{ab}	54.1 ^{abc}	53.3 ^{bc}	51.2 ^c	1.39	<0.01	0.75

- اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.
- Means with different letters in a row differ ($P<0.05$).

درصد ماده خشک جیره غذایی باشد (Norton, 1998)، این در حالی است که برخلاف کاه گندم، میزان پروتئین خام در برگ تازه و یا سیلو شده پالونیا (به ترتیب ۱۷۳ و ۱۶۸ گرم در کیلوگرم ماده خشک)، نشان‌دهنده مزیت مهم آن در تغذیه دام است. کاهش محتوای پروتئین خام سیلاژ برگ پالونیا در مقایسه با علوفه تازه قابل انتظار بود که این امر ممکن است که ناشی از تجزیه بخشی از پروتئین خام

در مقایسه با کاه گندم، میزان پروتئین خام در علوفه و سیلاژ برگ پالونیا به‌طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر بود (جداول ۱ و ۲) که این امر نشان‌دهنده ارزش غذایی قابل توجه برگ پالونیا به عنوان یک منبع علوفه‌ای جدید در تغذیه نشخوارکنندگان می‌باشد. نشان داده شده است که حداقل پروتئین خام مورد نیاز برای تولید آمونیاک کافی در شکمبه به منظور دستیابی به حداکثر رشد میکروبی، باید حدود هشت

می‌باشد. افزایش میزان ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و لیگنین با افزایش سهم کاه گندم نسبت به برگ پالونیا تا سطح ۲۴ درصد در سیلاژهای مخلوط، احتمالاً به دلیل غلظت بیشتر ترکیبات مذکور در کاه گندم بوده است. کاهش محتوای پروتئین خام و کربوهیدرات‌های غیرفیبری با افزایش نسبت کاه گندم در سیلاژ احتمالاً به دلیل محتوای کم ترکیبات مذکور در کاه گندم بوده است. کاهش قابل توجه غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژ با افزایش نسبت کاه گندم تا بیشترین سطح جایگزین (۲۴ درصد) احتمالاً به خاطر کاهش میزان پروتئین خام سیلاژها بوده باشد که حین عمل تخمیر مقدار کمتری از آن به آمونیاک تبدیل شده است. میزان pH سیلاژهای آزمایشی در دامنه مطلوب برای یک تخمیر مطلوب قرار داشت (Faithfull, 2000) و با افزایش سطح کاه گندم در سیلاژهای مخلوط افزایش نشان داد، که احتمالاً به دلیل کاهش محتوای کربوهیدرات‌های غیرفیبری و پروتئین خام در سیلاژ باشد.

فراسنجه‌های تولید گاز، تخمیر و گوارش‌پذیری مواد مغذی

براساس نتایج جدول ۳، با افزایش نسبت کاه گندم به برگ پالونیا در سیلاژ، تولید گاز در همه زمان‌های مورد بررسی شامل ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ و ۱۲۰ ساعته (کل گاز تولیدی) و نیز پتانسیل تولید گاز (ضریب b) به طور خطی کاهش یافت ($P < 0.05$). این در حالی است که نرخ تولید گاز (ضریب c) تحت تأثیر سیلاژهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$).

کاهش حجم گاز تولیدی در همه زمان‌های انکوباسیون با افزایش نسبت کاه گندم به برگ پالونیا در سیلاژ احتمالاً به دلیل کاهش غلظت پروتئین خام و کربوهیدرات‌های غیرفیبری و افزایش محتوای فیبر (شامل الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی) و لیگنین در سیلاژهای آزمایشی بوده است، زیرا یک رابطه معکوس بین ترکیباتی مانند پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و به ویژه لیگنین با تولید گاز وجود دارد (Van Soest, 1994). وجود همبستگی منفی بین تولید گاز و میزان دیواره سلولی احتمالاً به دلیل کاهش فعالیت میکروبی در طول زمان انکوباسیون باشد. کاهش ستر پروتئین میکروبی با افزایش نسبت کاه گندم به برگ پالونیا در سیلاژ (جدول ۴) تأییدکننده این نتایج است.

آن در اثر فعالیت میکروب‌ها و تولید آمونیاک در سیلاژ باشد (McDonald et al., 2011). دامنه پروتئین خام انواع گونه‌های برگ پالونیا ۱۱۳ تا ۲۷۱ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است (Descals et al., 2013). مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در پژوهشی میزان پروتئین خام برگ گونه پالونیا/لونگاتا ۱۷۲ (Stewart et al., 2018) و در مطالعه دیگری ۱۷۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است (Al-Sagheer et al., 2019). وجود اختلاف در محتوای پروتئین خام گزارش شده توسط محققان احتمالاً به دلیل عواملی مانند رقم گیاه، زمان کاشت و برداشت، شرایط جغرافیایی محل کشت، نوع و میزان کاربرد کودهای شیمیایی و مدیریت تهیه سیلاژ می‌باشد (Kaiser et al., 2004). محتوای الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در برگ تازه و سیلاژ پالونیا به طور قابل توجهی از کاه گندم کمتر بود که نشان‌دهنده ارزش غذایی قابل توجه پالونیا به عنوان یک منبع علوفه‌ای در تغذیه دام است. زیرا نشان داده شده است که مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی خوراک با میزان مصرف آن رابطه معکوسی دارد (McDonald et al., 2011). میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی سیلاژ برگ پالونیا در مطالعه حاضر بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط برخی از محققان (۳۵۹ گرم در کیلوگرم ماده خشک) بود (Huang et al., 2022)، اما مشابه مقدار گزارش شده (۴۴۷ گرم در کیلوگرم ماده خشک) توسط استوارت و همکاران (Stewart et al., 2018) بود. در آزمایش دیگری، میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی برگ پالونیا ۴۰۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شد (Al-Sagheer et al., 2019) که نسبت به نتایج ارائه شده در مطالعه حاضر کمتر است. کاهش محتوای الیاف (الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی) سیلاژ پالونیا در مقایسه با علوفه تازه آن (جدول ۱ و ۲) مطابق با نتایج سایر تحقیقات است (Rezaei et al., 2009). دلیل این امر احتمالاً تجزیه سلولز و همی سلولز در اثر فعالیت میکروب‌ها حین تخمیر و نیز هیدرولیز آن‌ها در pH اسیدی سیلاژ می‌باشد (Rezaei et al., 2009). همان طور که قابل انتظار بود، محتوای لیگنین در برگ تازه (۷۵/۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک) و سیلاژ پالونیا (۷۴/۶ گرم در کیلوگرم ماده خشک) از کاه گندم (۸۱/۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک) کمتر بود که می‌تواند یکی از دلایل ارزش غذایی بیشتر برگ پالونیا نسبت به کاه گندم باشد. همچنین، با افزایش نسبت کاه گندم در سیلاژ تا سطح ۲۴ درصد، غلظت لیگنین به تدریج افزایش معنی‌داری یافت که به دلیل بیشتر بودن میزان لیگنین کاه گندم

جدول ۳- فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی (میلی لیتر به ازای ۲۵۰ میلی گرم سوبسترا یا واحد ذکر شده) سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف برگ پالونیا و کاه گندم

Table 3- *In vitro* gas production parameters (ml/250 mg substrate or as stated) of silages containing different proportion of *Paulownia* leaf (PL) and wheat straw (WS)

صفت Parameter	سطح کاه گندم به جای سیلاژ پالونیا (درصد ماده خشک) Level of WS instead of PL (% DM)					خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	مقایسات متعامد Contrast	
	کنترل (فقط پالونیا) Control (only PL)	۶ 6	۱۲ 12	۱۸ 18	۲۴ 24		خطی Linear	غیر خطی Quadratic
تولید گاز ۱۶ ساعته Gas production at 16 h	29.1 ^a	26.2 ^b	25.5 ^b	24.8 ^b	23.6 ^b	0.917	<0.01	0.35
تولید گاز ۲۴ ساعته Gas production at 24 h	42.6 ^a	41.3 ^{ab}	40.3 ^{ab}	39.8 ^{ab}	37.8 ^b	1.18	<0.01	0.85
تولید گاز ۴۸ ساعته Gas production at 48 h	56.3 ^a	52.8 ^b	52.1 ^c	51.1 ^{bc}	48.4 ^c	0.967	<0.01	0.70
تولید گاز ۷۲ ساعته Gas production at 72 h	60.8 ^a	59.1 ^{ab}	58.3 ^{ab}	56.8 ^b	55.5 ^b	1.16	<0.01	0.95
تولید گاز ۹۶ ساعته Gas production at 96 h	61.3 ^a	59.3 ^{ab}	58.5 ^{abc}	58.1 ^{bc}	55.6 ^c	0.965	<0.01	0.89
کل گاز تولیدی ۱۲۰ ساعته Total gas production (120 h)	62.1 ^a	59.5 ^{ab}	59.2 ^{ab}	58.8 ^{ab}	56.1 ^b	1.07	<0.01	0.92
پتانسیل تولید گاز (b) Gas production potential	63.7 ^a	61.5 ^a	59.9 ^{ab}	59.8 ^{ab}	56.8 ^b	1.35	<0.01	0.95
نرخ تولید گاز (c؛ درصد در ساعت) Rate of gas production (c; %/h)	0.033	0.032	0.031	0.03	0.03	0.002	0.21	0.55

- اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.

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

در فرآیند تجزیه و آمین‌زدایی وارد شده است. میزان پروتئولیز شکمبه‌ای کمتر (جدول ۵) نیز می‌تواند توجیه‌کننده این نتایج باشد. خصوصیات پروتئینی کاه گندم و برگ پالونیا و مقاومت آن‌ها در برابر پروتئولیز شکمبه‌ای هم ممکن است در این زمینه اثر داشته باشد. برگ پالونیا دارای مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنولی است که ممکن است با کند کردن روند تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه، از طریق تبدیل آمونیاک به پروتئین میکروبی سبب کاهش غلظت آن در مایع شکمبه شود، اما در مطالعه حاضر به دلیل محتوای پروتئین خام مطلوب همه سیلاژها، با افزایش نسبت کاه به برگ پالونیا در سیلاژ، احتمالاً تجزیه زیاد پروتئین توسط ریزجاندانان پروتئولیتیک شکمبه، مانع از دیده شدن اثرات مثبت ترکیبات فنولی شده است. کاهش سنتز پروتئین میکروبی با افزایش میزان کاه در سیلاژ ممکن است به دلیل کاهش سطح آمونیاک تولیدی در شکمبه بوده باشد، زیرا ارتباط مثبتی بین غلظت آمونیاک شکمبه و سنتز توده میکروبی گزارش شده است (Azizi-Shotorkhooft et al., 2013). کاهش تخمین انرژی قابل متابولیسم سیلاژهای آزمایشی با افزایش سطح کاه به برگ پالونیا در سیلاژ احتمالاً به دلیل کاهش گوارش‌پذیری ماده آلی می‌باشد.

نتایج مربوط به فراسنجه‌های تخمیر و گوارش‌پذیری برون‌تنی سیلاژهای آزمایشی در جدول ۴ ارائه شده است. با افزایش نسبت کاه گندم به برگ پالونیا در سیلاژ، غلظت اسیدهای چرب فرار کوتاه‌زنجیر، گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی، تخمین انرژی قابل متابولیسم، نیتروژن آمونیاکی محیط کشت و سنتز پروتئین میکروبی به طور خطی کاهش یافت ($P < 0.05$)، هرچند که میزان pH محیط کشت تحت تأثیر سیلاژهای آزمایشی قرار نگرفت. دلیل کاهش تولید عمده پارامترهای تخمیر و گوارش‌پذیری مورد بررسی در مطالعه حاضر با افزایش سطح کاه در سیلاژ احتمالاً به دلیل کاهش ارزش غذایی سیلاژ (کاهش محتوای پروتئین خام و کربوهیدرات‌های غیرفیبری و افزایش محتوای فیبر و لیگنین) بوده است (جدول ۲). با انکوباسیون همه سیلاژهای آزمایشی، غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون بیشتر از حداقل مقدار مورد نیاز آن (پنج میلی گرم در دسی لیتر) جهت رشد بهینه میکروبی بود.

دلیل کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت با افزایش نسبت کاه به برگ پالونیا در سیلاژ ممکن است به علت غلظت پروتئین خام کمتر کاه گندم بوده باشد و در حقیقت، پروتئین کمتری

محتوای انرژی قابل متابولیسم به دست آمده در پژوهش حاضر کمتر از نتایج به دست آمده (۱۰/۸ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) توسط سایر محققان بود (Özelçam et al., 2012).

جدول ۴- فراسنجه‌های تخمیر و گوارش پذیری آزمایشگاهی مواد مغذی سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف برگ پالونیا و کاه گندم

Table 4- Fermentation parameters and *in vitro* nutrient digestibility of silages containing different proportion of *Paulownia* leaf (PL) and wheat straw (WS)

صفت Parameter	سطح کاه گندم به جای سیلاژ پالونیا (درصد ماده خشک) Level of WS instead of PL (% DM)					مقایسات متعامد Contrast		
	کنترل (فقط پالونیا) Control (only PL)	۶ 6	۱۲ 12	۱۸ 18	۲۴ 24	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	خطی خطی	
							Linear	Quadratic
اسیدهای چرب فرار کوتاه‌زنجیر (میلی‌مول در گرم ماده خشک) Short chain fatty acids (mmol/g DM)	3.76 ^a	3.65 ^{ab}	3.56 ^{ab}	3.51 ^{ab}	3.33 ^b	0.105	<0.01	0.56
گوارش پذیری ماده خشک (%) Dry matter digestibility (%)	58.4 ^a	57.3 ^{ab}	56.2 ^{ab}	55.8 ^b	55.2 ^b	0.801	<0.01	0.56
گوارش پذیری ماده آلی (%) Organic matter digestibility (%)	59.5 ^a	57.2 ^{ab}	56.1 ^{bc}	55.4 ^{bc}	53.6 ^c	0.844	<0.01	0.65
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) Metabolisable energy (MJ/kg DM)	7.79 ^a	7.61 ^{ab}	7.46 ^{abc}	7.37 ^{bc}	7.11 ^c	0.129	<0.01	0.85
pH	6.34	6.40	6.49	6.59	6.62	0.139	0.10	0.67
نیترژن آمونیاکی (میلی گرم در دسی لیتر) Ammonia-N (mg/dl)	16.8 ^a	14.9 ^{ab}	13.9 ^{ab}	13.2 ^b	12.4 ^b	0.943	<0.01	0.75
پروتئین میکروبی (میلی گرم در گرم ماده خشک) Microbial protein (mg/g DM)	233 ^a	225 ^a	217 ^{ab}	223 ^a	201 ^b	5.01	<0.01	0.51

- اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.

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

فعالیت آنزیم‌های میکروبی محیط کشت

نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های میکروبی محیط کشت با انکوباسیون سیلاژهای آزمایشی در **جدول ۵** ارائه شده است. با افزایش نسبت کاه به برگ پالونیا در سیلاژ، فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و فعالیت پروتئاز محیط کشت در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون به‌طور خطی کاهش یافت ($P<0.05$)، هرچند که فعالیت آنزیم‌های

میکروکریستالین سلولاز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P>0.05$). فعالیت کمپلکس‌های آنزیمی شکمبه به‌طور غیرمستقیم نشان‌دهنده جمعیت میکروب‌های دخیل در تخمیر و تجزیه مواد خوراکی است (Raghuvansi et al., 2007). به‌طور معمول، فعالیت هر آنزیم یا کمپلکس آنزیمی ارتباط مستقیم و مثبتی با میزان سوبسترای آن آنزیم دارد.

جدول ۵- فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک شکمبه (واحد در ساعت در میلی‌لیتر یا واحد ذکر شده) سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف برگ پالونیا و کاه گندم
Table 5- Rumen activity of hydrolytic enzymes (U/h/ml or as stated) of silages containing different proportion of *Paulownia* leaf (PL) and wheat straw (WS)

صفت Parameter	سطح کاه گندم به جای سیلاژ پالونیا (درصد ماده خشک) Level of WS instead of PL (% DM)					خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	مقایسات متعامد Contrast	
	کنترل (فقط پالونیا) Control (only PL)	۶ 6	۱۲ 12	۱۸ 18	۲۴ 24		خطی Linear	غیر خطی Quadratic
کربوکسی متیل سلولاز Carboxymethyl cellulase	16.7 ^a	15.2 ^a	16.1 ^a	15.2 ^a	13.1 ^b	0.625	<0.01	0.75
میکرو کریستالین سلولاز Microcrystalline cellulase	11.7	10.9	10.6	10.8	10.6	1.01	0.23	0.49
فعالیت تجزیه کاغذ صافی Filter paper degrading	30.7 ^a	27.1 ^{ab}	26.2 ^{ab}	25.6 ^b	23.2 ^b	1.47	<0.01	0.63
آلفا آمیلاز α-amylase	37.4 ^a	35.6 ^{ab}	34.1 ^{ab}	32.9 ^{ab}	31.6 ^b	1.55	0.01	0.76
پروتئاز (میکروگرم پروتئین هیدرولیز شده در ساعت) Protease	86.1 ^a	79.4 ^{ab}	77.4 ^{ab}	76.8 ^{ab}	68.3 ^b	3.43	<0.01	0.78

- اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.

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

به‌طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که برگ پالونیا رقم اصلاح‌شده طب جو از ارزش غذایی قابل توجهی به‌عنوان یک منبع علوفه‌ای جدید در تغذیه نشخوارکنندگان برخوردار است. علاوه بر این، امکان تولید سیلاژهای آزمایشی با مخلوط کردن سطوح مختلف کاه گندم تا سطح ۲۴ درصد ماده خشک مخلوط سیلاژ در شرایط برون‌تنی وجود دارد و سیلاژهای حاصل دارای ارزش غذایی قابل قبولی می‌باشند. به هر حال، برای تهیه سیلاژهای مخلوط در شرایط مزرعه، میزان کاه مورد استفاده باید براساس درصد ماده خشک سیلاژ مخلوط نهایی تنظیم گردد تا با مشکل تخلیه هوا مواجه نشود. انجام مطالعات بیشتر به‌ویژه روی دام زنده جهت تأیید یافته‌های پژوهش حاضر ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه لرستان به‌جهت هماهنگی‌ها و کمک شایان جهت انجام پژوهش حاضر، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

در مطالعه حاضر، کاهش فعالیت عمده آنزیم‌های شاخص تجزیه‌کننده فیبر (شامل کربوکسی متیل سلولاز و فعالیت تجزیه کاغذ صافی) با افزایش نسبت کاه به برگ پالونیا در سیلاژ در شرایطی اتفاق افتاده است که محتوای الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی سیلاژها به‌طور خطی افزایش یافته است (وجود سوبسترای فیبری بیشتر). دلیل این امر می‌تواند افزایش محتوای لیگنین با افزایش سطح کاه در سیلاژ بوده باشد که مانع از هضم و تجزیه زیاد دیواره سلولی و به‌تبع جلوگیری از افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده فیبر شده است، زیرا رابطه معکوسی بین میزان لیگنین و تخمیر و هضم‌پذیری علوفه‌ها گزارش شده است (Van Soest, 1994). گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده آلی (جدول ۴) تأییدکننده این نتایج است. کاهش فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز محیط کشت با افزایش سطح کاه به برگ پالونیا در سیلاژ احتمالاً به‌دلیل فراهمی کمتر کربوهیدرات‌های غیرفیبری و افزایش فعالیت پروتئازی محیط کشت به‌دلیل دسترسی بیشتر به سوبستراهای پروتئینی در سیلاژ بوده است (جدول ۲).

نتیجه‌گیری کلی

References

- Agarwal, N. (2000). Estimation of fiber degrading enzyme. In: L. C. Chaudhary, N. Agarwal, D. N. Kamra, D. K. Agarwal, (Eds). Feed microbiology. Izatnagar (India): CAS Animal Nutrition, 278-291.
- Al-Sagheer, A. A., Abd El-Hack, M. A., Alagawany, M., Naiel, M. A., Mahgoub, S. A., Badr, M. M., Hussein, E. O. S., Alowaimier, A. N., & Swelum, A. A. (2019). Paulownia leaves as a new feed resource: chemical

- composition and effects on growth, carcasses, digestibility, blood biochemistry, and intestinal bacterial populations of growing rabbits. *Animals*, 9, 95. <https://doi.org/10.3390/ani9030095>
3. ANKOM. (2018). ANKOM Gas Production System Operator's Manual; ANKOM Technology: Macedon, NY, USA.
 4. AOAC. (2002). Official Methods of Analysis of AOAC International (17th Ed., 1th rev.). Gaithersburg (MD): Association of Official Analytical Chemists.
 5. Arora, J. K., Kakkar, V. K., Sukhvair, K., & Kaur, S. (1994). Bioconversion of agro residues for food and feed. *Agricultural Revolution Karnal*, 15, 3-4. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0273916>
 6. Azizi, A. (2024). Chemical composition, digestibility and *in vitro* fermentation variables of mixed silage from different levels of *Paulownia* leaves and forage corn. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 16(2), 157-170. (in Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/ijasr.2023.83509.1161>
 7. Azizi-Shotorkhoft, A., Rezaei, J., & Fazaeli, H. (2013). The effect of different levels of molasses on the digestibility, rumen parameters and blood metabolites in sheep fed processed broiler litter. *Animal Feed Science and Technology*, 179, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.12.001>
 8. Blümmel, M., Karsli, A., & Russell J. R. (2003). Influence of diet on growth yields of rumen micro-organisms *in vitro* and *in vivo*: Influence on growth yield of variable carbon fluxes to fermentation products. *British Journal of Nutrition*, 90, 625–634. <https://doi.org/10.1079/bjn2003934>
 9. Blümmel, M., Steingss, H., & Becker, K. (1997). The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and ¹⁵N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition*, 77, 911–921. <https://doi.org/10.1079/BJN19970089>
 10. Bodnar, A., Pajor, F., Steier, J., Kispal, T., & Poti, P. (2014). Nutritive value of paulownia (*Paulownia* spp.) hybrid tree leaves. *Hungarian Agricultural Research*, 23, 27–32. <https://doi.org/10.3390/ani9030095>
 11. Broderick, G., & Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 63, 64-75. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82888-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8)
 12. Descals, P., Seradj, A., Villorquina, G., & Balcells, J. (2013). Estudi del valor nutritiu de la hoja de Paulownia como recurso forrajero. AIDA, XV Jornadas sobre Producció Animal, Tomo I, pp. 240-242 (E).
 13. Faithfull, N. T. (2000). Methods in Agricultural Chemical Analysis; A Practical Handbook. Cab Int., Wallingford, UK.
 14. García-Morote, F. A., López-Serrano, F. R., Martínez-García, E., Andrés-Abellán, M., Dadi, T., Candel, D., Rubio, E., & Lucas-Borja, M. E. (2014). Stem biomass production of *Paulownia elongata* × *P. fortunei* under low irrigation in a semi-arid environment. *Forests*, 5, 2505–2520. <https://doi.org/10.3390/f5102505>
 15. Getachew, G., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2002). Tropical browses: Contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. *Journal of Agricultural Science*, 139, 341–352. <https://doi.org/10.1017/S0021859602002393>
 16. Huang, H., Lechniak, D., Szumacher-Strabel, M., Patra, A. K., Kozłowska, M., Kolodziejewski, P., Gao, M., Ślusarczyk, S., Petrič, D., & Cieślak, A. (2022). The effect of ensiled paulownia leaves in a high-forage diet on ruminal fermentation, methane production, fatty acid composition, and milk production performance of dairy cows. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 13, 104. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00745-9>
 17. Huang, H., Szumacher-Strabel, M., Patra, A. K., Ślusarczyk, S., Lechniak, D., Vazirigohar, M., Varadyova, Z., Kozłowska, M., & Cieślak, A. (2021). Chemical and phytochemical composition, *in vitro* ruminal fermentation, methane production, and nutrient degradability of fresh and ensiled Paulownia hybrid leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 279, 115038. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115038>
 18. Icka, P., Damo, R., & Icka, E. (2016). Paulownia tomentosa, a fast growing timber. *Annals Valahia University of Targoviste Agriculture*, 10, 14–9. <https://doi.org/10.1515/agr-2016-0003>
 19. Kaiser, A. G., Piltz, J. W., Burn, H. M., & Grinffiths, N. W. (2004). Successful Silage, 2nd ed. Dairy Australia and NSW Dept. of Primary Industries, New South Wales, Australia.
 20. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 262–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
 21. Marten, G. C., & Barnes, R. F. (1980). Prediction of energy digestibility of forages within *in vitro* rumen fermentation and fungal enzymes systems. In: W. J. Pridgen, C. C. Balch, & M. Graham (Eds). Standardization of Analytical Methodology for Feeds. International Development Research Center, Ottawa, pp. 61-71.
 22. McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A., & Wilkinson, R. G. (2011). Animal Nutrition. 5th Ed. Prentice Hall, Essex, UK.
 23. Menke, K. H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7–55.
 24. Mertens, D. R. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds using refluxing in beakers or crucibles; collaborative study. *Journal AOAC International*, 85, 1217-1240.
 25. Miller, J. L. (1959). Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry*, 31, 426–429.

26. Norton, B. W. (1998). The nutritive value of tree legumes. In: R. C. Gutteridge & H. M. Sheton (Eds). Forage Tree Legumes in Tropical Agriculture. Tropical Grassland Society Aus. Inc., St Lucia. Queensland, Australia, pp. 15-48.
27. NRC. (2007). National Research Council, Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Washington (DC, USA): National Academy of Sciences.
28. Özelçam, H., İpçak, H. H., Özüretmen, S., & Canbolat, Ö. (2012). Feed value of dried and ensiled paulownia (*Paulownia* spp.) leaves and their relationship to rumen fermentation, *in vitro* digestibility, and gas production characteristics. *Revista Brasileiro de Zootecnia*, 50, e20210057. <https://doi.org/10.37496/rbz5020210057>
29. Raghuvansi, S. K. S., Prasad, R., Tripathi, M. K., & Mishra, A. S. (2007). Effect of complete feed blocks or grazing and supplementation of lambs on performance, nutrient utilization, and rumen fermentation and rumen microbial enzymes. *Animal*, 1, 221-226. <https://doi.org/10.1017/S1751731107284058>
30. Rezaei, J., Rouzbehan, Y., & Fazaeli, H. (2009). Nutritive value of fresh and ensiled amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) treated with different levels of molasses. *Animal Feed Science and Technology*, 151, 153-160. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.12.001>
31. SAS Institute Inc. (2005). User's Guide: Statistics, Version 9.0 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
32. Stewart, M., Vaidya, B., Mahapatra, A., Terrill, T., & Joshee, N. (2018). Potential use of multipurpose *Paulownia elongata* tree as an animal feed resource. *American Journal of Plant Sciences*, 9, 1212-1227. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.96090>
33. Van Soest, P. J. (1994). Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd Ed. Cornell University Press, Itacha, NY, USA, pp. 476.
34. Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
35. Vercoe, P. E., Makkar, H. P. S., & Schlink, A. C. (2010). *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies (2th Ed.). Springer Verlag GmbH.
36. Yadav, N. K., Vaidya, B. N., Henderson, K., Lee, J. F., Stewart, W. M., Dhekney, S. A., & Joshee, N. (2013). A review of *Paulownia* biotechnology: A short rotation, fast growing multipurpose bioenergy tree. *American Journal of Plant Science*, 4, 2070. <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.411259>



The Effect of Vitamin and Mineral Supplement Injection during the Transition Period on Inflammatory and Antioxidant Indices of Dairy Cows

Mohammad Asadi^{1*}, Reza Kamali¹, Nader Asadzadeh²

1- Department of Animal Sciences Research, Agricultural and Natural Resources Research Center of Golestan Province, Gorgan, Iran

2- Animal Science Research Institute of IRAN, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Iran

*Corresponding Author's Email: Mohammad.asadi_s97@gau.ac.ir

How to cite this article:

Received: 23-02-2025

Revised: 14-04-2025

Accepted: 15-04-2025

Available Online: 29-07-2025

Asadi, M., Kamali, R., & Asadzadeh, N. (2025). The effect of vitamin and mineral supplement injection during the transition period on inflammatory and antioxidant indices of dairy cows. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(2), 141-154. (in Persian with English abstract)
<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.92312.1239>

Introduction: The physiological transition of dairy cows from late pregnancy to early lactation is accompanied by major changes in the utilization of carbohydrates, amino acids, and lipids by adipose tissue, liver, and skeletal muscle, which are in response to the energy deficit of early lactation, resulting from abundant milk production without adequate compensation in feed intake. On the other hand, increased inflammation, oxidative stress, adipose tissue mobilization, and metabolic disorders occur during the transition period. Inflammation is an evolutionarily conserved response that underlies many physiological and pathological processes; in response to stimuli associated with infection and tissue damage, immune components initiate a response and cause inflammation. Among the essential micronutrients, antioxidant supplements such as minerals and vitamins are of particular importance. Minerals and vitamins, which play an important role in the immune system, help fight infections and diseases, and are in a way a modulator of the inflammatory process, play a role in the antioxidant system through their presence in several significant proteins. Considering the importance of a successful transition from the transition period to the lactation period and its effects on animal performance and health, a study was conducted to investigate the effect of vitamin and mineral supplement injections during the transition period on inflammatory and antioxidant indices of dairy cows.

Materials and Methods: For this purpose, 32 cows with an average milk production of 19 ± 2.7 kg, multiple calving (second calving) and a body condition score of 3.5 ± 0.25 were divided into 4 treatments and 8 replications in a completely randomized design at the end of the gestation period. The experimental treatments included: 1) control group (no vitamin and mineral supplement injection), 2) treatment receiving injectable vitamin supplement, 3) treatment receiving injectable mineral supplement, and 4) treatment receiving both injectable vitamin and mineral supplements. Supplements were injected subcutaneously 28 days before calving. The vitamin supplement contained 50,000 IU of vitamin A (palmitate), 25,000 IU of vitamin D3, 21 mg of vitamin E (acetate), 6 mg of vitamin B1, 2 mg of vitamin B2, 5 mg of vitamin B6, 12.5 mg of vitamin B3 (nicotinamide), 3 µg of vitamin B12, 6 mg of di-



©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.2025.92312.1239>

panthenol, and 2 mg of vitamin C, and its injection dose was 20 ml per cow as recommended by the manufacturer, and the mineral supplement contained 400 mg of calcium bromide gluconate, 22 mg of magnesium hypophosphite, and 2 mg of copper per ml, and its injection dose was 100 ml per cow as recommended by the manufacturer. The cows were examined for health and multiple births before grouping; all animals were healthy and monogamous. To measure blood biochemical metabolites, inflammatory markers, and antioxidant status, blood samples were collected from 6 replicates of each treatment on days 21 before parturition, the day of parturition, and 21 days after parturition.

Results and Discussion: Albumin, globulin and albumin:globulin ratio were affected by the experimental treatments; so that the injection of minerals, vitamins and minerals and vitamins together caused a decrease in albumin and albumin:globulin ratio and an increase in globulin in the blood of cows. The injection of minerals and vitamins had no effect on the parameters of glucose, cholesterol, triglycerides, total protein and urea. On the other hand, time also affected the parameters of glucose, cholesterol, triglycerides, total protein, albumin, globulin and albumin:globulin ratio. Insulin, catalase, cortisol, glutathione peroxidase, malondialdehyde, superoxide dismutase and total antioxidant status were affected by the experimental treatments; So that by injecting minerals, vitamins and minerals and vitamins together, insulin increased and total antioxidant status, catalase, cortisol, glutathione peroxidase, malondialdehyde and superoxide dismutase decreased, and the lowest amount of glutathione peroxidase was for the group receiving minerals and vitamins simultaneously. All hormonal parameters and antioxidant indices were also affected by time. Haptoglobin, serum amyloid A, ceruloplasmin and vitamin D concentrations were affected by the experimental treatments, such that minerals and vitamins decreased the concentrations of haptoglobin, serum amyloid A and ceruloplasmin and increased vitamin D, and the lowest serum amyloid A and ceruloplasmin levels were for the group receiving minerals and vitamins simultaneously. All inflammatory indices were also affected by time. Alkaline phosphatase enzyme activity was affected by the experimental treatments, and minerals and vitamins decreased the activity of this enzyme. Aspartate transaminase and alanine aminotransferase enzymes were not affected by the experimental treatments. Time affected alkaline phosphatase enzyme activity, but other parameters were not affected by time.

Conclusion: Injection of minerals and vitamins in late pregnancy to dairy cows caused a significant effect on the parameters of albumin, globulin, albumin:globulin ratio, insulin, catalase, cortisol, glutathione peroxidase, malondialdehyde, superoxide dismutase, total antioxidant status, haptoglobin, ceruloplasmin, serum amyloid A, vitamin D and alkaline phosphatase in the blood of cows receiving minerals and vitamins compared to the control group. Considering the greater improvement of co-injection of minerals and vitamins on albumin, glutathione peroxidase, serum amyloid A and ceruloplasmin in the blood of the treated cows, simultaneous injection of minerals and vitamins is recommended for cows in late pregnancy.

Keywords: Antioxidant status, Dairy cows, Inflammatory indices, Transition period, Vitamin and mineral supplements



تأثیر تزریق مکمل‌های ویتامینی و معدنی در دوره انتقال بر شاخص‌های التهابی و آنتی‌اکسیدانی گاوهای شیری

محمد اسدی^{۱*}، رضا کمالی^۱، نادر اسدزاده^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۲۶

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر تزریق مکمل‌های ویتامینی و معدنی در دوره انتقال بر شاخص‌های التهابی و آنتی‌اکسیدانی گاوهای شیری، با استفاده از ۳۲ رأس گاو در اواخر آبستنی با چهار تیمار و هشت تکرار در قالب طرح کامل تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) گروه شاهد (عدم تزریق مکمل ویتامینی و معدنی)، (۲) گروه دریافت‌کننده مکمل ویتامینی تزریقی، (۳) گروه دریافت‌کننده مکمل معدنی تزریقی و (۴) گروه دریافت‌کننده مکمل ویتامینی و معدنی تزریقی با هم بود. تزریق در ۲۸ روز قبل زایش به صورت زیرجلدی انجام شد. نتایج نشان داد که تزریق مواد معدنی، ویتامین‌ها و مواد معدنی و ویتامین‌ها با هم سبب کاهش آلبومین و نسبت آلبومین:گلوبولین و افزایش گلوبولین خون گاوها گردید. همچنین با تزریق مکمل‌ها، انسولین افزایش و وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل، کاتالاز، کورتیزول، گلوکاتیون پراکسیداز، مالون دی‌آلدئید و سوپراکسیددیسموتاز کاهش یافتند و کم‌ترین مقدار گلوکاتیون پراکسیداز برای گروه دریافت‌کننده هم‌زمان مواد معدنی و ویتامین‌ها بود. دریافت مواد معدنی و ویتامین‌ها سبب کاهش غلظت هاپتوگلوبین، آمیلوئید A سرم و سرولوپلاسمین و افزایش ویتامین D شد و کم‌ترین مقدار آمیلوئید A سرم و سرولوپلاسمین برای گروه دریافت‌کننده مواد معدنی و ویتامین‌ها به صورت هم‌زمان بود. فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و مواد معدنی و ویتامین‌ها سبب کاهش فعالیت این آنزیم گردید. آنزیم‌های آسپارات ترانس آمیناز و آلانین آمینوترانسفراز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. با توجه به بهبود بیشتر تزریق با هم مواد معدنی و ویتامین‌ها بر آلبومین، گلوکاتیون پراکسیداز، آمیلوئید A سرم و سرولوپلاسمین خون تیمار دریافت‌کننده، تزریق هم‌زمان مواد معدنی و ویتامین‌ها به گاوهای اواخر آبستنی توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: انسولین، آنزیم کبدی، گاو هلشتاین، ویتامین D، هاپتوگلوبین

مقدمه

(Horst et al., 2021) که در پاسخ به کمبود انرژی در اوایل شیردهی، که به خاطر تولید شیر فراوان با عدم جبران مناسب در مصرف خوراک ایجاد می‌شود، این تغییرات رخ می‌دهد (McGuckin et al., 2023). از طرفی، افزایش التهاب، تنش اکسیداتیو و اختلالات متابولیک در دوره انتقال رخ می‌دهند (Coleman et al., 2021). تقاضای بالای مواد مغذی و افت مصرف خوراک سبب توازن منفی انرژی در دام و به دنبال آن افزایش اسیدهای چرب غیراستریفه برای فراهمی انرژی برای سلول‌های کبدی می‌شود (Ghasemi et al., 2019). افزایش اسیدهای چرب غیراستریفه (NEFA)^۳ پیش از زایمان و بتا هیدروکسی بوتیرات (BHB)^۴ پس از زایمان ضمن اختلال

انتقال فیزیولوژیکی گاوهای شیری از اواخر بارداری به اوایل شیردهی با تغییرات عمده در استفاده از کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه و لیپیدها توسط بافت چربی، کبد و عضله اسکلتی همراه است

۱- بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، گرگان، ایران

۲- بخش تحقیقات مدیریت پرورش دام و طیور، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج، ایران

(*)- نویسنده مسئول:

(Email: Mohammad.asadi_s97@gau.ac.ir.)

<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.92312.1239>

3- Non-esterified fatty acids

4- Beta-hydroxybutyrate

مهمی در سیستم ایمنی دارد، از طریق حضور در چندین پروتئین قابل توجه در سیستم آنتی اکسیدانی به مبارزه با عفونت‌ها و بیماری‌ها کمک می‌کند و به نوعی تعدیل کننده فرآیند التهابی می‌باشد (Weiss, 2010). مس بیشتر در پروتئین سرولوپلاسمین و سوپراکسید دیسموتاز وجود دارد (Gropper et al., 2005). علاوه بر این، در گاوهای شیری غلظت ویتامین D در دوره بحرانی پس از زایمان کاهش می‌یابد؛ کاهش غلظت ویتامین D ممکن است که واکنش التهابی و تنش اکسیداتیو را افزایش دهد. در دوره انتقال که گاوها در برابر بیماری‌های متابولیک و تنش اکسیداتیو آسیب‌پذیر هستند و کاهش ویتامین D سرم می‌تواند در این وضعیت نقش داشته باشد، تزریق ویتامین D₃ بر تعدیل پاسخ‌های ایمنی و وضعیت اکسیداتیو/آنتی اکسیداتیو در طول دوره گذار گاوهای شیری کمک می‌کند (HassanAbadi et al., 2021). ویتامین E، توانایی خنثی کردن ROS را دارد، در نتیجه از پیشرفت التهاب جلوگیری می‌کنند (Bernabucci et al., 2005). از آنجایی که غلظت پلاسمایی ویتامین E در طول دوره گذار کاهش می‌یابد، مکمل ویتامین E قبل از زایمان وضعیت آنتی اکسیدانی را بهبود می‌بخشد (Berton et al., 2015). ویتامین A به کمک ویتامین C علاوه بر کاهش عفونت‌های پستان و بیماری‌های متابولیکی، به صورت غیرمستقیم بر حفظ سطوح مناسب ویتامین E تأثیر گذاشته و باعث بهبود پاسخ سلول‌های ایمنی می‌شوند (Erb et al., 2004).

در پژوهشی، تزریق گروه ویتامین‌های B به بزهای اواخر آبستنی باعث افزایش گلوکز و کاهش کلسترول خون آن‌ها شد (Asadi et al., 2025). تزریق ویتامین‌های A، D₃ و E به گاوهای شیری در فصل تابستان باعث کاهش غلظت آلبومین و افزایش پروتئین خون آن‌ها شد و بر فعالیت مالون دی آلدئید خون اثری نداشت (Sharokhian Rezaee et al., 2015). در پژوهشی دیگر، تجویز ویتامین C به میش‌های تحت استرس، منجر به کاهش سطوح کورتیزول خون شد (Abolghasemi et al., 2023). استفاده از شکل‌های مختلف مس در جیره بزها، باعث افزایش غلظت سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز و وضعیت آنتی اکسیدانی کل و کاهش غلظت مالون دی آلدئید بزها شد (Shen et al., 2021). تزریق ویتامین‌های B کمپلکس به بزها در طول دوره گذار، با کاهش تنش اکسیداتیو، منجر به کاهش تعادل انرژی منفی در بزها شد (Ongan and Yuksel, 2017). تزریق مس به گاوهای شیری دوره انتقال با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاهش بروز ورم پستان همراه بوده است (Suttle, 2010). با توجه به اهمیت گذر موفق از دوره انتقال به دوره شیردهی و تأثیرات آن بر عملکرد و سلامت دام، پژوهشی به منظور تأثیر تزریق مکمل‌های ویتامینی و معدنی در دوره انتقال بر شاخص‌های التهابی و آنتی اکسیدانی گاوهای شیری انجام شد.

در عملکرد کبدی، با افزایش پروتئین‌های فاز حاد، التهاب و خطر اندومتریته همراه خواهد بود. افزایش تقاضای اکسیژن جهت سوخت‌وساز و سیتوکین‌های التهابی در پیرامون زایمان منجر به تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژنی می‌شود (Allen and Bradford, 2009). عدم توازن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ^۱ با توان یا ظرفیت ضد اکسیداتیو، تنش اکسیداتیو را به دنبال دارد که عامل آسیب‌رسان اغلب ناهنجاری‌های متابولیک و پاسخ‌های التهابی گاوهای شیری است (Giuliodori et al., 2013). التهاب یک پاسخ حفاظت‌شده تکاملی است که زمینه‌ساز بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیک است؛ در پاسخ به محرک‌های مرتبط با عفونت و آسیب بافتی، اجزاء ایمنی پاسخ‌دهی را آغاز کرده و باعث التهاب می‌شوند (Medzhitov, 2008). در حالت ایده‌آل، التهاب به بدن کمک می‌کند تا با محرک‌های نامطلوب سازگار شده و باهدف بازیابی هموستاز بر آن غلبه کند؛ اگرچه افزایش چشمگیر شاخص‌های التهابی می‌تواند باعث ایجاد سندروم آزادسازی سیتوکین و حتی آسیب بافتی شود، التهاب تحت حاد باعث افزایش خفیف واسطه‌های التهابی می‌شود که به تغییرات مزمن و پیش‌رونده در عملکرد بافت کمک می‌کند (Han et al., 2020). در پاسخ به محرک‌های التهابی، بیان و آزادسازی واسطه‌های التهابی از جمله سیتوکین‌ها، کموکاین‌ها، ایکوزانوئیدها و پروتئین‌های حاد در بدن اتفاق می‌افتد (Newton and Dixit, 2012). این مولکول‌ها شبکه‌های تنظیمی پیچیده‌ای را برای افزایش جریان خون به بافت آلوده، نفوذ و فعال شدن سلول‌های ایمنی، و پاسخ‌های سیستمیک تشکیل می‌دهند (Nelson et al., 2022). یک پاسخ ثانویه کلیدی به التهاب، پاسخ مرحله حاد است. پروتئین‌های فاز حاد که در بیشترین مقدار توسط کبد تولید می‌شوند، عبارت‌اند از هاپتوگلوبین، سرولوپلاسمین، آمیلوئید A سرم و پروتئین واکنش گر c (Bradford et al., 2015). پروتئین‌های دخیل در پاسخ فاز حاد به طور کلی به مقدار بسیار کم در جریان خون یافت می‌شوند، اما غلظت آن‌ها در طول التهاب سیستمیک به میزان زیادی افزایش می‌یابد. در همان زمان، غلظت سایر پروتئین‌ها نظیر آلبومین که معمولاً از کبد ترشح می‌شوند، کاهش می‌یابد، بنابراین گاهی اوقات به عنوان واکنش دهنده فاز حاد منفی شناخته می‌شوند (Ceciliani et al., 2012). از راه‌های کاهش التهاب، بهبود تنش اکسیداتیو و سیستم ایمنی، استفاده از مواد مغذی در جیره گاوهای اواخر آبستنی یا تزریق آن‌ها به دام می‌باشد (Asadi et al., Abuelo et al., 2016; 2024d).

از بین ریزمغذی‌های ضروری، برخی از مواد معدنی و ویتامین‌ها که نقش آنتی اکسیدانی دارند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (Panahi Dorche et al., 2018). برای مثال، عنصر مس که نقش

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در پاییز ۱۴۰۳ در مزرعه دام‌پروری دام نمونه زروان واقع در شهرستان گرگان صورت گرفت. بدین منظور، ۳۲ رأس گاو هلشتاین با میانگین تولید شیر $2/7 \pm 19$ کیلوگرم، چندشکم‌زا (شکم دوم) و نمره وضعیت بدنی $0/25 \pm 3/5$ در اواخر دوره آبستنی به چهار تیمار و هشت تکرار در قالب طرح کامل تصادفی تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) گروه شاهد (عدم تزریق مکمل ویتامینی و معدنی)، (۲) گروه دریافت‌کننده مکمل ویتامینی تزریقی، (۳) گروه دریافت‌کننده مکمل معدنی تزریقی و (۴) گروه دریافت‌کننده مکمل ویتامینی و معدنی تزریقی با هم بود. تزریق مکمل‌ها در ۲۸ روز قبل زایش به صورت زیرجلدی انجام شد. مکمل ویتامینی حاوی ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A (پالمیتات)، ۲۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۲۱ میلی‌گرم ویتامین E (استات)، شش میلی‌گرم ویتامین B₁، دو میلی‌گرم ویتامین B₂، پنج میلی‌گرم ویتامین B₆، ۱۲/۵ میلی‌گرم ویتامین B₃ (نیکوتینامید)، سه میکروگرم ویتامین B₁₂، شش میلی‌گرم دی پانتنول و دو میلی‌گرم ویتامین C و دز تزریق آن طبق توصیه شرکت سازنده ۲۰ میلی‌لیتر به‌ازای هر رأس گاو بود و مکمل معدنی که هر میلی‌لیتر آن حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم کلسیم بروگلوکونات، ۲۲ میلی‌گرم منیزیم هیپوفسفیت و دو میلی‌گرم مس بوده و دز تزریق آن طبق توصیه شرکت سازنده ۱۰۰ میلی‌لیتر به‌ازای هر رأس گاو بود. گاوها پیش از گروه‌بندی از نظر سلامت و چندقلوایی بررسی شدند، کلیه دام‌ها سالم و تک‌قلوزا بودند. جیره مورد استفاده پیش از زایش و پس از زایش گاوها و مواد مغذی آن‌ها در **جدول ۱** آمده است. گاوهای گروه‌های آزمایشی در طول پژوهش به‌طور گروهی نگهداری شده و دو وعده در روز از خوراک مصرفی به‌شکل TMR تغذیه می‌شدند و در طول آزمایش به‌طور آزاد به آب و خوراک دسترسی داشتند.

جهت اندازه‌گیری متابولیت‌های بیوشیمیایی خون، شاخص‌های التهابی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی، از شش تکرار هر تیمار در روزهای ۲۱ پیش از زایش، روز زایش و ۲۱ روز پس از زایش خون‌گیری انجام شد. نمونه‌های خون به داخل لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد (EDTA) منتقل شدند. برای تهیه پلاسما، نمونه‌های خون به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد و در نهایت، نمونه‌های پلاسما تا زمان آنالیز به ۲۰- درجه سلسیوس منتقل شدند. وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل، سوپراکسیددیسموتاز، مالون دی‌آلدئید، کاتالاز، و فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز، گلوکز، کلسترول، اوره، تری‌گلیسرید، پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و ویتامین D خون با استفاده از کیت الایزا به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Spect AA220, Variant) اندازه‌گیری شد. غلظت

آمیلوئید A سرم و هاپتوگلوبین با کیت الایزا (tridelta) و سرولوپلاسمین با سنجش فعالیت اکسیدازی سرولوپلاسمین به‌روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شدند. غلظت کورتیزول با کیت کورتیزول (مونوباند، آمریکا) اندازه‌گیری شد و سنجش آنزیمی برای تجزیه و تحلیل انسولین پلاسما با استفاده از کیت‌های (DRG)، (Randox Laboratories Ltd.) توسط یک اسپکتروفتومتر اتوماتیک (RAL؛ Clima Plus) اندازه‌گیری شد.

در نهایت، اطلاعات حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و هشت تکرار می‌باشد. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و رویه GLM صورت گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح معنی‌داری پنج درصد استفاده شد.

برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از مدل آماری زیر (معادله ۱) استفاده شد.

معادله (۱)

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + E_{aik} + B_j + AB_{ij} + EB_{ijk}$$

که در آن، Y_{ijk} : مشاهده مربوط به تیمار i و زمان اندازه‌گیری j در تکرار k ، μ : میانگین کلی مشاهده‌ها، A_i = اثر تیمار i ، E_{aik} : خطای اصلی، B_j : اثر زمان اندازه‌گیری j ، AB_{ij} : برهم‌کنش تیمار i و زمان اندازه‌گیری j و EB_{ijk} : خطای فرعی است.

نتایج و بحث

تأثیر تزریق مواد معدنی و ویتامین‌ها به گاوهای اواخر آبستنی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون گاوها در **جدول ۲** گزارش شده است. آلبومین، گلوبولین و نسبت آلبومین:گلوبولین تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند؛ به‌طوری‌که تزریق مواد معدنی، ویتامین‌ها و مواد معدنی و ویتامین‌ها با هم سبب کاهش آلبومین و نسبت آلبومین:گلوبولین و افزایش گلوبولین خون گاوها گردید ($P < 0.05$). تزریق مواد معدنی و ویتامین‌ها بر پارامترهای گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل و اوره تأثیری نداشت ($P > 0.05$). از طرفی، زمان نیز بر پارامترهای گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین و نسبت آلبومین: گلوبولین تأثیرگذار بود ($P < 0.05$). در پژوهشی، تزریق کمپلکس حاوی ویتامین E تأثیری بر گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و آلبومین گاوها نداشت (Abdolmaleki et al., 2018). همچنین، تزریق کمپلکس ویتامینی (AD_3E) تأثیری بر کلسترول، پروتئین و آلبومین گوساله‌ها نداشت (Movahednasab et al., 2023). در تضاد با نتایج پژوهش حاضر، تزریق ویتامین D₃ به گاوهای دوره انتقال تأثیری بر گلوبولین خون آن‌ها نداشت (Hassanabadi et al., 2021).

جدول ۱- اجزاء جیره و ترکیب شیمیایی

Table 1- Diet components and chemical compositions

اجزاء جیره گاوها قبل از زایش (درصد ماده خشک) Diet Ingredient of Pre-partum (percentage of dry matter)		اجزاء جیره گاوها قبل از زایش (درصد ماده خشک) Diet Ingredient of Post-partum (percentage of dry matter)	
سیلاژ ذرت	21.31	سیلاژ ذرت	47.50
Corn silage		Corn silage	
یونجه	17.04	یونجه	12.75
Alfalfa		Alfalfa	
تفاله چغندر قند	9.74	دانه جو	10.08
Sugar beet pulp		Barley grain	
پنبه دانه کامل	8.86	دانه ذرت	11.49
Whole cottonseed		Corn grain	
دانه جو	11.76	کنجاله سویا	3.04
Barley grain		Soybean meal	
دانه ذرت	14.34	پودر ماهی	1.55
Corn grain		Fish powder	
کنجاله گلوتن ذرت	1.58	کنجاله کلزا	5.42
Corn gluten meal		Canola meal	
کنجاله سویا	8.27	کنجاله گلوتن ذرت	1.55
Soybean meal		Corn gluten meal	
پودر ماهی	1.73	پنبه دانه کامل	2.39
Fish powder		Whole cottonseed	
بنتونیت	0.52	منیزیم سولفات	0.71
Bentonite		Magnesium sulphate	
کربنات کلسیم	0.76	کلسیم کربنات	1.36
Calcium carbonate		Calcium carbonate	
نمک	0.50	کلرید کلسیم	0.61
Salt		Calcium chloride	
مونسنین	0.25	مونسنین	0.25
Monensin		Monensin	
خمیر	0.25	خمیر	0.25
yeast		yeast	
مکمل معدنی-ویتامینی ^۱	1.64	مکمل معدنی-ویتامینی ^۱	1.21
Mineral-vitamin supplement ¹		Mineral-vitamin supplement ¹	
ترکیب شیمیایی Chemical composition		ترکیب شیمیایی Chemical composition	
مواد مغذی جیره	مقدار	مواد مغذی جیره	مقدار
Nutrients diet	Amount	Nutrients diet	Amount
انرژی شیردهی (مگا کالری/کیلوگرم ماده خشک)	1.72	انرژی شیردهی (مگا کالری/کیلوگرم ماده خشک)	1.61
Cow lactation energy (Mcal/kg DM)		Cow lactation energy (Mcal/kg DM)	
پروتئین خام (درصد)	16.10	پروتئین خام (درصد)	13.67
Crude protein (%)		Crude protein (%)	
فیبر نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	32.20	فیبر نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	34.60
Neutral detergent fiber (%)		Neutral detergent fiber (%)	
عصاره اتری (درصد)	1.94	خاکستر (درصد)	7.92
Ethereal extract (%)		Ash (%)	

کلسیم (درصد)	1.34	کلسیم (درصد)	8.08	خاکستر (درصد)	
Calcium (%)		Calcium (%)		Ash (%)	
فسفر (درصد)	0.39	فسفر (درصد)	0.94	کلسیم (درصد)	
Phosphorus (%)		Phosphorus (%)		Calcium (%)	
منیزیم (درصد)	0.68	منیزیم (درصد)	0.44	فسفر (درصد)	
Magnesium (%)		Magnesium (%)		Phosphorus (%)	
DCAD (meq/kg)	-57	DCAD (meq/kg)	288	DCAD (meq/kg)	

^۱پرمیکس معدنی-ویتامینی شامل (هر یک کیلوگرم پرمیکس): ۱۴۰ گرم کلسیم، ۲۰ گرم فسفر، ۳۵ گرم منیزیم، ۴۰ گرم کروم، ۴۰ گرم گوگرد، ۱۲۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۸۰۰ میلی‌گرم مس، هشت میلی‌گرم کبالت، ۱۰ میلی‌گرم ید، ۴۰۰ میلی‌گرم آهن، ۱۵ میلی‌گرم سلنیوم، ۳۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۶۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃ و ۴۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E

^۱The mineral and vitamin premix contained (1 kg premix): 140 g Ca, 20 g P, 35 g Mg, 40 g Cr, 40 g S, 1200 mg Mn, 1000 mg Zn, 800 mg Cu, 8 mg Co, 10 mg Iodine, 400 mg Fe, 15 mg Se, 20000 mg vitamin NA, 350000 IU vitamin A, 60000 IU vitamin D₃, 4000 IU vitamin E

جدول ۲- اثر تزریق مواد معدنی و ویتامینی در اواخر آبستنی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون

Table 2- The effect of mineral and vitamin injections in late pregnancy on Biochemical parameters

فراسنجه‌های بیوشیمیایی Biochemical parameters	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	سطح احتمال P-value		
	شاهد Control	مواد معدنی Minerals	ویتامین‌ها Vitamins	مواد معدنی+ویتامین‌ها Min+vit		تیمار Treatment	زمان Time	تیمار×زمان Treatment× time
گلوکز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Glucose (mg/dL)	70.04	69.58	70.82	68.16	1.097	0.405	<0.001	0.006
کلسترول (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Cholesterol (mg/dL)	52.00	51.20	50.86	52.30	0.575	0.286	<0.001	0.748
تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Triglyceride (mg/dL)	27.39	27.17	28.15	27.97	0.486	0.549	<0.001	0.032
اوره (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Urea (mg/dL)	29.64	30.57	27.97	30.84	0.614	0.486	0.749	0.848
پروتئین کل (گرم/دسی‌لیتر) Total Protein (g/dL)	7.52	7.59	7.57	7.55	0.055	0.841	<0.001	0.535
آلبومین (گرم/دسی‌لیتر) Albumin (g/dL)	4.57 ^a	4.35 ^b	4.34 ^b	4.28 ^c	0.029	<0.001	<0.001	<0.001
گلوبولین (گرم/دسی‌لیتر) Globulin (g/dL)	2.94 ^b	3.23 ^a	3.23 ^a	3.26 ^a	0.050	0.001	<0.001	0.076
آلبومین/گلوبولین Albumin:globulin	1.56 ^a	1.35 ^b	1.35 ^b	1.32 ^b	0.025	<0.001	0.008	0.001

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد (P>۰/۰۵). SEM: خطای استاندارد از میانگین

Means in rows with different superscripts differ significantly (P<0/05)

SEM: Standard error of means

از زایش، روز زایش و پس از زایش نداشت (Mousavi *et al.*, 2022). از طرفی، تزریق کمپلکس ویتامینی (AD₃E) به میش‌های اواخر آبستنی تأثیری بر کلسترول و تری‌گلیسیرید آن‌ها نداشت، اما سبب افزایش گلوکز و پروتئین کل خون میش‌ها گردید (Shahbazi *et al.*, 2024). تزریق کمپلکس معدنی-ویتامینی به گاوهای اواخر آبستنی تغییری در فراسنجه‌های بیوشیمیایی پیش از زایش آن‌ها

در پژوهشی، استفاده از ویتامین E خوراکی در جیره گاوها سبب افزایش گلوکز خون شد (Chandra *et al.*, 2014). تزریق کمپلکس ویتامین‌های B₈، B₉، B₁₂ تأثیری بر گلوکز دام‌ها در پیش از زایش آن‌ها نداشت (Duplessis *et al.*, 2022). موافق با نتایج پژوهش حاضر، تزریق ویتامین‌های B₁₂ و E به گاوهای اواخر آبستنی تأثیری بر گلوکز، پروتئین کل، تری‌گلیسیرید و کلسترول در زمان‌های پیش

(AD₃E) به میش‌های اواخر آبستنی سبب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی، سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش مالون دی آلدئید میش‌ها شد (Shahbazi et al., 2024). تزریق کمپلکس معدنی-ویتامین به گاوهای اواخر آبستنی سبب افزایش گلوتاتیون پراکسیداز آن‌ها در قبل و بعد از زایش نسبت به گاوهای گروه شاهد شد (Asadi et al., 2021). تزریق مواد معدنی به گاوهای شیری تغییر در فعالیت سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز آن‌ها ایجاد نکرد (Silva et al., 2022).

در گاوهای دوره انتقال، خطر تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد، سازوکارهای آنزیمی آنتی‌اکسیدانی با حذف رادیکال‌های آزاد، گونه‌های فعال اکسیژن و محصولات تخریبی حاصل از آن‌ها سبب جلوگیری از تنش اکسیداتیو، آسیب بافتی و بهبود پاسخ ایمنی در مقابل التهاب و تنش‌ها می‌شوند (Toghdory et al., 2023). از مهم‌ترین مواد مغذی بهبوددهنده فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مواد معدنی و ویتامین‌ها هستند (Asadi et al., 2024b). ویتامین E، برای بهبود توانایی سلول‌ها در خنثی کردن ROS مهم است و در نتیجه از پیشرفت به سمت التهاب جلوگیری می‌کند (Bernabucci et al., 2002). عنصر مس برای تعدادی از آنزیم‌های درگیر در متابولیسم انرژی یا آنتی‌اکسیدانی و برای پروتئین‌های انتقال الکترون مورد نیاز است (Wysocka et al., 2019). سوپراکسیددیسموتاز از آنزیم‌های حاوی مس است که فعالیت ضدالتهابی دارد و کاهش و تضعیف پاسخ ایمنی فعالیت متالوآنزیم مس، سوپراکسید ديسموتاز را کاهش می‌دهد (Kegley et al., 2016). سوپراکسیددیسموتاز از آسیب بافت اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های سوپراکسید جلوگیری می‌کند. اختلال در فعالیت میکروپکس نیز ممکن است که نتیجه مستقیم کاهش غلظت رادیکال‌های پراکسید هیدروژن تولیدشده توسط کاهش رادیکال‌های سوپراکسید با واسطه سوپراکسید ديسموتاز باشد. غلظت ویتامین D سرم در دوره انتقال، به‌ویژه در اوایل شیردهی که گاوهای شیری بیشتر مستعد ابتلا به بیماری و استرس متابولیک هستند، کاهش می‌یابد (Holcombe et al., 2018). کاهش غلظت ویتامین D ممکن است که واکنش التهابی و تنش اکسیداتیو را افزایش دهد. از طرفی، ویتامین D می‌تواند با تأثیر بر افزایش گلوتاتیون پراکسیداز درون سلولی، شرایط مناسبی در برابر تنش اکسیداتیو مهیا کند (Sordillo and Aitken, 2009). از کورتیزول به‌عنوان سرکوب‌کننده سیستم ایمنی نام برده می‌شود (Abdelnour et al., 2019). غلظت بالای کورتیزول با مهار عملکرد و تولید آنتی‌بادی‌ها و همچنین کاهش تعداد و فعالیت لنفوسیت‌ها، سرکوب‌کننده سیستم ایمنی است و ریزمغذی‌ها می‌توانند سبب کاهش کورتیزول و بهبود پاسخ ایمنی به‌هنگام تنش و التهاب گردند (Kafilzadeh et al., 2012). پاسخ غلظت انسولین به مواد معدنی و ویتامین‌ها تا حدی می‌تواند به کاهش سطح کورتیزول خون نسبت

ایجاد نکرد، اما سبب افزایش گلوکز و تری‌گلیسیرید گاوها پس از زایش شد (Asadi et al., 2021). در دوره انتقال، پروتئین‌هایی نظیر آلبومین که معمولاً از کبد ترشح می‌شوند به‌عنوان نشانگرهای التهابی و پروتئین‌های فاز حاد منفی پذیرفته شده‌اند (Ceciliani et al., 2012). همچنین کاهش نسبت آلبومین:گلوبولین نشان‌دهنده کاهش اثر تنش‌ها و التهاب می‌باشد که می‌توان نتیجه گرفت با کاهش آلبومین خون باعث کاهش استرس و بهبود پاسخ سیستم ایمنی می‌شوند (Movahednasab et al., 2023).

تأثیر تزریق مواد معدنی و ویتامین‌ها به گاوهای اواخر آبستنی بر فراسنجه‌های هورمونی و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی گاوها در جدول ۳ گزارش شده است. انسولین، کاتالاز، کورتیزول، گلوتاتیون پراکسیداز، مالون دی آلدئید، سوپراکسیددیسموتاز و وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند، به‌طوری‌که با تزریق مواد معدنی، ویتامین‌ها و مواد معدنی و ویتامین‌ها با هم، انسولین افزایش و وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل، کاتالاز، کورتیزول، گلوتاتیون پراکسیداز، مالون دی آلدئید و سوپراکسیددیسموتاز کاهش یافتند و کم‌ترین مقدار گلوتاتیون پراکسیداز برای گروه دریافت‌کننده هم‌زمان مواد معدنی و ویتامین‌ها بود ($P < 0.05$). تمام فراسنجه‌های هورمونی و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر زمان نیز قرار گرفتند ($P < 0.05$). هم‌سو با پژوهش حاضر، کمپلکس مواد معدنی و ویتامین‌ها سبب کاهش کورتیزول پلاسما در گاوهای شیری گردید (Khan et al., 2024). در پژوهشی، تزریق ویتامین B کمپلکس به بزهای اواخر آبستنی، افزایش سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز و کاهش وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل و کاهش کورتیزول در هنگام زایش و پس از زایش نسبت به گروه شاهد را به همراه داشت (Asadi et al., 2024a). تزریق کمپلکس ویتامینی (AD₃E) تأثیری بر ظرفیت آنتی اکسیدانی تام گوساله‌ها نداشت (Movahednasab et al., 2023). تزریق ویتامین D₃ به گاوهای دوره انتقال تأثیری بر سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز خون آن‌ها نداشت (Hassanabadi et al., 2021). با تزریق مواد معدنی، ویتامین‌ها و هر دو با هم به گاوهای دوره انتقال، افزایش سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (Somagond et al., 2023). در گاوهای اواخر آبستنی دریافت‌کننده ویتامین‌ها، کاهش مالون دی آلدئید و افزایش وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز اتفاق افتاد (Khan et al., 2024). با تزریق کمپلکس مواد معدنی، گلوتاتیون پراکسیداز تیمار دریافت‌کننده پس از زایش، بیشتر از گروه شاهد گزارش شد (Bates et al., 2025). مکمل حاوی ویتامین A و E سبب کاهش تنش اکسیداتیو و سطوح کورتیزول و پاسخ ایمنی بالاتر در گاو شیری پس از زایمان شد (Alhussien et al., 2021). تزریق کمپلکس ویتامینی

داده شود (Khansari et al., 1990)، کورتیزول و انسولین به‌طور متضاد بر متابولیسم عمل کرده و ریزمغذی‌ها پتانسیل افزایش سطح انسولین را دارند، پس این آنتاگونیست و تغییر متابولیسم عمومی بدن توسط مواد معدنی و ویتامین‌ها سبب بهبود فرآیندهای تولید، تکثیر و فعال‌سازی سلول‌های ایمنی و همچنین مقاومت بدن در برابر بیماری‌ها شود (Asadi et al., 2024c).

جدول ۳- اثر تزریق مواد معدنی و ویتامینی در اواخر آبستنی بر فراسنجه‌های هورمونی و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی

Table 3- The effect of mineral and vitamin injections in late pregnancy on hormonal parameters and antioxidant indices

فراسنجه‌ها Parameters	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	سطح احتمال P-value		
	شاهد Control	مواد معدنی Minerals	ویتامین‌ها Vitamins	مواد معدنی+ویتامین‌ها Min+vit.		تیمار Treatment	زمان Time	تیمار×زمان Treatment× time
انسولین (نانوگرم/میلی‌لیتر) Insulin (ng/ml)	13.03 ^b	14.10 ^a	14.56 ^a	14.18 ^a	0.197	0.002	0.001	0.133
کاتالاز (واحد/میلی‌گرم) Catalase (U/mg)	21.87 ^a	16.46 ^b	15.12 ^b	14.15 ^b	0.295	<0.001	<0.001	<0.001
کورتیزول (میکروگرم/دسی‌لیتر) Cortisol (mg/dl)	9.68 ^a	6.42 ^b	5.84 ^b	5.39 ^b	0.218	<0.001	<0.001	<0.001
گلوکاتایون پراکسیداز (واحد/میلی‌گرم) Gultation peroxidase (U/mg)	44.11 ^a	40.02 ^b	39.26 ^b	37.35 ^c	0.394	<0.001	<0.001	<0.001
مالون دی‌آلدئید (نانومول/میلی‌لیتر) Malondialdehyde (nmol/ml)	6.67 ^a	6.16 ^b	5.98 ^b	5.89 ^b	0.050	<0.001	<0.001	<0.001
سوپراکسید دیسموتاز (میلی‌گرم/واحد) Superoxide dismutase (U/mg)	30.70 ^a	25.83 ^b	25.83 ^b	24.50 ^b	0.345	<0.001	<0.001	<0.001
وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل (میلی‌مول/لیتر) Total antioxidant status (mmol/l)	0.91 ^a	0.79 ^b	0.78 ^b	0.77 ^b	0.014	<0.001	<0.001	0.001

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد ($P > 0.05$).

SEM: خطای استاندارد از میانگین

Means in rows with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

SEM: Standard error of means

افزایش سرولوپلاسمین آن‌ها نسبت به گروه شاهد شد (Nasr Chaleshtori et al., 2021). همچنین استفاده از مکمل مس در جیره بره‌های پروراری سبب افزایش غلظت سرولوپلاسمین آن‌ها گردید (Senthilkumar et al., 2009). باین‌حال، تزریق ویتامین D₃ به گاوهای دوره انتقال، تأثیری بر ویتامین D و هاپتوگلوبین خون آن‌ها نداشت (Hassanabadi et al., 2021). مخالف با نتایج پژوهش حاضر، تزریق کمپلکس مواد معدنی تغییری در هاپتوگلوبین گاوهای شیری ایجاد نکرد (Silva et al., 2022). یک پاسخ ثانویه کلیدی به التهاب، پاسخ مرحله حاد است. پروتئین‌های فاز حاد که توسط کبد در بیشترین مقدار تولید می‌شوند، عبارت‌اند از هاپتوگلوبین،

تأثیر تزریق مواد معدنی و ویتامین‌ها به گاوهای اواخر آبستنی بر شاخص‌های التهابی گاوها در **جدول ۴** گزارش شده است. غلظت هاپتوگلوبین، آمیلوئید A سرم، سرولوپلاسمین و ویتامین D تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند، به‌طوری‌که مواد معدنی و ویتامین‌ها سبب کاهش غلظت هاپتوگلوبین، آمیلوئید A سرم و سرولوپلاسمین و افزایش ویتامین D شد و کم‌ترین مقدار آمیلوئید A سرم و سرولوپلاسمین برای گروه دریافت‌کننده مواد معدنی و ویتامین‌ها به‌صورت هم‌زمان بود ($P < 0.05$). کلیه شاخص‌های التهابی تحت تأثیر زمان نیز قرار گرفتند ($P < 0.05$). هم‌سو با پژوهش حاضر، استفاده از قرص آهسته‌رهش مس در دوره انتقال می‌ش‌ها سبب

سرولوپلاسمین، آمیلوئید A سرم و پروتئین واکنش گر C. پروتئین های دخیل در پاسخ فاز حاد به طور کلی به مقدار بسیار کم در جریان خون یافت می شوند، اما غلظت آن ها در طول التهاب سیستمیک به میزان زیادی افزایش می یابد. با عبور از دوره انتقال و بروز تنش و التهاب، مواد معدنی و ویتامین ها سبب افزایش فراهمی مواد اولیه برای تولید پروتئین های فاز حاد می گردند و بدین ترتیب مقدار بیشتری از هاپتوگلوبین، آمیلوئید A سرم و سرولوپلاسمین در خون گاوها مشاهده می شود (Bradford et al., 2015). نقش مس در

خون سازی از طریق سرولوپلاسمین انجام می گیرد و فعالیت ضد التهابی دارد (Kegley et al., 2016). همچنین سرولوپلاسمین باعث تسهیل اتصال آهن به پروتئین ذخیره ای فریتین می شود و می تواند از طریق جمع آوری آهن آزاد و حذف رادیکال های آزاد در دفاع آنتی اکسیدانی نقش داشته باشد (Suttle, 2010). با کاهش غلظت ویتامین D در دوره انتقال، واکنش التهابی و تنش اکسیداتیو افزایش می یابد و با استفاده از مکمل ها از افت ویتامین D در خون جلوگیری می شود (Holcombe et al., 2018).

جدول ۴- اثر تزریق مواد معدنی و ویتامینی در اواخر آبستنی بر شاخص های التهابی

Table 4- The effect of mineral and vitamin injections in late pregnancy on hormonal parameters and inflammatory indices

فراسنجه ها Parameters	تیمارهای آزمایشی Exprimental treatments				خطای استاندارد میانگین ها SEM	سطح احتمال P-value		
	شاهد Control	مواد معدنی Minerals	ویتامین ها Vitamins	مواد معدنی + ویتامین ها Min+vit.		تیمار Treatment	زمان Time	تیمار × زمان Treatment × time
هاپتوگلوبین (میکروگرم/میلی لیتر) Haptoglobin (mg/ml)	101.28 ^a	89.27 ^b	87.51 ^b	84.51 ^b	1.213	<0.001	<0.001	0.059
سرم (میلی گرم/لیتر) آمیلوئید Serum amyloid A (mg/l)	15.36 ^a	13.10 ^b	12.48 ^b	11.91 ^c	0.177	<0.001	<0.001	<0.001
سرولوپلاسمین (میلی گرم/دسی لیتر) Ceruloplasmin (mg/dl)	4.13 ^c	4.53 ^b	4.96 ^b	5.20 ^a	0.116	<0.001	<0.001	<0.001
(نانوگرم/میلی لیتر) D ویتامین Vitamin D (ng/ml)	88.54 ^b	99.85 ^a	109.29 ^a	103.98 ^a	0.900	<0.001	<0.001	0.274

میانگین های دارای حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد می باشد ($P > 0.05$).

SEM: خطای استاندارد از میانگین

Means in rows with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

SEM: Standard error of means

آنزیم آسپاراتات ترانس آمیناز نداشت (Moradian et al., 2016). استفاده از کمپلکس مواد معدنی و مخلوط ویتامین های محلول در چربی تأثیری بر آنزیم های کبدی گاوه های براون سوئیس نداشت (Omur et al., 2016). آلکالین فسفاتاز یک متالوآنزیم است که سطوح سرمی آن به دنبال ترشح از کبد، نشان دهنده مقدار تغییر نفوذپذیری غشاء و فعالیت های مخرب در اندام ها به هنگام تنش و التهاب می باشد (Nanev et al., 2020). کاهش آلکالین فسفاتاز و یا به عبارتی مقدار بیشتر آلکالین فسفاتاز گروه شاهد می تواند بیانگر این باشد که با تزریق ویتامین ها و مواد معدنی، دام کمتر در معرض تنش قرار گرفته و نیاز کمتری به فعالیت آنزیم کبدی برای مقابله با التهاب و تنش نسبت به گروه شاهد داشته است.

تأثیر تزریق مواد معدنی و ویتامین ها به گاوه های اواخر آبستنی بر آنزیم های کبدی گاوها در جدول ۵ گزارش شده است. فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و مواد معدنی و ویتامین ها سبب کاهش فعالیت این آنزیم گردید ($P < 0.05$). آنزیم های آسپاراتات ترانس آمیناز و آلانین آمینوترانسفراز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P > 0.05$). زمان بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز تأثیر داشت ($P < 0.05$), اما سایر فراسنجه ها تحت تأثیر زمان نیز قرار نگرفتند ($P > 0.05$). تزریق کمپلکس ویتامینی (AD_3E) تأثیری بر آسپاراتات ترانس آمیناز، آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز گوساله ها نداشت (Movahednasab et al., 2023). در پژوهشی، تزریق ویتامین A و E به گوساله ها تأثیری بر فعالیت

جدول ۵- اثر تزریق مواد معدنی و ویتامینی در اواخر آبستنی بر فعالیت آنزیم‌های کبدی

Table 5- The effect of mineral and vitamin injections in late pregnancy on liver enzymes activity

آنزیم‌های کبدی Liver enzymes	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				خطای استاندارد SEM	سطح احتمال P-value		
	شاهد Control	مواد معدنی Minerals	ویتامین‌ها Vitamins	مواد معدنی + ویتامین‌ها Min+vit.		تیمار Treatment	زمان Time	تیمار×زمان Treatment× time
آلکالین فسفاتاز (واحد/لیتر) Alkaline phosphatase (U/l)	127.75 ^a	112.06 ^b	112.69 ^b	111.87 ^b	0.818	<0.001	0.006	<0.001
آسپارات ترانس آمیناز (واحد/لیتر) Aspartate trans aminase (U/l)	36.60	34.76	39.42	34.66	1.575	0.155	0.478	0.889
آلانین آمینوترانسفراز (واحد/لیتر) Alanine aminotransferase (U/l)	12.67	12.53	12.65	12.25	0.497	0.924	0.316	0.145

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد ($P > 0.05$).

SEM: خطای استاندارد از میانگین

Means in rows with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

SEM: Standard error of means

نتیجه‌گیری کلی

فسفاتاز خون گاوهای دریافت‌کننده مواد معدنی و ویتامین‌ها نسبت به گروه شاهد شد. با توجه به بهبود بیشتر تزریق با هم مواد معدنی و ویتامین‌ها بر آلبومین، گلوکاتایون پراکسیداز، آمیلوئید A سرم و سرولوپلاسمین خون تیمار دریافت‌کننده، تزریق هم‌زمان مواد معدنی و ویتامین‌ها به گاوهای اواخر آبستنی توصیه می‌گردد.

تزریق مواد معدنی و ویتامین‌ها در اواخر آبستنی به گاوهای شیری سبب تأثیر معنی‌دار در فراسنجه‌های آلبومین، گلوبولین، نسبت آلبومین:گلوبولین، انسولین، کاتالاز، کورتیزول، گلوکاتایون پراکسیداز، مالون دی‌آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز، وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل، هاپتوگلوبین، سرولوپلاسمین، آمیلوئید A سرم، ویتامین D و آلکالین

References

1. Abdelnour, S. A., Abd El-Hack, M. E., Khafaga, A. F., Arif, M., Taha, A. E., & Noreldin, A. E. (2019). Stress biomarkers and proteomics alteration to thermal stress in ruminants: A review. *Journal of Thermal Biology*, 79, 120-134. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.12.013>
2. Abdolmaleki, Z., Souri, M., Moeni, M., Tohidi, A., & Chashnidel, Y. (2018). Effect of dietary conjugated linoleic acid (CLA) Supplementation with injectable Se and VE supplement on productive performance and blood parameters of holstein dairy cows. *Journal of Ruminant Research*, 5(4), 101-118. <https://doi.org/10.22069/ejrr.2017.13635.1568>
3. Abolghasemi, S., Bahrapour, J., Badakhshan, Y., Mirmahmoodi, R., & Barazandeh, A. (2023). The effect of intraperitoneal injection of vitamin C on feed intake and blood metabolites of Kermani sheep in severe heat stress. *Veterinary Research and Biological Products*, 36(3), 2-11. <https://doi.org/10.22092/vj.2022.360234.2017>
4. Abuelo, A., Hernandez, J., Benedito, J. L., & Castillo, C. (2016). Association of oxidative status and insulin sensitivity in periparturient dairy cattle: An observational study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100, 279-286. <https://doi.org/10.1111/jpn.12365>
5. Alhussien, M. N., Tiwari, S., Panda, B. S. K., Pandey, Y., Lathwal, S. S., & Dang, A. K. (2021). Supplementation of antioxidant micronutrients reduces stress and improves immune function/response in periparturient dairy cows and their calves. *Journal of Trace Element and Medicine Biology*, 65, 126718. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126718>
6. Allen, M. S., & Bradford, B. J. (2009). Control of eating by hepatic oxidation of fatty acids. *A Note of Caution. Appetite*, 53(2), 272-273. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2009.06.005>
7. Asadi, M., Hatami, M., & Mohammadi Fard, H. (2025). The impacts of maternal b complex vitamin injection on goats and their offspring during the transition period. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 15(1), 87-95. <https://doi.org/10.71798/ijas.2025.1202963>

8. Asadi, M., Fard, H. M., Araee, K. A., & Hatami, M. (2024a). Studying the impacts of maternal B complex vitamin injection on performance, metabolic diseases, hematological parameters, and antioxidant status in pregnant Sannen goats and their newborn kids during the transition period. *Science of the Total Environment*, 907, 167860. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167860>
9. Asadi, M., Ghoorchi, T., & Toghdory, A. (2024b). The effect of injection of different levels of selenium and vitamin e in late pregnancy of cows on performance, thyroid hormones, some blood metabolites and skeletal growth indices of their Calves. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 3(14), 371-379. <https://doi.org/10.71798/ijas.2024.1184799>
10. Asadi, M., Ghoorchi, T., & Toghdory, A. (2024c). The effect of using different forms of chromium on hematological parameters and antioxidant status of Afshar ewes in the transition period and their lambs under the influence of heat stress. *Iranian Journal of animal Science*, 55(3), 547-563. <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.364592.653965>
11. Asadi, M., Toghdory, A., Ghoorchi, T., & Hatami, M. (2024d). 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>
12. Asadi, M., Ghoorchi, T., Toghdory, A., & Hoseini Sabeghi, H. (2021). Effect of different levels of selenium and vitamin E injection on thyroid hormones metabolism and biochemical parameters in late pregnancy of Holstein cows and their calf performance. *Iranian Journal of animal Science*, 52(3), 189-201. <https://doi.org/10.22059/ijas.2021.325212.653832>
13. Bates, A. J., Wells, M., Fitzpatrick, C., & Laven, R. A. (2025) Effect of a pre-calving injectable trace mineral supplement on white blood cell function in seasonally calving pastoral dairy cows. *New Zealand Veterinary Journal*, 73(2), 87-99. <https://doi.org/10.1080/00480169.2024.2417925>
14. Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., & Nardone, A. (2002). Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *Journal of Dairy Science*, 85, 2173-2179. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(02\)74296-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(02)74296-3)
15. Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., & Nardone, A. (2005). Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88, 2017–2026. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72878-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72878-2)
16. Bertoni, G., Minuti, A., & Trevisi, E. (2015). Immune system, inflammation and nutrition in dairy cattle. *Animal Production Science*, 55, 943–948. <http://dx.doi.org/10.1071/AN14863>
17. Bradford, B. J., Yuan, K., Farney, J. K., Mamedova, L. K., & Carpenter, A. J. (2015). Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. *Journal of Dairy Science*, 98, 6631–6650. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9683>
18. Cecilian, F., Ceron, J. J., Eckersall, P. D., & Sauerwein, H. (2012). Acute phase proteins in ruminants. *Journal of Proteomics*, 75, 4207–4231. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.04.004>
19. Chandra, G., Aggarwal, A., Singh, A., & Kumar, M. (2014). Effect of vitamin E and zinc supplementation on liver enzymatic profile of pre-and post-partum Sahiwal cows. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 84(5), 507-510. <https://doi.org/10.56093/ijans.v84i5.40650>
20. Coleman, D. N., Alharthi, A. S., Liang, Y., Lopes, M. G., Lopreiato, V., Vailati-Riboni, M., & Looor, J. J. (2021). Multifaceted role of one-carbon metabolism on immunometabolic control and growth during pregnancy, lactation and the neonatal period in dairy cattle. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12(1), 1–28. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00547-5>
21. Erb, C., Staudt, N., Flammer, J., & Nau, W. (2004). Ascorbic acid as a free radical scavenger in porcine and bovine aqueous humour. *Ophthalmic. Research*, 36, 38-42. <https://doi.org/10.1159/000076108>
22. Ghasemi, E., Safari Foroshani, M. H., Alikhani, M., & Shirani-Shamsabadi, J. (2019). Metabolic profile and antioxidative status, body weight, and performance of dairy cows in the periparturient period. *Iranian Journal of Animal Science*, 50(3), 171-184. <https://doi.org/10.22059/ijas.2019.282022.653709>
23. Giuliadori, M., Magnasco, R. P., Becu-Villalobos, D., Lacau-Mengido, I. M., Risco, C. A., & de la Sota, R. L. (2013). Clinical endometritis in an Argentinean herd of dairy cows: Risk factors and reproductive efficiency. *Journal of Dairy Science*, 96, 210-218. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5682>
24. Gropper, S. S., Smith, J., & Groff, J. (2005). Advanced Nutrition and Human Metabolism: Copper transport and uptake. 4th Ed. Wadsworth. Belmont, CA. 449-451.
25. Han, M. S., White, A., Perry, R. J., Camporez, J. P., Hidalgo, J., Shulman, G. I., & Davis, R. J. (2020). Regulation of adipose tissue inflammation by interleukin 6. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117, 2751–2760. <https://doi.org/10.1073/pnas.1920004117>
26. Hassanabadi, M., Mohri, M., & Seifi H. A. (2021). Effects of single injection of vitamin D₃ on some immune and oxidative stress characteristics in transition dairy cows. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 12(2), 25-35. <https://doi.org/M10.22067/ijvst.2020.39239>

27. Holcombe, S. J., Wisnieski, L., Gandy, J., Norby, B., & Sordillo, L. M. (2018). Reduced serum vitamin D concentrations in healthy early-lactation dairy cattle. *International Journal of Dairy Science*, 3, 1–7. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13547>
28. Horst, E. A., Kvidera, S. K., & Baumgard, L. H. (2021). Invited review: The influence of immune activation on transition cow health and performance—A critical evaluation of traditional dogmas. *Journal of Dairy Science*, 104, 8380–8410. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20330>
29. Kafizadeh, F., Shabankareh, H. K., & Targhibi, M. R. (2012). Effect of chromium supplementation on productive and reproductive performances and some metabolic parameters in late gestation and early lactation of dairy cows. *Biological Trace Element Research*, 149, 42–49. <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9390-0>
30. Kegley, E. B., Ball, J. J., & Beck, P. (2016). Impact of mineral and vitamin status on beef cattle immune function and health. *Journal of Animal Science*, 94, 59–69. <https://doi.org/10.2527/jas.2016-0720>
31. Khan, M. Z., Huang, B., Kou, X., Chen, Y., Liang, H., Ullah, Q., Khan, I. M., Khan, A., Chai, W., & Wang, C. (2024). Enhancing bovine immune, antioxidant and anti-inflammatory responses with vitamins, rumen-protected amino acids, and trace minerals to prevent periparturient mastitis. *Front Immunology*, 14, 1290044. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1290044>
32. Khansari, D. N., Murgo, A. J., & Faith, R. E. (1990). Effects of stress on the immune system. *Immunology Today*, 11, 170–175. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(90\)90069-1](https://doi.org/10.1016/0167-5699(90)90069-1)
33. McGuckin, M. M., Giesy, S. L., Overton, T. R., & Boisclair, Y. R. (2023). Inflammatory tone in liver and adipose tissue in dairy cows experiencing a healthy transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Dairy Science*, 106(11), 8122–8132. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23373>
34. Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454, 428–435. <https://doi.org/10.1038/nature07201>
35. Moradian, M., Rahchmani, R., Banihasan, E., Gharebash, A. M., & Zeighamy, A., (2016). The effect of injection of vitamins A and E on passive transfer of immunoglobulin G and some blood parameters in calf. *Journal of Ruminant Research*, 4(2). (In Persian)
36. Mousavi, S. R., Fatahnia, F., Taasoli, G., & Mohammadi, Y. (2022). Peripartum injection of vitamins (E and B12) and trace minerals (Selenium and Iron) in Holstein dairy cows: Effect on milk production and composition, body condition score and serum metabolites. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 12(2), 255–269. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.2251628.2022.12.2.5.6>
37. Movahednasab, M., Tahmasebi, A., Vakili, S. A., & Naserian, A. A. (2023). The effect of fat-soluble vitamins (A, D, E) and flaxseed oil on blood parameters and immune system of suckling calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 137–150. <https://doi.org/10.22067/ijasr.2022.75288.1067>
38. Nanev, V., Vladov, I., & Kirazov, L. (2020). Serum trace elements and enzymes in lambs with introduced haemonchosis. *Acta Morphologica et Anthropologica*, 27(3–4), 43–48.
39. Nasr Chaleshtori, P., Fadayifar, A., Azizi, A., & Azarfar, A. (2021). The effect of slow-release bolus of copper on performance and some blood metabolites of Lori-Bakhtiari pregnant ewes and their lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 13(2), 193–205. <https://doi.org/10.22067/ijasr.v13i2.86149>
40. Nelson, T. M., Kerwin, A. L., Ferro, L. N., Ryan, C. M., Graef, G. M., Westhoff, T. A., Sipka, A. S., Barbano, D. M., Stone, B., Yoon, I., & Overton, T. R. (2022). Relationships of blood-based indices of liver health during the transition period with performance and health. *Journal of Dairy Science*, 105(Suppl. 1), 266. (Abstr.)
41. Newton, K., & Dixit, V. M. (2012). Signaling in innate immunity and inflammation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4, a006049. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006049>
42. Omur, A., Kirbas, A., Aksu, E., Kandemir, F., Dorman, E., Kaynar, O., & Ucar, O. (2016). Effects of antioxidant vitamins (A, D, E) and trace elements (Cu, Mn, Se, Zn) on some metabolic and reproductive profiles in dairy cows during transition period. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19(4), 697–706. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2016-0088>
43. Ongan, D., & Yuksel, A. (2017). What to eat for a better sleep in haemodialysis patients: Potential role of B vitamins intake and appetite. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 33(2), 417–424. <https://doi.org/10.12669/pjms.332.11838>
44. Panahi Dorcheh, Z., Aliarabi, H., Farahavar, A., Maleki, M., & Yazdani, H. (2018). The effect of selenium and vitamin E injection times in late pregnant ewes on thyroid hormones metabolism, ewe's blood biochemical parameters and their lambs performance after birth. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 9(4), 400–412. <https://doi.org/10.22067/ijasr.v9i4.59749>
45. Senthilkumar, P., Nagalakshmi, D., Reddy, Y. R., & Sudhakar, K. (2009). Effect of different level and source of copper supplementation on immune response and copper dependent enzyme activity in lambs. *Tropical Animal Health and Production*, 41, 645–653. <https://doi.org/10.1007/s11250-008-9236-0>
46. Shahbazi, F., Fatahnia, F., Shamsollahi, M., Jafari, H., & Mohammadi, Y. (2024). Effect of time and amount of vitamin AD₃E injection in late pregnancy on colostrum quality, concentration of plasma parameters, and antioxidant status of Afshari ewes and their lambs. *Animal Production Research*, 13(1), 49–67.

- <https://doi.org/10.22124/ar.2024.26232.1807>
47. Sharokhian Rezaee, M., Riasi, A., Ansari Mahyari, S., Khorvash, M., & Khorsandi, S. (2015). Effect gnrh, hcg and ad3e injection on reproductive performance and blood metabolites and progesterone of high producing dairy cows in summer season. *Animal Science Research*, 25(2), 97-107.
 48. Shen, X., Song, C., & Wu, T. (2021). Effects of nano-copper on antioxidant function in copper deprived Guizhou black goats. *Biological Trace Element Research*, 199(6), 2201-2207. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02342>
 49. Silva, T. H., Guimaraes, I., Menta, P. R., Fernandes, L., Paiva, D., Ribeiro, T. L., Celestino, M. L., Netto, A. S., Ballou, M. A., & Machado, V. S. (2022). Effect of injectable trace mineral supplementation on peripheral polymorphonuclear leukocyte function, antioxidant enzymes, health, and performance in dairy cows in semi-arid conditions. *Journal of Dairy Science*, 05(2), 1649-1660. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20624>
 50. Somagond, Y. M., Alhussien, M. N., & Dang, A. K. (2023). Repeated injection of multivitamins and multiminerals during the transition period enhances immune response by suppressing inflammation and oxidative stress in cows and oxidative stress in cows and their calves. *Frontiers in Immunology*, 14, 1059956. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1059956>
 51. Sordillo, L. M., & Aitken, S. L. (2009). Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128(1-3), 104-109. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.10.305>
 52. Suttle, N. (2010). Mineral Nutrition of Livestock, fourthed., CABInternational, Wallingford, UK, p. 579
 53. 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>
 54. Weiss, W. P. (2010). Antioxidant nutrients and milk quality. Extension Americas Research based learning network. July, 19.
 55. Wysocka D., Snarska A., & Sobiech P. (2019). Copper – An essential micronutrient for calves and adult cattle. *Journal of Elementology*, 24(1), 101-110. <https://doi.org/10.5601/jelem.2018.23.2.1645>.



The Effect of Mixtures of Free or Encapsulated Plant Essential Oils (Carvacrol, Thymol, and Eucalyptol) on Performance, Nutrient Digestibility, and Blood Metabolites of Holstein Dairy Cows

Amin Khezri^{1*}, Hamidreza Shafabakhsh¹, Ali Alizadeh²

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

3- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Vali-E-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran

*Corresponding Author's Email: akhezri@uk.ac.ir

How to cite this article:

Received: 04-03-2025
Revised: 15-04-2025
Accepted: 19-04-2025
Available Online: 29-07-2025

Khezri, A., Shafabakhsh, H., & Alizadeh, A. (2025). The effect of mixtures of free or encapsulated plant essential oils (carvacrol, thymol, and eucalyptol) on performance, nutrient digestibility, and blood metabolites of Holstein dairy cows. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(2), 155-166. (in Persian with English abstract)
<http://doi.org/10.22067/IJASR.2025.92428.1241>

Introduction: Natural feed additives, particularly plant essential oils (PEOs)—derived from leaves, flowers, bark, and other plant parts and rich in bioactive compounds like terpenes, phenolics, and aldehydes—have gained increasing attention in ruminant nutrition. These compounds exert antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, and digestive stimulant effects, which make them attractive candidates for improving health, productivity, and metabolic efficiency in dairy cows, especially during the critical early lactation period. Early lactation is a challenging phase for high-yielding dairy cows, characterized by negative energy balance, reduced dry matter intake (DMI), mobilization of body reserves, and increased risk of oxidative stress and metabolic disorders. Supplementing diets with natural additives such as PEOs is a strategy to improve nutrient utilization, reduce stress, and support milk production and immune function. Although PEOs modulate ruminal fermentation, inhibit undesirable microbes, and promote volatile fatty acid (VFA) production, their high volatility and rapid degradation in the rumen can limit their effectiveness. Encapsulation technology, using protective coatings (e.g., lipids, polysaccharides), addresses this issue by improving stability, controlled release, and targeted delivery of active ingredients to the lower gut, thereby enhancing their bioavailability and physiological effects. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of free vs. encapsulated mixtures of carvacrol, thymol, and eucalyptol on feed intake, nutrient digestibility, milk yield and composition, and blood metabolites in Holstein dairy cows during early lactation.

Material and Methods: A total of 21 Holstein multiparous cows (average parity of 2.16 ± 1.7 , mean body weight of 620 ± 43 kg, average daily milk yield of 33.6 ± 3.4 kg, and 30 ± 12 days in milk) were enrolled in a completely randomized design with three dietary treatments ($n = 7$ per treatment). Cows were housed in individual tie stalls with free access to water and fed twice daily (08:00 and 17:00). A total of 21 Holstein multiparous cows (average parity of 2.16 ± 1.7 , mean body weight of 620 ± 43 kg, average daily milk yield of 33.6 ± 3.4 kg, and 30 ± 12 days in milk) were enrolled in a completely randomized design with three dietary treatments ($n = 7$ per



©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.2025.92428.1241>

treatment). Cows were housed in individual tie stalls with free access to water and fed twice daily (08:00 and 17:00). The experimental treatments were: Control: Basal TMR diet without additive; Free PEOs: Basal diet + 80 mg/kg DM of free essential oil mixture (carvacrol, thymol, eucalyptol); Encapsulated PEOs: Basal diet + 40 mg/kg DM of encapsulated essential oil mixture (same compounds). The trial lasted 56 days, comprising 14 days of adaptation and 42 days of data collection. Feed intake was recorded daily. Milk production was measured during three daily milkings (05:00, 12:00, 18:00), and milk composition was analyzed on days 54–55. Fecal samples were collected for digestibility analysis using internal markers. Blood samples were drawn on days 40 and 55 to evaluate glucose, urea nitrogen, cholesterol, NEFA, BHB, and total antioxidant capacity (TAC).

Results and Discussion: Dry matter intake (DMI) was slightly increased in cows fed encapsulated PEOs compared to the control. This may be attributed to improved palatability and reduced negative sensory impacts due to microencapsulation, which masks the pungent odor and bitter taste of free essential oils. Cows receiving encapsulated PEOs showed significantly higher apparent crude protein digestibility, suggesting a more efficient bypass of ruminal degradation and improved absorption in the small intestine. This finding is consistent with Calsamiglia et al. (2007), who reported that certain EO compounds can inhibit ruminal proteolysis, leading to increased rumen-undegraded protein (RUP) flow. Notably, the milk protein percentage and yield were higher in the encapsulated group. This is likely linked to the increased availability of absorbable amino acids, supporting enhanced milk protein synthesis in the mammary gland. Furthermore, blood analysis showed elevated total antioxidant capacity (TAC) and blood glucose in the encapsulated PEO group. The improved TAC suggests a reduction in oxidative stress, which is crucial during early lactation when metabolic demands are high. Elevated glucose also reflects improved energy status due to better nutrient digestion and possible shifts in VFA profiles toward more glucogenic propionate (Patra & Yu, 2012). In contrast, cows fed free PEOs demonstrated moderate improvements in intake and digestibility but less pronounced than the encapsulated group. This supports the concept that encapsulation enhances the functional delivery of EOs beyond the rumen. The somatic cell count (SCC), although not statistically significant, tended to be lower in EO-fed cows, particularly in the encapsulated group. This may reflect better mammary health or immune-modulating effects of PEOs. These results collectively highlight the advantages of encapsulated over free essential oils in enhancing performance, digestion, and metabolic health in dairy cows.

Conclusion: Results of this study showed that incorporating encapsulated plant essential oil mixtures (KaroGut™) into the diet positively impacts feed intake, protein digestibility, and performance in early-lactation dairy cows. Notably, the encapsulated form increased blood glucose and antioxidant capacity while reducing milk somatic cell counts, crucial for mitigating oxidative stress and sustaining milk production during early lactation.

Keywords: Plant essential oils, encapsulation, digestibility, blood metabolites, dairy cow performance

تأثیر مخلوط اسانس‌های گیاهی کارواکرول، تیمول و اکالیپتول به شکل آزاد یا کپسوله شده بر عملکرد تولیدی، گوارش پذیری مواد مغذی و متابولیت‌های خون گاوهای شیرده هلشتاین

امین خضری^{۱*}، حمیدرضا شفابخش^۱، علی علیزاده^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۳۰

چکیده

این پژوهش با هدف مطالعه تأثیر افزودن مخلوط اسانس‌های گیاهی آزاد و کپسوله شده به جیره بر عملکرد شیردهی، گوارش‌پذیری مواد مغذی و متابولیت‌های خونی گاوهای شیرده هلشتاین انجام شد. برای این منظور از ۲۱ رأس گاو شیرده هلشتاین با میانگین شکم زایش $2/16 \pm 1/7$ ، میانگین وزن بدن 620 ± 43 کیلوگرم، تولید شیر روزانه $33/6 \pm 3/4$ کیلوگرم و روزهای شیردهی 30 ± 12 روز در قالب طرح کامل تصادفی با سه تیمار آزمایشی (هفت تکرار برای هر تیمار) استفاده گردید. جیره‌های آزمایشی شامل (۱) جیره پایه (جیره بدون افزودنی)، (۲) جیره پایه + ۸۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی (کارواکرول، تیمول و اکالیپتول) به شکل آزاد در هر کیلوگرم ماده خشک، (۳) جیره پایه + ۴۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی (کارواکرول، تیمول و اکالیپتول) به شکل کپسوله شده در هر کیلوگرم ماده خشک بود. نتایج نشان داد که گاوهای تغذیه شده با جیره دارای مخلوط اسانس‌های گیاهی به شکل کپسوله شده، تمایل به مصرف خوراک و تولید شیر تصحیح شده برای چهار درصد چربی بیشتر، قابلیت هضم پروتئین بالاتر و میزان پروتئین شیر بیشتر در مقایسه با گروه شاهد داشتند. میانگین ظرفیت آنتی اکسیدانی کل خون گاوهای تغذیه شده با جیره دارای اسانس‌های گیاهی کپسوله شده در مقایسه با گاوهای تغذیه شده با شاهد بالاتر بود. گاوهای تغذیه شده با جیره دارای مخلوط اسانس‌های گیاهی به شکل کپسوله شده، تمایل به کاهش سول‌های سوماتیک بدنی شیر و نیتروژن اوره‌ای خون در مقایسه با گروه شاهد داشتند. به طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که اضافه کردن اسانس‌های گیاهی به شکل کپسوله به جیره از طریق بهبود خوراک مصرفی، قابلیت هضم پروتئین و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل خون می‌تواند اثر مثبت بر کاهش تنش اکسیداتیو و عملکرد گاوهای شیرده اوایل شیردهی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: پارامترهای خون، تولید شیر، گاوهای شیرده، متابولیت‌های ثانویه گیاهی، هضم

مقدمه

اسیدهای چرب غیراستریفیه شده (NEFA) و بتا-هیدروکسی بوتیرات (BHB) را داشته باشد (Khezri et al., 2009). به این دلیل، استفاده از افزودنی‌های خوراکی طبیعی برای بهبود وضعیت سلامت، افزایش بهره‌وری و کاهش مشکلات متابولیکی در گاوهای تازه‌زا اهمیت ویژه‌ای دارد. اسانس‌های گیاهی ترکیبات طبیعی هستند که از قسمت‌های مختلف گیاهان (مانند برگ، گل، ساقه، ریشه و بذر) استخراج می‌شوند. این ترکیبات عمدتاً شامل ترپن‌ها، فنل‌ها، آلدهیدها، کتون‌ها و الکل‌های معطر بوده و مسئول رایحه و خواص زیستی گیاهان می‌باشند (Ferreira et al., Kholif et al., 2021). در سال‌های اخیر، استفاده از اسانس‌های گیاهی مانند کارواکرول، تیمول و اکالیپتول در تغذیه گاوهای شیری به دلیل خواص ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن‌ها توجه زیادی از متخصصین گاو شیری را به خود جلب کرده است. اسانس‌های گیاهی

در اوایل دوره شیردهی، گاوهای شیری با چالش‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی متعددی از جمله افزایش ناگهانی نیازهای انرژی برای تولید شیر و کاهش مصرف خوراک مواجه می‌شوند. این شرایط منجر به تعادل منفی انرژی شده که می‌تواند پیامدهای نامطلوبی مانند کاهش نمره بدنی، افزایش بسیج ذخایر چربی، کاهش عملکرد سیستم ایمنی، تغییرات در متابولیت‌های خونی از جمله افزایش غلظت

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲- گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولیعصر رفسنجان، رفسنجان، ایران

(Email: akhezri@uk.ac.ir).

(*) نویسنده مسئول:

<http://doi.org/10.22067/IJASR.2025.92428.1241>

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از ۲۱ رأس گاو شیرده هلستاین با میانگین شکم زایش $۲/۱۶ \pm ۱/۷$ ، میانگین وزن بدن ۶۲۰ ± ۴۳ کیلوگرم، تولید شیر روزانه $۳۳/۶ \pm ۳/۴$ کیلوگرم و روزهای شیردهی ۳۰ ± ۱۲ روز در قالب طرح کامل تصادفی با ۳ تیمار آزمایشی (۷ تکرار برای هر تیمار) استفاده شد. طول دوره آزمایش ۵۶ روز بوده که ۱۴ روز اول برای عادت‌پذیری گاوها به جیره‌های آزمایشی و ۴۲ روز برای نمونه‌گیری و جمع‌آوری داده در نظر گرفته شد. در ابتدای آزمایش، میزان تولید شیر و وزن بدن گاوها ثبت گردید و گاوها به‌طور تصادفی به هر یک از سه تیمارهای آزمایشی اختصاص داده شدند. اسانس‌های گیاهان آویشن و اکالیپتوس (مخلوط کارواکرول، تیمول و اکالیپتول با نسبت‌های مساوی) به‌شکل آزاد و یا کپسوله‌شده (نام تجاری کاروگات) از شرکت آرال فناور کارو (ایران) تهیه گردید. احتیاجات غذایی گاوها با استفاده از جداول آکادمی علوم، مهندسی و پزشکی (NASEM, 2021) تعیین و براساس آن جیره‌های غذایی فرمول شدند (جدول ۱). تعیین ترکیب شیمیایی نمونه‌های جیره شامل ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر براساس روش AOAC (2023) و اندازه‌گیری بخش‌های فیبری براساس روش ون سوست و همکاران (Van Soest et al., 1991) انجام شد. جیره‌های آزمایشی شامل (۱) جیره پایه (جیره بدون افزودنی)، (۲) جیره پایه + ۸۰ میلی‌گرم اسانس‌های گیاهی آزاد در هر کیلوگرم ماده خشک، (۳) جیره پایه + ۴۰ میلی‌گرم اسانس‌های گیاهی کپسوله‌شده در هر کیلوگرم ماده خشک بود.

انتخاب مقادیر ۸۰ میلی‌گرم برای اسانس‌های گیاهی آزاد و ۴۰ میلی‌گرم برای اسانس‌های گیاهی کپسوله‌شده در هر کیلوگرم ماده خشک براساس مطالعات قبلی و با در نظر گرفتن اثرات بیولوژیکی اسانس‌ها انجام گرفت (Khiaosa-Ard & Zebeli, 2013). جیره‌های آزمایشی در دو نوبت (۸:۰۰) و (۱۷:۰۰) به‌صورت کاملاً مخلوط و در حد اشتها در اختیار گاوها قرار می‌گرفت، به‌گونه‌ای که در انتهای ۲۴ ساعت حدود ۱۰ درصد از خوراک در آخور باقی بماند. در طول آزمایش، گاوها در جایگاه‌های انفرادی نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند. گاوها روزانه در سه نوبت ۵ صبح، ۱۲ ظهر و ۱۸ عصر دوشیده شده و شیر تولیدی گاوها در هر سه وعده دوشش ثبت گردید. برای ترکیب شیمیایی شیر در روزهای ۵۴ و ۵۵ دوره آزمایشی، نمونه‌گیری از شیر هر سه وعده در داخل ظروف دارای پتاسیم دی کرومات انجام شد و توسط دستگاه میلکو اسکن (مدل B133) برای چربی، پروتئین، لاکتوز، مواد جامد بدون چربی شیر و کل مواد جامد شیر آنالیز گردید.

به‌دلیل داشتن ترکیبات فعال زیستی؛ مانند ترپن‌ها، فنولیک‌ها و آلکالوئیدها، قادر به تعدیل تخمیر شکمبه، بهبود گوارش‌پذیری مواد مغذی و کاهش استرس اکسیداتیو (خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی) در دام هستند (Saeedi et Benchaar et al., 2008; al., 2017). مطالعات مختلفی در رابطه با اثر اسانس‌های گیاهی بر عملکرد تولیدی و وضعیت متابولیکی گاوهای شیری انجام شده است (Benchaar & Hassanat, 2025; Khurana et al., 2024). نتایج برخی مطالعات نشان داده‌اند که کارواکرول و تیمول می‌تواند با بهبود سلامت شکمبه و کاهش تخمیر غیرمولد، تولید شیر را بهبود بخشد. به‌عنوان مثال، افزودن کارواکرول به جیره گاوهای شیری باعث افزایش تولید شیر تصحیح‌شده براساس چربی (FCM) شده است (Benchaar, 2020; Spanghero et al., 2009). در مطالعه دیگر اضافه کردن تیمول به جیره میش‌های شیری باعث بهبود هضم مواد مغذی و تولید شیر گردید (Giannenas et al., 2011). این ترکیبات قادرند رشد میکروبی شکمبه را تحت‌تأثیر قرار داده و از طریق کاهش تولید متان و افزایش تولید اسیدهای چرب فرار، بهره‌وری انرژی را در حیوان افزایش دهند (Calsamiglia et al., Bach et al., 2023; Kung et al., 2007). با این حال، یکی از چالش‌های اصلی استفاده از اسانس‌های گیاهی، تجزیه سریع آن‌ها در شکمبه و کاهش اثرگذاری آن‌ها در مراحل بعدی هضم است (Patra & Yu, 2012). یکی از روش‌های مؤثر برای حفظ اثرات اسانس‌های گیاهی، استفاده از فناوری کپسوله‌سازی است. در این روش، ترکیبات فعال درون یک پوشش محافظ قرار گرفته و از تجزیه سریع آن‌ها در محیط شکمبه جلوگیری می‌شود. کپسوله‌سازی باعث افزایش پایداری ترکیبات فعال، بهبود کنترل رهایش آن‌ها در روده کوچک و در نتیجه افزایش جذب و اثربخشی این ترکیبات می‌شود (Duman et al., 2024). نتایج تحقیقات برون تنی نشان می‌دهد که استفاده از اسانس‌های گیاهی به‌صورت کپسوله‌شده، نسبت به فرم آزاد، تأثیر بهتری بر خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی این اسانس‌ها دارد (Amin et al., 2021). با توجه به مزایای ذکر شده، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر مخلوط اسانس‌های گیاهی در دو شکل آزاد یا کپسوله‌شده بر عملکرد تولیدی، گوارش‌پذیری مواد مغذی و متابولیت‌های خونی گاوهای شیرده هلستاین انجام شد تا مشخص کند که آیا استفاده از اسانس‌های گیاهی به‌صورت کپسوله‌شده می‌تواند نسبت به فرم آزاد، تأثیر بهتری بر بهبود وضعیت متابولیکی و عملکرد گاوهای شیری در اوایل دوره شیردهی که در حساس‌ترین مرحله فیزیولوژیکی خود قرار دارند، داشته باشد.

جدول ۱- اجزاء مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره کاملاً مخلوط‌شده (جیره پایه)

Table 1- The ingredients and chemical composition of TMR (basal diet)

اجزاء جیره پایه Ingredients	درصد (ماده خشک) (% DM)
یونجه خشک Dry alfalfa	28
سیلاژ ذرت Corn silage	12
دانه جو آسیاب شده Ground barley grain	26
سبوس گندم Wheat bran	6
دانه ذرت آسیاب شده Ground corn grain	7
کنجاله سویا Soybean meal	19
مکمل معدنی و ویتامینی ^۱ Vitamin and mineral premix ¹	0.9
کلسیم کربنات Calcium carbonate	0.3
سدیم بی‌کربنات Sodium bicarbonate	0.3
نمک Salt	0.3
ترکیب شیمیایی Chemical composition	
ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	70.13
ماده آلی (درصد از ماده خشک) Organic matter (% DM)	92.45
پروتئین خام (درصد از ماده خشک) Crude protein (% DM)	17.12
پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (درصد از پروتئین خام) Rumen-degradable protein (% of CP)	62.0
پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه (درصد از پروتئین خام) Rumen undegradable protein (% of CP)	38.0
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد از ماده خشک) Neutral Detergent Fiber (% DM)	33.79
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد از ماده خشک) Acid Detergent Fiber (% DM)	19.38
انرژی خالص شیردهی (مگا کالری در کیلوگرم) Net energy lactation (Mcal kg/DM)	1.69

در هر کیلوگرم جیره: ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D، ۱۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، دو گرم منگنز، سه گرم روی، سه گرم آهن، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۶۰ گرم سدیم، ۰/۱ گرم ید، ۱۸۰ گرم کلسیم، ۹۰ گرم فسفر، ۰/۱ گرم کبالت، ۲۰ گرم منیزیم، ۰/۳ گرم مس و ۰/۰۱ گرم سلنیوم
Each kilogram of vitamin-mineral premix contained: Vitamin A (500,000 IU), Vitamin D (100,000 IU), Vitamin E (100), Iron (3 g), Manganese (2 g), Zinc (3 g), Iodine (0.1 g), Cobalt (0.1 g), Phosphorus (90 g), Calcium (180 g), Sodium (60 g), Magnesium (20 g), Copper (0.3g), Selenium (0.001g).

گیاههای شامل ترکیبات فرار از گیاهان هستند که به دلیل ترکیب شیمیایی خاص خود، می‌توانند به عنوان افزودنی‌های طبیعی به جیره‌های دامی برای بهبود عملکرد گوارشی و سلامتی استفاده شوند. از جمله اثرات مثبت اسانس‌ها می‌توان به اثر اسانس دارچین بر افزایش مصرف خوراک و اسانس آویشن بر بهبود هضم، تنظیم فعالیت میکروبی شکمبه و تحریک ترشح بزاق اشاره کرد (Benchaar et al., 2007).

اسانس‌های کپسوله‌شده دارای ویژگی جلوگیری از تجزیه سریع و کنترل آزادسازی اسانس‌ها در مسیر دستگاه گوارش می‌باشند. این اسانس‌ها می‌توانند در قسمت‌های خاص دستگاه گوارش آزاد شوند و اثر طولانی‌مدت داشته باشند (Garba, & Frincioglu, 2023). در پژوهش حاضر، ماده خشک مصرفی گاوهای تغذیه‌شده با جیره دارای مخلوط اسانس کپسوله‌شده در مقایسه با جیره شاهد (بدون اسانس) تمایل به افزایش داشت ($P=0/06$)، به گونه‌ای که اضافه کردن مخلوط اسانس کپسوله‌شده به جیره گاوها باعث افزایش مصرف ماده خشک این گروه از گاوها در مقایسه با گروه تغذیه‌شده با جیره شاهد (بدون اسانس) شد ($21/38$ در مقابل $20/75$ کیلوگرم در روز). این امر به ویژه در دوره‌های اولیه شیردهی، زمانی که گاوها با کاهش مصرف خوراک و افزایش اسیدهای چرب غیراستریفیه‌شده و بتا هیدروکسی بوتیرات خون به دلیل استرس‌های متابولیکی و تغییرات هورمونی روبه‌رو هستند، بسیار مهم است (Moodi et al., 2025) و احتمالاً به دلیل تأثیر مثبت اسانس‌های گیاهی کپسوله‌شده بر اشتها و مصرف خوراک حیوان از طریق تأثیرات سیستم عصبی مرکزی می‌باشد. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که برخی اسانس‌های گیاهی با کاهش تولید اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و کاهش تولید متان در شکمبه، باعث بهبود محیط تخمیر شکمبه و افزایش مصرف خوراک می‌شوند (Castillejos et al., 2006). میانگین قابلیت هضم ماده خشک برای جیره‌های یک الی سه به ترتیب $67/25$ ، $68/16$ و $70/83$ درصد بود و تحت تأثیر افزودن اسانس‌های گیاهی آزاد و یا کپسوله‌شده به جیره‌ها قرار نرفت ($P>0/05$). اضافه کردن مخلوط اسانس‌های گیاهی کپسوله به جیره گاوهای شیری تمایل به افزایش قابلیت هضم ماده آلی ($P=0/08$) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی ($P=0/09$) در مقایسه با جیره شاهد داشت، اما به طور معنی‌داری باعث بهبود قابلیت هضم ظاهری پروتئین شد ($67/87$ در مقابل $64/14$ درصد، $P=0/04$). تأثیرات احتمالی اسانس‌های گیاهی بر بهبود قابلیت هضم شامل مهار فعالیت ریزجانداران پروتئولیتیک در شکمبه، افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی (مانند پپسین و تریپسین) و فراهم کردن محیط مناسب برای فعالیت آنزیم‌های گوارشی از طریق کاهش تنش اکسیداتیو است. نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که ترکیباتی مانند

خوراک مصرفی گاوها به صورت روزانه در تمام دوره آزمایش ثبت و باقی‌مانده خوراک در اول صبح هر روز توزین شده و برای تعیین ماده خشک مصرفی روزانه گاوها، از خوراک روز قبل آن‌ها کسر گردید. وزن کشتی از گاوها سه مرتبه (ابتدا، اواسط و انتهای دوره آزمایشی) با باسکول دیجیتال برای محاسبه تغییرات وزن بدن انجام شد. برای تعیین قابلیت هضم مواد مغذی، نمونه‌گیری از مدفوع در هفته آخر به مدت شش روز و به طور مستقیم از محتویات راست‌رونده انجام گرفت و از روش خاکستر نامحلول در اسید به عنوان نشانگر داخلی استفاده شد (Vankeulen & Young, 1977). برای تعیین ترکیبات خون در روز ۵۶ آزمایش از محل ورید دم خون‌گیری انجام شده و نمونه‌های خون در داخل آب یخ قرار گرفت و سپس در دور 3000 به مدت 15 دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم نمونه‌ها برای آنالیزهای بعدی در دمای منفی 20 درجه سلسیوس نگهداری شدند. متابولیت‌های خون شامل گلوکز، نیتروژن اوره‌ای خون، کل پروتئین، کلسترول و اسیدهای چرب غیراستریفیه‌شده و بتا هیدروکسی بوتیرات با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون با اسپکتروفتومتر (مدل ELMER35) اندازه‌گیری شدند (Khezri et al., 2009). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون با روش اسید تیوباربیتیک و از طریق دستگاه اتوآنالایزر آلسیون (ساخت بلژیک) اندازه‌گیری شد. طرح آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش طرح کامل تصادفی با سه تیمار و هفت تکرار (گاو) در هر تیمار بود. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS (SAS, 2009) و رویه Mixed استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و با آزمون توکی انجام گرفت. مدل آماری مورد استفاده به صورت $Y_{ijk} = \mu + T_i + e_{ij}$ بوده که در آن Y_{ij} : متغیر وابسته (مقدار صفت مشاهده‌شده در تیمار i)، μ : میانگین صفت، T_i : اثر ثابت تیمار (جیره آزمایشی) و e_{ij} : اثر باقی‌مانده می‌باشد.

نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از تأثیر جیره‌های آزمایشی بر تغییرات وزن بدن، ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم مواد مغذی در جدول ۲ نشان داده شده است. وزن اولیه گاوها در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت که نشان‌دهنده توزیع مناسب گاوها در تیمارهای آزمایشی می‌باشد. همچنین کاهش وزن بدن در تمامی گروه‌ها مشاهده شد، اما در گروه‌های دریافت‌کننده اسانس‌های گیاهی، این کاهش وزن به صورت عددی کمتر بود ($P>0/05$). نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که استفاده از ترکیبات اسانس‌های گیاهی می‌تواند تأثیر مثبتی بر حفظ وزن بدن در گاوهای شیرده داشته باشد، اما این اثر وابسته به نوع اسانس، دوز مصرفی و مدت‌زمان آزمایش است

تیمول و کارواکرول می‌توانند از فعالیت میکروب‌های تولیدکننده آمونیاک جلوگیری کرده و شرایط بهتری برای هضم مواد مغذی فراهم کنند (Busquet et al., 2005). همچنین نتایج برخی از پژوهش‌ها نشان می‌دهد که استفاده از اسانس‌های گیاهی از جمله

جدول ۲- اثر اضافه کردن مخلوط اسانس‌های گیاهی آزاد یا کپسوله‌شده به جیره بر ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم مواد مغذی در گاوهای شیرده
Table 2- Effect of adding a blend of free or encapsulated essential oils to diet on dry matter intake and nutrient digestibility in dairy cows

صفت Parameter	جیره‌های آزمایشی Experimental diets			میانگین خطای استاندارد SEM	احتمال معنی‌داری P-value ¹
	جیره پایه (شاهد) Basal diet	جیره پایه + ۸۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی آزاد در کیلوگرم Basal diet + 80 mg free essential oils/kg	جیره پایه + ۴۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی کپسوله در کیلوگرم Basal diet + 40 mg encapsulated essential oils /kg		
وزن گاوها در شروع آزمایش (کیلوگرم) Initial cows' body weight (kg)	620.26	618.41	621.13	7.4	0.92
وزن گاوها در پایان آزمایش (کیلوگرم) Final cows' body weight (kg)	590.67	594.19	599.85	6.5	0.78
میانگین تغییرات وزن بدن (درصد) Average body weight gain (%)	-4.7	-3.91	-3.42	0.9	1.06
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز) Dry matter intake (kg/d)	20.75	21.14	21.38	0.38	0.06
قابلیت هضم (درصد) Digestibility (%)					
ماده خشک Dry matter	67.25	68.16	70.83	1.42	0.19
ماده آلی Organic matter	69.52	70.84	72.69	1.25	0.08
پروتئین خام Crude protein	64.14 ^b	67.95 ^{ab}	67.87 ^a	1.04	0.04
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral Detergent Fiber	50.26	51.83	53.11	1.38	0.09

جیره‌های آزمایش شامل جیره ۱: جیره پایه (شاهد)، جیره ۲: جیره پایه + ۸۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی آزاد در هر کیلوگرم ماده خشک، جیره ۳: جیره پایه + ۴۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی کپسوله شده در هر کیلوگرم ماده خشک بودند.

۱- میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

The experimental diets consisted of diet 1: a basal diet (control diet with no additives), diet 2: the basal diet + 80 mg of free plant essential oils mixture per kg of diet dry matter, and diet 3: the basal diet + 40 mg of encapsulated plant essential oils mixture per kg of DM.

Means of each row with different letters are significantly different at $P < 0.05$.

داشته باشد. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که برخی اسانس‌های گیاهی مانند تیمول و کارواکرول می‌توانند از طریق بهبود هضم مواد مغذی و افزایش بازده استفاده از انرژی در شکمبه، تولید شیر را افزایش دهند (Benchaar et al., 2011; Castillejos et al., 2006). میزان شیر تصحیح‌شده برای چهار درصد در گروه شاهد (۳۲/۴۵ کیلوگرم و در تیمارهای دارای اسانس آزاد و کپسوله تمایل به افزایش معنادار داشت و به ترتیب ۳۳/۴۰ و ۳۴/۳۵ کیلوگرم در روز بود ($P=0.08$).

جدول ۳، نشان‌دهنده تأثیر جیره‌های آزمایشی بر تولید و ترکیب شیر گاوهای آزمایشی است. تولید شیر در شاهد (بدون اسانس) برابر با ۳۵/۱۳ کیلوگرم در روز بود، درحالی‌که در تیمار حاوی ۸۰ میلی گرم اسانس آزاد و ۴۰ میلی گرم اسانس کپسوله‌شده به ترتیب به ۳۶/۴۵ و ۳۷/۱ کیلوگرم افزایش یافت. با این حال، این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبودند ($p=0.11$). این نتایج نشان می‌دهد که افزودن اسانس‌های گیاهی به جیره غذایی می‌تواند به بهبود تولید شیر کمک کند، اما میزان افزایش ممکن است به عوامل متعددی مانند ترکیب اسانس، میزان مصرف خوراک و وضعیت متابولیکی گاوها بستگی

جدول ۳- اثر اضافه کردن مخلوط اسانس‌های گیاهی آزاد یا کپسوله‌شده به جیره بر تولید و ترکیب شیر گاوهای شیرده

Table 3- Effect of adding a blend of free or encapsulated essential oils to diet on milk yield and composition in dairy cows

صفت Parameter	جیره‌های آزمایشی Experimental diets			میانگین خطای استاندارد SEM	ارزش پی P- value ²
	جیره پایه (شاهد) Basal diet	جیره پایه + ۸۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی آزاد در کیلوگرم Basal diet + 80 mg free essential oils/ kg	جیره پایه + ۴۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی کپسوله در کیلوگرم Basal diet + 40 mg encapsulated essential oils /kg		
تولید شیر خام (کیلوگرم در روز) Milk yield (kg/d)	35.13	36.45	37.21	1.25	0.11
^۱ تولید شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی 4% fat corrected milk(kg/d)	32.45	33.40	34.53	1.04	0.08
چربی شیر (درصد) Milk fat (%)	3.49	3.56	3.54	0.15	0.23
پروتئین شیر (درصد) Milk protein (%)	2.98 ^b	3.04 ^{ab}	3.12 ^a	0.06	0.04
لاکتوز شیر (درصد) Milk lactose (%)	4.68	4.69	4.67	0.04	0.19
مواد جامد بدون چربی شیر (درصد) Milk solids not fat (%)	8.36	8.40	8.45	0.09	0.31
کل مواد جامد شیر (درصد) Milk total solids (%)	11.85	11.95	11.98	0.27	0.52
چربی شیر (کیلوگرم در روز) Milk fat (kg/day)	1.23	1.30	1.32	0.09	0.11
پروتئین شیر (کیلوگرم در روز) Milk protein (kg/day)	1.05	1.11	1.16	0.08	0.13
لاکتوز شیر (کیلوگرم در روز) Milk lactose (kg/day)	1.64	1.71	1.73	0.07	0.15
مواد جامد بدون چربی شیر (کیلوگرم در روز) Milk solids not fat (kg/d)	2.94	3.06	3.14	0.18	0.65
کل مواد جامد شیر (کیلوگرم در روز) Milk total solids (%)	4.16	4.33	4.41	0.36	0.87
نیتروژن اوره‌ای شیر (میلی گرم بر ۱۰۰ گرم) Milk urea nitrogen (mg/100g)	16.53	16.17	15.82	0.39	0.68
تعداد سلول‌های سوماتیک (۱۰۰۰ سلول در میلی لیتر) Somatic cell count (1000 cell/ml)	195	174	156	47.18	0.09

جیره‌های آزمایش شامل جیره ۱: جیره پایه (شاهد)، جیره ۲: جیره پایه + ۸۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی آزاد در هر کیلوگرم ماده خشک، جیره ۳: جیره پایه + ۴۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی کپسوله شده در هر کیلوگرم ماده خشک بودند.

۱- تولید شیر تصحیح شده برای چهار درصد چربی = $(0.4 \times \text{شیر خام}) + (15 \times \text{چربی شیر})$

۲- میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

The experimental diets consisted of diet 1: a basal diet (control diet with no additives), diet 2: the basal diet + 80 mg of free plant essential oils mixture per kg of diet dry matter, and diet 3: the basal diet + 40 mg of encapsulated plant essential oils mixture per kg of DM.

4% fat corrected milk = $(0.4 \times \text{raw milk}) + (15 \times \text{milk fat})$

Means of each row with different letters are significantly different at $P < 0.05$.

ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی کپسوله شده و بهبود سلامت پستان باشد. مطالعات قبلی (Tager & Krause, 2011) نشان داده‌اند که اسانس‌های گیاهی می‌توانند با کاهش التهاب و عفونت‌های پستان، این شاخص را بهبود بخشند که با نتایج پژوهش حاضر هم‌راستا است. کپسوله کردن اسانس‌ها از تخریب آن‌ها در محیط اسیدی شکمبه جلوگیری می‌کند و باعث می‌شود که آن‌ها در روده کوچک آزاد شده و اثرات ضدالتهابی بهتری از خود نشان دهند (Wallace, 2004).

نتایج متابولیت‌های خونی شامل گلوکز، پروتئین کل، نیتروژن اوره‌ای، کلسترول، اسیدهای چرب غیراستری شده، اسید بتا هیدروکسی‌بوتیریک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل خون در جدول ۴ نشان داده شده است. در مطالعه حاضر، میزان کل پروتئین، کلسترول، اسیدهای چرب غیراستریفیه شده و بتاهیدروکسی بوتیرات خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما سطوح گلوکز خون گاوهای تغذیه شده با جیره دارای اسانس‌های گیاهی کپسوله شده تمایل به افزایش معنی‌دار در مقایسه با گاوهای تغذیه شده با شاهد داشت (۶۱/۳۵ در برابر ۵۶/۷۱ میلی گرم بر دسی لیتر، $p=0.08$) که می‌تواند نشان‌دهنده بهبود متابولیسم کربوهیدرات یا انرژی در این گروه از گاوها باشد.

نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که اسانس‌های گیاهی می‌توانند با بهبود متابولیسم کربوهیدرات و افزایش دسترسی به انرژی، سطوح گلوکز خون را افزایش دهند (Benchaa et al., 2008). همچنین نیتروژن اوره‌ای خون در گروه اسانس‌های گیاهی کپسوله شده تمایل به کاهش معنادار داشت ($P=0.09$) که می‌تواند نشان‌دهنده بهره‌وری بهتر نیتروژن یا کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه باشد. نتایج برخی مطالعات بیانگر اثر کاهشی اسانس‌های گیاهی بر تولید آمونیاک در شکمبه از طریق کاهش جمعیت باکتری های تجزیه‌کننده پروتئین است (McEwan et al., 2002).

مطالعات قبلی (Yang et al., 2007) نشان داده‌اند که اسانس‌های گیاهی می‌توانند با بهبود تخمیر شکمبه‌ای و افزایش تولید پروپیونات، منجر به تولید انرژی بیشتر برای سنتز لاکتوز شوند که این امر در نهایت افزایش تولید شیر را به دنبال دارد. در پژوهش حاضر، میزان چربی، مواد جامد بدون چربی، مواد جامد کل و نیتروژن اوره‌ای شیر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P>0.05$)، اما میزان پروتئین شیر در گاوهای تغذیه شده با جیره دارای اسانس‌های کپسوله شده (۳/۱۲ درصد) نسبت به گروه شاهد (۲/۹۸ درصد) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P=0.04$).

افزایش میزان پروتئین شیر در گاوهایی که با جیره‌های حاوی اسانس‌های گیاهی کپسوله شده تغذیه می‌شوند، می‌تواند به‌طور مستقیم با افزایش قابلیت هضم پروتئین جیره در این گاوها مرتبط باشد که کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه و افزایش عبور آن به روده، باعث افزایش قابلیت هضم پروتئین واقعی در محل جذب شوند.

این اثر سبب افزایش آمینواسیدهای قابل استفاده در متابولیسم برای سنتز پروتئین شیر می‌شود (Calsamiglia et al., 2007). مطالعات متعددی (Hristov et al., 2013) نشان داده‌اند که اسانس‌های گیاهی تیمول و کارواکرول در گیاه *Origanum vulgare* L. می‌توانند درصد چربی و پروتئین شیر را به‌طور معنی داری افزایش دهند که با یافته‌های پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. اسانس‌های گیاهی از جمله تیمول، اوژنول و سینامالدئید می‌توانند از طریق بهبود متابولیسم نیتروژن و افزایش سنتز میکروبی پروتئین در شکمبه بر پروتئین شیر تأثیر مثبت بگذارند (Benchaa et al., 2008).

در پژوهش حاضر، سلول‌های سوماتیک بدنی شیر گاوهای تغذیه شده با تیمار دارای اسانس‌های گیاهی کپسوله شده تمایل به کاهش معیندار در مقایسه با گاوهای تغذیه شده با شاهد داشت (۱۵۶ در برابر ۱۹۵ هزار در هر میلی لیتر، $P=0.09$) که می‌تواند نشان‌دهنده اثرات

جدول ۴- اثر اضافه کردن مخلوط اسانس‌های گیاهی آزاد یا کپسوله‌شده به جیره بر متابولیت‌های خونی گاوهای شپرد

Table 4- Effect of adding a blend of free or encapsulated essential oils to diet on blood metabolites in dairy cows

متابولیت‌های خونی Blood metabolites	جیره‌های آزمایشی Experimental diets			میانگین خطای استاندارد SEM	ارزش پی P- value ¹
	جیره پایه (شاهد) Basal diet	جیره پایه + ۸۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی آزاد در کیلوگرم Basal diet + 80 mg free essential oils/kg	جیره پایه + ۴۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی کپسوله در کیلوگرم Basal diet + 40 mg encapsulated essential oils /kg		
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) Glucose (mg/dl)	56.71	58.91	61.35	1.86	0.08
کل پروتئین (گرم در دسی لیتر) Total protein (g/dl)	8.8	9.1	9.0	0.56	0.47
نیتروژن اوردهای خون (میلی گرم در دسی لیتر) Blood urine nitrogen (mg/dl)	18.38	18.15	17.96	1.19	0.09
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر) Cholesterol (mg/dl)	220.57	212.42	215.14	16.53	0.95
اسیدهای چرب غیراستریفیه (میلی مول در لیتر) Non-esterifies fatty acids (mmol/L)	0.48	0.45	0.44	0.09	0.29
بتا هیدروکسی بوتیرات (میلی مول بر لیتر) β -Hydroxybutyric acid (mmol/L)	0.95	0.86	0.78	0.06	0.11
ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (میلی مول بر لیتر) Total anti-oxidant capacity (mmol/L)	0.68 ^b	0.73 ^{ab}	0.81 ^a	0.05	0.03

جیره‌های آزمایش شامل جیره ۱: جیره پایه (شاهد)، جیره ۲: جیره پایه + ۸۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی آزاد در هر کیلوگرم ماده خشک، جیره ۳: جیره پایه + ۴۰ میلی گرم مخلوط اسانس‌های گیاهی کپسوله شده در هر کیلوگرم ماده خشک بودند.

۱- میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P < 0.05$).

The experimental diets consisted of diet 1: a basal diet (control diet with no additives), diet 2: the basal diet + 80 mg of free plant essential oils mixture per kg of diet dry matter, and diet 3: the basal diet + 40 mg of encapsulated plant essential oils mixture per kg of DM.

Means of each row with different letters are significantly different at $P < 0.05$.

تنش اکسیداتیو بالایی هستند (Benchaa et al., 2008). اسانس‌های کپسوله‌شده به دلیل جذب بهتر در روده کوچک می‌توانند به طور مستقیم وارد جریان خون شده و با کاهش رادیکال‌های آزاد، بهبود سلامت کبد و تقویت سیستم ایمنی، تنش اکسیداتیو را کاهش داده و باعث تولید پایدارتر شیر در گاوهای شیری شوند.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اضافه کردن مخلوط اسانس‌های گیاهی کپسوله‌شده به جیره اثر مثبت بر مصرف خوراک، قابلیت هضم پروتئین و عملکرد گاوهای شیرده اوایل شیردهی دارد.

میانگین ظرفیت آنتی اکسیدانی کل خون گاوهای تغذیه‌شده با جیره شاهد (بدون اسانس)، جیره دارای اسانس‌های گیاهی آزاد و جیره دارای اسانس‌های گیاهی کپسوله‌شده به ترتیب ۰/۷۳، ۰/۶۸ و ۰/۸۱ میلی مول بر لیتر بود و تحت تأثیر افزودن اسانس‌های گیاهی کپسوله‌شده به جیره‌ها قرار گرفت ($P = 0.03$) که نشان‌دهنده اثرات آنتی اکسیدانی قوی تر اسانس‌های کپسوله‌شده است و می‌تواند به کاهش تنش اکسیداتیو و بهبود سلامت کلی گاوها به ویژه در اوایل دوره شیردهی کمک کند. برخی محققان نشان دادند که اسانس‌های کپسوله‌شده می‌توانند تنش اکسیداتیو را در گاوهای شیری کاهش دهند و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل را بهبود بخشند. در اوایل شیردهی، گاوها به دلیل تعادل منفی انرژی و موبلیزاسیون چربی، در معرض

اسانس‌های گیاهی کپسوله‌شده به‌عنوان یک راهبرد تغذیه‌ای مؤثر در بهبود عملکرد گاوهای شیرده به‌ویژه در اوایل دوره شیردهی است، اما برای بهینه‌سازی استفاده از اسانس‌های گیاهی در جیره گاوهای شیرده، توصیه می‌شود که دوزهای مختلف اسانس‌های کپسوله‌شده در مطالعات بعدی و در بازه زمانی طولانی‌تر بررسی شود.

علاوه بر این، در مطالعه حاضر استفاده از شکل کپسوله مخلوط اسانس‌های گیاهی تمایل به افزایش میزان گلوکز و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون گاوها داشت و همچنین تمایل به کاهش سلول‌های سوماتیک شیر داشت که این مسئله به‌ویژه در اوایل شیردهی برای کاهش تنش اکسیداتیو و بهبود تولید پایدار شیر اهمیت زیادی دارد. این یافته‌ها نشان‌دهنده اثرات مثبت استفاده از مخلوط

References

1. Amin, N., Tagliapietra, F., Arango, S., Guzzo, N., & Bailoni, L. (2021). Free and microencapsulated essential oils incubated *in vitro*: Ruminal stability and fermentation parameters. *Animals (Basel)*, 11(1), 180. <https://doi.org/10.3390/ani11010180>
2. AOAC. (2023). Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists (Washington, D.C., USA), 22.
3. Bach, A., Elcoso, G., Escartín, M., Spengler, K., & Jouve, A., (2023). Modulation of milking performance, methane emissions, and rumen microbiome on dairy cows by dietary supplementation of a blend of essential oils. *Animal*, 17, 100825. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100825>.
4. Benchaar, C. (2020). Diet supplementation with thyme oil and its main component thymol failed to favorably alter rumen fermentation, improve nutrient utilization, or enhance milk production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104(1), 324-336. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18401>
5. Benchaar, C., & Greathead, H. (2011). Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 166, 338-355. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.024>.
6. Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Colombatto, D., McAllister, T. A., & Beauchemin, K. A. (2008). A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145, 209-228. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.014>.
7. Benchaar, C., Petit, H. V., Berthiaume, R., Whyte, T. D., & Chouinard, P. Y. (2007). Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *Journal of Dairy Science*, 90(2), 886-897. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71572-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71572-0).
8. Benchaar, C., & Hassanat, F., (2025). Diet supplementation with a mixture of essential oils: Effects on enteric methane emissions, apparent total-tract nutrient digestibility, nitrogen utilization, and lactational performance, *Journal of Dairy Science*. (In Press). <https://doi.org/10.3168/jds.2024-25447>.
9. Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Cardozo, P. W., & Kamel, C. (2005). Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual-flow continuous culture. *Journal of Dairy Science*, 88(7), 2508-2516. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72928-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72928-6).
10. Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L., & Ferret, A. (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2580-95. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-644>.
11. Castillejos, L., Calsamiglia, S., & Ferret, A. (2006). Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. *Journal of Dairy Science*, 89(7), 2649-2658. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72341-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72341-2).
12. Duman, E., Evcin, A., Enginar, H., Ersoy, B., Duman, E., Kayhan, H., & Çetinkaya, Z. (2024). Encapsulation of essential oils using complex coacervation: A study on microcapsule formation and efficiency. *International Journal of Computational and Experimental Science and Engineering*, 10(3), 527-536. <https://doi.org/10.22399/ijcesen.394>
13. Ferreira, F. J., Fernandes, L. D., Lobo Júnior, A. R., Rosado, G. L., & Bento, C. B. P. (2024). Meta-analysis of the effects of essential oils on consumption, performance, and ruminal fermentation of beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 311, 115956. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2024.115956>.
14. Garba, A. K., Frincioglu, S. Y. (2023). Role of encapsulation nutrients for improvement of ruminant performance and ruminant derived – products. *Eurasian Journal of Agricultural Research*, 7(2), 109-126.
15. Giannenas, I., Skoufos, J., Giannakopoulos, C., Wiemann, M., Gortzi, O., Lalas, S., & Kyriazakis, I. (2011). Effects of essential oils on milk production, milk composition, and rumen microbiota in Chios dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 94(11), 5569-5577. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4096>.
16. Hristov, A. N., Lee, C., Cassidy, T., Heyler, K., Tekippe, J. A., Varga, G. A., & Ott, T. L. (2013). Effect of *Origanum vulgare* L. leaves on rumen fermentation, production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(2), 1189-1202. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5975>.
17. Khezri, A., Rezayazdi, K., Mesgaran, M. D., & MoradiSharbakh, M. (2009). Effect of different rumen-degradable

- carbohydrates on rumen fermentation, nitrogen metabolism and lactation performance of Holstein dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 22(5), 651-658.
18. Kholif, A. E., & Olafadehan, O. A. (2021). Essential oils and phytogetic feed additives in ruminant diet: Chemistry, ruminal microbiota and fermentation, feed utilization and productive performance. *Phytochemistry Reviews*, 20, 1087-1108. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09753-0>.
 19. Khiaosa-Ard, R., & Zebeli, Q. (2013). Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. *Journal of Animal Science*, 91(4), 1819-1830. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5691>.
 20. Khurana, R., Salami, S. A., Poblete, R. B., Fischer, A., Cofré, L. A., Bustos, V., & Tas, B.M., (2024). Effect of a garlic and citrus extract supplement on the lactation performance and carbon footprint of dairy cows under grazing conditions in Chile. *Animals (Basel)*, 14, 165. <https://doi.org/10.3390/ani14010165>.
 21. Kung, L., Williams, P., Schmidt, R. J., & Hu, W. (2008). A blend of essential plant oils used as an additive to alter silage fermentation or used as a feed additive for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91(12), 4793-4800. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1402>.
 22. McEwan, N. R., Graham, R. C., Wallace, R. J., Losa, R., Williams, P., & Newbold, C. J. (2002). Effect of essential oils on ammonia production by rumen microbes. *Reproduction Nutrition Development*, 42(Suppl 1), S65.
 23. McIntosh, F. M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R. J., & Beever, D. A. (2003). Newbold C.J. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Applied Environmental Microbiology*, 69(8), 5011-4. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.8.5011-5014.2003>.
 24. Moodi, D., Khezri, A., Naserian, A. A., Ghazizadeh-Ahsae, M., Dayani, O., & Bahrampour, V. (2025). Predicting blood beta-hydroxybutyric acid in dairy cow herds through machine learning-based feature selection: On-farm data basis. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 13(1), 67-78. <https://doi.org/10.22103/JLST.2025.24546.1589>.
 25. NASEM, (2021). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 8th Revised Edition National Academy of Sciences, Washington, D.C. USA.
 26. Patra, A. K., & Yu, Z. (2012). Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(12), 4271-4280. <https://doi.org/10.1128/AEM.00309-12>.
 27. Saeedi, S., Dayani, O., Tahmasbi, R., & Khezri, A. (2017). Effect of supplementation of calf starter with fennel powder on performance, weaning age and fermentation characteristics in Holstein dairy calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berlin)*, 101(1), 81-87. <https://doi.org/10.1111/jpn.12511>.
 28. Statistical Analysis System. (2009). Users Guide: Statistics, Version 9.2. SAS Institute, Cary, NC, USA.
 29. Spanghero, M., Robinson, P. H., Zanfi, C., & Fabbro, C. (2009). Effect of increasing doses of a microencapsulated blend of essential oils on performance of lactating primiparous dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 153, 153-157. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.06.004>.
 30. Tager, L. R., & Krause, K. M. (2011). Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(5), 2455-2464. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3505>.
 31. Vankeulen, J., & Young, B. A. (1977). Evaluation of acid insoluble ash as natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44, 282-287. <https://doi.org/10.2527/jas1977.442282x>.
 32. Van Soest, P. J., 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).
 33. Wallace, R. J. (2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63(4), 621-629. <https://doi.org/10.1079/PNS2004393>.
 34. Yang, W. Z., Beauchemin, K. A., & Rode, L. M. (2020). Effects of dietary essential oils on ruminal fermentation, digestion, and milk production in lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 267, 114533.
 35. Yang, W. Z., Benchaar, C., Ametaj, B. N., Chaves, A. V., He, M. L., & McAllister, T. A. (2007). Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 90(12), 5671-5681. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0369>.



Research Article

Vol. 17, No.2, 2025, p. 167-178

Effects of Dietary Tomato (*Solanum lycopersicum*) Pomace with or Without Enzyme Supplementation on Performance, Nutrient Digestibility, Blood Metabolites, and Hepatic Enzyme Activity in Fattening Lambs

Farzad Mirzaei Aghjehgheshlagh^{1*}, Mir Masoum Ghasemi¹, Bahman Navidshad¹, Roghayeh Valizadeh Yonjalli¹, Mehdi Jamali¹

1- Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

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

How to cite this article:

Received: 19-01-2025
Revised: 28-04-2025
Accepted: 30-04-2025
Available Online: 29-07-2025

Mirzaei Aghjehgheshlagh, F., Ghasemi, M. M., Navidshad, B., Valizadeh Yonjalli, R., & Jamali, M. (2025). Effects of dietary tomato (*Solanum lycopersicum*) pomace with or without enzyme supplementation on performance, nutrient digestibility, blood metabolites, and hepatic enzyme activity in fattening lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(2), 167-178. (in Persian with English abstract)
<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.91713.1232>

Introduction: In recent years, feed shortages have become a serious concern in animal nutrition, especially in developing countries. As a result, alternative feed resources have gained increasing attention. Among these, crop residues and fruit or vegetable processing by-products are widely considered. Using these materials can significantly reduce feed costs and improve overall economic efficiency. Additionally, their use helps address environmental concerns by reducing the accumulation of organic waste. Tomato pomace is a by-product of tomato paste and sauce production. It serves as a valuable protein supplement due to its suitable protein content and can also be used as an energy source in ruminant diets. Studies show that dry tomato pomace contains 20-25% crude protein, 9-12% crude fat, and 57-67% neutral detergent fiber. It also provides essential vitamins such as B1, B2, and A. Moreover, tomato pomace is rich in carotenoids, particularly lycopene, as well as vitamins C and E, which contribute to its antioxidant properties when used in animal feed. Enzyme supplement preparations, which contain Taninase enzyme is commonly employed in the food industry. These enzyme can be used in research to enhance the digestibility of feed ingredients, including tomato pomace, by addressing its nutritional limitations.

Materials and Methods: To conduct this experiment, 30 Moghani male lambs with an average age of 5 months and an average body weight of 24 ± 0.6 kg were used. The animals were randomly assigned to five treatment groups, each with six replicates. Dry matter intake was calculated based on the difference between the offered and refused feed. The dry matter content of both the distributed and residual feed was taken into account. Lambs in each group were individually weighed every two weeks using a digital scale. Body weight gain was calculated based on the difference between the initial and final weights recorded during each weighing period. The feed conversion ratio (FCR) was calculated periodically by dividing feed intake (kg) by body weight gain (kg). Blood samples 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.

 <https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.91713.1232>

collected on days 30 and 60 to measure biochemical and enzymatic parameters. These included glucose, cholesterol, triglycerides, total protein, HDL, BUN, and MDA, as well as liver enzymes such as alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), and aspartate aminotransferase (AST), along with total antioxidant capacity (TAS). All measurements were performed using an automated biochemical analyzer and statistical analysis of the experimental data was performed using SAS software (version 9.1)

Results and Discussion: The treatments had no significant effect on weight gain, feed intake, or feed conversion ratio, although the highest FCR was observed in Treatment 4 (7.5% tomato pomace + enzyme). However, the sampling period significantly influenced all performance traits measured. The improved feed conversion ratio in Treatment 4 (7.5% tomato pomace + enzyme) is likely due to enzymatic breakdown of the cell wall, enhancing nutrient availability, including protein. Tomato cell walls contain cellulose, hemicellulose, and pectin, which can reduce digestibility and increase feed intake while limiting weight gain. Nutrient digestibility was influenced by the experimental treatments. Variations in the reported nutritional value of tomato pomace across studies may be attributed to differences in its chemical composition, processing methods, and incubation techniques. Feeding varying levels of tomato pomace, with or without enzyme supplementation, had no significant effect on serum glucose, cholesterol, triglycerides, HDL, BUN, or malondialdehyde (MDA) concentrations. Overall, limited studies have investigated the effects of tomato pomace, alone or in combination with enzymes, on blood parameters in animals. The lack of significant differences in blood indices may be attributed to increased ruminal ammonia and reduced microbial protein synthesis following higher tomato pomace intake, which can lead to elevated blood urea nitrogen (BUN) and potential weight loss. Tomato pomace, with or without enzyme supplementation, had no significant effect on liver enzymes (ALT, ALP, AST), although a slight increase in ALP activity was observed in response to enzyme-treated diets. The lack of significant effects on liver enzyme activity following the consumption of tomato pomace, with or without enzyme, likely indicates the absence of anti-nutritional factors in tomato pomace. This suggests that liver function remained unaffected, with enzyme levels comparable to those of the control group.

Conclusion: The results of this study indicate that feeding tomato pomace at the experimental levels did not negatively affect the parameters measured in fattening lambs. Furthermore, the addition of enzymes to the diet improved certain functional parameters, such as feed conversion ratio and weight gain.

Keywords: Animal Performance, Fattening Lamb Nutrition, Tomato Pomac

اثرات تفاله گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) با یا بدون مکمل آنزیمی بر عملکرد، قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های خون و فعالیت آنزیم‌های کبدی در بره‌های پرواری

فرزاد میرزائی آقچه قشلاق^{۱*}، میرمعصوم قاسمی^۱، بهمن نوید شاد^۱، رقیه ولی زاده یونجالی^۱، مهدی جمالی^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۱۰

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات استفاده از تفاله گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) تنهایی یا همراه با مکمل آنزیم تانناز در جیره و اثرات آن روی عملکرد و قابلیت هضم مواد مغذی در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۷۵ روز انجام شد. برای انجام این آزمایش از ۳۰ راس بره نر مغانی با میانگین سنی پنج ماه و میانگین وزن بدن 24 ± 0.6 کیلوگرم استفاده شد. حیوانات به‌طور تصادفی در پنج گروه تیمار با شش تکرار تقسیم شدند. جیره‌های مورد آزمایش شامل جیره ۱ (شاهد): بدون تفاله گوجه‌فرنگی و آنزیم، جیره ۲: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۳: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۴: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی و ۰/۲ درصد ماده خشک جیره آنزیم، جیره ۵: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی و ۰/۲ درصد ماده خشک جیره آنزیم بود. جیره‌های آزمایشی به‌وسیله نرم‌افزار CNCPS (۶/۱) گوسفندی با احتیاجات غذایی بره پرواری تنظیم شد. مشخصه‌های مورد آزمون شامل میزان ماده خشک مصرفی، افزایش وزن بره‌ها، ضریب تبدیل غذایی، مشخصه‌های خونی شامل گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید، پروتئین کل، لیپوپروتئین با چگالی بالا، ازت اوردهای خون، مالون دی‌الدئید و آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز، آنزیم آلانین فسفاتاز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بودند. آنالیز آماری داده‌های حاصل از این آزمایش با نرم‌افزار SAS (1/9) انجام گردید. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن، افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل غذایی نداشتند. نتایج مربوط به قابلیت هضم مواد مغذی نشان داد که به‌جز خاکستر و فیبر نامحلول در شوینده خنثی، استفاده از تفاله گوجه‌فرنگی به تنهایی یا همراه با آنزیم، قادر به اثرگذاری بر قابلیت دیگر مواد مغذی بود. در مقایسه با شاهد، قابلیت هضم ماده خشک، چربی و پروتئین خام افزایش یافت، در مقابل تیمارهای آزمایشی موجب کاهش قابلیت هضم فیبر نامحلول در شوینده اسیدی شدند. همچنین اثرات جایگزینی تفاله گوجه‌فرنگی در جیره و اثرات آن به تنهایی یا همراه با آنزیم بر مشخصه‌های خونی بره‌های پرواری مغانی نشان داد که تغذیه سطوح مختلف تفاله گوجه‌فرنگی و نیز افزودن آنزیم به جیره تأثیر معنی‌داری بر گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید، لیپوپروتئین با چگالی بالا، ازت اوردهای خون، مالون دی‌الدئید آلانین آمینوترانسفراز، آلانین فسفاتاز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی نداشت. در مقابل، غلظت پروتئین کل تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که تغذیه تفاله گوجه‌فرنگی در سطوح تجربی تأثیر منفی بر مشخصه‌های اندازه‌گیری‌شده در بره‌های پرواری نداشت. علاوه بر این، افزودن آنزیم‌ها به جیره باعث بهبود مشخصه‌های عملکردی خاصی مانند ضریب تبدیل خوراک و افزایش وزن شد.

واژه‌های کلیدی: تغذیه بره پرواری، عملکرد دام، فرآورده‌های فرعی کشاورزی

مقدمه

خوراکی جایگزین توجه ویژه‌ای شده است. از جمله این منابع می‌توان به بقایای زراعی و فرآورده‌های فرعی حاصل از سبزیجات و میوه‌ها اشاره کرد (Wadhwa & Bakshi, 2013). استفاده از این محصولات از یک‌سو باعث کاهش هزینه خوراک و در نتیجه افزایش بازدهی اقتصادی شده و از سوی دیگر، مشکل آلودگی محیط زیست ناشی از تجمع این بقایا را برطرف می‌کند (Ebeid et al., 2015). تفاله گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) یک فرآورده

امروزه در کشورهای در حال توسعه، کمبود مواد خوراکی اصلی یک چالش بسیار مهم در تغذیه دام است. به همین دلیل، به منابع

۱- گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(Email: f_mirzaei@uma.ac.ir)

(*)- نویسنده مسئول:

<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.91713.1232>

آن کاهش قابلیت هضم نیز مشاهده گردد. پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای، قندهای پیچیده‌ای مانند همی سلولز و بتا-گلوکان هستند که آنزیم‌های فیبرولایتیکی، توانایی تجزیه این پلی-ساکاریدهای ساختاری را داشته و می‌تواند قابلیت دسترسی مواد مغذی را برای حیوان میسر سازند (Botha, 2011; Bedford, 2000). با توجه به مطالب فوق، افزودن چنین آنزیم‌هایی به جیره که اتصالات موجود در دیواره سلولی را تجزیه می‌کند، می‌تواند سبب کاهش اثرات ضد تغذیه‌ای تفاله گوجه‌فرنگی شود.

از آنجایی که آنزیم‌ها دارای انواع آنزیم‌ها همانند سلولاز، همی-سلولاز، پکتیناز، لیپاز، زایلاناز، پروتاز و غیره هستند، کاربرد گسترده-ای در صنایع غذایی دارند و همچنین می‌توانند در تحقیقات جهت حذف یا کاهش محدودیت‌های تغذیه‌ای مذکور در گوجه‌فرنگی استفاده شوند (Saharkhiz Bandfrozi et al., 2019). علاوه بر موارد ذکر شده در بالا، کشور ایران با توجه به اقلیم خشکی که دارد، با منابع محدود علوفه‌ای و خوراک دام مواجه است، لذا تحقیقات مختلف به دنبال یافتن جایگزین‌های مناسبی برای منابع علوفه‌ای هستند که قابلیت تغذیه برای دام را داشته باشند. اغلب منابع جایگزین علوفه که شامل ضایعات و فرآورده‌ای جانبی کشاورزی هستند، محدودیت‌های مختلفی از جمله عوامل ضدتغذیه‌ای را دارند که لزوم انجام تحقیقات در جهت کاهش این محدودیت‌ها را ایجاب می‌کند. باین حال مطالعات محدودی در این خصوص صورت گرفته است. بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف جایگزینی تفاله گوجه‌فرنگی با قسمتی از علوفه جیره و با فرض تأثیرات مثبت تغذیه توأم تفاله گوجه‌فرنگی با آنزیم به‌ویژه در بهبود قابلیت هضم مواد مغذی و در نتیجه بهبود عملکرد دام در برهه‌های پروراری مغانی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در واحد گوسفندداری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی با استفاده از تعداد ۳۰ رأس بره نر مغانی به مدت ۷۵ روز انجام شد (Neshane et al., 2023). بعد از خریداری و انتقال دام‌های مورد مطالعه به محل آزمایش، واکسیناسیون بره‌ها بر علیه بیماری‌هایی همچون آنترتوکسمی قبل از شروع تیمار بندی انجام شد. از سوی دیگر، داروهای ضد انگل نیکوزاماید و لورامیزول به فاصله زمانی دو هفته جهت مهار انگل‌های داخلی و خارجی به بره‌های تحت آزمایش خوراندند شد. علاوه بر این، با توجه به هم‌زمانی تحقیق با فصل گرم و برای ممانعت از وقوع تنش گرمایی، عمل پشم‌چینی بره‌ها در ابتدای دوره انجام شد. تفاله گوجه‌فرنگی از کارخانجات رب‌گیری تهیه و پس از انتقال به دانشکده کشاورزی، به صورت هوا خشک و تحت شرایط مناسب خشک گردید. آنزیم مورد استفاده، آنزیم تانناز حاوی تانن

فرعی کارخانه تهیه رب و سس گوجه‌فرنگی است (Safamehr et al., 2010). یک محصول پرمصرف در دنیا بوده و ایران سالانه با تولید حدود ۴۲۰۰ هزار تن در بین کشورهای جهان، رتبه هشتم را از نظر تولید گوجه‌فرنگی به خود اختصاص داده است (Fajri et al., 2008; Mansouri et al., 2011). این محصول به علت تولید در ماه‌های گرم سال و رطوبت بالا و دارا بودن مواد مغذی مختلف، در صورت رهاسدن در محیط به همان صورت به سرعت کپک می‌زند و از ارزش آن به شدت کاسته شده یا غیرقابل استفاده می‌شود، ولی در صورتی که به طور مناسب حفظ و نگهداری شود، می‌تواند سهم قابل توجهی از جیره دام را برای مدت طولانی‌تر شامل شود و به همین دلیل جهت استفاده بهینه آن در تغذیه دام باید با روش‌های مختلف از جمله خشک کردن، آن را حفظ نمود (Yanag et al., 2019). مهم‌ترین مزیت استفاده از تفاله گوجه‌فرنگی به عنوان خوراک دام، جبران کاستی‌های خوراک دام است که سبب افزایش سود ناشی از تولیدات دامی از جمله گوشت و شیر می‌شود (Aghajanzadeh Golshani et al., 2010). گزارش شده است که تفاله گوجه‌فرنگی را می‌توان تا سطح ۲۵ درصد جیره نیز به جیره بره‌های پروراری اضافه نمود، بدون آنکه تأثیر نامطلوبی بر عملکرد دام داشته باشد (Awawdeh, 2011). تفاله گوجه‌فرنگی همچنین به عنوان یک مکمل پروتئینی با درصد پروتئین مناسب و حتی مکمل انرژی در جیره نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ziaei & Molaei, 2010). نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که تفاله خشک گوجه‌فرنگی حاوی ۲۰-۲۵ درصد پروتئین خام، ۹-۱۲ درصد چربی خام و ۵۷-۶۷ درصد الیاف شوینده خنثی و همچنین حاوی ویتامین B₁ و B₂ و ویتامین A نیز می‌باشد (El Boushy & Van der Poel, 1994). تفاله گوجه‌فرنگی همچنین حاوی غلظت بالایی از کاروتنوئیدها (به-طور عمده لیکوپن) و ویتامین‌های C و E است که می‌تواند هنگام استفاده به عنوان خوراک دامی باعث فعالیت آنتی‌اکسیدانی شود. عبدو و همکاران و پریاگو و همکاران (Abbeddou et al., 2011; Periago et al., 2009) در تحقیقات خود گزارش نمودند که لیکوپن به عنوان کاروتنوئید عمده موجود در گوجه‌فرنگی و محصولات آن، مسئول رنگ قرمز گوجه‌فرنگی است. همچنین کاروتنوئیدهای موجود در گوجه‌فرنگی پیش‌ساز ویتامین A هستند، از این رو می‌توانند باعث بهبود عوامل تولیدی و پرورشی شوند. از طرف دیگر، لیکوپن یک ترکیب لیپوفیل و محلول در چربی است که می‌تواند انتقال لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) را تسهیل کند (Valenti et al., 2018). همچنین نتایج مطالعات نشان می‌دهد که دیواره سلولی گوجه‌فرنگی حاوی ترکیب سلولز، همی سلولز و پکتین است (Brodowski & Geisman, 1980)، بنابراین ممکن است با مصرف

۲۵ کیلوگرم و افزایش وزن روزانه ۲۲۰ گرم تنظیم شد (جدول ۱). در طول دوره آزمایش، بره‌ها دسترسی آزاد به آب داشتند. برای محاسبه میزان ماده خشک مصرفی توسط بره‌های مغانی، به‌صورت روزانه میزان خوراک مصرفی و باقی‌مانده در روز بعد توزین و ثبت شد. سپس براساس تفاوت وزن میزان ماده خشک خوراک مصرفی و خوراک باقی‌مانده، میزان ماده خشک مصرفی روزانه محاسبه گردید. بره‌های هر گروه به‌صورت انفرادی هر دو هفته یک‌بار با استفاده از باسکول توزین گردیده و سپس میزان افزایش وزن بره‌ها با استفاده از اختلاف وزن در ابتدا و انتهای هر دوره وزن‌کشی مشخص گردید. ضریب تبدیل غذایی نیز با تقسیم خوراک مصرفی (کیلوگرم) بر میزان افزایش وزن بدن (کیلوگرم) به‌صورت دوره‌ای محاسبه گردید.

آسیل هیدرولاز (U/gr, EC 3.1.20 ۵۰۰) بود که از شرکت صنایع غذایی کیکومان کشور ژاپن خریداری و برای طرح استفاده شد. تعداد ۳۰ رأس بره نر مغانی با میانگین سنی پنج ماهه با متوسط وزن بدنی 24 ± 600 کیلوگرم به پنج گروه تیماری با شش تکرار تقسیم شدند. در نهایت، هر گروه به‌صورت تصادفی به یکی از جیره‌های مورد آزمایش اختصاص داده شدند. جیره‌های مورد آزمایش جیره ۱ (شاهد): بدون تفاله گوجه‌فرنگی و آنزیم، جیره ۲: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۳: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۴: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی و ۰/۲ درصد ماده خشک جیره آنزیم، جیره ۵: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی و ۰/۲ درصد ماده خشک جیره آنزیم بود. جیره‌های آزمایشی به‌وسیله نرم‌افزار CNCPS (۶/۱) گوسفندی با احتیاجات غذایی بره با وزن اولیه حدود

جدول ۱- اجزاء جیره‌های آزمایشی (درصد ماده خشک)

Table 1- The ingredients of experimental diets (percentage of dry matter)

اجزاء Ingredients	تیمارها ^۱ Treatments ¹				
	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
	Treatment 1 (control)	Treatment 2	Treatment 3	Treatment 4	Treatment 5
علوفه یونجه Alfalfa fodder	45	37.5	30	37.5	30
جو Barley	27	27	27	27	27
دانه گندم Wheat	10	10	10	10	10
کنجاله سویا Soybean meal	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
روغن نباتی Vegetable oil	2	2	2	2	2
ذرت Corn	8	8	8	8	8
سبوس گندم Wheat bran	5	5	5	5	5
کلسیم کربنات Calcium carbonate	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
مکمل معدنی Mineral supplement	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
نمک Salt	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
پودر تفاله گوجه‌فرنگی Tomato pomace powder	0	7.5	15	7.5	15

^۱ جیره ۱: شاهد، جیره ۲: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۳: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۴: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه و ۰/۲ درصد آنزیم، جیره ۵: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی + ۰/۲ درصد آنزیم.

^۱ Treatment 1: control, Treatment 2: containing of 7.5 percent tomato pomace, Treatment 3: containing of 15 percent tomato pomace, treatment 4: containing of 7.5 percent tomato pomace + 0.2 percent enzyme and Treatment 5: containing of 15 percent tomato pomace + 0.2 percent enzyme.

^۲ ترکیب مکمل معدنی (میلی گرم در کیلوگرم): کلسیم ۱۹۵۰۰۰ میلی گرم، منیزیم ۲۰۰۰۰ میلی گرم، سدیم ۵۵۰۰۰ میلی گرم، روی ۳۰۰۰ میلی گرم، منگنز ۲۰۰۰ میلی گرم، مس ۷۰۰ میلی گرم، کبالت ۱۰۰ میلی گرم، سلنیوم ۲۰ میلی گرم.

^۲ Mineral supplement composition: Calcium: 195000 mg, Magnesium: 20000 mg, Sodium: 55000 mg, Zinc: 3000 mg, Manganese: 2000mg, Copper: 700 mg Cobalt: 100 mg, Selenium: 20 mg

اندازه‌گیری مشخصه‌های خونی شامل گلوکز^۱، کلسترول^۲، تری-گلیسرید^۳، پروتئین کل^۴، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL^۵)، ازت اوره‌ای خون (BUN^۶) و مالون دی آلدئید (MDA^۷) و آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT^۸)، آنزیم آلانین فسفاتاز (ALP^۹)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST^{۱۰}) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC^{۱۱}) در روزهای ۳۰ و ۶۰ آزمایش انجام و غلظت آن‌ها با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر تعیین شد. آنالیز آماری داده‌های حاصل آزمایشی با نرم‌افزار SAS (1/9) انجام شد.

نتایج و بحث

اثرات تغذیه تفاله گوجه‌فرنگی به‌تنهایی یا همراه با آنزیم بر عملکرد بره‌های پرواری در جدول ۲ آورده شده است. مطابق جدول، تیمارهای آزمایشی قادر به اثرگذاری بر افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی بره‌ها نبودند، با این حال، در تیمار ۴ که حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه و آنزیم است، بالاترین ضریب تبدیل غذایی در بره‌ها به‌صورت عددی مشاهده شد.

در مقابل، دوره نمونه‌برداری بر مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در دام‌های مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری داشت ($P < 0/05$)، به‌طوری‌که بالاترین میزان مصرف کل خوراک، مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن کل، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در دوره ۳۰ روزه دوم بالاترین میزان را در دام‌های مورد مطالعه نشان داد، همچنین اثر متقابل دوره و تیمار بر صفات مورد بررسی معنی‌دار نبود.

اولین دلیل بهبود ضریب تبدیل غذایی همراه با افزایش وزن در تیمار ۴ که حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی همراه با آنزیم است، مربوط به شکستن دیواره سلولی و سست شدن پیوندهای آن و افزایش دسترسی مواد مغذی از جمله پروتئین در اثر عملکرد آنزیم‌ها است. مطالعات نشان می‌دهد که دیواره سلولی گوجه‌فرنگی حاوی ترکیب سلولز، همی‌سلولز و پکتین است (Awawdeh, 2011). بنابراین ممکن است که مصرف آن منجر به بهبود افزایش وزن همراه

با افزایش مصرف خوراک و بهبود قابلیت هضم شود. علی‌رغم اینکه، تفاله گوجه‌فرنگی منبع خوبی از پروتئین، ویتامین‌ها و مواد معدنی بوده، اما ممکن است از نظر محتوای انرژی با توجه به محتوای پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای بالای آن، محدودیت داشته باشد. پلی-ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای شامل قندهای پیچیده‌ای مانند همی‌سلولز و بتا-گلوکان هستند و آنزیم‌های فیبرولایتیکی توانایی تجزیه این پلی‌ساکاریدهای ساختاری را داشته و در نتیجه می‌توانند قابلیت دسترسی مواد مغذی را برای حیوان میسر سازند (Bedford, 2000).

افزودن چنین آنزیم‌هایی به جیره که اتصالات موجود در دیواره سلولی را تجزیه می‌کند، می‌تواند سبب کاهش اثرات ضد تغذیه‌ای تفاله گوجه‌فرنگی شود، بر این اساس در تیمار حاوی آنزیم‌ها بهبود در افزایش وزن بره‌ها و بهبود ضریب تبدیل غذایی مشاهده شد، به‌گونه‌ای که آنزیم‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر دارای انواع آنزیم‌ها نظیر سلولاز، همی‌سلولاز، پکتیناز، لیپاز، زایلاناز، پروتاز و ... هستند که می‌توانند جهت حذف یا کاهش محدودیت‌های تغذیه‌ای موجود در گوجه‌فرنگی استفاده شوند (Saharkhiz Bandfrozi et al., 2019).

از سوی دیگر، محققان گزارش کردند که تخمیر تفاله گوجه‌فرنگی باعث کاهش ترکیبات لیگنوسولزی و سلولز و همی‌سلولز و افزایش پروتئین خام گردید. تخمیر تفاله گوجه‌فرنگی باعث افزایش باکتری‌های اسیدلاکتیکی شد که باعث بهبود شرایط سلامت عمومی و در نهایت باعث بهبود افزایش وزن و کیفیت پروتئین بالاتر نسبت به تفاله گوجه‌فرنگی خام گردید که این نتیجه تخمیر، منجر به افزایش دسترسی مواد مغذی موجود در تفاله گوجه‌فرنگی مشابه با عملکرد آنزیم در مطالعه حاضر می‌شود.

برخلاف مطالعه حاضر، فوندویلا و همکاران (Fondevila et al., 1994) گزارش کردند که بررسی تأثیر تفاله گوجه‌فرنگی در به‌میزان ۲۰۰ گرم در کیلوگرم در جیره بره‌های پرواری منجر به افزایش در وزن نهایی، افزایش وزن کل و افزایش وزن روزانه دام‌ها گردید.

همچنین عمر و مگید (Omer & Abdel-Magid, 2015) در پژوهشی به‌منظور بررسی اثر تغذیه سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ درصدی تفاله خشک گوجه‌فرنگی در جیره کاملاً مخلوط بره‌های پرواری، نتیجه-گیری نمودند که میانگین مصرف ماده خشک به‌ترتیب ۱۱۱۹، ۱۰۸۲، ۱۰۴۲ و ۱۰۰۲ گرم به‌ازای هر رأس در روز و ضریب تبدیل به‌ترتیب ۶/۰۵، ۵/۳۸، ۴/۸۰ و ۴/۳۹ بود. به عبارتی با افزایش سطح تفاله خشک گوجه‌فرنگی در جیره گوسفندان، مصرف خوراک کاهش یافته و در مقابل، ضریب تبدیل براساس ماده خشک مصرفی بهبود یافت. این مطالعات، اثرات مفید استفاده از تفاله گوجه‌فرنگی در جیره نشووارکنندگان را نشان داده‌اند که مشابه با نتایج مطالعه حاضر است.

- 1- Glucose
- 2- Cholesterol
- 3- Triglyceride
- 4- Total Protein
- 5- High density lipoprotein
- 6- Blood urea nitrogen
- 7- Malone de aldehyde
- 8- Alanine amino transferase
- 9- Alanine phosphatase
- 10- Aspartate amino transferase
- 11- Total antioxidant capacity

جدول ۲- اثرات تیمارهای آزمایشی بر عملکرد بره‌های پرواری

Table 2- Effects of experimental treatments on the performance of fattening lambs

مشخصات Characteristics	تیمارها ^۱ Treatment ¹	مصرف خوراک روزانه Daily feed consumption (kg)	کل خوراک مصرفی Total feed consumption (kg)	افزایش وزن روزانه Daily weight gain (gr)	افزایش وزن کل Total weight gain (kg)	ضریب تبدیل غذا Food conversion ratio
اثر تیمارها Treatment effect	1	1.259	37.73	218.01	6.541	6.377
	2	1.217	36.55	237.22	7.116	6.805
	3	1.183	35.48	214.22	6.425	5.917
	4	1.165	34.80	246.94	7.408	5.444
	5	1.155	34.67	223.89	6.716	6.263
	SEM	0.071	2.317	17.143	0.514	0.973
	p-value	0.8150	0.8309	0.6397	0.6367	0.8904
اثر دوره Period effect	۳۰ روز اول The first 30 days	1.576 ^b	32.09 ^b	162.25 ^b	4.867 ^b	7.52 ^a
	۳۰ روز دوم The second 30 days	1.32 ^a	39.60 ^a	293.86 ^a	8.815 ^a	4.80 ^b
	SEM	0.034	1.036	11.25	0.337	0.581
	p-value	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0016
	اثر متقابل تیمار و دوره Interaction between treatment and period	0.9449	0.9743	0.4653	0.4653	0.5149

^۱ جیره ۱: شاهد، جیره ۲: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۳: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۴: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه و ۰/۲ درصد آنزیم، جیره ۵:

حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی + ۰/۲ درصد آنزیم

¹ Treatment 1: control, Treatment 2: containing of 7.5 percent tomato pomace, Treatment 3: containing of 15 percent tomato pomace, Treatment 4: containing of 7.5 percent tomato pomace+0.2 percent enzyme and Treatment 5: containing of 15 percent tomato pomace + 0.2 percent enzyme.

مقایسه با سایر تیمارها، در بالاترین سطح قرار داشت، درحالی‌که در سایر تیمارها مقدار کمتری مشاهده شد. با این حال، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای ۲، ۳ و ۴ از این نظر دیده نشد. اثر تیمارها بر قابلیت هضم چربی نیز معنی‌دار بود، به طوری‌که تیمارهای شاهد، ۳ و ۵ بیشترین و تیمارهای ۲ و ۴ کمترین میزان قابلیت هضم چربی را نشان دادند. قابلیت هضم پروتئین خام نیز تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت؛ به گونه‌ای که تیمار ۵ بیشترین و تیمارهای ۲ و ۴ کمترین مقدار را داشتند. همچنین بین شاهد و تیمار ۳ (۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی بدون آنزیم) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در مورد قابلیت هضم خاکستر خام، استفاده از تفاله گوجه‌فرنگی در سطوح مختلف، چه به تنهایی و چه همراه با آنزیم، تأثیر معنی‌داری نداشت. مقدار ADF در شاهد نسبت به سایر تیمارها در بالاترین سطح قرار داشت، درحالی‌که کمترین قابلیت هضم ADF در تیمارهای ۳ و ۵ مشاهده شد. در نهایت، قابلیت هضم NDF تحت تأثیر معنی‌دار

در یکی از این مطالعات، اثرات استفاده از تفاله گوجه‌فرنگی در جیره غذایی بره‌های پرواری با وزن اولیه 32 ± 2 کیلوگرم به مدت ۳۵ روز مورد آزمایش قرار گرفتند و نتایج نشان داد که میانگین افزایش وزن روزانه بره‌ها تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت، اما نتایج حاکی از آن است که جایگزینی تفاله خشک گوجه با دانه جو (*Hordeum vulgare*) و سبوس گندم (*Triticum aestivum*) اثر منفی بر عملکرد بره‌های پرواری نداشت و جایگزینی تفاله گوجه با منابع انرژی هزین‌ه خوراک را کاهش و همچنین نیاز به مواد مغذی طی فصول کمبود علوفه تأمین خواهد شد (Rashidi et al., 2013).
تأثیر استفاده از تفاله گوجه‌فرنگی در سطوح مختلف، به تنهایی یا همراه با آنزیم، بر قابلیت هضم مواد مغذی در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی به طور معنی‌داری بر قابلیت هضم مواد مغذی اثرگذار بوده‌اند. قابلیت هضم ماده خشک در تیمار ۵ (حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی همراه با آنزیم) و شاهد، در

تیمارها قرار نگرفت، با این وجود تیمار ۵ بیشترین مقدار را در بین تیمارها نشان داد.

جدول ۳- اثرات تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم مواد مغذی بره‌های پرواری

Table 3- Effects of experimental treatments on nutrient digestibility of Fattening Lambs

مشخصات Characteristics	تیمارها Treatment ¹	ماده خشک Dry matter	خاکستر Ash	چربی Fat	پروتئین خام Crude protein	الیاف نامحلول در شوینده خشی NDF ¹	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF ²
	1	59.83 ^{ab}	57.12	46.73 ^a	55.98 ^b	46.1	76.92 ^a
	2	49.96 ^b	69.83	38.93 ^b	47.07 ^c	43.93	66.33 ^b
اثر تیمارها Treatment effect	3	55.38 ^b	57.47	45.96 ^a	56.93 ^b	45.6	47.93 ^c
	4	49.73 ^b	63.80	38.53 ^b	47.50 ^c	44.63	60.9 ^b
	5	63.83 ^a	68.33	42.86 ^{ab}	65.8 ^a	50.23	48.26 ^c
	SEM	6.03	8.23	1.22	0.45	2.37	1.05
	p-value	0.0139	0.7247	0.0017	0.0001	0.4082	0.0001

¹ جیره ۱: شاهد، جیره ۲: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۳: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۴: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه و ۰/۲ درصد آنزیم، جیره ۵: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی + ۰/۲ درصد آنزیم. در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

¹Treatment 1: control, Treatment 2: containing of 7.5 percent tomato pomace, Treatment 3: containing of 15 percent tomato pomace, Treatment 4: containing of 7.5 percent tomato pomace + 0.2 percent enzyme and Treatment 5: containing of 15 percent tomato pomace + 0.2 percent enzyme.

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

¹ NDF: Neutral Detergent Fiber; ² ADF: Acid Detergent Fiber

لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL)، مالون دی آلدئید (MDA) و ازت اورهای خون (BUN) نداشت (جدول ۴)، با این وجود مقایسه سطوح مختلف نشان داد که استفاده از تفاله گوجه‌فرنگی منجر به افزایش عددی میزان گلوکز می‌شود. میزان کلسترول و تری‌گلیسیرید در گروه شاهد بالاترین و در تیمار ۷/۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی کمترین مقدار را نشان داد. میزان لیپوپروتئین با چگالی بالا در تیمارهای حاوی تفاله گوجه‌فرنگی کمترین میزان را نشان داد، اما در مقابل در تیمار ۴ و ۵ که تیمار تفاله گوجه‌فرنگی همراه با آنزیم است، میزان لیپوپروتئین با چگالی بالا، افزایش عددی را داشت. میزان ازت اورهای خون با افزایش سطح تفاله گوجه‌فرنگی در جیره دام‌های مورد مطالعه افزایش نشان داد.

میزان پروتئین کل خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($p < 0.05$)، به گونه‌ای که تیمار ۳ که حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی بود، بالاترین میزان پروتئین کل خون و تیمار ۵ که تیمار ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی همراه با آنزیم بود، کمترین میزان را نشان داد. در نهایت، اثر دوره و اثرات متقابل تیمار و دوره بر فراسنجه‌های خونی در دام‌های مورد بررسی معنی‌دار نبود.

مطابق جدول ۴، اثرات تغذیه سطوح مختلف پودر تفاله گوجه‌فرنگی به‌تنهایی یا همراه با آنزیم، اثر معنی‌داری بر غلظت مالون دی آلدئید به‌عنوان شاخص آنتی‌اکسیدانی خون بره‌های پرواری نداشت و در تیمار ۷/۵ درصد تفاله گوجه و آنزیم بالاترین میزان مشاهده گردید. اثر دوره نمونه‌برداری بر هیچ‌کدام از فراسنجه‌های

نتایج متفاوت ارزش غذایی گوجه‌فرنگی در مطالعات مختلف به دلیل تنوع در ترکیب شیمیایی تفاله گوجه‌فرنگی، روش‌های مختلف فرآوری و روش انکوباسیون و غیره است. تفاوت در نتایج مطالعات مختلف در ارتباط با مصرف تفاله‌ها بر قابلیت هضم مواد مغذی می‌تواند با تفاوت در نوع خصوصیات و نوع دام مصرف‌کننده این فرآورده مرتبط باشد (Valenti et al., 2018). به هر حال، فنول‌های موجود در تفاله گوجه‌فرنگی از دلایل ارزش غذایی پایین تفاله گوجه‌فرنگی است و روی خوش‌خوراکی و قابلیت هضم ظاهری خوراک تأثیر منفی دارد. با این حال، برخی از مطالعات نشان داده‌اند که گنجانیدن تفاله گوجه‌فرنگی در جیره غذایی گوسفندان و گاو بر تخمیر شکمبه تأثیر منفی ندارد (Belibasakis & Ambatzidiz, 1995). علاوه بر این بهبود قابلیت هضم پروتئین در تیمار ۵ که حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه و آنزیم است را می‌توان به اثر آنزیم تانناز مربوط دانست که با ایجاد کمپلکس با پروتئین جیره، این ترکیبات را از تجزیه در شکمبه محافظت کرده و در نتیجه منجر به تجزیه پروتئین به اسیدهای آمینه در روده کوچک شده و بهبود قابلیت هضم پروتئین را در پی دارد. کاهش در قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده اسیدی به دلیل سطح بالاتر الیاف نامحلول در شوینده اسیدی از تیمارهای حاوی تفاله گوجه می‌باشد که محتوی فیبری جیره را افزایش داده در نتیجه موجب کاهش قابلیت هضم بخش فیبری خوراک شده است.

تغذیه سطوح مختلف تفاله گوجه‌فرنگی و نیز افزودن آنزیم به جیره تأثیر معنی‌داری بر روی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید،

خونی مورد مطالعه معنی‌دار نبود. همچنین اثر متقابل دوره و تیمارهای غذایی تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های خونی مورد مطالعه نداشت. همچنین در مطالعه دیگری گزارش شده است که جایگزینی تفاله گوجه‌فرنگی با سیلاژ ذرت (*Zea mays*) و کنجاله سویا (*Glycine max*) تا سطح ۱۳ درصد ماده خشک تأثیری بر فراسنجه‌های خونی نداشته است (Belibasakis et al., 1995) که در تطابق با مطالعه حاضر است.

عدم معنی‌داری فراسنجه‌های خونی تحت تأثیر تفاله گوجه‌فرنگی به‌تنهایی یا همراه با آنزیم می‌تواند این‌گونه تفسیر شود که افزایش سطح نیتروژن اوره‌ای خون با افزایش مصرف تفاله گوجه‌فرنگی ناشی

از افزایش آمونیاک شکمبه و کاهش سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه بوده که باعث کاهش وزن می‌شود. در واقع، افزایش آمونیاک شکمبه منجر به افزایش آمونیاک خون شده که به‌نوبه خود منجر به افزایش سطح آمونیاک کبد و در آنجا به اوره تبدیل می‌شود (Gressley & Armentano, 2007). به‌طور کلی، مطالعات تأثیر تفاله گوجه‌فرنگی به‌تنهایی یا همراه با آنزیم بر فراسنجه‌های خونی دام اندک است. در یکی از مطالعات، صفری و همکاران (Safari et al., 2010) گزارش کردند که تفاله گوجه‌فرنگی به‌صورت خشک و سیلوشده در سطح هشت درصد تأثیر معنی‌داری بر گلوکز و نیتروژن اوره‌ای خون ندارد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

جدول ۴- اثرات تیمارهای آزمایشی بر مشخصه‌های خونی بره‌های پروار

Table 4- Effects of experimental treatments on blood parameters of fattening lambs ((mg/dl)

مشخصات Characteristics	تیمارها ^۱ Treatment ¹	گلوکز Glucose	کلسترول Cholesterol	تری‌گلیسرید Triglyceride	پروتئین کل Total protein	HDL (mg/dl)	BUN (mg/dl)	MDA (Nmol/ml)
اثرات تیمارها Treatment effect	1	81	66.62	27.12	6.6 ^{ab}	30.31	30	1.66
	2	75	54.62	21.87	6.53 ^{ab}	24.94	30.50	2.31
	3	82.37	57.62	19.12	6.81 ^a	28.47	32.75	1.60
	4	80.5	55.75	25	6.13 ^b	38.50	28.25	2.34
	5	79.5	61.00	22.62	5.81 ^c	33.52	33.37	1.60
	SEM	2.49	4.486	3.47	0.174	2.977	2.450	0.312
	p-value	0.3774	0.3657	0.5585	0.0075	0.4097	0.5858	0.247
اثر دوره Period effect	30 days	79.73	58.10	24	6.37	29.27	30.850	2.05
	30 days	79.75	60.15	22.30	6.38	29.11	31.100	1.75
	SEM	1.414	2.228	2.04	0.089	1.56	1.40	1.77
	p-value	1	0.3018	0.5317	0.9111	0.8733	0.8885	0.2013
اثر متقابل تیمار و دوره Interaction between treatment and period		0.7182	0.8089	0.5760	0.9091	0.3976	0.7984	0.700

^۱ جیره ۱: شاهد، جیره ۲: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۳: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۴: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه و ۰/۲ درصد آنزیم، جیره ۵: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی + ۰/۲ درصد آنزیم.

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

¹ Treatment 1: control, Treatment 2: containing of 7.5 percent tomato pomace, Treatment 3: containing of 15 percent tomato pomace, Treatment 4: containing of 7.5 percent tomato pomace + 0.2 percent enzyme and Treatment 5: containing of 15 percent tomato pomace + 0.2 percent enzyme.

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

سرم گردید، بدین‌صورت از آنجایی‌که در مطالعه حاضر، میزان کلسترول خون در گروه شاهد بالاتر از دیگر تیمارها است، بنابراین نتایج مطالعه آواده (Awawdeh, 2011) با مطالعه حاضر در تضاد

آواده و همکاران (Awawdeh, 2011) نشان دادند که استفاده از تفاله گوجه‌فرنگی در جیره خروگوش اثر معنی‌داری روی پروتئین خام؛ آلبومین و چربی سرم نشان نداد، اما منجر به افزایش کلسترول

است. از دیگر مطالعات در این زمینه، مطالعه عبدالله‌زاده و همکاران (Abdollahzadeh et al., 2010) است که با استفاده از تفاله گوجه‌فرنگی در جیره بزهای مرخز تا سطح ۳۰ درصد نشان دادند که تفاله گوجه‌فرنگی تأثیر معناداری روی تری‌گلیسیرید، کلسترول، گلوکز و نیترژن اورده‌ای خون ندارد که در تطابق با نتایج مطالعه حاضر است. از آنجایی که لیکوپن موجود در تفاله گوجه‌فرنگی یک ترکیب لیپوفیلک و محلول در چربی است، می‌تواند انتقال لیپوپروتئین

را تسهیل کند (Saharkhiz Bandfrozi et al., 2019).

بنابراین این عملکرد می‌تواند دلیل افزایش میزان لیپوپروتئین با چگالی بالا در تیمارهای ۴ و ۵ باشد، به گونه‌ای که میزان لیپوپروتئین با چگالی بالای خون بره‌های پرواری تحت تأثیر تیمارهای ۴ و ۵ که حاوی تفاله گوجه‌فرنگی همراه با آنزیم است، نسبت به دیگر تیمارها بالاتر باشد.

جدول ۵- تغذیه تیمارهای آزمایشی بر آنزیم‌های کبد (IU/L) بره‌های پرواری

Table 5- Effects of experimental treatments on liver enzymes (IU/L) of fattening lambs

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (TAS ^۱)	آلانین آمینوترانسفراز (ALT ^۲)	آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST ^۳)	آلانین فسفاتاز (ALP ^۴)	تیمارها ^۱ Treatment ¹	خصوصیات Characteristics
0.353	131.38	21.12	557.50	1	
0.350	133.50	21.87	521.25	2	
0.323	133.38	25.62	577.50	3	
0.336	123.63	21.5	592.50	4	اثرات تیمارها Treatment effect
0.306	118.37	20.37	605.00	5	
0.0302	7.91	10.755	53.16	SEM	
0.7886	118.37	0.4226	0.8117	p-value	
0.334	129.10	21.25	545.08	30 Days	اثر دوره Period effect
0.323	127	30.95	596.50	30 Days	
0.015	4.08	7.11	51.29	SEM	
0.1293	0.6134	0.3691	0.0226	p-value	
0.9360	0.9482	0.4784	0.2578		اثر متقابل تیمار و دوره Interaction between treatment and period

^۱ جیره ۱: شاهد، جیره ۲: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۳: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی، جیره ۴: حاوی ۷/۵ درصد تفاله گوجه و ۰/۲ درصد آنزیم، جیره ۵: حاوی ۱۵ درصد تفاله گوجه‌فرنگی + ۰/۲ درصد آنزیم.

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

¹ Treatment 1: control, Treatment 2: containing of 7.5 percent tomato pomace, Treatment 3: containing of 15 percent tomato pomace, Treatment 4: containing of 7.5 percent tomato pomace+0.2 percent enzyme and Treatment 5: containing of 15 percent tomato pomace + 0.2 percent enzyme.

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

- 1- Total Antioxidant Capacity
- 2- Alanine Amino Transferase
- 3-Aspartate Amino Transferase
- 4- Alanine Phosphatase

گسترده‌ای دارند، به گونه‌ای که در زمان افزایش پروتئین مصرفی و کاتابولیسم بافتی پروتئین و یا در زمانی که مشکلات کبدی رخ می‌دهد و یا توازن منفی انرژی در خون افزایش می‌یابد، این آنزیم نقش پررنگی ایفا می‌کند و با افزایش میزان آن در خون منجر به پاک‌سازی خون از مواد سمی می‌شود. علاوه بر این، آلکالین فسفاتاز یک گروه ایزوآنزیم بوده که در لایه خارجی غشاء سلولی حضور دارند و توانایی هیدرولیز استر فسفات‌های آلی پروتئین‌ها، نوکلئوتیدها و آلکالوئیدها را داشته که در نتیجه آن این ترکیبات و در فضای بین سلولی آزاد می‌شوند (Fondevila et al., 1994).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از تفاله گوجه‌فرنگی در سطوح آزمایشی ذکر شده، نه تنها تأثیر منفی بر مشخصه‌های مورد مطالعه در بره‌های پرواری نداشته است، بلکه افزودن آنزیم به جیره منجر به بهبود برخی از مشخصه‌های عملکردی از قبیل ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن نیز گردید. علاوه بر این، سطوح مختلف تفاله گوجه‌فرنگی به تنهایی یا همراه با آنزیم منجر به افزایش معنی‌دار بر قابلیت هضم مواد مغذی شد. براساس یافته‌های تحقیق حاضر، استفاده از تفاله گوجه‌فرنگی به عنوان ضایعات کشاورزی در سطوح آزمایش شده به عنوان جایگزین علوفه جیره بره‌های پرواری، تأثیر منفی بر مشخصه‌های مورد مطالعه و رشد بره‌ها نداشته و قابلیت استفاده در سطوح وسیع را داشته و در نتیجه می‌تواند راهکاری در کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی و هزینه‌های جیره دام‌های پرواری باشد.

اثرات تغذیه تفاله گوجه‌فرنگی به تنهایی یا همراه با آنزیم بر فعالیت آنزیم‌های کبدی بره‌های پرواری در جدول ۵ آورده شده است. مطابق جدول، تفاله گوجه‌فرنگی به تنهایی یا همراه با آنزیم بر فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز، آنزیم آلانین فسفاتاز، آسپاراتات آمینوترانسفراز معنی‌دار نبود. هر چند که براساس این مطالعه، تغذیه توأم سطوح مختلف تفاله همراه با آنزیم منجر به افزایش اندک فعالیت آنزیم آلانین فسفاتاز شده است. در مقابل، فعالیت آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در تیمار حاوی تفاله گوجه‌فرنگی بدون آنزیم، فعالیت بالاتری نشان داده است.

همچنین ارزیابی اثر دوره ۳۰ و ۶۰ روزه نیز حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بر فعالیت آنزیم‌های کبدی بره‌های پرواری بود. علاوه بر این، اثر متقابل دوره و تیمار منجر به تفاوت معنی‌داری بر آنزیم‌های کبدی بره‌های پرواری نگردید.

نتایج عدم معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های کبدی در اثر مصرف تفاله گوجه‌فرنگی به تنهایی یا همراه با آنزیم احتمالاً نشان‌دهنده عدم وجود عناصر ضدتغذیه‌ای در تفاله گوجه‌فرنگی است که منجر به فعالیت طبیعی کبد و سطح طبیعی آنزیم‌های کبدی در مقایسه با گروه شاهد است.

مطالعات اندکی به بررسی نقش تفاله گوجه‌فرنگی بر عملکرد آنزیم‌های کبدی حیوانات مصرف‌کننده تفاله گوجه‌فرنگی پرداخته شده است.

همان گونه که مطالعات نشان داده‌اند، آنزیم آمینوترانسفراز آنزیمی است که در کبد تولید و ساخته می‌شود و منجر به انتقال و میانجی‌گری گروه آمین بین اسیدآمینه آل آلانین و گلوتامات می‌شود. همچنین در ارزیابی متابولیسم پروتئین در گاوهای شیری کاربرد

References

1. Abbeddou, S., Rischkowsky, B., Richter, E. K., Hess, H. D., & Kreuzer, M. (2011). Modification of milk fatty acid composition by feeding forages and agro-industrial byproducts from dry areas to Awassi sheep. *Journal of Dairy Science*, 94, 4657-4668. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4154>
2. Abdollahzadeh, F., Pirmohammadi, R., Farhoomand, P., Fatehi, F., & Pazhoh, F. F. (2010). The effect of ensiled mixed tomato and apple pomace on Holstein dairy cow. *Italian Journal of Animal Science*, 9(2), 212-216. <https://doi.org/10.4081/ijas-2010.e41>
3. Aghajanzadeh-Golshani, A., Maheri-Sis, N., Mirzaei-Aghsaghali, A., & Baradaran-Hasanzadeh, A. (2010). Comparison of nutritional value of tomato pomace and brewer's grain for ruminants using *in vitro* gas production technique. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5(1), 43-51. <https://doi.org/10.3923/ajava.2010.43.51>
4. Awawdeh, M. S. (2011). Alternative feedstuffs and their effects on performance of Awassi sheep: A review. *Tropical Animal Health and Production*, 43(7), 1297-1309. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9851-z>
5. Bedford, M. R. (2000). Exogenous enzymes in monogastric nutrition their current value and future benefits. *Animal Feed Science and Technology*, 86(1-2), 1-13. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(00\)00155-3](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00155-3)
6. Belibasakis, N. G., Ambatzidis, P., & Tsigogianni, D. (1995). Effects of ensiled wet tomato pomace on milk production, milk composition and blood components of dairy cows. *Agricultural and Food Sciences*, 60, 399-402.
7. Botha, C. J. (2011). The use of fibrolytic enzymes in maize-soya based broiler diets. Doctoral Dissertation, University of Stellenbosch. Stellenbosch, South Africa.

8. Brodowski, D., & Geisman, J. R. (1980). Protein content and amino acid composition of protein of seeds from tomatoes at various stages of ripeness. *Journal of Food Science*, 45(2), 228-229. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb02582.x>
9. Ebeid, H. M., Gawad, R. M. A., & Mahmoud, A. E. M. (2015). Influence of ration containing tomato pomace silage on performance of lactating buffaloes and milk quality. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(1), 14-24. <https://doi.org/10.3923/ajava.2015.14.24>
10. El Boushy, A. R., & Van der Poel, A. F. B. (1994). Poultry feed from waste: Processing and use. Chapman & Hall, London, UK.
11. Fajri, M., Pirmohammadi, R., & Hasanzadeh, S. H. (2011). The effect of different levels of dried tomato pomace in the diet on broiler small intestine histomorphometrical properties. *Publication of Iranian Animal Science*, 90, 61-71. (in Persian)
12. Fondevila, M., Guada, J. A., Gasa, J., & Castrillo, C. (1994). Tomato pomace as a protein supplement for growing lambs. *Small Ruminant Research*, 13, 117-126. [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(94\)90086-8](https://doi.org/10.1016/0921-4488(94)90086-8)
13. Gressley T. F., & Armentano, L. E. (2007). Effects of low rumen-degradable protein or abomasal fructan infusion on diet digestibility and urinary nitrogen excretion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(3), 1340-53 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71621-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71621-1).
14. Mansouri, B., Modir, S. M., & Kiaei, M. M. (2008). Influence of dried tomato pomace as an alternative to wheat bran in maize or wheat based diets, on the performance of laying hens and traits of produced eggs. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 9(4), 341-346. (in Persian)
15. Neshane, N., Abdi Benemar, H., Seifdavati, J., Mirzaei Aghjeh Gheslagh, F., & Ghanbari Erdi, A. (2023). Performance, carcass characteristics, blood parameters, feed intake and digestibility of Moghani and Romanov-Moghani crossbreed fattening lambs fed with different energy levels. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 16(1), 57-67. (in Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/IJASR.2023.82729.1150>
16. Omer, H. A. A., & Abdel-Magid, S. (2015). Incorporation of dried tomato pomace in growing sheep rations. *Global Veterinary*. 14, 01-16. <https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2015.14.01.9256>
17. Periago, M., García-Alonso, J., Jacob, K., Belén Olivares, A., José Bernal, M., Dolores Iniesta, M., & Ros, G. (2009). Bioactive compounds, folates and antioxidant properties of tomatoes (*Lycopersicum esculentum*) during vine ripening. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(8), 694-708. <https://doi.org/10.3109/09637480701833457>
18. Rashidi, A., Hejazi far, M., Kasirian, M. M., & Aghahani, S. (2013). Effects of using diet containing tomato pomace on Shal fattening lamb performance, Pages 394-399 in proc. National Congress of Animal and Poultry Nutrition, Islamic Azad University of Maragheh, Iran. (in Persian)
19. Safamehr, A., Shams Borhan, M., & Shahir, M. (2010). Investigating the effect of different levels of tomato pomace with and without-enzyme in diets based on corn and soybean meal on the performance of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science*, 1, 63-54. (in Persian)
20. Safari, R., Valizadeh, R., Bayat Kohsare, J., Naserian, A., & Tahmasebi, A. (2010). The effect of using rations containing dried or ensiled tomato pomace on the production characteristics of Holstein dairy cows. *Iranian Animal Science Researchs*, 1, 91-99. (in Persian)
21. Saharkhiz Bandefruzi, K., Rezayi, M., & Kazemi Fard, M. (2019). Effect of different levels of tomato powder with and without enzyme addition on performance, blood parameters and antioxidant status of Japanese quails. *Livestock Products Research*, 10(23), 11-21. (in Persian)
22. Valenti, B., Luciano, G., Pauselli, M., Mattioli, S., Biondi, L., Priolo, A., & Lanza, M. (2018). Dried tomato pomace supplementation to reduce lamb concentrate intake: Effects on growth performance and meat quality. *Meat Science*, 145, 63-70. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.009>
23. Wadhwa, M., & Bakshi, M. P. S. (2013). Utilization of fruit and vegetable wastes as livestock feed and as substrates for generation of other value-added products. Rap Publication, 67 pp. Bangkok, Thailand.
24. Ziaei, N., & Molaei, S. (2010). Evaluation of nutrient digestibility of wet tomato pomace ensiled with wheat straw compared to alfalfa hay in Kermani sheep. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(4), 771-773. <https://doi.org/10.3923/javaa.2010.771.773>
25. Yanag, A., Ghanbari, F., Bayat Kohsare, J., & Moslemi Pour, F. (2019). Chemical composition and parameters of gas production of tomato pomace ensiled with sugar beet pomace and bacterial inoculation and the effect on the performance of Moghani fattening lambs. *Pazhouhesh and Sazandegi*, 32(122), 247-262. (in Persian)



Research Article

Vol. 17, No.2, 2025, p. 179-192



Investigating the Impact of Alternating Low-Energy and Protein Diets on Growth Performance, Blood Metabolites, and Small Intestine Morphology in Broiler Chickens

Elahe Soveyzi¹, Ahmad Hassanabadi^{1*} ¹- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran*Corresponding Author's Email: hassanabadi@um.ac.ir

Received: 29-05-2024
Revised: 13-10-2024
Accepted: 06-11-2024
Available Online: 06-11-2024

How to cite this article:

Soveyzi, E., & Hassanabadi, A. (2024). Investigating the impact of alternating low-energy and protein diets on growth performance, blood metabolites, and small intestine morphology in broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(2), 179-192. (in Persian with English abstract)
<http://doi.org/10.22067/IJASR.2024.88294.1199>

Introduction: The poultry industry is a crucial source of protein for human consumption, but nitrogen disposal, a major cause of environmental pollution, has been a significant concern in recent decades (Fasina *et al.*, 2010). Various solutions have been proposed to mitigate environmental pollution from poultry manure, with one of the most practical being the use of diets with lower protein levels. It has been demonstrated that low-energy and protein diets can save costs and reduce nitrogen excretion (Gholami *et al.*, 2015). Phase, intermittent, and selective feeding are among the feeding methods, each offering distinct benefits. These rations not only reduce feed costs but also decrease nitrogen excretion into the environment and minimize metabolic disorders such as ascites. They are particularly recommended for maintaining birds under heat stress conditions (Pope *et al.*, 2004). Recent studies have shown that sequential feeding effectively reduces chick mortality. Intermittent feed restriction in young broilers modifies hormonal status and contributes to a metabolic state that can enhance immune capacity (Savant *et al.*, 2002). This study aims to investigate the effect of alternating low-energy and protein diets with standard diets in broilers, focusing on growth performance, blood metabolites, and small intestine morphology.

Materials and Methods: A total of 360 one-day-old Ross 308 male broilers were divided into six treatment groups, with five replicates per group and 12 birds per replicate. The treatments were as follow: 1) Control Diet: Formulated according to Ross 308 nutrient recommendations and fed throughout the experiment. 2) 5% Reduced Crude Protein (CP) Diet: Fed from day one to the end of the experiment. 3) 7.5 % Reduced CP Diet: Fed from day one to the end of the experiment. 4) 10% Reduced CP Diet: Fed from day one to the end of the experiment. 5) .Alternating Diets 1 and 3: Switched every other day. 6) Alternating Diets 1 and 4: Switched every other day. Chickens had ad libitum access to water and feed. They were provided with 23 hours of light and 1 hour of darkness daily. The initial room temperature was set at 32°C and was gradually reduced by 0.5°C per day until it reached 21°C by day 21, after which it remained constant. The amount of feed consumed in periods (1-10, 11-24, 1-24 days) was measured in each replicate pen. At the age of 24 days, one bird from each pen was slaughtered and dissected to determine the length of the duodenum, jejunum, and ileum. Subsequently, an intestinal section was separated from the jejunum midpoint and histology was performed on it. At the age of 24 days, one bird from each experimental unit was randomly selected and blood was collected from the wing vein. The resulting blood was transferred to test tubes. The samples were kept at room temperature for 30 minutes, then centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes, and the serum was separated from the blood. Serum samples 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.2024.88294.1199>

poured into microtubes and kept at -20°C until analysis by an auto analyzer (Bio Systems S.A. – Costa Brava 30,08030 Barcelona, Spain). Serum contents were measured in terms of cholesterol, triglyceride, LDL-C, HDL-C, and blood uric acid by auto analyzer. The data obtained from this experiment were analyzed using SAS statistical software and the General Linear Models (GLM) procedure, and the treatment means were compared using Duncan's new multiple range test at $p < 0.05$.

Results and Discussion: The results showed no significant differences between treatments in feed conversion ratio and daily feed intake ($P > 0.05$). Weight gain from days 1 to 24 also showed no significant differences ($P > 0.05$). Treatments did not significantly affect carcass traits, jejunum villi width, or crypt depth ($P > 0.05$). However, villus height in treatment 3 was higher than in other treatments and significantly higher than control. Muscle layer thickness in treatment 2 was significantly greater than in other treatments and the control ($P < 0.05$). Blood biochemical parameters were not significantly different among treatments.

Conclusion: Overall, the treatment with 5% reduced crude protein, improved small intestine morphology. Reducing crude protein by up to 10% and alternating it with the control diet did not negatively affect growth, blood metabolites, or jejunum morphology. Since growth performance was unaffected, all treatments are viable options.

Keywords: Blood metabolites, Broiler, Low energy and protein diets, Performance

بررسی تأثیر تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی و پروتئین بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خون و ریخت شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی

الهه سوزی^۱، احمد حسن آبادی^{۱*}

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۱۶

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی-پروتئین و توصیه شده بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خون و ریخت‌شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی انجام شد. تعداد ۳۶۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه نر سویه تجاری راس ۳۰۸ از سن یک‌روزگی در قالب طرح کاملاً تصادفی در شش تیمار، پنج تکرار و ۱۲ قطعه جوجه یک‌روزه در هر تکرار در جایگاه‌های بستری قرار گرفتند. تیمارهای آزمایش شامل ۱- شاهد: جیره براساس توصیه سویه راس ۳۰۸؛ جیره‌های شماره ۲، ۳ و ۴: به‌ترتیب با پنج، ۷/۵ و ۱۰ درصد کاهش پروتئین خام و انرژی جیره؛ ۵- تغذیه جیره شاهد و شماره سه به‌صورت یک روز در میان؛ ۶- تغذیه جیره شاهد و جیره شماره چهار؛ به‌صورت یک روز در میان تا انتهای دوره رشد بودند. نسبت انرژی به پروتئین خام در تمام تیمارها یکسان بود. تیمارهای غذایی تأثیر معنی-داری بر عملکرد رشد، صفات لاشه و شاخص‌های بیوشیمیایی خون نداشتند. جیره‌هایی که پروتئین خام آن‌ها پنج و ۷/۵ درصد کاهش درصد کاهش یافته بود و به‌صورت یک روز در میان به‌ترتیب با جیره‌های شاهد و ۱۰ درصد کاهش پروتئین تغذیه شدند، باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع پرزهای ژژنوم در مقایسه با شاهد شدند ($P < 0.05$). جیره‌های با پنج، ۷/۵ و ۱۰ درصد کاهش در پروتئین خام باعث افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) ضخامت لایه ماهیچه‌ای ژژنوم در مقایسه با شاهد شدند. نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ژژنوم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های پنج، ۷/۵ و ۱۰ درصد کاهش در پروتئین خام به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. این نسبت در تیمار تغذیه یک روز در میان جیره شاهد با جیره ۷/۵ درصد کاهش پروتئین خام به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود. به‌طور کلی، کاهش پروتئین خام جیره تا ۱۰ درصد مقدار توصیه شده و تغذیه یک روز در میان آن با جیره شاهد تأثیر منفی بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خون و شاخص‌های بافت‌شناسی ژژنوم نداشت.

واژه‌های کلیدی: جوجه گوشتی، جیره‌های کم انرژی-پروتئین، عملکرد، متابولیت‌های خون

مقدمه

های اخیر مورد توجه قرار گرفته‌اند (Gholami et al., 2015; Fasina et al., 2010). راهکارهای مختلفی برای کاهش آلودگی محیط زیست ناشی از کود دفعی طیور ارائه شده است. یکی از کاربردی‌ترین این روش‌ها، استفاده از جیره‌هایی با سطوح پروتئین کمتر است. تحقیقات نشان داده است که استفاده از جیره‌های کم پروتئین باعث صرفه‌جویی در هزینه و کاهش دفع نیتروژن می‌شود (Khajali & Wideman, 2010).

برآورد دقیق احتیاجات اسیدهای آمینه بسیار حیاتی است و عوامل متعددی، از جمله عوامل تغذیه‌ای (مانند تراکم انرژی قابل متابولیسم که از طریق تغییر در مصرف خوراک، سطح پروتئین و حضور بازدارنده‌های پروتئاز تحت تأثیر قرار می‌گیرد)، عوامل محیطی و عوامل فیزیولوژیکی، می‌توانند بر میزان نیاز طیور به اسید آمینه تأثیرگذار باشند. به‌عنوان مثال، گزارش شده است که یک درصد کاهش پروتئین خام جیره منجر به هفت درصد کاهش در دفع

در صنعت پرورش طیور در حال توسعه امروزی، اقدامات مدیریتی و برنامه‌های تغذیه تجاری از جمله مسائلی هستند که مورد توجه متخصصان تغذیه طیور قرار دارند. با توجه به رقابتی بودن این صنعت، یافتن اقتصادی‌ترین روش تولید بسیار مهم است و پیشرفت‌های اندک در روش‌های تولید، با توجه به حجم زیاد پرورش طیور، می‌تواند منجر به صرفه‌جویی قابل توجهی شود (Pope & Emmert, 2002). صنعت پرورش طیور به‌عنوان یک منبع تولید پروتئین از اهمیت بسیاری برخوردار است؛ اما هزینه خوراک و دفع نیتروژن به‌عنوان یکی از منابع آلاینده محیط زیست، مسائل مهمی هستند که در دهه-

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*)- نویسنده مسئول: (Email: hassanabadi@um.ac.ir)

متعدد در طول دوره رشد استفاده شود. گزارش شده است که بیشترین مزیت تغذیه چند مرحله‌ای، بهبود ضریب تبدیل خوراک و کاهش هزینه‌های مربوط به خوراک است (Pope & Emmert, 2002). پس از مصرف پروتئین، اسیدهای آمینه وارد جریان خون می‌شوند و می‌توانند حدود چهار ساعت در گردش خون باقی بمانند. به نظر می‌رسد که استفاده از ذخائر اسیدهای آمینه ناشی از تغذیه جیره پر پروتئین قبل از استفاده از جیره کم پروتئین، می‌تواند مزیتی داشته باشد (Leeson & Summers, 2001).

اخیراً نشان داده شده است که تغذیه متوالی می‌تواند در کاهش مرگ‌ومیر جوجه‌های گوشتی مؤثر باشد. محدودیت متناوب خوراک در جوجه‌های گوشتی جوان وضعیت هورمونی را تغییر داده و به وضعیت متابولیکی کمک می‌کند که می‌تواند توانایی ایمنی بدن را افزایش دهد (Sauvant et al., 2002). با توجه به مطالعات صورت گرفته، هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی-پروتئین و توصیه شده بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خون و ریخت‌شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور انجام این تحقیق، ۳۶۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ در سن یک‌روزگی با میانگین وزنی ۴۰ گرم توزین و در شش تیمار، پنج تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در تکرار در ۳۰ جایگاه بستری (پن) با ابعاد به ابعاد ۱۲۰ × ۱۰۰ × ۱۰۰ سانتی‌متر (به ترتیب، طول، عرض و ارتفاع) توزیع شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- شاهد: جیره براساس توصیه کاتالوگ سویه راس ۳۰۸ سال ۲۰۱۷؛ ۲- جیره با پنج درصد کاهش پروتئین خام و انرژی؛ ۳- جیره با ۷/۵ درصد کاهش پروتئین خام و انرژی؛ ۴- جیره با ۱۰ درصد کاهش پروتئین خام و انرژی؛ ۵- جیره شاهد و شماره سه به‌صورت یک روز در میان؛ ۶- جیره شاهد و شماره چهار به‌صورت یک روز در میان تا انتهای دوره رشد (۲۴ روزگی) بودند. جیره‌ها با استفاده از نرم‌افزار UFFDA تنظیم شدند. نسبت انرژی به پروتئین خام در تمام تیمارها یکسان بود. ترکیب و مواد مغذی جیره‌های یک تا ۱۰ روزگی و ۱۱ تا ۲۴ روزگی به‌ترتیب در جداول شماره ۱ و ۲ گزارش شده است.

در تمام مدت آزمایش، جوجه‌ها به‌طور آزاد به آب و خوراک دسترسی داشتند. در واحدهای آزمایشی که دو نوع جیره را به‌صورت یک روز در میان دریافت می‌کردند، دو عدد دانخوری با جیره‌های مربوطه در نظر گرفته شد و در پایان ۲۴ ساعت، با دانخوری دیگر تعویض می‌شد. برنامه نوردی یک ساعت تاریکی و ۲۳ ساعت روشنایی در مدت پرورش برای جوجه‌ها فراهم شد. دمای اولیه سالن ۳۲ درجه سانتی‌گراد بود که براساس راهنمای شرکت راس به‌ازای هر روز ۰/۵ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت تا در سن ۲۱ روزگی به ۲۱

نیترژن می‌شود. همچنین، کاهش دو درصد پروتئین خام جیره می‌تواند منجر به ۲۰ درصد کاهش در دفع نیترژن و آمونیاک شود (Bregendahl et al., 2002). این روش، علاوه بر کاهش رطوبت بستر باعث کاهش معنی‌دار نیترژن در بستر می‌شود. عبور پروتئین هضم نشده از روده، به‌عنوان منبع مواد مغذی برای تکثیر جمعیت میکروبی منجر به کاهش عوامل پاتوژن می‌شود (Wilkie et al., 2005). جیره‌های جوجه‌های گوشتی با کمترین میزان پروتئین خام می‌توانند نیاز به کنجاله سویا را در صنعت پرورش طیور کاهش دهند (Selle et al., 2020). برگندال و همکاران (Bregendahl et al., 2002) گزارش نمودند که استفاده از اسیدهای آمینه غیر ضروری یا تری آمونیوم سیترات به‌عنوان منبع نیترژن می‌تواند از کاهش عملکرد جوجه‌های گوشتی جلوگیری کند. بنابراین، در جیره‌های کم پروتئین که مکمل اسیدهای آمینه غیر ضروری به آن‌ها افزوده می‌شود، اثرات منفی کاهش عملکرد جوجه‌های گوشتی کاهش می‌یابد. در پژوهشی با بررسی تأثیر کاهش اولیه انرژی و پروتئین بر رشد و متابولیت‌های خون در سن هشت تا ۱۴ روزگی مشخص شد که کاهش پروتئین جیره منجر به کاهش عملکرد و بازده خوراک می‌شود. از روز ۱۴ تا ۴۲، پرندگانی که قبلاً با جیره کم پروتئین و سطح انرژی پایین‌تری تغذیه شده بودند، افزایش وزن یکسانی را نشان دادند. میزان نیترژن اوره خون در پرندگانی که با جیره‌های کم پروتئین تغذیه شدند، کمتر بود، درحالی‌که کاهش انرژی منجر به کاهش غلظت گلوکز در پلاسما، چربی شکم و وزن روده شد (Yang et al., 2009). وجود پروتئین کافی در جیره، رشد و عملکرد تولیدی در طیور را تنظیم می‌کند و نقش مهمی در رشد و نمو دستگاه گوارش آن‌ها دارد. تحقیقات نشان داده است که رشد و توسعه ریخت‌شناسی پرزهای مخاط روده به کمیت و کیفیت مواد مغذی هضم شده به‌ویژه پروتئین بستگی دارد (Laudadio et al., 2012). از طرف دیگر، وجود پروتئین زیاد در جیره باعث ایجاد مشکلات فیزیولوژیکی می‌شود (Leclercq, 1998).

تغذیه مرحله‌ای، متناوب و انتخابی از جمله شیوه‌های تغذیه‌ای هستند که هرکدام فواید خاص خود را دارند. این نوع جیره‌ها، علاوه بر کاهش هزینه خوراک، منجر به کاهش دفع نیترژن به محیط و کاهش اختلالات متابولیکی مثل آسیب می‌شوند، و برای نگهداری پرندگان در موقعیت‌های تحت تنش گرمایی بسیار توصیه شده‌اند (Pope et al., 2004). استفاده از برنامه تغذیه‌ای مرحله‌ای یک نوع محدودیت کیفی خوراک محسوب می‌شود و پژوهشگران معتقدند که محدودیت خوراک باعث کاهش هزینه‌های نگهداری بدن شده که خود جنبه اقتصادی این‌گونه پژوهش‌ها را تأیید می‌کند. اگر جیره‌ای به‌مدت طولانی استفاده شود، پرند ممکن است با کمبود یا ازدیاد مواد مغذی مواجه شود. برای پیشگیری از این مشکل، بایستی از جیره‌های

درجه سانتی‌گراد رسید و از آن پس ثابت ماند.

مقدار خوراک مصرفی در دوره‌های ۱۰-۱ و ۲۴-۱۱ روزگی در هر تکرار اندازه‌گیری شد. به این صورت که دان باقی‌مانده در هر دانخوری از مقدار دان ریخته شده در طول دوره برای آن قفس کسر و مقدار خوراک مصرفی دوره محاسبه شد. با توجه به اینکه در برخی تکرارها در طول دوره تلفات وجود داشت، محاسبه دقیق خوراک مصرفی براساس روز جوجه در هر قفس از جمع تعداد روزهای زنده‌مانی جوجه‌های تلف شده و تعداد روزهای دوره ضرب در تعداد مرغ زنده در پایان دوره، انجام شد. در نهایت، مقدار خوراک مصرفی از تقسیم تفاضل اعداد میزان خوراک عرضه شده در طول دوره (گرم) و میزان خوراک باقی‌مانده در پایان دوره (گرم) و سپس تقسیم بر روز مرغ محاسبه شد. میانگین افزایش وزن جوجه‌ها برحسب گرم به‌ازای هر پرنده در روز و ضریب تبدیل خوراک برای هر گروه از جوجه‌ها در انتهای هر دوره محاسبه شد.

در سن ۲۴ روزگی، یک قطعه جوجه از هر تکرار با وزن مشابه با میانگین گروه مربوطه انتخاب شد، از محل مفصل مهره اول و دوم گردن ذبح شد و تفکیک لاشه به عمل آمد. پس از تفکیک لاشه، وزن نسبی اندام‌ها و لاشه قابل مصرف نسبت به وزن زنده جوجه اندازه‌گیری شد.

در سن ۲۴ روزگی، یک قطعه پرنده از هر تکرار به‌منظور تهیه مقطع روده‌ای کشتار و نمونه ۱/۵ سانتی‌متری از نقطه میانی ژژنوم جدا گردید و بافت‌شناسی روی آن انجام شد. نمونه‌های بافت ژژنوم برای بررسی‌های ریخت‌شناسی در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. نمونه‌ها آبگیری و پاکسازی شده در پارافین قرار داده شدند. مقاطع متناوب (پنج میکرون) از هر نمونه بریده شد و روی اسلایدهای شیشه‌ای نصب گردید و با اسید پریودیک شیف (PAS) و با استفاده از روش رنگ‌آمیزی آلسین بلو (ALB) رنگ‌آمیزی شد. سلول‌های گابلت تولیدکننده موسین خشی به‌وسیله رنگ‌آمیزی با معرف PAS تشخیص داده شدند. همچنین سلول‌های گابلت تولیدکننده موسین اسیدی توسط رنگ‌آمیزی با معرف ALB تشخیص داده شدند.

پرزا و سلول‌های گابلت به‌روش ارائه شده توسط فاسینا و همکاران (Fasina et al., 2010) با استفاده از میکروسکوپ نوری عکس‌برداری شدند. پارامترهای ریخت‌شناسی پرزهای ژژنوم در بزرگنمایی $\times 40$ و اندازه‌گیری‌های سلول‌های گابلت در بزرگ‌نمایی $\times 400$ انجام گرفت. پارامترهای ریخت‌شناسی ثبت شده شامل ارتفاع پرز (از نوک تا قاعده هر پرز)، عرض نقطه میانی پرز، مساحت پرز (محاسبه شده با ضرب ارتفاع پرز در عرض نقطه میانی)، عمق کریپت (از پایه تا دهانه آن) و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت (محاسبه شده با تقسیم ارتفاع پرز به عمق کریپت)، تراکم سلول‌های گابلت به‌عنوان

تعداد سلول‌های گابلت در هر واحد از ارتفاع پرز و انواع آن‌ها مطابق با روش کار فاسینا و همکاران (Fasina et al., 2010) بود. همچنین ضخامت لایه ماهیچه‌ای و سروزی و موکوزی اندازه‌گیری شد. در سن ۲۴ روزگی از هر واحد آزمایشی یک قطعه جوجه‌گوشتی به‌صورت تصادفی انتخاب شده و از ورید بال آن‌ها خون‌گیری به عمل آمد و خون حاصله به لوله‌های آزمایش انتقال داده شد. نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند، سپس سانتریفوژ گردید (g ۲۵۱۶؛ پانزده دقیقه؛ ۱۰ درجه سانتی‌گراد) و سرم از خون جدا شد. نمونه‌های سرم در میکروتیوب دو میلی‌لیتری ریخته و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز توسط دستگاه اتوآنالایزر Bio Systems S. A. – Costa Brava 30,08030 Barcelona, Spain) در یخچال نگهداری شدند. محتویات سرم از نظر کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL-C، HDL-C و اسید اوریک خون توسط دستگاه اتوآنالایزر اندازه‌گیری شد (Yang et al., 2009).

مدل آماری

داده‌های به‌دست آمده از این آزمایش با استفاده از روش مدل‌های خطی عمومی (GLM) نرم‌افزار آماری (SAS, 2014)، نسخه ۹/۴ در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه آماری قرار گرفتند (معادله ۱) و میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

معادله (۱): مدل آماری طرح $Y_{ijk} = \mu + T_i + rep_j(T)_i + e_{ijk}$ که در آن، Y_{ijk} : متغیر وابسته، μ : میانگین کل، T_i : اثر تیمار، rep_j : اثر تکرار درون هر تیمار و e_{ijk} : خطای اندازه‌گیری هستند.

نتایج و بحث

عملکرد رشد

نتایج مربوط به وزن بدن جوجه‌های گوشتی، افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل خوراک از سن یک تا ۲۴ روزگی در جداول ۳، ۴ و ۵ گزارش شده است. تیمارهای آزمایشی در هیچ یک از این دوره‌ها (سنین ۱ تا ۱۰، ۱۱ تا ۲۴ و ۲۴ تا ۲۴ روزگی) اثر معنی‌داری بر شاخص‌های عملکرد رشد جوجه‌ها نداشتند ($P > 0.05$).

ثابت شده است که مقدار انرژی و پروتئین در جیره‌ها نقش مهمی در عملکرد جوجه‌های گوشتی دارد (Aftab et al., 2006). در پژوهشی مشخص شد که کاهش محتوای مواد مغذی جیره از سن هشت تا ۱۴ روزگی باعث کاهش نرخ رشد شد.

جدول ۱- ترکیب و مواد مغذی جیره‌های آزمایش در دوره آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)

Table 1- Ingredients and nutrient composition of experimental diets in the starter phase (1 to 10 d)

اقلام جیره (%) Ingredients (%)	شاهد Control	۵ درصد کاهش پروتئین 5% protein reduction	۷/۵ درصد کاهش پروتئین 7.5% protein reduction	۱۰ درصد کاهش پروتئین 10% protein reduction
ذرت Corn	49.72	57.91	58.07	56.50
کنجاله سویا (۴۴٪) Soybean meal (CP, 44%)	41.39	36.79	35.26	34.10
روغن سویا Soy oil	4.30	0.57	—	—
سنگ آهک Limestone	1.31	1.03	1.29	1.28
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.54	1.57	1.59	1.63
نمک طعام Common salt	0.30	0.30	0.30	0.30
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	0.10	0.10	0.10	0.10
مکمل معدنی و ویتامینه Mineral-vitamin premix ¹	0.5	0.50	0.5	0.5
ال- لیزین هیدروکلرید L-lysine hydrochloride	0.29	0.42	0.48	0.52
دی ال- متیونین DL-methionine	0.40	0.44	0.46	0.48
ال- ترئونین L-threonine	0.05	0.10	0.13	0.15
ماسه Sand	0.10	0.27	1.82	4.44
مواد مغذی محاسبه شده (%) Calculated nutrients (%)				
انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg) Metabolizable energy (kcal/kg)	3000	2850	2775	2700
پروتئین خام Crude protein	23.0	21.85	21.27	20.70
کلسیم Calcium	0.96	0.96	0.96	0.96
فسفر قابل دسترس Available phosphorus	0.48	0.48	0.48	0.48
سدیم Sodium	0.16	0.16	0.16	0.16
متیونین Methionine	0.75	0.77	0.78	0.79
متیونین + سیستین Methionine + cystine	1.08	1.08	1.08	1.08
لیزین Lysine	1.44	1.44	1.44	1.44
ترئونین Threonine	0.97	0.97	0.97	0.97

^۱ مکمل ویتامینه و مواد معدنی به‌ازای هر کیلوگرم جیره مواد مغذی زیر را تأمین می‌کرد: ویتامین A، ۸۸۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله کلسیفرول، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۱۱ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K₃، ۲/۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B₁₂، ۰/۰۱ میلی‌گرم؛ تیامین، ۱/۵ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین، ۴ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۳۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۰/۵ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، ۲/۵ میلی‌گرم؛ اسید پنتوتنیک، هشت میلی‌گرم؛ کولین کلراید، ۵۰ میلی‌گرم؛ بتائین، ۱۹۰ میلی‌گرم؛ روی، ۶۵ میلی‌گرم؛ منگنز، ۷۵ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۲ میلی‌گرم؛ ید، ۰/۹ میلی‌گرم؛ مس، ۶ میلی‌گرم؛ آهن، ۷۵ میلی‌گرم.

¹ The vitamin and mineral supplement provided the followings per kilogram of diet: vitamin A, 8800 international units; calciferol bag, 2500 international units; vitamin E, 11 international units; vitamin K₃, 2.2 mg; vitamin B₁₂, 0.01 mg; thiamine, 1.5 mg; riboflavin, 4 milligrams; niacin, 35 mg; Folic acid, 0.5 mg; Biotin, 0.15 mg; pyridoxine, 2.5 mg; pantothenic acid, 8 mg; choline chloride, 50 mg; betaine, 190 mg; zinc, 65 mg; manganese, 75 mg; selenium, 0.2 mg; iodine, 0.9 mg; copper, 6 mg; iron, 75 mg.

جدول ۲- ترکیب و مواد مغذی جیره‌های دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)

Table 2- Ingredients and nutrient composition of experimental diets in the grower phase (11 to 24 d)

اقلام جیره (%) Ingredients (%)	شاهد Control	۵ درصد کاهش پروتئین 5% protein reduction	۷/۵ درصد کاهش پروتئین 7.5% protein reduction	۱۰ درصد کاهش پروتئین 10% protein reduction
ذرت Corn	33.87	37.23	30.62	24.29
کنجاله سویا (۴۴٪) Soybean meal (CP, 44%)	40.33	36.65	35.94	35.23
گندم Wheat	15.0	18.49	26.64	34.78
روغن سویا Soy oil	7.0	3.67	2.78	1.78
سنگ آهک Limestone	1.26	1.27	1.29	1.32
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.26	1.26	1.24	1.20
نمک طعام Common salt	0.29	0.29	0.29	0.28
سدیم بیکربنات Sodium bicarbonate	0.10	0.10	0.10	0.10
مکمل معدنی و ویتامینه ^۱ Mineral-vitamin premix ¹	0.5	0.5	0.5	0.5
ال- لیزین هیدروکلرید L-lysine hydrochloride	0.08	0.18	0.17	0.16
دی ال- متیونین DL-methionine	0.31	0.34	0.33	0.33
ال- ترئونین L-threonine	-	0.02	0.10	0.03
مواد مغذی محاسبه شده (%) Calculated nutrients (%)				
انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg) Metabolizable energy (kcal/kg)	3100	2945	2868	2790
پروتئین خام Crude protein	21.5	20.43	19.89	19.35
کلسیم Calcium	0.87	0.87	0.87	0.87
فسفر قابل دسترس Available phosphorus	0.435	0.435	0.435	0.435
سدیم Sodium	0.16	0.16	0.16	0.16
متیونین Methionine	0.65	0.66	0.66	0.65
متیونین + سیستین Methionine + cystine	0.99	0.99	0.99	0.99
لیزین Lysine	1.29	1.29	1.29	1.29
ترئونین Threonine	0.89	0.88	0.88	0.88

^۱ مکمل ویتامینه و مواد معدنی مواد زیر را در هر کیلوگرم از جیره تأمین می‌کرد: ویتامین A، ۸۸۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله کلسیفرول، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۸۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K₃، ۲/۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B₁₂، ۰/۰۱ میلی‌گرم؛ تیامین، ۱/۵ میلی‌گرم؛ ریوفلاوین؛ ۴ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۳۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۰/۵ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ پیرودوکسین، ۲/۵ میلی‌گرم؛ اسید پنتوتنیک، هشت میلی‌گرم؛ کولین کلراید، ۵۰ میلی‌گرم بتائین، ۱۹۰ میلی‌گرم؛ روی، ۶۵ میلی‌گرم؛ منگنز، ۷۵ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۲ میلی‌گرم؛ ید، ۰/۹ میلی‌گرم؛ مس، شش میلی‌گرم؛ آهن، ۷۵ میلی‌گرم

¹ Supplied per kg of diet: vitamin A as acetate, 8800 IU; cholecalciferol, 2500 IU; vitamin E (as dl- α tocopherol) 80 IU, vitamin K₃, 2.2 mg; Vitamin B₁₂, 0.01 mg, thiamine, 1.5 mg; Riboflavin, 4 mg; Niacin 35 mg, folic acid 0.5 mg; Biotin, 0.15 mg; pyridoxine 2.5 mg; pantothenate, 8 mg; choline chloride, 50 mg; Betaine 190 mg; Zinc, 65 mg; magnesium, 75 mg; selenium, 0.2 mg; iodide, 0.9 mg; Copper, 6 mg; Iron, 75 mg

هر دوره پرورش و در کل دوره آزمایش، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک بهبود یافتند. در عین حال، میزان خوراک مصرفی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر سطح پروتئین جیره قرار نگرفت (Golian *et al.*, 2010). در نتیجه مشخص شد که تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره‌های کم پروتئین بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تأثیر منفی می‌گذارد. با این حال، کاهش پروتئین خام جیره باعث بهبود زنده‌مانی جوجه‌های گوشتی شد (Awad *et al.*, 2014).

وزن اجزای لاشه

نتایج حاصل از تجزیه لاشه جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی در جدول ۶ گزارش شده است. به‌طور کلی، تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره‌های مختلف تأثیر معنی‌داری بر صفات لاشه (وزن نسبی اندام‌هایی مثل سینه، ران‌ها، پشت، بال‌ها، قلب، کبد و لاشه قابل مصرف) نداشت ($P > 0.05$).

با این حال، رشد پرنده‌گانی که قبلاً با جیره کم پروتئین به تعویق افتاده بود را می‌توان با تغذیه مجدد با جیره غنی از پروتئین جبران کرد. این ممکن است به دلیل درجه نسبتاً کمتری از کاهش مواد مغذی در طول دوره آغازین پرنده‌گان باشد. از ۱۵ تا ۴۲ روزگی پرنده‌گان تغذیه شده با جیره کم پروتئین نسبت به پرنده‌گان تغذیه شده با جیره معمولی افزایش وزن بیشتری داشتند، اما از نظر خوراک مصرفی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. اما میزان خوراک جذب شده در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. در هر دو گروه، بهبود ضریب تبدیل خوراک و به‌طور کلی، بهبود عملکرد مشاهده شد (Yang *et al.*, 2009). نتایج برخی از مطالعات نیز نشان داده است که با تغذیه جیره‌های کم پروتئین، افزایش وزن و راندمان غذایی جوجه‌های گوشتی کاهش یافته است (Nukreaw *et al.*, 2011). همچنین پژوهشی به منظور بررسی تأثیر سطح انرژی (۲۹۰۰، ۳۰۰۰، ۳۱۰۰ و ۳۲۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم) و سطح پروتئین خام جیره (۱۷، ۲۰، ۲۳ و ۲۶ درصد) بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش انرژی و پروتئین جام جیره در

جدول ۳- تأثیر تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی-پروتئین و توصیه شده بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در سن ۱۰-۱ روزگی

Table 3- The effect of daily switching of low energy and protein and standard diets on the growth performance of broiler chicks during 1-10 d

تیمارها Treatments	وزن بدن ۱۰ روزگی (گرم/پرنده) 10-day body weight (g/bird)	افزایش وزن روزانه (گرم/پرنده/روز) Weight gain (g/bird/d)	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/bird/d)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio
شاهد Control	148.5	11.9	15.9	1.34
کاهش ۵٪ CP 5% reduced CP	162.7	13.6	15.8	1.16
کاهش ۷٪/۵ CP 7.5% reduced CP	149.2	12.1	17.4	1.44
کاهش ۱۰٪ CP 10% reduced CP	163.5	13.7	17.5	1.28
تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۷٪/۵ CP Daily switching of control diet and 7.5% reduced CP	158.2	13.2	16.5	1.25
تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۱۰٪ CP Daily alternate feeding of control and 10% CP reduction diets	155.8	12.7	15.7	1.24
خطای معیار میانگین‌ها SEM	7.90	1.77	1.10	0.83
احتمال معنی‌داری P-value	0.61	0.53	0.38	0.42

جدول ۴- تأثیر تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی-پروتئین و توصیه شده بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در سن ۱۱-۲۴ روزگی

Table 4- The effect of daily switching of low energy and protein and standard diets on the growth performance of broiler chicks during 11-24 d

تیمارها Treatments	وزن بدن ۲۴ روزگی (گرم/پرند) 24-d body weight (g/bird)	افزایش وزن روزانه (گرم/پرند/روز) Weight gain (g/bird/d)	مصرف خوراک (گرم/پرند/روز) Feed intake (g/bird/d)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio
شاهد Control	635.1	31.9	52.7	1.65
۵٪ کاهش CP 5% reduced CP	696.9	35.3	51.8	1.47
۷٪/۵٪ کاهش CP 7.5% reduced CP	642.8	32.4	58.1	1.79
۱۰٪ کاهش CP 10% reduced CP	680.9	34.1	51.4	1.51
تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۷٪/۵٪ کاهش CP Daily switching of control diet and 7.5% reduced CP	657.4	32.8	52.8	1.61
تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۱۰٪ کاهش CP Daily switching of control diet and 10% reduced CP	669.0	33.8	52.0	1.54
خطای معیار میانگین‌ها SEM	45.7	2.10	4.96	0.11
احتمال معنی‌داری P-value	0.90	0.90	0.15	0.29

جدول ۵- تأثیر تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی-پروتئین و توصیه شده بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در سن ۱-۲۴ روزگی

Table 5- The effect of daily switching of low energy and protein and standard diets on the growth performance of broiler chicks during 1-24 d

تیمارها Treatments	افزایش وزن روزانه (گرم/پرند/روز) Weight gain (g/bird/d)	مصرف خوراک (گرم/پرند/روز) Feed intake (g/bird/d)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio
شاهد Control	23.57	37.37	1.59
۵٪ کاهش CP 5% reduced CP	26.26	36.80	1.40
۷٪/۵٪ کاهش CP 7.5% reduced CP	23.94	41.14	1.72
۱۰٪ کاهش CP 10% reduced CP	25.60	37.28	1.46
تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۷٪/۵٪ کاهش CP Daily switching of control diet and 7.5% reduced CP	24.63	37.68	1.53
تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۱۰٪ کاهش CP Daily switching of control diet and 10% reduced CP	25.01	36.88	1.47
خطای معیار میانگین‌ها SEM	1.85	4.88	0.15
احتمال معنی‌داری P-value	0.900	0.850	0.193

در پژوهشی تأثیر جیره کم پروتئین بر جوجه‌های گوشتی بررسی شد. دو سطح پروتئین در جیره‌ها شامل ۱۹/۳ درصد در مقابل ۱۸/۸

نتایج این مطالعات با نتایج ما به دلیل تفاوت در تیمارها، روش انجام آزمایش و یا تأثیر انرژی و پروتئین به طور همزمان باشد. همچنین در برخی مطالعات، کاهش قابل توجهی در خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی مشاهده شد (Zarate et al., 2003). با توجه به نتایج حاصل از مطالعه‌ای که تأثیر سه سطح مختلف پروتئین (۱۰ درصد پایین‌تر، مطابق و ۱۰ درصد بالاتر از سطح توصیه شده سویه تجاری راس ۳۰۸) بر وزن اجزاء لاشه و ترکیب آن در جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفته شد، مشخص شد که سطوح مختلف پروتئین تأثیر معنی‌داری بر وزن ران، سینه و کبد ندارد، اما به طور معنی‌داری چربی حفره شکمی را تحت تأثیر قرار داد. سطح پروتئین ۱۰ درصد بالاتر از پیشنهاد انجمن ملی تحقیقات (۱۹۹۴) در جیره پایانی، موجب بهبود عملکرد تولیدی و بازده اقتصادی جوجه‌های گوشتی سویه تجاری راس ۳۰۸ می‌شود (Zamani et al., 2012).

درصد بود. با توجه به نتایج، فراسنجه‌های مورد مطالعه لاشه از جمله قلب، سنگدان، سینه، ران و درصد چربی شکمی، تحت تأثیر سطح پروتئین جیره قرار نگرفتند. در عین حال، با کاهش پروتئین جیره، درصد کبد جوجه‌های گوشتی افزایش یافت (Rehman et al., 2017). در مطالعات دیگر نیز جوجه‌های گوشتی که از مقدار کم پروتئین تغذیه می‌کردند، وزن کبد بیشتری نسبت به جیره‌های با سطح بالا داشتند (Golian et al., 2010). تفاوتی در عملکرد لاشه، عملکرد گوشت سینه و چربی شکمی در جوجه‌های گوشتی با جیره‌های کم پروتئین گزارش نشده است (Rada et al., 2013) که موافق با نتایج گزارش شده در این تحقیق بود. با این حال، در برخی مطالعات، تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره‌هایی با غلظت کمتری از پروتئین خام و انرژی قابل سوخت‌وساز بر عملکرد و کیفیت لاشه تأثیر گذاشت (Dozier & Moran, 2002). ممکن است اختلاف

جدول ۶- تأثیر تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی-پروتئین و توصیه شده بر اجزاء لاشه (درصد وزن زنده) جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی

Table 6- The effect of daily switching of low energy and protein and standard diets on the carcass parts (% of live weight) of broiler chicks at d 24

تیمارها Treatments	سینه Breast	ران‌ها Thighs	پشت Back	بال‌ها Wings	قلب Heart	کبد Liver	لاشه ^۱ Carcass ¹
شاهد Control	23.48	18.04	15.14	9.85	0.688	2.94	66.51
کاهش ۵٪ CP 5% reduced CP	29.11	15.26	13.66	8.80	0.548	2.70	65.85
کاهش ۷.۵٪ CP 7.5% reduced CP	23.41	17.00	15.06	10.38	0.573	3.39	65.83
کاهش ۱۰٪ CP 10% reduced CP	24.51	16.76	15.44	8.23	0.653	2.87	64.95
تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۷.۵٪ کاهش CP Daily switching of control diet and 7.5% reduced CP	20.98	15.73	13.93	8.69	0.603	2.855	59.37
تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۱۰٪ کاهش CP Daily switching of control diet and 10% reduced CP	21.32	16.42	15.49	9.06	0.643	3.17	62.28
خطای معیار میانگین‌ها SEM	0.453	0.275	0.756	0.402	0.550	0.385	0.145
احتمال معنی‌داری P-value	1.25	0.85	1.08	0.77	0.05	0.08	0.37

^۱ لاشه بدون پر و پوست

¹carcasses without feathers and skin

ریخت‌شناسی روده

خام و تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۷/۵ درصد کاهش پروتئین خام، تفاوت معنی‌داری با شاهد از نظر ارتفاع پرزها نداشتند. از نظر ضخامت لایه ماهیچه‌ای ناحیه ژژنوم روده کوچک، جیره‌های با پنج، ۷/۵ و ۱۰ درصد کاهش در پروتئین خام باعث افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) ضخامت لایه ماهیچه‌ای در مقایسه با شاهد شدند. اما تغذیه یک روز در میان جیره شاهد با جیره‌های ۷/۵ و ۱۰ درصد کاهش پروتئین خام، تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشتند. نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ژژنوم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های پنج، ۷/۵ و ۱۰ درصد کاهش در پروتئین خام به‌طور

نتایج حاصل از تأثیر تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی - پروتئین و توصیه‌شده بر ریخت‌شناسی ژژنوم روده کوچک جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی در جدول ۷ گزارش شده است. با توجه به نتایج آزمایش حاضر، جیره‌های با پنج و ۷/۵ درصد کاهش در پروتئین خام و تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۱۰ درصد کاهش پروتئین خام باعث افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) ارتفاع پرزهای ژژنوم در مقایسه با شاهد شدند، اما تغذیه جیره با ۱۰ درصد کاهش پروتئین

سطوح مختلف پروتئین و ترئونین بر ریخت‌شناسی روده مورد بررسی قرار گرفت، مشخص شد که کاهش غلظت پروتئین جیره باعث کاهش قابل توجهی در ارتفاع پرز می‌شود که با نتایج این آزمایش مطابقت ندارد. همچنین، برخلاف آزمایش حاضر، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت (Abbasi et al., 2014). از طرف دیگر، بیشترین مصرف کنجاله سویا در شاهد بود و کمترین ارتفاع پرزهای روده نیز در همین تیمار مشاهده شد. ممکن است کاهش ارتفاع پرز به دلیل فرآوری ناکافی و کیفیت نامطلوب کنجاله سویای مصرفی باشد که با کاهش سطح پروتئین در جیره، ارتفاع پرز نیز افزایش یافت.

معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. این نسبت در تیمار تغذیه یک روز در میان جیره شاهد با جیره ۷/۵ درصد کاهش پروتئین خام به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود و در تیمار تغذیه یک روز در میان جیره شاهد با جیره ۱۰ کاهش پروتئین خام تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. تیمارها اثر معنی‌داری بر عرض پرز و عمق کریپت ژژنوم جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی نداشتند.

در این آزمایش، کمترین نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت مربوط به تیماری است که جوجه‌ها به‌صورت یک روز در میان با جیره‌های شاهد و جیره‌ای که پروتئین خام آن ۷/۵ درصد کاهش یافته بود، تغذیه شدند. احتمالاً تغییر جیره به‌طور پیوسته باعث القای تنش در پرند شده و این شاخص کاهش یافته است. در مطالعه‌ای که تأثیر

جدول ۷- تأثیر تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی-پروتئین و توصیه‌شده بر ریخت‌شناسی ژژنوم جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی

Table 7- The effect of daily switching of low energy and protein and standard diets on jejunum morphology of broiler chicks at d 24

تیمارها Treatments	ارتفاع پرز Villus height (μm)	عرض پرز Villus width (μm)	عمق کریپت Crypt depth (μm)	ضخامت لایه ماهیچه‌ای Muscle layer thickness (μm)	نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت Crypt depth to villus height ratio
شاهد Control	1003.7 ^c	475.5	258.5	370.2 ^b	3.56 ^b
کاهش ۵٪ CP 5% reduced CP	1196.7 ^a	399.5	287.2	458.0 ^a	4.26 ^a
کاهش ۷.۵٪ CP 7.5% reduced CP	1255.7 ^a	485.5	277.2	445.5 ^a	4.26 ^a
کاهش ۱۰٪ CP 10% reduced CP	1132.5 ^{abc}	423.5	266	453.7 ^a	4.26 ^a
تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و					
کاهش ۷.۵٪ CP Daily switching of control diet and 7.5% reduced CP	1036.7 ^{bc}	421.2	293.5	405.7 ^{ab}	3.27 ^c
تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۱۰٪ کاهش CP Daily switching of control diet and 10% reduced CP	1160.5 ^{ab}	398.7	301.5	395.0 ^{ab}	3.86 ^{ab}
خطای معیار میانگین‌ها SEM	0.003	0.267	0.281	0.022	0.025
احتمال معنی‌داری P-value	3.42	2.88	3.45	0.29	0.58

^{a-c} میانگین‌ها در هر ستون که دارای حرف مشترک نمی‌باشند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

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

و توصیه‌شده بر متابولیت‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی در جدول ۸ گزارش شده است. با توجه به نتایج، تیمارها

شاخص‌های بیوشیمیایی خون
نتایج به‌دست آمده از تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی-پروتئین

تأثیر معنی‌داری بر این متابولیت‌ها نداشتند ($P < 0.05$).

در مطالعه‌ای، کاهش انرژی یا پروتئین جیره تأثیری بر غلظت تری‌گلیسرید پلاسما نداشت (Yang et al., 2009) که این یافته‌ها برخلاف مشاهدات رزبرو و همکاران (Rosebrough et al., 1999) بود. در مطالعه‌ای دیگر نیز که تأثیر سطوح مختلف انرژی و پروتئین بر غلظت لیپیدهای سرم خون جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار

گرفتند که غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL-C و LDL-C سرم خون معنی‌دار نبود، البته مقدار آن‌ها با افزایش سطح انرژی و پروتئین جیره کاهش یافت. غلظت VLDL سرم خون به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر انرژی جیره قرار گرفت (Zamani et al., 2012).

جدول ۸- تأثیر تغذیه متناوب جیره‌های کم انرژی-پروتئین و توصیه‌شده بر متابولیت‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی

Table 8- The effect of daily alternate feeding of low energy and protein and standard diets on blood serum metabolites in broiler chicks on 24 d

تیمارها Treatments	اوره (میلی‌گرم/دسی لیتر) Urea (mg/dl)	کلسترول کل (میلی‌گرم/دسی لیتر) Total cholesterol (mg/dl)	لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین (میلی‌گرم/دسی لیتر) LDL-C (mg/dl)	لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (میلی‌گرم/دسی لیتر) HDL-C (mg/dl)
شاهد Control	5.84	167.2	71.17	68.11
کاهش ۵٪ CP 5% reduced CP	5.28	179.3	80.12	68.33
کاهش ۷.۵٪ CP 7.5% reduced CP	4.38	153.2	74.33	59.05
کاهش ۱۰٪ CP 10% reduced CP	5.11	160.2	73.31	65.66
تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۷.۵٪ کاهش CP Daily switching of control diet and 7.5% reduced CP	4.45	173.3	77.33	72.83
تغذیه یک روز در میان جیره‌های شاهد و ۱۰٪ کاهش CP Daily switching of control diet and 10% reduced CP	4.86	167.2	79.83	64.66
خطای معیار میانگین‌ها SEM	0.466	0.539	0.902	0.287
احتمال معنی‌داری P-value	0.38	10.21	0.17	3.89

می‌توان برای تغذیه جوجه‌های گوشتی مورد استفاده قرار داد.

نتیجه‌گیری کلی

تغییر روزانه مقدار انرژی و پروتئین خام جیره جوجه‌های گوشتی در مراحل مختلف پرورش یک راهکار تغذیه‌ای نسبتاً جدید است و تحقیقات بیشتری برای درک اثرات آن بر عملکرد جوجه‌های گوشتی و تهیه راهکارهای اجرایی برای آن مورد نیاز است. به‌طور کلی، در این آزمایش، تیمار با پنج درصد کاهش پروتئین خام ریخت‌شناسی روده کوچک را بهبود بخشید. کاهش پروتئین خام تا ۱۰ درصد و جایگزینی آن با جیره شاهد تأثیر منفی بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خون و مورفولوژی ژنوم نداشت. از آنجایی‌که عملکرد رشد تحت تأثیر قرار نگرفت، هر یک از تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش را

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی و پرسنل محترم ایستگاه تحقیقات دام و طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به‌ترتیب به پاس تأمین اعتبار پژوهشی و همکاری صمیمانه برای انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Abbasi, M. A., Mahdavi, A. H., Samie, A. H., & Jahanian, R. (2014). Effects of different levels of dietary crude protein and threonine on performance, humoral immune responses and intestinal morphology of broiler chicks. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 16, 35-44. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2014000100005>
2. Aftab, U., Ashraf, M., & Jiang, Z. (2006). Low protein diets for broilers. *World's Poultry Science Journal*, 62(4), 688-701. <https://doi.org/10.1017/S0043933906001218>
3. Awad, E. A., Fadlullah, M., Zulkifli, I., Farjam, A. S., & Chwen, L. T. (2014). Amino acids fortification of low-protein diet for broilers under tropical climate: Ideal essential amino acids profile. *Italian Journal of Animal Science*, 13(2), 3166. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3166>
4. Bregendahl, K., Sell, J. L., & Zimmerman, D. R. (2002). Effect of low-protein diets on growth performance and body composition of broiler chicks. *Poultry Science*, 81(8), 1156-1167. <https://doi.org/10.1093/ps/81.8.1156>
5. Dozier III, W. A., & Moran Jr, E. T. (2002). Dimensions and light reflectance of broiler breast fillets: Influence of strain, sex, and feeding regimen. *Journal of Applied Poultry research*, 11(2), 202-208. <https://doi.org/10.1093/japr/11.2.202>
6. Fasina, Y. O., Hoerr, F. J., McKee, S. R., & Conner, D. E. (2010). Influence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection on intestinal goblet cells and villous morphology in broiler chicks. *Avian Diseases*, 54(2), 841-847. <https://doi.org/10.1637/9055-090809-Reg.1>
7. Gholami, M., Hassanabadi, A., Nasiri Moghadam, H., & Golian, A. (2015). Effects of different levels of digestible arginine and protein in starter diets containing ideal amino acids ratio on performance, carcass traits and serum parameters in broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 7(2), 139-152. (In Persian)
8. Golian, A., Azghadi, A., & Pilevar, M. (2010). Influence of various levels of energy and protein on performance and humoral immune responses in broiler chicks. *Global Veterinaria*, 4(5), 434-440.
9. Khajali, F., & Wideman, R. F. (2010). Dietary arginine: metabolic, environmental, immunological and physiological interrelationships. *World's Poultry Science Journal*, 66(4), 751-766. <https://doi.org/10.1017/S0043933910000711>
10. Laudadio, V., Passantino, L., Perillo, A., Lopresti, G., Passantino, A., Khan, R. U., & Tufarelli, V. (2012). Productive performance and histological features of intestinal mucosa of broiler chickens fed different dietary protein levels. *Poultry Science*, 91(1), 265-270. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01675>
11. Leclercq, B. E. R. N. A. R. D. (1998). Lysine: specific effects of lysine on broiler production: comparison with threonine and valine. *Poultry science*, 77(1), 118-123.
12. Leeson, S., & Summers, J. D. (2001). Nutrition of the chicken. 4th rev. ed. Nottingham University Press.
13. Nukreaw, R., Bunchasak, C., Markvichitr, K., Choothesa, A., Prasanpanich, S., & Loongyai, W. (2011). Effects of methionine supplementation in low-protein diets and subsequent re-feeding on growth performance, liver and serum lipid profile, body composition and carcass quality of broiler chickens at 42 days of age. *The Journal of Poultry Science*, 48(4), 229-238. <https://doi.org/10.2141/jpsa.010064>
14. Pope, T., & Emmert, J. L. (2002). Impact of phase-feeding on the growth performance of broilers subjected to high environmental temperatures. *Poultry Science*, 81(4), 504-511. <https://doi.org/10.1093/ps/81.4.504>
15. Pope, T., Loupe, L. N., Pillai, P. B., & Emmert, J. L. (2004). Growth performance and nitrogen excretion of broilers using a phase-feeding approach from twenty-one to sixty-three days of age. *Poultry science*, 83(4), 676-682. <https://doi.org/10.1093/ps/83.4.676>
16. Rada, V., Foltyn, M., Lichovniková, M., & Musilová, A. (2013). Effects of protease supplementation of low protein broiler diets on growth parameters and carcass characteristic. *Mendelnet*, 2013, 268-272.
17. Rehman, Z. U., Kamran, J., Abd El-Hack, M. E., Alagawany, M., Bhatti, S. A., Ahmad, G., Saleem, A., Ullah, Z., Yameen, R. M. K., & Ding, C. (2017). Influence of low-protein and low-amino acid diets with different sources of protease on performance, carcasses and nitrogen retention of broiler chickens. *Animal Production Science*, 58(9), 1625-1631. <https://doi.org/10.1071/AN16687>
18. Rosebrough, R. W., McMurtry, J. P., & Vasilatos-Younken, R. (1999). Dietary protein effects on the broiler's adaptation to triiodothyronine. *Growth, Development, and Aging: GDA*, 63(3), 85-98.
19. SAS. 2014. SAS User's Guide: Statistics. Version 9.4 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
20. Sauvant, D., Perez, J. M., & Tran, G. (2002). Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage: porcs, volailles, bovines, ovins, caprins, lapins, chevaux, poissons. *INRA Editions, Versailles*.
21. Selle, P. H., Dorigam, J. C. D. P., Lemme, A., Chrystal, P. V., & Liu, S. Y. (2020). Synthetic and crystalline amino acids: Alternatives to soybean meal in chicken-meat production. *Animals*, 10(4), 729. <https://doi.org/10.3390/ani10040729>
22. Wilkie, D. C., Van Kessel, A. G., White, L. J., Laarveld, B., & Drew, M. D. (2005). Dietary amino acids affect intestinal *Clostridium perfringens* populations in broiler chickens. *Canadian Journal of Animal Science*, 85(2), 185-193. <https://doi.org/10.4141/A04-070>

23. Yang, Y. X., Guo, J., Yoon, S. Y., Jin, Z., Choi, J. Y., Piao, X. S., Kim, B. W., Ohh, S. J., Wang, M. H., & Chae, B. J. (2009). Early energy and protein reduction: effects on growth, blood profiles and expression of genes related to protein and fat metabolism in broilers. *British Poultry Science*, 50(2), 218-227. <https://doi.org/10.1080/00071660902736706>
24. Zamani, M., Rezaei, M., Teimouri Yansari, A., Sayyahzadeh, H., & Niknafs, F. (2012). The effect of different levels of energy and protein of the final ration on performance, carcass characteristics and blood serum lipids concentration of broiler chickens. *Research on Animal Production*, 32, 86-92. (In Persian)
25. Zarate, A. J., Moran Jr, E. T., & Burnham, D. J. (2003). Reducing crude protein and increasing limiting essential amino acid levels with summer-reared, slow-and fast-feathering broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 12(2), 160-168. <https://doi.org/10.1093/japr/12.2.160>



The Effect of Cinnamon Nanoparticles Produced with Ultrasonic Waves on Growth Performance, Digestive Enzyme Activity, Thyroid Hormone Levels, and Ileal Bacterial Population in Broiler Chickens

Mokhtar Fathi^{1*}, Ali Hashem Mohammad², Kianoosh Zarrinkavyani², Zahra Biranvand³

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran.

2- Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

3- Department of Animal Science, Ilam Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ilam, Iran

*Corresponding Author's Email: Mokhtarfathu@pnu.ac.ir

How to cite this article:

Received: 21-01-2025
Revised: 12-03-2025
Accepted: 28-04-2025
Available Online: 29-07-2025

Fathi, M., Hashem Mohammad, A., Zarrinkavyani, K., & Biranvand, Z. (2025). The effect of cinnamon nanoparticles produced with ultrasonic waves on growth performance, digestive enzyme activity, thyroid hormone levels, and ileal bacterial population in broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(2), 193-203. (in Persian with English abstract)
<http://doi.org/10.22067/ijasr.2025.91679.1231>

Introduction: Today, the tendency to find healthy and safe additives in livestock and poultry has increased. Plants and their products include plant extracts, essential oils or their ingredients, including alternative growth stimuli, which are due to their antimicrobial properties in the animal feed industry and in the field of testing. Cinnamon is a plant from the Lauraceae family and has different species, the most famous of which are two species: species, *Cinnamomum*, known as the Cinnamon, *Cinnamomum Market*, is one of the most desirable types of cinnamon, and the species, *Cinnamomum Cassia*, which is mainly in China, Vietnam and Indonesia, is called Cinnamon China and Saigon. These two types of cinnamon are not the same in quality, but due to their many similarities in terms of properties and perfumes, in most parts of the world they do not differentiate for these two types of cinnamon. Cinnamon is commonly used in the animal feed and poultry because of its specific fragrance cinnamon essential oil is the only important part of cinnamon that contains 1 % in the plant. The main ingredients of cinnamon cinnamaloids, hydroxy cinnamaldehy, eugenol, safrol, cinnamil acetate, cinnamyl alcohol, carvacrol, coumarin, terpenoids, phenylpropanoids, and karyophylline can be used to treat insulin-like activity. Cinnamon essential oils are responsible for the taste, the expansion of anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant activity. The researchers consider the antioxidant effect of cinnamon to be more related to the two compounds of eugenol and methyl hydroxy chalcon. Eugenol improves the activity of glutathione peroxidase and enhances resuscitated glutathione. It has shown that cinnamon extract prevents the growth of some bacteria, such as *Helicobacter Pylori*, *E. Coli*, *Enterococcus*, *Sinodomonas*, *Staphylococcus* and *Salmonella*, thereby increasing the relative population of the *Lactobacillus*. It is guessing that terpenoids and phenylpropanoids in cinnamon oil are penetrated into the membrane of the bacteria and thus destroy them. In another study, cinnamon antimicrobial properties attributed to the contents of cinnamady, eugenol and carvacrol. In spite of the enormous



©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.2025.91679.1231>

impact of cinnamon compounds, limited absorption, rapid metabolism, high solubility and the rapid elimination of the biological systemic system is extremely limited and thus strictly limited its medicinal role. One of the suggested ways is to use cinnamon in the form of nanoparticles that can enhance the absorption, solubility and protection of its compounds against hydrolysis. Therefore, the main purpose of this study was to evaluate nanocinomon (nanoparticles of dry cinnamon extract) on the function of the meat chickens.

Materials and Methods: A study was conducted to investigate the effects of cinnamon nanoparticles on growth performance, digestive enzyme activity, thyroid hormone levels, and ileum bacterial population in broiler chickens. A total 500 of broiler chickens ROSS 308 in a completely random design to five treatments, each treatment was assigned in five repetitions with 20 one -day -old chickens. Five experimental treatments included: 1- control (fed with basal diet) and 2, 3, 4 and 5 treatments were the basal diet plus 150, 300, 450 and 600 mg of cinnamon nanoparticles per kg of feed, respectively. Ultrasonic method was used to synthesize synthesis.

Results and Discussion: The results showed that the supplementation of cinnamon nanoparticles significantly increased feed consumption, increased weight gain, and reduced feed conversion ratio and mortality ($P < 0.05$). The best growth performance was found in 450 mg of cinnamon nanoparticles group. The results of the effect of cinnamon nanoparticles of the digestive enzymes also showed that cinnamon nanoparticles had a significant effect on increased secretion of gastrointestinal enzymes, and the highest levels of digestive enzymes in the serum was found in 450 mg nanoparticles cinemaon group ($P < 0.05$). The results for thyroid hormones indicated that cinnamon nanoparticles did not significantly affect serum TSH levels. However, they significantly reduced serum T3 levels and increased T4 levels ($P < 0.05$). Additionally, analysis of the intestinal microbiota in broiler chickens showed that cinnamon supplementation reduced the population of *E. coli* and significantly increased the population of *Lactobacillus* bacteria ($P < 0.05$).

Conclusion: Generally, the results of this study showed that the use of cinnamon nanoparticles at 450 mg can improve performance by increasing feed consumption, increased digestive enzyme secretion and improved the intestinal microbial population and improved performance.

Keywords: Bacterial population, Cinnamon nanoparticles, Chickens, Digestive enzymes, Growth, Thyroid hormones

بررسی تأثیر نانوذرات سینامون تولیدی با امواج فراصوت بر عملکرد رشد، آنزیم‌های گوارشی، سطح هورمون‌های تیروئیدی و جمعیت باکتریایی ایلئوم در جوجه‌های گوشتی

مختار فتحی^{۱*}، علی هاشم محمد^۲، کیانوش زرین کاویانی^۲، زهرا بیرانوند^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۰۸

چکیده

مطالعه‌ای به منظور بررسی اثرات نانوذرات سینامون تولیدشده به روش امواج فراصوت بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های ترشحاتی، سطح سرمی هورمون‌های تیروئیدی و جمعیت باکتریایی ایلئوم در جوجه‌های گوشتی انجام شد. تعداد ۵۰۰ قطعه جوجه گوشتی سویه رأس ۳۰۸ در یک طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار، هر تیمار در پنج تکرار دارای ۲۰ جوجه یک‌روزه اختصاص داده شد. پنج تیمار آزمایشی شامل: ۱- شاهد (تغذیه شده با جیره پایه) و تیمارهای ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب دریافت‌کننده جیره پایه به علاوه سطوح ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی گرم نانوذرات سینامون در کیلوگرم خوراک بودند. برای سنتز نانوذرات سینامون از روش امواج فراصوت (اولتراسونیک) استفاده شد. نتایج نشان داد که مکمل سازی نانوذرات سینامون به طور معنی داری باعث افزایش خوراک مصرفی، افزایش وزن حاصله و کاهش ضریب تبدیل خوراک و تلفات شد ($P < 0.05$). بهترین عملکرد رشد مربوط به گروه ۴۵۰ میلی گرم نانوذرات سینامون در کیلوگرم خوراک بود. نتایج حاصل از تأثیر نانوذرات سینامون بر سطح آنزیم‌های گوارشی نیز نشان داد که نانوذرات سینامون تأثیر معنی داری بر افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی لیپاز و آمیلاز داشته و بالاترین سطح آنزیم‌های گوارشی در سرم مربوط به گروه ۴۵۰ میلی گرم نانوذرات سینامون بود ($P < 0.05$). نتایج مربوط به هورمون‌های تیروئیدی نشان داد که نانوذرات سینامون بدون تأثیر معنی دار بر سطح سرمی هورمون TSH، به طور معنی داری سبب کاهش سطح سرمی T3 و افزایش سطح T4 شد ($P < 0.05$). علاوه بر این نتایج شمارش باکتری‌های روده جوجه‌های گوشتی نشان داد که مکمل سازی سینامون سبب کاهش جمعیت باکتری‌های *E. coli* و افزایش معنی داری جمعیت باکتری‌های *Lactobacillus* روده جوجه‌های گوشتی شد ($P < 0.05$). به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از نانوذرات سینامون تولیدی با استفاده از امواج فراصوت در سطح ۴۵۰ میلی گرم می‌تواند از طریق افزایش خوراک مصرفی، افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی و بهبود جمعیت میکروبی روده، سبب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی شود.

واژه‌های کلیدی: راس ۳۰۸، فلور میکروبی روده، کارآیی، متابولیسم هورمونی، نانو قتیوبوتیک

مقدمه

آن‌ها شامل عصاره‌های گیاهی، اسانس‌ها و یا مواد تشکیل‌دهنده آن‌ها از جمله محرک‌های رشد جایگزین هستند که به علت خصوصیات ضد میکروبی که دارند در صنعت خوراک دام و طیور مورد آزمایش قرار گرفته‌اند (Behrooz Lak et al., 2014).

دارچین (*Cinnamomum verum*) گیاهی است از خانواده Lauraceae و گونه‌های مختلفی دارد که معروف‌ترین آن‌ها دو گونه اند: گونه *Cinnamomum verum* که در بازار تجارت به نام دارچین سیلان معروف است و از مرغوب‌ترین انواع دارچین است و گونه *Cinnamomum cassia* که رویشگاه آن عمدتاً در چین، ویتنام و اندونزی است و در بازار به نام دارچین چین و سایگون نامیده می‌شود.

امروزه به طور گسترده تمایل به یافتن افزودنی‌های سالم و بی-خطر در پرورش دام و طیور افزایش یافته است. گیاهان و فرآورده‌های

۱- گروه علوم دامی، دانشکده فنی-مهندسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
۳- بخش علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایلام، ایران
(*) نویسنده مسئول: (Email: Mokhtarfathi@pnu.ac.ir)

هدف اصلی اجرای این تحقیق، ارزیابی نانوسینامون تولید به کمک روش فراصوت (نانو ذرات عصاره خشک دارچین) بر عملکرد جوجه-های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق، تعداد ۵۰۰ قطعه جوجه نر یک‌روزه گوشتی سویه رأس ۳۰۸ با میانگین وزنی 43 ± 2 گرم در قالب طرح کاملاً تصادفی به پنج تیمار آزمایشی، پنج تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار (واحد آزمایشی) اختصاص داده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) شاهد (بدون هر افزودنی)، تیمارهای ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب جیره پایه به علاوه سطوح ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی گرم نانوذرات سینامون در کیلوگرم خوراک بودند. جوجه‌های گوشتی در هر واحد آزمایشی روی بستری از پوشال در قفس زمینی به طول ۲/۲، عرض یک و ارتفاع یک متر به مدت ۴۲ روز پرورش داده شدند. در سه روز ابتدایی پرورش، از آب‌خوری کله قندی و بعد از آن تا پایان دوره از آب‌خوری نیپل استفاده شد. برای هر قفس به طور جداگانه یک مخزن آب در بسته ۱۰ لیتری مدرج تعبیه شد. جیره پایه براساس جیره‌های آزمایشی در هر مرحله (آغازین، ۱۰-۰ روزگی، رشد، ۲۴-۱۱ روزگی و پایانی، ۲۵-۴۲ روزگی) براساس راهنمای پرورش جوجه گوشتی راس ۳۰۸ بر پایه ذرت-سویا و با استفاده از ترکیب شیمیایی اقلام خوراکی طبق جداول انجمن تحقیقات ملی آمریکا (۱۹۹۴) توسط نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA تنظیم شدند. مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است. برنامه دمایی، تهویه و رطوبت برای تمام تیمارهای آزمایشی یکسان و مطابق پیشنهادات سویه راس ۳۰۸ برای دوره‌های زمانی مختلف تنظیم گردید. برنامه واکسیناسیون بیماری نیوکاسل در روزهای ۷، ۱۷ و ۲۸ روزگی و واکسیناسیون بیماری گامبورو در ۱۴ روزگی در آب آشامیدنی انجام شد.

سنتز نانوذرات سینامون

برای سنتز نانوذرات سینامون از روش امواج فراصوت (اولتراسونیک) استفاده شد. این روش براساس استفاده از انرژی امواج مافوق صوت است. روش اولتراسونیک براساس پدیده‌ای به نام حباب-زایی (Cavitation) است که شامل ایجاد یکسری حباب در اثر اعمال سونیک در محلول است. فرآیندی که در اثر اعمال امواج مافوق صوت در محلول اتفاق می افتد شامل تشکیل، رشد و انفجار حباب‌ها در محلول است. به این منظور، نسبت‌های مختلفی از عصاره خشک سینامون در اتانول و در دماهای ۲۵ و ۵۰ سانتی‌گراد درون دستگاه اولتراسونیک (مدل BANDELIN SONOPLUS، شرکت فراز طب تجهیز، ایران) تحت توان ۳۰۰ وات به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفتند.

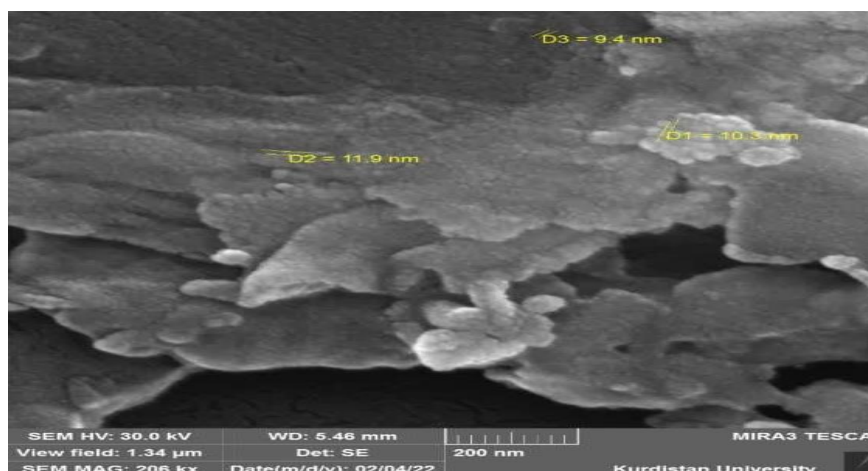
این دو نوع دارچین از نظر کیفیت یکسان نیستند، ولی به علت شباهت‌های زیادی که از نظر خواص و عطر با هم دارند در اغلب مناطق دنیا برای این دو گونه دارچین تفاوتی قائل نیستند (Fathi et al., 2017). دارچین به واسطه رایحه خاصی که دارد، معمولاً در صنعت خوراک دام و طیور مورد استفاده قرار گرفته است.

اسانس دارچین تنها قسمت مهم دارچین است که به مقدار یک درصد در پوست گیاه مذکور وجود دارد. ترکیبات اصلی اسانس دارچین سینامالدهید، هیدروکسی سینامالدهید، اوژنول، سافرول، سینامیل استات، سینامیل الکل، کارواکرول، کومارین، ترپنئیدها، فیل پروپانئیدها و کاربوفیلین هستند که فعالیتی شبیه به انسولین دارند و می‌توانند در درمان دیابت مفید باشند. علاوه بر این، عصاره سینامون می‌تواند با تعدیل بیان ژن مربوط به تولید هورمون T3، تولید این هورمون را کاهش دهد و از این طریق سبب بهبود عملکرد قلب و شاخص‌های سلامتی در موش‌ها شد (Gaique et al., 2016).

روغن‌های اسانسی دارچین مسئول طعم، گسترش فعالیت ضدالتهابی، ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی هستند. قسمت اعظم اسانس را سینامالدهید (۶۵-۷۵ درصد) تشکیل می‌دهد، با ترکیب مولکولی $C_{13}H_{12}O_2$ به صورت مایعی روغنی مایل به زرد است و بوی قوی دارچین دارد. محققان اثر آنتی اکسیدانی دارچین را بیشتر مربوط به دو ترکیب اوژنول و متیل هیدروکسی چالکون می‌دانند. مصرف اوژنول باعث بهبود فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز و افزایش گلوکوتایون احیاء شده در سلول می‌شود (Sang-Oh et al., 2013). علاوه بر این، دارچین از نظر درمانی دارای اثرات پایین آورنده قند خون، اثرات ضدانقباضی و آنتی اکسیدان است (Fathi et al., 2017; Ciftci et al., 2010).

گزارش کرده‌اند که عصاره دارچین، از رشد برخی از گونه‌های باکتری مانند *هلیکوباکتر پیلوری*، *ای کولای*، *انتروکوکوس*، *سودوموناس*، *استافیلوکوکوس* و *سالمونلا* جلوگیری به عمل می‌آورد و به این ترتیب سبب افزایش نسبی جمعیت *لاکتوباسیلوس* ها می‌شود. حدس بر این است که ترپنئیدها و فیل پروپانئیدهای موجود در روغن دارچین، به درون غشاء باکتری‌ها نفوذ پیدا کرده و از این طریق موجب انهدام آن‌ها می‌گردند (AL-Kassie, 2009; Anguo et al., 2008). در تحقیقی دیگر، ویژگی ضد میکروبی دارچین به محتوی سینامالدهید، اوژنول و کارواکرول نسبت داده شد (Tabak et al., 1999).

علی‌رغم اثربخشی بسیار ترکیبات دارچین، جذب محدود، متابولیسم سریع، حلالیت آبی بسیار کم و حذف سریع سیستمیک، زیست‌فراهمی و در نتیجه نقش دارویی آن را به شدت محدود می‌کند. از جمله راه‌های پیشنهادی، استفاده از دارچین به فرم نانوذرات است که می‌توانند سبب افزایش جذب، حلالیت و محافظت ترکیبات آن در برابر هیدرولیز گردد (Zhu et al., 2024). بنابراین،



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی ذره سینامون در بزرگنمایی‌های متفاوت

Figure 1- Scanning electron microscope (SEM) images of cinnamon nanoparticle at different magnifications

پیشنهادی و به کمک دستگاه الیزا ریدر (USA 303 fax stat) استفاده گردید. تعیین صفات فراسنجه‌های فعالیت آمیلاز و لیپاز سرم توسط کیت‌های اختصاصی شرکت پارس‌آزمون و شرکت زیست شیمی با استفاده از روش اسپکتروفتومتری طبق دستورالعمل شرکت سازنده و در آزمایشگاه رادمهر شهر گرگان انجام شد.

برای شمارش لاکتوباسیل‌ها و *E. coli* در روز ۴۲ دوره پرورشی، از هر تکرار یک جوجه انتخاب شد (از هر تیمار پنج پرند) و به روش جابجایی گردن کشته شدند. کالبدگشایی و نمونه‌گیری از محتویات قسمت ایلتوم روده در شرایط کاملاً استریل و در مجاورت شعله انجام شد و سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل گردید. برای جداسازی و شمارش لاکتوباسیل‌ها و *E. coli* از رقیق کردن متوالی نمونه‌ها و به نسبت (۱ به ۱۰ در محلول استریل سرم فیزیولوژی) استفاده شد.

برای شمارش لاکتوباسیلوس‌ها از آگار MRS و برای *E. coli* از آگار مک‌کانی استفاده شد. محیط کشت آگار مخصوص لاکتوباسیلوس در انکوباتور بی‌هوازی دارای دی‌اکسیدکربن و محیط کشت آگار مخصوص *E. coli* در انکوباتور هوازی قرار گرفت. دمای انکوباتور برای تمام محیط کشت‌ها ۳۷ درجه سانتیگراد و مدت زمان انکوباسیون برای تمام آگارها ۴۸ ساعت بود. پس از محاسبه تعداد کلنی در هر پلیت، عدد حاصل در عکس رقت ضرب شد و نتیجه به صورت واحدهای تشکیل کلنی (CFU) در هر گرم بیان شد (Asadi Siah Choghaei et al., 2022; Corduk et al., 2008).

داده‌های حاصل با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS 9.2 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح معنی داری پنج درصد استفاده شد.

بهترین عملکرد و بیشترین پخش شدن در حل کردن پنج گرم پودر سینامون در ۴۰۰ سی‌سی اتانول و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. در بقیه موارد، پودر سینامون حالت کلوخه و چسبناک پیدا کرد. در نهایت نیز برای تأیید سنتز نانوذره مورد نظر، از روش میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) استفاده شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی، شکل کروی نانوذره و اندازه زیر ۵۰ نانومتر را نشان دادند (شکل ۱). نتایج شمارش ذرات نانو نسبت به کل ذرات موجود در محلول نشان داد که درصد ذرات نانو به کل ذرات ۶۸ درصد بود. عصاره خشک دارچین (سینامون) با نام تجاری استفاده‌شده در این تحقیق محصول شرکت آدونیس گل دارو بود که به شکل کیسه یک کیلوگرمی پودر قهوه‌ای تاریک با خلوص ۹۵ درصد و حاوی ۱۰/۳۱ درصد ماده مؤثره سینامالدهید بسته‌بندی شده بود. اتانول استفاده‌شده نیز از شرکت پارس مدیکو با خلوص ۹۹ درصد تهیه گردید.

مقدار خوراک مصرفی و وزن بدن پرندگان هر واحد آزمایشی در سن ۴۲ روزگی اندازه‌گیری و شاخص‌های عملکرد (خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل) برای سن یک تا ۴۲ روزگی محاسبه گردید. تلفات نیز به محض مشاهده ثبت شد. در روز ۴۲ دوره پرورش از هر قفس دو جوجه به طور تصادفی انتخاب و بعد از سه ساعت گرسنگی، خون‌گیری از سیاهرگ بال انجام گردید. نمونه‌های خونی به لوله‌های آزمایش فاقد ماده ضدانعقادی وارد گردید و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید و بعد از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه) سرم جدا و بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا موقع اندازه‌گیری آزمایش‌ها نگهداری گردید.

جهت اندازه‌گیری غلظت هورمون‌های تیروئیدی TSH، T3 و T4 از کیت‌های الیزا محصول شرکت پیش‌تاز طب و طبق دستورالعمل

جدول ۱- ترکیب جیره‌های غذایی پایه آزمایشی

Table 1- The ingredients and composition of the basal diet

پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) Finisher (25-42 d)	رشد (۱۱-۲۴ روزگی) Grower (11-24 d)	آغازین (۱-۱۰ روزگی) Starter (0-10 d)	اجزای جیره (درصد) Ingredients (%)
62.67	58.96	55.88	ذرت (۸ درصد پروتئین خام) Corn (8% CP)
29.73	34.06	37.16	کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین) Soybean meal (44%CP)
3.75	2.95	2.22	روغن سویا Soybean oil
1.06	1.07	1.31	کلسیم کربنات Calcium carbonate
1.49	1.55	1.79	دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate
0.25	0.25	0.25	مکمل ویتامینه Vitamin premix ¹
0.25	0.25	0.25	مکمل معدنی Mineral premix ²
0.43	0.50	0.50	سدیم کلراید NaCl
0.24	0.27	0.35	دی ال-متیونین (۹۹ درصد) DL-methionine (99%)
0.13	0.14	0.29	ال-لیزین هیدروکلراید (۷۸ درصد) L-lysine HCL (78%)
ترکیب مواد مغذی محاسبه شده			
3100	3000	2900	Nutrient composition (calculated)
			انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم)
18.41	20.00	21.10	Metabolizable energy (kcal/kg)
0.82	0.86	1.00	پروتئین خام (درصد) Crude protein, %
0.19	0.21	0.21	کلسیم (درصد) Calcium (Ca), (%)
0.41	0.43	0.48	سدیم (درصد) Sodium (Na), (%)
0.52	0.57	0.68	فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus, (%)
0.83	0.90	1.02	متیونین (درصد) Methionine, %
			متیونین + سیستین (درصد) Methionine + cysteine, %
1.05	1.18	1.37	لیزین (درصد) Lysine, %

^۱ هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی: ویتامین A: ۳۶۰۰۰۰۰ IU، ویتامین D₃: ۸۰۰۰۰ IU، ویتامین E: ۷/۲ گرم، ویتامین K₃: ۰/۸ گرم، ویتامین B₁: ۱/۷ گرم، ویتامین B₂: ۲/۶۵ گرم،

ویتامین B₃: ۱۱/۸۸ گرم، ویتامین B₆: ۱/۸۸ گرم، ویتامین B₉: ۰/۴ گرم، ویتامین B₁₂: شش میلی گرم.

^۲ هر کیلوگرم مکمل مواد معدنی حاوی: ۱۰۰ گرم کولین کلراید، ۳۹/۶۸ گرم منگنز (اکسید)، ۳۴/۸۸ گرم روی، ۲۰ گرم آهن، ۴ گرم مس، ۰/۳۹۶ گرم ید، ۰/۰۸ سلنیوم.

¹ Every kilogram vitamin supplement containing: vitamin A: 3600000 IU, vitamin D₃: 800000 IU, vitamin E: 7.2 g, vitamin K₃: 0.8g, vitamin B₁: 1.7 g, vitamin B₂: 2.65 g, vitamin B₃: 11.88 g, vitamin B₆: 1.88 mg, vitamin B₉: 0.4g, Vitamin B₁₂: 6 mg,

² Every kilogram mineral supplement containing: chloride chlorine: 100 g, manganese (oxide): 39.68 g, Zn: 34.88 g, Fe: 20 g, Cu: 4g, iodine: 0.396 mg and Se: 0.08 g.

نتایج و بحث

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد و تلفات

تأثیر تیمارهای آزمایشی مختلف بر عملکرد رشد و تلفات جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان داد که مکمل‌سازی ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم نانوسینامون در کیلوگرم خوراک در مقایسه با سایر تیمارها، سبب افزایش معنی‌دار خوراک مصرفی در

جوجه‌های گوشتی در کل دوره آزمایشی شد ($P < 0.05$). بیشترین خوراک مصرفی مربوط به تیمار ۶۰۰ میلی‌گرم نانوسینامون در کیلوگرم خوراک بود. علاوه بر این، در مقایسه با شاهد، مکمل‌سازی نانوذرات سینامون در سه سطح ۳۰۰، ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم نانوسینامون سبب افزایش معنی‌داری وزن حاصله در ۴۲ روزگی شد.

جدول ۲- عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر جیره‌ای نانوذرات سینامون در سن شش هفتگی

Table 2- Growth performance of broiler chicks as affected by dietary supplementation of cinnamon nanoparticles (CNPs) at 6 wk of age.

فراستجه Items	سطح نانوذرات سینامون (میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) CNPs level (mg/kg diet)					SEM	P-value
	0	150	300	450	600		
خوراک مصرفی (گرم) Feed Intake [g]	3937.0 ^b	3859.5 ^b	3867.6 ^b	3742.2 ^c	4352.4 ^a	31.66	0.016
اضافه وزن حاصله (گرم) Body weight gain [g]	2540.0 ^c	2490.0 ^c	2930.0 ^a	2970 ^a	2790 ^b	75.43	0.006
اضافه وزن روزانه (گرم/روز) Daily weight gain [g/d]	60.47 ^c	59.28 ^c	69.76 ^a	70.71 ^a	66.42 ^b	1.03	0.001
ضریب تبدیل خوراک (گرم خوراک/گرم وزن) Feed conversion ratio [g feed/g gain]	1.55 ^a	1.55 ^a	1.32 ^b	1.26 ^c	1.56 ^a	0.027	0.033
نرخ تلفات (درصد) Mortality rate (%)	4.00 ^a	0.02 ^b	0.02 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.03	0.010

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد ($P > 0.05$).

SEM: خطای استاندارد از میانگین

Means in rows with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

SEM: Standard error of means

میزان جذب مواد مغذی، میزان مصرف خوراک و سرعت عبور مواد از دستگاه گوارش اثر می‌گذارند. ترکیبات فنولی موجود در اسانس‌ها دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بوده و از راه کاهش باکتری‌های مضر در دستگاه گوارش و تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی، آثار مثبت و مؤثری بر افزایش عملکرد دارند (Cross et al., 2007). استفاده از سطوح بالا (۶۰۰ میلی‌گرم نانوذرات سینامون) در این تحقیق سبب کاهش مصرف خوراک شد. اسانس‌های گیاهی محافظت نشده حاوی غلظت بالایی از مواد زیست فعال گیاهان دارویی هستند که ممکن است بو یا طعم تند و زننده‌ای داشته باشند و مصرف مقادیر زیاد آن‌ها شاید سبب امتناع پرنده از خوردن و کاهش مصرف خوراک می‌شود (Hernandez et al., 2004).

علاوه بر این گزارش کرده‌اند که ترکیبات آنتول، کارون، کارواکرول، تیموکینون و ۴-تریپنول دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و با حفاظت از پرزهای روده، باعث بهبود عملکرد هضم و جذب و کاهش تلفات در جوجه‌های گوشتی می‌شود (Miraghaee

بیشترین وزن زنده و بهترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمارهای ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم نانوسینامون بود ($P < 0.05$). بهترین عملکرد تولید مربوط به تیمار ۴۵۰ میلی‌گرم نانوسینامون بود ($P < 0.05$). تجویز نانوسینامون در ۱۵۰ میلی‌گرم و بیشتر، به‌طور معنی‌داری سبب کاهش تلفات در دوره ۴۲-۱ روزگی آزمایش شد. علاوه بر این کمترین تلفات مربوط به تیمارهای ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم نانوسینامون بود ($P < 0.05$).

افزایش مصرف خوراک و افزایش وزن پرندگان ناشی از نانوذرات سینامون ممکن است به دلیل خاصیت تحریک‌کنندگی اشتها و کمک به عمل هضم و جذب ناشی از سینامالدهید موجود در دارچین باشد. علاوه بر این بهبود عملکرد هضم و جذب می‌تواند به واسطه ترکیبات فعال موجود در دارچین از قبیل تیمول و کارواکرول، سینامالدهید و اوژنول باشد (Fathi et al., 2017; AL-Kassie et al., 2009).

اسانس‌های گیاهی سبب بهبود عملکرد طيور می‌شوند، زیرا این مواد، ترشح آنزیم‌های هضمی را تحریک می‌کنند و از این مسیر بر

سبب افزایش ترشح آنزیم‌های گوارش شده و متعاقب آن سبب بهبود فرآیند هضم و جذب در دستگاه گوارش می‌شوند و ثبات فلور میکروبی روده می‌شوند (Brenes & Cross *et al.*, 2007; Roura, 2010). اعتقاد بر این است که ترکیبات فیتوژنیک با تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی لیپاز و آمیلاز در روده باریک و لوزالمعده منجر به بهبود گوارش‌پذیری مواد مغذی و در نهایت بهبود راندمان غذایی می‌شوند (Talha *et al.*, 2010; Talebi *et al.*, 2021). همچنین گزارش شده است که ماده Carroseral موجود در دارچین می‌تواند سبب القاء ترشح آنزیم‌های گوارشی در دستگاه گوارش شود (AL-Kassie *et al.*, 2009). گزارشی هم وجود دارد که نشان می‌دهد، دارچین به‌واسطه مواد فعال Cinnamaldehyde و Ugeno سبب تحریک آنزیم‌های گوارشی شده و هضم، جذب و کارایی استفاده از مواد خوراکی را در جوجه‌های گوشتی افزایش می‌دهند (Lee *et al.*, 2004).

(Ghasemi *et al.*, 2014; *et al.*, 2011). برخی دیگر از محققان، افزایش ارتفاع پرزها و عمق کرپیت‌های روده جوجه‌های گوشتی را با مکمل‌سازی اسانس گیاهان دارویی در جوجه‌های گوشتی گزارش کردند (Hossain *et al.*, 2014; Ali *et al.*, 2014).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر آنزیم‌های گوارشی

نتایج مندرج در جدول ۳ نشان می‌دهد که مکمل‌سازی نانوذرات سینامون در سطوح ۳۰۰ میلی گرم و بیشتر به‌طور معنی‌داری سبب افزایش سطح آنزیم‌های گوارشی در جوجه‌های گوشتی شد ($P < 0.05$). بیشترین سطح آنزیم‌های گوارشی مربوط به تیمار ۴۵۰ میلی گرم نانوذرات سینامون بود ($P < 0.05$).

اگرچه نتایج بسیار متغیری از تأثیر مکمل‌سازی اسانس گیاهان دارویی بر آنزیم‌های گوارشی گزارش شده است، اما بیشتر این تحقیقات گزارش کرده‌اند که اسانس‌های بسیاری از گیاهان دارویی

جدول ۳- آنزیم‌های گوارشی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر جیره‌ای نانوذرات سینامون در سن شش هفتگی

Table 3- Digestive enzymes of broiler chicks as affected by dietary supplementation of cinnamon nanoparticles (CNPs) at 6 wk of age.

فراستجه Items	سطح نانوذرات سینامون (میلی گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) CNPs level (mg/kg diet)					SEM	P-value
	0	150	300	450	600		
آمیلاز (واحد/لیتر) Amylase (U/L)	809.19 ^c	811.84 ^c	868.30 ^b	1041.84 ^a	843.61 ^b	8.02	0.01
لیپاز (واحد/لیتر) Lipase (U/L)	472.26 ^c	502.28 ^c	716.26 ^a	738.28 ^a	624.10 ^b	10.25	0.02

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد ($P > 0.05$).

SEM: خطای استاندارد از میانگین

Means in rows with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

SEM: Standard error of means

(Cross *et al.*, 2007; Brenes & Roura, 2010; *et al.*, 2004).

نشان داده‌اند که دارچین حاوی ماده‌ای به‌نام Carroseral است که دارای خاصیت ضدباکتریایی در دستگاه گوارش می‌باشد (AL-Kassie *et al.*, 2009; Sang-Oh *et al.*, 2013). در تحقیقی، الکاسی (AL-Kassie, 2009) گزارش کرد که ترکیبات مؤثره و فعال موجود در دارچین (تیمول، کارواکرول، سینامال‌دئید و اوژنول) در برابر باکتری‌های روده، فعالیت ضد میکروبی نشان می‌دهند. نتایج تحقیقی نشان داد که فعالیت اوره‌آز در مواد دفعی پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی دارچین کاهش یافت و عمدتاً نیتروژن را از طریق دفع آمونیومی کاهش می‌دهد (Anguo *et al.*, 2008).

قبلاً نیز گزارش شده است که احتمالاً تیمول و کارواکرول سبب متلاشی شدن غشاء بیرونی باکتری و آزادسازی مواد غشایی از سلول‌ها به محیط خارجی می‌شوند. استفاده از اسانس‌های گیاهی در جیره طیور، ضمن بهبود جمعیت میکروبی از راه افزایش تعداد لاکتوباسیل

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت باکتریایی ایلئوم

نتایج تأثیر مکمل‌سازی نانوذرات سینامون بر جمعیت باکتری‌های ای‌کولای و لاکتوباسیلوس ایلئوم جوجه‌های گوشتی در سن شش هفتگی در جدول ۴ آورده شده است. نتایج نشان داد که سطوح مختلف نانوذرات سینامون ۳۰۰ میلی گرم و بیشتر به‌طور معنی‌داری سبب کاهش جمعیت ای‌کولای و افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس در ایلئوم جوجه‌های گوشتی شد ($P < 0.05$).

افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها و کاهش جمعیت ای‌کولای در جوجه‌های گوشتی هنگام مصرف عصاره گیاهان دارویی مختلف گزارش شده است (Jamroz *et al.*, 2005; Markovic *et al.*, 2009; Shams Shargh *et al.*, 2012). ترکیبات فنولی موجود در اسانس‌ها دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بوده و از راه کاهش باکتری‌های مضر در دستگاه گوارش آثار مثبت و مؤثری بر بهبود عملکرد و درصد ماندگاری جوجه‌های گوشتی دارند (Lee *et al.*).

در اثر ترشح موادی از قبیل آنزیم اوره از به وسیله میکروب‌ها است. با توجه به اینکه گیاهان دارویی سبب کاهش سرعت تجزیه پروتئین و اسیدهای آمینه در دستگاه گوارش می‌شوند، مقادیر بیشتری از آن‌ها جذب و در بدن ذخیره می‌شوند و منجر به بهبود بازده لاشه و کاهش تبدیل پروتئین به چربی شده و مقادیر کمتری چربی نیز می‌تواند در بدن تجمع یابد (Ghazanfari et al., 2015).

ها، با بهبود صفات ریخت‌شناسی روده، احتمالاً سبب بهبود توانایی هضم و جذب دستگاه گوارش و ارتقاء بازده رشد جوجه‌های گوشتی می‌شود (Ghazanfari et al., 2015).

از معایب وجود میکروب‌های مضر در دستگاه گوارش، افزایش تجزیه پروتئین و اسیدهای آمینه مواد هضمی، فعالیت دی آمیناسیونی پروتئین و اسیدهای آمینه مصرفی و نیز افزایش سرعت تجزیه آن‌ها

جدول ۴- جمعیت باکتریایی ایلئوم جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر جیره‌ای نانوذرات سینامون در سن شش هفتگی

Table 4- Ileal bacterial population of broiler chicks as affected by dietary cinnamon nanoparticles (CNPs) at 6 wk of age.

شماری میکروبیولوژیکی Microbiological count (Log 10 CFU/g fresh digesta)	سطح نانوذرات سینامون (میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) CNPs level (mg/kg diet)					SEM	P-value
	0	150	300	450	600		
<i>E. coli</i>	4.89	4.80	4.32	4.50	4.41	0.68	0.42
<i>Lactic acid bacteria</i>	2.61 ^b	2.70 ^b	2.61 ^b	3.70 ^a	3.81 ^a	0.23	0.010

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد ($P > 0.05$).

SEM: خطای استاندارد از میانگین

Means in rows with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

SEM: Standard error of means. CFU: Colony Forming Unit.

قبل از گزارش شده است (Behrooz Lak et al., 2014; Fathi et al., 2017). افزایش تولید هورمون‌های تیروئیدی تقریباً همیشه وزن بدن را کاهش و کاهش تولید آن‌ها تقریباً همیشه وزن بدن را افزایش می‌دهد؛ اما این اثرات همیشه به وجود نمی‌آیند؛ زیرا هورمون‌های تیروئید اشتها را زیاد می‌کند و ممکن است بر اثرات ناشی از تغییر متابولیسم غلبه کند و همچنین هورمون تیروئید بر دستگاه گوارش اثر گذاشته و علاوه بر افزایش سرعت جذب مواد غذایی، میزان ترشح شیرهای گوارشی و همچنین حرکات دستگاه گوارش را زیاد می‌کند و همراه این افزایش ترشح و حرکت، اشتها نیز زیاد می‌شود (Karimi et al., 2018).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر سطح هورمون‌های تیروئیدی

تأثیر سطوح مختلف نانوذرات سینامون بر سطح هورمون‌های تیروئیدی جوجه‌های گوشتی در سن شش هفتگی در **جدول ۵** نشان داده شده است. نتایج نشان داد درحالی‌که مکمل‌سازی نانوذرات سینامون تأثیر معنی‌داری بر سطح هورمون TSH سرم جوجه‌های گوشتی نداشت، در سطح ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک سبب کاهش معنی‌دار هورمون T3 و افزایش معنی‌دار هورمون T4 سرم جوجه‌های گوشتی شد ($P < 0.05$).

آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی به‌طور قابل ملاحظه‌ای سبب افزایش تولید هورمون‌های تیروئیدی می‌شوند (Brewer et al., 2011; Mirazi et al., 2013). اثرات آنتی‌اکسیدانی دارچین در تحقیقات

جدول ۵- پروفایل هورمون‌های تیروئیدی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر جیره‌ای نانوذرات سینامون در سن شش هفتگی

Table 5- Thyroid hormones profile of broiler chicks as affected by dietary supplementation of cinnamon nanoparticles (CNPs) at 6 wk of age

فراسنجه Items	سطح نانوذرات سینامون (میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) CNPs level (mg/kg diet)					SEM	P-Value
	0	150	300	450	600		
T3 (µg/dl)	0.70 ^{ab}	0.68 ^{ab}	0.61 ^b	0.55 ^{bc}	0.41 ^d	0.03	0.201
T4 (µg/dl)	0.58 ^b	0.60 ^b	0.59 ^b	0.60 ^b	0.69 ^a	0.02	0.010
TSH (mIU/l)	1.34	1.29	1.32	1.25	1.15	0.06	0.17

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد ($P > 0.05$).

SEM: خطای استاندارد از میانگین

Means in rows with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

SEM: Standard error of means

نتیجه گیری کلی

عملکرد رشد و کاهش تلفات در جوجه های گوشتی شود. بر این اساس، مناسب ترین سطح نانوذرات سینامون در جیره جوجه های گوشتی سطح ۴۵۰ میلی گرم خواهد بود.

براساس نتایج این آزمایش، به نظر می رسد که مکمل جیره ای نانوذرات سینامون احتمالاً از طریق بهبود ترشح آنزیم های گوارشی، سلامتی روده و همچنین بهبود عملکرد غده تیروئید، سبب افزایش

References

1. Asadi Siah Choghaei, F., Akbari Gharaei, M., Saifali Varmaghani, S., kamran taherpour, K., & Shamsollah, M. (2022). Effect of different levels of guar gum and β -mannanase on the performance and immune response of broiler. *Animal Science Research*, 32(1), 31-44. (in Persian). <https://doi.org/10.22034/AS.2022.36969.1534>
2. AL-Kassie, G. A. M. (2009). Influences two plant extracts derived from thyme and cinnamon on broiler performance. *Pakistan Veterinary Journal*, 29, 169-173.
3. Ali, S., Mukhtar, M., & Manzoor, S. (2014). Effect of garlic, black seed and turmeric on the growth of broiler chicken. *Pakistan Journal of Nutrition*, 13(4), 204-210. <https://doi.org/10.3923/pjn.2014.204.210>.
4. Anguo, C., Jinxin, X., Caimei, Y., & Qihua, H., (2008). Effect of cinnamon extract on growth performance and excreta urease activity and nitrogen loss in broilers. American Society of Agricultural and Biological Engineers. <https://elibrary.asabe.org/abstract.asp>. <https://doi.org/10.13031/2013.25517>
5. Brenes, A., & Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.007>
6. Behrooz Lak, M. A., Abadi, A. H., Hassan Nasiri Moghadam, H., & Kermanshahi, H. (2014). Effect of different levels of cinnamon powder, with antibiotic and probiotic on performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Research on Animal Production*, 5(9), 25-35. (in Persian).
7. Brewe, M. S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential application. *Comprehensive Review in Food. Science Food Safety*, 10(4), 221-247.
8. Ciftci, M., Simsek, U. G., Yuçe, A., Yilmaz, O., & Dalkilic, B. (2010). Effects of dietary antibiotic and cinnamon oil supplementation on antioxidant enzyme activities, cholesterol levels and fatty acid compositions of serum and meat in broiler chickens. *ACTA VETERINARIA BRNO*, 79, 33-40. <https://doi.org/10.2754/avb201079010033>
9. Corduk, M. N., Ceylan, N., Dede, C., & Tel, O. (2008). Effects of novel feed additives on performance, carcass traits and *E. coli*, aerobic bacteria and yeast counts in broilers. *Archive fur Geflugelkunde*, 72, 61-67. [https://doi.org/10.1016/S0003-9098\(25\)00881-1](https://doi.org/10.1016/S0003-9098(25)00881-1)
10. Cross, D. E., Mc Devitt, R. M., Hillman, K., & Acamovic, T. (2007). The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. *British Poultry Science*, 48, 496-506. <https://doi.org/10.1080/00071660701463221>.
11. Fathi, M., Nik Guo, A., & Mehri, M. (2017). Effects of cinnamon powder levels on performance, antioxidant status, meat oxidative stability, enzymes activity and some blood parameters in broiler chickens. *Research on Animal Production*, 8(17), 18-25. (in Persian). <http://dx.doi.org/10.29252/rap.8.17.18>
12. Gaique, T. G., Lopes, B. P., Souza, L. L., Paula, G. S. M., Pazos-Moura, C. C., & Oliveira, K. J. (2016). Cinnamon intake reduces serum T_3 level and modulates tissue-specific expression of thyroid hormone receptor and target genes in rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 2889-2895. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7460>
13. Ghasemi, H. A., Kasani, N., & Taherpour, K. (2014). Effects of black cumin seed (*Nigella sativa* L.), a probiotic, a prebiotic and a synbiotic on growth performance, immune response and blood characteristics of male broilers. *Livestock Science*, 164, 128-134. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.03.014>.
14. Ghazanfari, S. H., Adib Moradi, M., & Rahimi Niat, F. (2015). Effects of different levels of *Artemisia sieberi* essential oil on intestinal morphology characteristics, microflora population and immune system in broiler chickens. *Journal of Veterinary Research*, 70(2), 195-202.
15. Hernandez, F., Madrid, J., Garcia, V., Orengo, J., & Megias, M. D. (2004). Influence of two plant extracts on broiler performance, digestibility and digestive organ size. *Poultry Science*, 83, 169-174. <https://doi.org/10.1093/ps/83.2.169>.
16. Hossain, M. M., Howlader, A. J., Islam, M. N., & Beg, M. A. (2014). Evaluation of locally available herbs and spices on physical, biochemical and economical parameters on broiler production. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 4(1), 317-322.
17. Jamroz, D., Wiliczekiewicz, A., Wiertelicki, T., Orda, J., & Skorupińska, J. (2005). Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. *British Poultry Science*, 46(4), 485-493. <https://doi.org/10.1080/00071660500191056>.
18. Karimi, A., Babayan, H., Nemati, Z., & Abdi, E. (2018). Effects of transient hypo- and hyper- thyroidism after

- extreme feed restriction on performance and ascites index of broiler chickens. *Animal Science Research*, 28(4), 165-180. (in Persian).
19. Lee, K. W., Everts, H., Frehner, M., & Beynen, A. C. (2004). Cinnamonaldehyde, but not thymol, counteracts the carboxymethyl cellulose-induced growth depression in female broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 3, 608-612. <https://doi.org/10.3923/ijps.2004.608.612>
20. Markovic, R., Sefer, D., Krstic, M., & Petrujkic, B. (2009). Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 41, 163-169. <https://doi.org/10.4067/s0301-732x2009000200010>.
21. Mirazi, N., Abdolmaleki, N., & Mahmoodi, M. (2013). Study of *Salvia officinalis* hydroethanolic extract on serum thyroid hormone levels in hypothyroid male rat. *Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences*, 19(4), 27-35.
22. Miraghaee, S. S., Heidary, B., Almasi, H., Shabani, A., Elahi, M., & Modaber, M. H. (2011). Effects of *Nigella sativa* powder (black seed) and *Echinacea purpurea* (L.) moench extract on performance, some blood biochemical and hematological parameters in broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 10(82) 19249–19254. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2891>.
23. Shams Shargh, M., Dastar, B., Zerehdaran, S., Khomeiri, M., & Moradi, A. (2012). Effects of using plant extracts and a probiotic on performance, intestinal morphology, and microflora population in broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 21, 201-208. <https://doi.org/10.3382/japr.2010-00145>
24. Sang-Oh, P., Chae-Min, R., Byung-Sung, P., & Jong, H. (2013). The meat quality and growth performance in broiler chickens fed diet with cinnamon powder. *Journal of Environmental Biology*, 34, 127-33.
25. Tabak, M., Armon, R., & Neeman, I. (1999). Cinnamon extracts inhibitory effect on *Helicobacter pylori*. *Journal of Ethnopharmacology*, 67(3), 269-277. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00054-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00054-9)
26. Talebi, A., Maham, M., Asri-Rezaei, S., Pournaghi, P., Khorram, M. S., & Derakhshan, A. (2021). Effects of *Nigella sativa* on performance, blood profiles, and antibody titer against newcastle disease in broilers. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2021/2070375>.
27. Talha, E., Abbas, E., & Mohamed, E. (2010). Effect of supplementation of *Nigella sativa* seeds to the broiler chicks' diet on the performance and carcass quality. *International Journal of Agricultural Sciences*, 2, 0975-3710. <https://doi.org/10.9735/0975-3710.2.2.9-13>.
28. Zhu, X., Gojzewski, H., Koshkina, O., & Wurm, F. R. (2024). Accelerated hydrolysis and degradation of polylactide nanocomposites using loaded silica nanocarriers. *Chemical Engineering Journal*, 491(2024), 151903.



Bioinformatics Analysis of Whole Genome Sequencing Data to Estimation of Genomic Inbreeding Coefficient and Identification of Runs of Homozygosity Islands in Pekin Duck

Hossein Mohammadi^{1*}, Amir Hossein Khaltabadi Farahani¹

1- Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran.

*Corresponding Author's Email: H-mohammadi64@araku.ac.ir

How to cite this article:

Received: 18-10-2024

Revised: 13-12-2024

Accepted: 22-02-2025

Available Online: 22-02-2025

Mohammadi, H., & Khaltabadi Farahani, A. H. (2025). Bioinformatics analysis of whole genome sequencing data to estimation of genomic inbreeding coefficient and identification of runs of homozygosity islands in Pekin duck. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(2), 205-216. (in Persian with English abstract)
<http://doi.org/0.22067/ijasr.2025.90291.1220>

Introduction: Ducks are more resilient to unfavorable environmental conditions than other poultry, making them less susceptible to disease. They are easy to raise and exhibit rapid growth. To meet the needs of industrial duck production, it is essential to develop meat, egg, and dual-purpose strains. This will help determine breeding costs and ensure the productivity required by the industry. High weight gain, a lower food conversion ratio, more eggs, and high egg fertility are the four main ways that the breeding population and herds should be taken into consideration, in accordance with the significance of the economic coefficients of breeding and the relative selection of the product. Designing breeding programs for ducks requires first identifying the genomic region linked to economic traits in duck populations. The management and breeding sciences should pay attention to the negative correlation coefficient with the egg production trait because a rise in one trait will result in a fall in the values of another trait. Molecular biology and biotechnology have made significant strides in recent years, giving researchers a potent tool for studying animal genetics. Decoding the genome information of this species has been made possible by powerful tools like next-generation sequencing technology. Following one another is known as a run of homozygosity (ROH). In light of this research, the current study sought to use whole genome sequencing data to identify the loci linked to the duck's egg production trait by performing an inbreeding coefficient, identifying the ROH Islands, and performing a functional analysis based on gene-set enrichment analysis.

Materials and Methods: There were 581 purebred Peking ducks used in this study. The animals hatched from the same batch and are of the same strain. Pronase was used to extract genomic DNA. A wavelength of 260 nm was used to measure the amount and concentration of DNA, and a wavelength ratio of 260/280 was used to assess the purity and quality of the extracted DNA. All of this information was obtained using a spectrophotometer. On the DNBSEQ-T7 platform, this DNA sample was subjected to whole-genome resequencing using a 150 bp paired-end read strategy and an average sequencing depth of 2.06×. To conduct additional analysis, the acquired reads 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/0.22067/ijasr.2025.90291.1220>

compared to the reference genome of the mallard duck. Using VCFtools (--min-alleles 2, --max-alleles 2) and PLINK (--geno 0.05 --maf 0.01 --mind 0.05), we implemented quality control to guarantee data quality. 581 individuals and 1,111,649 SNPs were retained for additional analysis following quality control. Run of homozygosity (FROH) was used to compute the inbreeding coefficient using the PLINK 1.9 program. A ROH Island was defined as one percent of the SNPs with the highest frequency in ROH. Assigning SNPs to genes, assigning genes to functional categories, and then analyzing the relationships between each functional category and the desired phenotype comprise the three main steps of gene set analysis analysis. To assign the genes to functions, a gene enrichment analysis was finally carried out using the DAVID software.

Results and Discussion: Based on FROH, the average pekin duck inbreeding coefficient was 0.204. There were 82,253 ROH segments found in all, with an average of 141 point 50 segments per person. ROH that consisted primarily of shorter segments (1–2 Mb) made up roughly 77–85% of all ROH. The larger ROH (>2 Mb) class, on the other hand, only made up 22–15% of all ROH segments. Chromosome 1 exhibited the highest ROH (Runs of Homozygosity) value, while chromosome 31 showed the lowest. The 91 identified ROH islands covered less than 1% of the sheep genome, with lengths ranging from 1.60 to 13 Mb. These ROH islands were located across nine genomic regions on chromosomes 1, 2, 3, 4, 5, 8, 13, 29, and 35. In this study, we discovered several sets of candidate genes associated with the duck egg production trait: COL1A2, FCHSD2, DAZAP1, and NSG1. Pathway analysis revealed that the egg production trait was linked to ten biological and gene ontology pathways. Certain genes were discovered to be involved in biological pathways linked to skeletal muscle growth and development, positive regulation of skeletal muscle fiber development, negative regulation of negative chemotaxis, release of sequestered calcium ions into the cytosol, and cellular response to hormone stimulus. These findings are in line with some earlier research. taking into account that the economic coefficient of duck egg production is very significant and more significant than the weight increase of breeding ducks and economic activity.

Conclusion: The findings of this study showed that the Pekin duck breed's selection processes for economic traits over a number of years have resulted in the formation of numerous ROH islands in the duck genome. As a result, scanning these regions at the genome level may be an alternate method of identifying genes and related loci with economic traits. Additionally, our findings aid in the design and implementation of breeding and conservation strategies for study ducks, as well as the understanding of genetic diversity and population demography.

Keywords: Candidate gene, Genomic data, GO Analysis, Pekin duck, Selection sweeps

بررسی بیوانفورماتیکی داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم در اردک پیکین به منظور تخمین میزان ضریب هم‌خونی ژنومی و شناسایی جزایر الگوهای هموزیگوسیستی

حسین محمدی^{*}، امیر حسین خلت‌آبادی فراهانی^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۴

چکیده

در گله‌های اردک همچون سایر گونه‌های دامی، شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفات مهم اقتصادی امری ضروری محسوب می‌شود. در این راستا، هدف از پژوهش حاضر، برآورد میزان ضریب هم‌خونی ژنومی و تجزیه و تحلیل عملکردی مناطق ژنومی کاندیدای مرتبط با تعداد تخم در اردک می‌باشد. در مجموع، از اطلاعات انفرادی ژنومی ۶۳۰ اردک که به‌وسیله پلتفرم DNBSEQ-T7 توالی‌یابی شده بودند، استفاده گردید. تخمین ضریب هم‌خونی، از طریق الگوی هموزیگوت ژنومی با برنامه PLINK محاسبه شد. به‌عنوان پیش‌فرض، یک درصد از نشانگرهای SNP با بالاترین فراوانی در قطعات هموزیگوت به‌عنوان جزایر ROH در نظر گرفته شدند. در نهایت، آنالیز غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی با استفاده از برنامه آنالیز DAVID انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان ضریب هم‌خونی محاسبه‌شده با الگوی هموزیگوسیستی ۰/۲۰۴ در اردک‌های پیکین می‌باشد. میانگین تعداد و طول ROH محاسبه‌شده در اردک‌ها برابر با ۱۴۱ و ۱/۵۲ مگابایت‌باز نوکلئوتیدی در هر پرند بود. همچنین، مجموع ۹۱ جزیره ROH با طول ۱/۶۰ تا ۱۳ مگاباز شناسایی شد. توزیع جزایر ROH در سرتاسر ژنوم یکنواخت نبود، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین تعداد جزایر ROH به‌ترتیب روی کروموزوم‌های شماره ۱ و ۳۱ مشاهده شدند. در تفسیر مجموعه‌های ژنی، تعداد ۱۰ مسیر هستی‌شناسی ژنی و بیوشیمیایی شناسایی شد. بررسی ژن‌های گزارش‌شده در این مناطق نشان داد که ژن‌های *COL1A2*، *DAZAP1*، *CHSD2* و *NSG1* عملکردهای مهمی را در ارتباط با فرآیند تخم‌گذاری-اندازی، تشکیل پوسته تخم و فسفریله کردن گلیکوپروتئین‌ها بر عهده دارند. ژن‌های متعددی که در نواحی شناسایی‌شده براساس عملکرد می‌توانند به‌عنوان کاندیداهای تحت انتخاب مطرح باشند. به هر حال، بررسی بیشتر ژن‌های مرتبط با مناطق ژنومی به‌دست‌آمده از مطالعات جستجوی پویش کل ژنومی ضروری است. استفاده از یافته‌های این تحقیق می‌تواند در درک سازوکار ژنتیکی کنترل‌کننده صفت تعداد تخم تولیدی مورد استفاده قرار گیرد، به‌طوری‌که در انتخاب ژنتیکی اردک از طریق پرندگان برتر، باعث تسریع در پیشرفت ژنتیکی برنامه‌های اصلاح نژادی شود.

واژه‌های کلیدی: آنالیز هستی‌شناسی، داده‌های ژنومی، ژن کاندیدا، نشانه‌های انتخاب

مقدمه

نیتروژنی را کاهش خواهد داد (Zhou et al., 2018).

اردک‌های نژاد پیکین یکی از نژادهای تجاری معروف دو منظوره و با تولید بالای تخم و کارایی خوراک مصرفی می‌باشد (Liu et al., 2021a). این نژاد در اصل از کشور چین سرچشمه می‌گیرد و به‌دلیل گوشت لذیذ و با کیفیتش، در بسیاری از کشورهای جهان به‌ویژه در ایالات متحده، به‌طور گسترده پرورش داده می‌شود (Zhu et al., 2020). اردک پیکین دارای بدنی بزرگ با پرهای سفید خالص و پاها و نوک نارنجی است. این اردک‌ها به‌دلیل رشد سریع و تولید گوشت زیاد و قابلیت جوجه‌درآوری مناسب، انتخابی ایده‌آل برای پرورش‌دهندگان هستند. علاوه بر این، اردک‌های پیکین به‌دلیل طبیعت آرام و سازگار

در سال‌های اخیر در کشورهای مختلف، گونه اردک به‌عنوان دومین پرند اقتصادی گونه ماکیان بعد از مرغ پرورش داده می‌شود (Sun et al., 2024). سودآوری در صنعت تولید و پرورش اردک به هزینه‌های ورودی و خروجی بستگی دارد. بنابراین، بهبود بازده خوراک، مقدار غذای مورد نیاز برای رشد، هزینه تولید و مقدار ضایعات

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران
(*)- نویسنده مسئول: (Email: H-mohammadi64@araku.ac.ir)
<http://doi.org/10.22067/ijasr.2025.90291.1220>

امروزه در حیوانات اهلی به‌طور گسترده‌ای از قطعات ROH برای تعیین میزان هم‌خونی ژنومی استفاده شده است. این مطالعات تأکید می‌کند که بین مناطق ژنومی که در معرض انتخاب مداوم هستند و ROH شناسایی شده ارتباط نزدیکی وجود دارد (Eydivandi et al., 2021). در حقیقت، در مناطق معرض انتخاب، تنوع مولکولی ژنتیکی کاهش یافته و به‌مرور جزایر هم‌خونی تشکیل می‌شود که هموزیگوسیتی بالاتری در مقایسه با سایر مناطق ژنوم دارند و در بین افراد یک نژاد شبیه هستند (Yurchenko et al., 2018).

مطالعات مختلف پوشش ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی و برآورد پارامترهای ژنتیکی مرتبط با کمیت و کیفیت تخم تولیدی با اهداف بهبود برنامه‌های اصلاح نژادی در اردک‌های نژاد پیکین انجام شده است (Oluwagbenga et al., 2022; Kroger et al., 2024; Zhou et al., 2024). داده‌های مورد استفاده در این پژوهش اولین بار توسط ژو و همکاران (Zhou et al., 2024) با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفت تولید تخم در سنین مختلف با استفاده از مطالعات پوشش کل ژنومی (GWAS) در اردک‌های نژاد پیکین مورد آنالیز قرار گرفته بودند. در آن تحقیق از مدل‌های خطی مختلط تک نشانگری و از تصحیح بنفرونی برای تعیین آستانه معنی‌داری استفاده شده بود، در مجموع ۲۴۸ نشانگر تک نوکلئوتیدی معنی‌دار مرتبط با صفت مورد مطالعه گزارش شده است. با بررسی منابع انجام شده، مطالعات مرتبط با برآورد ضریب هم‌خونی ژنومی و الگوی هموزیگوسیتی در اردک بسیار محدود می‌باشد. با بررسی ضریب هم‌خونی ژنومی و شناسایی الگوهای هموزیگوسیتی در چهار نژاد اردک‌های چینی، میزان ضریب هم‌خونی ژنومی براساس ROH نژادهای اردک Liancheng white، Shanma، Jinding و Putian black به ترتیب ۰/۱۴، ۰/۰۸، ۰/۱۳ و ۰/۰۶ گزارش شد. همچنین، جزایر ROH مشترک در بین چهار نژاد روی کروموزوم‌های شماره ۱، ۳ و ۲۱ قرار داشتند که بررسی بیولوژیکی ژن‌های موجود در این مناطق با ذخیره چربی، آدپتاسیون، رشد، اندازه بدن و تولیدمثل مرتبط بودند (Lin et al., 2022). به تازگی، پژوهشی با هدف برآورد ضریب هم‌خونی ژنومی و شناسایی جزایر ROH روی نژادهای اردک Ji'an red و ChaoHu گزارش کردند که میزان ضریب هم‌خونی برابر با ۰/۱۱۹ و ۰/۱۴۴ به ترتیب در نژادهای اردک Ji'an red و ChaoHu بود و بیشترین تعداد جزایر ROH روی کروموزوم‌های شماره ۲، ۱۰ و ۳۳ قرار داشتند (Lin et al., 2024).

بنابراین، با توجه به اینکه در طی سال‌های گذشته، اردک نژاد پیکین تحت انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی قرار گرفته است، احتمال می‌رود که بتوان، مناطقی از ژنوم این نژاد را شناسایی نمود که تحت انتخاب مثبت قرار گرفته بوده باشند. علاوه بر این، تا به امروز، هیچ پژوهشی در زمینه برآورد میزان ضرایب هم‌خونی ژنومی و شناسایی

خود، در میان پرورش‌دهندگان نیز محبوبیت بالایی دارند (Yu et al., 2024).

با پیشرفت‌های اخیر در تهیه تراشه‌های SNP طیور و استفاده از چندشکلی در تک نوکلئوتیدی‌ها به عنوان نشانگر، امکان پوشش کامل ژنوم و نقشه‌یابی با وضوح بالاتر که با روش‌های پیشین از قبیل نشانگرهای ریزماهواره و یا سایر نشانگرهای بیولوژیکی مقدور نبود، امکان‌پذیر گردید که بهبود صحت مکان‌یابی QTL‌ها و نواحی ژنومی مؤثر بر صفات تولیدی را در پی داشته است. استفاده از داده‌های کل ژنوم یا به‌طور کلی داده‌های DNA و به‌کارگیری آن می‌تواند زمینه‌ساز ورود به عصر پساژنومی در اصلاح نژاد پرندگان اهلی گردد (Li et al., 2024).

شاخص قطعات هموزیگوت ژنومی (ROH) یکی از ابزارهای نوین پرکاربرد، برای ارزیابی هم‌خونی ژنومی براساس داده‌های توالی‌یابی‌شده در سراسر ژنوم جمعیتی است. ROH‌ها، در واقع قطعاتی از جنس نوکلئوتید در سطح ژنوم می‌باشند که یکسان اجدادی هستند و از طریق جد مشترک به ارث می‌رسند و در طول زمان، با دور شدن از جد مشترک در اثر پدیده نوترکیبی شکسته می‌شوند (Gomez-Raya et al., 2015). قطعات ROH، به‌طور یکنواخت در سطح ژنوم توزیع نشده‌اند و در برخی از مکان‌های کروموزومی بیشتر دیده می‌شوند که به آن‌ها جزایر ROH^۲ یا نقاط داغ ROH گفته می‌شود. این مناطق، در طول زمان تحت اثر انتخاب مداوم شکل گرفته‌اند که منجر به تثبیت برخی از آلل‌ها در جمعیت در اثر فرآیند نشانه‌های انتخاب می‌شوند (Addo et al., 2021).

قطعات ROH، با طول نوکلئوتیدی بلند و کوتاه به ترتیب، بیانگر وقوع هم‌خونی‌های اخیر و هم‌خونی اجداد است. به عبارت دیگر، ROH کوتاه‌تر نشان‌دهنده از بین رفتن تنوع ژنتیکی است. همچنین، ROH‌های طولانی به احتمال زیاد در مناطق با نوترکیبی پایین و مکان‌های تحت انتخاب در ژنوم یافت می‌شوند. قطعات ROH اطلاعات ژنومی در خصوص تخمین تاریخچه تکاملی، برآورد سطح خویشاوندی و نشانه‌های انتخاب در جمعیت را فراهم می‌کند (Liu et al., 2021b). ضریب هم‌خونی براساس چهار روش، Run Of Homozygosity (F_{ROH})، ماتریس روابط خویشاوندی (F_{GRM})، میزان هموزیگوسیتی (F_{HO}) و همبستگی گامت‌ها (F_{UNI}) تخمین زده می‌شود. این نکته قابل ذکر است که برخلاف سه روش (F_{GRM}، F_{HO} و F_{UNI}) که برای برآورد هم‌خونی به فراوانی آلی وابسته هستند، برآوردهای مبتنی بر ROH به‌طور مستقیم منعکس‌کننده سطح هموزیگوسیتی است و تحت تأثیر فراوانی آلی قرار نمی‌گیرند (Almamun et al., 2015).

شناسایی جزایر ROH

مناطق ژنومی مرتبط با قطعات ROH با بیشترین فراوانی در ژنوم به‌عنوان نقاط داغ ROH یا جزایر ROH در نظر گرفته می‌شوند. بدین منظور، جزایر ROH با استفاده از نرم‌افزار PLINK (نسخه ۱/۹) با معیارهای زیر شناسایی شدند. حداقل تعداد SNP در ROH ۵۰ و حداقل طول هر ROH ۱۰۰ کیلو جفت‌باز در نظر گرفته شد. همچنین عنوان پیش‌فرض محاسبات، حداکثر یک هتروزیگوت در هر پنجره و دو ژنوتیپ گم‌شده در محاسبه جزایر ROH منظور شد. برای شناسایی جزایر ROH از فایل‌های خروجی PLINK استفاده شد، به‌طوری‌که تعداد دفعات ظهور SNP در ROH محاسبه و بر تعداد پرندگان تقسیم شد. یک درصد از SNP که بالاترین ظهور را در ROH داشتند و براساس فایل MAP بر روی کروموزوم پشت سر هم قرار گرفته بودند به‌عنوان جزایر ROH در نظر گرفته شد (Machová et al., 2023).

محدوده هر کدام از جزایر ROH در هر کروموزوم براساس جدیدترین نسخه ژنوم مرجع اردک (CAU_duck1.0) مشخص شد و اطلاعات استخراج‌شده در طول کروموزوم‌ها، با بسته نرم‌افزاری qqman برنامه R ترسیم شدند. برای شناسایی ژن‌های موجود در محدوده جزایر ROH از پایگاه اطلاعاتی برخط Genes 112 BioMart Database Ensemble به‌وسیله (www.ensembl.org/biomart) استفاده شد. جهت تعیین طبقات عملکردی ژنی و مسیرهای متابولیکی و تنظیمی ژن‌های معنی‌دار از پایگاه‌های اطلاعاتی شامل هستی‌شناسی ژن (GO, /http://www.geneontology.org)، مسیرهای بیوشیمیایی (KEGG, /http://www.genome.jp/kegg)، Panther (http://www.pantherdb.org)، BioCyc (http://www.BioCyc.org)، Reactome و (http://www.reactome.org) در نرم‌افزار آنالیز DAVID (https://davidbioinformatics.nih.gov/) انجام گردید. ارتباط-های معنی‌دار مسیرهای عملکردی با صفت تعداد تخم‌تولیدی با استفاده از توزیع فوق هندسی و آماره Fisher's exact test مورد آزمون قرار گرفت. برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست‌آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنالیز GeneCards (http://www.genecards.org) و UniProtKB (http://www.uniprot.org) استفاده شد.

نتایج و بحث

متوسط فراوانی آللی نادر، میانگین ضریب هم‌خونی ژنومی، حداقل و حداکثر در جدول ۱ ارائه شده است. برآورد فراوانی آلل نادر،

جزایر ROH روی ژنوم اردک نژاد پیکین انجام نشده است. بنابراین، هدف پژوهش حاضر، برآورد میزان هم‌خونی ژنومی و شناسایی توزیع جزایر ROH در سطح ژنوم اردک‌های نژاد پیکین با استفاده از اطلاعات نشانگرهای SNP موجود در سراسر ژنوم بود.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر از داده‌های توالی‌یابی‌شده کل ژنوم ۶۳۰ قطعه اردک خالص نژاد پیکین استفاده شد (Zhou et al., 2024). توالی-یابی کل ژنوم به‌صورت paired-end توسط شرکت MGI به‌وسیله پلتفرم DNBSEQ-T7 انجام شده بود. داده‌های تعیین ژنوتیپ‌شده مورد استفاده در این پژوهش در پایگاه برخط Figshare به آدرس <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.25001777.v1> در دسترس می‌باشد. ابتدا نشانگرهای SNP شناسایی‌شده از ایندل جدا شده و با استفاده از برنامه GATK (McKenna et al., 2010) فیلتر شده بودند. سپس، با استفاده از برنامه PLINK (Purcell et al., 2007)، SNP‌های دو آللی با حداقل فراوانی آللی بزرگ‌تر یا مساوی ۰/۰۱ که حداقل در ۹۵ درصد افراد دارای ژنوتیپ مشخص و نشانگر SNP بودند، حفظ شده و مابقی حذف شدند. در نهایت، ۱۱۱۱۶۴۹ نشانگر SNP و ۵۸۱ قطعه اردک بعد از مراحل مختلف کنترل کیفیت باقی ماندند.

روش تخمین میزان هم‌خونی ژنومی

روش‌های تخمین میزان هم‌خونی ژنومی با استفاده از دستور--Run Of homozyg در نرم‌افزار PLINK (نسخه ۱/۹) (Homozygosity تعریف شد. سپس، با استفاده از خروجی نرم‌افزار، برای هر فرد با استفاده از معادله ۱ در فواصل مشخص ROH مطابق روش پیشنهادی ال-مأمون و همکاران (Al-Mamun et al., 2015) محاسبه گردید.

$$l = \frac{\log_e\left(\frac{n_s}{n_s \cdot n_i}\right)}{\log_e(1 - het)} \quad (1)$$

که در آن، l: برابر با حداقل تعداد SNP‌ها در ROH، n_s : تعداد SNP‌های ژنوتیپ‌شده برای هر فرد، n_i : تعداد افراد، het: میانگین هتروزیگوسیتی تمام SNP‌ها و α : درصد اشتباه مثبت ROH (α) در این مطالعه ۰/۰۵ است. در نهایت، با استفاده از معادله ۲ ضریب هم‌خونی برای هر یک از نژادها براساس F_{ROH} برآورد شد.

$$F_{ROH} = \frac{\sum L_{ROH}}{\sum L_{AUTO}} \quad (2)$$

که در آن، L_{ROH} : مجموع طول‌های ROH در ژنوم هر حیوان و L_{AUTO} : طول کل پوشش اوتوزوم‌ها است. میانگین تعداد پوشش ROH در فواصل و گروه‌بندی‌های کمتر از ۱، ۱-۲، ۲-۳ و ۳-مگا-باز برای هر فرد محاسبه شد.

شده است (Tian et al., 2023). در مطالعه‌ای بر روی نژادهای مختلف اردک‌های اروپایی شامل Long-tailed و velvet scoter میزان F_{ROH} به ترتیب برابر با ۰/۰۶۳ و ۰/۰۴۷ گزارش شده است (Cádiz et al., 2024). رویکردهای شدید انتخابی، جمعیت را از حالت تعادل هاردی-واینبرگ خارج و باعث افزایش هم‌خونی می‌شود که این حالت در مورد این نژاد بیشتر ملموس است. این نتایج نشان می‌دهد که اردک‌های نژاد پیکین دارای تنوع ژنتیکی پایینی بوده و اخیراً، هم‌خونی در آن‌ها اتفاق افتاده است و این ممکن است به دلیل آمیزش بالاتر بین افراد خویشاوند باشد.

به‌طور گسترده‌ای در مطالعات ژنتیک جمعیت مورد استفاده قرار می‌گیرد، به دلیل اینکه اطلاعاتی در مورد تمایز بین واریانت‌های رایج و نادر در جمعیت فراهم می‌کند. متوسط فراوانی آلل نادر در حدود ۰/۲۶۱ به دست آمد که با نتایج پژوهش‌های پیشین هم‌خوانی دارد (Shen et al., 2024). میانگین F_{ROH} به دست آمده در پژوهش حاضر برابر با ۰/۲۰۴ بود. حداقل و حداکثر F_{ROH} در نژاد پیکین به ترتیب ۰/۱۴۵ و ۰/۳۰ به دست آمد. ضریب هم‌خونی ژنومی در اردک‌های نژاد Kaijiang براساس روش F_{ROH} ۰/۱۰ برآورد شده است (Shen et al., 2024). همچنین، در مطالعه‌ای، میزان ضریب هم‌خونی براساس شاخص F_{ROH} در مرغان نژاد Wenchang ۰/۰۵۶ گزارش

جدول ۱- خلاصه میانگین حداقل فراوانی آللی و برآورد ضریب هم‌خونی با روش الگوی هموزیگوسیتی در اردک‌های نژاد پیکین
Table 1- Summary of Mean minor allele frequency and estimation of inbreeding coefficients with ROH in duck breed

نژاد Breed	متوسط فراوانی آللی نادر Minor Allele Frequency	ضریب هم‌خونی Inbreeding coefficient		
		حداکثر F_{ROH} Max F_{ROH}	حداقل F_{ROH} Min F_{ROH}	میانگین F_{ROH} Average F_{ROH}
پیکین Pekin	0.261	0.300	0.145	0.204

(2014).

علاوه بر این، مناطق ژنومی تحت فشارهای انتخابی زیاد، اغلب تنوع ژنتیکی کم و فراوانی هموزیگوسیتی را نشان می‌دهند. در مطالعاتی که الگوی تعداد قطعات ROH را در سطح ژنوم گونه‌های دیگر مورد بررسی قرار گرفته است، گزارش شد که انتخاب ژنتیکی ممکن است نقش مهمی در توزیع تعداد این قطعات در سطح ژنوم داشته باشد. در شکل ۱، رابطه بین تعداد کل قطعات ROH و طول هر کروموزوم در هر پرنده را نشان می‌دهد. رابطه بین درصد پوشش ROH ها و طول کروموزوم‌ها از الگوی خاصی پیروی نکردند، هرچند با کاهش طول کروموزوم‌ها، نسبت اندازه ROH ها تا حدودی بالاتر رفت (شکل ۱). کمترین تعداد ROH در کروموزوم ۳۱ (۱۵۳ قطعه) یافت شد، درحالی که بیشترین تعداد ROH در کروموزوم شماره ۱ (۱۳۶۵۹ قطعه) مشاهده شد.

خلاصه تعداد و طول ROH در جدول ۲ ارائه شده است. در این مطالعه از مجموع تعداد ۸۲۲۵۳ ROH در اردک‌های نژاد پیکین با میانگین ۱۴۱ تعداد ROH و میانگین طول ۱/۵۱ مگاباز در هر پرنده مشاهده شد. همچنین در جدول ۳، تعداد قطعات هموزیگوت ژنومی همراه با درصد پوشش ژنومی آن‌ها در چهار فاصله گروه‌بندی ارائه شده است. بیش از ۷۸ درصد از ROH های مشاهده شده، طول کمتر از دو مگاباز داشتند. ROH کوتاه‌تر نشان‌دهنده از بین رفتن تنوع ژنتیکی است. همچنین ROH های طولانی به احتمال زیاد در مناطق با نوترکیبی پایین و مکان‌های تحت انتخاب در ژنوم یافت می‌شوند (Zhang et al., 2015).

طول و فراوانی قطعات ROH می‌تواند تاریخچه، تنگه‌های ژنتیکی و همچنین، نشانه‌های انتخاب را در جامعه مورد نظر تعیین کند. در نتیجه، می‌توان گفت که آمیزش خویشاوندی در این نژاد رایج بوده است. مناطق هموزیگوت طولانی و توزیع ROH ناشی از جفت‌گیری افراد خویشاوند به فهم تاریخچه جمعیت کمک می‌نماید (Curik et al., 2015).

جدول ۲- خلاصه آمار تعداد مناطق و طول ROH در اردک‌های نژاد پیکین
Table 2- Summary of statistics on the number of ROH regions and Length of pekin breed duck

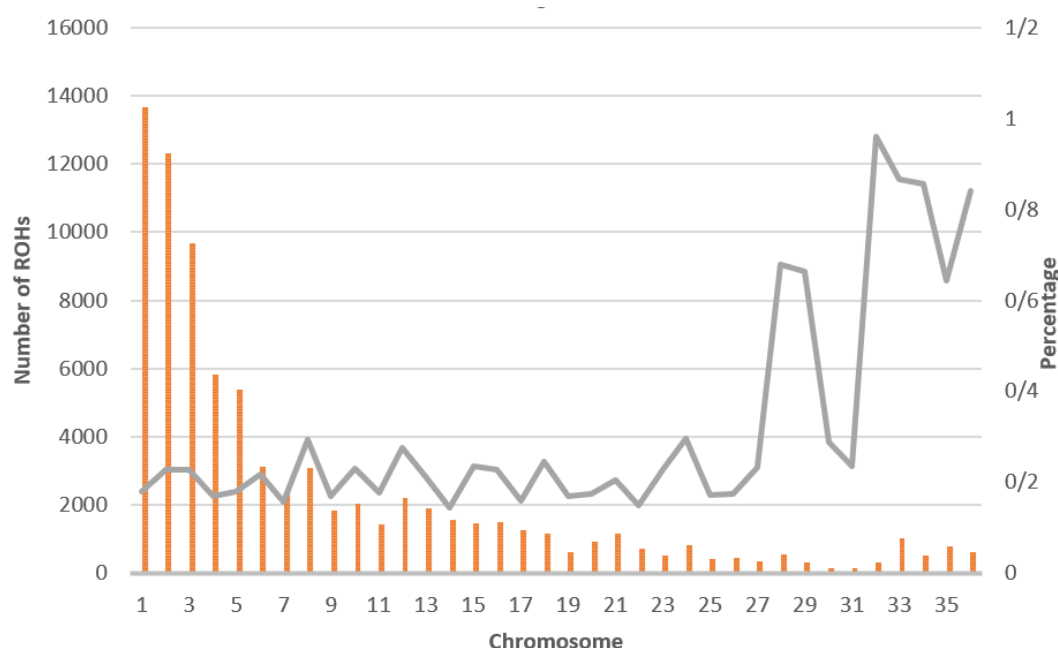
نژاد Breed	طول ROH (مگا باز) Length ROH			تعداد قطعات ROH Number of ROH		
	میانگین Average	حداکثر Max	حداقل Min	میانگین Average	حداکثر Max	حداقل Min
پیکین Pekin	1.51	19/58	0.503	141.5	298	1

جدول ۳- خلاصه آمار توصیفی تعداد قطعات همزیگوت ژنومی، طول قطعات و درصد پوشش ژنومی در چهار دسته‌بندی طولی
Table 3- Descriptive statistics of runs of homozygosity (ROH) numbers and lengths (in Mb) by ROH length classes

طول ROH	تعداد ROH	درصد	میانگین طول	پوشش ژنوم
ROH length (Mb)	ROH number	Percent (%)	Mean length (Mb)	Genome coverage (%)
0-1	36920	44.89	0.704	40.66
1-2	27117	32.96	1.414	33.59
2-3	10304	12.53	2.450	14.09
3>	7912	9.62	4.556	11.66
مجموع Total	82253	100	1.510	100

انتخابی از نظر صفات اقتصادی و نیز سیستم‌های تولید و پرورش است. تعداد ROH در نژاد اردک پیکین به‌وضوح نسبت به سایر نژادها بزرگ‌تر است که به احتمال زیاد آمیزش بین افراد نزدیک و خویشاوند در نژاد پیکین بیشتر انجام شده است (Lin et al., 2022; al., 2024).

بیشترین پوشش ROH در کروموزوم ۳۲ مشاهده شد، درحالی‌که کمترین آن در کروموزوم شماره ۲ بود که نشان می‌دهد کروموزوم‌های با پوشش ROH بالا ممکن است تحت تأثیر انتخاب مثبت قرار گرفته باشند که در نتیجه، تجمع آلل‌های مفید را در کروموزوم افزایش می‌دهد. به‌طور کلی، الگوهای توزیع ROH در این مطالعه نشان داد که هم‌خونی نژاد مورد مطالعه متناسب با سطح فشار



شکل ۱- توزیع تعداد کل ROHها و درصد پوشش هر کروموزوم در جمعیت اردک‌های نژاد پیکین

Figure 1- Distribution of the total number of ROHs and the percentage of coverage of each chromosome in the population of Pekin ducks

ستون‌های عمودی تعداد کل ROHها را در هر کروموزوم نشان می‌دهد و خط خاکستری درصد کروموزوم‌های پوشیده‌شده با ROH را نشان می‌دهد.

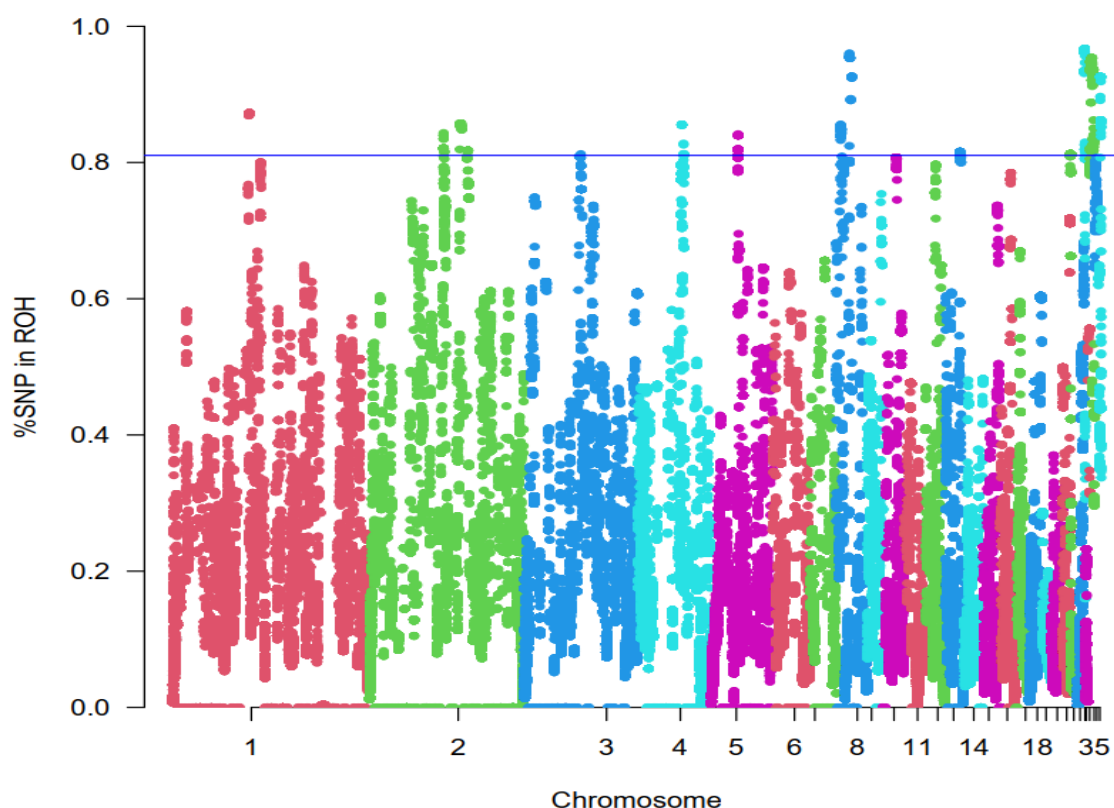
The vertical columns show the total number of ROHs per chromosome, and the gray line shows the percentage of chromosomes covered by ROH

(2024). در این مطالعه، حد آستانه سختگیرانه‌تری برای انتخاب جزایر ROH منظور شد. به‌طور کلی، ۹۱ جزیره ROH با طول ۱/۶۳ تا ۱۳ مگاجفت‌بازی شناسایی شد که کمتر از سه درصد از ژنوم اردک بود. توزیع جزایر ROH در ژنوم یکنواخت نبود و بیشترین جزایر ROH

برای بررسی‌های بیشتر یک درصد از نشانگرهای SNP با بیشترین ظهور در قطعات هموزیگوت ژنومی، به‌عنوان جزایر ROH در نظر گرفته شد. آستانه مشابهی در مطالعات مختلف گونه اردک و مرغ در نظر گرفته شده است (Lin et al., Tian et al., 2023);

از نکات قابل توجه در این پژوهش این بود که روی کروموزوم-های شماره ۲۲، ۲۴، ۲۶، ۲۷، ۳۰ و ۳۴ هیچ جزیره ROH یافت نشدند. این موضوع ناشی از آن است که ژنهای اقتصادی مهم و QTLهای مرتبط با صفات رشد و تولید کمتر روی این کروموزومها قرار گرفته‌اند یا به دلیل ناقص بودن حاشیه‌نویسی ژنوم اردک هنوز شناسایی نشده‌اند. بیشتر جزایر ROH فراوان بر روی کروموزومهای شماره‌های ۸، ۲۹ و ۳۲ قرار گرفته‌اند (شکل ۲).

روی کروموزومهای شماره‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۸، ۱۳، ۲۹ و ۳۲ قرار داشت (شکل ۲). توزیع جزایر ROH در سراسر ژنوم به دلیل نوترکیبی، عدم تعادل پیوستگی و انتخاب یکسان نمی‌باشند. در مطالعه‌ای با هدف شناسایی جزایر ROH در اردک‌های نژاد Kaijiang در مجموع، ۱۶۸ جزیره ROH با طول ۳/۵-۲/۵ مگابایت باز شناسایی شد که ۱۰ ژن در محدوده این جزایر قرار داشتند که بیشتر در ارتباط با متابولیسم بدن و تولید تخم بودند (Shen et al., 2024).



شکل ۲- پلات منهتن توزیع جزایر ROH بر روی کروموزومهای مختلف اردک‌های نژاد پیکین

Figure 2- Manhattan plot of the distribution ROH Island on different chromosomes in Pekin duck breed

خط ترسیم‌شده نشان‌دهنده یک درصد از SNPهایی که بالاترین ظهور را در کل ROH داشتند

The values above the line are in the 1% threshold of SNPs incidence in the total number of ROH

مسیرهای تنظیم مثبت ترشح هورمون پپتیدی^۱ و تنظیم فعالیت انتقال‌دهنده غشایی یون کلسیم^۲ به دست آمد که جزء فرآیندهای زیستی می‌باشد. از میان ژنهای کاندیدای موجود در این مسیرها، ژنهای *CSMD1* و *FCHSD2* بیشترین ارتباط را با تولید تخم نشان دادند. در مطالعه‌ای که با هدف آنالیز ترانسکریپتوم در تخمدان و بخش‌هایی از اویدوکت (مگنوم، ایستموس و رحم) در طول زمان

با توجه به اینکه داده‌های مورد استفاده در پژوهش حاضر مربوط به سویه تخم‌گذار اردک‌های نژاد پیکین بود، در نتیجه تجزیه و تحلیل عملکردی و مسیرهای هستی‌شناسی و بیوشیمیایی معنی‌دار مرتبط با فرآیند تولید تخم مورد بررسی دقیق‌تر انجام گردید که در این بخش بیشتر بحث می‌شود.

طبقات عملکردی مختلف هستی‌شناسی و مسیرهای بیوشیمیایی مرتبط با صفت تخم‌تولیدی در کل دوره تولید در جدول ۴ ارائه شده است. از مسیرهای هستی‌شناسی معنی‌دار مرتبط با تعداد تخم در غاز،

1- Positive regulation of peptide hormone secretion

2- Regulation of calcium ion transmembrane transporter activity

مهم‌ترین مسیرهای مؤثر بر فرآیند تولید تخم اردک دانست. در این مسیر، پروتئین‌های هدف فسفریله می‌شوند. فسفریلاسیون پروتئین نقش مهمی در بسیاری از فرآیندهای سلولی دارد. از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر مرتبط با وزن تخم می‌توان ژن *NSG1* را نام برد. ژن کاندیدای *NSG1* از جمله ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات تولید تخم است، به‌طوری‌که افزایش بیان ژن کلیدی *NSG1* در توسعه فولیکول تخمدانی و تخمک‌اندازی گزارش شده است. همچنین در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با تولید تخم در غازهای نژاد Lingxian white، ژن کاندیدای *NSG1* مرتبط با تعداد تولید تخم گزارش شده است (Zheng et al., 2023).

با توجه به عملکرد بیولوژیکی ژن‌های کاندیدای شناسایی شده مرتبط با صفت تولید تخم در این پژوهش، به نظر می‌رسد که این ژن‌ها در بروز فنوتیپی صفت مورد پژوهش در اردک نژاد پیکین نقش ایفا می‌کنند. با بررسی چند شکلی موجود در ژن‌های کاندیدای شناسایی شده مرتبط با صفت تولید تخم از طریق مطالعات آزمایشگاهی مانند PCR-RFLP و PCR-SSCP در اردک پیکین و در صورت تأیید نتایج به‌دست‌آمده را برای مطالعات اصلاحی به کار برد. البته به‌دلیل اطلاعات ناقص مربوط به عملکرد ژن‌ها در گونه اردک و همچنین کوچک بودن جمعیت مورد استفاده در این مطالعه، مطالعات گسترده‌تر با تعداد نمونه‌های بیشتر و تجزیه و تحلیل چند جمعیت جداگانه، ادغام داده‌های تحقیقات مشابه جدید و استفاده از آنالیزهای آماری جامع‌تر درک بهتری از ژن‌های کاندید مرتبط با تولید تخم در جمعیت اردک ایجاد خواهد کرد. در مجموع، نتایج این تحقیق می‌تواند منابع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی ژن‌های متمایزکننده و شناسایی نواحی ژنومی کاندیدا برای صفت مهم اقتصادی مورد مطالعه فراهم آورد.

تشکیل تخم‌مرغ انجام گرفته شده است، ژن *CSMD1* جزء ژن‌های کاندیدای معنی‌دار مرتبط با تشکیل آلبومین دارای ۳/۲ fold change بود (Chen et al., 2021). همچنین ژن کاندیدای *FCHSD2* در بین ژن‌های این مجموعه ژنی قرار داشت و محصول این ژن، پروتئینی مرتبط با کانال کلسیمی است. این کانال با تغییر پتانسیل الکتریکی غشاء و یا با افزایش غلظت درون سلولی کلسیم باز شده و پتاسیم به درون سلول وارد می‌شود و سبب برقراری تعادل الکتریکی در دو طرف غشاء می‌شود (www.uniprot.org). در مطالعه‌ای با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با رشد در اردک‌های تخم-گذار، ارتباط معنی‌داری از ژن *FCHSD2* گزارش شده است (Yang et al., 2024).

مسیر معنی‌دار دیگر مرتبط با تعداد تخم تولیدی، مسیر سیگنال‌دهی مرتبط با سیتوکین^۱ شامل ژن کاندیدای *COL1A2* بود. ژن *COL1A2* در فسفریله کردن گلیکوپروتئین‌ها و تشکیل استخوان در انسان و موش از طریق تفرق سلول‌های استئوبلاست نقش کلیدی دارد (Zhou et al., 2020). در مطالعه سان و همکاران (Sun et al., 2024) ارتباط معنی‌داری را بین ژن *COL1A2* با صفت تشکیل ماتریکس پوسته تخم‌مرغ در اردک‌های نژاد Longyan Shan-ma گزارش کردند.

از مسیرهای دیگر فرآیندهای زیستی معنی‌دار مرتبط با تعداد تولید تخم می‌توان به مسیرهای تنظیم مثبت رشد فیبر عضلانی اسکلتی^۲ و تنظیم منفی کموتاکسی‌های منفی^۳ اشاره کرد. از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر، ژن‌های کاندیدای *MPP5* و *DAZAP1* در مطالعات قبلی در ارتباط با تولید تخم گزارش شده‌اند. ژن‌های خانواده *MPP* از جمله *MPP5* در هموستازی فیبرهای ماهیچه‌ای و ماتریکس خارج سلولی نقش مهمی ایفا می‌نمایند. همچنین، گزارش شده است که ژن‌های خانواده *MPP* می‌توانند با تخریب بافت‌های هم‌بند و کلاژنی اطراف فیبرهای ماهیچه‌ای موجب بازسازی ماتریکس خارج سلولی فیبرهای ماهیچه‌ای شوند (www.genecards.org). جایگاه ژنی *MPP5* جزء مکان‌های تحت انتخاب نژادهای مرغ مصری گزارش شده است (Walugembe et al., 2019). همچنین، در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با تولید تخم در اردک‌های نژاد Shaoxing، ژن کاندیدای *DAZAP1* مرتبط با تعداد تولید تخم در سن ۶۶ هفتگی گزارش شده است (Xu et al., 2022).

شاید بتوان مسیر پاسخ سلولی به محرک هورمونی^۴ را یکی از

- 1- Cytokine-mediated signaling pathway
- 2- Positive regulation of skeletal muscle fiber development
- 3- Negative regulation of negative chemotaxis
- 4- Cellular response to hormone stimulus

جدول ۴- تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی معنی‌داری ($P < 0.05$) مرتبط با صفت تولید تخم در اردکTable 4- Gene set enrichment analysis significantly associated with egg production trait in duck ($P < 0.05$)

شناسه هستی‌شناسی GO ID	ترم هستی‌شناسی Term GO	تعداد ژن‌های موجود در مسیر No. genes in the GO term	ژن‌های مرتبط Related genes ¹	P-تصحیح‌شده P-adjust
فرآیند بیولوژیکی Biological process				
GO:0090277	Positive regulation of peptide hormone secretion	14	<i>LAMA2, LAMC2, ITGB3, ITGA2B, LAMB4, GP1BA, ITGB8, LAMA1, LAMB2, CSMD1</i>	0.039
GO:0019221	Cytokine-mediated signaling pathway		<i>GAB2, FOXO1, COL1A2, VEGFA, MYC, ZC3H15, NOX3, FOXO1, FTO</i>	0.036
GO:1901019	Regulation of calcium ion transmembrane transporter activity	16	<i>LOC101803633, AKR1D1, SRD5A3, HSD11B2, FCHSD2, SRD5A1, LOC101795569, LOC101803865, LOC101790812, THYN1, EHHADH, ACOX3, SCD, ACSBG1, ACAD8, OXSM, ACSBG2, ACSL1, ACOX1, TECR, ACSL5, ACAT2, HACD1, FADS1, FADS2, SCD5, ELOVL2, DAZAP1, LOC101790524, ALDOB, ALDH7A1, ALDH18A1, ASL, MAT2B, ASS1, MPP5, CTH, PFKM, PFKL, AADAT, GAPDH, CPS1</i>	0.048
GO:0030241	Negative regulation of negative chemotaxis	26	<i>NSG1, PRKAB2, G6PC2, PRKAR2A, PDE3B, SH2B2, GYS2, SOCS4, TSC1, IKBKB, GSK3B, SORBS1, INSR, SOS1, PYGL, SHC4, MAP2K1</i>	0.017
GO:0051592	Positive regulation of skeletal muscle fiber development	36	<i>PLA2G3, ENPP2, LA2G1B, PLB1, ENPP6, PLA2G4F, PLD4, PLA2G4B</i>	0.021
GO: 0043434	Response to a peptide hormone stimulus	18		0.023
GO:0044381	Glucose import in response to insulin stimulus	37		0.0209
اجزای سلولی Cellular component				
GO:0005886	Plasma membrane	43	<i>AVPR1B, CDH11, SVIL, CAMK1G, PRKCH, ANO4, GAB2, NOX3, PKP4, PDCD10, PCDH1, CPNE4, CDH8, DLGAP1, PRKG1, MARK1, NLK, NKAIN4, PIP4K2A, SHROOM2, MYH10, CLDN2</i>	0.045
عملکرد مولکولی Molecular Function				
GO:0005515	Protein binding	95	<i>CPNE4, ETS1, PRKCH, INTS4, NR4A2, MSI2, EBF1, EPHA10, RTEL1, BICD2, TJAP1, NMUR2, EXOC5, GLRA1, CCDC174, PTPRG, ARHGAP32, PRLHR, CMTM6, CMTM7</i>	0.023
GO:0003700	DNA-binding transcription factor activity	13	<i>TGIF2, BMPR1A, BAMBI</i>	0.049

¹ ژن‌های اصلی مرتبط با صفت به صورت پررنگ نشان داده شده‌اند.¹ Main genes associated with trait are shown in bold.

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش، میزان هم‌خونی ژنومی با استفاده از توالی‌یابی کل ژنوم در اردک‌های نژاد پیکین مورد بررسی قرار گرفت. برآورد میانگین ضریب هم‌خونی ژنومی براساس الگوی هموزیگوسیتی ۰/۲۱ برآورد گردید. قطعات طولانی ROH در این نژاد، نشانگر هم‌خونی

اخیر است. به نظر می‌رسد که انتخاب برای صفات اقتصادی مهم منجر به تشکیل جزایر ROH در اطراف نواحی هدف انتخاب می‌گردد، از این‌رو، پویش ژنومی این جزایر می‌تواند به‌عنوان رویکرد جایگزین برای شناسایی ژن‌ها و جایگاه‌های مرتبط با صفات مهم اقتصادی مورد توجه قرار گیرد.

References

- Addo, S., Klingel, S., Thaller, G., & Hinrichs, D. (2021). Genetic diversity and the application of runs of homozygosity-based methods for inbreeding estimation in German White-headed Mutton sheep. *PLoS One*, 16, e0250608. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250608>
- Almamun, H. A., Clark, S. A., Kwan, P., & Gondro, C. (2015). Genome-wide linkage disequilibrium and genetic diversity in five populations of Australian domestic sheep. *Genetic Selection Evolution*, 47, 90. <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0169-6>
- Cádiz, M. I., Tengstedt, A. N. B., Sørensen, I. H., Pedersen, E. S., Fox, A. D., & Hansen, M. M. (2024). Demographic history and inbreeding in two declining sea duck species inferred from whole-genome sequence data. *Evolutionary Applications*, 17(9), e70008. <https://doi.org/10.1111/eva.70008>
- Chen, X., Sun, X., Chimbaka, I. M., Qin, N., Xu, X., Liswaniso, S., Xu, R., & Gonzalez, J. M. (2021). Transcriptome analysis of ovarian follicles reveals potential pivotal genes associated with increased and decreased rates of chicken egg production. *Frontiers in Genetics*, 12, 622751. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.622751>
- Curik, I., Ferenčaković, M., & Sölkner, J. (2014). Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Livestock Science*, 166, 26-34. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.034>
- Eydivandi, S., Roudbar, M. A., Karimi, M. O., & Sahana, G. (2021). Genomic scans for selective sweeps through haplotype homozygosity and allelic fixation in 14 indigenous sheep breeds from Middle East and South Asia. *Scientific Reports*, 11(1), 2834. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82625-2>
- Gomez-Raya, L., Rodríguez, C., Barragán, C., & Silió, L. (2015). Genomic inbreeding coefficients based on the distribution of the length of runs of homozygosity in a closed line of Iberian pigs. *Genetic Selection Evolution*, 47, 81. <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0153-1>
- Kroger, C. A., Lee, W., Fraley, G. S., Brito, L. F., & Karcher, D. (2024). Genetic parameters for egg quality traits in Pekin ducks. *Poultry Science*, 103(12), 104264. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104264>. Epub ahead of print.
- Li, T., Wang, Y., Zhang, Z., Ji, C., Zheng, N., & Huang, Y. (2024). A comparative analysis reveals the genomic diversity among 8 Muscovy duck populations. *G3 (Bethesda)*, 14(7), jkae112. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkae112>
- Lin, R., Li, J., Yang, Y., Yang, Y., Chen, J., Zhao, F., & Xiao, T. (2022). Genome-wide population structure analysis and genetic diversity detection of four Chinese indigenous duck breeds from Fujian province. *Animals (Basel)*, 12(17), 2302. <https://doi.org/10.3390/ani12172302>
- Lin, R., Li, H., Lin, W., Yang, F., Bao, X., Pan, C., Lai, L., & Lin, W. (2024). Whole-genome selection signature differences between Chaohu and Ji'an red ducks. *BMC Genomics*, 25(1), 522. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10339-6>
- Liu, H., Wang, L., Guo, Z., Xu, Q., Fan, W., Xu, Y., Hu, J., Zhang, Y., Tang, J., Xie, M., Zhou, Z., & Hou, S. (2021a). Genome-wide association and selective sweep analyses reveal genetic loci for FCR of egg production traits in ducks. *Genetic Selection Evolution*, 53(1), 98. <https://doi.org/10.1186/s12711-021-00684-5>
- Liu, J., Shi, L., Li, Y., Chen, L., Garrick, D., Wang, L., & Zhao, F. (2021b). Estimates of genomic inbreeding and identification of candidate regions that differ between Chinese indigenous sheep breeds. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12(1), 95. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00608-9>
- Machová, K., Marina, H., Arranz, J. J., Pelayo, R., Rychtářová, J., Milerski, M., Vostrý, L., & Suárez-Vega, A. (2023). Genetic diversity of two native sheep breeds by genome-wide analysis of single nucleotide polymorphisms. *Animal*, 17(1), 100690. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100690>. Epub 2022 Dec 1
- McKenna, A., Hanna, M., Banks, E., Sivachenko, A., Cibulskis, K., Kernytsky, A., Garimella, K., Altshuler, D., Gabriel, S., & Daly, M. (2010). The genome analysis toolkit: A MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Research*, 20, 1297-1303. <https://doi.org/10.1101/gr.107524.110>. Epub 2010 Jul 19
- Oluwagbenga, E. M., Tetel, V., Schober, J., & Fraley, G. S. (2022). Chronic heat stress part 1: Decrease in egg quality, increase in cortisol levels in egg albumen, and reduction in fertility of breeder Pekin ducks. *Frontiers in*

- Physiology*, 13, 1019741. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1019741>
17. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I., & Daly, M. J. (2007). PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81, 559–575. <https://doi.org/10.1086/519795>
 18. Shen, Z., Zhang, T., Twumasi, G., Zhang, J., Wang, J., Xi, Y., Wang, R., Wang, J., Zhang, R., & Liu, H. (2024). Genetic analysis of a Kaijiang duck conservation population through genome-wide scan. *British Poultry Science*, 65(4), 378–386. <https://doi.org/10.1080/00071668.2024.2335937>
 19. Sun, Y., Li, Y., Jiang, X., Wu, Q., Lin, R., Chen, H., Zhang, M., Zeng, T., Tian, Y., Xu, E., Zhang, Y., & Lu, L. (2024). Genome-wide association study identified candidate genes for egg production traits in the Longyan Shan-ma duck. *Poultry Science*, 103(9), 104032. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104032> . Epub 2024 Jun 27
 20. Tian, S., Tang, W., Zhong, Z., Wang, Z., Xie, X., Liu, H., Chen, F., Liu, J., Han, Y., Qin, Y., Tan, Z., & Xiao, Q. (2023). Identification of runs of homozygosity islands and functional variants in Wenchang chicken. *Animals (Basel)*, 13(10), 1645. <https://doi.org/10.3390/ani13101645>
 21. Walugembe, M., Bertolini, F., & Dematawewa, C. M. B. (2019). Detection of selection signatures among Brazilian, Sri Lankan, and Egyptian chicken populations under different environmental conditions. *Frontiers in Genetics*, 9, 737. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00737>
 22. Xu, W., Wang, Z., Qu, Y., Li, Q., Tian, Y., Chen, L., Tang, J., Li, C., Li, G., Shen, J., Tao, Z., Cao, Y., Zeng, T., & Lu, L. (2022). Genome-wide association studies and haplotype-sharing analysis targeting the egg production traits in Shaoxing duck. *Frontiers in Genetics*, 13, 828884. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.828884>
 23. Yang, Z., Xi, Y., Qi, J., Li, L., Bai, L., Zhang, J., Lv, J., Li, B., & Liu, H. (2024). Genome-wide association studies reveal the genetic basis of growth and carcass traits in Sichuan Shelduck. *Poultry Science*, 103(11), 104211. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104211> . Epub 2024 Aug 14
 24. Yu, J. Z., Zhou, J., Yang, F. X., Hao, J. P., Hou, Z. C., & Zhu, F. (2024). Genome-wide association analysis identifies important haplotypes and candidate gene *XKR4* for body size traits in Pekin ducks. *Animals (Basel)*, 14(16), 2349. <https://doi.org/10.3390/ani14162349>
 25. Yurchenko, A. A., Daetwyler, H. D., & Yudin, N. (2018). Scans for signatures of selection in Russian cattle breed genomes reveal new candidate genes for environmental adaptation and acclimation. *Scientific Reports*, 8, 12984. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31304-w>
 26. Zhang, Q., Guldbrandsen, B., Bosse, M., Lund, M. S., & Sahana, G. (2015). Runs of homozygosity and distribution of functional variants in the cattle genome. *BMC Genomics*, 16(1), 542. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1715-x>
 27. Zheng, S., Ouyang, J., Liu, S., Tang, H., Xiong, Y., Yan, X., & Chen, H. (2023). Genomic signatures reveal selection in Lingxian white goose. *Poultry Science*, 102(1), 102269. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102269> . Epub 2022 Oct 21
 28. Zhou, J., Yu, J. Z., Zhu, M. Y., Yang, F. X., Hao, J. P., He, Y., Zhu, X. L., Hou, Z. C., & Zhu, F. (2024). Genome-wide association analysis and genetic parameters for egg production traits in Peking ducks. *Animals (Basel)*, 14(13), 1891. <https://doi.org/10.3390/ani14131891>
 29. Zhou, Z., Li, M., Cheng, H., Fan, W., Yuan, Z., & Gao, Q. (2018). An intercross population study reveals genes associated with body size and plumage color in ducks. *Nature Communications*, 9, 2648. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04868-4>
 30. Zhou, S., Ma, Y., Zhao, D., Mi, Y., & Zhang, C. (2020). Transcriptome profiling analysis of underlying regulation of growing follicle development in the chicken. *Poultry Science*, 99(6), 2861–2872. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.067> . Epub 2020 Mar 19
 31. Zhu, F., Cui, Q. Q., Yang, Y. Z., Hao, J. P., Yang, F. X., & Hou, Z. C. (2020). Genome-wide association study of the level of blood components in Pekin ducks. *Genomics*, 112(1), 379–387. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.02.017>



Comparison of the Application Methods of Varroa Control Strip and Oxalic Acid Solution on Infection Rate of Varroa Mite and Growth Population in Honey Bee Colony (*Apis mellifera* L.)

Mohammad Hamidi¹, Behrouz Dastar¹, Vahid Rahimi Nejad², Shahram Kotook¹

1- Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran

2- Department of Entomology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran

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

How to cite this article:

Received: 13-12-2024
Revised: 15-04-2025
Accepted: 30-04-2025
Available Online: 29-07-2025

Hamidi, M., Dastar, B., Rahiminejad, V., & Kotook, S. (2025). Comparison of the application methods of Varroa control strip and oxalic acid solution on infection rate of Varroa mite and growth population in honey bee colony (*Apis mellifera* L.). *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(2), 217-225. (in Persian with English abstract)
<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.91096.1224>

Introduction: The *Varroa* mite (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) is one of the most important and destructive parasites of the honey bee (*Apis mellifera* L.), which causes irreparable damage to the beekeeping industry. The reduction of protein concentration and hemolymph volume depends on the number of mites feeding on the pupa. The mite is also a vector of some honey bee viruses such as Kashmir honey bee virus (KBV), Sac-brood virus (SBV), acute bee paralysis virus (ABPV), acute paralysis virus Israeli (IAPV) and Deformed wing virus (DWV). Using chemical drugs is the most common way to fight against ticks. Today, it is known that these drugs have not only created a kind of resistance in the mite, which accumulates in honey, beeswax, and other beehive products and enters the human food cycle besides reducing the quality and nutritional value of honey, but they also harm the human body.

Materials and Methods: This research is aimed at controlling the Varroa mite population by comparing the effectiveness of fluvalinate chemical substance and paper towels impregnated with oxalic acid on the percentage of mites, the number of pupae, the number of total births, the amount of pollen and honey production in the form of a replication plan in time with three treatment and four repetitions were performed. The treatments included: a control group (no mite control), paper towels impregnated with oxalic acid and glycerin, and mite control tape containing fluvalinate. The study was conducted over three 26-day periods to assess the number of pupae, total births, and the amounts of pollen and honey production. Additionally, four 18-day periods were used to evaluate the percentage of aphid infestation. For assessment, two to three frames were initially selected where the pupae were either about to emerge or had just emerged from the cells. Then we shake the frame on a pan and pour a glass with a capacity of 300 bees from inside the pan into a plastic bottle that contains 100 cc or more of alcohol and immediately close the



©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.2025.91096.1224>

lid of the bottle. Then, the fallen mites were counted. Finally, the number of counted mites is divided by the number of bees to get the contamination percentage. Suppose there is no infestation in the colony. In that case, the mite should be given artificially along with the frame from the hive whose percentage of mite is known to the mite-free colony. Then, a sample was taken from the colony after a week for better mite distribution inside the colony.

Results and discussion: The treatments were evaluated over three time periods, each separated by 26 days. The results showed no significant differences in mite counts among treatments across the periods. However, in the third period, the oxalic acid treatment had the highest percentage of mites, which was significantly different from the control ($P < 0.05$). There were no significant differences among treatments in terms of the number of pupae, total births, or honey production. However, these parameters did differ significantly across time periods ($P < 0.05$), with the highest values observed in the first period, followed by a decline in the subsequent periods. On August 17th and September 14th, the highest pollen reserves were observed; on July 22nd, the lowest pollen reserves were observed, significantly different ($P < 0.05$). The oxalic acid strip may help to maintain sufficient acid concentration inside the colonies for a long time. In addition, combining glycerin with oxalic acid can help keep the drug longer in the hive and thus the mites (including those emerging from the brood cells). The significance of the difference between the treatments at different times is because the bee genotype, temperature changes, the amount of nectar, and the amount and composition of pollen are very important factors that affect the amount of pupa. The birth rate of fluvalinate anti-mite strip treatment compared to the control treatment led to a 9.7% decrease in the birth rate. One of the reasons for the difference in reproduction within the treatment in different periods can be pointed to the empty cells for the queen to lay eggs. Considering that the normal temperature range of the colony is 33 to 36 Celsius degrees and the outside temperature of the colony was 36 to 42 Celsius degrees in August, we can point to the role of heat stress in the birth rate.

Conclusion: From this experiment, it can be concluded that natural mite killers such as oxalic acid can be a suitable substitute for chemical substances that do not negatively affect the amount of pupa, pollen and honey. Considering that the mite-repelling property of paper towels containing glycerine and acid oxalic has been increasing compared to fluvalinate tape. On the other hand, glycerin maintains the mite-repelling properties of paper towels for up to three months; so paper towels containing glycerin and acid oxalic can be used for severe mite killing if paper towel is kept in the honey bee hive.

Key Words: Fluvalinate, Varva mite, Toxicity, Pupa

مقایسه روش‌های استفاده از نوار ضدکنه و محلول اسید اگزالیک بر میزان آلودگی کنه واروآ و رشد جمعیت کلنی زنبورعسل (*Apis mellifera L.*)

محمد حمیدی^۱، بهروز دستار^{۱*}، وحید رحیمی نژاد^۲، شهرام کتوک^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۱۰

چکیده

کنه واروآ یکی از مهم‌ترین انگل‌های زنبورعسل می‌باشد که سالانه باعث تلفات هزاران کندو در سراسر جهان می‌شود. از این رو با توجه به خسارت شدید اقتصادی به زنبورداران و خسارت زیست‌محیطی که این انگل به وجود می‌آورد، این پژوهش جهت مهار جمعیت کنه واروآ از طریق مقایسه کارایی ماده شیمیایی فلووالینات و دستمال کاغذی آغشته به اسید اگزالیک بر درصد کنه، میزان شفیره، میزان کل زاد و ولد، میزان گرده و تولید عسل در قالب طرح تکرار در زمان با سه تیمار و چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (بدون استفاده از مواد کنه‌کش)، تیمار دستمال کاغذی آغشته به اسید اگزالیک و گلیسیرین، تیمار نوار کنه‌کش حاوی فلووالینات بودند که در سه دوره زمانی با فواصل ۲۶ روزه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل نشان داد که بیشترین درصد کنه‌ریزی مربوط به تیمار اسید اگزالیک بود که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت ($P < 0.05$). استفاده از نوار ضدکنه و اسید اگزالیک تأثیری بر میزان شفیره، میزان کل زاد و ولد و همچنین تولید عسل نداشتند، ولی مقادیر این صفات در دوره اول به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر دوره‌ها بود ($P < 0.05$). نتایج این آزمایش نشان داد که دستمال کاغذی آغشته به اسید اگزالیک نسبت به نوار کنه‌کش فلووالینات برای مبارزه با کنه در کلنی‌های زنبور عسل مؤثرتر است و خطرات زیست‌محیطی کمتری به همراه دارد.

واژه‌های کلیدی: سمیت، شفیره، فلووالینات، گلیسیرین

مقدمه

دیده شد (Hashemi, 2001). کنه یکی از مهم‌ترین و مخرب‌ترین آفات کندوهای زنبورعسل است که آسیب‌های جبران‌ناپذیری به صنعت زنبورداری وارد می‌کند. کاهش غلظت پروتئین و حجم همولنف به تعداد کنه‌های تغذیه‌کننده از شفیره بستگی دارد (Weinberg & Madel, 1985). کنه همچنین ناقل برخی از ویروس‌های زنبورعسل مانند ویروس زنبورعسل کشمیر (KBV)، ویروس Sac brood (SBV)، ویروس فلج حاد زنبورعسل (ABPV)، ویروس فلج حاد اسرائیلی (IAPV) و ویروس بال تغییرشکل‌یافته (DWV) است (Boeckin & Genersch, 2008). استفاده از داروهای شیمیایی، متداول‌ترین روش برای مبارزه با کنه است. امروزه مشخص شده است که این داروها نه تنها در کنه ایجاد نوعی مقاومت کرده‌اند که با تجمع در عسل، موم و سایر محصولات کندو به چرخه غذایی انسان وارد شده و علاوه بر کاهش کیفیت و ارزش غذایی عسل، به بدن انسان نیز آسیب وارد می‌رسانند.

زنبورهای عسل متعلق به خانواده زنبورهای اجتماعی (Apidae) هستند که از نظر گرده‌افشانی اهمیت بسیار زیادی دارند (Hashemi, 2001). با توجه به نقش این حشره در گرده‌افشانی، بیماری‌ها و انگل‌هایی که زنبورعسل را تهدید می‌کند باید سیاست‌ها در سطح جهانی، منطقه‌ای و ملی به گونه‌ای باشد که باعث حفظ گونه‌های زنبورعسل شوند (Samadian et al., 2019). کنه واروآ برای اولین بار در سال ۱۹۰۴ میلادی روی زنبورعسل هندی در کشور اندونزی

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

۲- گروه حشره شناسی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

(*) نویسنده مسئول: (Email: dastar@gau.ac.ir).

<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.91096.1224>

محدودیت اصلی مهار شیمیایی کنه‌ها در کلنی‌های زنبور عسل این است که مواد شیمیایی استفاده‌شده باید فقط در مقابل کنه‌ها مؤثر باشند و برای زنبور عسل بی‌اثر بوده و نباید در محصولات کندو خاصیت تجمع‌ی داشته باشند. از این رو، می‌توان از داروهای دودزا یا تدخینی نظیر نوار فولیکس، پرزین، آپیتول، بایوارول، آپيسان، اسید فرمیک، اسید اگزالیك، واربکس، آپيسان (فلووالینات) و نوار بای وارول استفاده کرد (Samadian et al., 2019).

فلووالینات حشره‌کش و کنه‌کشی از گروه پاپروتیروئیدها بوده که در برابر آلودگی *V. destructor* در کلنی‌های زنبور عسل استفاده می‌شود. فلووالینات یک پیرتروئید مصنوعی است که به‌عنوان یک نوروتوکسین باعث دیپلاریزاسیون پایدار غشاء می‌شود. اگرچه زنبورهای عسل در برابر کنه‌کش‌ها مقاومت بیشتری دارند، اما این مواد شیمیایی بر تولیدمثل، بویایی و تولید زنبورهای عسل تأثیر منفی دارند (Ilyasov et al., 2021). اسید اگزالیك دی هیدرات یکی از مهم‌ترین اسیدهای آلی است که برای مهار کنه واروا استفاده می‌شود. اسید اگزالیك یک اسید دی‌کربوکسیلیک است و تقریباً ۱۰ هزار برابر قوی‌تر از اسید استیک است. اسید اگزالیك معمولاً در بخش صنعتی به‌عنوان یک عامل سفیدکننده چوب، ماده خشک‌کننده در فرآیندهای رنگرزی و یک پیش تصفیه سطح برای فولادهای زنگ‌نزن قبل از اعمال یک پوشش بازدارنده خوردگی استفاده می‌شود. اسید اگزالیك همچنین در بخش خانگی به‌عنوان پاک‌کننده خانگی و زدودن زنگ استفاده می‌شود (Aliano, 2008). اسید اگزالیك یک ترکیب طبیعی عسل است که در مقادیر بین ۸ تا ۱۷۰۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم در عسل‌های مختلف وجود دارد (Mutinelli et al., 1997). اسید اگزالیك همچنین یک ترکیب گیاهی طبیعی است که در غذاهای معمولی مصرف‌شده توسط انسان و سایر حیوانات مانند اسفناج، ریواس و چغندر یافت می‌شود (Moosbeckhofer et al., 2003). تحقیقات نشان داده است که طول عمر زنبور عسل به‌میزان قابل توجهی پس از درمان با اسید اگزالیك کاهش می‌یابد. اسید اگزالیك می‌تواند به اندام‌های داخلی برسد، ساختار ریزجانداران را در دستگاه گوارش زنبور تغییر دهد و بر سیستم عصبی و در نتیجه بر توانایی یادگیری زنبور عسل تأثیر بگذارد (Rademacher, 2017). طی پژوهش آزمایشگاهی که در مورد نحوه عمل اسید اگزالیك انجام شد، نشان داده شد که تماس فیزیکی کنه‌های واروا با کریستال‌های اسید اگزالیك سبب از بین رفتن آن‌ها شد (Aliano, 2006). با توجه محدودیت‌هایی نظیر وجود مولد در کلنی، نیاز به تکرار دفعات مبارزه با کنه در طول سال و زمان‌بر بودن عملیات مبارزه با کنه، نیاز به توسعه یک روش جدید آزادسازی مداوم چند روزه با استفاده از اسید اگزالیك وجود دارد که کنه واروا را هنگام خروج از سلول‌های مولد زنبور عسل هدف قرار دهد (Baker, 2010). گلیسیرین دارای ویسکوزیته بالایی است (Segur & Oberstar, 1951). این خاصیت

شیمیایی به انتشار اسید در بین زنبورها در مدت زمان طولانی‌تری در مقایسه با سایر فرمول‌های نواری بدون گلیسیرین کمک می‌کند و کارایی آن را افزایش می‌دهد. استفاده از ترکیب گلیسیرین با اسید اگزالیك می‌تواند به نگهداری دارو برای مدت طولانی‌تری در داخل کندو و در نتیجه از بین بردن کنه‌ها (از جمله آن‌هایی که از سلول‌های مولد بیرون می‌آیند) کمک کند. در پژوهش‌های صورت‌گرفته جهت استفاده توأم اسید اگزالیك و گلیسیرین، نوارهایی از جنس سلولز (۴۵ سانتی‌متر × ۳ سانتی‌متر × ۱/۵ میلی‌متر) که هر کدام حاوی ۱۰ گرم اسید اگزالیك مخلوط با ۲۰ میلی‌لیتر گلیسیرین بود، استفاده شد. هر نوار روی قاب‌های ۲، ۴، ۶ و ۸ قرار داده شد. کنه‌های در حال سقوط پس از ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روز با استفاده از ورق چسبناک ته کندو که مخصوص جمع‌آوری کنه‌های مرده است، شمارش شدند که در نهایت میانگین کارایی محصول ارگانیک ۹۳/۱ درصد بود (Maggi et al., 2016). از این رو، با توجه به استفاده بی‌رویه فلووالینات در صنعت زنبورداری و مقاوم بودن کنه واروا، از اسید اگزالیك به همراه گلیسیرین به‌عنوان روشی جایگزین با رهش طولانی برای مبارزه با آلودگی کلنی زنبور عسل به کنه واروا استفاده شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش جهت مهار جمعیت کنه واروا از طریق مقایسه کارایی ماده شیمیایی فلووالینات و دستمال کاغذی آغشته به اسید اگزالیك بر درصد کنه، میزان شفیره، میزان کل زاد ولد، میزان گرده و تولید عسل در قالب طرح تکرار در زمان با سه تیمار و چهار تکرار در فاصله زمانی تیر تا شهریور ماه سال ۱۴۰۲ در حومه شهرآشخانه در ارتفاع ۸۰۰ متر از سطح دریا و در دمای ۱۷ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. تیمارها شامل شاهد (بدون استفاده از مواد کنه‌کش)، تیمار دستمال کاغذی آغشته به اسید اگزالیك و گلیسیرین، تیمار نوار کنه‌کش حاوی فلووالینات بودند که در فواصل چهار دوره ۱۸ روزه برای بررسی درصد کنه‌ریزی تیمارها و سه دوره ۲۶ روزه برای بررسی میزان شفیره، میزان کل زاد ولد، میزان گرده و تولید عسل مورد بررسی قرار گرفتند. در این پژوهش از ۱۲ کندو با ملکه نژاد کارنیکا هم‌سن استفاده گردید و کندوها از لحاظ میزان شفیره و گرده و عسل یکسان‌سازی شدند. همچنین جهت برآورد میزان کنه در کلنی از روش دقیق و سریع استفاده از الکل مایع ۷۰ درصد استفاده شد. ابتدا بررسی شد که بر روی قاب مورد نظر ملکه نباشد. سپس دو تا سه قاب که شفیره‌ها در آستانه خروج یا به‌تازگی از سلول خارج شده‌اند، انتخاب شد، زیرا این قاب‌ها معرف خوبی از میزان کنه در کندو می‌باشند. سپس قاب بر روی یک تشت تکان داده شد و یک لیوان به ظرفیت ۳۰۰ عدد زنبور از داخل تشت پر و در داخل بطری پلاستیکی

سانتی‌متر مربع (10×10 سانتی‌متر) استفاده شد. ابتدا تعداد شفیره و لارو در ابعاد 100 سانتی‌متر مربع شمارش شد و سپس میزان کل شفیره و تولید لارو هر کلنی محاسبه گردید (Delaplane et al., 2013). برای ذخیره گرده نیز ابتدا سطح ذخیره گرده برای هر قاب اندازه‌گیری شد و سپس به اندازه یک اینچ مربع از سطح قاب برش و توزین شد. مقدار کل مساحت ذخیره گرده اندازه‌گیری شده در وزن هر اینچ مربع ذخیره گرده ضرب و محاسبه شد. مقدار ذخیره عسل برحسب گرم نیز از ضرب مساحت ذخیره عسل اندازه‌گیری شده هر قاب برحسب سانتی‌متر مربع در عدد $1/79$ محاسبه شد (Murilhas, 2002).

داده‌های آزمایش با استفاده از نسخه $9/4$ نرم‌افزار (SAS 2013) در قالب طرح تکرار در زمان براساس رویه Mixed آنالیز شدند. مقایسه میانگین تیمارها و دوره‌های مختلف پرورش با استفاده از آزمون تی محافظت‌شده (Protected t-test) انجام شد. نتایج به‌صورت میانگین حداقل مربعات به همراه خطای استاندارد گزارش شد.

نتایج و بحث

مقایسه کنه‌ریزی در تیمارها

اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان کنه‌ریزی در جدول ۱ گزارش شده است. میزان کنه‌ریزی در دوره‌های مختلف زمانی اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، ولی در دوره چهارم آزمایش تیمار اسید اگزالیک دارای بیشترین درصد کنه‌ریزی بود که در مقایسه با تیمار نوار ضدکنه (فلووالینات) اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). اما در تیمار اسید اگزالیک نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری دیده شد که تیمار اسید اگزالیک دارای بیشترین درصد کنه‌ریزی بود ($P < 0/05$), ولی بین تیمار نوار ضدکنه فلووالینات با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در موافقت با نتایج حاضر بیکر (Baker, 2010) نیز گزارش کرد که استفاده از اسید اگزالیک به‌میزان شش گرم و گلیسرین به‌میزان پنج میلی‌لیتر سبب کاهش جمعیت کنه در مقایسه با شاهد شد ($P < 0/05$). همچنین در پژوهشی که توسط مگی (Maggi et al., 2016) در مورد کاربرد اسید اگزالیک با گلیسرین انجام شد، به‌این نتیجه رسیدند که فرمولاسیون اسید اگزالیک (40 گرم اسید اگزالیک $+ 20$ میلی‌لیتر گلیسرین و ابعاد دستمال مورد استفاده 45×12 سانتی‌متر) کارآیی (93 درصد) بالایی داشت و می‌توان شاخص‌های شیوع کنه وارو را در کلنی‌ها پایین نگه داشت. ماتریس نوار اسید اگزالیک ممکن است به حفظ غلظت اسید کافی در داخل کلنی‌ها برای مدت طولانی (42 روز) کمک کند. علاوه‌بر این، ترکیب گلیسرین با اسید اگزالیک می‌تواند به نگهداری دارو برای مدت طولانی‌تری در داخل کندو و در نتیجه کنه‌ها (از جمله آن‌هایی

که حاوی حدود 100 سی‌سی الکل بود، ریخته و بلافاصله درب بطری بسته شد. زنبور حاوی الکل از یک توری عبور داده شد و سپس کنه‌های ریزش‌کرده شمارش شد. در نهایت، تعداد کنه‌های شمارش‌شده بر تعداد زنبور تقسیم شد و درصد آلودگی به دست آمد (Kozac et al., 2012).

روش آماده‌سازی تیمار اسید اگزالیک بدین صورت بود که ابتدا 20 سی‌سی گلیسرین با سرنگ درون ظرف شیشه‌ای مقاوم به حرارات تخلیه شد. سپس ظرف حاوی گلیسرین تا دمای 70 درجه سانتی‌گراد به‌صورت غیرمستقیم حرارت داده شد. جهت آماده کردن میزان اسید اگزالیک مورد نیاز (30 گرم) با پوشیدن ماسک، دستکش پلاستیکی و عینک اقدام به وزن‌کشی اسید اگزالیک با ترازوی دیجیتالی شد و درون ظرف شیشه‌ای حاوی گلیسرین که به دمای 70 درجه سانتی‌گراد رسیده اضافه گردید و با قاشق پلاستیکی (استفاده از قاشق فلزی با توجه به واکنش شیمیایی با اسید اگزالیک ممنوع می‌باشد) آن را هم زده تا اسید اگزالیک مخلوط‌شده در گلیسرین به رنگ شفاف درآید. بعد از اینکه به رنگ شفاف درآمد، شعله خاموش شد تا محلول ولرم گردد. بعد از آن، دستمال کاغذی حوله‌ای به ابعاد 40×40 سانتی‌متر با اسید اگزالیک و گلیسرین آغشته و بر روی قاب قرار داده شد. با توجه به خطرناک بودن بخار اسید اگزالیک لازم به توضیح است که این عمل در فضای باز انجام شد (Baker, 2020).

نوار پلاستیکی فلووالینات طبق شرکت سازنده حاوی 10 درصد ماده فلووالینات بود. براساس توصیه شرکت سازنده این نوارها شش تا هشت هفته درون کندو قرار داده شد و بعد از آن با توجه به بحث مقاومت دارویی و سمیت برای محصولات تولیدی زنبورعسل جمع‌آوری شدند.

برای اندازه‌گیری میزان کنه در تیمارها هر 18 روز یک‌بار ابتدا ملکه کندو را شناسایی کرده و قاب آن از سایر قاب‌ها تفکیک شد. جمعیت دو تا سه قاب مولد تازه خارج‌شده که روی قاب شفیره قرار دارند را درون تشت تکان داده و از هر تکرار به‌مقدار 300 عدد زنبور که معادل 30 گرم زنبور می‌باشد را درون بطری حاوی 100 سی‌سی الکل ریخته، سپس آن را به‌مدت یک دقیقه به‌صورت گردبادی هم زده تا کنه‌های چسبیده از زنبور جدا و شمارش شدند. نحوه شمارش بدین صورت بود که بطری‌های حاوی زنبور به همراه الکل داخل صافی خالی شد. قطر منافذ صافی یک اندازه‌ای بود تا کنه (با چشم غیرمسلح قابل دیدن است) از صافی عبور کرده و در داخل ظرف شفاف شمارش و ثبت گردید. جهت اطمینان بیشتر مجدداً زنبور را با الکل در داخل صافی هم زده تا کنه‌های احتمالی چسبیده به زنبور که در داخل ظرف شفاف ته‌نشین می‌شوند نیز یادداشت شوند و در نهایت اقدام به شمارش زنبور در داخل سینی شد.

برای بررسی رشد جمعیت کلنی شامل تعداد سلول شفیره، تولید لارو، ذخیره گرده و عسل از طلق شفاف خط‌کشی‌شده به‌مساحت 100

دستمال ($13/8 \times 26/4$ سانتی متر) قرار دادند که باعث ریزش ۷۹ درصدی کنه شد (et al., 2020Sabahi).

که از سلول‌های نوزادی بیرون می‌آیند) کمک کند. همچنین در پژوهشی دیگر، ۷۲ گرم اسید اگزالیک در ۳۰ میلی لیتر آب داغ حل شد و سپس با ۷۸ میلی لیتر گلیسرین مخلوط شد که بر روی هر کندو دو

جدول ۱- میانگین حداقل مربعات ($\pm$ خطای معیار) میزان کنه واروا برحسب درصد

Table 1- The least-square means ($\pm$ standard error) of Varva mite rate as percentage

دوره آزمایش Period of experiment	شاهد Control	نوار فلووالینات Fluvalinate	اسید اگزالیک Oxalic acid	میانگین دوره‌ها Average of periods
دوره اول First period	4.5 $\pm$ 1.43	4.5 $\pm$ 1.43	4.5 $\pm$ 1.43 ^{ab}	4.5 $\pm$ 0.82
دوره دوم Second period	7.25 $\pm$ 1.43	5.5 $\pm$ 1.43	5.75 $\pm$ 1.43 ^a	6.16 $\pm$ 0.82
دوره سوم Third period	4.5 $\pm$ 1.43	3.75 $\pm$ 1.43	4.75 $\pm$ 1.43 ^{ab}	4.23 $\pm$ 0.82
دوره چهارم Fourth period	4.5 $\pm$ 1.43 ^A	5.0 $\pm$ 1.43 ^A	1.0 $\pm$ 1.43 ^{b, B}	4.58 $\pm$ 0.82
میانگین تیمارها Average of treatments	6.0 $\pm$ 0.71 ^A	4.68 $\pm$ 0.71 ^{AB}	4.0 $\pm$ 0.71 ^B	

^{a,b} حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در دوره‌های مختلف هستند ($P < 0.05$).

^{A,B} حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایش هستند ($P < 0.05$).

^{a,b} Different superscripts in each column indicate a significant difference in different periods ($P < 0.05$).

^{A,B} Different superscripts in each row indicate a significant difference between different treatments ($P < 0.05$).

که ژنوتیپ زنبورعسل، تغییرات دمایی، میزان شهد (Keller et al., 2005)، میزان و ترکیب گرده (Crailshei & Schmickl, 2002) عامل بسیار مهم و تأثیرگذار بر میزان شفیره می‌باشد. همچنین گزارش شده است که دمای محیط، در دسترس بودن عسل و گرده عوامل تعیین‌کننده حداکثر نرخ پرورش نوزاد بودند (Crailsheim & Schmickl, 2004).

مقایسه تعداد شفیره در تیمارها

تأثیر تیمارهای آزمایش بر میزان شفیره در جدول ۲ گزارش شده است. هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در میزان شفیره وجود نداشت، ولی دوره‌های مختلف با هم اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$) که دوره اول دارای بیشترین میزان شفیره بود. علت معنی‌دار بودن اختلاف تیمارها در زمان‌های مختلف به این علت است

جدول ۲- میانگین حداقل مربعات ($\pm$ خطای معیار) میزان شفیره برحسب تعداد سلول

Table 2- The least-square means ($\pm$ standard error) of pupa as number of cell

دوره آزمایش Period of experiment	شاهد Control	نوار فلووالینات Fluvalinate	اسید اگزالیک Oxalic acid	میانگین دوره‌ها Average of periods
دوره اول First period	5778.5 $\pm$ 522.03 ^a	8193.7 $\pm$ 522.03 ^a	8491.5 $\pm$ 522.03 ^a	8472.9 $\pm$ 301.39 ^a
دوره دوم Second period	5500.0 $\pm$ 522.03 ^b	6462.5 $\pm$ 522.03 ^b	5468.7 $\pm$ 522.03 ^b	5810.4 $\pm$ 301.39 ^b
دوره سوم Third period	3981.2 $\pm$ 522.03 ^c	4156.2 $\pm$ 522.03 ^c	3468.7 $\pm$ 522.03 ^c	3868.7 $\pm$ 301.39 ^c
میانگین تیمارها Average of treatments	6889.6 $\pm$ 301.39	6270.8 $\pm$ 301.39	5791.7 $\pm$ 301.39	

^{a,b} حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در دوره‌های مختلف هستند ($P < 0.05$).

^{a,b} Different superscripts in each column indicate a significant difference in different periods ($P < 0.05$).

مقایسه میزان تولید لارو در تیمارها: تأثیر تیمارهای آزمایش

بر میزان تولید لارو در **جدول ۳** نشان می‌دهد که بین تیمارها هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. میزان تولید لارو در دوره اول نسبت به دوره دوم و سوم بیشتر بود. در پژوهشی که توسط ایلیاسو و همکاران (Ilyasov et al., 2021) انجام شد، تولید لارو در تیمار نوار ضدکنه فلووالینات نسبت به شاهد ۹/۷ درصد کمتر بود. یکی از دلایل

اختلاف تولید لارو در دوره‌های مختلف می‌تواند به واسطه سلول‌های خالی جهت تخم‌گذاری ملکه باشد (Leathwick, 1997). با توجه به اینکه محدوده دمای طبیعی کلنی ۳۳ تا ۳۶ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و گرمای بیرون کلنی در دوره دوم و مصادف با مرداد ماه حدود ۳۶ تا ۴۲ درجه سانتی‌گراد بود، می‌توان به نقش تنش گرمایی در میزان تولید لارو اشاره کرد (Abou-Shaara, 2017).

جدول ۳- میانگین حداقل مربعات ($\pm$ خطای معیار) میزان تولید لارو برحسب تعداد سلول**Table 3- The least-square means ($\pm$ standard error) of larva production as the number of cells**

دوره آزمایش	شاهد	نوار فلووالینات	اسید اگزالیک	میانگین دوره‌ها
Period of experiment	Control	Fluvalinate	Oxalic acid	Average of periods
دوره اول	18031.0 $\pm$ 946.02 ^a	17569.0 $\pm$ 946.02 ^a	18406.0 $\pm$ 946.02 ^a	18002.0 $\pm$ 546.19 ^a
First period				
دوره دوم	10431.0 $\pm$ 946.02 ^b	11475.0 $\pm$ 946.02 ^b	9375.0 $\pm$ 946.02 ^b	10427.0 $\pm$ 546.19 ^b
Second period				
دوره سوم	10444.0 $\pm$ 946.02 ^b	10808.0 $\pm$ 946.02 ^b	9093.0 $\pm$ 946.02 ^b	10115.0 $\pm$ 546.19 ^b
Third period				
میانگین تیمارها	12969.0 $\pm$ 546.19	13284.0 $\pm$ 546.19	12292.0 $\pm$ 546.19	
Average of treatments				

^{a,b} حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در دوره‌های مختلف هستند ($P < 0.05$).

^{a,b} Different superscripts in each column indicate a significant difference in different periods ($P < 0.05$).

مقایسه میزان گرده در تیمارها: تأثیر تیمارهای آزمایش بر

میزان گرده در **جدول ۴** گزارش شده است، میانگین تیمارها با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند، ولی در دوره دوم تیمار اسید اگزالیک بیشترین میزان جمع‌آوری گرده را دارا بود که اختلاف معنی‌داری با دو تیمار دیگر داشت ($P < 0.05$). در دوره سوم بین شاهد و اسید اگزالیک اختلاف معنی‌داری بود، اما تیمار اسید اگزالیک با نوار ضدکنه اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. با توجه به اینکه اسید اگزالیک می‌تواند بر

شفیره‌ها تأثیر منفی بگذارد (Sabová et al., 2019)، می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که میزان گرده جمع‌آوری شده مربوط به زنبورهای کارگری است که بیش از ۲۱ روز پیش متولد شده‌اند و در دوران لاروی تحت تأثیر اسید اگزالیک قرار نگرفته‌اند در نتیجه کمترین تأثیر پذیری را از اسید اگزالیک دریافت کرده‌اند و از طرفی کاهش تعداد کنه نسبت به سایر تیمارها می‌تواند عاملی تأثیرگذار بر میزان گرده در کلنی تیمار اسید اگزالیک باشد.

جدول ۴- میانگین حداقل مربعات ($\pm$ خطای معیار) میزان ذخیره گرده برحسب گرم**Table 4- The least-square means ($\pm$ standard error) of pollen storage as gram**

دوره آزمایش	شاهد	نوار فلووالینات	اسید اگزالیک	میانگین دوره‌ها
Period of experiment	Control	Fluvalinate	Oxalic acid	Average of periods
دوره اول	21.7 $\pm$ 12.45 ^b	19.7 $\pm$ 12.45 ^b	20.2 $\pm$ 12.45 ^c	20.6 $\pm$ 7.19 ^b
First period				
دوره دوم	90.2 $\pm$ 12.45 ^{b,B}	87.7 $\pm$ 12.45 ^{a,B}	130.7 $\pm$ 12.45 ^{a,A}	102.9 $\pm$ 7.19 ^a
Second period				
دوره سوم	106.5 $\pm$ 12.45 ^{a,A}	77.7 $\pm$ 12.45 ^{a,AB}	69.0 $\pm$ 12.45 ^{b,B}	84.4 $\pm$ 7.19 ^a
Third period				
میانگین تیمارها	72.8 $\pm$ 7.19	61.7 $\pm$ 7.19	73.3 $\pm$ 7.19	
Average of treatments				

^{a,b} حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در دوره‌های مختلف هستند ($P < 0.05$).

^{A,B} حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایش هستند ($P < 0.05$).

^{a,b} Different superscripts in each column indicate a significant difference in different periods ($P < 0.05$).

^{A,B} Different superscripts in each row indicate a significant difference between different treatments ($P < 0.05$).

اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P>0.05$). در این آزمایش، میزان کاهش عسل تیمار نوار ضدکنه فلووالینات نسبت به شاهد هفت درصد بود، درحالی‌که در پژوهشی که توسط سایر محققان انجام شد، میزان تولید عسل در زنبورهای عسل تیمار شده با فلووالینات نسبت به شاهد ۲۱/۹ درصد کاهش یافت (Ilyasov et al., 2021).

مقایسه میزان عسل در تیمارها: تأثیر تیمارهای آزمایش بر میزان عسل در **جدول ۵** گزارش شده است، میزان تولید عسل بسته به ژنوتیپ زنبور عسل، شدت آلودگی به کنه واروا و میزان نوزادان در کندو می‌تواند متفاوت باشد. دوره‌های مختلف از نظر میزان تولید عسل با هم اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<0.05$)، ولی تیمارها با هم

جدول ۵- میانگین حداقل مربعات ($\pm$ خطای معیار) میزان تولید عسل برحسب گرم

Table 5- The least-square means ($\pm$ standard error) of honey production as gram

دوره آزمایش	شاهد	نوار فلووالینات	اسید اگزالیک	میانگین دوره‌ها
Period of experiment	Control	Fluvalinate	Oxalic acid	Average of periods
دوره اول	3177.2 $\pm$ 1165.37 ^c	3016.1 $\pm$ 1165.37 ^b	3157.3 $\pm$ 1165.37 ^b	3116.9 $\pm$ 672.83 ^c
First period				
دوره دوم	13318.0 $\pm$ 1165.37 ^a	11506.0 $\pm$ 1165.37 ^a	13948.0 $\pm$ 1165.37 ^a	12924.0 $\pm$ 672.83 ^a
Second period				
دوره سوم	9488.3 $\pm$ 1165.37 ^b	9657.5 $\pm$ 1165.37 ^a	11528.0 $\pm$ 1165.37 ^a	10225.0 $\pm$ 672.83 ^b
Third period				
میانگین تیمارها	8661.1 $\pm$ 672.83	8059.9 $\pm$ 672.83	9544.9 $\pm$ 672.83	
Average of treatments				

^{a,b} حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در دوره‌های مختلف هستند ($P<0.05$).

^{a,b} Different superscripts in each column indicate a significant difference in different periods ($P<0.05$).

جایگزین مناسبی برای مواد شیمیایی باشد که اثر منفی در میزان شفییره و گرده و عسل ندارند. با توجه به اینکه استفاده از دستمال کاغذی حاوی گلیسرین و اسید اگزالیک نسبت به نوار فلووالینات، جمعیت کنه واروا را کاهش داد و از طرفی گلیسرین خاصیت کنه‌کشی دستمال کاغذی را تا ۳ ماه حفظ می‌کند، می‌توان نتیجه گرفت که در صورت حفظ دستمال کاغذی می‌توان آلودگی کنه را در کلنی‌ها به حداقل ممکن رساند.

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از ماده شیمیایی فلووالینات در طی سال‌های گذشته منجر به مقاومت دارویی در کنه شده است و از طرف دیگر، تمام نوارهای کنه‌کش موجود در بازار ممکن است استاندارد بهداشتی را نداشته باشند و با ماندگاری در عسل و سایر تولیدات زنبور عسل سلامت انسان و زنبور را به خطر اندازند. از این آزمایش چنین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از کنه‌کش‌های طبیعی مانند اسید اگزالیک می‌تواند

References

- Kozac, P., Eccles, L., Tam, J., Kemper, M., Rawn, D., Guzman, E., & Kelly, P. (2012). Varroa-Mite Sampling and Monitoring Infestation Levels. OMAFRA Infosheet. Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs.
- Abou-Shaara, H. F., Owayss, A. A., Ibrahim, Y. Y., & Basuny, N. K. (2017). A review of impacts of temperature and relative humidity on various activities of honey bees. *Insectes Sociaux*, 64(4), 455-463. <https://doi.org/10.1007/s00040-017-0573-8>
- Aliano, N. P. (2008). An investigation of techniques for using oxalic acid to reduce Varroa mite populations in honey bee colonies and package bees. The University of Nebraska-Lincoln.
- Aliano, N. P., Ellis, M. D., & Siegfried, B. D. (2006). Acute contact toxicity of oxalic acid to *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and their *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) hosts in laboratory bioassays. *Journal of Economic Entomology*, 99(5), 1579-1582. <https://doi.org/10.1093/jee/99.5.1579>
- Baker, R. A. (2010). The parasitic mites of honeybees—past, present and future. *Apidologie*, 28(2), 91-96.
- Baker, C. (2020). Evaluating the effects of novel application methods of oxalic acid on *Varroa destructor* and *Apis mellifera* in the Southeastern United States (Master's Thesis, Auburn University).
- Boecking, O., & Genersch, E. (2008). Varroosis—the ongoing crisis in bee keeping. *Journal Für*

- Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 3(2), 221-228. <https://doi.org/10.1007/s00003-008-0331-y>
8. Delaplane, K. S., Van Der Steen, J., & Guzman-Novoa, E. (2013). Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1-12. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.03>
9. Hashemi, M. (2001). A complete guide to bee breeding. Tehran, Complete Culture Publications, Tehran, Iran. (in Persian)
10. Ilyasov, R., Sooho, L. İ. M., Lee, M. L., Kwon, H. W., & Nikolenko, A. (2021). Effect of miticides amitraz and fluvalinate on reproduction and productivity of honey bee *Apis mellifera*. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 21(1), 21-30. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.883775>
11. Keller, I., Fluri, P., & Imdorf, A. (2005). Pollen nutrition and colony development in honey bees: Part 1. *Bee World*, 86(1), 3-10. <https://doi.org/10.1080/0005772x.2005.11099641>
12. , D. M. (1997). Growth and development of queen colonies of *Vespula germanica* and *V. Leathwick. vulgaris*. *New Zealand Journal of Zoology*, 24(1), 17-23. <https://doi.org/10.1080/03014223.1997.9518102>
13. Maggi, M., Tourn, E., Negri, P., Szawarski, N., Marconi, A., Gallez, L., Medici, S., Ruffinengo, S., Brascresco, C., & Eguaras, M. (2016). A new formulation of oxalic acid for Varroa destructor control applied in *Apis mellifera* colonies in the presence of brood. *Apidologie*, 47(4), 596-605. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0405-7>
14. Moosbeckhofer, R., Pechhacker, H., Unterweger, H., Bandion, F., & Heinrich-Lenz, A. (2003). Investigations on the oxalic acid content of honey from oxalic acid treated and untreated bee colonies. *European Food Research and Technology*, 217, 49-52. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0698-z>
15. Murilhas, A. M. (2002). Varroa destructor infestation impact on *Apis mellifera* carnica capped worker brood production, bee population and honey storage in a Mediterranean climate. *Apidologie*, 33(3), 271-281. <https://doi.org/10.1051/apido:2002013>
16. Mutinelli, F., Baggio, A., Capolongo, F., Piro, R., Prandin, L., & Biasion, L. (1997). A scientific note on oxalic acid by topical application for the control of varroosis. *Apidologie*, 28(6), 461-462. <https://doi.org/10.1051/apido:19970612>
17. Rademacher, E., Harz, M., & Schneider, S. (2017). Effects of oxalic acid on *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Insects*, 8(3), 84. <https://doi.org/10.3390/insects8030084>
18. Sabahi, Q., Morfin, N., Emsen, B., Gashout, H. A., Kelly, P. G., Otto, S., Merrill, A. R., & Guzman-Novoa, E. (2020). Evaluation of dry and wet formulations of oxalic acid, thymol, and oregano oil for varroa mite (Acari: Varroidae) control in honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Journal of Economic Entomology*, 113(6), 2588-2594. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa218>
19. Sabová, L., Sobeková, A., Staroň, M., Sabo, R., Legáth, J., Staroňová, D., Lohajová, L., & Javorský, P. (2019). Toxicity of oxalic acid and impact on some antioxidant enzymes on invitro-reared honeybee larvae. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 19763-19769. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05247-2>
20. Samadian, F., Bahreni Behzadi, M., & Keshavarznia, A. (2019). Bee Breeding. Agricultural Education Research Publications, Iran. (in Persian)
21. SAS (Statistical Analysis System). 2013. SAS User's Guide: Statistics, Release 9.4. Cary, NC: SAS Institute Incorporation.
22. Schmickl, T., & Crailsheim, K. (2002). How honeybees (*Apis mellifera* L.) change their broodcare behaviour in response to non-foraging conditions and poor pollen conditions. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 51, 415-425. <https://doi.org/10.1007/s00265-002-0457-3>
23. Schmickl, T., & Crailsheim, K. (2004). Inner nest homeostasis in a changing environment with special emphasis on honey bee brood nursing and pollen supply. *Apidologie*, 35(3), 249-263. <https://doi.org/10.1051/apido:2004019>
24. Segur, J. B., & Oberstar, H. E. (1951). Viscosity of glycerol and its aqueous solutions. *Industrial and Engineering Chemistry*, 43(9), 2117-2120. <https://doi.org/10.1021/ie50501a040>
25. Weinberg, K. P., & Madel, G. (1985). The influence of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. on the protein concentration and the haemolymph volume of the brood of worker bees and drones of the honey bee *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 16(4), 421-436. <https://doi.org/10.1051/apido:19850407>

Contents

Ruminant Nutrition

- Effects of Flushing Diets Containing Whole Flaked Raw and Micronized Rapeseed (*Brassica napus*) on Reproductive Performance of Mature Kurdish Ewes** 107

Zohreh Zarnegar, Seyed Hadi Ebrahimi, Reza Valizadeh, Abbas Ali Naserian

- The Effect of Adding Different Levels of Wheat Straw to Paulownia (*Paulownia* sp.) Leaf Silage on the Chemical Composition and in vitro Fermentation Indices** 125

Ayoub Azizi, Alireza Jolazadeh, Afrooz Sharifi, Saeid Heidari

- The Effect of Vitamin and Mineral Supplement Injection during the Transition Period on Inflammatory and Antioxidant Indices of Dairy Cows** 141

Mohammad Asadi, Reza Kamali, Nader Asadzadeh

- The Effect of Mixtures of Free or Encapsulated Plant Essential Oils (Carvacrol, Thymol, and Eucalyptol) on Performance, Nutrient Digestibility, and Blood Metabolites of Holstein Dairy Cows** 155

Amin Khezri, Hamidreza Shafabakhsh, Ali Alizadeh

- Effects of Dietary Tomato (*Solanum lycopersicum*) Pomace with or Without Enzyme Supplementation on Performance, Nutrient Digestibility, Blood Metabolites, and Hepatic Enzyme Activity in Fattening Lambs** 167

Farzad Mirzaei Aghjehgheshlagh, Mir Masoum Ghasemi, Bahman Navidshad, Roghayeh Valizadeh Yonjalli, Mehdi Jamali

Poultry Nutrition

- Investigating the Impact of Alternating Low-Energy and Protein Diets on Growth Performance, Blood Metabolites, and Small Intestine Morphology in Broiler Chickens** 179

Elahe Soveyzi, Ahmad Hassanabadi

- The Effect of Cinnamon Nanoparticles Produced with Ultrasonic Waves on Growth Performance, Digestive Enzyme Activity, Thyroid Hormone Levels, and Ileal Bacterial Population in Broiler Chickens** 193

Mokhtar Fathi, Ali Hashem Mohammad, Kianoosh Zarrinkavyani, Zahra Biranvand

Genetic and Breeding

- Bioinformatics Analysis of Whole Genome Sequencing Data to Estimation of Genomic Inbreeding Coefficient and Identification of Runs of Homozygosity Islands in Pekin Duck** 205

Hossein Mohammadi, Amir Hossein Khaltabadi Farahani

Others

- Comparison of the Application Methods of Varroa Control Strip and Oxalic Acid Solution on Infection Rate of Varroa Mite and Growth Population in Honey Bee Colony (*Apis mellifera* L.)** 217

Mohammad Hamidi, Behrouz Dastar, Vahid Rahimi Nejad, Shahram Kotook

« Scientific Journal»
Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 17

No. 2

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>

Contents

Ruminant Nutrition

- Effects of Flushing Diets Containing Whole Flaked Raw and Micronized Rapeseed (*Brassica napus*) on Reproductive Performance of Mature Kurdish Ewes 107
Zohreh Zarnegar, Seyed Hadi Ebrahimi, Reza Valizadeh, Abbas Ali Naserian

- The Effect of Adding Different Levels of Wheat Straw to Paulownia (*Paulownia* sp.) Leaf Silage on the Chemical Composition and in vitro Fermentation Indices 125
Ayoub Azizi, Alireza Jolazadeh, Afrooz Sharifi, Saeid Heidari

- The Effect of Vitamin and Mineral Supplement Injection during the Transition Period on Inflammatory and Antioxidant Indices of Dairy Cows 141
Mohammad Asadi, Reza Kamali, Nader Asadzadeh

- The Effect of Mixtures of Free or Encapsulated Plant Essential Oils (Carvacrol, Thymol, and Eucalyptol) on Performance, Nutrient Digestibility, and Blood Metabolites of Holstein Dairy Cows 155
Amin Khezri, Hamidreza Shafabakhsh, Ali Alizadeh

- Effects of Dietary Tomato (*Solanum lycopersicum*) Pomace with or Without Enzyme Supplementation on Performance, Nutrient Digestibility, Blood Metabolites, and Hepatic Enzyme Activity in Fattening Lambs 167
Farzad Mirzaei Aghjehgheshlagh, Mir Masoum Ghasemi, Bahman Navidshad, Roghayeh Valizadeh Yonjalli, Mehdi Jamali

Poultry Nutrition

- Investigating the Impact of Alternating Low-Energy and Protein Diets on Growth Performance, Blood Metabolites, and Small Intestine Morphology in Broiler Chickens 179
Elahe Soveyzi, Ahmad Hassanabadi

- The Effect of Cinnamon Nanoparticles Produced with Ultrasonic Waves on Growth Performance, Digestive Enzyme Activity, Thyroid Hormone Levels, and Ileal Bacterial Population in Broiler Chickens 193
Mokhtar Fathi, Ali Hashem Mohammad, Kianoosh Zarrinkavyani, Zahra Biranvand

Genetic and Breeding

- Bioinformatics Analysis of Whole Genome Sequencing Data to Estimation of Genomic Inbreeding Coefficient and Identification of Runs of Homozygosity Islands in Pekin Duck 205
Hossein Mohammadi, Amir Hossein Khalbadi Farahani

Others

- Comparison of the Application Methods of Varroa Control Strip and Oxalic Acid Solution on Infection Rate of Varroa Mite and Growth Population in Honey Bee Colony (*Apis mellifera* L.) 217
Mohammad Hamidi, Behrouz Dastar, Vahid Rahimi Nejad, Shahram Kotook