

عنوان مقالات

تغذیه نشخوارکنندگان

۳..... اثرات بافر و عصاره‌های گیاهی بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری، تولید گاز و قابلیت هضم گوسفند زل
فاطمه رضوانی پادله، پداله چاشنی دل، اسداله تیموری یاتسری، رادمان بختیاری

۱۷..... پرآورد کاهش تولید شیر ناشی از ورم پستان بالینی در گاوهای هلشتاین استان اصفهان
علیرضا غفوری، علی صادقی سفیدمزگی، ربیع رهبر

اثر اسانس آبی گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) بر فراسنجه‌های تخمیری، تجزیه‌پذیری مواد مغذی و تولید
۳۱..... متان شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی
محسن کاظمی

اثر مدت زمان و روش‌های مختلف فرآوری با اوره و ملاس بر تخمیر شکمبه‌ای جیره‌های حاوی باکس نیشکر
در شرایط برون‌تنی.....
۴۵..... نگین متی، فرشید فتاح‌نیا، سید رضا موسوی، محمد شمس‌اللهی، پریسا دارات

تغذیه طیور

اثرات شرایط فرآوری دما و زمان در کاندیشنر بر کیفیت خوراک پلت، عملکرد رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و
ریخت‌شناسی ژژنوم جوجه گوشتی.....
۵۹..... امیر اسداله مزروعی، سید جواد حسینی واشان، محسن مجتهدی، حسین تیمی پور یونسی

اثر سطوح مختلف کاروتنوئید یونجه بر رنگ زرده، کیفیت تخم‌مرغ و شاخص‌های مرتبط با تنش اکسیداتیو در
مرغ‌های تخم‌گذار.....
۷۷..... ثریا آیت‌اللهی، حسن کرمانشاهی، رضا مجیدزاده هروی

اثرات جایگزینی دانه ذرت با تربیتکاله بر عملکرد، صفات کیفی تخم و برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون
بلدرچین ژاپنی مولد.....
۹۳..... محمدجواد آگاه، الناز کمی، سید محمد رضا هاشمی، عبدالحمید کریمی، محمدجواد ابرقونی، حسین نوراللهی

بررسی اثرات فراسودمند کاربرد پودر میلورم در جیره، بر صفات کمی و کیفی تولید تخم‌مرغ، شاخص‌های
خونی و پاسخ ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار.....
۱۰۷..... مونا سلامت، علی آقائی، سمیه سالاری

ژنتیک و اصلاح نژاد دام

تجزیه فیلوژنی و تعیین هاپلوگروه نژادهای مختلف گوسفند براساس ژنوم کامل میتوکندریایی.....
۱۲۳..... فرشته احسانی فر، غلامرضا داشاب و حسین بزی

تحلیل ترنسکریپتومی کبد مرغ گوشتی در پاسخ به LPS با تأکید بر پپتیدهای ضدالتهابی درون‌تنی.....
۱۳۹..... مریم مشیری، مجتبی طهمورث پور، محمدهادی سخاوتی

سایر

مقایسه عملکرد کلنی‌های زنبورعل (*Apis mellifera* L.) نگهداری‌شده در کندوهای چوبی
لاکتروت کف باز و کف بسته.....
۱۵۳..... بابک رنجزاد، عطاله رحیمی، حمیدرضا بهمنی، صالح صالحی، بهارک محمدیان

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 ۱۸ شماره ۱ بهار ۱۴۰۵

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 خواجعلی	استاد تغذیه طیور	دانشگاه شهرکرد
دکتر احمد حسن آبادی	استاد تغذیه طیور	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر بهروز دستار	استاد تغذیه طیور	دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر نصراله پیرانی	دانشیار ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه شهرکرد
دکتر محمدرضا نصیری	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر مجتبی طهمورث پور	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر سعید زره داران	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر علی جوادمنش	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر عباس پاکدل	استاد ژنتیک و اصلاح نژاد	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر حسن دوستی	استاد ریاضیات و آمار	دانشگاه مکواری، استرالیا
دکتر مهدی سرگلزایی	دانشیار ژنتیک	دانشگاه گوئلف، کانادا

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

علوم دامی ایران. صندوق پستی 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 استادی جهان اسلام (ISC)، بانک اطلاعات نشریات کشور (MAGIRAN)

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

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

صفحه	تغذیه نشخوارکنندگان
۳	اثرات بافر و عصاره‌های گیاهی بر فراسنجه‌های تجزیه پذیری، تولید گاز و قابلیت هضم گوسفند زل فاطمه رضوانی بادل، یداله چاشنی دل، اسداله تیموری یانسری، رادمان بختیاری
۱۷	برآورد کاهش تولید شیر ناشی از ورم پستان بالینی در گاوهای هلستاین استان اصفهان علیرضا غفوری، علی صادقی سفیدمزیگی، ربیع رهبر
۳۱	اثر اسانس آبی گیاه زوفا (<i>Hyssopus officinalis</i> L.) بر فراسنجه‌های تخمیری، تجزیه پذیری مواد مغذی و تولید متان شکمبه‌ای در شرایط برون تنی محسن کاظمی
۴۵	اثر مدت زمان و روش‌های مختلف فرآوری با اوره و ملاس بر تخمیر شکمبه‌ای جیره‌های حاوی باگاس نیشکر در شرایط برون تنی نگین منتی، فرشید فتاح‌نیا، سید رضا موسوی، محمد شمس‌الهی، پریسا دارات
	تغذیه طیور
۵۹	اثرات شرایط فرآوری دما و زمان در کاندیشنر بر کیفیت خوراک پلت، عملکرد رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و ریخت‌شناسی ژنوم جوجه گوشتی امیر اسدالله مزروعی، سید جواد حسینی واشان، محسن مجتهدی، حسین نعیمی پور یونسی
۷۷	اثر سطوح مختلف کاروتنوئید یونجه بر رنگ زرده، کیفیت تخم‌مرغ و شاخص‌های مرتبط با تنش اکسیداتیو در مرغ‌های تخم‌گذار ثریا آیت‌اللهی، حسن کرمانشاهی، رضا مجیدزاده هروی
۹۳	اثرات جایگزینی دانه ذرت با ترتیکاله بر عملکرد، صفات کیفی تخم و برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون بلدرچین ژاپنی مولد محمدجواد آگاه، الناز کمی، سید محمد رضا هاشمی، عبدالحمید کریمی، محمدجواد ابرقوئی، حسین نوراللهی
۱۰۷	بررسی اثرات فراسودمند کاربرد پودر میلورم در جیره، بر صفات کمی و کیفی تولید تخم‌مرغ، شاخص‌های خونی و پاسخ ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار مونا سلامت، علی آقائی، سمیه سالاری
	ژنتیک و اصلاح نژاد دام
۱۲۳	تجزیه فیلوژنی و تعیین هاپلوگروه نژادهای مختلف گوسفند براساس ژنوم کامل میتوکندریایی فرشته احسانی فر، غلامرضا داشاب و حسین بزی
۱۳۹	تحلیل ترنسکرپتومی کبد مرغ گوشتی در پاسخ به LPS با تأکید بر پپتیدهای ضدالتهابی درون تنی مریم مشیری، مجتبی طهمورث پور، محمدهادی سخاوتی
	سایر
۱۵۳	مقایسه عملکرد کلنی‌های زنبورعسل (<i>Apis mellifera</i> L.) نگهداری شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته بابک رخزاد، عطاله رحیمی، حمیدرضا بهمنی، صالح صالحی، بهارک محمدیان

Effects of Buffer and Plant Extracts on Degradability, Gas Production Parameters, and Nutrient Digestibility in Zel Sheep

Fatemeh Rezvani Badeleh¹, Yadollah Chashnidel^{1*}, Asdollah Teymouri Yanesari¹, Radman Bakhtiari¹

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

*Corresponding Author's Email: yhashnidel@sanru.ac.ir

How to cite this article:

Received: 23-06-2025

Revised: 09-10-2025

Accepted: 25-10-2025

Available Online: 04-04-2026

Rezvani Badeleh, F., Chashnidel, Y., Teymouri Yanesari, A., & Bakhtiari, R. (2026). Effects of Buffer and Plant Extracts on Degradability, Gas Production Parameters, and Nutrient Digestibility in Zel Sheep. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(1), 1-13. (in Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.94142.1252>

Introduction: Buffers are frequently incorporated into high-concentrate diets to mitigate ruminal acidity and stabilize ruminal pH. Their inclusion can augment the acetate-to-propionate ratio and enhance fiber digestibility, thereby promoting dry matter intake. In parallel, plant extracts, owing to their antimicrobial, antioxidant, and biologically active properties, have emerged as promising feed additives. Among these, thyme (*Thymus vulgaris* L.) extract has demonstrated antimicrobial activity under *in vitro* conditions, evidenced by reduced methane production and altered rumen fermentation characteristics. Garlic (*Allium sativum* L.) extract exhibits prebiotic-like effects and possesses antioxidant, antimicrobial, anti-methanogenic, and anti-protozoal properties. Eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) extract contains a mixture of volatile essential oils such as 1, 8-cineole, limonene, and α -terpineol, along with non-volatile phenolic compounds, which may modulate rumen fermentation and inhibit methanogenesis. Given the potential benefits of both buffers and plant extracts, this study aimed to evaluate the effects of supplementing the diet with 2% sodium bicarbonate and plant extracts (thyme, garlic, and eucalyptus) on gas production parameters, ruminal degradability, and the apparent digestibility of nutrients.

Materials and Methods: This study was conducted to evaluate the effects of 2% sodium bicarbonate supplementation, combined with various plant extracts, on *in vitro* gas production kinetics and the *in sacco* ruminal degradability of dry matter (DM), crude protein (CP), and neutral detergent fiber (NDF). Additionally, the apparent nutrient digestibility of the experimental diets was assessed. The treatments were structured as follows: 1) 2% sodium bicarbonate (control); 2) Control + thyme extract (400 mg/kg DM of the diet); 3) Control + garlic extract (300 mg/kg DM); 4) Control + eucalyptus extract (150 mg/kg DM). A fattening diet was formulated using the Small Ruminant Nutrition System (SRNS) software and provided as a Total Mixed Ration (TMR) with a forage-to-concentrate ratio of 30:70 (DM basis). Three 2-year-old Zel ewes (average body weight: 43 $\pm$ 2 kg) were utilized to evaluate ruminal degradability parameters following the approved animal welfare protocols. The animals were housed individually in semi-open, roofed metabolic cages with free access to water. Following an adaptation period, the ewes were fed the experimental diets twice daily at 08:00 and 20:00 h. Rumen fluid was collected from the ruminally cannulated Zel ewes prior to the morning feeding to determine gas production parameters. Apparent nutrient digestibility was determined using the acid-insoluble ash (AIA) method as an internal marker. Twenty male Zel sheep (6–7 months old; 38 $\pm$ 2 kg body weight) were assigned to four dietary treatments (five lambs per treatment) and fed the experimental diets for 42 days. Data were analyzed using the GLM procedure of SAS software, and means were compared using Duncan's multiple range test at a significance level



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

 <https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.94142.1252>

of $P < 0.05$.

Results and Discussion: The results indicated that gas production potential ($P = 0.0003$) and gas production at 96 h ($P = 0.0002$) were significantly higher in the treatment containing eucalyptus extract compared to the other experimental treatments. Gas production at 24 and 48 h was significantly increased by eucalyptus extract supplementation compared to the other treatments ($P < 0.05$). Organic matter digestibility ($P = 0.0352$), metabolizable energy ($P = 0.0371$), and the concentration of short-chain fatty acids ($P = 0.0482$) were significantly higher in the eucalyptus extract and control groups compared to the thyme extract treatment. The rapidly degradable fraction of DM was significantly increased in the eucalyptus extract treatment compared to the thyme and garlic extract treatments ($P = 0.0137$). The slowly degradable fraction and effective degradability of DM at outflow rates of 0.02, 0.05, and 0.08 tended to be higher in the garlic extract group relative to the control ($P = 0.0828$). The degradation rate constant of DM was significantly higher in the eucalyptus extract treatment compared to the other experimental groups ($P = 0.0218$). None of the ruminal degradability parameters for CP were significantly affected by the experimental treatments ($P > 0.05$). The rapidly degradable fraction of NDF was significantly reduced in all plant extract treatments compared to the control group ($P = 0.0009$), while no significant differences were observed among treatments for the other ruminal degradability parameters of NDF ($P > 0.05$). Dietary supplementation with plant extracts significantly enhanced dry matter ($P = 0.0155$) and organic matter ($P = 0.0041$) digestibility compared to the control diet. The effect of treatments on crude protein digestibility showed a trend toward significance ($P = 0.0874$). Neutral detergent fiber digestibility was significantly higher in the thyme extract treatment compared to the other treatments ($P = 0.0200$). Finally, crude fat digestibility was significantly increased in all plant extract treatments compared to the control group ($P = 0.0406$).

Conclusion: Supplementation with plant extracts distinctly modulated ruminal fermentation and nutrient digestibility in Zel sheep. Eucalyptus extract exhibited the most pronounced positive effects on nutrient digestibility, the rapidly degradable fraction of dry matter, and gas production parameters, whereas thyme and garlic extracts suppressed fermentation due to their strong antimicrobial activity. Despite these differences, all plant extract treatments enhanced apparent nutrient digestibility relative to the control. Overall, eucalyptus extract with sodium bicarbonate proved most effective in enhancing ruminal fermentation efficiency and maintaining pH stability in concentrate-based diets.

Keywords: Eucalyptus extract, Garlic extract, Ruminal fermentation, Sodium bicarbonate, Thyme extract

اثرات بافر و عصاره‌های گیاهی بر فراسنجه‌های تجزیه پذیری، تولید گاز و قابلیت هضم گوسفند زل

فاطمه رضوانی باده^۱، یداله چاشنی دل^{۱*}، اسداله تیموری یانسری^۱، رادمان بختیاری^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۰۳

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی افزودن سدیم بی کربنات دو درصد و عصاره‌های گیاهی (آویشن (*Thymus vulgaris* L.)، سیر (*Allium sativum* L.) و اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus* Labill.)) بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای، تولید گاز و قابلیت هضم در گوسفند زل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- سدیم بی کربنات دو درصد (بدون عصاره)؛ ۲- سدیم بی کربنات دو درصد به علاوه عصاره آویشن (۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره)؛ ۳- سدیم بی کربنات دو درصد به علاوه عصاره سیر (۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره) و ۴- سدیم بی کربنات دو درصد به علاوه عصاره اکالیپتوس (۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره) بودند. ظرفیت تولید گاز با روش آزمایشگاهی و تعیین فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری با روش کیسه‌های نایلونی انجام شد. برای تعیین قابلیت هضم، از روش نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید استفاده گردید. نتایج نشان داد که پتانسیل تولید گاز و گاز تولیدی در ۹۶ ساعت در تیمار حاوی عصاره اکالیپتوس نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و غلظت اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر در تیمار حاوی عصاره اکالیپتوس و شاهد نسبت به تیمار حاوی عصاره آویشن به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. بخش سریع تجزیه ماده خشک در تیمار حاوی عصاره اکالیپتوس نسبت به تیمارهای حاوی عصاره آویشن و سیر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در تمامی تیمارهای حاوی عصاره گیاهی نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طور کلی، استفاده از عصاره اکالیپتوس به علاوه سدیم بی کربنات می‌تواند به عنوان گزینه‌ای مؤثرتر برای بهبود فرآیند تخمیر شکمبه و افزایش بهره‌وری غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تخمیر شکمبه‌ای، سدیم بی کربنات، عصاره اکالیپتوس، عصاره آویشن، عصاره سیر

مقدمه

نتیجه افزایش مصرف خوراک می‌شود (Ramos et al., 2021). افزودن سدیم بی کربنات ممکن است باعث افزایش فعالیت میکروب‌های سلولولیتیک شود، زیرا آن‌ها نسبتاً حساس به کاهش شدید pH هستند. همان‌طور که در پژوهشی نشان داده شده است، استفاده از بافر سدیم بی کربنات موجب افزایش pH نهایی و افزایش تولید اسیدهای چرب فرار شد (Mao et al., 2017). مطالعاتی وجود دارند که نشان داده‌اند ترکیب افزودنی‌های تنظیم‌کننده با تکنولوژی‌های مختلف (مثلاً مخمر به علاوه عصاره یا عصاره به علاوه بافر) ممکن است نتایج بهتری از هر کدام به تنهایی بدهند (Linville, 2017). در سال‌های اخیر، توجه بیشتری به استفاده از گیاهان دارویی به عنوان جایگزین‌های طبیعی برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در تغذیه دام‌ها جلب شده است، زیرا این گیاهان می‌توانند عملکرد آن‌ها

تغذیه دام‌های نشخوارکننده با جیره‌های حاوی مقدار زیاد کنسانتره اغلب منجر به ناهنجاری‌های متابولیکی می‌شود. بافرها به‌طور گسترده‌ای در جیره‌های حاوی مواد متراکم بالا به منظور پیش‌گیری از اثرات زیان‌بار اسیدیته از طریق پایداری pH شکمبه استفاده می‌شوند (Plaizier et al., 2018). استفاده از بافرها با افزایش نسبت استات به پروپیونات موجب بهبود هضم الیاف و در

۱- گروه علوم دامی، دانشکده دام و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

(*) نویسنده مسئول: (Email: yhashmidel@sanru.ac.ir)

<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.94142.1252>

تجزیه پذیری شکمبه ای ماده خشک، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شونده خشی به روش *in sacco* در میش های نژاد زل دارای فیستوله شکمبه ای و فراسنجه های تولید گاز به روش *in vitro* با استفاده از مایع شکمبه میش های ذکر شده بود. مرحله دوم، ارزیابی اثرات تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی خوراک به روش *in vivo* در گوسفند های نر نژاد زل بود. در مرحله اول، سطوح مختلف بافر و عصاره های گیاهی، آزمایش و بررسی شده و بهترین تیمارها در هر بخش گزارش گردید و در مرحله دوم آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- سدیم بی کربنات دو درصد (شاهد)، ۲- شاهد + عصاره آویشن (۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره)، ۳- شاهد + عصاره سیر (۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره) و ۴- شاهد + عصاره اکالیپتوس (۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره) بودند. مکمل سدیم بی کربنات از شرکت اکسیر شیمی (ایران، تبریز) و عصاره های گیاهی مورد آزمایش از شرکت مزرعه مروارید (سبزوار، خراسان رضوی، ایران) تهیه گردید. سدیم بی کربنات به شکل پودر سفید رنگ کریستالی شفاف به جیره های آزمایشی اضافه شد و عصاره های گیاهی به طور کامل و یکنواخت به کنسانتره مصرفی روزانه دام های آزمایشی اسپری و مخلوط گردید. جیره بره های پرواری با نرم افزار SRNS تنظیم شد و اقلام خوراکی مورد استفاده به صورت جیره کاملاً مخلوط (TMR) حاوی علوفه و کنسانتره به نسبت ۷۰:۳۰ در اختیار حیوانات مورد آزمایش قرار گرفت. ترکیبات جیره غذایی در جدول (۱) نمایش داده شده است و جهت تعیین مقدار ترکیبات شیمیایی جیره از روش های استاندارد (AOAC, 2005; Van Soest *et al.*, 1991) استفاده گردید.

فراسنجه های تجزیه پذیری شکمبه ای

در این آزمایش، تعداد سه رأس میش نژاد زل دارای فیستوله شکمبه ای با میانگین وزن 43 ± 2 کیلوگرم و سن دو سال به منظور تعیین فراسنجه های تجزیه پذیری در جایگاهی مسقف و نیمه باز، در قفس های متابولیک با دسترسی آزاد به آب و مکمل معدنی نگهداری شدند. پس از طی دوره عادت پذیری، میش ها با جیره های آزمایشی (جدول ۱) دو بار در روز (۸ صبح و ۲۰ عصر) تغذیه گردید. نمونه های جیره های آزمایشی پس از خشک شدن با آسیاب دارای الک یک میلی متری آسیاب شدند و مقدار چهار گرم نمونه داخل کیسه های نایلونی (قطر منافذ ۴۸ میکرومتر و ابعاد 10×15 سانتی متر) از جنس الیاف پلی استر مصنوعی ریخته شد. کیسه ها به مدت صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت داخل شکمبه قرار داده شد. پس از خروج کیسه های حاوی نمونه از شکمبه بلافاصله با آب سرد شست و شو انجام شده، سپس آن ها داخل آون قرار داده شدند. با استفاده از معادله ۱ فراسنجه های تجزیه پذیری محاسبه گردید

را بهبود بخشند (Chen *et al.*, 2021). ترکیبات موجود در گیاهان دارویی می توانند با افزایش ترشح آنزیم های گوارشی و بهبود جذب مواد مغذی، به افزایش وزن و رشد دام کمک کنند (Tao *et al.*, 2019). عصاره های گیاهی با توجه به خاصیت ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و ویژگی های بیولوژیکی فعال، تحول عظیمی را در زمینه افزودنی های خوراکی به وجود آوردند (Benchaa *et al.*, 2007). این ترکیبات می توانند منجر به ممانعت از دامپاسیون اسید آمینه و کاهش نیتروژن آمونیاکی، متان، استات و افزایش غلظت پروپیونات و بوتیرات در شکمبه شوند. عصاره آویشن (*Thymus vulgaris* L.) از جمله عصاره های گیاهی است که اخیراً مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته (Ribeiro *et al.*, 2019) و فعالیت ضد میکروبی آن در شرایط آزمایشگاهی با کاهش تولید گاز متان و اثرات آن بر فراسنجه های تخمیر شکمبه گزارش شده است (Talebi *et al.*, 2019). عصاره سیر (*Allium sativum* L.) نیز به عنوان یک پروبیوتیک عمل کرده و دارای فعالیت های آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد متان زایی و ضد پروتوزوایی است (Sasi *et al.*, 2021). مطالعات متعددی نشان داده اند که مصرف پودر سیر و مشتقات آن می تواند تأثیرات مثبتی بر دام ها به ویژه گوساله ها داشته باشد (Chen *et al.*, 2021). همچنین عصاره اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus* Labill.) حاوی مجموعه ای از اسانس فرار شامل ۱،۸- سینئول، لیمون و α - ترپینئول و ترکیبات فنولی غیر فرار است که ممکن است سبب تعدیل تخمیر شکمبه در جهت مهار متانوژنر شوند (Kumar *et al.*, 2022). در پژوهش حاضر، با در نظر گرفتن سطوح مختلف استفاده شده در مطالعات اخیر بر روی عصاره های آویشن (Khorrami *et al.*, 2015; El-Naggar *et al.*, 2017) (Hassan & Abdel-Raheem, 2013; Hodjatpanah-Montazeri *et al.*, 2014) و اکالیپتوس (Noorian Soroor & Roozbehan, 2014; Akbarian-Tefaghi *et al.*, 2018) و همچنین با انجام پیش آزمایش، بهترین سطوح عصاره ها انتخاب شد. با توجه به تأثیر مثبت بافرها و عصاره های گیاهی بر فراسنجه های تخمیر شکمبه ای، هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر سدیم بی کربنات دو درصد و عصاره های گیاهی در جیره بر فراسنجه های تجزیه پذیری شکمبه ای، تولید گاز و قابلیت هضم مواد مغذی خوراک بود.

مواد و روش ها

این پژوهش در مزرعه پژوهشی و آزمایشگاه دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. این آزمایش به صورت دو مرحله اجرا گردید. مرحله اول، بررسی اثرات سدیم بی کربنات دو درصد همراه با عصاره های گیاهی بر فراسنجه های

(Orskov & McDonald, 1979).

$$ED = a + \{(b \times c)/(c + k)\} \quad \text{معادله (۲)}$$

که در آن، ED: فراسنجه تجزیه‌پذیری مؤثر در شکمبه، a: بخش سریع تجزیه (درصد)، b: بخش کند تجزیه (درصد)، c: ثابت نرخ تجزیه و k: ثابت نرخ عبور فرضی هستند.

$$P = a + b(1 - e^{-ct}) \quad \text{معادله (۱)}$$

که در آن، P: درصد تجزیه‌پذیری ماده مغذی در زمان t، a: بخش سریع تجزیه (درصد)، b: بخش کند تجزیه (درصد)، c: عدد نپری، c: ثابت نرخ تجزیه و t: زمان انکوباسیون (ساعت) هستند. محاسبه درصد تجزیه‌پذیری مؤثر نمونه‌ها براساس معادله ۲ با نرخ عبور فرضی

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی (برحسب درصد ماده خشک جیره یا واحد بیان شده)

Table 1- Ingredients and chemical compounds of experimental diets (% DM or as stated)

اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره Diet Ingredients and chemical composition	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4
سیلاژ ذرت Corn silage	20	20	20	20
کاه گندم Wheat straw	10	10	10	10
دانه ذرت Corn grain	15	15	15	15
دانه جو Barley grain	25	25	25	25
کنجاله سویا Soybean meal	16.2	16.2	16.2	16.2
سبوس گندم Wheat bran	10	10	10	10
نمک معمولی Common salt	0.3	0.3	0.3	0.3
پرمیکس دامی Animal primex	0.5	0.5	0.5	0.5
کلسیم کربنات Calcium carbonat	1	1	1	1
سدیم بی کربنات Sodium bicarbonate	2	2	2	2
عصاره آویشن (میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره) Thyme extract (mg/kg DM of diet)	-	400	-	-
عصاره سیر (میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره) Garlic extract (mg/kg DM of diet)	-	-	300	-
عصاره اکالیپتوس (میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره) Eucalyptus extrac (mg/kg DM of diet)	-	-	-	150
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) Neutral detergent fiber (NDF, %)	36.18	36.18	36.18	36.18
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد) Acid detergent fiber (ADF, %)	22.25	22.25	22.25	22.25
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	14.02	14.02	14.02	14.02
انرژی متابولیسمی (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک) Metabolizable energy (Mcal/kg DM of diet)	2.45	2.45	2.45	2.45

* تیمارهای آزمایشی: ۱- سدیم بی کربنات دو درصد (شاهد)، ۲- شاهد + عصاره آویشن، ۳- شاهد + عصاره سیر و ۴- شاهد + عصاره اکالیپتوس.

* Experimental treatments: 1- 2% sodium bicarbonate (control); 2- control + Thyme extract; 3- control + Garlic extract; 4- control + Eucalyptus extract.

فراسنجه‌های تولید گاز

گاز تولیدی مطابق با روش منک و استینگس (Menke & Steingass, 1988) اندازه‌گیری شد. مایع شکمبه قبل از خوراک‌دهی صبح از میش‌های نژاد زل دارای فیستولای شکمبه‌ای ذکرشده جمع‌آوری گردید. مقدار ۰/۲ گرم از ماده خشک نمونه‌های آزمایشی آسیاب‌شده در داخل سرنگ‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و با مایع شکمبه و بزاق مصنوعی (با نسبت ۱ به ۲) در حمام آبی با دمای ثابت ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. حجم گاز تولیدی در زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت شده و داده‌ها با استفاده از معادله ۳ برازش شدند.

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

که در آن، P: ظرفیت تولید گاز، b: گاز تولیدشده از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر)، c: ثابت نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر بر ساعت)، t: زمان انکوباسیون (ساعت) و e: عدد نپری است. میزان انرژی قابل متابولیسم با استفاده از معادله ۴ محاسبه شد (Menke et al., 1979).

$$ME \text{ (MJ/kg DM)} = 2.20 + 0.1357GP + 0.0057CP + 0.0002859EE^2 \quad \text{معادله (۴)}$$

که در آن، ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)؛ GP: حجم گاز تولیدی تصحیح‌شده برای ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک) و EE: چربی خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک) است. همچنین قابلیت هضم ماده آلی با استفاده از معادله ۵ محاسبه شد (Menke et al., 1979):

$$OMD = 14.88 + 0.889GP + 0.045CP + 0.0651Ash \quad \text{معادله (۵)}$$

که در آن، OMD: قابلیت هضم ماده آلی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، GP: حجم گاز تولیدی تصحیح‌شده برای ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک) و Ash: خاکستر (گرم در کیلوگرم ماده خشک) است. برای برآورد اسیدهای چرب کوتاه زنجیر از معادله ۶ (Getachew et al., 1998) استفاده شد.

$$SCFA \text{ (mmol/200 mgDM)} = 0.0239GP - 0.0601 \quad \text{معادله (۶)}$$

که در آن، SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) و GP: حجم گاز تولیدی تصحیح‌شده برای ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) است.

قابلیت هضم مواد مغذی خوراک

جهت اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی خوراک، از روش نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید (AIA) استفاده شد (Van Keulen & Young, 1977). به‌منظور انجام این آزمایش، تعداد ۲۰ رأس گوسفند نر نژاد زل (چهار تیمار شامل پنج تکرار) با میانگین وزن 38 ± 2 و سن شش الی هفت ماه به‌مدت ۴۲ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. نمونه‌گیری از مدفوع و باقی‌مانده‌های خوراک مربوط به دام‌های آزمایشی هر تیمار در پنج روز پایانی آزمایش به‌منظور تعیین خاکستر نامحلول در اسید و میزان ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و چربی خام براساس روش انجمن تجزیه شیمیادانان (AOAC, 2005) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی به‌روش ون‌سوست و همکاران (Van Soest et al., 1991) انجام گردید. پس از تعیین خاکستر نامحلول در اسید نمونه‌های خوراک و مدفوع، قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی برحسب درصد، با استفاده از معادله ۷ محاسبه شد.

$$D = 100 - \left\{ 100 \times \left(\frac{AIA \text{ feed}}{AIA \text{ fecal}} \times \frac{N \text{ fecal}}{N \text{ feed}} \right) \right\} \quad \text{معادله (۷)}$$

طرح آماری

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ با مدل آماری زیر (معادله ۸) آنالیز شدند.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad \text{معادله (۸)}$$

که در آن، Y_{ij} : مقدار هر مشاهده، μ : میانگین جامعه، T_i : اثر تیمارها و e_{ij} : خطای آزمایشی هستند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه‌پذیری مواد مغذی

با توجه به نتایج جدول (۲)، بخش سریع تجزیه ماده خشک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P=0/0137$). بیشترین مقدار این فراسنجه در تیمار حاوی عصاره اکالیپتوس و کمترین مقدار آن در تیمار حاوی عصاره آویشن مشاهده شد. اثر تیمارهای آزمایشی بر بخش کند تجزیه ماده خشک نیز تمایل به معنی‌داری داشت ($P=0/0828$). تیمار حاوی عصاره سیر دارای بیشترین و شاهد دارای کمترین مقدار بود. ثابت نرخ تجزیه تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان داد ($P=0/0218$). تیمار حاوی عصاره اکالیپتوس دارای بیشترین و تیمار حاوی عصاره سیر دارای کمترین مقدار بود. مقادیر تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک در نرخ عبور ۰/۰۲، ۰/۰۵ و ۰/۰۸ در بین تیمارهای آزمایشی از نظر آماری تمایل به معنی‌داری داشت ($P=0/08$).

جدول ۲- اثر بافر و عصاره‌های گیاهی بر تجزیه‌پذیری مواد مغذی خوراک

Table 2- Effect of buffer and plant extracts on feed nutrient degradability

تجزیه‌پذیری ماده خشک Degradability of DM	تیمارهای آزمایشی ^۱ Experimental treatments ¹				خطای استاندارد SEM	اثرات معنی‌داری P-value
	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4		
بخش سریع تجزیه (درصد) Fast degradation fraction (%)	11.01 ^{ab}	10.24 ^b	10.35 ^b	11.80 ^a	0.326	0.0137
بخش کند تجزیه (درصد) Potentially degradable fraction (%)	67.46 ^b	70.25 ^{ab}	71.38 ^a	68.22 ^{ab}	1.104	0.0828
بخش بالقوه قابل تجزیه (درصد) Slow degradation fraction (%)	78.47	80.49	81.73	80.02	1.067	0.2302
بخش غیرقابل تجزیه (درصد) Non-degradable fraction (%)	21.52	19.50	18.26	19.97	1.067	0.2302
ثابت نرخ تجزیه (درصد در ساعت) Degradation rate constant (%)	2.38 ^b	2.35 ^b	2.27 ^b	2.82 ^a	0.119	0.0218
تجزیه‌پذیری مؤثر در نرخ عبور (درصد در ساعت) Effective degradation of pass rate (%/h)						
0.02	66.89 ^b	69.65 ^{ab}	70.74 ^a	67.73 ^{ab}	1.075	0.0830
0.05	66.07 ^b	68.78 ^{ab}	69.80 ^a	67.02 ^{ab}	1.033	0.0831
0.08	65.26 ^b	67.93 ^{ab}	68.89 ^a	66.32 ^{ab}	0.993	0.0829
تجزیه‌پذیری پروتئین خام Degradability of CP						
بخش سریع تجزیه (درصد) Fast degradation fraction (%)	11.28	10.55	11.03	11.65	0.311	0.1301
بخش کند تجزیه (درصد) Potentially degradable fraction (%)	72.13	73.14	73.38	72.70	0.476	0.3002
بخش بالقوه قابل تجزیه (درصد) Slow degradation fraction (%)	83.41	83.69	84.42	84.35	0.426	0.2950
بخش غیرقابل تجزیه (درصد) Non-degradable fraction (%)	16.58	16.30	15.57	15.64	0.426	0.2950
ثابت نرخ تجزیه (درصد در ساعت) Degradation rate constant (%)	3.34	3.53	3.31	3.39	0.083	0.3022
تجزیه‌پذیری مؤثر در نرخ عبور (درصد در ساعت) Effective degradation of pass rate (%/h)						
0.02	71.70	72.72	72.94	72.27	0.470	0.2896
0.05	71.06	72.11	72.29	71.64	0.460	0.2742
0.08	70.44	71.51	71.65	71.02	0.452	0.2593
تجزیه‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی Degradability of NDF						
بخش سریع تجزیه (درصد) Fast degradation fraction (%)	6.77 ^a	5.43 ^b	5.54 ^b	5.60 ^b	0.206	0.0009
بخش کند تجزیه (درصد) Potentially degradable fraction (%)	48.75	51.09	49.53	49.23	1.049	0.4478
بخش بالقوه قابل تجزیه (درصد) Slow degradation fraction (%)	55.52	56.53	55.07	54.84	1.131	0.7301
بخش غیرقابل تجزیه (درصد) Non-degradable fraction (%)	44.47	42.46	44.92	45.15	1.131	0.7301
ثابت نرخ تجزیه (درصد در ساعت) Degradation rate constant (%)	2.36	2.48	2.55	2.73	0.130	0.2873
تجزیه‌پذیری مؤثر در نرخ عبور (درصد در ساعت) Effective degradation of pass rate (%/h)						
0.02	48.33	50.68	49.13	48.87	1.022	0.4321
0.05	47.72	50.07	48.56	48.34	0.983	0.4076
0.08	47.13	49.47	47.99	47.82	0.946	0.3823

^۱ تیمارهای آزمایشی: ۱- سدیم بی‌کربنات دو درصد (شاهد)، ۲- شاهد+عصاره آویشن، ۳- شاهد + عصاره سیر، ۴- شاهد + عصاره اکالیپتوس.

حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار است ($P<0.05$).

¹ Experimental treatments: 1- 2% sodium bicarbonate (control); 2- Control + Thyme extract; 3- control + Garlic extract; 4- control + Eucalyptus extract. Means within same row with different superscripts differ ($P<0.05$).

حاوی ۶۰ درصد علوفه و ۴۰ درصد کنسانتره کاهش داد. به طور کلی، اثر اسانس‌های گیاهی بر تجزیه‌پذیری پروتئین هم به نوع جیره و هم به نوع سوپسترا بستگی دارد (Khorrami et al., 2015). بیان شده است که عدم اثر اسانس‌های گیاهی بر متابولیسم پروتئین در بلندمدت (کشت مداوم) در شرایط برون‌تنی، روش کیسه‌های نایلونی و مطالعه در شرایط درون‌تنی، ممکن است به مدت زمانی که باکتری‌های شکمبه در معرض این اسانس‌ها قرار دارند، مربوط باشد که این امر سبب تغییر در جمعیت میکروبی شکمبه می‌شود. همچنین ممکن است برخی از ترکیبات فعال اسانس‌ها توسط باکتری‌های شکمبه تجزیه شود (Busquet et al., 2005).

فراسنجه‌های تولید گاز

با توجه به نتایج جدول (۳)، اثر تیمارهای آزمایشی بر پتانسیل تولید گاز و گاز تولیدی در ۹۶ ساعت معنی‌دار بود ($P < 0.01$). بیشترین مقادیر مربوط به تیمار حاوی عصاره اکالیپتوس و کمترین آن مربوط به تیمار حاوی عصاره آویشن بود. گاز تولیدی در ۲۴ ساعت ($P = 0.0482$) و ۴۸ ساعت ($P = 0.060$) در تیمارهای حاوی عصاره اکالیپتوس و شاهد نسبت به تیمار حاوی عصاره آویشن به طور معنی‌داری بیشتر بود. قابلیت هضم ماده آلی ($P = 0.0352$)، انرژی قابل متابولیسم ($P = 0.0371$) و غلظت اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر ($P = 0.0482$) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند، به طوری که مقدار این فراسنجه‌ها در تیمار حاوی عصاره اکالیپتوس و شاهد بالاترین بود.

سالم و همکاران (Sallam et al., 2009) نشان دادند که افزودن اسانس اکالیپتوس می‌تواند تخمیر شکمبه‌ای را به سمت تولید بیشتر اسیدهای چرب فرار و کاهش تولید متان هدایت کند. این پژوهشگران عنوان کردند که ترکیبات اصلی اکالیپتوس مانند ۱،۸-سینئول و α -پینن می‌توانند به صورت انتخابی برخی از متانوزنها را مهار و در عین حال رشد باکتری‌های سلولولیتیک را حفظ کنند. این اثر تنظیمی ممکن است علت افزایش تولید گاز و اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر در تیمار اکالیپتوس باشد. در مقابل، افزودن عصاره سیر و آویشن منجر به کاهش تولید گاز، قابلیت هضم و غلظت اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر شد. این یافته با گزارش‌های پیشین هم‌خوانی دارد که ترکیبات فنولی و آلیسین موجود در این عصاره‌ها می‌توانند اثرات ضد میکروبی داشته باشند (Talebi et al., 2019). به‌ویژه، تیمار آویشن با داشتن بالاترین سطح تیمول و کارواکرول ممکن است سبب مهار رشد میکروب‌های تجزیه‌کننده فیبر شود و در نتیجه تخمیر و تولید گاز را محدود نماید (Castillejos et al., 2006). مطابق با نتایج این پژوهش، برخی پژوهشگران کاهش در مقدار گاز تولید شده

بیشترین تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک مربوط به تیمار حاوی عصاره سیر بود، درحالی که کمترین مقدار آن نیز در شاهد مشاهده شد. همچنین هیچ کدام از فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری پروتئین خام از نظر آماری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P > 0.05$). بخش سریع تجزیه الیاف نامحلول در شوینده خنثی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان داد ($P = 0.0009$)، به طوری که بیشترین مقدار آن در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در تیمار حاوی عصاره آویشن مشاهده شد. سایر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای الیاف نامحلول در شوینده خنثی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی نداشتند ($P > 0.05$).

این یافته‌ها می‌تواند با خاصیت بیولوژیکی عصاره اکالیپتوس ارتباط داشته باشد. عصاره اکالیپتوس (به‌خصوص اسانس‌های فرار آن مانند ۱،۸-سینئول) به عنوان یک تنظیم‌کننده تخمیر شناخته شده است. اثر افزایشی تیمار اکالیپتوس بر بخش سریع تجزیه شاید به دلیل تحریک میکروب‌های سریع‌العمل یا اثرات آنتی‌میکروبی انتخابی باشد که شرایط اولیه تخمیر را تسهیل می‌کنند (Sallam et al., 2009). عصاره سیر به عنوان منبع ترکیبات گوگردی فعال (مانند آلیسین) شناخته شده است که می‌تواند فعالیت میکروبی را تنظیم کند (Kekana et al., 2020). در برخی مطالعات، عصاره سیر و ترکیبات گوگردی با افزایش فعالیت آنزیم‌های هیالینی و تحریک میکروب‌ها گزارش شده‌اند (Linville, 2017). آویشن حاوی ترکیبات فنلی و تانن است که می‌تواند با میکروب‌ها و آنزیم‌های میکروبی تأثیرات مهاری داشته باشند یا اتصال به پروتئین یا کربوهیدرات ایجاد کنند و در دسترس‌پذیری آنزیمی را کاهش دهند (Durmic et al., 2014). این ممکن است منجر به مهار برخی فعالیت‌های آنزیمی سریع شود و بنابراین بخش سریع تجزیه را کاهش دهد.

در پژوهشی اثر استفاده از مونسین، اسانس آویشن و دارچین (C. cassia Presl) بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای سیلاژ ذرت مورد بررسی قرار گرفت؛ مقدار بخش سریع تجزیه، کند تجزیه، ثابت نرخ تجزیه و تجزیه‌پذیری مؤثر الیاف نامحلول در شوینده خنثی با افزودن اسانس کاهش یافت، اما تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (Khorrami et al., 2015) که موافق با نتایج پژوهش حاضر بود. در همین راستا، در پژوهشی دیگر عدم اثر اسانس‌های گیاهی بر تعداد باکتری‌های سلولولیتیک در گاوهای شیرده گزارش شد (Benchaar et al., 2006). نیوبولد و همکاران (Newbold et al., 2004) گزارش کردند که ترکیب تجاری مخلوط اسانس‌های گیاهی، نرخ تجزیه‌پذیری ماده خشک کنجاله سویا (Glycine max L. Merr.) را در شکمبه گوسفندان کاهش داد، اما اثری بر تجزیه‌پذیری ماده خشک کنجاله کلزا (Brassica napus L.) نداشتند. همچنین تجزیه‌پذیری پروتئین کنجاله سویا را در گوسفندان تغذیه‌شده با جیره

ساعت انکوباسیون شد (Hojatpanah-Montazeri *et al.*, 2014). در مقابل، انصاری و همکاران (Ansari *et al.*, 2012) افزایش میزان گاز تولیدی و قابلیت هضم سوبسترا را در اثر استفاده از سیر گزارش کردند. نوریان و روزبهان (Nooriyan & Rouzbehan, 2017) در پژوهشی دریافتند که افزودن اسانس اکالیپتوس سبب کاهش تعداد پروتوزوآها و کاهش تولید گاز متان در شرایط آزمایشگاهی شد. کومار و همکاران (Kumar *et al.*, 2022) نیز کاهش تولید گاز متان را در تیمارهای حاوی اکالیپتوس گزارش کردند. حسن و شریف (Hassan & Abdel-Raheem, 2013) افزایش در قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را در تیمار حاوی دو درصد سیر خشک نسبت به شاهد گزارش دادند. به‌طور کلی، نتایج متفاوت ممکن است تحت تأثیر عواملی مانند تفاوت در جیره پایه، غلظت اسانس مورد ارزیابی، نوع اسانس یا منشأ آن، تکنیک برون‌تنی به‌کارگرفته‌شده و همچنین تفاوت در مقدار سوبسترا و حجم بافر مایع شکمبه در سرنگ‌ها قرار بگیرد.

در شرایط آزمایشگاهی را با افزودن سطوح مختلف عصاره آویشن گزارش کرده‌اند (Talebzadeh *et al.*, 2012). یو و همکاران (Xu *et al.*, 2020) در پژوهشی بیان کردند که استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تیمول، میزان کل تولید گاز را کاهش و pH شکمبه را افزایش داد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. نل و همکاران (Nel *et al.*, 2020) در بررسی اثر استفاده از اسانس‌ها در ترکیب با آنزیم‌های فیبرولیتیک به‌منظور کاهش گاز متان در شرایط آزمایشگاهی دریافتند که افزودن اسانس اثر مثبتی بر کاهش گاز متان داشت. پاورا و همکاران (Pawar *et al.*, 2014) نیز گزارش کردند که افزودن اسانس سیر و دارچین به مخلوط کاه گندم و کنسانتره در شرایط آزمایشگاهی، تولید گاز متان را به‌طور قابل‌توجهی کاهش داد، بدون آنکه بر قابلیت هضم ماده آلی اثر منفی داشته باشد. گزارش شده است که این اثر به فعالیت ضدباکتریایی اسانس سیر به‌دلیل وجود آلیسین و دی‌آلیل سولفید مربوط است. در پژوهشی گزارش شد که افزودن ۸۰ میلی‌گرم اسانس سیر سبب کاهش میزان گاز تولیدی پس از ۹۶

جدول ۳- اثر بافر و عصاره‌های گیاهی بر فراسنجه‌های تولید گاز

Table 3- Effect of buffer and plant extracts on gas production parameters

موارد Parameters	تیمارهای آزمایشی ^۱ Experimental treatments ¹				خطای استاندارد میانگین SEM	اثرات معنی‌داری P-value
	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4		
پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر) Gas production potential (ml)	35.20 ^b	31.07 ^c	33.68 ^{bc}	39.21 ^a	0.918	0.0003
نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر بر ساعت) Gas production rate (ml/h)	0.063	0.056	0.57	0.50	0.004	0.2856
گاز تولیدی در ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر) Gas produced in 24 hours (ml)	26.40 ^a	23.10 ^b	25.00 ^{ab}	27.20 ^a	0.495	0.0482
گاز تولیدی در ۴۸ ساعت (میلی‌لیتر) Gas produced in 48 hours (ml)	33.30 ^a	28.00 ^b	31.00 ^{ab}	33.90 ^a	0.544	0.0060
گاز تولیدی در ۹۶ ساعت (میلی‌لیتر) Gas produced in 96 hours (ml)	35.60 ^b	31.50 ^c	33.80 ^{bc}	38.70 ^a	0.882	0.0002
قابلیت هضم ماده آلی (درصد) Organic matter digestibility (%)	45.15 ^a	42.22 ^b	44.30 ^{ab}	46.16 ^a	0.876	0.0352
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول/کیلوگرم) Metabolizable energy (MJ/kg)	6.56 ^a	6.11 ^b	6.42 ^{ab}	6.70 ^a	0.133	0.0371
اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر (میلی‌مول) Short chain VFAs (mmol)	0.58 ^a	0.50 ^b	0.55 ^{ab}	0.59 ^a	0.002	0.0482

^۱ تیمارهای آزمایشی: ۱- سدیم بی‌کربنات دو درصد (شاهد)، ۲- شاهد + عصاره آویشن، ۳- شاهد + عصاره سیر، ۴- شاهد + عصاره اکالیپتوس.

حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار است ($P < 0.05$).

¹ Experimental treatments: 1- 2% sodium bicarbonate (control); 2- control + Thyme extract; 3- control + Garlic extract; 4- control + Eucalyptus extract.

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

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی

با توجه به نتایج جدول (۴)، قابلیت هضم ماده خشک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P = 0.0155$). بیشترین قابلیت هضم

ماده خشک مربوط به تیمار حاوی عصاره اکالیپتوس و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد بود. قابلیت هضم ماده آلی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها داشت ($P = 0.0041$)، به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن در

پروتئین به آمونیاک جلوگیری کنند (Hodjatpanah-Montazeri et al., 2014). ترکیبات فعال اکالیپتوس در سطح پایین می‌توانند رشد باکتری‌های سلولولیتیک را حفظ یا حتی تحریک کنند که منجر به افزایش تجزیه‌پذیری الیاف خام و در نتیجه افزایش قابلیت هضم ماده خشک می‌شود (Noorian Soroor & Roozbehan, 2014). نتایج مطالعات نشان داد که استفاده از عصاره‌ها در تغذیه دام، فراوانی نسبی باکتری‌های تجزیه‌کننده فیبر مانند فیبروباکتر سوکسینوترنز، رومینوکوکوس آلبوس و آر. فلاویفیسینس را در مایع شکمبه گوسفند افزایش داد (Patra & Yu, 2015; Naseri et al., 2022). باین‌حال، اورزونا-اورزونا و همکاران (Orzuna-Orzuna, et al., 2022) در پژوهشی با افزودن اسانس‌های ضروری به جیره کاهش معنی‌داری در قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده اسیدی مشاهده کردند. دورانتس-ایتوربید و همکاران (Dorantes-Iturbide et al., 2022) دریافتند که افزودن اسانس‌های ضروری به جیره نشخوارکنندگان، قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی را افزایش داد، اما قابلیت هضم چربی خام بین تیمارها مشابه بود. موافق با نتایج پژوهش حاضر، یانگ و همکاران (Yang et al., 2007) افزایشی در قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک با مکمل کردن جیره با اسانس‌های فرار سیر گزارش کردند.

تیمار حاوی عصاره سیر و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد مشاهده شد. اثر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم پروتئین خام تمایل به معنی‌داری داشت ($P=0/0874$) به‌طوری‌که بیشترین مقدار در تیمار حاوی عصاره سیر و کمترین مقدار در شاهد مشاهده شد. مقدار قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P=0/0200$). تیمار حاوی عصاره آویشن با قابلیت هضم ۵۰/۲۵ درصد بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. اثر تیمار بر قابلیت هضم چربی خام نیز معنی‌دار بود ($P=0/0406$)، به‌طوری‌که تیمار حاوی عصاره سیر دارای بیشترین و شاهد دارای کمترین مقدار بود.

برخی اسانس‌های ضروری اثرات مثبتی بر جمعیت قارچ‌های شکمبه و باکتری‌های فیبرولیتیک دارند (Dorantes-Iturbide et al., 2022) که می‌توانند منجر به افزایش قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی شوند. آویشن به‌واسطه ترکیبات فنلی قوی می‌تواند رشد برخی از باکتری‌های آمیلولیتیک و متانوزنها را مهار کرده و تعادل میکروبی را به‌نفع باکتری‌های فیبرولیتیک تغییر دهد، در نتیجه هضم فیبر را بهبود بخشد (Khorrami et al., 2015). ترکیبات گوگردی فعال موجود در سیر نقش مهمی در تعدیل جامعه میکروبی شکمبه دارند؛ این ترکیبات می‌توانند رشد باکتری‌های پروتئولیتیک و لیپولیتیک را افزایش دهند و از تجزیه بیش از حد

جدول ۴- اثر بافر و عصاره‌های گیاهی بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی خوراک
Table 4- Effect of buffer and plant extracts on apparent nutrient digestibility of feed

صفت (درصد) Parameter (%)	تیمارهای آزمایشی ^۱ Experimental treatments ¹				خطای استاندارد میانگین SEM	اثرات معنی‌داری P-value
	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4		
ماده خشک Dry matter	63.38 ^b	67.18 ^a	68.00 ^a	68.75 ^a	1.044	0.0155
ماده آلی Organic matter	66.77 ^b	69.97 ^a	71.38 ^a	69.98 ^a	0.708	0.0041
پروتئین خام Crude protein	69.39	72.82	73.70	72.87	0.574	0.0874
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	46.76 ^b	50.25 ^a	45.82 ^b	46.05 ^b	0.938	0.0200
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	36.48	39.18	38.44	38.54	0.876	0.2070
چربی خام Ether extract	80.59 ^b	85.86 ^a	83.52 ^a	82.67 ^a	1.431	0.0406

^۱ تیمارهای آزمایشی: ۱- سدیم بی‌کربنات دو درصد (شاهد)؛ ۲- شاهد + عصاره آویشن؛ ۳- شاهد + عصاره سیر؛ ۴- شاهد + عصاره اکالیپتوس.

حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار است ($P<0.05$).

¹ Experimental treatments: 1- 2% sodium bicarbonate (control); 2- control + Thyme extract; 3- control + Garlic extract; 4- control + Eucalyptus extract.

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

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که نوع عصاره‌های گیاهی تأثیر متفاوتی بر فراسنجه‌های تخمیری و قابلیت هضم مواد مغذی دارد. عصاره اکالیپتوس بیشترین تأثیر مثبت را بر قابلیت هضم و بخش سریع تجزیه ماده خشک و فراسنجه‌های تولید گاز داشت. در مقابل، عصاره‌های آویشن و سیر موجب کاهش معنی‌دار میزان تولید گاز و برخی فراسنجه‌های تخمیری شدند که می‌تواند به خاصیت ضد میکروبی قوی‌تر این ترکیبات علیه باکتری‌های شکمبه مربوط باشد. با وجود این، تمامی تیمارهای حاوی عصاره‌های گیاهی نسبت به شاهد سبب بهبود قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی شدند. بر این اساس، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از عصاره اکالیپتوس به‌علاوه سدیم بی‌کربنات می‌تواند به‌عنوان گزینه‌ای مؤثرتر برای بهبود فرآیند تخمیر شکمبه، افزایش بهره‌وری غذایی و کاهش نوسانات pH در جیره‌های غنی از کنسانتره در گوسفند زل مورد استفاده قرار گیرد.

در مقابل، نتایج حاصل از پژوهش دیگری نشان داد که افزودن پودر اکالیپتوس و آویشن تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک جیره آغازین گوساله‌ها نداشت (Akbarian-Tefaghi *et al.*, 2018). ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi *et al.*, 2017) نیز در آزمایشی با بررسی اثر افزودن اسانس آویشن و نعناع فلفلی (*Mentha × piperita* L. به جیره آغازین گوساله‌های هلشتاین، گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری از نظر قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام مشاهده نشد. طالب‌زاده و همکاران (Talebzadeh *et al.*, 2012) دریافتند که استفاده از اسانس آویشن در غلظت‌های بالای ۴۵۰ میکروگرم، قابلیت هضم ماده آلی را کاهش داد. این پژوهشگران وجود ترکیبات فنلی در این گیاه را به‌عنوان دلیل اصلی کاهش قابلیت هضم مطرح کردند. خطاب و همکاران (Khattab *et al.*, 2020) در بررسی اثر جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها با مخلوط آویشن و بذر کرفس (*Apium graveolens* L.) بر قابلیت هضم مواد مغذی دریافتند که تیمار حاوی ۲۰ گرم مخلوط آویشن و بذر کرفس دارای قابلیت هضم بیشتری نسبت به سایر تیمارها بود و هیچ‌گونه اثر منفی بر سلامت دام نداشت.

References

1. Akbarian-Tefaghi, M., Ghasemi, E., & Khorvash, M. (2018). Performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves fed starter mixtures supplemented with herbal plants, essential oils or monensin. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(3), 630-638. <https://doi.org/10.1111/jpn.12842>
2. Ansari, A., Taghizadeh, A., & Janmohammadi, H. (2012). Effects of different levels of yeast *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal ecosystem and ciliate Protozoa population in Ghizel sheep. *Journal of Animal Science*, 22(1), 53-62. (in Persian with English abstract)
3. AOAC. (2005). Official methods of analysis. 18th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
4. Benchaar, C., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Beauchemin, K. A., & McAllister, T. A. (2007). Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. *Canadian Journal of Animal Science*, 87(3), 413-419. <https://doi.org/10.4141/CJAS07012>
5. Benchaar, C., Petit, H. V., Berthiaume, R., Whyte, T. D., & Chouinard, P. Y. (2006). Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89(11), 4352-4364. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72482-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72482-1)
6. Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Carro, M. D., & Kamel, C. (2005). Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 88(12), 4393-4404. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73126-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73126-X)
7. 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, 2649-2658. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-644>
8. Chen, J., Wang, F., Yin, Y., & Ma, X. (2021). The nutritional applications of garlic (*Allium sativum*) as natural feed additives in animals. *PeerJ*, 9, e11934. <https://doi.org/10.7717/peerj.11934>
9. Dorantes-Iturbide, G., Orzuna-Orzuna, J. F., Lara-Bueno, A., Mendoza-Martínez, G. D., Miranda-Romero, L. A., & Lee-Rangel, H. A. (2022). Essential oils as a dietary additive for small ruminants: A meta-analysis on performance, rumen parameters, serum metabolites, and product quality. *Veterinary Sciences*, 9(9), 475. <https://doi.org/10.3390/vetsci9090475>
10. Durmic, Z., Moate, P. J., Eckard, R., Revell, D. K., Williams, R., & Vercoe, P. E. (2014). *In vitro* screening of selected feed additives, plant essential oils and plant extracts for rumen methane mitigation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(6), 1191-1196. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6396>

11. Ebrahimi, M., Dehghan-Banadaki, M., Ganjkanlou, M., & Khalilvandi-Behroozyar, H. (2017). Effects of adding thyme and peppermint essential oils in calf starter diet on performance of Holstein calves. *Animal Production Research*, 6(3), 53-62. <https://doi.org/10.22124/ar.2017.2610>
12. El-Naggar, S., Abou-Ward, G. A., Tawila, M. A., Helal, F. I. S., & Ali, A. M. (2017). Performance of lambs fed rations supplemented with thyme essential oil. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 20(2), 189-195. <https://doi.org/10.21608/ejnf.2017.75165>
13. Getachew, G., Blümmel, M., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1998). In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 72(3-4), 261-281. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00189-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00189-2)
14. Hassan, E. H., & Abdel-Raheem, S. M. (2013). Response of growing buffalo calves to dietary supplementation of caraway and garlic as natural additives. *World Applied Sciences Journal*, 22(3), 408-414. <http://dx.doi.org/10.5829/idosi.wasj.2013.22.03.7363>
15. Hodjatpanah-Montazeri, A., Mesgaran, M. D., Vakili, A., Ghorbani, B., & Tabatabaie, F. (2014). In vitro effect of garlic oil and turmeric extract on methane production from gas test medium. *Annual Research & Review in Biology*, 4, 1439-1447. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2014/5908>
16. Kekana, T. W., Nherera-Chokuda, V. F., Baloyi, J. J., & Muya, C. M. (2020). Immunoglobulin G response and performance in Holstein calves supplemented with garlic powder and probiotics. *South African Journal of Animal Science*, 50(2), 263-270. <https://doi.org/10.4314/sajas.v50i2.9>
17. Khattab, M. S. A., Kholif, A. E., Abd El Tawab, A. M., Shaaban, M. M., Hadhoud, F. I., El-Fouly, H. A., & Olafadehan, O. A. (2020). Effect of replacement of antibiotics with thyme and celery seed mixture on the feed intake and digestion, ruminal fermentation, blood chemistry, and milk lactation of lactating Barki ewes. *Food & Function*, 11(8), 6889-6898. <https://doi.org/10.1039/D0FO00807A>
18. Khorrami, B., Vakili, S. A. R., & Danesh Mesgaran, M. (2015). The effect of monensin, thyme and cinnamon essential oils on nutrient digestibility, ruminal dry matter and crude protein degradability of some feedstuff and plasma metabolites in Holstein steers. *Research on Animal Production*, 6(11), 71-82. (in Persian with English abstract)
19. Kumar, K., Dey, A., Rose, M. K., & Dahiya, S. S. (2022). Modulating feed digestion and methane production by eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*) leaves essential oils in water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Buffalo Bulletin*, 41(1), 41-47. <http://dx.doi.org/10.56825/bufbu.2022.4113155>
20. Linville, K. (2017). *The Effects of a Blend of Essential Oils on Rumen Efficiency of Lactating Dairy Cows*. South Dakota State University.
21. Mao, S., Huo, W., Liu, J., Zhang, R., & Zhu, W. (2017). In vitro effects of sodium bicarbonate buffer on rumen fermentation, levels of lipopolysaccharide and biogenic amine, and composition of rumen microbiota. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(4), 1276-1285. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7861>
22. Menke, K. H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7-55.
23. Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *The Journal of Agricultural Science*, 93(1), 217-222. <https://doi.org/10.1017/S0021859600086305>
24. Naseri, V., Kafilzadeh, F., & Jahani-Azizabadi, H. (2022). Effects of *Pistacia atlantica* gum essential oil on ruminal methanogen, protozoa, selected bacteria species and fermentation characteristics in sheep. *Small Ruminant Research*, 209, 106650. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2022.106650>
25. Nel, T. C., Hassen, A., Akanmu, A. M., & Adejoro, F. A. (2020). Use of essential oils in combination with fibrolytic enzymes to decrease in vitro ruminal methane production. *South African Journal of Animal Science*, 50(5), 686-696. <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v50i5.5>
26. Newbold, C. J., McIntosh, F. M., Williams, P., Losa, R., & Wallace, R. J. (2004). Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 114(1-4), 105-112. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2003.12.006>
27. Noorian Soroor, M. E., & Roozbehan, Y. (2014). The influence of *Eucalyptus camaldulensis* leaves on in vitro ruminal fermentation, protozoa population and methane production. *Iranian Journal of Animal Science*, 45(4), 363-374. (in Persian) <https://doi.org/10.22059/ijas.2014.54357>
28. Nooriyan, S. M., & Rouzbehan, Y. (2017). Effect of essential oils of eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) and angelica (*Heracleum persicum* Desf. ex Fischer) on in vitro ruminal fermentation, protozoal population and methane emission using Afshari sheep inoculum. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 19(3), 553-567. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.16807073.2017.19.3.17.6>
29. Orskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92(2), 499-503. <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>

30. Orzuna-Orzuna, J. F., Dorantes-Iturbide, G., Lara-Bueno, A., Miranda-Romero, L. A., Mendoza-Martínez, G. D., & Santiago-Figueroa, I. (2022). A meta-analysis of essential oils use for beef cattle feed: Rumen fermentation, blood metabolites, meat quality, performance and, environmental and economic impact. *Fermentation*, 8(6), 254. <https://doi.org/10.3390/fermentation8060254>
31. Patra, A. K., & Yu, Z. (2015). Essential oils affect populations of some rumen bacteria in vitro as revealed by microarray (RumenBactArray) analysis. *Frontiers in Microbiology*, 6, 297. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00297>
32. Pawar, M. M., Kamra, D. N., Agarwal, N., & Chaudhary, L. C. (2014). Effects of essential oils on *in vitro* methanogenesis and feed fermentation with buffalo rumen liquor. *Agricultural Research*, 3, 67-74. <https://doi.org/10.1007/s40003-014-0092-z>
33. Plaizier, J. C., Mesgaran, M. D., Derakhshani, H., Golder, H., Khafipour, E., Kleen, J. L., & Zebeli, Q. (2018). Enhancing gastrointestinal health in dairy cows. *Animal*, 12(S2), S399-S418. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001921>
34. Ramos, S. C., Jeong, C. D., Mamuad, L. L., Kim, S. H., Son, A. R., Miguel, M. A., & Lee, S. S. (2021). Enhanced ruminal fermentation parameters and altered rumen bacterial community composition by formulated rumen buffer agents fed to dairy cows with a high-concentrate diet. *Agriculture*, 11(6), 554. <https://doi.org/10.3390/agriculture11060554>
35. Ribeiro, A. D. B., Ferraz, M. V. C., Polizel, D. M., Miszura, A. A., Gobato, L. G. M., Barroso, J. P. R., & Pires, A. V. (2019). Thyme essential oil for sheep: Effect on rumen fermentation, nutrient digestibility, nitrogen metabolism, and growth. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 71, 2065-2074. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10792>
36. Sallam, S. M. A., Bueno, I. C. D. S., Brigide, P., Godoy, P. B., Vitti, D. M. S. S., & Abdalla, A. L. (2009). Efficacy of eucalyptus oil on *in vitro* ruminal fermentation and methane production. *Options Méditerranéennes*, 85(85), 267.
37. Sasi, M., Kumar, S., Kumar, M., Thapa, S., Prajapati, U., Tak, Y., & Mekhemar, M. (2021). Garlic (*Allium sativum* L.) bioactives and its role in alleviating oral pathologies. *Antioxidants*, 10(11), 1847. <https://doi.org/10.3390/antiox10111847>
38. Talebi, T., Seifdavati, J., Seifzadeh, S., Mirzaei, F., Abdi Benmar, H., & Seid Sharifi, R. (2019). Effects of adding different levels of thyme powder and garlic cabbage powder in alfalfa, sainfoin and their mixture on digestibility and the amount of *in vitro* gas production. *Animal Science Research*, 29(3), 71-86. (in Persian with English abstract)
39. Talebzadeh, R., Alipour, D., Saharkhiz, M. J., Azarfar, A., & Malecky, M. (2012). Effect of essential oils of *Zataria multiflora* on *in vitro* rumen fermentation, protozoal population, growth and enzyme activity of anaerobic fungus isolated from Mehraban sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 172(3-4), 115-124. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.11.011>
40. Tao, H., Si, B., Xu, W., Tu, Y., & Diao, Q. (2019). Effect of *Broussonetia papyrifera* L. silage on blood biochemical parameters, growth performance, meat amino acids and fatty acids compositions in beef cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(5), 732. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0150>
41. Van Keulen, J. Y. B. A., & Young, B. A. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44(2), 282-287. <https://doi.org/10.2527/jas1977.442282x>
42. Van Soest, P. V., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
43. Xu, L., Wen, L., Ge, Y., Wan, G., Qu, M., & Xue, F. (2020). Metagenomic insights into the effects of rare-earth elements supplementation on rumen digestibility and meat quality of beef cattle. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1933. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01933>
44. 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>

Estimation of Milk Production Loss Due to Clinical Mastitis in Holstein cows in Isfahan

Alireza Ghafori¹, Ali Sadeghi-Sefidmazgi², Rabie Rahbar^{id3*}

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

2- Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3- Department of Agriculture, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran

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

Received: 12-09-2025

Revised: 07-11-2025

Accepted: 29-11-2025

Available Online: 04-04-2026

How to cite this article:

Ghafori, A., Sadeghi-Sefidmazgi, A., & Rahbar, R. (2026). Estimation of milk production loss due to clinical mastitis in Isfahan holstein cows. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(1), 15-27. (in Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.95386.1271>

Introduction: One of the most important and costly infectious diseases in dairy herds is mastitis, which annually imposes substantial economic losses to dairy farmers and the dairy industry. These losses include a decrease in milk production along with an increase in discarded milk, treatment costs, a decrease in the selling price of milk due to the high somatic cell count (SCC), culling of cows and a decrease in the market value. Due to the high costs caused by mastitis, in recent years, resistance to this condition has been considered as one of the major breeding objectives from economic and animal welfare aspects. Considering the impact of mastitis and the increase in somatic cell count on the decrease in milk production and the economic importance of this issue in the dairy industry, the present study aims to estimate reduction in milk production associated with clinical mastitis in Holstein dairy cows in Isfahan, Iran.

Materials and Methods: The data used in this research included 233,499 records for daily milk production belonging to 16,570 dairy cows collected from three herds in Isfahan Province, Iran from 2011 to 2014 to estimate milk production loss associated with clinical mastitis. Data editing and preprocessing were performed using FoxPro version 6.0. In this research, all analyses were performed using SAS software and the PROC MIXED, PROC MEANS, and PROC UNIVARIATE. Then, based on the coefficient of determination (R^2), the model that described the data variation was selected better.

Results and Discussion: The results of this study were presented in different sections, including the determination of the cut-off point and reduction of milk production due to clinical mastitis in two ways: field data analysis and lactation curve modeling using the incomplete gamma function. The cut-off point was estimated at 10,000 cells per milliliter of milk, which was in the range estimated in previous studies. Milk production loss for 305 days caused by the occurrence of clinical mastitis by using field data analysis first,



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

 <https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.95386.1271>

second and third-or-greater parity cows, respectively. These values correspond to 1.8%, 3.4%, and 2.5% reductions in milk production. The results obtained from the incomplete gamma function output for comparing two groups of healthy and diseased cows in the first parity showed that the average milk production per month of lactation in diseased cows was 5.4%, equivalent to 54 kg less than healthy cows (952.4 in compared to 1006.4 kg). Production loss due to clinical mastitis during different months of lactation was estimated to be between 4.3% and 5.9%. The highest amount of production drop was estimated at the peak of lactation, i.e. in the third month and equal to 70.8 kg. The results for the second calving cows showed that each occurrence of clinical mastitis causes a 7.7% decrease in milk production, equivalent to 85 kg of the average month of lactation. The peak of the difference in milk production between the two groups was related to the second to fifth months of lactation. Also, the results of the comparison of two groups of healthy and diseased cows in the third and above calving periods showed that the average decrease in milk production due to the occurrence of clinical mastitis was 10.9%, equivalent to 120 kg of the average lactation month.

Conclusion: Based on the results of this study, the amount of milk production loss over a 305-day lactation due to clinical mastitis was estimated to be between 195 and 406 kg using field data analysis and 539 to 1202 kg per lactation using the incomplete gamma function model. It was also found that with the increase in parity, the decrease in milk production caused by clinical mastitis increases due to damage to the teat canal during life and previous lactation periods. Despite the dependence of the field data analysis method on the data structure, the incomplete gamma function is better described of the milk production curve and provides a more accurate prediction of milk production decline. The findings of this study can be used to calculate the economic loss caused by the decrease in milk production of cows affected by clinical mastitis and the decision to keep or voluntary culling them.

Keywords: Health, Lactation Curve, Somatic Cell Count, Voluntary Culling

برآورد کاهش تولید شیر ناشی از ورم پستان بالینی در گاوهای هلستاین استان اصفهان

علیرضا غفوری^۱، علی صادقی سفیدمزگی^۲، ربیع رهبر^{۳*}

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۰۸

چکیده

هدف این پژوهش، برآورد میزان کاهش تولید شیر ناشی از بیماری ورم پستان بالینی در گاوهای هلستاین استان اصفهان با تحلیل داده‌های میدانی، مدل‌سازی و مقایسه منحنی شیردهی برآوردشده با تابع گامای ناقص برای گاوهای سالم و مبتلا بود. اطلاعات مورد استفاده در این تحقیق شامل ۲۳۳،۴۹۹ رکورد روز آزمون تولید شیر متعلق به ۱۶۵۷۰ رأس گاو همراه با وضعیت سلامت آن‌ها از سه گله بزرگ استان اصفهان طی سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۲ برای برآورد کاهش تولید شیر ناشی از ورم پستان بالینی بود. واکاوی آماری با رویه‌های مدل خطی مختلط، میانگین و تک متغیره نرم‌افزار SAS انجام شد. نتایج نشان داد که مقدار کاهش تولید شیر ۳۰۵ روز ناشی از وقوع ورم پستان بالینی برای گاوهای زایش اول، دوم و سوم به بالا به ترتیب ۱۹۵، ۴۰۶ و ۲۷۶ کیلوگرم بود. همچنین میانگین کاهش تولید شیر ناشی از وقوع ورم پستان بالینی با استفاده از تابع گامای ناقص برای گاوهای زایش اول، دوم و سوم به بالا به ترتیب ۵۳۹، ۸۴۹ و ۱۲۰۲ کیلوگرم میانگین کل شیردهی برآورد شد. بنابراین، با افزایش نوبت زایش گاو، میزان کاهش تولید شیر ناشی از ورم پستان به دلیل آسیب‌های فیزیولوژیک مزمن و تغییرات در روند طبیعی شیردهی افزایش می‌یابد. از نتایج این تحقیق می‌توان برای محاسبه زیان اقتصادی ناشی از کاهش تولید شیر گاوهای مبتلا به بیماری ورم پستان بالینی و تصمیم برای نگهداری و یا حذف اختیاری آن‌ها استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تعداد سلول سوماتیک، حذف اختیاری، سلامت، منحنی شیردهی

مقدمه

یکی از مهم‌ترین و پرهزینه‌ترین بیماری‌های عفونی در گله‌های گاو شیری، ورم پستان است که سالانه زیان‌های اقتصادی هنگفتی را به دامداران و صنایع لبنی تحمیل می‌کند. این زیان‌ها شامل کاهش تولید شیر به همراه افزایش شیر دورریز، هزینه‌های بهداشتی و مراقبت‌های درمانی، کاهش قیمت فروش شیر به دلیل شمار سلول‌های سوماتیک (SCC) بالا، حذف گاو و کاهش ارزش گاوهای مبتلا است (Juoaitiene et al., 2006; Němcová et al., 2007).

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- گروه علوم دامی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳- گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

(*) نویسنده مسئول: (Email: rahbarrabie@pnu.ac.ir)

<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.95386.1271>

شیر موجب کاهش تولید و افزایش سلول‌های سوماتیک در شیر می‌شود. در نتیجه افزایش سلول‌های سوماتیک، ترکیب شیمیایی شیر تغییر می‌کند، به‌طوری‌که لاکتوز، α -لاکتوگلوبولین و β -لاکتوگلوبولین کاهش می‌یابد. پروتئین‌های سرمی خون نیز تغییر می‌کند. افزایش فعالیت آنزیمی (به‌ویژه پروتئازهایی مانند پلاسمین، کاتپسین، الاستازها و لیپاز) سبب کاهش کازئین و چربی شیر می‌شود و با تغییر مواد معدنی شیر، فرآیند تولید فرآورده‌های شیری دچار مشکل می‌شود (Roux et al., 2003). در سال‌های اخیر، به دلیل هزینه‌های بالای ناشی از ورم پستان، مقاومت به این بیماری به عنوان یکی از اهداف اصلاح نژادی مهم از جنبه‌های اقتصادی و آسایش دام مد نظر واقع شده است. در بیشتر برنامه‌های اصلاح نژادی در گاوهای شیری از تعداد سلول‌های سوماتیک و یا تبدیل لگاریتمی آن به علت رکوردگیری ساده‌تر و همبستگی بسیار بالا و مثبت آن با وقوع ورم پستان، به عنوان معیار انتخاب برای بهبود مقاومت به این بیماری استفاده می‌شود (Gonzalo et al., 2005; Sadeghi-Sefidmazgi

گله گاو شیری در استان اصفهان طی سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۲ برای برآورد کاهش تولید شیر ناشی از ورم پستان بالینی بود. داده‌های مورد استفاده پس از چندین مرحله ویرایش روی داده‌های خام ایجاد شدند. مهم‌ترین ویرایش داده‌ها شامل حذف گاوها با تعداد روزهای شیردهی خارج از دامنه ۵ تا ۴۰۰ روز، حذف گاوها با سن نخستین زایش کمتر از ۱۸ ماه یا بیشتر از ۴۰ ماه، حذف گاوها با تولید شیر روزانه خارج از دامنه ۳ تا ۶۳ کیلوگرم و حذف رکوردهایی که تعداد سلول‌های سوماتیک آن کمتر از ۵۰۰۰ یا بیشتر از ۶۴۰۰۰۰ سلول در هر میلی لیتر شیر بود (Ødegård et al., 2003). ویرایش و آماده‌سازی داده‌ها به وسیله نرم‌افزار Fox Pro نسخه ۶ انجام شد.

تبدیل داده تعداد سلول‌های سوماتیک

به‌طور کلی، توزیع صفت تعداد سلول‌های سوماتیک شیر نرمال نیست (Schukken et al., 1992) و معمولاً با تبدیل لگاریتمی در پایه دو و اضافه کردن عدد سه به آن، به حالت نرمال نزدیک می‌شود. بنابراین، قبل از تجزیه و تحلیل آماری، نیاز به تبدیل لگاریتمی این صفت است. معیار امتیاز سلول‌های سوماتیک از لگاریتم تعداد سلول-های سوماتیک در هر میلی لیتر شیر، از طریق معادله ۱ محاسبه می-شود (Ali & Shook, 1980):

$$SCS = \log_2 \left(\frac{SCC}{100000} \right) + 3 \quad (1) \text{ معادله}$$

با این تبدیل لگاریتمی، مقدار کشیدگی (-۰/۰۸) و چولگی (۰/۴۳) عوامل باقی‌مانده در مدل آماری در بازه کلی قابل قبول و نزدیک به توزیع نرمال بود. تعداد سلول‌های سوماتیک بیشتر از ۱۵۰ هزار سلول در هر میلی لیتر شیر ($SCS > 3/58$) به‌عنوان نشانه‌ای از سلامت نبودن پستان، و بیشتر از ۴۰۰ هزار سلول در هر میلی لیتر شیر ($SCS > 5$) به‌عنوان شاخصی برای ورم پستان بالینی در نظر گرفته شد (Hillerton, 1999).

مدل آماری و تجزیه داده‌ها

در این مطالعه به‌منظور برآورد کاهش تولید شیر ناشی از ورم پستان بالینی، از دو روش مکمل استفاده شد: ۱- تحلیل داده‌های میدانی و ۲- برازش تابع گامای ناقص بر منحنی شیردهی. استفاده از روش میدانی این امکان را فراهم می‌آورد که کاهش تولید شیر به‌صورت مستقیم از مقایسه رکوردهای واقعی شیر دوشیده‌شده قبل و بعد از وقوع بیماری استخراج شود. در مقابل، تابع گامای ناقص به‌عنوان یکی از مدل‌های معتبر و پرکاربرد در توصیف منحنی شیردهی، امکان شبیه‌سازی تولید مورد انتظار گاو در غیاب بیماری را فراهم می‌سازد و برآورد خوبی از افت تولید ارائه می‌دهد (Wood, 1967; Luna-Palomera et al., 2021). هدف از استفاده هم‌زمان

(et al., 2011). شمار سلول‌های سوماتیک در پستان سالم کمتر از ۱۵۰ هزار عدد در میلی متر است. ولی در شرایط ابتلای دام به ورم پستان با فعال شدن سازوکارهای دفاعی، تعداد سلول‌های بدنی افزایش می‌یابد (Ruegg, 2001) و تعداد بیش از ۲۰۰ هزار سلول در میلی لیتر مرز تشخیص پستان سالم از ناسالم است (Skrzypek et al., 2004). تحقیقات مختلف رابطه‌ای معکوس (منفی) را بین سلول‌های سوماتیک و صفات تولیدی از جمله تولید شیر نشان می-دهند (Heringstad et al., 2008; Carlén et al., 2004). گروهی از محققان در سال ۲۰۲۲ با بررسی گاوهای مرتعی در آرژانتین دریافتند که با افزایش یک واحد امتیاز سلول‌های سوماتیک (SCS)، مقدار شیر روزانه گاوهای نوبت زایش اول، دوم و سوم به‌ترتیب ۰/۳۴۹، ۰/۵۳۹ و ۰/۶۷۶ کیلوگرم کاهش می‌یابد (Rearte et al., 2022). گروه دیگر از محققان با بررسی ۲۱ گله گاو شیری در کشورهای کانادا، هلند، فنلاند و سوئد گزارش کردند که با افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک شیر از ۲۷۷ هزار در هر میلی لیتر، تولید شیر گاوهای با چند نوبت زایش در مقایسه با نوبت زایش اول به‌طور چشم‌گیری کاهش یافت (Bonestroo et al., 2022). نتایج پژوهشی در سال ۲۰۲۱ نشان داد که گاوهای مبتلا به بیماری ورم پستان، ۳۸۲ تا ۹۸۹ کیلوگرم شیر کمتری در یک دوره شیردهی تولید کردند (Puerto et al., 2021). همچنین پژوهشگران دیگر با بررسی ۴۵۵۱ مورد از بیماری ورم پستان دریافتند که مقدار چارک اول، میانه و چارک سوم کاهش تولید شیر از پنج روز قبل از شروع درمان تا ۳۰ روز پس از آن به‌ترتیب ۳۸/۴، ۱۰/۵ و ۲۱۵/۶ کیلوگرم بود (Adriaens et al., 2021). در گاوهای نژاد براون سوئیس، هلشتاین-فریزین و سیمنتال نشان داده شد که به‌ازای هر یک واحد افزایش در امتیاز سلول‌های سوماتیک، به‌طور متوسط ۰/۴۳ کیلوگرم از مقدار تولید شیر روزانه کاسته شد (Franzoi et al., 2020). پژوهشگران در سال ۲۰۱۶ با بررسی ۱۲۵۰ رأس گاو هلشتاین یک گله دریافتند که بیشترین مقدار کاهش تولید شیر (۶/۲۳ کیلوگرم در روز) مربوط به گاوهای زایش چهارم با امتیاز سلول‌های سوماتیک ۶ بود (Daghighi Kia et al., 2016). باتوجه به تأثیر بیماری ورم پستان و افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک بر کاهش مقدار تولید شیر و اهمیت اقتصادی این موضوع در صنعت گاو شیری، پژوهش حاضر با هدف برآورد میزان کاهش تولید شیر ناشی از بیماری ورم پستان بالینی در گاوهای شیری هلشتاین استان اصفهان انجام شد.

مواد و روش‌ها

ساختار داده‌ها

اطلاعات مورد استفاده در این تحقیق شامل ۲۳۳،۴۹۹ رکورد روز آزمون تولید شیر متعلق به ۱۶،۵۷۰ رأس گاو جمع‌آوری‌شده از سه

ورم پستان بالینی (گاوهایی که حداقل در طول دوره شیردهی یک بار ورم پستان را تجربه کردند) برآورد شد. در مرحله بعدی به تفکیک نوبت زایش (دوره‌های شیردهی اول، دوم و سوم به بالا)، منحنی شیردهی گاوهای سالم و مبتلا ترسیم و با یکدیگر مقایسه گردید. روش برآورد کاهش تولید شیر با مقایسه میانگین تولید ماهانه گاوهای مبتلا و سالم، قبلاً در مطالعات مشابهی به کار رفته است (Hagnestam et al., 2007; Houben et al., 1993). بر این اساس، اختلاف تولید شیر (کیلوگرم و درصد) بین گاوهای مبتلا به ورم پستان و گاوهای سالم، برای هر ماه و کل دوره شیردهی محاسبه گردید. همچنین تداوم شیردهی براساس پارامترهای مدل منحنی شیردهی تابع گامای ناقص محاسبه شد. پس از برآزش مدل به رکوردهای روز آزمون، شاخص تداوم با استفاده از معادله ۴ تعیین شد (Wood, 1967).

$$\text{Persistence} = -b - \ln(c) \quad \text{معادله (۴)}$$

نتایج پژوهش، در بخش‌های مختلف شامل تعیین نقطه برشی و کاهش تولید شیر ناشی از بیماری ورم پستان بالینی به دو صورت تجزیه و تحلیل داده‌های میدانی و مدل‌سازی منحنی شیردهی با استفاده از تابع گامای ناقص ارائه شد.

نتایج و بحث

میانگین سن رکوردگیری، تولید شیر روزانه و امتیاز سلول‌های سوماتیک به تفکیک نوبت زایش در جدول ۱ نشان داده شده است.

تعیین نقطه برشی

نقطه برشی براساس منحنی شیردهی (که توصیف نموداری میزان تولید شیر روزانه از زمان زایش است) تعیین می‌شود. به عبارتی نقطه برشی، روز معینی از منحنی شیردهی است که از آن زمان به بعد، همزمان با افزایش شمار سلول‌های سوماتیک به بیش از مقدار آستانه (مانند ۲۰۰'۰۰۰ سلول در میلی‌لیتر)، کاهش تولید شیر به صورت معنی‌دار آغاز می‌شود. به عبارت دیگر، این نقطه زمانی از منحنی شیردهی بر مبنای واکنش تولید شیر به افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک تعیین می‌گردد. در این پژوهش، این آستانه برابر با ۱۰،۰۰۰ سلول در هر میلی‌لیتر شیر برآورد شد که در دامنه گزارش شده در مطالعات پیشین قرار دارد. گروهی از محققان در سال ۲۰۰۸ نقطه برشی را برای گاوهای هلشتاین کانادا، ۷،۴۰۰ سلول در هر میلی‌لیتر برآورد کردند (Dürr et al., 2008). همچنین در جمعیت گاوهای هلشتاین برزیل، این نقطه، حدود ۱۷،۰۰۰ سلول در هر میلی‌لیتر گزارش شد (Coldebella et al., 2004). درحالی‌که در مطالعات شبیه‌سازی برای تجزیه و تحلیل‌های هزینه و فایده، این

این دو روش، افزایش دقت برآورد و فراهم کردن امکان مقایسه میان داده‌های مشاهده‌شده و پیش‌بینی‌شده از طریق مدل‌سازی بود. کلیه آنالیزها به وسیله نرم‌افزار آماری SAS (SAS Institute Inc. Software License 9.4, 2013) و رویه مدل‌های خطی مختلط (Proc Mixed)، رویه میانگین (Proc Means) و رویه تک‌متغیره (Proc Univariate) انجام شد. برای تعیین نقطه برشی و تخمین کاهش تولید شیر در اثر وقوع ورم پستان بالینی از معادله ۲ استفاده شد.

$$Y_{ijklmnopqrst} = \mu + \text{Herd}_i + \text{Parity}_j + \text{Ryear}_k + \text{Rseason}_l + \text{CM}_m + \text{PCM}_n + \text{DYS}_o + \text{BT}_p + \text{TW}_q + \text{MRT}_r + \text{RP}_s + \beta_1 \times (\text{AFC}_{ijkl} - \text{AFC}) + \beta_2 \times (\text{DL}_{ijkl} - \text{DL}) + \text{Anim}_t + e_{ijklmnopqrst} \quad \text{معادله (۲)}$$

که در آن، $Y_{ijklmnopqrst}$: متغیر وابسته (تولید شیر کل)، μ : اثر میانگین کل، Herd_i : اثر ثابت i امین گله (سه گله)، Parity_j : اثر ثابت j امین نوبت زایش (پنج شکم)، Ryear_k : اثر ثابت k امین سال رکوردگیری (سه سال)، Rseason_l : اثر ثابت l امین فصل رکوردگیری (چهار سطح)، CM_m : اثر ثابت m امین وضعیت دام از نظر ابتلا به ورم پستان بالینی در دوره شیردهی فعلی (دو سطح: سالم و مبتلا)، PCM_n : اثر ثابت n امین وضعیت دام از نظر ابتلا به ورم پستان بالینی در دوره شیردهی قبلی (دو سطح: سالم و مبتلا)، DYS_o : اثر ثابت o امین وضعیت دام از نظر ابتلا به سخت‌زایی (دو سطح: آسان‌زا و سخت‌زا)، BT_p : اثر ثابت p امین نوع زایش (سه سطح طبیعی، سقط و مرده‌زایی)، TW_q : اثر ثابت q امین وضعیت دام از نظر دوقلوزایی (دو سطح: تک و دوقلو)، MRT_r : اثر ثابت r امین وضعیت دام از نظر ابتلا به عفونت رحمی متريت (دو سطح: سالم و مبتلا)، RP_s : اثر ثابت s امین وضعیت دام از نظر ابتلا به جفت ماندگی (دو سطح طبیعی و مبتلا)، AFC_{ijkl} : اثر سن نخستین زایش به عنوان متغیر کمکی، β_1 : ضریب تابعیت خطی تولید شیر دوره شیردهی از سن نخستین زایش، DL_{ijkl} : اثر طول دوره خشکی قبلی به عنوان متغیر کمکی، β_2 : ضریب تابعیت خطی تولید شیر دوره شیردهی از طول دوره خشکی قبلی، Anim_t : اثر تصادفی حیوان و $e_{ijklmnopqrst}$: اثر تصادفی عوامل باقی‌مانده می‌باشند.

پارامترهای منحنی شیردهی با استفاده از رکوردهای روزآزمون هر گاو از تابع گامای ناقص (وود) برآورد شد (معادله ۳).

$$y_t = a t^b e^{-ct} \quad \text{معادله (۳)}$$

که در آن، y_t : میانگین تولید شیر روزانه در روز t ام دوره شیردهی، a : تولید اولیه، b : شیب مرحله افزایشی و c : شیب مرحله کاهش منحنی شیردهی است. با استفاده از نرم‌افزار SAS پارامترهای مجهول (a , b , c) برای تک‌تک گاوها در هر گروه سالم و مبتلا به

نقطه به صورت تقریبی ۵۰۰،۰۰۰ سلول در هر میلی لیتر در نظر گرفته شد (Seegers et al., 2003).

کاهش تولید شیر ناشی از بیماری ورم پستان بالینی با استفاده از تجزیه و تحلیل داده‌های میدانی

در این بخش، اثر همه عوامل موجود در مدل بر کاهش تولید شیر ناشی از ورم پستان بالینی معنی دار بود ($P < 0.01$). مقایسه میانگین حداقل مربعات تولید شیر ۳۰۵ روز گاوهای سالم و گاوهای با ورم پستان بالینی در سه گله مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است.

کاهش مقدار شیر ۳۰۵ روز ناشی از وقوع ورم پستان بالینی برای گاوهای زایش اول، دوم و سوم به بالا به ترتیب ۱۹۵، ۴۰۶ و ۲۷۶ کیلوگرم معادل ۱/۸، ۳/۴ و ۲/۵ درصد برآورد شد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که بیماری ورم پستان بالینی و افزایش نمره سلول‌های سوماتیک تأثیر قابل توجهی بر کاهش تولید شیر در گاوهای هلشتاین

داشتند. یافته‌های تحقیق حاضر با نتایج تحقیقی در سال ۲۰۲۱ هم‌راستا است که کاهش تجمعی تولید شیر ناشی از ورم پستان را در حدود ۴۰۴ کیلوگرم در ۱۸۰ روز ابتدایی شیردهی گزارش کردند (Nikkhah et al., 2021). کاهش تولید شیر ناشی از وقوع ورم پستان بالینی در گاوهای هلشتاین کشور هلند در دامنه ۱۲۸ تا ۷۰۹ کیلوگرم گزارش شد که یافته‌های پژوهش حاضر تقریباً در این دامنه قرار داشت (Seegers et al., 2003). حساسیت بالای گاوهای چند نوبت زایش در مقایسه با گاوهای زایش اول نسبت به افت تولید شیر ناشی از ورم پستان بالینی، احتمالاً به دلیل آسیب‌دیدگی بافت پستان با توجه به تجربه دوره‌های شیردوشی بیشتر و انتقال عفونت به دوره‌های بعدی است که در این حالت افت عملکرد تشدید خواهد شد (Blowey & Edmondson, 2010). همچنین از آنجایی که بیماری‌ها با مقدار مصرف خوراک همبستگی منفی دارند، بنابراین افزایش بیماری‌ها سبب ضعف بیشتر دام شده و تولید را بیشتر تحت تأثیر قرار می‌دهند (Lund et al., 1994).

جدول ۱- میانگین سن رکوردگیری، تولید شیر روزانه و امتیاز سلول‌های سوماتیک به تفکیک نوبت زایش

Table 1- Mean age at record collection, daily milk yield, and somatic cell score by parity

نوبت زایش Parturition Parity	متغیر Variable	تعداد Sample size	میانگین Mean	انحراف معیار Standard deviation
زایش اول First parity	سن رکوردگیری (ماه) Age at record collection (months)	1877586	30.18	4.63
	تولید شیر روزانه (کیلوگرم در روز) Daily milk yield (kg per day)	1877586	38.50	7.86
	امتیاز سلول‌های سوماتیک Somatic cell score (log)	1877586	2.44	1.88
زایش دوم Second parity	سن رکوردگیری (ماه) Age at record collection (months)	1363412	45.12	6.01
	تولید شیر روزانه (کیلوگرم در روز) Daily milk yield (kg per day)	1363412	41.08	10.55
	امتیاز سلول‌های سوماتیک Somatic cell score (log)	1363412	3.08	1.97
زایش سوم Third parity	سن رکوردگیری (ماه) Age at record collection (months)	876455	58.68	6.99
	تولید شیر روزانه (کیلوگرم در روز) Daily milk yield (kg per day)	876455	41.60	11.23
	امتیاز سلول‌های سوماتیک Somatic cell score (log)	876455	3.46	2.02
زایش چهارم Fourth parity	سن رکوردگیری (ماه) Age at record collection (months)	525872	71.86	7.72
	تولید شیر روزانه (کیلوگرم در روز) Daily milk yield (kg per day)	525872	41.04	11.41
	امتیاز سلول‌های سوماتیک Somatic cell score (log)	525872	3.73	2.05
زایش پنجم Fifth parity	سن رکوردگیری (ماه) Age at record collection (months)	288920	84.88	8.41
	تولید شیر روزانه (کیلوگرم در روز) Daily milk yield (kg per day)	288920	40.25	11.3
	امتیاز سلول‌های سوماتیک Somatic cell score (log)	288920	3.90	2.07

جدول ۲- مقایسه میانگین حداقل مربعات تولید شیر ۳۰۵ روز گاوهای سالم و گاوهای با ورم پستان بالینی در سه گله مورد مطالعه

Table 2- Comparison of the least squares means of 305-day milk yield between healthy cows and cows with clinical mastitis in the three herds studied

نوبت زایش Parturition Parity	تولید شیر ۳۰۵ روز (کیلوگرم) Milk yield 305d (kg)		تفاوت حداقل مربعات Least squares mean difference	کاهش تولید (%) Decrease in yield (%)
	گاوهای سالم Healthy cows	گاوهای مبتلا به ورم پستان Cows with mastitis		
اول First	11074.1±35	10879.1±35	195±61.3**	1.8
دوم Second	11971.1±32	11565.1±32	406±72.6**	3.4
سوم به بالا Third or higher	10985.5±35	10709.5±36	276±47.0**	2.5

** معنی دار در سطح یک درصد

** Significant at the 1% level

فنونیتی بین تعداد سلول‌های سوماتیک و تولید شیر منفی بود و حساسیت به بیماری‌های پستانی با افزایش نوبت زایش افزایش یافت که با یافته‌های تحقیق حاضر مبنی بر کاهش بیشتر تولید شیر در زایش‌های بالاتر هم‌راستا است (Kheirabadi & Razmkabir, 2016).

مدل‌سازی و شبیه‌سازی کاهش تولید شیر ناشی از ورم پستان بالینی با استفاده از تابع گامای ناقص

در این مطالعه، الگوی تغییرات تولید شیر در گاوهای سالم و مبتلا به ورم پستان بالینی با استفاده از تابع گامای ناقص مدل‌سازی شد. داده‌های تولید شیر روزانه به تفکیک هر گاو و نوبت زایش (اول، دوم و سوم به بالا) جمع‌آوری و برای هر گروه (سالم و بیمار)، پارامترهای منحنی شیردهی شامل روز اوج تولید شیر، مقدار اوج تولید، تداوم شیردهی و مجموع شیر تولیدی در ۱۵۰ روز اول شیردهی برآورد شد. مدل گامای ناقص با هدف شبیه‌سازی الگوی تجمعی تولید شیر در طول دوره شیردهی، به تفکیک گروه‌ها اجرا شد. شبیه‌سازی با استفاده از پارامترهای برازش‌یافته برای هر گروه انجام گردید تا تفاوت در روند تولید شیر بین گاوهای سالم و مبتلا، به تفکیک نوبت‌های زایش مشخص شود. کاهش تولید شیر ناشی از بیماری، به‌صورت تفاوت میان مقادیر تجمعی شیر تولیدی توسط گاوهای سالم و مبتلا، برای هر نوبت زایش محاسبه شد. نتایج شبیه‌سازی نشان داد که وقوع بیماری ورم پستان بالینی منجر به کاهش معنی‌دار در تمامی پارامترهای تابع گاما شد و شدت این کاهش با افزایش نوبت زایش، بیشتر شد. به‌عبارتی، گاوهای با نوبت زایش سوم به بالا بیشترین میزان افت تولید را در پی وقوع بیماری نشان دادند (جدول ۳).

در پژوهشی که در سال ۲۰۲۲ گزارش شد، با بررسی حدود دو میلیون رکورد گاو شیری تحت سیستم چراگاهی از ۸۶۷ گله در آرژانتین دریافتند که به‌ازای هر واحد افزایش در نمره خطی سلول‌های سوماتیک، مقدار شیر روزانه گاوهای نوبت زایش اول، دوم و سوم به-ترتیب ۰/۳۴۹، ۰/۵۳۹ و ۰/۶۷۶ کیلوگرم کاهش نشان داد. همبستگی منفی بین سلول‌های سوماتیک و تولید شیر روزانه متأثر از دوره شیردهی، مقدار تولید شیر روزانه و شدت بیماری ورم پستان گزارش شد (Rearte et al., 2022). در پژوهشی دیگر در کشورهای کانادا، هلند، فنلاند و سوئد گزارش شد که با رسیدن تعداد سلول‌های سوماتیک شیر به ۲۷۷ هزار در هر میلی‌لیتر، تولید شیر در همه گروه گاوها کاهش یافت، اما میزان کاهش در گاوهای شکم دوم و سوم به بالا بیشتر از گاوهای شکم اول بود (Bonestroo et al., 2022). همچنین نتایج بررسی ۴۵۵۳ مورد بیماری ورم پستان از ۲۳۸۷ رأس گاو شیری هلشتاین در سال ۲۰۲۱، با میانگین کاهش تولید شیر ۱۶۴ کیلوگرم و کاهش تولید در چارک اول، میانه و چارک سوم به‌ترتیب ۳۸، ۱۰۱ و ۲۱۵ کیلوگرم، نشان‌دهنده توزیع و پراکندگی کاهش تولید شیر در اثر بیماری در جمعیت مطالعه‌شده بود (Adriaens et al., 2021). این نتایج با میانگین کاهش تولید شیر به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر (۲۷۶ کیلوگرم) مغایرت داشت. برآوردهای کاهش تولید شیر در اثر ابتلا به بیماری ورم پستان بستگی به زمان دقیق وقوع بیماری در دوره شیردهی دارد. زیرا اغلب گاوهای مبتلا تحت درمان قرار می‌گیرند و یا تعدادی حذف می‌شوند که با تأثیر روی مقدار افت تولید شیر، نمی‌توان آن را به‌درستی برآورد کرد. گروهی از محققان، مقدار کاهش تولید شیر را ۳۱ تا ۱۲۸ کیلوگرم برآورد کردند (Houben et al., 1993) که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت دارد که ممکن است به‌دلیل اختلاف در زمان دقیق وقوع بیماری و تغییر در مقدار تولید شیر باشد. نتایج پژوهشی در سال ۲۰۱۶ نشان داد که همبستگی

جدول ۳- پارامترهای برآوردشده تابع گامای ناقص، زمان اوج تولید، مقدار اوج تولید، تداوم شیردهی و مجموع شیر ۱۵۰ روز براساس نوبت‌زایش و نوع دام

Table 3- Estimated parameters of the incomplete gamma function, peak milk yield time, peak milk yield, lactation persistency, and total milk yield over 150 days based on parity and animal type

نوبت زایش Parturition Parity	گروه دام Animal group	a	b	c	زمان اوج تولید (روز) Peak milk yield time (day)	مقدار اوج تولید (کیلوگرم) Peak milk yield (kg)	تداوم شیردهی (کیلوگرم) Lactation persistency (kg)	مجموع شیر ۱۵۰ روز (کیلوگرم) Total milk yield over 150 days (kg)
1	سالم Healthy	13.18	0.329	0.00415	79.3	40.0	7.29	5449.4
	بیمار Diseased	13.01	0.315	0.00398	79.1	37.6	7.27	5140.4
2	سالم Healthy	14.55	0.375	0.00570	65.8	48.0	7.10	6444.9
	بیمار Diseased	14.41	0.357	0.00560	63.7	44.4	7.03	5970.2
≥3	سالم Healthy	14.21	0.394	0.00624	63.1	49.0	7.07	6532.7
	بیمار Diseased	13.41	0.379	0.00615	61.6	43.7	7.02	5831.1

شیر ناشی از بیماری ورم پستان بالینی در دو سطح ۱ (خفیف) و ۲ (شدید) با استفاده از اطلاعات ۳۵۰۸ رأس گاو شیری هلشتاین از ۱۱ گله صنعتی در کشورهای انگلستان، اسپانیا و برزیل نشان داد که ورم پستان سطح ۱ و ۲ به ترتیب به کاهش ۵ تا ۶ و ۷ تا ۷/۷ کیلوگرمی شیر در طول مراحل شیردهی منجر شد. همچنین مشخص گردید که ورم پستان سطح ۲ در مراحل ۸۰ (اوج تولید)، ۱۷۰ و ۲۶۰ روز شیردهی منجر به کاهش به ترتیب ۱۳۰، ۱۱۱ و ۷۰ کیلوگرم تولید شیر در مقایسه با سطح ۱ بیماری شد (Sguizzato et al., 2024). در تحقیق حاضر، مقدار کاهش تولید شیر ناشی از ورم پستان بالینی براساس روز شیردهی محاسبه نشد. اما مقدار کاهش تولید در زمان اوج شیردهی بین گاوهای سالم و بیمار در زایش اول، دوم و سوم به بالا به ترتیب ۲/۴، ۳/۶ و ۵/۳ کیلوگرم به دست آمد که فقط مقدار کاهش تولید گاوهای نوبت زایش سوم به بالا تقریباً در محدوده مقدار گزارش شده تحقیق فوق بود.

همچنین نتایج حاصل از مقایسه دو گروه گاوهای سالم و مبتلا به بیماری در نوبت‌های زایش سوم و بالاتر نشان داد که میانگین کاهش تولید شیر در اثر وقوع بیماری ورم پستان بالینی ۱۰/۹ درصد معادل ۱۲۰ کیلوگرم میانگین کل دوره شیردهی بود (جدول ۴) که با نتایج برخی از مطالعات مطابقت داشت (Hagnestam et al., 2007). از دلایل احتمالی کاهش بیشتر تولید شیر در گاوهای با نوبت زایش بالاتر می‌توان به تجمع آسیب‌های پستانی ناشی از ورم پستانهای قبلی، کاهش ظرفیت ترمیم بافتی، و تغییرات فیزیولوژیک ناشی از تکرار شیردهی اشاره کرد؛ عواملی که می‌توانند بر پاسخ تولیدی گاو به بیماری اثرگذار باشند. (Mahmoudzadeh et al., 2010).

در تحقیقی روی گاوهای هلشتاین زایش اول مشخص شد که شروع تولید شیر به‌طور میانگین ۱۴/۴۹ کیلوگرم بود، به‌طوری‌که شیب روند افزایشی منحنی ۰/۲۷ و شیب روند کاهش ۰/۰۳ محاسبه شد (Atashi et al., 2009). در حالی که در تحقیق حاضر، شروع تولید شیر برای گاوهای سالم در نوبت زایش اول به‌طور میانگین ۱۳/۱۸ کیلوگرم بود و مقدار شیب روند افزایشی و شیب روند کاهش منحنی شیردهی بالاتر محاسبه شد. مقایسه مقدار تولید شیر ماهیانه و کل دوره شیردهی برای گاوهای سالم و مبتلا به بیماری ورم پستان بالینی برای نوبت‌های مختلف زایش انجام شده است (جدول ۴). نتایج به‌دست‌آمده از گاوهای نوبت زایش اول نشان داد که میانگین تولید شیر هر ماه شیردهی در گاوهای مبتلا به بیماری ۵/۴ درصد معادل ۵۴ کیلوگرم کمتر از گاوهای سالم بود (۹۵۲/۴ در مقایسه با ۱۰۰۶/۴ کیلوگرم). افت تولید ناشی از ورم پستان بالینی طی ماه‌های مختلف شیردهی بین ۴/۳ تا ۵/۹ درصد تخمین زده شد. بیشترین میزان افت تولید در اوج شیردهی یعنی ماه سوم و معادل ۷۰/۸ کیلوگرم برآورد گردید. نتایج حاصل از خروجی تابع گامای ناقص برای مقایسه دو گروه گاوهای سالم و مبتلا در زایش دوم نشان داد که هر مورد وقوع ورم پستان بالینی سبب کاهش ۷/۷ درصدی تولید شیر، معادل ۸۵ کیلوگرم میانگین ماه شیردهی شد (جدول ۴). اوج اختلاف تولید شیر در بین دو گروه مربوط به ماه‌های دوم تا پنجم شیردهی بود. نتیجه حاصل از کاهش تولید شیر به‌ازای ورم پستان بالینی در این پژوهش نسبت به پژوهش‌های پیشین بیشتر برآورد شد (Houben et al., 1993; Wolf & Jahnke, 1990). پژوهشی با استفاده از تابع گامای ناقص، برای بررسی کاهش تولید

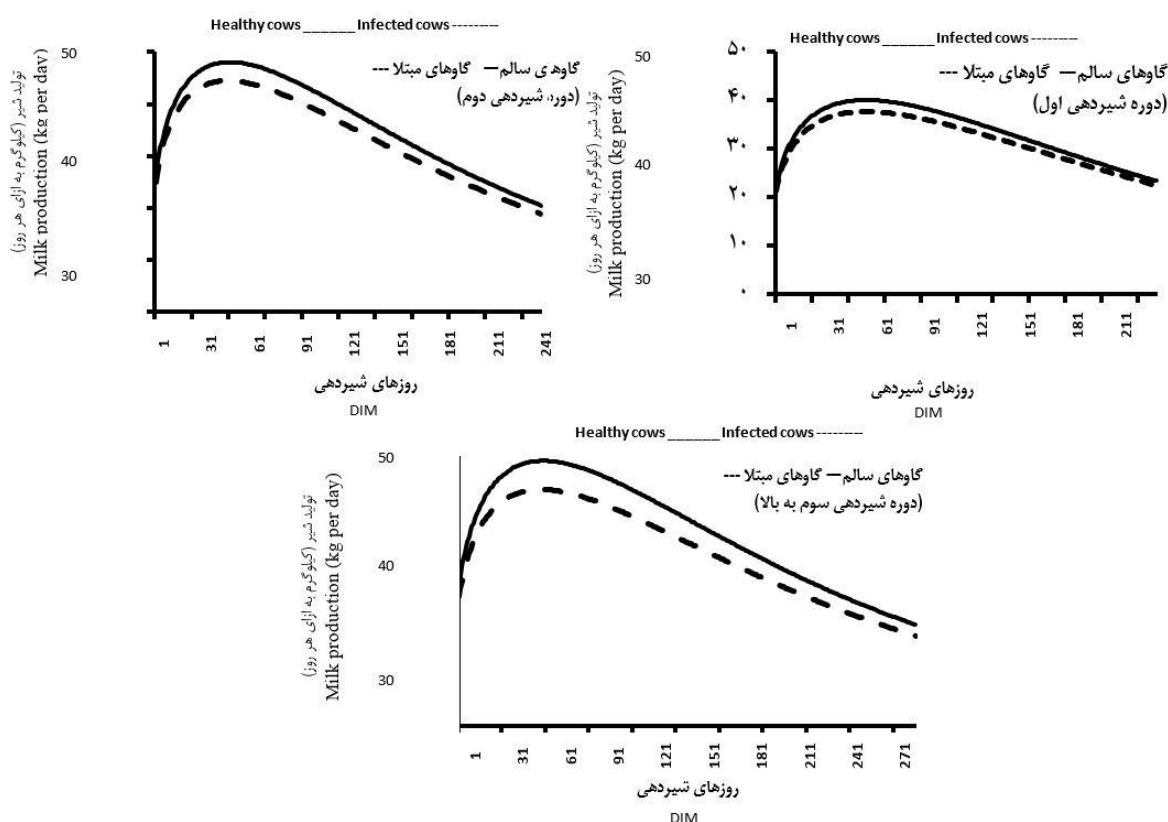
جدول ۴- مقایسه مقدار تولید شیر ماهیانه و کل دوره شیردهی برای گاوهای سالم و مبتلا به ورم پستان بالینی در نوبت‌های مختلف زایش
Table 4- Comparison of monthly and total lactation milk yield for healthy cows and cows affected by clinical mastitis across different parities

ماه شیردهی Month of lactation	شکم اول First parity			شکم دوم Second parity			شکم سوم به بالا Third parity or higher		
	میانگین تولید شیر (کیلوگرم) Mean milk yield (kg)		کاهش تولید(%) Decrease in yield (%)	میانگین تولید شیر (کیلوگرم) Mean milk yield (kg)		کاهش تولید (%) Decrease in yield (%)	میانگین تولید شیر (کیلوگرم) Mean milk yield (kg)		کاهش تولید (%) Decrease in yield (%)
	گاوهای سالم Healthy cows	گاوهای مبتلا Cows with mastitis		گاوهای سالم Healthy cows	گاوهای مبتلا Cows with mastitis		گاوهای سالم Healthy cows	گاوهای مبتلا Cows with mastitis	
1	794.8	756.3	4.8	970.2	915.2	5.7	990.0	896.8	9.4
2	1143.5	1078.1	5.7	1400.2	1301.3	7.1	1434.6	1283.7	10.5
3	1196.9	1126.1	5.9	1433.0	1323.5	7.6	1458.9	1299.0	11.0
4	1181.1	1111.6	5.9	1371.1	1262.4	7.9	1382.4	1227.9	11.2
5	1132.9	1068.0	5.7	1270.1	1167.6	8.1	1266.1	1123.4	11.3
6	1068.6	1009.7	5.5	1154.3	1060.5	8.1	1136.5	1008.1	11.3
7	996.9	944.5	5.3	1035.8	951.6	8.1	1006.6	893.1	11.3
8	922.6	876.8	5.0	921.2	846.7	8.1	883.2	784.0	11.2
9	848.9	809.4	4.6	813.7	748.4	8.0	769.5	683.6	11.2
10	777.4	743.9	4.3	715.0	658.3	7.9	666.7	592.9	11.1
Sum مجموع	10063.6	9524.4	5.4	11084.6	10235.5	7.7	10994.5	9792.5	11.0
میانگین Mean	1006.4	952.4	5.4	1108.5	1023.6	7.7	1099.5	979.3	10.9

به تفاوت شکل منحنی شیردهی بین حیوانات و نژادها، پارامترهای شیردهی گاوهای هلستاین ایران با استفاده از تابع گامای ناقص به-عنوان صفات مجزا محاسبه شدند (Radjabalizadeh et al., 2022). در تحقیقی در سال ۲۰۱۹، برازش منحنی شیردهی گاوهای هلستاین ایران با تابع گامای ناقص نشان داد که شیب سریع کاهش در تولید شیر پس از نقطه اوج شیردهی سبب افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک گردید. همچنین آن‌ها دریافتند که بین تعداد سلول‌های سوماتیک و تداوم شیردهی در گاوهای هلستاین رابطه ژنتیکی منفی وجود دارد، بدین معنا که افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک با کاهش پایداری تولید شیر همراه است. این یافته حاکی از اهمیت کنترل سلامت پستان در بهبود منحنی تداوم شیردهی است (Chegini et al., 2019). در تحقیقی، افت تولید شیر ناشی از بیماری ورم پستان بالینی در گاوهای هلستاین زایش نخست ۳۱ تا ۱۲۸ کیلوگرم و با نوبت زایش دوم ۱۵۵ تا ۴۴۸ کیلوگرم گزارش شد (Houben et al., 1993) که مشابه نتایج تحقیق حاضر برای زایش اول (با مقدار افت ۵۴ کیلوگرم) و مغایر برای نوبت زایش دوم (۸۵ کیلوگرم) بود. در گاوهای هلستاین، کاهش تولید شیر در گاوهای زایش نخست مبتلا به بیماری ورم پستان بالینی در مقایسه با گاوهای سالم، ۳۸۲ تا ۹۸۹ کیلوگرم گزارش شد که با نتایج تحقیق حاضر برای مجموع کاهش تولید شیر در زایش نخست (۵۳۹/۲) مطابقت دارد (Puerto et al., 2021).

مقایسه کاهش تولید شیر در طول دوره شیردهی برای دو گروه گاوهای سالم و مبتلا به بیماری ورم پستان بالینی در دوره‌های شیردهی اول، دوم و سوم به بالا براساس تابع گامای ناقص در شکل ۱ نشان داده شده است. باتوجه به نتایج حاصل، با افزایش دوره شیردهی، اختلاف تولید شیر ماهیانه بین دو گروه در زمان اوج تولید شیر، افزایش می‌یابد. همچنین براساس نمودارهای مقایسه‌ای ارائه شده، شیب کاهش تولید در گروه بیمار (به‌ویژه در نوبت‌های زایش بالاتر) تندتر از گروه سالم است. این شیب تندتر، در واقع نمایانگر تداوم بسیار ضعیف‌تر در گاوهای بیمار است. این تداوم ضعیف‌تر به‌معنای آن است که تولید آن‌ها پس از اوج با سرعت بیشتری نسبت به هم‌گروهی‌های سالم خود کاهش می‌یابد که منجر به کاهش سودآوری می‌شود.

نتایج تحقیقی در سال ۲۰۲۲ که از مدل وود برای مدل‌سازی استفاده شده بود، نشان داد که تداوم شیردهی به‌طور طبیعی با افزایش نوبت زایش (از زایش اول به زایش‌های بعدی) کاهش می‌یابد، اگرچه ممکن است اوج تولید افزایش یابد. این امر نشان می‌دهد که بدن گاوهای با سابقه زایمان بالاتر به‌طور ذاتی توانایی کمتری در حفظ تولید در بلندمدت دارد. همچنین مشخص شد که در گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی، این روند کاهشی تداوم، به‌شدت تشدید می‌شود. زیرا آسیب بافتی ناشی از ورم پستان (به‌ویژه در شکم زایش بالا)، توانایی بافت پستان برای حفظ تولید پس از اوج را به‌شدت مختل می‌کند (Marumo et al., 2022). تعدادی از محققان، تابع گامای ناقص را به‌عنوان بهترین تابع جهت پیش‌بینی منحنی شیردهی گاوهای هلستاین ایران گزارش کردند (Lotfi et al., 2014). باتوجه



شکل ۱- مقایسه کاهش تولیدشیر در طول دوره شیردهی برای دو گروه گاوهای سالم و مبتلا به بیماری ورم پستان بالینی در دوره‌های شیردهی اول، دوم و سوم به بالا براساس تابع گامای ناقص (منبع: یافته‌های تحقیق)

Figure 1- Comparison of milk production decline during the lactation period between two groups of cows, healthy and those affected by clinical mastitis, in the first, second, and third or higher lactation periods based on the incomplete gamma function (Source: research findings)

مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۱، جنبه‌های ژنتیکی تعداد سلول‌های سوماتیک را در گاوهای هلشتاین ایران بررسی کرد و نشان داد که تعداد سلول‌های سوماتیک یک شاخص قابل اعتماد برای ارزیابی حساسیت به بیماری‌های پستانی مانند ورم پستان است. این پژوهش، وراثت‌پذیری متوسطی برای آن گزارش کرد که امکان اصلاح ژنتیکی این ویژگی و کاهش شیوع بیماری را فراهم می‌کند. همچنین ارتباط منفی میان تعداد سلول‌های سوماتیک و تولید شیر مشاهده شده تأییدی بر اثر مخرب بیماری‌های پستانی بر عملکرد تولیدی گاوها است. زیرا کاهش تولید شیر در نتیجه افزایش شمار سلول‌های سوماتیک (SCC) عمدتاً به‌واسطه پاسخ التهابی غده پستان در برابر عفونت‌های باکتریایی رخ می‌دهد. این واکنش التهابی موجب آسیب بافتی، کاهش ظرفیت سنتز سلول‌های ترشحی و تغییر در متابولیسم بافت پستان شده و در نهایت به افت تولید شیر منجر می‌گردد. این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر که کاهش تولید شیر ناشی از ورم

در برخی از تحقیقات، میزان افت تولید شیر ناشی از بیماری ورم پستان بالینی در گاوهای هلشتاین برای زایش اول ۷۴۹ کیلوگرم، زایش دوم ۷۳۴ و ۲۰۵ کیلوگرم و زایش دوم به بالا را ۲۳۱ کیلوگرم اعلام کردند (Pedraza, 1991; Wolf & Jahnke, 1990) که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت داشت. همچنین در پژوهشی، با بررسی ۱۳۰۰ تا ۱۴۵۰ رأس گاو شیریه هلشتاین در بازه زمانی ۲۰۱۵ تا ۲۰۲۱ نشان داده شد که میانگین رکورد ماهیانه گاوهای مبتلا به بیماری ورم پستان بالینی ۲۲/۲ کیلوگرم کمتر از میانگین رکورد ماهیانه گاوهای سالم بود (Ameni et al., 2022)، درحالی که در مطالعه حاضر، این اختلاف برای گاوهای زایش اول، دوم و سوم به بالا به ترتیب ۵۴، ۸۵ و ۱۲۰ کیلوگرم محاسبه شد. تفاوت نتایج حاصل از مطالعات مختلف علاوه بر روش‌های آماری، به تفاوت در نوع بیمارگر نیز مربوط می‌شود. البته در مورد افت تولید شیر وابسته به نوع بیمارگر اطلاعات کمی وجود دارد و نیاز به بررسی بیشتر است.

شیردهی پیشین است. اگرچه هدف این مطالعه، مقایسه مدل‌های مختلف منحنی شیردهی نبود، نتایج حاصل از استفاده از تابع گامای ناقص نشان داد که این مدل می‌تواند توصیف مناسبی از الگوی تولید شیر ارائه دهد و در پیش‌بینی کاهش تولید ناشی از ورم پستان بالینی مفید واقع شود. با این حال، مطالعه حاضر با تمرکز بر نوبت‌های مختلف زایش و تحلیل دینامیک منحنی شیردهی، توانست تصویری خوبی از اثرات فیزیولوژیک بیماری شامل آسیب دیدن کانال سرپستانک و همچنین کاهش تداوم شیردهی و تغییر شکل منحنی شیردهی در گاوهای مبتلا به ورم پستان ارائه دهد. یافته‌های این تحقیق می‌تواند به عنوان مبنایی برای برآورد زیان اقتصادی ناشی از کاهش تولید شیر در گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی و نیز تصمیم‌گیری درباره نگهداری یا حذف اختیاری این گاوها مورد استفاده قرار گیرد.

پستان بالینی و تشدید اثر آن در گاوهای با زایش‌های بالاتر را نشان داد، همسو بوده و اهمیت ادغام معیارهای سلامت پستان در برنامه‌های بهبود ژنتیکی گله‌های بزرگ صنعتی ایران را برجسته می‌سازد (Atashi & Hostens, 2021).

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج این تحقیق، کاهش تولید شیر در دوره ۳۰۵ روزه ناشی از ابتلا به بیماری ورم پستان بالینی، با استفاده از تجزیه و تحلیل داده‌های میدانی و تابع گامای ناقص، به ترتیب در بازه‌های ۱۹۵ تا ۴۰۶ کیلوگرم و ۵۳۹ تا ۱۲۰۲ کیلوگرم برآورد شد. همچنین مشخص گردید که با افزایش نوبت زایش گاوها، کاهش تولید شیر در اثر ورم پستان بالینی افزایش یافت، این امر احتمالاً ناشی از آسیب‌های تجمعی به کانال سرپستانک در طول زندگی و دوره‌های

References

- Adriaens, I., Van Den Brulle, I., Geerinckx, K., D'Anvers, L., De Vlieghe, S., & Aernouts, B. (2021). Milk losses linked to mastitis treatments at dairy farms with automatic milking systems. *Preventive Veterinary Medicine*, 194, 105420. <https://10.1016/j.prevetmed.2021.105420>
- Ali, A. K. A., & Shook, G. E. (1980). An optimum transformation for somatic cell concentration in milk. *Journal of Dairy Science*, 63, 487-490. [https://10.3168/JDS.S0022-0302\(80\)82959-6](https://10.3168/JDS.S0022-0302(80)82959-6)
- Ameni, G., Bayissa, B., Zewude, A., Degefa, B. A., Mohteshamuddin, K., Kalaiah, G., Alkalbani, M. S., Eltahir, Y. M., Elfatih Hamad, M., & Tibbo, M. (2022). Retrospective study on bovine clinical mastitis and associated milk loss during the month of its peak occurrence at the National Dairy Farm in the Emirate of Abu Dhabi, United Arab Emirates. *Frontiers in Veterinary Science*, 20(9), 1070051. <https://10.3389/fvets.2022.1070051>
- Atashi, H., Moradi Sharbabak, M., & Moradi Sharbabak, H. (2009). Environmental factors affecting the shape components of the lactation curves in Holstein dairy cattle of Iran. *Livestock Research for Rural Development*, 21(5), 25-32.
- Atashi, H., & Hostens, M. (2021). Genetic aspects of somatic cell count in Holstein dairy cows in Iran. *Animals*, 11(6), 1637. <https://10.3390/ani11061637>
- Bonestroo, J., Voort, M., Fall, N., Emanuelson, U., Klaas, I. C., & Hogeveen, H. (2022). Estimating the nonlinear association of online somatic cell count, lactate dehydrogenase, and electrical conductivity with milk yield. *Journal of Dairy Science*, 105(4), 3518-3529. <https://10.3168/jds.2021-21351>
- Blowey, R. W., & Edmondson, P. (2010). *Mastitis Control in Dairy Herds*, 266. London: UK.
- Carlén, E., Strandberg, E., & Roth, A. (2004). Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell score, and production in the first three lactations of Swedish Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 87(9), 3062-3070. [https://10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73439-6](https://10.3168/jds.S0022-0302(04)73439-6)
- Chegini, A., Shadparvar, A. A., Ghavi Hossein-Zadeh, N., & Mohammad-Nazari B. (2019). Genetic and environmental relationships among milk yield, persistency of milk yield, somatic cell count and calving interval in Holstein cows. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarías*, 32(2), 81-89. <https://10.17533/udea.rccp.v32n2a01>
- Coldebella, A., Machado, P. F., Demétrio, C. G. B., Ribeiro Júnior, P. J., Meyer, P. M., Corassin, C. H., & Cassoli, L. D. (2004). Somatic cells count and milk yield in confined Holstein cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33, 623-634. <https://10.1590/S1516-35982004000300011>
- Daghigh Kia, H., Badregha, H., Moghaddam, G., Alijani, S., & Najafi, A. (2016). Effect of increased somatic cell count on changes in quantity and composition of milk in Holstein dairy cows. *Research in Ruminants*, 4(1), 149-173. (In Persian).
- Dürr, J., Cue, R., Monardes, H., Moro-Méndez, J., & Wade, K. (2008). Milk losses associated with somatic cell counts per breed, parity and stage of lactation in Canadian dairy cattle. *Livestock Science*, 117, 225-232. <https://10.1016/j.livsci.2007.12.004>
- Franzoi, M., Manuelian, C. L., Penasa, M., & De Marchi, M. (2020). Effects of somatic cell score on milk yield and mid-infrared predicted composition and technological traits of Brown Swiss, Holstein Friesian, and Simmental cattle breeds. *Journal of Dairy Science*, 103(1), 791-804. <https://10.3168/jds.2019-16916>
- Gonzalo, C., Carriedo, J. A., Blanco, M. A., Beneitez, E., Juárez, M. T., De La Fuente, L. F., & Primitivo, F. S.

- (2005). Factors of variation influencing bulk tank somatic cell count in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 88(3), 969-974. [https://10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72764-8](https://10.3168/jds.S0022-0302(05)72764-8)
15. Hagnestam, C., Emanuelson, U., & Berglund, B. (2007). Yield losses associated with clinical mastitis occurring in different weeks of lactation. *Journal of Dairy Science*, 90, 2260-2270. <https://10.3168/jds.2006-583>
 16. Heringstad, B., Sehested, E., & Steine, T. (2008). Correlated selection responses in somatic cell count from selection against clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 91(11), 4437-4439. <https://10.3168/jds.2008-1330>
 17. Hillerton, J. E. (1999). Redefining mastitis based on somatic cell count. *IDF Bulletin*, 345, 4-6.
 18. Houben, E. H., Dijkhuizen, A. A., Van Arendonk, J. A., & Huirne, R. B. (1993). Short-and long-term production losses and repeatability of clinical mastitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 76, 2561-2578. [https://10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77591-8](https://10.3168/jds.S0022-0302(93)77591-8)
 19. Juozaitiene, V., Juozaitis, A., & Micikeviciene, R. (2006). Relationship between somatic cell count and milk production or morphological traits of udder in Black-and-white cows. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30, 47-51.
 20. Kheirabadi, K., & Razmkabir, M. (2016). Genetic parameters for daily milk somatic cell score and relationships with yield traits of primiparous Holstein cattle in Iran. *Journal of Animal Science and Technology*, 58, Article 38, 103-112. (in Persian with English abstract). <https://10.1186/s40781-016-0121-5>
 21. Lotfi, S., Lotfi, R., Vahidian Kamiyad, A., & Farhangfar, H. (2014). Application of sinusoidal function for modeling lactation curves of Holstein cows and comparison with Wood and Dijkstra functions in a Holstein herd. *Iranian Journal of Animal Science*, 45(1), 59-68. (in Persian with English abstract). <https://10.22059/IJAS.2014.51750>
 22. Luna-Palamera, C., Domínguez-Viveros, J., Aguilar-Palma, G. N., Castillo-Rangel, F., Sánchez-Dávila, F., & Macías-Cruz, U. (2021). Analysis of the lactation curve of Murrah buffaloes with mixed non-linear models. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Science (ex Agro-Ciencia)*, 37(3), 63-68. <https://10.29393/CHJAAS37-22ALCU60022>
 23. Lund, T., Miglior, F., Dekkers, J., & Burnside, E. (1994). Genetic relationships between clinical mastitis, somatic cell count, and udder conformation in Danish Holsteins. *Livestock Production Science*, 39, 243-251. [https://10.1016/0301-6226\(94\)90203-8](https://10.1016/0301-6226(94)90203-8)
 24. Mahmoudzadeh, M., Naeimi Pour, H., & Farhangfar, S. H. (2010). Investigation of the effect of parity on somatic cell score of milk in two Holstein dairy herds in Khorasan Razavi Province. Proceedings of the 4th Iranian Congress of Animal Science, Karaj. (in Persian)
 25. Marumo, J. L., Lusseau, D., Speakman, J. R., Mackie, M., & Hambly, C. (2022). Influence of environmental factors and parity on milk yield dynamics in barn-housed dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 105(2), 1225-1241. <https://10.3168/jds.2021-20698>
 26. Němcová, E., Štípková, M., Zavadilová, L., Bouška, J., & Vacek, M. (2007). The relationship between somatic cell count, milk production and six linearly scored type traits in Holstein cows. *Czech Journal of Animal Science*, 52, 437-446. <https://10.17221/2337-CJAS>
 27. Nikkhah, A., RezaGholivand, A., & Khabbazan, M. H. (2021). Milk yield depression and its economic loss due to production diseases: Iran's large dairy herds. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 22(2), 136-139. (in Persian with English abstract). <https://10.22099/IJVR.2021.38463.5596>
 28. Pedraza, C. (1991). Efecto de la mastitis clínica sobre la producción de leche. *Agric. Técnica* 51.
 29. Puerto, M. A., Shepley, E., Cue, R. I., Warner, D., Dubuc, J., & Vasseur, E. (2021). The hidden cost of disease: I. Impact of the first incidence of mastitis on production and economic indicators of primiparous dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104(7), 7932-7943. <https://10.3168/jds.2020-19584>
 30. Ødegård, J., Klemetsdal, G., & Heringstad, B. (2003). Variance components and genetic trend for somatic cell count in Norwegian Cattle. *Livestock Production Science*, 79, 135-144.
 31. Radjabalizadeh, K., Alijani, S., Gorbani, A., & Farahvash, T. (2022). Estimation of genetic parameters using Bayesian and REML methods for milk production trait of Holstein Dairy cattle. *Journal of Applied Animal Research*, 50(1), 363-368. (in Persian with English abstract). <https://10.1080/09712119.2022.2080211>
 32. Rearte, R., Corva, S. G., de la Sota, R. L., Lacau-Mengido, I. M., & Giuliadori, M. J. (2022). Associations of somatic cell count with milk yield and reproductive performance in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 105(7), 6251-6260. <https://10.3168/jds.2021-21504>
 33. Roux, Y. L. E., Laurent, F., & Moussaoui, F. (2003). Polymorphism nuclear proteolytic activity and milk composition change. *Veterinary Research*, 34, 629-645. <https://10.1051/vetres:2003021>
 34. Ruegg, P. L. (2001). Milk Secretion and Quality Standards. University of Wisconsin, Madison, USA. [http://www.uwex.edu/MilkQuality/pdf/milk secretion and quality standards](http://www.uwex.edu/MilkQuality/pdf/milk%20secretion%20and%20quality%20standards).
 35. Sadeghi-Sefidmazgi, A., Moradi-Shahrbabak, M., Nejati-Javaremi, A., Miraei-Ashtiani, S., & Amer, P. (2011). Estimation of economic values and financial losses associated with clinical mastitis and somatic cell score in Holstein dairy cattle. *Animal*, 5, 33-42. <https://10.1017/S1751731110001655>
 36. Seegers, H., Fourichon, C., & Beaudeau, F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics

- in dairy cattle herds. *Veterinary Research*, 34, 475-491. <https://10.1051/vetres:2003027>
37. Schukken, Y. H., Leslie, K. E., Weersink, A. J., & Martin, S. W. (1992). Ontario bulk milk somatic cell count reduction program. impact on somatic cell counts and milk quality. *Journal of Dairy Science*, 75, 3352-3358. [https://10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78111-9](https://10.3168/jds.S0022-0302(92)78111-9)
38. Skrzypek, R., Wojtowski, J., & Fahr, R. D. (2004). Factors affecting somatic cell count in cow bulk tank milk - a case study from Poland. *Veterinary Medicine*, 51, 127-131. <https://10.1111/j.1439-0442.2004.00611.x>
39. Sguizzato, A. L. L., da Silva, T. E., Chagas, J. C. C., Argüelo, A. M., Gonçalves, N. M., & Marcondes, M. I. (2024). Understanding the dynamics of mastitis in milk yield: Decoding onset and recovery patterns in response to mastitis occurrence. *Journal of Dairy Science Communications*. 14;5(6):669-673. <https://10.3168/jdsc.2024-0579>.
40. Wolf, J., & Jahnke, B. (1990). Beziehungen zwischen Eutergesundheit und Milchleistung bei SMR-kühen, *Arch. Experience Veterinary Medicine*, 44, 9-34.
41. Wood, P.D.P. (1967). Algebraic model of the lactation curve in cattle. *Nature*, 216(5111), 164-165. <https://10.1038/216164a0>



Effects of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) Essential Oil on Ruminal Fermentation Parameters, Nutrient Degradability, and Methane Production *in vitro*

Mohsen Kazemi^{1*}

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Animal Science, University of Torbat-e Jam, Torbat-e Jam, Iran

*Corresponding Author's Email: phd1388@gmail.com; m.kazemi@tjamcaas.ac.ir

Received: 30-11-2025
Revised: 04-01-2026
Accepted: 07-01-2026
Available Online: 04-04-2026

How to cite this article:

Kazemi, M. (2026). Effect of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) essential oil on ruminal fermentation parameters, nutrient degradability, and methane production in an *in vitro* system. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(1), 29-41. (in Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/Ijasr.2026.96772.1282>

Introduction: The utilization of natural feed additives to modulate rumen fermentation processes and mitigate enteric methane emissions has garnered considerable attention as a sustainable nutritional strategy in ruminant production systems. Plant-derived essential oils (EOs), with their complex bioactive profiles, offer a promising alternative for shifting the rumen microbial ecosystem toward improved fermentation efficiency. Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.), a perennial herb belonging to the *Lamiaceae* family, is widely recognized for its medicinal and aromatic properties. The essential oil extracted from this plant contains numerous biologically active components, notably pinocamphone, β -pinene, and various sesquiterpenes, which collectively exhibit potent antimicrobial, antifungal, and antioxidant activities. These multifaceted biological properties suggest substantial potential for optimizing rumen fermentation dynamics and improving nutrient utilization. The present study was therefore designed to systematically evaluate the effects of different inclusion levels of whole Hyssop essential oil (HEO) on *in vitro* gas production kinetics, methane emission patterns, key fermentation parameters, and microbial indices in ruminal fluid. The central hypothesis was that, due to its antimicrobial properties, HEO could establish an optimal balance between suppressing methane production and maintaining or even improving ruminal fermentation efficiency at a specific concentration. Therefore, this investigation aimed to assess the impact of HEO on ruminal methane output, volatile fatty acid profile, nutrient degradability, and microbial protein synthesis efficiency to identify its optimal dietary inclusion level.

Materials and Methods: The experiment was conducted in a completely randomized design with five treatments and four replicates. Treatments included different levels of HEO (0, 50, 100, 150, and 200 mg/L of culture medium). The essential oil was obtained via hydrodistillation using a Clevenger apparatus from the aerial parts of the plant collected at full flowering. Rumen fluid was collected from three fistulated male sheep (30 ± 3.5 kg body weight) fed a diet consisting of wheat straw and concentrate. The *in vitro* gas production technique was used, and samples were incubated at 39°C for 96 hours. Gas production was measured at 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72, and 96 hours. Methane production was assessed at 24 hours by absorbing carbon dioxide with a 10 M NaOH solution. After 24 hours of incubation, additional fermentation and



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

 <https://doi.org/10.22067/Ijasr.2026.96772.1282>

microbial parameters were evaluated. These post-incubation analyses included measurements of pH, ammonia-nitrogen concentration, total volatile fatty acids (TVFA) concentration, and total protozoal count using a Neubauer chamber. Additionally, degradability of dry matter (DM), organic matter (OM), and neutral detergent fiber (NDF) were determined. Microbial biomass yield and microbial synthesis efficiency were calculated based on truly degraded organic matter and gas production data.

Results and Discussion: The addition of HEO significantly and dose-dependently reduced *in vitro* methane production. The effect was most pronounced at the highest dose, where methane production decreased by 31% at 200 mg/L compared with the control treatment ($P < 0.05$). This reduction is likely attributed to the direct inhibitory effect of the HEO bioactive compounds, particularly pinocamphone, on methanogenic archaea and protozoa. Cumulative gas production decreased significantly at all incubation time points compared to the control ($P < 0.05$). Total protozoal population declined linearly with increasing essential oil levels, showing a substantial 33% reduction at 200 mg/L compared to the control ($P < 0.05$), highlighting the strong antiprotozoal activity of the essential oil. TVFA concentration showed a quadratic response ($P < 0.05$), increasing up to the 100 mg/L level and then decreasing at higher doses, indicating a dual stimulatory and inhibitory effect on microbial fermentation. Notably, the 100 mg/L treatment significantly increased microbial biomass yield and microbial synthesis efficiency by 19% and 20%, respectively ($P < 0.05$), indicating a more efficient allocation of digested nutrients to microbial biomass production. Conversely, degradability of DM, OM, and NDF decreased linearly with increasing essential oil levels ($P < 0.05$), reflecting a general inhibitory effect on fibrolytic microbial activity at higher concentrations.

Conclusion: At an inclusion level of 100 mg/L, HEO achieved a significant methane reduction (14.3%) while improving microbial protein synthesis efficiency and maintaining acceptable nutrient digestibility. This specific level of HEO may therefore serve as an effective natural strategy for enhancing the efficiency of rumen fermentation and reducing the environmental impact of ruminant production through lower methane emissions. For practical application, further *in vivo* trials are recommended to validate these promising *in vitro* findings and to determine the appropriate dietary inclusion rate.

Keywords: Digestibility, Gas production, Herbal essential oil, Microbial synthesis efficiency, Protozoa population

اثر اسانس آبی گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) بر فراسنجه‌های تخمیری، تجزیه پذیری مواد مغذی و تولید متان شکمبه‌ای در شرایط برون تنی

محسن کاظمی*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۱۷

چکیده

استفاده از افزودنی‌های طبیعی برای تعدیل تخمیر شکمبه و کاهش تولید متان به‌عنوان رویکردی پایدار در تغذیه نشخوارکنندگان اهمیت یافته است. اسانس گیاهی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) با ترکیبات زیست‌فعال خود می‌تواند اکوسیستم میکروبی شکمبه را تحت تأثیر قرار دهد. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف اسانس گیاه کامل زوفا (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر تولید گاز و متان، فراسنجه‌های تخمیری و شاخص‌های میکروبی شکمبه گوسفند در شرایط برون تنی انجام شد. نتایج نشان داد که افزودن اسانس زوفا موجب کاهش معنی‌دار تولید متان (تا ۳۱ درصد در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و تولید گاز تجمعی (میلی‌لیتر) در تمام زمان‌های انکوباسیون گردید ($P < 0.05$). جمعیت پروتوزوای کل با افزایش سطح اسانس، کاهش خطی نشان داد و در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌میزان ۳۳ درصد کمتر از شاهد بود ($P < 0.05$). غلظت اسیدهای چرب فرار کل تا سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش و سپس کاهش یافت ($P < 0.05$). توده میکروبی تولیدی و راندمان سنتز میکروبی در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب ۱۹ و ۲۰ درصد بهبود یافت ($P < 0.05$). به‌طور کلی، سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان سطح بهینه برای تعدیل فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای شناسایی شد، زیرا ضمن کاهش معنی‌دار تولید متان، کارایی میکروبی را بهبود بخشیده و در عین حال قابلیت هضم مواد مغذی را حفظ نمود. این سطح می‌تواند به‌عنوان راهکاری مؤثر برای بهبود تخمیر شکمبه و کاهش انتشار متان پیشنهاد شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس گیاهی، تولید گاز، جمعیت پروتوزوآ، راندمان سنتز میکروبی، قابلیت هضم

مقدمه

گیاهی، در کانون توجه پژوهش‌های نوین قرار گرفته است (Kazemi, 2019; Kazemi & Eskandary Torbaghan, 2019). در این میان، گیاهان دارویی به‌دلیل دارا بودن ترکیبات زیست‌فعال ثانویه، پتانسیل قابل توجهی برای تعدیل تخمیر شکمبه، بهبود سلامت دام و کاهش اثرات زیست‌محیطی از خود نشان داده‌اند (Kazemi, 2019; Kazemi & Eskandary Torbaghan, 2019).

گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis* L.)، گونه‌ای چندساله از تیره نعنائیان (*Lamiaceae*) است که به‌طور بومی در مناطق مدیترانه تا آسیای مرکزی پراکنده شده است (Fathiazad et al., 2011). این گیاه به‌دلیل محتوای بالای اسانس (۳ تا ۱ درصد) از دیرباز در طب سنتی به‌عنوان ضداسپاسم، ضدسرفه، ضدعفونی‌کننده و خلط‌آور مورد استفاده قرار گرفته است (Kizil et al., 2010). اسانس زوفا حاوی ترکیبات متعددی از جمله پینوکامفون، β -پینن و سسکوئی‌ترین‌ها

صنعت دامپروری به‌ویژه در بخش نشخوارکنندگان، با چالش‌های متعددی از جمله کاهش قابلیت هضم خوراک، تولید گازهای گلخانه‌ای (به‌ویژه متان) و عفونت‌های انگلی مواجه است. استفاده از افزودنی‌های خوراکی مصنوعی و آنتی‌بیوتیک‌ها برای مقابله با این چالش‌ها، به‌دلیل عوارض جانبی و ایجاد مقاومت دارویی، با محدودیت‌های فزاینده‌ای روبرو شده است (Zheng et al., 2025). ازاین‌رو، جست‌وجو برای جایگزین‌های طبیعی و ایمن، به‌ویژه از منابع

۱- گروه علوم دامی، مجتمع آموزش عالی تربت‌جام، تربت‌جام، ایران

(*) نویسنده مسئول: phd1388@gmail.com;

m.kazemi@tjamcaas.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/Ijasr.2026.96772.1282>

مواد و روش‌ها

استخراج اسانس گیاهی

پیکره‌های رویشی گیاه زوفا در مرحله گل‌دهی کامل و در اواسط تیرماه سال ۱۴۰۳ از گلخانه آموزشی-پژوهشی مجتمع آموزش عالی تربت‌جام جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و به‌منظور کاهش رطوبت و دستیابی به وزن پایدار جهت آسیاب، در آن با دمای کنترل‌شده ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. پس از این مرحله، تمامی بخش‌های گیاه (ساقه، برگ و گل) با استفاده از آسیاب مکانیکی به ذرات با اندازه دو میلی‌متر تبدیل گردید. اسانس‌گیری به‌روش تقطیر با بخار آب و با بهره‌گیری از دستگاه کلونجر انجام شد (Kazemi & Mokhtarpour, 2020). محصول نهایی در ویال‌های شیشه‌ای کهربایی، ریخته شده و برای جلوگیری از اکسیداسیون و تبخیر ترکیبات فرار، تا زمان آغاز آزمایش‌های تخمیر برون‌تنی در دمای چهار درجه سلسیوس در یخچال نگهداری شد.

تهیه جیره پایه و جمع‌آوری مایع شکمبه

جیره غذایی مورد استفاده در محیط کشت، برپایه احتیاجات تغذیه‌ای یک گوسفند نر نژاد بلوچی در سن پنج ماهگی و وزن متوسط ۳۵ کیلوگرم تهیه شد (NRC, 2007). ترکیب شیمیایی این جیره (جدول ۱) براساس مقادیر استاندارد موجود در کتابخانه ترکیب مواد خوراکی نشخوارکنندگان محاسبه گردید. اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی این جیره در جدول ۱ ارائه شده است.

مایع شکمبه مورد نیاز از سه رأس گوسفند نر بالغ نژاد بلوچی (با وزن $3/5 \pm 30$ کیلوگرم) مجهز به فیستولای دائم شکمبه‌ای تهیه شد. جیره نگهداری این حیوانات شامل کاه گندم و کنسانتره تجاری با تراکم انرژی ۱۰/۱۵ مگاژول در هر کیلوگرم ماده خشک بود.

آزمون تولید گاز و ارزیابی قابلیت هضم

محیط کشت مورد استفاده در آزمون تولید گاز با نسبت حجمی ۲ به ۱ از بزاق مصنوعی و مایع شکمبه تهیه گردید (Menke & Steingass, 1988). در هر یک از بطری‌های شیشه‌ای ۱۲۰ میلی‌لیتری، ۲۰۰ میلی‌گرم (براساس ماده خشک) از خوراک آسیاب‌شده (جدول ۱، با اندازه ذرات یک میلی‌متر) به همراه سطوح مختلف اسانس زوفا (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در هر لیتر محیط کشت) ریخته شد. برای هر سطح تیماری، چهار تکرار در نظر گرفته شد. به‌منظور افزایش پایایی نتایج، این آزمون در دو دور مستقل (independent runs) و در دو روز مختلف انجام گردید.

است که نقش اصلی در بروز خواص ضد میکروبی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی آن دارند (Mazzanti et al., 1998; Goncarius & Balmus, 2013). اگرچه خواص دارویی این گیاه به‌خوبی مستند شده است، اما کاربرد آن به‌عنوان یک افزودنی خوراکی در تغذیه دام، به‌ویژه در محیط کشت شکمبه، موضوعی نوپا و کمتر بررسی شده است. درحالی‌که تاکنون مطالعه‌ای روی بررسی سیستماتیک تأثیر اسانس زوفا بر تخمیر شکمبه نشخوارکنندگان صورت نگرفته است، شواهدی از اثرات زیست‌فعال مفید این گیاه در گونه‌های دیگر گزارش شده است. به‌عنوان مثال، نشان داده شده است که عصاره زوفا سبب تقویت پاسخ ایمنی در قزل‌آلا می‌شود (Yousefi et al., 2022). علاوه بر این، مطالعات نشان داده‌اند که عصاره زوفا با کاهش میزان اتوزینوفیل‌ها و تنظیم سطوح ایمونوگلوبولین‌های E و G در مدل موشی آسم، علاوه بر اثر ضدالتهابی، نقش مهمی در تنظیم سیستم ایمنی داشت (Ma et al., 2014). این یافته‌ها، لزوم بررسی پتانسیل این افزودنی طبیعی در محیط شکمبه را برجسته می‌سازد.

تخمیر شکمبه یک فرآیند پیچیده میکروبی است که کارایی آن بر عملکرد تولیدی دام تأثیر مستقیم دارد. پارامترهایی مانند تولید گاز، قابلیت هضم ماده خشک و آلی، غلظت اسیدهای چرب فرار، نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآها، شاخص‌های کلیدی برای ارزیابی سلامت و کارایی شکمبه محسوب می‌شوند (Patra, 2007). از سوی دیگر، متان تولیدی در شکمبه نه‌تنها نمایانگر هدررفت ۲ تا ۱۲ درصدی انرژی خوراک است، بلکه به‌عنوان یک گاز گلخانه‌ای قوی نیز اثرات زیست‌محیطی نامطلوبی دارد (Pepeta et al., 2024). بنابراین، یافتن افزودنی‌هایی که بتوانند هم‌زمان کارایی تخمیر را بهبود بخشیده و تولید متان را کاهش دهند، از اهداف مهم تحقیقاتی است. مطالعات روی سایر اسانس‌های گیاهی مانند آویشن (*Thymus vulgaris*) و رزماری (*Salvia rosmarinus*) نشان داده‌اند که این ترکیبات می‌توانند از طریق سازوکارهایی مانند مهار جمعیت پروتوزوآها و آرکی‌های متان‌زا، تولید متان را کاهش دهند (Wencelová et al., 2015). بااین‌حال، اثرات این ترکیبات وابسته به دوز بوده و در سطوح بالا می‌توانند اثرات مهارکنندگی کلی بر ریزجانداران شکمبه داشته باشند.

بر این اساس، هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر سطوح مختلف اسانس گیاه کامل زوفا (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر محیط کشت) در مقایسه با شاهد بر روی پارامترهای کینتیک تولید گاز و متان، پارامترهای تخمیری، جمعیت پروتوزوآی کل، قابلیت تجزیه‌پذیری مواد مغذی و همچنین شاخص‌های کارایی میکروبی در یک محیط کشت برون‌تنی تولید گاز بود. فرضیه این پژوهش بر این اساس است که اسانس زوفا با توجه به خواص ضد میکروبی خود، بتواند در یک سطح بهینه، تعادل مطلوبی بین کاهش تولید متان و حفظ یا بهبود کارایی تخمیر شکمبه ایجاد نماید.

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره نهایی مورد استفاده در محیط کشت آزمایشگاهی (درصدی از ماده خشک)

Table 1- Feed ingredients and chemical composition of the final diet used in an *in vitro* culture medium (% of dry matter in the diet)

اقلام Ingredients	مقدار در جیره (درصد ماده خشک) Dietary inclusion (% of dry matter)
یونجه Alfalfa	12
سیلاژ ذرت Corn silage	12
جو آسیاب شده Ground barley	22
ذرت آسیاب شده Ground corn	22
کنجاله تخم پنبه Cottonseed meal	5
سبوس گندم Wheat bran	6
تقاله چغندر قند خشک Dried beet pulp	4
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین) Soybean meal (44% CP)	5
کاه گندم Wheat straw	7
اکسید روی Zinc oxide	1.5
مکمل ویتامینی-معدنی ^۱ Vitamin-mineral premix	1.5
نمک Salt	1.5
آهک Limestone	0.5
ترکیبات شیمیایی (درصدی از ماده خشک) Chemical composition (% of DM)	
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	33
خاکستر Ash	12
چربی خام Ether extract	3.5
پروتئین خام Crude protein	15
کربوهیدرات‌های غیرالیافی Non-fiber carbohydrates	36.5
انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری/کیلوگرم ماده خشک) Metabolizable energy (Mcal/kg DM)	2.3
کلسیم Calcium	0.60
فسفر Phosphorus	0.30

^۱ حاوی ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۸۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۸۰۰۰ میلی‌گرم موننسن ۱۰ درصد، ۴۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان، ۷۴۰۰۰ میلی‌گرم کلسیم، ۱۵۶۰۰ میلی‌گرم سدیم، ۱۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۸ میلی‌گرم کبالت، ۶ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۱۵۰ میلی‌گرم مس و ۳۰ میلی‌گرم ید.

¹ Contains 100,000 IU of vitamin A, 10,000 IU of vitamin D₃, 8,000 mg vitamin E, 8,000 mg of 10% monensin, 400 mg antioxidant, 74,000 mg calcium, 15,600 mg sodium, 1,000 mg manganese, 8 mg cobalt, 6 mg selenium, 2,000 mg zinc, 1,000 mg iron, 150 mg copper, and 30 mg iodine.

ساعت در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. همچنین برای محاسبه قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی، نمونه‌های فیلترشده و خشک‌شده، در محلول شوینده خنثی شست‌وشو و براساس معادله‌های مربوطه، قابلیت هضم آن‌ها تعیین شدند (Van Soest et al., 1991). برای تعیین قابلیت هضم مواد مغذی، از شیشه‌های آزمون تولید گاز به‌صورت جداگانه استفاده شد.

برای سنجش نیتروژن آمونیاکی، پنج میلی‌لیتر از محیط کشت فیلترشده با پنج میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک ۰/۲ نرمال مخلوط و در دمای ۱۸- درجه سلسیوس تا زمان آنالیز با دستگاه کج‌لدال نگهداری شد (Komolong et al., 2001).

غلظت کل اسیدهای چرب فرار با استفاده از دستگاه تقطیر مارخام اندازه‌گیری گردید (Barnett & Reid, 1957). برای تعیین حجم گاز متان، در پایان ۲۴ ساعت انکوباسیون، چهار میلی‌لیتر سود ۱۰ مولار به فلاسک‌ها تزریق گردید تا دی‌اکسیدکربن جذب شده و حجم گاز باقی‌مانده به‌عنوان متان در نظر گرفته شود (Fievez et al., 2005).

برآورد پارامترهای میکروبی

ضریب تفکیک‌پذیری (Partitioning Factor: PF) از معادله ۱ (Vercoe et al., 2010; Makkar, 2010) و توده میکروبی تولیدشده (Microbial Mass Yield: MMY) از معادله ۲ (Makkar, 2010) محاسبه شدند.

$$\text{PF} = [c - (a - b)] / \text{IVGP} \quad \text{معادله (۱)}$$

$$\text{MMY} = [c - (a - b)] - (\text{IVGP} \times 2.2) \quad \text{معادله (۲)}$$

که در آن‌ها، a: وزن ماده خشک هضم‌نشده، b: وزن خاکستر نمونه هضم‌نشده، c: وزن ماده آلی اولیه (قبل از انکوباسیون) و IVGP: (*In vitro* Gas Production) حجم گاز خالص تولیدی در زمان ۹۶ ساعت انکوباسیون می‌باشد.

راندمان سنتز میکروبی (%) از تقسیم MMY بر ماده آلی هضم شده واقعی حاصل شد.

برای شمارش کل پروتوزوا، پنج میلی‌لیتر از مایع شکمبه با پنج میلی‌لیتر فرمالین ۵۰ درصد و یک یا دو قطره رنگ بریلینت گرین مخلوط و پس از ۲۴ ساعت با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری تعداد پروتوزوا شمارش شد (Dehority, 2003).

معادله‌ها و آنالیزهای آماری

داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. اثر سطوح مختلف اسانس زوفا بر همه متغیرهای پاسخ (به‌جز پارامترهای کینتیک تولید گاز) با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک‌طرفه

در هر دور (run)، مایع شکمبه تازه جمع‌آوری و مورد استفاده قرار گرفت. برای هر سطح تیماری در هر دور، چهار تکرار در نظر گرفته شد. بنابراین، هر مقدار نهایی، حاصل میانگین هشت مشاهده (۲ دور $\times$ ۴ تکرار) می‌باشد. همچنین برای هر دوره انکوباسیون، چهار بطری شاهد (Blank) حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت و فاقد ماده خوراکی و اسانس، به‌منظور تصحیح گاز تولیدی ناشی از فعالیت متابولیکی زمینه‌ای مایع شکمبه، انکوبه شدند. بطری‌ها پس از تزریق ۳۰ میلی‌لیتر از محیط کشت، با درپوش‌های لاستیکی و کپ‌های آلومینیومی ویژه مسدود شده و به مدت ۹۶ ساعت در حمام آب گرم با دمای ثابت ۳۹ درجه سلسیوس قرار داده شدند (Kazemi & Mokhtarpour, 2021). فشار و حجم گاز تولیدی در بازه‌های زمانی ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون، با استفاده از روش تئودورو و همکاران (Theodorou et al., 1994) اندازه‌گیری و ثبت گردید.

به‌طور مختصر، در بازه‌های زمانی مشخص انکوباسیون، فشار تولیدشده در داخل هر یک از بطری‌های شیشه‌ای با اتصال فشارسنج دیجیتالی از طریق سوزن‌های تزریق موجود در درپوش پلاستیکی، ثبت شد. سپس، هر بطری شیشه‌ای به یک سرنگ مدرج ۱۰۰ میلی‌لیتری (برند FORTUNA، ساخت آلمان) متصل گردید. پیستون سرنگ پیش از اتصال در موقعیت صفر تنظیم شده بود. پیستون سرنگ به آرامی کشیده شد تا تمام گاز تولیدشده از فلاسک به درون سرنگ انتقال یابد. در این مرحله، فشار داخل سیستم به فشار صفر رسید. در ادامه، حجم گاز مستقیماً از روی درجه‌بندی سرنگ خوانده و ثبت گردید. درپوش پلاستیکی هر یک از بطری‌ها از سرنگ جدا شده و بطری‌ها مجدداً برای ادامه انکوباسیون به داخل حمام آب گرم بازگردانده شدند (Theodorou et al., 1994). فشار گاز تولیدشده در داخل هر بطری با استفاده از یک سنسور (گیج) فشار دیجیتالی برند Autronics، مدل PSA-01-RC1/8، ساخت کره جنوبی (محدوده اندازه‌گیری: ۰-۱۰۰ کیلوپاسکال، دقت: $\pm 1\%$ از کل مقیاس) که از طریق سوزن تزریق متصل به درپوش بطری به سیستم متصل می‌شد، اندازه‌گیری و مقادیر فشار به‌صورت چشمی از روی نمایشگر دستگاه ثبت گردید.

سنجش‌های پس از انکوباسیون

پس از اتمام دوره انکوباسیون ۲۴ ساعته، pH محتوای هر بطری بلافاصله اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها از طریق پارچه پلی‌استری با قطر منافذ ۴۵ میکرون صاف گردید. بخش جامد باقی‌مانده برای تعیین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی به کروزه‌های از پیش توزین شده منتقل شد. برای محاسبه قابلیت هضم ماده آلی، نمونه‌ها به‌مدت چهار

مورد آزمون قرار گرفت. در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها ($P < 0.05$)، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گردید. تمامی آنالیزها به‌وسیله نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) و رویه PROC GLM انجام پذیرفت.

منحنی تولید گاز با استفاده از مدل رگرسیون غیرخطی ارسکو و مکدونالد (Ørskov & McDonald, 1979) به‌صورت معادله ۳ برازش شد.

$$Y = b(1 - e^{-ct}) \quad (3)$$

که در آن، Y : حجم گاز تولیدشده تجمعی در زمان t ; b : پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر) و c : ثابت نرخ تولید گاز (h^{-1}) می‌باشد. پارامترهای کینتیک تولید گاز (b و c) برای هر تیمار با استفاده از رویه PROC NLIN در نرم‌افزار SAS و براساس داده‌های حجم گاز تجمعی برآورد شدند. مقادیر برآوردشده این پارامترها سپس به‌عنوان داده‌های جدید، در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از تجزیه واریانس (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

برای بررسی الگوی پاسخ متغیرها به افزایش سطح اسانس زوفا، در صورت معنی‌دار بودن اثر تیمار، تحلیل رگرسیون چندجمله‌ای (Polynomial Contrast) برای تشخیص روندهای خطی، درجه دو، درجه سه و درجه چهار انجام شد. این تحلیل با استفاده از دستور CONTRAST در رویه PROC GLM اجرا گردید.

نتایج و بحث

تأثیر سطوح مختلف اسانس گیاه کامل زوفا بر پارامترهای تولید گاز و متان در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که افزودن اسانس زوفا به محیط کشت، تأثیر معنی‌داری بر کلیه پارامترهای تولید گاز و متان داشت ($P < 0.05$). تولید متان به‌طور خطی با افزایش سطح اسانس کاهش یافت، به‌طوری‌که در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر، حجم متان تولیدی به ۸/۵۰ میلی‌لیتر رسید که نسبت به شاهد (۱۲/۳۹ میلی‌لیتر) کاهشی معادل ۳۱/۴ درصد را نشان داد. احتمالاً این کاهش چشمگیر در تولید متان می‌تواند ناشی از اثرات ضد میکروبی ترکیبات فنلی موجود در اسانس زوفا بر جمعیت پروتوزوآها و آرکی‌های متان‌زا باشد. این فرضیه با مطالعات پیشین که حضور مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنلی را در این گیاه گزارش کرده‌اند، هم‌خوانی دارد (Hatipoğlu et al., 2013). اگرچه محتوای ترکیبات فنلی در اسانس مورد استفاده در این آزمایش به‌طور مستقیم اندازه‌گیری نشد، اما گزارش‌های معتبر قبلی حضور مقادیر قابل توجهی از این ترکیبات را در زوفا تأیید می‌کنند (Skrypnik et al., 2022). بنابراین، اثرات مشاهده‌شده احتمالی را می‌توان به این دسته از ترکیبات زیست‌فعال، که خواص ضد میکروبی و تعدیل‌کنندگی

تخمیر برای آن‌ها به‌خوبی شناخته شده است، نسبت داد. همسو با جهت کلی اثر اسانس‌های گیاهی بر کاهش متان، مطالعات نشان داده‌اند که افزودن اسانس‌های حاوی ترکیبات فنلی قوی [مانند آویشن و پونه (*Origanum vulgare*)] نیز منجر به مهار متانوژن‌ها شد (Benetel et al., 2022). اگرچه ترکیب دقیق اسانس زوفا در این مطالعه اندازه‌گیری نشد، اما گزارش‌های معتبر حاکی از وجود ترکیبات زیست‌فعال مؤثر در آن مانند پینوکامفون‌ها، ایزوپینوکامفون‌ها، لینالول، ۱،۸-سینئول، لیمون و β -پینین است (Mazzanti et al., 1998; Goncarius & Balmus, 2013). بنابراین، به‌طور کلی می‌توان پذیرفت که اسانس زوفا نیز از طریق سازوکارهای مشابه ضد میکروبی، قادر به کاهش جمعیت متانوژن‌ها است. علاوه‌بر این، افزودن پنج نوع اسانس گیاهی [میخک (*Syzygium aromaticum*)، اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*)، سیر (*Allium sativum*)، مرزنجوش (*Origanum majorana*) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)] به محیط کشت، به‌طور معنی‌داری تولید متان را کاهش داد (Patra & Yu, 2012). این پژوهشگران، کاهش تولید متان را ناشی از کاهش قابل توجه جمعیت آرکی‌های متان‌زا در اثر افزودن اسانس‌ها دانسته‌اند (Patra & Yu, 2012). براساس نتایج این مطالعه، تمامی اسانس‌ها، به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر (یک گرم در لیتر)، به‌صورت خطی و وابسته به دوز، سبب کاهش معنی‌دار در تعداد ژن rRNA آرکئها شدند. برای مثال، اسانس مرزنجوش در بالاترین غلظت، جمعیت آرکی‌ها را تا حدود ۲/۸ واحد لگاریتمی (از ۷/۳۱ به ۴/۵۰) کاهش داد. این کاهش مستقیم در جمعیت ریزجانداران مسئول تولید متان، به‌عنوان سازوکار اصلی کاهش انتشار متان گزارش شده است (Patra & Yu, 2012). پتانسیل تولید گاز (از ۵۹/۳۸ به ۴۷/۱۶ میلی‌لیتر) و تولید گاز تجمعی در تمام زمان‌های اندازه‌گیری (۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که می‌تواند نشان‌دهنده اثر مهارتی عمومی اسانس بر فعالیت میکروبی شکمبه باشد (Calsamiglia et al., 2007). علاوه‌بر فرضیه کاهش جمعیت باکتری‌های متان‌زا و سایر موارد توسط اغلب اسانس‌ها، فرضیه دیگری مطرح است که براساس آن، اسانس برخی گیاهان می‌تواند با ایجاد یک لایه آب‌گریز بر روی بخش‌های محلول خوراک، از تجزیه میکروبی آن‌ها در محیط کشت جلوگیری کرده و در نتیجه تولید متان و سایر گازها را کاهش دهد (Benetel et al., 2022). یکی از مهم‌ترین ترکیبات شناسایی‌شده در اسانس گیاه زوفا، مونوترپنی به‌نام سیس-پینوکامفون (cis-pinocamphone) است (Pandey et al., 2014). این ترکیب با سهم ۴۹/۷ تا ۵۷/۷ درصدی، به‌وضوح جزء اصلی اسانس در تمام بخش‌های گیاه (برگ، گل و ساقه) محسوب می‌شود. ترکیب عمده بعدی پینوکارون (pinocarvone) است که با درصد ۵/۵ تا ۲۴/۹، به‌ویژه در اسانس گل، با غلظت بیشتری وجود دارد (Pandey et al., 2014). علاوه‌بر این، خواص ضدباکتریایی و

رخ داد، اما ممکن است نشان‌دهنده پاسخ تطبیقی و بازتوزیع جمعیت‌های میکروبی باقی‌مانده باشد. در این شرایط، ریزجانداران مقاوم‌تر یا جمعیت‌هایی که از مهار رقابتی خود سود برده‌اند، ممکن است فعالیت متابولیکی خود را افزایش دهند که این امر می‌تواند منجر به افزایش نرخ تخمیر اولیه شود (Calsamiglia et al., 2007; Patra & Yu, 2012).

ضدقارچی اسانس زوفا را به ترکیباتی از جمله پینوکامفون (pinocamphone) و همچنین پینوکاروون نسبت داده‌اند که بر اهمیت این ترکیب کلیدی در این گیاه اشاره دارد (Pandey et al., 2014). نرخ تولید گاز در تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کاهش یافت، اما در تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر افزایش معنی‌داری نشان داد که ممکن است ناشی از سازگاری میکروبی یا تغییر در مسیرهای متابولیکی باشد (Khiaosa-Ard & Zebeli, 2013). این افزایش نرخ تولید گاز در بالاترین سطح اسانس، اگرچه هم‌زمان با کاهش حجم کل گاز و متان

جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف اسانس گیاه کامل زوفا بر فراسنجه‌های تولید گاز و متان

Table 2- The effect of different levels of hyssop (*Hyssopus officinalis*) essential oil on gas production kinetics and methane yield

سطح اسانس (میلی گرم/لیتر) Essential oil level (mg/L)	تولید گاز ۲۴ ساعته (میلی لیتر) Cumulative gas production at 24 hours (mL)	تولید گاز ۴۸ ساعته (میلی لیتر) Cumulative gas production at 48 hours (mL)	تولید گاز ۷۲ ساعته (میلی لیتر) Cumulative gas production at 72 hours (mL)	تولید گاز ۹۶ ساعته (میلی لیتر) Cumulative gas production at 96 hours (mL)	ثابت نرخ تولید گاز (درصد/ساعت) Fractional rate constant (%/h)	پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر) Gas production potential (mL)	حجم متان ^۱ (میلی لیتر) Methane volume ¹ (mL)
• (شاهد) 0 (Control)	48.95 ^a	57.14 ^a	61.09 ^a	61.71 ^a	0.097 ^b	59.38 ^a	12.39 ^a
50	45.90 ^{ab}	54.03 ^{ab}	58.58 ^{ab}	59.40 ^{ab}	0.100 ^b	56.54 ^{ab}	11.22 ^{ab}
100	44.35 ^b	51.45 ^b	56.07 ^b	57.37 ^b	0.098 ^b	54.34 ^b	10.62 ^{abc}
150	37.65 ^c	44.65 ^c	49.50 ^c	51.67 ^c	0.087 ^c	48.04 ^c	9.80 ^{bc}
200	38.92 ^c	44.52 ^c	48.22 ^c	49.45 ^c	0.111 ^a	47.16 ^c	8.50 ^c
SEM	1.02	1.21	1.19	1.11	0.0019	1.17	0.38
P-value							
خطی Linear	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.005	<0.0001	<0.0001
درجه دو Quadratic	0.25	0.62	0.59	0.26	<0.0001	0.96	0.82
درجه سه Cubic	0.02	0.05	0.05	0.22	<0.0001	0.11	0.57
درجه چهار Quartic	0.008	0.06	0.06	0.11	0.001	0.07	0.92
trend							

^۱تولید گاز متان پس از ۲۴ ساعت دوره انکوباسیون اندازه‌گیری شد.

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح پنج درصد می‌باشد ($P < 0.05$).

^۱Methane production was measured after a 24-hour incubation period.

Different letters in each column indicate significant differences between the means at the 5% level ($P < 0.05$).

غلظت اسیدهای چرب فرار کل تا سطح ۱۰۰ میلی گرم در لیتر افزایش یافت (از ۹۵/۵۷ به ۹۸/۸۷ میلی مول در لیتر)، اما در سطوح بالاتر کاهش معنی‌داری نشان داد که بیانگر اثر دوگانه اسانس زوفا بر متابولیسم میکروبی است (Patra, 2011). میزان pH محیط کشت به‌طور خطی با افزایش سطح اسانس کاهش یافت که می‌تواند ناشی از تغییر در الگوی تخمیر و تولید بیشتر اسیدهای چرب فرار باشد که با نتایج علابی و همکاران (Alabi et al., 2023) هم‌خوانی دارد. همچنین غلظت نیتروژن آمونیاکی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که احتمالاً می‌تواند مربوط به مهار فعالیت باکتری‌های پروتئولیتیک و اوره‌آز توسط ترکیبات فنولی موجود در اسانس باشد. مطابق با

تأثیر سطوح مختلف اسانس زوفا بر جمعیت پروتوزوآ و فراسنجه‌های تخمیری در جدول ۳ ارائه شده است. براساس نتایج، اسانس زوفا تأثیر معنی‌داری بر تمامی پارامترهای تخمیری داشت ($P < 0.05$). جمعیت پروتوزوآی کل به‌طور خطی با افزایش سطح اسانس کاهش یافت، به‌طوری‌که در سطح ۲۰۰ میلی گرم در لیتر به $2/87 \times 10^5$ سلول در هر میلی لیتر محیط کشت رسید که نسبت به شاهد ($4/27 \times 10^5$ سلول در میلی لیتر) کاهشی معادل ۳۲/۸ درصد را نشان داد. این نتیجه با یافته‌های بوداس و همکاران (Bodas et al., 2012) و نیز سلام و عبدالله (Sallam & Abdalla, 2011) مبنی بر اثرات ضدپروتوزوآیی برخی از اسانس‌های گیاهی هم‌خوانی دارد.

ترکیبات فنلی، گروه مهمی از متابولیت‌های ثانویه در گیاه زوفا هستند که تاکنون انواعی مختلفی از آن‌ها از جمله اسیدهای فنلی (مانند اسیدهای رزمارینیک، فرولیک، کافئیک، کلروژنیک و پی-کوماریک)، مشتقات فلاونول (از جمله روتین، کوئرسیتین و ایزو کوئرسیتین) و فلاون‌ها (مانند آپیزین و لوتئولین) در این گیاه شناسایی شده‌اند (Skrypnik et al., 2022).

یافته‌های این مطالعه، اسانس برخی گیاهان می‌تواند فعالیت‌های پروتئولیتیکی و اوره‌آزی را مهار کند (Selje et al., 2007; Dorantes-Iturbide et al., 2022; Saral et al., 2024). باکتری‌های اوره‌کافت (*Ureolytic bacteria*) و آنزیم اوره‌آز تولیدی آن‌ها، نقش کلیدی در تجزیه اوره به آمونیاک در اکوسیستم‌هایی مانند شکمبه دارند (Patra, 2015). بنابراین مهار آن‌ها می‌تواند منجر به کاهش غلظت آمونیاک شود (Patra, 2015).

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف اسانس گیاه کامل زوفا بر جمعیت کل پروتوزوآ و فراسنجه‌های تخمیری در شرایط برون تنی

Table 3- Effect of different levels of whole hyssop (*Hyssopus officinalis*) essential oil on total protozoa population and fermentation parameters under *in vitro* conditions

سطح اسانس (میلی‌گرم/لیتر) Essential oil level (mg/L)	pH	غلظت اسیدهای چرب فرار کل (میلی‌مول/لیتر) Total VFA concentration (mmol/L)	پروتوزوای کل ($\times 10^5$ سلول/میلی‌لیتر) Total protozoal population ($\times 10^5$ cells/mL)	غلظت نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Ammonia nitrogen concentration (mg/dL)
۰ (شاهد) 0 (Control)	6.78 ^a	95.57 ^{bc}	4.27 ^a	37.75 ^a
50	6.72 ^a	96.75 ^{ab}	3.97 ^b	36.75 ^{ab}
100	6.62 ^b	98.87 ^a	3.60 ^c	35.60 ^{bc}
150	6.48 ^c	93.50 ^c	3.15 ^d	34.32 ^c
200	6.30 ^d	89.25 ^d	2.87 ^d	32.40 ^d
SEM	0.04	0.80	0.12	0.45
P-value				
خطی Linear	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
درجه دو Quadratic	0.0007	<0.0001	0.93	0.10
درجه سه Cubic	0.79	0.94	0.28	0.61
درجه چهار Quartic trend	0.84	0.013	0.66	0.83

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح پنج درصد می‌باشد ($P < 0.05$).

همه پارامترهای تخمیری موجود در این جدول، پس از ۲۴ ساعت دوره انکوباسیون، اندازه‌گیری شدند.

Different letters in each column indicate significant differences between the means at the 5% level ($P < 0.05$).

All fermentation parameters presented in this table were measured following a 24-hour incubation.

منجر به بهبود تولید پروتئین میکروبی و راندمان سنتز پروتئین میکروبی و توده میکروبی شد (Mehdipour Golbotte et al., 2022; Brice et al., 2022). احتمالاً افزایش توده میکروبی و راندمان سنتز آن در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس زوفا را می‌توان ناشی از اثر تعدیل‌کننده وابسته به دوز دانست؛ به این معنا که این غلظت، تعادل میکروبی شکمبه را در جهتی مطلوب بازآرایی می‌کند. در این سطح، اسانس زوفا جمعیت پروتوزوآهای رقیب را کاهش داده و در نتیجه بخشی از منابع غذایی و نیتروژن که معمولاً توسط پروتوزوآها مصرف یا بازیافت می‌شود، در اختیار باکتری‌های مولد پروتئین میکروبی قرار می‌گیرد. هم‌زمان با کاهش هدررفت انرژی (کاهش متان) و کاهش نیتروژن قابل اتلاف (کاهش آمونیاک)، سهم بیشتری از انرژی و نیتروژن برای سنتز توده میکروبی قابل

تأثیر سطوح مختلف اسانس زوفا بر شاخص‌های تجزیه‌پذیری و فراسنجه‌های میکروبی در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اسانس زوفا تأثیر معنی‌داری روی برخی از شاخص‌های تجزیه‌پذیری و فراسنجه‌های میکروبی داشت ($P < 0.05$). هر دو شاخص توده میکروبی و راندمان سنتز آن، نسبت به شاهد، حدود ۱۹ درصد در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بهبود یافتند، اما در سطوح ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کاهش نشان دادند. این الگوی پاسخ درجه دو به‌وضوح نشان می‌دهد که سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، دوز بهینه اسانس زوفا برای حداکثر کارایی میکروبی بود. در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، راندمان سنتز توده میکروبی از ۲۵/۹۹ درصد به ۳۱/۰۵ درصد افزایش یافت که بهبود ۱۹/۵ درصدی را نشان می‌دهد. همسو با نتایج فعلی، افزودن اسانس‌های مختلف به محیط کشت

ضریب تفکیک پذیری در این مطالعه نشان دهنده بهبود هضم نبوده و در واقع، بازتابی از تغییر الگوی تخمیر و مهار برخی ریزجانداران است (Chouchen et al., 2018). از سوی دیگر، تجزیه پذیری NDF، ماده آلی و ماده خشک به طور خطی با افزایش سطح اسانس کاهش یافت ($P < 0.05$)، که احتمالاً ناشی از اثر بازدارندگی قوی ترکیبات زیست فعال اسانس (مانند ترپنوئیدها و فنل ها) بر جمعیت و فعالیت باکتری های تخصصی شکمبه است. این ترکیبات می توانند با مهار آنزیم های کلیدی هیدرولیتیک (مانند سلولاز و پروتئاز)، تخریب یکپارچگی غشاء سلولی باکتری های سلولولیتیک (مانند *Fibrobacter succinogenes*) و همچنین کاهش بیان ژن های مرتبط با تجزیه فیبر (CAZymes)، به طور مستقیم کارایی هضم دیواره سلولی گیاهی را کاهش دهند. در سطح ۲۰۰ میلی گرم در لیتر نیز تجزیه پذیری NDF نسبت به شاهد ۶/۸ درصد کاهش یافت که نشان دهنده حساسیت بالای جمعیت های میکروبی فیبرولیتیک به دوزهای افزایشی اسانس است.

استفاده می شود. علاوه بر این، اسانس زوفا ممکن است که از طریق تغییر الگوی تخمیر و افزایش تولید پیش سازهایی مانند پروپیونات، شرایط را برای کارآمدتر کردن سنتز توده میکروبی در محیط کشت، فراهم کرده باشد. مجموعه این فرآیندها باعث می شود که اسانس زوفا در این غلظت، به عنوان یک تعدیل کننده مؤثر تخمیر عمل کند. ضریب تفکیک پذیری نیز در سطح ۱۰۰ میلی گرم اسانس زوفا به حداکثر مقدار خود (۳/۱۹) میلی گرم ماده آلی حقیقی هضم شده/میلی لیتر گاز تولید شده) رسید که نشان دهنده بهبود کارایی تبدیل سوبسترا به زیست توده میکروبی است (Blümmel et al., 1997). همسو با نتایج مطالعه حاضر، افزودن اسانس اکالیپتوس به محیط کشت نیز موجب افزایش ضریب تفکیک پذیری شده است (Chouchen et al., 2018). پژوهشگران این افزایش را ناشی از کاهش نامتناسب تولید گاز نسبت به کاهش هضم ماده آلی تفسیر کرده اند. از آنجا که ضریب تفکیک پذیری از نسبت ماده آلی تجزیه شده به حجم گاز تولیدی محاسبه می شود، کاهش شدیدتر تولید گاز در قیاس با کاهش هضم ماده آلی به طور مستقیم موجب افزایش این شاخص می شود (Chouchen et al., 2018). بنابراین، افزایش

جدول ۴- تأثیر سطوح مختلف گیاه کامل زوفا بر شاخص های تجزیه پذیری و فراسنجه های میکروبی شکمبه

Table 4- The effect of different levels of whole hyssop plant (*Hyssopus officinalis* L.) on digestibility parameters and ruminal microbial parameters

سطح اسانس (میلی گرم/لیتر) Essential oil level (mg/L)	تجزیه پذیری ماده خشک (درصد) Dry matter degradability (%)	تجزیه پذیری ماده آلی (درصد) Organic matter degradability (%)	تجزیه پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) Neutral detergent fiber degradability (%)	راندمان سنتز توده میکروبی (درصد) Microbial mass synthesis efficiency (%)	توده میکروبی تولیدی (میلی گرم) Microbial biomass yield (mg)	ضریب تفکیک پذیری (میلی گرم ماده آلی حقیقی هضم شده/میلی لیتر گاز تولید شده) Partitioning factor (mg of truly degraded organic matter/mL of gas produced)
۰ (شاهد) 0 (Control)	65.25 ^a	74.90 ^a	47.07 ^a	25.99 ^b	47.68 ^b	2.97 ^b
50	64.42 ^a	73.82 ^{ab}	46.22 ^{ab}	28.29 ^{ab}	51.56 ^{ab}	3.07 ^{ab}
100	63.92 ^{ab}	73.15 ^{bc}	45.69 ^{ab}	31.05 ^a	56.82 ^a	3.19 ^a
150	62.47 ^{bc}	71.99 ^c	44.74 ^b	29.82 ^{ab}	48.34 ^{ab}	3.14 ^{ab}
200	61.10 ^c	70.08 ^d	43.01 ^c	29.50 ^{ab}	45.55 ^b	3.12 ^{ab}
SEM	0.38	0.40	0.35	0.59	1.19	0.026
P-value						
خطی Linear	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.03	0.24	0.03
درجه دو Quadratic	0.23	0.08	0.14	0.04	0.002	0.05
درجه سه Cubic	0.86	0.26	0.37	0.90	0.49	0.95
درجه چهار Quartic trend	0.54	0.81	0.91	0.33	0.05	0.32

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین ها در سطح پنج درصد می باشد ($P < 0.05$).

پارامترهای مربوط به تجزیه پذیری مواد مغذی، پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، اندازه گیری شدند و مابقی پارامترها بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون محاسبه شدند.

Different letters in each column indicate significant differences between the means at the 5% level ($P < 0.05$).

The parameters related to nutrient degradability were measured after a 24-hour incubation, whereas the remaining parameters were determined after 96 hours of incubation.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور خلاصه، این مطالعه نشان داد که در شرایط برون-تنی، سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس زوفا با ایجاد توازن میان کاهش ۱۴/۳ درصدی متان، افزایش ۱۹/۵ درصدی راندمان سنتز میکروبی و حفظ قابلیت هضم، به‌عنوان دوز بهینه عمل می‌کند. این الگوی پاسخ، احتمالاً از تعدیل انتخابی جمعیت میکروبی شکمبه (کاهش پروتوزوآها و متانوژن‌ها) نشأت می‌گیرد. با در نظر

گرفتن محدودیت ذاتی شرایط برون‌تنی (نبود جریان عبور مواد و تطبیق میکروبی)، تأیید این یافته‌ها در آزمایش‌های درون‌تنی ضروری است. مطالعه آینده باید بر تعیین دوز مؤثر در جیره کامل و ارزیابی پاسخ‌های عملکردی دام به این افزودنی متمرکز شود. در نهایت، برای بهره‌برداری عملی، پایداری اسانس در محیط شکمبه چالشی کلیدی است که راهکارهایی مانند ریزپوشانی می‌تواند برای رفع آن، مورد بررسی قرار گیرد.

References

- Alabi, J. O., Okedoyin, D. O., Anotaenwere, C. C., Wuaku, M., Gray, D., Adelusi, O. O., Ike, K. A., Olagunju, L. K., Dele, P. A., & Anele, U. Y. (2023). Essential oil blends with or without fumaric acid influenced *in vitro* rumen fermentation, greenhouse gas emission, and volatile fatty acids production of a total mixed ration. *Ruminants*, 3(4), 373-384. <https://doi.org/10.3390/ruminants3040031>
- Barnett, A. J. G., & Reid, R. (1957). Studies on the production of volatile fatty acids from grass in artificial rumen. 1. Volatile fatty acids production from fresh grasses. *The Journal of Agricultural Science*, 48(3), 315-321. <https://doi.org/10.1017/S0021859600031671>
- Benetel, G., Silva, T. D. S., Fagundes, G. M., Welter, K. C., Melo, F. A., Lobo, A. A., Muir, J. P., & Bueno, I. C. S. (2022). Essential oils as *in vitro* ruminal fermentation manipulators to mitigate methane emission by beef cattle grazing tropical grasses. *Molecules*, 27(7), 2227. <https://doi.org/10.3390/molecules27072227>
- Blümmel, M., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1997). *In vitro* gas production: A technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77(1-5), 24-34. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.1997.tb00734.x>
- Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F. J., & López, S. (2012). Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*, 176(1-4), 78-93. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.010>
- Brice, R. M., Dele, P. A., Ike, K. A., Shaw, Y. A., Olagunju, L. K., Orimaye, O. E., Subedi, K., & Anele, U. Y. (2022). Effects of essential oil blends on *in vitro* apparent and truly degradable dry matter, efficiency of microbial production, total short-chain fatty acids and greenhouse gas emissions of two dairy cow diets. *Animals*, 12(17), 2185. <https://doi.org/10.3390/ani12172185>
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L., & Ferret, A. (2007). Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2580-2595. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-644>
- Chouchen, R., Attia, K., Darej, C., & Moujahed, N. (2018). Potential of eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) essential oil to modify *in vitro* rumen fermentation in sheep. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1), 1220-1225. <https://doi.org/10.1080/09712119.2018.1486318>
- Dehority, B. A. (2003). Rumen Microbiology. British Library Cataloguing in Publication Data, 372 p.
- Dorantes-Iturbide, G., Orzuna-Orzuna, J. F., Lara-Bueno, A., Mendoza-Martínez, G. D., Miranda-Romero, L. A., & Lee-Rangel, H. A. (2022). Essential oils as a dietary additive for small ruminants: A meta-analysis on performance, rumen parameters, serum metabolites, and product quality. *Veterinary Sciences*, 9(9), 475. <https://doi.org/10.3390/vetsci9090475>
- Fathiazad, F., Mazandarani, M., & Hamedeyazdan, S. (2011). Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Hyssopus officinalis* L. from Iran. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 1(2), 63-67. <https://doi.org/10.5681/apb.2011.009>
- Fievez, V., Babaymo, O. J., & Demeyer, D. (2005). Estimation of direct and indirect gas production in syringes: A tool to estimate short chain fatty acid production that requires minimal laboratory facilities. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124(part 1), 197-210. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.05.001>
- Goncearius, M., & Balmus, Z. (2013). Diversity of the essential oil content and chemical composition of *Hyssopus officinalis* L. genotypes. *Muzeul Olteniei Craiova. Studii și comunicări. Științele Naturii*, 29(1), 171-178.
- Hatipoğlu, G., Sökmen, M., Bektaş, E., Daferera, D., Sökmen, A., Demir, E., & Şahin, H. (2013). Automated and standard extraction of antioxidant phenolic compounds of *Hyssopus officinalis* L. ssp. *angustifolius*. *Industrial Crops and Products*, 43: 427-433. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.028>
- Kazemi, M. (2019). Effects of hexane extract of medicinal plant *Artemisia aucheri* Boiss. on fermentation characteristics, gas production parameters, and degradability under *in vitro* conditions. *Iranian Journal of*

- Medicinal and Aromatic Plants*, 35(6), 902-913. (In Persian). <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2019.125475.2524>
16. Kazemi, M., & Eskandari Torbaghan, Y. (2019). The effect of oil extracted from *Borago officinalis* L. whole plant at flowering stage on some ruminal fermentation parameters of sheep. *Veterinary Clinical Pathology*, 13(3), 305-320. (In Persian). <https://doi.org/10.30495/jvcp.2019.669193>
 17. Kazemi, M., & Mokhtarpour, A. (2020). The effect of *Nepeta glomerulosa* Boiss. essential oil on *in vitro* gas production and ruminal fermentation. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 8(2), 1-8. <https://doi.org/10.22103/jlst.2020.16510.1328>
 18. Kazemi, M., & Mokhtarpour, A. (2021). *In vitro* and *in vivo* evaluation of some tree leaves as forage sources in the diet of Baluchi male lambs. *Small Ruminant Research*, 201, 106416. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106416>
 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. Kizil, S., Hasimi, N., Tolan, V., Kilinc, E., & Karatas, H. (2010). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) essential oil. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(3), 99-103. <https://doi.org/10.15835/nbha3834788>
 21. Komolong, M. K., Barber, D. G., & McNeill, D. M. (2001). Post-ruminal protein supply and N retention of weaner sheep fed on a basal diet of lucerne hay (*Medicago sativa*) with increasing levels of quebracho tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 92(1-2), 59-72. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00246-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00246-2)
 22. Ma, X., Ma, X., Ma, Z., Wang, J., Sun, Z., Yu, W., Li, F., & Ding, J. (2014). Effect of *Hyssopus officinalis* L. on inhibiting airway inflammation and immune regulation in a chronic asthmatic mouse model. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 8(5), 1371-1374. <https://doi.org/10.3892/etm.2014.1978>
 23. Makkar, H. P. S. (2010). *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants. Springer, New York, pp. 106-144. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3297-3_7
 24. Mazzanti, G., Battinelli, L., & Salvatore, G. (1998). Antimicrobial properties of the linalol-rich essential oil of *Hyssopus officinalis* L. var *decumbens* (Lamiaceae). *Flavour and Fragrance Journal*, 13(5), 289-294. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1026\(199809\)13:5<289::AID-FFJ750>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199809)13:5<289::AID-FFJ750>3.0.CO;2-A)
 25. Mehdi-pour Golbotte, M., Malecky, M., Aliarabi, H., & Zamani, P. (2022). Effects of different levels of the savory essential oil on *in vitro* ruminal fermentation parameters, microbial protein synthesis and protozoal populations in two diets supplemented with fish and soybean oil. *Journal of Ruminant Research*, 10(3), 87-110. (In Persian). <https://doi.org/10.22069/ejrr.2022.20101.1845>
 26. Menke, K.H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28: 7-55.
 27. NRC. (2007). Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids, and new world camelids. 6th Edition. Washington, DC: National Academy Press. 384p.
 28. Ørskov, E.R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92(2), 499-503. <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>
 29. Pandey, V., Verma, R.S., Chauhan, A., & Tiwari, R. (2014). Compositional variation in the leaf, flower and stem essential oils of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) from Western Himalaya. *Journal of Herbal Medicine*, 4(2), 89-95. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2013.12.001>
 30. Patra, A.K. (2007). Nutritional management in organic livestock farming for improved ruminant health and production: An overview. *Livestock Research for Rural Development*, 19(3), 41.
 31. Patra, A.K. (2011). Effects of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6: 416-428. <https://doi.org/10.3923/ajava.2011.416.428>
 32. Patra, A.K. (2015). Urea/ammonia metabolism in the rumen and toxicity in ruminants. In *Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution* (pp. 329-341). Springer, New Delhi. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2401-3_22
 33. 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>
 34. Pepeta, B.N., Hassen, A., & Tesfamariam, E.H. (2024). Quantifying the impact of different dietary rumen modulating strategies on enteric methane emission and productivity in ruminant livestock: A meta-analysis. *Animals*, 14(5), 763. <https://doi.org/10.3390/ani14050763>
 35. Sallam, S.M.A., & Abdalla, A.L. (2011). Antimethanogenic and antiprotozoal effect of some essential oils *in vitro*. *Egyptian Journal of Animal Production*, 48(2), 203-215. <https://doi.org/10.21608/ejap.2011.94074>
 36. Saral, Ö., Baltaş, N. & Karaköse, M. (2024). An inhibition potential on some metabolic enzymes (urease and

- xanthine oxidase), essential oil contents and antioxidant effect of *Sideritis lanata* L. *Chemical Papers*, 78(15), 8211-8217. <https://doi.org/10.1007/s11696-024-03661-6>
37. Selje, N., Hoffmann, E.M., Muetzel, S., Ningrat, R., Wallace, R.J., & Becker, K. (2007). Results of a screening programme to identify plants or plant extracts that inhibit ruminal protein degradation. *British Journal of Nutrition*, 98(1), 45-53. <https://doi.org/10.1017/S0007114507472506>
38. Skrypnik, L., Feduraev, P., Styran, T., Golovin, A., Katserov, D., Nebreeva, S., & Maslennikov, P. (2022). Biomass, phenolic compounds, essential oil content, and antioxidant properties of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) grown in hydroponics as affected by treatment type and selenium concentration. *Horticulturae*, 8(11), 1037. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8111037>
39. Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B., & France, J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feed. *Animal Feed Science and Technology*, 48(3-4), 185-197. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)
40. Van Soest, P.V., Robertson, J.B., & Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
41. Vercoe, E.P., Makkar, H.P.S., & Schlink, A.C. (2010). *In vitro* screening of plant resources for extra nutritional attributes in ruminants: Nuclear and related methodologies. In: *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. Springer, New York, pp. 106-144. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-3297-3>
42. Wencelová, M., Váradyová, Z., Mihalíková, K., Čobanová, K., Plachá, I., Pristaš, P., Jalč, D., & Kišidayová, S. (2015). Rumen fermentation pattern, lipid metabolism and the microbial community of sheep fed a high-concentrate diet supplemented with a mix of medicinal plants. *Small Ruminant Research*, 125: 64-72. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.01.028>
43. Yousefi, M., Hoseini, S.M., Abtahi, B., Vatnikov, Y.A., Kulikov, E.V., & Rodionova, N.Y. (2022). Effects of dietary methanolic extract of hyssop, *Hyssopus officinalis*, on growth performance, hepatic antioxidant, humoral and intestinal immunity, and intestinal bacteria of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Frontiers in Marine Science*, 9: 1026651. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1026651>
44. Zheng, S., Li, Y., Chen, C., Wang, N., & Yang, F. (2025). Solutions to the dilemma of antibiotics use in livestock and poultry farming: Regulation policy and alternatives. *Toxics*, 13(5), 348. <https://doi.org/10.3390/toxics13050348>

Effects of Duration and Different Processing Methods with Urea and Molasses on *in vitro* Rumen Fermentation of Diets Containing Sugarcane Bagasse

Negin Menati¹, Farshid Fatahnia¹, Sayed Reza Mousavi¹, Mohammad Shamsollahi^{ID}*, Parisa Darat^{ID}¹

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

*Corresponding Author's Email: m.shamsollahi@ilam.ac.ir

How to cite this article:

Received: 10-06-2025

Revised: 09-12-2025

Accepted: 10-12-2025

Available Online: 04-04-2026

Menati, N., Fatahnia, F., Mousavi, S. R., Shamsollahi, M., & Darat, P. (2026). Effect of duration and different processing methods with urea and molasses on *in vitro* rumen fermentation of diets containing sugarcane bagasse. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(1), 43-56. (in Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94011.1250>

Introduction: Ruminants, among domesticated herbivorous animals, play a major role in providing food resources and producing essential nutrients required by humans, thereby contributing to human health. Nutrition is a key factor influencing livestock performance and production efficiency, accounting for almost two-thirds of the total costs of raising domestic animals in various livestock farming units. Currently, due to the increase in livestock population and the decrease in precipitation, we are facing a decrease in the production of common food resources, and the need to provide cheap fodder resources highlights the importance of fodder resources used in livestock nutrition. Sugarcane is a perennial plant that grows in tropical and subtropical regions, including Khuzestan Province. Its by-products, such as bagasse, can be used in animal feed. Due to the presence of lignin, cellulose, and hemicellulose, as well as the strong bonds found in woody materials like bagasse, its digestion in the digestive tract is less affected. A study is needed to investigate the processing of bagasse with urea and molasses and their interaction between the nutritional value of bagasse. One of the factors that may affect the chemical processing of bagasse is the duration of processing, which has not yet been investigated in this field. Therefore, this study was conducted to evaluate the effects of diets containing sugarcane bagasse (SB) treated with urea and molasses for 30 or 45 days on ruminal fermentation parameters and the *in vitro* degradability of dry matter (DM) and organic matter (OM).

Materials and Methods: Sugarcane bagasse (SB) samples were obtained from a sugarcane factory located in Khuzestan Province. SB samples were oven-dried, ground in a mill, and passed through a 1 mm sieve. The SB samples were mixed with 5% urea and 10% molasses solution and stored under anaerobic conditions for 30 or 45 d. Experimental diets included 1) diet containing untreated SB and stored for 30 d; 2) diet containing SB treated with 10% molasses solution and stored for 30 d; 3) diet containing SB treated with 5% urea solution and stored for 30 d; 4) diet containing SB treated with 10% molasses and 5% urea solution and stored for 30 d; 5) diet containing untreated SB and stored for 45 d; 6) diet containing SB treated with 10% molasses and stored for 45 d; 7) diet containing SB treated with 5% urea solution and stored for 45 d and 8) diet containing SB treated with 10% molasses and 5% urea solution and stored for 45 d. After 30 or 45 d, the samples were removed from the nylon bags, air-dried for 5 d, and stored until further analysis. The



© Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

 <https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94011.1250>

experimental diets were formulated using NRC (2007) software according to the nutrient requirements of ewes. Then, the chemical compositions, gas production at 24 and 96 h, DM and OM degradability, and methane gas production of the experimental diets were measured. The experiment was conducted under a 4×2 factorial randomized complete block design using the General Linear Model (GLM) procedure of SAS.

Results and Discussion: The lowest DM and NDF contents and the highest crude protein content were observed in the diet containing bagasse treated with 10% molasses and 5% urea and ensiled for 30 or 45 d ($P<0.05$). Among the processing methods, treatment with 10% molasses and 5% urea solution followed by 30 or 45 d of ensiling had the greatest effect on increasing cumulative gas production at 24 and 96 h, gas production potential (A), and DM and OM degradability ($P<0.05$). The lowest cumulative gas production at 96 h was observed in the untreated bagasse ensiled for 30 d ($P<0.05$). The shortest lag time was found in diet containing bagasse treated with 5% urea solution and ensiled for 30 or 45 d, as well as those treated with 10% molasses and 5% urea solution and ensiled for 30 or 45 d, whereas the longest lag time belonged to the control diets ($P<0.05$). Methane production, partitioning factor, and efficiency of microbial mass production were not affected by experimental diets ($P>0.05$). Urea and molasses solutions, by breaking down the structure of feed fibers, reduce the lignin content of the feed and enhance the access of rumen microorganisms to the lower layers of lignin, cellulose, and hemicellulose in the feed. As a result, they increase fermentation and gas production, as well as improve the degradability of DM or OM.

Conclusion: Overall, chemical treatments, compared to the control treatments, effectively altered the chemical composition of bagasse, increased the gas production rate, and enhanced DM and OM degradability. Among the different processing methods, treating bagasse with 10% molasses and 5% urea solution followed by 45 d of ensiling resulted in the highest gas production rate (A), and DM and OM degradability. Therefore, the combination of 10% molasses and 5% urea solution is considered a more suitable processing method for bagasse.

Keywords: Alkali processing, Dry and organic matter, Gas production, Ruminal disappearance, Sugarcane byproduct

اثر مدت زمان و روش‌های مختلف فرآوری با اوره و ملاس بر تخمیر شکمبه‌ای جیره‌های حاوی باگاس نیشکر در شرایط برون‌تنی

نگین متی^۱، فرشید فتاح‌نیا^۱، سید رضا موسوی^۱، محمد شمس‌الهی^{۱*}، پریرسا دارات^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۹

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر مدت زمان و روش‌های مختلف فرآوری بر تخمیر شکمبه‌ای جیره‌های حاوی باگاس نیشکر در شرایط برون‌تنی بر فرآیندهای تخمیر شکمبه‌ای و ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی در شرایط برون‌تنی انجام شد. نمونه‌های باگاس با محلول ملاس ۱۰ درصد و اوره ۵ درصد مخلوط و برای مدت ۳۰ یا ۴۵ روز در شرایط بی‌هوازی نگهداری شدند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره حاوی باگاس فرآوری‌نشده و سیلوشده به مدت ۳۰ روز، ۲- جیره حاوی باگاس فرآوری‌نشده و سیلوشده به مدت ۴۵ روز، ۳- جیره حاوی باگاس فرآوری‌شده با ملاس ۱۰ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ روز، ۴- جیره حاوی باگاس فرآوری‌شده با ملاس ۱۰ درصد و سیلوشده به مدت ۴۵ روز، ۵- جیره حاوی باگاس فرآوری‌شده با محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ روز، ۶- جیره حاوی باگاس فرآوری‌شده با محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۴۵ روز، ۷- جیره حاوی باگاس فرآوری‌شده با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ روز و ۸- جیره حاوی باگاس فرآوری‌شده با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۴۵ روز بودند. نتایج نشان داد که کمترین درصد ماده خشک و الیاف نامحلول شوینده خنثی (NDF (Neutral detergent fiber)) و بیشترین درصد پروتئین خام مربوط به جیره دارای باگاس فرآوری‌شده با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز بود. در بین روش‌های فرآوری، روش فرآوری با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز بیشترین تأثیر را بر افزایش تولید گاز تجمعی ۲۴ و ۹۶ ساعت، پتانسیل تولید گاز (A) و ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی داشت. کمترین نرخ تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت مربوط به جیره حاوی باگاس فرآوری‌نشده و سیلوشده به مدت ۳۰ روز بود. کمترین زمان تأخیر مربوط به جیره حاوی باگاس فرآوری‌شده با محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز و جیره حاوی ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز بود و در مقابل، بیشترین زمان تأخیر مربوط به جیره‌های شاهد بود. به‌طور کلی، فرآوری‌های شیمیایی در مقایسه با تیمارهای شاهد در تغییر ترکیب شیمیایی باگاس، افزایش نرخ تولید گاز و افزایش ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی تأثیرگذار بودند؛ و در بین روش‌های مختلف فرآوری، فرآوری باگاس با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۴۵ روز، بیشترین تأثیر را بر افزایش نرخ تولید گاز، پتانسیل تولید گاز و ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی باگاس داشت. بنابراین به نظر می‌رسد که ترکیب ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد برای باگاس، روش فرآوری مناسب‌تری باشد.

واژه‌های کلیدی: تولید گاز، فرآورده فرعی نیشکر، فرآوری قلیایی، قابلیت هضم، ماده خشک و آلی

مقدمه

با افزایش جمعیت جهان (افزایش ۶۵ درصدی تا سال ۲۰۵۰)، تقاضای جهانی غذا برای تغذیه نسل آینده به طور مداوم رشد خواهد کرد (Ahmadi et al., 2016). در میان گونه‌های اهلی گیاه‌خوار، نشخوارکنندگان جایگاه مهمی در تأمین منابع خوراک و تولید مواد غذایی مورد نیاز انسان دارند و به همین دلیل نقش تعیین‌کننده در حفظ سلامت بشر ایفا می‌کنند. افزون بر این، تغذیه به عنوان یکی از مؤثرترین عوامل بر عملکرد و بهره‌وری دام، جایگاه محوری در مدیریت پرورش دام دارد، به طوری که تقریباً دوسوم از کل هزینه‌های پرورش دام‌های اهلی در واحدهای مختلف پرورش دام را به خود اختصاص می‌دهد (Church, 2009). در حال حاضر با توجه به افزایش جمعیت دام و کاهش نزولات آسمانی، با کاهش تولید منابع خوراکی رایج مواجه هستیم و نیاز به تأمین منابع علوفه‌ای ارزان قیمت، اهمیت منابع علوفه‌ای مورد استفاده در تغذیه دام را برجسته‌تر می‌کند (Amirkhani et al., 2007). به دلیل توسعه بیابان‌ها و تخریب فزاینده مراتع، بخش قابل توجهی از منابع خوراک دام‌های نشخوارکننده بر روی پس‌چر مزارع کشاورزی، کاه غلات و سایر فرآورده‌های فرعی صنایع کشاورزی متمرکز شده است؛ اما این نوع خوراک‌ها اغلب خشبی بوده و از نظر پروتئین و سایر مواد مغذی ضروری فقیر هستند (Schiere et al., 1989).

نیشکر گیاهی چندساله با نام علمی *Saccharum officinarum* است که در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری مانند استان خوزستان رشد می‌کند و می‌توان از ضایعات آن در تغذیه دام استفاده کرد. در کارخانه‌های تولید شکر، پس از خرد کردن و عصاره‌گیری از نیشکر، مقدار زیادی فرآورده جامد الیافی به نام باگاس نیشکر تولید می‌شود (Thite & Nerurkar, 2019). باگاس حاوی الیاف خام (۵۰۰ گرم در کیلوگرم) و لیگنین زیاد (۲۰۰ گرم در کیلوگرم) و نیتروژن (۳/۶ گرم در کیلوگرم) و گوارش‌پذیری کم می‌باشد (Vitti et al., 1999). استفاده از باگاس در جیره دام به منظور جایگزینی آن با دیگر علوفه‌های خشبی به دلیل فراوانی تولید و قیمت کم، به‌ویژه در زمان کمبود علوفه مورد توجه می‌باشد (Ahmadi et al., 2016). در همین راستا، محققان گزارش کردند که باگاس نیشکر می‌تواند به عنوان یک منبع انحصاری علوفه در تغذیه گاوهای شیری استفاده شود (de Almeida et al., 2018). اما به دلیل محتوای لیگنین زیاد در دیواره سلولی و همچنین باندهای محکم موجود در باگاس، هضم آن در دستگاه گوارش کمتر تحت تأثیر قرار می‌گیرد و گوارش‌پذیری کمی دارد و از طرفی، باگاس نیشکر از لحاظ انرژی، پروتئین و سایر مواد مغذی، فقیر بوده و به منظور بهبود ارزش غذایی و استفاده در تغذیه دام، باید تحت شرایط ویژه‌ای، فرآوری شود (Alemzadeh et al., 2018).

2001). فرآوری مواد خشبی شامل استفاده از مجموعه روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی است. امروزه از فرآوری با مواد شیمیایی مختلف مانند کلسیم هیدروکسید، سدیم هیدروکسید، آمونیاک، اوره و ملاس به منظور تجزیه یا سست کردن اجزای دیواره سلولی و بهبود گوارش‌پذیری مواد علوفه‌ای استفاده می‌شود (Rezaii et al., 2023). مطالعات مختلف نشان داده است که فرآوری مواد خشبی با محلول اوره دارای مزایای مفیدی بر ارزش تغذیه‌ای مانند تجزیه لیگنین و لذا بهبود گوارش‌پذیری دیواره سلولی و همچنین افزایش میزان پروتئین خام جهت استفاده در تغذیه دام می‌باشد (Khawar et al., 2024). پژوهش‌ها همچنین نشان می‌دهند که افزودن اوره به مواد خوراکی خشبی باعث افزایش استفاده مطلوب از کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم مانند ملاس نیز خواهد شد (Naeini et al., 2014). ملاس یکی از محصولات فرعی صنایع نیشکر و یک منبع انرژی با سرعت تخمیر زیاد، ارزان قیمت و یک حامل مناسب برای اوره می‌باشد و همچنین باعث بهبود خوش‌خوراکی جیره می‌شود. همزمانی استفاده از ملاس با یک منبع ارزان قیمت نیتروژن غیرپروتئینی مانند اوره، می‌تواند در بحث همزمانی استفاده از انرژی و پروتئین به منظور حداکثرسازی سنتز پروتئین میکروبی و در نتیجه افزایش عملکرد دام مفید باشد (Schiere et al., 1989). با توجه به مطالب بیان شده، به نظر می‌رسد که مطالعه‌ای به منظور بررسی فرآوری باگاس با اوره و ملاس و اثر متقابل این دو بر ارزش غذایی باگاس مورد نیاز باشد. از طرفی، یکی از عواملی که ممکن است فرآوری شیمیایی باگاس را تحت تأثیر قرار دهد، مدت زمان فرآوری آن است که در مورد باگاس تاکنون کار مشابهی در این مورد انجام نشده است. بنابراین در این مطالعه، تخمیر شکمبه‌ای جیره‌های حاوی باگاس فرآوری‌شده با محلول اوره و ملاس به مدت ۳۰ و ۴۵ روز بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های باگاس نیشکر از کارخانه نیشکر هفت تپه استان خوزستان تهیه شد و به وسیله آسیاب دارای الک یک میلی‌متری خرد گردید. برای فرآوری نمونه‌های باگاس، از محلول ملاس ۱۰ درصد یا محلول اوره پنج درصد استفاده شد. برای هر روش فرآوری از شش نمونه یک کیلوگرمی باگاس استفاده گردید و هر کیلوگرم باگاس با یک لیتر محلول، کاملاً مخلوط شد (Gunun et al., 2016). برای نمونه شاهد از شش نمونه یک کیلوگرمی باگاس استفاده گردید، به طوری که هر نمونه باگاس شاهد با یک لیتر آب، بدون ملاس یا اوره مخلوط شد. همه نمونه‌ها درون نایلون‌های دو لایه کاملاً فشرده و به طور کامل بسته شد تا هوا وارد آن نشود.

جدول ۱- مواد خوراکی تشکیل دهنده جیره پایه آزمایشی دارای باگاس فرآوری شده با روش های مختلف^۲ در زمان های متفاوت

Table 1- Feed ingredients of experimental diets containing bagasse processed by different methods² at different times

ماده خوراکی (درصد از ماده خشک) Feedstuff ingredient (% of DM)	زمان فرآوری ۳۰ روزه 30 days processing time				زمان فرآوری ۴۵ روزه 45 days processing time			
	روش ۱ Method 1	روش ۲ Method 2	روش ۳ Method 3	روش ۴ Method 4	روش ۱ Method 1	روش ۲ Method 2	روش ۳ Method 3	روش ۴ Method 4
باگاس (تفاله نیشکر) Bagasse (sugarcane bagasse)	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
علوفه خشک یونجه Alfalfa hay	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
کاه گندم Wheat straw	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
میوه بلوط Oak acorn	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0
پودر هسته خرما Date kernel powder	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
دانه ذرت Corn grain	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
دانه جو Barley grain	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
ملاسه Molasses	3.80	3.60	3.80	3.70	3.80	3.60	3.80	3.80
کنجاله سویا Soybean meal	3.00	3.00	3.00	5.00	3.00	3.00	3.00	5.00
پودر جوجه Chicken powder	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
اوره Urea	1.10	1.00	1.10	1.10	1.10	1.00	1.10	1.10
کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
پودر ماهی Fish meal	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
تفاله زیتون Olive pomace	8.00	8.00	8.20	8.00	8.00	8.00	8.00	8.20
سبوس گندم Wheat bran	3.20	3.40	3.40	3.60	3.20	3.40	3.40	3.60
سدیم بیکربنات Sodium bicarbonate	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
مکمل مواد معدنی و ویتامینه ^۱ Mineral and vitamin ¹ supplement	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
نمک Salt	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
ترکیب شیمیایی (درصد از ماده خشک) Chemical composition (% of DM)								
پروتئین خام Crude protein	9.44	9.41	12.8	12.6	9.21	9.30	12.2	12.0
چربی خام Crude fat	4.12	4.08	4.00	4.38	4.07	4.02	3.98	4.29
الیاف شوینده خنثی Neutral detergent fiber	49.3	48.8	48.4	48.1	49.1	48.9	48.2	48.3
کلسیم Calcium	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10
فسفر Phosphorus	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
کربوهیدرات های غیرالیافی Non-fibre carbohydrates	34.6	34.5	34.3	34.2	34.6	34.5	34.3	34.2

^۱ در هر کیلوگرم از مکمل مواد معدنی و ویتامین، ۵۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D₃، ۱۰۰ میلی گرم ویتامین E، ۱۹۶ گرم کلسیم، ۹۶ گرم فسفر، ۱۹ گرم منیزیم، ۴۶ گرم سدیم، ۲ گرم منگنز، ۳ گرم آهن، ۳ گرم مس، ۲ گرم روی، ۱۰۰ میلی گرم کبالت، ۱۰۰ میلی گرم ید، ۱ میلی گرم سلنیوم و ۴۰۰ میلی گرم آنتی اکسیدان بود.

^۲ روش ۱: باگاس فرآوری نشده، ۲: باگاس فرآوری شده با محلول ۱۰ درصد ملاس، ۳: باگاس فرآوری شده با محلول ۵ درصد اوره ۴: باگاس فرآوری شده با محلول ۱۰ درصد ملاس و ۵ درصد اوره.

¹ Each kilogram of mineral and vitamin supplement contains 500,000 IU vitamin A, 100,000 IU vitamin D₃, 100 mg of vitamin E, 196 g of calcium, 96 g of phosphorus, 19 g of magnesium, 46 g of sodium, 2 g of manganese, 3 g of iron, 3 g of copper, 3 g of zinc, 100 mg of cobalt, 100 mg of iodine, 1 mg of selenium, and 400 mg of antioxidants.

² Method 1: Unprocessed bagasse, 2: Bagasse processed with 10% molasses solution, 3: Bagasse processed with 5% urea solution, and 4: Bagasse processed with 10% molasses solution and 5% urea.

در ادامه آزمایش، از نمونه‌های باگاس فرآوری شده با ملاس یا محلول اوره و تعداد سه نمونه شاهد به مدت ۳۰ روز و بقیه برای مدت ۴۵ روز سیلو شدند. پس از پایان زمان ۳۰ یا ۴۵ روز، نمونه‌ها از داخل نایلون خارج گردید، سپس به مدت ۵ روز در معرض هوا، خشک و برای آنالیز شیمیایی ذخیره شدند. جیره‌های آزمایشی حاوی ۱۵ درصد باگاس نیشکر فرآوری شده و فرآوری نشده بودند و برای بره‌های پرواری (NRC, 2007) تهیه و آماده شدند (جدول ۱). جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره حاوی باگاس فرآوری نشده و سیلوشده به مدت ۳۰ روز، ۲- جیره حاوی باگاس فرآوری نشده و سیلوشده به مدت ۴۵ روز، ۳- جیره حاوی باگاس فرآوری شده با ملاس ۱۰ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ روز، ۴- جیره حاوی باگاس فرآوری شده با ملاس ۱۰ درصد و سیلوشده به مدت ۴۵ روز، ۵- جیره حاوی باگاس فرآوری شده به مدت ۳۰ روز، ۶- جیره حاوی باگاس فرآوری شده با محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ روز، ۷- جیره حاوی باگاس فرآوری شده با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ روز و ۸- جیره حاوی باگاس فرآوری شده با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۴۵ روز بودند.

درصد ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام نمونه‌های باگاس براساس روش‌های استاندارد (AOAC, 2007) و الیاف شوینده نامحلول خنثی نمونه‌های باگاس براساس روش ون سوست (Van Soest et al., 1991) اندازه‌گیری شد. ترکیب شیمیایی نمونه‌های باگاس در جدول ۲ آمده است.

برای تهیه نمونه مایع شکمبه به‌منظور انجام آزمایش تولید گاز ۲۴ یا ۹۶ ساعت، از دو رأس میش داشتی نژاد کردی که از جیره شامل ۵۰ درصد علوفه (۲۰ درصد یونجه و ۳۰ درصد کاه گندم) و ۵۰ درصد کنسانتره (۳۲/۵ درصد جو، ۱۰ درصد کنجاله سویا، ۷ درصد سیوس گندم و ۰/۵ درصد مکمل ویتامین و مواد معدنی) تغذیه شدند، استفاده گردید. نمونه‌های مایع شکمبه با استفاده از لوله مری، جمع‌آوری و سپس با هم مخلوط و درون فلاسک ریخته شدند و به آزمایشگاه انتقال یافتند. در آزمایشگاه، مایع شکمبه توسط چهار لایه پارچه از جنس کتان، صاف شده، سپس به داخل یک ارلن خلاء ریخته و با افزودن دی‌اکسید کربن شرایط بی‌هوازی ایجاد گردید. برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید گاز از روش‌های ماکار (Makkar, 2010)، منک (Menke et al., 1979) و بومل (Blummel et al., 1997) استفاده شد. برای آزمون تولید گاز ۲۴ ساعت، مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم و آزمون تولید گاز ۹۶ ساعت، مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم وزن خشک از هر کدام از جیره‌های آزمایشی به درون بطری‌های شیشه‌ای ۱۲۰ میلی‌لیتری مخصوص اندازه‌گیری تولید گاز ریخته شدند. سه بطری (تکرار) حاوی تیمار آزمایشی و سه بطری بدون نمونه خوراک

به‌عنوان بلانک در نظر گرفته شد. لازم به توضیح است که آزمون تولید گاز ۲۴ و ۹۶ ساعت، ۲ بار با فاصله یک هفته (Run) انجام شد، به‌گونه‌ای که در نهایت برای هر جیره آزمایشی در مجموع شش تکرار در نظر گرفته شد. برای تهیه بزاق مصنوعی از بافر سدیم بیکربنات، مکمل مواد معدنی پرمصرف، مکمل مواد معدنی کم‌مصرف، محلول رزازورین، محلول احیاکننده و آب مقطر استفاده گردید. ۴۰ میلی‌لیتر از محیط کشت (مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی) به داخل هر بطری حاوی نمونه خوراک و بطری‌های خالی (بلانک) ریخته شد. درب هر بطری توسط درپوش لاستیکی و فلزی و با استفاده از ابزار پرس درب ویال، محکم بسته شد و برای انکوباسیون به داخل انکوباتور با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. برای آزمون تولید گاز ۲۴ ساعت، فشار گاز درون بطری‌ها در فواصل زمانی ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ ساعت و برای آزمون تولید گاز ۹۶ ساعت در فواصل زمانی ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۲۴، ۳۰، ۳۶، ۴۸، ۵۴، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون توسط دستگاه فشارسنج (شرکت TESTO مدل 512، آلمان) ثبت شد. پس از ثبت گاز در هر زمان، فشار گاز توسط سرسوزن خارج گردید و فشار گاز برحسب پاسکال توسط محاسبات ریاضی طبق معادله ۱ تبدیل به میلی‌لیتر شد (Blummel et al., 1997; Makkar, 2010).

معادله (۱) $T \times (R) \times \text{ثابت گاز} \times \text{فشار گاز} = \text{حجم گاز}$
در سطح متوسط دریا (میلی‌لیتر)

که در آن، ثابت گاز (R): نسبت بین حجم مولار گاز به دما (صفر کلونین؛ $K = 273$) و T: دمای انکوباسیون (کلونین) می‌باشد.

تولید گاز خالص با کسر میانگین حجم گاز بطری‌های بلانک از مجموع حجم گاز تولیدشده در بطری‌های حاوی نمونه خوراک در زمان‌های مختلف انکوباسیون به دست آمد.

معادله (۲)

(ml) میانگین حجم گاز بلانک - (ml) مجموع حجم تولید گاز خوراک در زمان‌های مختلف انکوباسیون = (ml) حجم تولید گاز خالص

با پایان زمان آزمایش اندازه‌گیری تولید گاز (۲۴ ساعت) و ثبت میزان گاز و خالی کردن گاز، بطری‌های شیشه‌ای برای خنک شدن به یخچال با دمای سه تا پنج درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. محتویات هر بطری به‌طور کامل به داخل یک کروسیل تخلیه شد تا صاف شود. کروسیل‌ها در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ تا ۲۴ ساعت خشک و وزن آن‌ها ثبت شد. کروسیل‌ها به دستگاه اندازه‌گیری الیاف خام منتقل و باقی‌مانده نمونه داخل کروسیل به مدت یک ساعت در محلول شوینده خنثی جوشانده شد تا باقی‌مانده نمونه از آلودگی میکروبی پاک شود و فقط ماده خشک یا ماده آلی خوراک تجزیه‌نشده باقی بماند. سپس کروسیل‌ها از دستگاه خارج و

پارامترهای پتانسیل تولید گاز (A)، نرخ تولید گاز (C) و زمان تأخیر (Lag time) مربوط به تولید گاز ۹۶ ساعت با استفاده از نرم‌افزار SAS (SAS, 2006) و روش مک‌دونالد (McDonald, 1981) محاسبه شدند.

طرح آزمایشی و آنالیز آماری داده‌ها

آزمایش در دو دور و هر دور در سه تکرار انجام شد. آنالیز آماری داده‌ها به صورت فاکتوریل ۲×۴ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS انجام گردید. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ترکیبات شیمیایی در قالب طرح کاملاً تصادفی و سایر داده‌ها (تولید گاز، ضریب تفکیک، ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی، بازده تولید توده میکروبی و متان) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (هر دور به عنوان یک بلوک در نظر گرفته شد) انجام گردید. عامل اول شامل انواع روش‌های فرآوری و عامل دوم شامل مدت زمان فرآوری بود. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از روش توکی و در سطح آماری پنج درصد انجام شد. مدل آماری طرح به صورت معادله ۱۱ بود.

معادله (۱۱)
$$Y_{ijk} = \mu + P_i + T_j + (P \times T)_{ij} + R_j + \varepsilon_{ijk}$$
 که در آن، μ : میانگین کل جامعه برای صفت مورد نظر، P_i : اثر روش فرآوری، T_j : اثر زمان فرآوری، $(P \times T)_{ij}$: اثر متقابل روش فرآوری در زمان فرآوری، R_j : اثر بلوک آزمایش و ε_{ijk} : اثر خطای آزمایشی است.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی باگاس

اثر روش‌های مختلف فرآوری (اوره یا ملاس) و مدت زمان فرآوری (۳۰ یا ۴۵ روز) بر ترکیب شیمیایی باگاس در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که فرآوری با اوره یا ملاس به مدت ۴۵ روز باعث کاهش معنی‌دار محتوای ماده خشک باگاس شد ($P < 0.05$). باگاس فرآوری‌شده با ملاس ۱۰ درصد و سیلوشده به مدت ۴۵ روز (روش ۲) و باگاس فرآوری‌شده با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۴۵ روز (روش ۴) در مقایسه با باگاس فرآوری‌نشده و سیلوشده به مدت ۴۵ روز، محتوای ماده آلی کمتری داشتند ($P < 0.05$). در بین تیمارهای آزمایشی، بیشترین محتوای پروتئین خام باگاس مربوط به باگاس فرآوری‌شده با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ و ۴۵ روز (روش ۴) بود ($P < 0.05$). محتوای الیاف نامحلول شوینده خنثی باگاس تحت تأثیر زمان فرآوری و اثرات متقابل زمان و فرآوری قرار نگرفت ($P > 0.05$)، اما نوع فرآوری بر محتوای الیاف نامحلول شوینده خنثی تأثیرگذار بود ($P < 0.05$). کمترین محتوای الیاف نامحلول شوینده

وزن آن‌ها پس از خشک کردن در آون (۱۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت) و خنک کردن در دسیکاتور ثبت شد. اختلاف وزن کروسیل پس از آون و کروسیل خالی به عنوان ماده خشک تجزیه‌نشده (a) در نظر گرفته شد. درصد تجزیه‌پذیری ماده خشک طبق معادله‌های ۳ تا ۵ محاسبه شد.

معادله (۳)

$$100 \times \frac{\text{ماده خشک تجزیه‌نشده (میلی گرم)} - \text{ماده خشک ریخته‌شده در بطری (میلی گرم)}}{\text{ماده خشک ریخته‌شده در بطری (میلی گرم)}} = \text{تجزیه‌پذیری ماده خشک (\%)}$$

معادله (۴)

$1000 \times [\text{وزن کروسیل خالی (گرم)} - \text{وزن کروسیل حاوی باقی‌مانده (گرم)}] = \text{ماده خشک تجزیه‌نشده (میلی گرم)}$

معادله (۵)

$500 \text{ میلی گرم} \times (100 \div \text{درصد ماده خشک نمونه خوراک}) = \text{ماده خشک ریخته‌شده در بطری (میلی گرم)}$

تجزیه‌پذیری ماده آلی و ضریب تفکیک پس از پایان آزمایش تولید گاز ۲۴ ساعت توسط معادله‌های ۶ و ۷ اندازه‌گیری شد (Makkar, 2010).

معادله (۶)

$$100 \times \frac{\text{ماده آلی تجزیه‌نشده (میلی گرم)} - \text{ماده آلی ریخته‌شده در بطری (میلی گرم)}}{\text{ماده آلی ریخته‌شده در بطری (میلی گرم)}} = \text{تجزیه‌پذیری ماده آلی (\%)}$$

معادله (۷)

$$\text{ماده آلی تجزیه‌شده (میلی گرم)} = \frac{\text{حجم گاز خالص (میلی لیتر)}}{\text{فاکتور تفکیک}}$$

بازده تولید توده میکروبی بعد از پایان زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت با استفاده از معادله ۸ محاسبه شد.

معادله (۸)

$$100 \times \frac{[2/34 \times \text{تولید خالص گاز (میلی لیتر)}] - \text{ماده آلی تجزیه‌شده (میلی گرم)}}{\text{ماده آلی تجزیه‌شده (میلی گرم)}} = \text{بازده تولید توده میکروبی (\%)}$$

که در آن، ۲/۳۴: فاکتور استوکیومتری است.

در این روش، بعد از پایان انکوباسیون ۲۴ ساعت نمونه در مایع شکمبه و بافر فسفات، تولید گاز نهایی (پایان ۲۴ ساعت) ثبت شد. سپس محلول سدیم هیدروکسید ۱۰ مولار به محتویات بطری‌ها اضافه شد تا گاز دی‌اکسید کربن را جذب کند. بعد از جذب گاز دی‌اکسید کربن (بعد از حدود ۱۰ دقیقه)، گاز باقی‌مانده در سرنگ یا بطری شیشه‌ای معادل گاز متان بود (Fievez et al., 2005).

معادله (۹)

$\text{حجم گاز باقی‌مانده در سرنگ یا بطری شیشه‌ای ۱۰ دقیقه بعد از تزریق سدیم هیدروکسید ۱۰ مولار} = \text{تولید گاز متان (میلی لیتر)}$

معادله (۱۰)

$\text{تولید گاز متان بلانک} - \text{تولید گاز متان نمونه} = \text{تولید گاز متان خالص (میلی لیتر)}$

فراسنجه‌های تخمیر و گوارش‌پذیری شکمبه‌ای جیره‌های آزمایشی

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای جیره‌های حاوی باگاس فرآوری‌شده با روش‌های مختلف (اوره یا ملاس) در زمان‌های متفاوت (۳۰ یا ۴۵ روز) در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که فرآوری‌ها باعث افزایش تولید گاز تجمعی ۲۴ ساعت گردید. بیشترین تولید گاز تجمعی ۲۴ ساعت مربوط به جیره‌های حاوی باگاس فرآوری‌شده با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز (روش ۴) و کمترین میزان تولید گاز تجمعی ۲۴ ساعت مربوط به جیره‌های شاهد (جیره‌های دارای باگاس فرآوری‌نشده و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز) بودند ($P < 0.05$). اثر زمان فرآوری، نوع فرآوری و اثرات متقابل آن‌ها بر تولید متان، ضریب تفکیک و بازده تولید توده میکروبی معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی جیره‌های آزمایشی تحت تأثیر اثر زمان فرآوری و نوع فرآوری قرار گرفت ($P < 0.05$)، اما اثر متقابل زمان و فرآوری برای ناپدید شدن ماده آلی معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). در بین جیره‌های آزمایشی، بیشترین ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی مربوط به جیره‌های دارای باگاس فرآوری‌شده با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز (روش ۴) بودند ($P < 0.05$).

مطابق با نتایج آزمایش حاضر، در پژوهشی (Malekhhahi et al., 2010) مشخص شد که تولید گاز در کاه کنجد فرآوری‌شده با محلول اوره افزایش یافت. مشابه با نتایج آزمایش حاضر، در مطالعات متعدد، فرآوری باگاس نیشکر با محلول آمونیاک (Playne, 1984)، فرآوری کاه گندم با محلول آمونیاک (Dongyan et al., 2014)، فرآوری کاه جو با محلول اوره (Bachmann et al., 2022) یا فرآوری کاه برنج با محلول اوره (Shen et al., 1998) باعث افزایش تولید گاز، بهبود تجزیه‌پذیری ماده خشک و ماده آلی شد. به‌طور کلی، محلول‌های اوره و ملاس با تخریب ساختمان الیاف خوراک فرآوری‌شده باعث کاهش محتوای لیگنین خوراک و افزایش دسترسی ریزجانداران شکمبه با لایه‌های زیرین لیگنین یعنی سلولز و همی‌سلولز و در نتیجه افزایش تخمیر و تولید گاز و همچنین افزایش ناپدید شدن ماده خشک یا ماده آلی می‌شوند (Owens & Basalan, 2016). از طرفی، به‌دلیل وجود عنصر نیتروژن در ساختار اوره، اوره با تأمین نیتروژن لازم برای رشد ریزجانداران شکمبه (تولید پروتئین میکروبی)، باعث افزایش توانایی ریزجانداران شکمبه برای هضم خوراک می‌شود که احتمالاً فرآوری باگاس با محلول اوره از این طریق نیز می‌تواند در افزایش تجزیه‌پذیری (ناپدید شدن) شکمبه‌ای باگاس نقش داشته باشد (Alamzadeh, 2001).

خنثی باگاس مربوط به باگاس فرآوری‌شده با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ و ۴۵ روز (روش ۴) بود. در آزمایش حاضر، فرآوری‌های شیمیایی باعث کاهش محتوای ماده خشک و ماده آلی باگاس شد (جدول ۱). در مطالعه‌ای (Ribeiro et al., 2020)، محتوای ماده خشک در کاه جو و کاه گندم در اثر فرآوری با محلول اوره کاهش یافت. فرآوری کاه برنج با محلول اوره ۵/۵ درصد (مدت زمان فرآوری ۱۰ روز)، باعث کاهش محتوای ماده خشک کاه برنج در مقایسه با گروه شاهد شد (Wanapat et al., 2009). در مطالعه حاضر، دلیل کاهش محتوای ماده خشک و ماده آلی باگاس در اثر روش‌های مختلف فرآوری را می‌توان به خارج شدن یا اتلاف بخشی از ترکیبات گیاه طی فرآوری شیمیایی ارتباط داد (Jackson, 1977). به‌طور کلی، فرآوری خوراک‌های علوفه‌ای با مواد شیمیایی باعث شکستن و تخریب ساختمان الیاف و احتمالاً اتلاف مواد آلی مانند چربی و پروتئین شده که در نهایت منجر به کاهش محتوای ماده آلی می‌شود (Herrera-Saldana et al., 1982). به‌دلیل وجود عنصر نیتروژن در ساختمان اوره، فرآوری‌هایی که با محلول اوره انجام شد باعث افزایش محتوای نیتروژن در محصول فرآوری‌شده و به‌دنبال آن افزایش محتوای پروتئین خام گردید. به همین دلیل در این مطالعه، محتوای پروتئین خام باگاس فرآوری‌شده با محلول اوره افزایش یافت. مشابه با نتایج این مطالعه، در آزمایشی (Dehghani et al., 2021)، فرآوری باگاس نیشکر با محلول اوره باعث افزایش محتوای پروتئین خام باگاس شد. فرآوری باگاس با اوره یا ملاس باعث کاهش محتوای الیاف نامحلول شوینده خنثی باگاس گردید. مشابه با نتایج این پژوهش، در آزمایشی دیگر (Dehghani et al., 2021)، محتوای الیاف نامحلول شوینده خنثی باگاس و کاه گندم در اثر فرآوری با محلول اوره کاهش یافت. دلیل کاهش محتوای الیاف نامحلول شوینده خنثی باگاس در اثر فرآوری با محلول اوره و ملاس را می‌توان به تخریب ساختمان دیواره سلولی گیاه در محیط قلیایی ایجادشده توسط اوره ارتباط داد (Van Soest, 2006). فرآوری‌های شیمیایی-قلیایی مانند اوره، آمونیاک و غیره باعث شکستن پیوندهای بین همی‌سلولز و لیگنین و افزایش نفوذپذیری دیواره سلولی می‌شود (Jiang et al., 2017). محتوای ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام باگاس تحت تأثیر مدت زمان فرآوری قرار گرفت. زمان فرآوری ۴۵ روز در مقایسه با ۳۰ روز، ترکیبات شیمیایی باگاس فرآوری‌شده را بیشتر تحت تأثیر قرار داد؛ اما محتوای الیاف نامحلول شوینده خنثی در زمان فرآوری ۴۵ روز در مقایسه با ۳۰ روز از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. اثرات متقابل زمان و فرآوری بر تمام ترکیبات شیمیایی باگاس به‌استثنای الیاف نامحلول شوینده خنثی تأثیرگذار بود که بیانگر اثر هم‌افزایی نوع فرآوری و مدت زمان فرآوری می‌باشد. هر چقدر مدت زمان فرآوری بیشتر بود، تغییر در ترکیبات شیمیایی باگاس نیز محسوس‌تر بود.

جدول ۲- اثر روش های مختلف فرآوری و مدت زمان فرآوری بر ترکیب شیمیایی (درصد ماده خشک) باگاس
Table 2- Effect of different processing methods^۱ and processing time on the chemical composition (% of dry matter) of bagasse

صفات Parameters	روش Method								سطح معنی داری P-Value	زمان × فرآوری Time × Processing
	۳۰ روز فرآوری 30 days processing				۴۵ روز فرآوری 45 days processing					
	Method 1 روش ۱	Method 2 روش ۲	Method 3 روش ۳	Method 4 روش ۴	Method 1 روش ۱	Method 2 روش ۲	Method 3 روش ۳	Method 4 روش ۴		
ماده خشک Dry matter	95.02 ^b	94.75 ^b	97.00 ^a	94.75 ^b	96.50 ^a	95.50 ^b	93.50 ^c	93.50 ^c	<0.01	<0.01
ماده آلی Organic matter	93.86 ^b	92.80 ^d	96.56 ^a	90.78 ^e	92.89 ^{cd}	91.01 ^e	93.50 ^{bc}	86.95 ^f	<0.01	<0.01
پروتئین خام Crude protein	2.67 ^g	4.13 ^e	7.28 ^c	9.38 ^a	2.72 ^g	3.28 ^f	6.21 ^d	8.15 ^b	<0.01	<0.01
خاکستر خام Crude ash	6.14 ^e	7.20 ^c	3.43 ^f	9.22 ^b	7.11 ^{cd}	8.98 ^b	6.49 ^{de}	13.04 ^a	<0.01	<0.01
الیاف نامحلول شونده خنثی Neutral detergent fiber	90.86 ^a	89.36 ^{bc}	88.90 ^{cd}	87.50 ^{de}	90.62 ^{ab}	89.01 ^{cd}	88.86 ^{cd}	86.89 ^e	<0.01	0.05

روش ۱: باگاس فرآوری نشده، ۲: باگاس فرآوری شده با محلول ۱۰ درصد ملاس، ۳: باگاس فرآوری شده با محلول ۵ درصد اوره، ۴: باگاس فرآوری شده با محلول ۱۰ درصد ملاس و ۵ درصد اوره

Method 1: Unprocessed bagasse, 2: Bagasse processed with 10% molasses solution, 3: Bagasse processed with 5% urea solution, and 4: Bagasse processed with 10% molasses solution and 5% urea.

^{a-e} Means in the same rows with different superscripts are significantly different with ($P < 0.05$).

جدول ۳- فراسنججهای تخمیر برون تنی جیره‌های دارای باگاس فراوری شده با روش‌های مختلف^۱ در زمان‌های متفاوت
Table 3- Ruminal fermentation parameters of diets containing bagasse processed by different methods¹ at different times

صفات	روش								SEM	Time × زمان × فروری	Processing فروری	P-Value سطح معنی داری
	30 روز فروری				45 روز فروری							
	Method 1 روش ۱	Method 2 روش ۲	Method 3 روش ۳	Method 4 روش ۴	Method 1 روش ۱	Method 2 روش ۲	Method 3 روش ۳	Method 4 روش ۴				
تولید گاز تخمیری ۲۴ ساعت (میلی لیتر در ۵۰۰ میلی گرم ماده خشک)	50.47 ^d	53.07 ^{de}	56.16 ^{bc}	58.59 ^{ab}	52.63 ^d	53.12 ^{de}	56.02 ^{bc}	60.50 ^a	1.01	0.18	0.0001	0.04
24-hour cumulative gas production (ml/500 mg DM)												
تولید گاز متان (میلی لیتر در ۵۰۰ میلی گرم ماده خشک)	8.34	8.11	7.04	8.50	8.85	7.87	7.09	7.40	1.34	0.84	0.72	0.94
Methane gas production (ml/500 mg DM)												
ضریب تشکیل	4.86	4.48	4.44	4.45	4.74	4.36	4.29	4.13	0.23	0.41	0.32	0.87
Partitioning factor												
بازده تولید توده میکروبی (درصد)	55.46	54.54	52.90	51.87	52.29	54.68	51.50	49.72	2.70	0.17	0.15	0.19
Microbial mass production efficiency (%)												
نابندید شدن ماده خشک (درصد)	50.61 ^c	50.76 ^c	52.17 ^b	56.01 ^{ab}	51.38 ^{bc}	51.77 ^{bc}	52.57 ^{bc}	57.44 ^a	1.48	0.01	0.03	0.03
Dry matter degradability (%)												
نابندید شدن خفیفی ماده آلی (درصد)	50.37 ^c	52.28 ^{bc}	53.75 ^{abc}	56.57 ^{ab}	51.91 ^{bc}	52.72 ^{bc}	53.65 ^{abc}	57.71 ^a	2.81	0.01	0.03	0.93
True organic matter degradability (%)												

روش ۱: باگاسی فراوری نشده، ۲: باگاسی فراوری شده با محلول ۱۰ درصد ملاس، ۳: باگاسی فراوری شده با محلول ۵ درصد اوره، ۴: باگاسی فراوری شده با محلول ۱۰ درصد ملاس و ۵ درصد اوره.

روش ۱: باگاسی فراوری نشده، ۲: باگاسی فراوری شده با محلول ۱۰ درصد ملاس، ۳: باگاسی فراوری شده با محلول ۵ درصد اوره، ۴: باگاسی فراوری شده با محلول ۱۰ درصد ملاس و ۵ درصد اوره.

Method 1: unprocessed bagasse, 2: bagasse processed with 10% molasses solution, 3: bagasse processed with 5% urea solution, and 4: bagasse processed with 10% molasses solution and 5% urea.

a-b Means in the same rows with different superscripts are significantly different with ($P < 0.05$).

میزان تولید گاز تغییر کرد. درصد نایدید شدن ماده خشک و ماده آلی تحت تأثیر اثرات متقابل زمان و فراوری قرار نگرفت، اما مدت زمان

میزان تولید گاز جیره‌های حاوی باگاس فراوری شده فقط تحت تأثیر نوع فراوری قرار گرفت؛ یعنی بسته به نوع فراوری انجام شده،

دهنده شروع سریع تر تخمیر و در دسترس بودن مواد مغذی برای رشد میکروبی و متابولیسم است (Sahnoun et al., 1991). در مطالعه حاضر، فرآوری باگاس با محلول اوره و ملاس باعث کاهش زمان تأخیر شد که نشان دهنده مطلوب بودن فرآوری ها است و احتمالاً دلیل آن تخریب ساختار پیچیده الیاف باگاس یا شکستن لیگنین و افزایش دسترسی آنزیم های میکروبی به کربوهیدرات های ساختمانی موجود در لایه زیرین لیگنین باشد. در مطالعه حاضر، اثرات متقابل زمان و فرآوری برای زمان تأخیر معنی دار بود که بیانگر این است که زمان فرآوری (۴۵ روز در مقایسه با ۳۰ روز) و هم نوع فرآوری بر زمان تأخیر تأثیرگذار بود و باعث کاهش زمان تأخیر شد. تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت و پتانسیل تولید گاز فقط تحت تأثیر نوع فرآوری قرار گرفت، یعنی زمان فرآوری ۴۵ روز در مقایسه با ۳۰ روز تأثیر معنی داری بر تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت و پتانسیل تولید گاز نداشت.

نتیجه گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که فرآوری باگاس با محلول اوره یا ملاس باعث افزایش تولید گاز و ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی شد. کمترین درصد ماده خشک و الیاف نامحلول شوینده خنثی (NDF^۱) و بیشترین درصد پروتئین خام مربوط به جیره دارای باگاس فرآوری شده با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز بود. کمترین زمان تأخیر مربوط به جیره حاوی باگاس فرآوری شده با محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز و جیره حاوی ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز بود. افزایش مدت زمان فرآوری از ۳۰ روز به ۴۵ روز باعث افزایش ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی شد. به طور کلی، فرآوری های شیمیایی در مقایسه با شاهد بر تغییر ترکیب شیمیایی باگاس، افزایش نرخ تولید گاز و افزایش ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی تأثیرگذار بود؛ و در بین روش های مختلف فرآوری، فرآوری باگاس با ملاس ۱۰ درصد و محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۴۵ روز، بیشترین تأثیر را بر افزایش نرخ تولید گاز، پتانسیل تولید گاز و ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی باگاس داشت.

فرآوری و نوع فرآوری بر درصد ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی تأثیرگذار بود، به این معنی که با افزایش مدت زمان فرآوری (۴۵ روز در مقایسه با ۳۰ روز)، درصد ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی افزایش یافت. بنابراین می توان پیشنهاد کرد که فرآوری باگاس نیشکر با محلول اوره یا ملاس در مدت ۴۵ روز در مقایسه با ۳۰ روز، روش مناسب تری است.

فراسنجه های تولید گاز جیره های آزمایشی

فراسنجه های تولید گاز جیره های حاوی باگاس فرآوری شده با روش های مختلف (ملاس یا اوره) در زمان های متفاوت (۳۰ یا ۴۵ روز) در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد که تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت و پتانسیل تولید گاز (A) جیره های آزمایشی تحت تأثیر اثر زمان فرآوری قرار نگرفت ($P > 0.05$)، اما اثر نوع فرآوری و اثر متقابل روش فرآوری و زمان فرآوری معنی دار بود ($P < 0.05$). نرخ تولید گاز (C) و زمان تأخیر (Lag time) جیره های آزمایشی تحت تأثیر اثر زمان فرآوری، نوع فرآوری و اثر متقابل زمان و فرآوری قرار گرفت ($P < 0.05$). به طور کلی، نتایج نشان داد که فرآوری باگاس با ملاس یا اوره در مقایسه با عدم فرآوری آن باعث افزایش تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت، پتانسیل تولید گاز (A) و نرخ تولید گاز (C) و کاهش زمان تأخیر (Lag time) شد ($P < 0.05$). در بین جیره های آزمایشی، بیشترین تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت، پتانسیل تولید گاز (A) و نرخ تولید گاز (C) مربوط به جیره های حاوی باگاس فرآوری شده با محلول ملاس ۱۰ درصد و اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز (روش ۴) بود ($P < 0.05$). کمترین زمان تأخیر (Lag time) مربوط به جیره های حاوی باگاس فرآوری شده با محلول اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز (روش ۳) و جیره های حاوی باگاس فرآوری شده با محلول ملاس ۱۰ درصد و اوره ۵ درصد و سیلوشده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز (روش ۴) بودند ($P < 0.05$).

مطابق با نتایج آزمایش حاضر، در آزمایشی (Manyuchi et al., 1992)، فرآوری کاه جو با محلول آمونیاک باعث افزایش تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت (۳۵/۵۰ در مقایسه با ۳۳ میلی لیتر) در مقایسه با گروه شاهد شد. فرآوری باگاس با محلول اوره و ملاس از طریق تخریب لیگنین و افزایش دسترسی آنزیم های میکروبی به کربوهیدرات های ساختمانی موجود در لایه های زیرین لیگنین، باعث افزایش تخمیر و تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت و افزایش پتانسیل تولید گاز در مقایسه با جیره های شاهد شد. زمان تأخیر یعنی مدت زمانی که طول می کشد تا ریزجانداران به ذرات الیاف بچسبند و شروع به هضم خوراک کنند. هر چقدر محتوای لیگنین در ساختمان الیافی یک خوراک بیشتر باشد یا خوراک دارای ساختار الیافی پیچیده و مقاوم تری باشد، زمان تأخیر بیشتر است. هر چقدر زمان تأخیر کمتر باشد، یعنی فرآیند هضم میکروبی سریع تر شروع شود، مطلوب تر است، زیرا نشان

جدول ۴- پارامترهای تولید گاز پیتاس حاوی فراورنده با روش های مختلف در زمان های متفاوت

پارامترها Parameters	روش Method								سطح معنی داری P-Value			
	۳۰ روز فرآوری 30 days processing				۴۵ روز فرآوری 45 days processing							
	روش ۱ Method 1	روش ۲ Method 2	روش ۳ Method 3	روش ۴ Method 4	روش ۱ Method 1	روش ۲ Method 2	روش ۳ Method 3	روش ۴ Method 4				
تولید گاز: مجموع ۶ ساعت (میلی لیتر در ۳۰۰ میلی گرم ماده خشک) 96 cumulative gas production (ml/200 mg DM)	54.37 ^e	59.84 ^{bc}	60.81 ^{bc}	65.40 ^a	55.92 ^{dc}	57.65 ^{cd}	60.20 ^{bc}	65.14 ^a	0.43	0.54	0.0001	0.03
پتانسیل تولید گاز: میلی لیتر در ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک (A) A (Gas production potential; ml/200 mg DM)	3.89 ^d	4.41 ^b	4.45 ^b	3.73 ^a	4.13 ^{cd}	4.34 ^{bc}	4.57 ^{ab}	4.77 ^a	0.08	0.18	0.0001	0.05
نرخ تولید گاز: میلی لیتر در ساعت (C) C (gas production rate; ml/hour)	0.22 ^a	0.19 ^b	0.14 ^{cde}	0.17 ^{bde}	0.18 ^{bc}	0.14 ^{de}	0.13 ^e	0.15 ^{cde}	0.01	0.002	0.0006	0.04
زمان تأخیر (ساعت) Lag time	0.89 ^a	0.64 ^a	0.10 ^b	0.00 ^b	0.65 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.10	0.005	0.0001	0.04

روش ۱: باگاسس فرآوری نشده؛ ۲: باگاسس فرآوری شده با محلول ۱۰ درصد ملاس؛ ۳: باگاسس فرآوری شده با محلول ۵ درصد اوره؛ ۴: باگاسس فرآوری شده با محلول ۱۰ درصد ملاس و ۵ درصد اوره. ^{a,b} هر ریغیت بین اعداد با حروف متفاوت اختلاف معنی دار وجود دارد ($P<0.05$).

از تمامی افرادی که با ارائه راهنمایی‌های علمی و حمایت‌های پژوهشی در تکمیل این مطالعه سهیم بودند، صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

بنابراین به نظر می‌رسد که ترکیب محلول ملاس ۱۰ درصد و اوره ۵ درصد برای باگاس، روش فراآوری مناسب‌تری باشد.

سپاسگزاری

References

- Ahmadi, F., Zamiri, M. J., Khorvash, M., Ziaee, E., & Polikarpov, I. (2016). Pre-treatment of sugarcane bagasse with a combination of sodium hydroxide and lime for improving the ruminal degradability: Optimization of process parameters using response surface methodology. *Journal of Applied Animal Research*, 44(1), 287-296. <https://doi.org/10.1080/09712119.2015.1031783>.
- Alemzadeh, B., Noroozi, S., & Kardooni, A. (2001). Determination of nutritive value and apparent digestibility in bagasse and treated bagasse. *Pajouhesh and Sazandegi*, 53, 14-17. (In Persian)
- Amirkhani, M., Dianati Tilaki, G. A., & Mesdaghi, M. (2007). An investigation on forage quality of *Agropyron cristatum* and *Thinopyrum intermedium* in different phenological stages at Golestan National Park. *Pajouhesh and Sazandegi*, 74, 61-65. <https://doi.org/10.22059/jrwm.2017.61972>. (In Persian).
- AOAC. (2007). Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA, 1230 pp.
- Bachmann, M., Martens, S. D., Le Brech, Y., Kervern, G., Bayreuther, R., Steinhofel, O., & Zeyner, A. (2022). Physicochemical characterization of barley straw treated with sodium hydroxide or urea and its digestibility and *in vitro* fermentability in ruminants. *Scientific Reports*, 12(1), 20530. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24738-w>.
- Blummel, M., Aiple, K. P., Steingäß, H., & Becker, K. (1999). A note on the stoichiometrical relationship of short chain fatty acid production and gas formation *in vitro* in feedstuffs of widely differing quality. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 81(3), 157-167. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0396.1999.813205.x>.
- Blummel, M., Makkar, P. S., & Becker, K. (1997). *In vitro* gas production: A technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77, 24-34. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.1997.tb00734.x>.
- Church, D. C. (2009). Livestock Feeds and Feeding. Second Edition. A Reston Book, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, USA.
- de Almeida, G. A. P., de Andrade Ferreira, M., de Lima Silva, J., Chagas, J. C. C., Vêras, A. S. C., de Barros, L. J. A., & de Almeida, G. L. P. (2018). Sugarcane bagasse as exclusive roughage for dairy cows in smallholder livestock systems. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(3), 379-385.
- Dehghani, M., Afzalzadeh, A., & Norouzian, M. A. (2021). The study of chemical composition and ruminal degradability parameters of urea treatment of wheat straw and sugarcane bagasse. *Animal Production*, 23(2), 191-200. <https://doi.org/10.22059/jap.2021.316319.623583>. (In Persian).
- Dongyan, Y. A. N. G., Yunzhi, P. A. N. G., Hairong, Y. U. A. N., Shulin, C. H. E. N., Jingwei, M. A., Liang, Y. U., & Xiujin, L. I. (2014). Enhancing biogas production from anaerobically digested wheat straw through ammonia pretreatment. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 22(5), 576-582. [https://doi.org/10.1016/S1004-9541\(14\)60075-6](https://doi.org/10.1016/S1004-9541(14)60075-6).
- Fievez, V., Babayemi, O. J., & Demeyer, D. (2005). Estimation of direct and indirect gas production in syringes: A tool to estimate short chain fatty acid production that requires minimal laboratory facilities. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 197-210. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.05.001>.
- Gunun, N., Wanapat, M., Gunun, P., Cherdthong, A., Khejornsart, P., & Kang, S. (2016). Effect of treating sugarcane bagasse with urea and calcium hydroxide on feed intake, digestibility, and rumen fermentation in beef cattle. *Tropical Animal Health and Production*, 48, 1123-1128. <https://doi.org/10.1007/s11250-016-1061-2>.
- Herrera-Saldana, R., Church, D. C., & Kellems, R. O. (1982). The effect of ammoniation treatment on intake and nutritive value of wheat straw. *Journal of Animal Science*, 54(3), 603-608. doi.org/10.2527/jas1982.543603x.
- Jackson, M. G. (1977). The alkali treatment of straws. *Animal Feed Science and Technology*, 2(2), 105-130. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(77\)90013-X](https://doi.org/10.1016/0377-8401(77)90013-X).
- Jiang, D., Ge, X., Zhang, Q., Zhou, X., Chen, Z., Keener, H., & Li, Y. (2017). Comparison of sodium hydroxide and calcium hydroxide pretreatments of giant reed for enhanced enzymatic digestibility and methane production. *Bioresource Technology*, 244, 1150-1157. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.067>.
- Khawar, A., Khan, N., Iqbal, K. J., Fatima, M., Rasool, F., Anjum, K. M., & Asghar, M. (2024). Effect of urea treated sugarcane bagasse on growth, proximate composition, microbial flora and digestive enzymes activities of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Pakistan Journal of Zoology*, 56(5), 2369. <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/20220524090521>.
- Makkar, H. P. (2010). *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. *In vitro screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies*, Springer, Perth, Australia. 107-144. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-3297-3-7>.
- Malekkhahi, M., Mesgaran, M. D., Mousavi, A. H., Vakili, A., Tahmasbi, A., & Jahani-azizabadi, H. (2010). *In vitro* gas production parameters of sesame (*Sesamum indicum*) straw treated with sodium hydroxide, urea or sulphuric acid. *Advances in Animal Biosciences*, 1(1), 243-243. <https://doi.org/10.1017/S2040470010003869>.

20. Manyuchi, B., Orskov, E. R., & Kay, R. N. B. (1992). Effects of feeding small amounts of ammonia treated straw on degradation rate and intake of untreated straw. *Animal Feed Science and Technology*, 38, 293-304. <https://doi.org/10.1017/S0308229600020262>.
21. McDonald, I. (1981). A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. *Journal of Agricultural Science*, 96, 251-252. <https://doi.org/10.1017/S0021859600032081>.
22. Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *The Journal of Agricultural Science*, 93(1), 217-222. <https://doi.org/10.1017/S0021859600086305>.
23. Naeini, S. Z., Khorvash, M., Rowghani, E., Bayat, A., & Nikousefat, Z. (2014). Effects of urea and molasses supplementation on chemical composition, protein fractionation and fermentation characteristics of sweet sorghum and bagasse silages as alternative silage crop compared with maize silage in the arid areas. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*, 4(6), 343-352.
24. National Research Council (NRC). (2007). Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids and new camelids. Washington, DC. USA.
25. Owens, F. N., & Basalan, M. (2016). Ruminal fermentation. *Rumenology*, Springer International Publishing Switzerland. 63-102. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-30533-2-3>.
26. Playne, M. J. (1984). Increased digestibility of bagasses by pretreatment with alkalis and steam explosion. *Biotechnology and Bioengineering*, 26(5), 426-433. <https://doi.org/10.1002/bit.260260505>.
27. Rezaii, F., Bayatkouhsar, J., Ghanbari, F., & Arab, F. (2023). The effect of water, urea, sodium hydroxide, and hydrogen peroxide processing on the cumin residues animal digestibility. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 12(4), 525-537. <https://doi.org/10.30486/ijrowa.2022.1953020.1418>.
28. Ribeiro, G. O., Gruninger, R. J., Jones, D. R., Beauchemin, K. A., Yang, W. Z., Wang, Y., & McAllister, T. A. (2020). Effect of ammonia fiber expansion-treated wheat straw and a recombinant fibrolytic enzyme on rumen microbiota and fermentation parameters, total tract digestibility, and performance of lambs. *Journal of Animal Science*, 98(5), 1-19. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa116>.
29. Sahnoune, S., Besle, J. M., Chenost, M., Jouany, J. P., & Combes, D. (1991). Treatment of straw with urea. 1. Ureolysis in a low water medium. *Animal Feed Science and Technology*, 34(1-2), 75-93. [doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90193-7](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90193-7).
30. SAS (2006). Procedures Guide. Second Ed. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
31. Schiere, J. B., Ibrahim, M. N. M., Sewalt, V. J. H., & Zemmeling, G. (1989). Response of growing cattle given rice straw to lickblocks containing urea and molasses. *Animal Feed Science and Technology*, 26(3-4), 179-189. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(89\)90033-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(89)90033-3).
32. Shen, H. S., Ni, D. B., & Sundstøl, F. (1998). Studies on untreated and urea-treated rice straw from three cultivation seasons: 1. Physical and chemical measurements in straw and straw fractions. *Animal Feed Science and Technology*, 73(3-4), 243-261. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(98\)00157-6](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00157-6).
33. Thite, V. S., & Nerurkar A. S. (2019). Valorization of sugarcane bagasse by chemical pretreatment and enzyme mediated deconstruction. *Scientific Reports*, 9(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52347-7>.
34. Van Soest, P. J. (2006). Rice straw, the role of silica and treatments to improve quality. *Animal Feed Science and Technology*, 130, 137-171. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.01.023>.
35. 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).
36. Vitti, D. M., Abdalla, A. L., Silva Filho, J. C., del Mastro, N. L., Mauricio, R., Owen, E., & Mould F. (1999). Misleading relationships between *in situ* rumen dry matter disappearance, chemical analyses and *in vitro* gas production and digestibility, of sugarcane bagasse treated with varying levels of electron irradiation and ammonia. *Animal Feed Science and Technology*, 79(1-2), 145-153. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00014-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00014-0).
37. Wanapat, M., Polvorach, S., Boonnop, K., Mapato, C., & Cherdthong, A. (2009). Effects of treating rice straw with urea or urea and calcium hydroxide upon intake, digestibility, rumen fermentation and milk yield of dairy cows. *Livestock Science*, 125, 238-243. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.05.001>.

Effects of Time and Temperature Conditioner on Feed Pellet Quality and Growth Performance, Blood Indices and Jejunal Morphology of Broilers

Amirasadollah Mazroei¹, Seyyed Javad Hosseini-Vashan^{1*}, Mohsen Mojtahedi¹, Hossein Naeemipour Younesi¹

1- Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, I.R. Iran

*Corresponding Author's Email: jhosseiniv@birjand.ac.ir

Received: 14-12-2024
Revised: 20-05-2025
Accepted: 10-06-2025
Available Online: 04-04-2026

How to cite this article:

Mazroei, A., Hosseini-Vashan, S.J., Mojtahedi, M., Naeemipour Younesi H. (2026). Effects of time and temperature conditioner on feed pellet quality and growth performance, blood indices and Jejunal morphology of broilers. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(1), 57-73. (in Persian with English abstract).

<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.90881.1223>

Introduction: Pelleting is the most common thermal process in the poultry feed industry. Pelleting aims to compact smaller feed particles into larger ones to increase economic benefits through increased feed intake and consequently improved growth performance, safety, and health of broiler chickens. Heat, moisture, and mechanical pressure during pelleting induce chemical and physical changes that may affect feed components, bird growth, and health, from a nutritional point of view, the partial denaturation of proteins during pelleting improves their digestibility and allows easier access to proteases (Dozier, 2001). Gelatinization is the irreversible loss of the crystalline form of starch granules, which makes the surface of the starch molecule accessible to reagents, solvents and enzymes, which can then break down its glycosidic bonds and increase the digestibility of the starch (Moritz *et al.*, 2005). Therefore, this study aimed to evaluate the effects of feed processing conditions in conditioners on pellet quality and growth performance, immune response, and blood indices of broilers.

Materials and Methods: A total of 480 one-day-old Ross 308 broiler chicks were used in a completely randomized design. Treatments were arranged in a 2×4 factorial arrangement with four temperature levels (70, 76, 82, and 88 °C) and two conditioning time levels (45 and 65 seconds). The pellet durability index (PDI) was calculated to determine pellet quality. The diets were fed for 42 days in diets with three periods of starter (1-10 days), grower (11-24 days), and finisher (25-42 days). Growth performance involving body weight gain, and feed intake, were measured at the end of each experimental period and the feed conversion ratio was also calculated at the same. At the end of the experimental period, two birds of each replicate were slaughtered and blood samples were collected from two birds of each replicate. After centrifuging the blood at 2500 rpm, the plasma was stored at -20°C until biochemical indices until analyzing. The plasma protein, cholesterol, triglyceride, LDL, and HDL, and the enzyme activity of AST and ALT were determined by the autoanalyzer spectrophotometry. At the end of the experimental period, two birds from each replicate were slaughtered, and carcass weight and other internal organs were measured. Additionally, jejunal tissue samples were also collected for morphological analysis and preserved in formalin.



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

 <https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.90881.1223>

Results and Discussion: The results of this study showed that conditioning time and temperature did not have a significant effect on pellet quality and strength. However, performance indices were affected by the experimental treatments ($P<0.05$). Pellets produced at the highest temperature had the lowest daily weight gain and higher feed conversion ratio throughout the growth, finisher, and overall rearing periods as compared to the diets pelleted at 76°C and 65 second ($P<0.001$). The highest carcass efficiency (72.62) and breast relative weight (25.66) and the blood concentration of total protein (6.44) and albumin (3.7) was observed in broilers consuming diets pelleted at 82°C and 65 seconds ($P<0.001$) as compared to other treatments. The treatments affected the concentrations of glucose, total protein, albumin, cholesterol, triglycerides, HDL, LDL, and aspartate aminotransferase enzyme ($P<0.001$). The concentration of blood glucose was higher in broiler fed with diets pelleted at 70°C and 45 or 65 seconds as compared other treatments. The concentration of blood cholesterol, triglyceride and HDL was higher in broiler fed with diets pelleted at 70°C and 65 seconds as compared other treatments. Increasing the conditioning temperature reduced the concentrations of glucose, cholesterol, triglycerides, and LDL and increased the concentration of AST enzyme ($P<0.001$). Intestinal morphological indices such as villus height, villus height to crypt depth ratio, and absorptive surface area were also affected by the experimental treatments ($P<0.05$). Broilers consuming pellets processed at 76°C and 65 seconds had the highest villus length, villus height to crypt depth ratio, and villus surface area compared to other treatments ($P<0.05$). The broilers fed diets pelleted at 88°C had the lowest performance indices and higher blood lipid ($P<0.05$).

Conclusion: The findings of the present study showed that a temperature of 76°C and time of 65 seconds improved the growth performance, and intestinal histological indices of broilers, and a temperature of 82°C and time of 65 seconds improved carcass efficiency. The diets pelleted at temperature of 88°C reduced growth performance and histological and biochemical indices of blood. Therefore, for higher growth performance and improving histological indices of the digestive tract of broilers, a temperature of 76°C and time of 65 seconds is recommended, and to improve biochemical indices of blood and carcass efficiency, a temperature of 82°C and a time of 45/65 seconds is recommended for pelleting feed for broilers.

Keywords: Cholesterol, Conditioning temperature and time, Glucose, Pellet durability index, Villus height

اثرات شرایط فرآوری دما و زمان در کاندیشنر بر کیفیت خوراک پلت، عملکرد رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و ریخت‌شناسی ژنوم جوجه گوشتی

امیر اسدالله مزروعی^۱، سید جواد حسینی واشان^{۲*}، محسن مجتهدی^۳، حسین نعیمی پور یونسی^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۲۰

چکیده

فناوری پردازش خوراک طیور شامل مراحل مختلف عملیات حرارتی از جمله اکستروژن، انبساط، کاندیشنینگ و پلت کردن است. عوامل کاندیشنینگ (دما و زمان) می‌تواند کیفیت پلت را بهبود بخشد. هدف این مطالعه، ارزیابی اثر دما و زمان کاندیشنینگ بر کیفیت پلت، عملکرد رشد، اجزاء لاشه، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و ریخت‌شناسی روده جوجه گوشتی بود. ۴۸۰ قطعه جوجه گوشتی، در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۴×۲ با چهار سطح دما (۷۰، ۷۶، ۸۲ و ۸۸ درجه سلسیوس) و دو سطح زمان کاندیشنینگ (۴۵ و ۶۵ ثانیه) استفاده شد. برای تعیین کیفیت پلت، از هر خوراک پلت، سه نمونه انتخاب و شاخص پایداری پلت آن‌ها محاسبه شد. صفات عملکرد رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و ریخت‌شناسی ژنوم جوجه گوشتی اندازه‌گیری شدند. یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که دمای ۷۶ درجه سلسیوس و زمان ۶۵ ثانیه باعث بهبود عملکرد رشد و شاخص‌های بافت‌شناسی روده، جوجه گوشتی شد و دمای ۸۲ درجه سلسیوس و زمان ۶۵ ثانیه، راندمان لاشه و درصد گوشت سینه را افزایش داد. افزایش دما و زمان کاندیشنینگ خوراک باعث کاهش گلوکز و کلسترول و افزایش پروتئین، آلبومین و فعالیت آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز در جوجه‌های گوشتی شد. دمای ۸۸ درجه سلسیوس باعث کاهش عملکرد رشد و شاخص‌های بافت‌شناسی و بیوشیمیایی خون گردید. لذا برای بهبود عملکرد رشد و شاخص‌های بافت‌شناسی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی، دمای ۷۶ و زمان ۶۵ ثانیه توصیه می‌شود و برای ارتقای راندمان لاشه و خصوصیات بیوشیمیایی خون، دمای ۸۲ درجه سلسیوس و ۴۵ یا ۶۵ ثانیه پلت نمودن خوراک جوجه‌های گوشتی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ارتفاع پرز، دما و زمان کاندیشنینگ، شاخص پایداری پلت، کلسترول، گلوکز

مقدمه

برخی از مزایای پلت کردن خوراک شامل کاهش تفکیک خوراک، جابه‌جایی آسان، کاهش بار میکروبی جیره و همچنین کاهش هزینه خوراک است، زیرا امکان گنجاندن مواد غذایی جایگزین (Behnke, 1994) و کاهش انرژی جیره را فراهم می‌کند (Leczneski et al., 2001).

دما، شاخص بسیار مهم و حیاتی در فرآیند کاندیشنینگ می‌باشد. خوراک جوجه‌های گوشتی به روش‌های مختلف پردازش حرارتی مانند انبساط و پلت‌سازی آماده می‌شوند. انتخاب دمای بهینه در فشار بخار مناسب برای تولید خوراک پلت با کیفیت مناسب از اهمیت بالایی برخوردار است. در جوجه‌های گوشتی، پلت کردن پرکاربردترین روش پردازش حرارتی است (Abdollahi et al., 2010b). طبق نظر گرین‌وود (Greenwood, 1970)، این روش‌ها در تابع زمان، دما، فشار و رطوبت متفاوت هستند. این عوامل بر درجه دنا توره شدن

افزایش تقاضا برای خوراک‌های فرآوری‌شده، از جمله خوراک‌های پلت، رغبت و رقابت تولیدکنندگان صنعت خوراک را جهت افزایش کیفیت و دوام پلت از طریق بهبود روش‌های فعلی پردازش خوراک، ارتقای تجهیزات و انتخاب مواد خوراکی با کیفیت و پلت‌پذیرافزایش داده است (Salahshour et al., 2023). مطالعات نشان دادند که خوراک پلت، در مقایسه با خوراک آردی، کارایی استفاده از اجزاء جیره را بهبود بخشیده و در نتیجه عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی را افزایش داد (Lv et al., 2015; Massuquetto et al., 2018).

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
(*) نویسنده مسئول: Email: jhosseiniv@yahoo.com.
<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.90881.1223>

بخار در کاندیشنر تا چهار دقیقه باعث افزایش کلسترول خون و کاهش HDL کلسترول خون جوجه‌های گوشتی گردید. به‌طور مشابه در تحقیق دیگری نیز کاهش کلسترول در سطح میانی دمای کاندیشن (۷۵ درجه سانتی‌گراد) در مقایسه با دماهای بالاتر (۸۵ درجه سانتی‌گراد) گزارش شد (Ran et al., 2020) از طرف دیگر، مدت زمان کاندیشن و پلت نمودن خوراک باعث افزایش وزن نسبی لوزالمعده گردید (Attar et al., 2018). در آزمایش دیگری، اثر زمان و دمای کاندیشن بر میزان ترشح و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در جوجه گوشتی اثر نداشت (Cui et al., 2024). همچنین شاخص ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت با افزایش دمای کاندیشنر به بالاتر از ۸۵ درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر قرار گرفت و در دماهای بالاتر، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت افزایش یافت (Cui et al., 2024). با توجه به مطالعات انجام‌شده در خصوص تأثیر دما و زمان کاندیشنینگ بر جوجه‌های گوشتی و پراکنش یافته‌های پیشین، هدف از این مطالعه، بررسی اثرات اصلی و متقابل دما و زمان‌های مختلف کاندیشنینگ بر کیفیت پلت، عملکرد رشد، کیفیت لاشه، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و ریخت‌شناسی روده جوجه‌های گوشتی و دستیابی به زمان و دمای مناسب برای عملکرد مطلوب بود.

مواد و روش

مدیریت جوجه‌های گوشتی: در مجموع، ۴۸۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ تهیه و به‌طور تصادفی به هشت تیمار و پنج تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار تقسیم شدند. جوجه‌ها با هشت جیره در قالب طرح کاملاً تصادفی با آزمایش فاکتوریل (۴×۲ زمان و دما)، با چهار سطح دما (۷۰، ۷۶، ۸۲ و ۸۸ درجه سانتی‌گراد) و دو سطح زمان (۴۵ و ۶۵ ثانیه) کاندیشنینگ تغذیه شدند، فرآیند پلت با دستگاه پلت‌زن ساخت شرکت ماتودور چین RC30 انجام گردید. جیره‌های آزمایشی برای سه دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی)، مطابق با استانداردهای تغذیه‌ای راس ۳۰۸ فرموله شدند (Aviagen, 2014). **جدول ۱.** جوجه‌های گوشتی در طول دوره پرورشی به آب و خوراک دسترسی آزاد داشتند. توزین خوراک به‌صورت روزانه و توزین جوجه‌ها و باقی‌مانده خوراک در پایان هر دوره تغذیه‌ای آغازین، رشد و پایانی انجام شد و میزان افزایش وزن روزانه و خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل خوراک نیز به‌عنوان شاخص اقتصادی بر اساس نسبت خوراک مصرفی به افزایش وزن برای هر دوره محاسبه شد.

جمع‌آوری نمونه و روش آزمایش: نمونه‌های خوراک از هر تیمار پس از پلت‌سازی برای ارزیابی دوام پلت (PDI) جمع‌آوری شد. برای بررسی PDI، سه تکرار ۱۰۰ گرمی از هر نمونه پلت در دستگاه هولمن (NHP-100) به‌مدت ۶۰ ثانیه در معرض فشار هوای ۶۸

پروتئین و ژلاتینه شدن نشاسته مواد غذایی تأثیر می‌گذارد. از نظر تغذیه، تغییرات جزئی (دنا‌توره شدن) پروتئین‌ها در حین پلت کردن، گوارش‌پذیری آن‌ها را بهبود می‌بخشد و دسترسی آسان‌تر به پروتئازها را امکان‌پذیر می‌کند (Dozier, 2001). ژلاتینه شدن، از دست دادن برگشت‌ناپذیر شکل کریستالی دانه‌های نشاسته است که سطح مولکول نشاسته را در دسترس معرف‌ها، حلال‌ها و آنزیم‌ها قرار می‌دهد، سپس آنزیم‌ها می‌توانند پیوندهای گلیکوزیدی آن را تجزیه و گوارش‌پذیری نشاسته را افزایش می‌دهند (Moritz et al., 2005).

دمای بالای کاندیشنر (بالاتر از ۸۰ درجه سانتی‌گراد) در طول فرآیند پلت‌سازی، به تولید پلت‌های با کیفیت بالا (Abdollahi et al., 2008; Cutlip et al., 2013) و حفظ بهداشت خوراک با کاهش جمعیت عوامل میکروبی بیماری‌زا (پاتوژن‌ها) شامل سالمونلا و کمپیلوباکتر (Abdollahi et al., 2013; Amerah et al., 2011) کمک می‌کند. در مقابل، پژوهشگرانی بیان کردند که دمای بالای کاندیشنر می‌تواند منجر به تشکیل نشاسته مقاوم (Abdollahi et al., 2011)، تخریب اسیدهای آمینه حساس به حرارت (Rueda et al., 2022)، غیرفعال شدن ویتامین‌ها (Jensen, 2000) و آنزیم‌ها (Inbarr and Bedford, 1994) و کاهش دسترسی به مواد مغذی (Abdollahi et al., 2010b) شود و عملکرد رشد را به خطر بیندازد (Abdollahi et al., 2011; Cutlip et al., 2008).

در پژوهش‌های دیگری گزارش شد که دمای بالای کاندیشنینگ می‌تواند گوارش‌پذیری مواد مغذی حساس به گرما را از طریق تسریع در تشکیل کمپلکس‌های غیرقابل تجزیه پروتئین-نشاسته و نشاسته-لیپید کاهش دهد (Loar et al., 2014). دمای پایین کاندیشنینگ نیز ممکن است نتواند شرایط لازم برای غیرفعالسازی عوامل ضدتغذیه‌ای، ژلاتینه شدن مناسب نشاسته و دنا‌توره شدن پروتئین را فراهم نماید و پلت با کیفیت مناسب تولید نشود، لذا شناسایی دمای بهینه برای تولید پلت با کیفیت مناسب و دارای شاخص پایداری پلت (PDI)^۱ بالا و مواد مغذی با کیفیت بسیار اهمیت دارد (Abdollahi et al., 2013; Perera et al., 2021).

افزایش زمان کاندیشنینگ، کیفیت فیزیکی پلت را بهبود می‌بخشد (Fahrenheit, 2012). همچنین افزایش زمان نگهداری در کاندیشنر ممکن است ژلاتینه شدن نشاسته و دنا‌توره شدن پروتئین را افزایش دهد (Iravani et al., 2024). عطار و همکاران (Attar et al., 2018) نشان دادند که دو دقیقه کاندیشنینگ در مقایسه با چهار دقیقه کاندیشنینگ جیره‌های پایانی، شاخص پایداری پلت و سختی پلت، ریخت‌شناسی روده و گوارش‌پذیری مواد مغذی را بهبود بخشید. مطالعات پیشین نشان داد که فرآوری و مدت زمان کاندیشنینگ بر غلظت لیپیدهای خونی اثر می‌گذارد، به‌طوری‌که افزایش مدت زمان

های (density lipoprotein, HDL)، تری گلیسرید و فعالیت آنزیم‌های کبدی از جمله آسپارتات آمینوترانسفراز (Aspartate aminotransferase, AST) و آلانین آمینوترانسفراز (Alanine aminotransferase, ALT) پلاسما، خون، توسط کیت‌های تشخیص کمی شرکت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفوتومتری اتوانالایزر جسان ۴۴۰۰ (جسان ۴۴۰۰، کشور ایتالیا) اندازه‌گیری گردید. غلظت لیپوپروتئین با چگالی پایین (Low density lipoprotein, LDL) نیز از طریق رابطه ۱ محاسبه شد (Daneshakul et al., 2015).

$$\text{LDL (mg/dl)} = \text{total cholesterol} / 1.19 + \text{triglyceride} \times 1.9 - \text{HDL} \times 1.3 \quad (۱)$$

اصلی نیز نشان داد که هیچ یک از مشخصه‌های زمان و دما بر کیفیت پلت تأثیر معنی‌داری نداشتند.

طی فرآیند کاندیشنینگ، لازم است که با افزایش دما، بخار نیز به دستگاه تزریق شود. این بخار سبب افزایش میزان چسبندگی ذرات خوراک شده و آن‌ها را به صورت قالب‌پذیر یا شکل‌پذیر در می‌آورد. این عامل، کیفیت فیزیکی پلت‌ها را بهبود می‌بخشد (Froetschner, 2006). پیرا و همکاران (Perera et al., 2021) گزارش کردند که افزایش دمای کاندیشنر از ۶۰ به ۸۸ درجه سانتی‌گراد، دوام پلت را تا ۴/۲ درصد افزایش می‌دهد. همچنین محققان گزارش کردند که در پاسخ به افزایش دمای کاندیشنر، محتوای نشاسته ژلاتینه‌شده افزایش یافت (Abdollahi et al., 2011; Cutlip et al., 2008) که سبب افزایش گرانروی جیره‌ها، بهبود حجم اتصال ذرات خوراک و در نتیجه افزایش کیفیت پلت گردید (Svihus et al., 2005). بنابراین، ترکیبی از عوامل ناشی از دمای بالای، رطوبت و کیفیت بخار مرطوب مورد استفاده در کاندیشنر منجر به مقاومت بالاتر پلت در خوراک به فرم فیزیکی پلت می‌شود (Perera et al., 2021). به طور مشابه، محققان دیگری نیز گزارش کردند که با افزایش دما و زمان کاندیشنینگ، PDI افزایش یافت (Dos Santos et al., 2020). افزایش دمای کاندیشنر به بالاتر از ۸۵ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش شاخص PDI و شاخص ژلاتینه شدن نشاسته در خوراک پلت گردید. هر چند دمای بالای کاندیشنر اثرات متفاوتی بر اجزای مواد خوراکی بسته به نوع مواد مغذی خوراک دارد (Cui et al., 2024). استفاده از سطح بالای روغن سویا در جیره‌ها نیز می‌تواند اثر منفی بر کیفیت پلت و PDI داشته باشد (Abadi et al., 2019).

میلی بار به صورت پنوماتیک به گردش درآمدند. نمونه‌ها الک شده و بعد از خروج از دستگاه وزن‌کشی شدند. نسبت وزن ثانویه به وزن اولیه ضربدر ۱۰۰، درصد PDI را مشخص کرد (Abdollahi et al., 2012).

برای بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی خون، در پایان دوره آزمایشی (۴۲ روزگی)، دو پرنده از هر تکرار در لوله آزمایش حاوی ماده ضد انعقاد، خون‌گیری شد. برای جداسازی پلاسما، خون به سرعت سانتریفیوژ (۳۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه) گردید. گلوکز، آلبومین، پروتئین کل، کلسترول، لیپوپروتئین با چگالی بالا (High density lipoprotein, HDL) و لیپوپروتئین با چگالی پایین (Low density lipoprotein, LDL) را به روش فلوئوریمتری (Fluorimetry) اندازه‌گیری کردند (Garcia et al., 2007).

در پایان دوره آزمایشی (۴۲ روزگی)، ۲ پرنده از هر تکرار به طور تصادفی برای کشتار انتخاب شدند. وزن لاشه، سینه، ران، قلب، طحال، کبد، بورس فابریسیوس، چربی بطنی، پانکراس و کیسه صفرا به عنوان درصدی از وزن زنده ثبت و محاسبه گردید. برای بررسی ساختار پرزهای بافت ژژنوم، نمونه‌ای به طول تقریبی یک سانتی‌متر از بخش میانی ژژنوم برداشته و در محلول بافر فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد، پس از ۲۴ ساعت، محلول فرمالین نمونه‌ها تعویض گردید. نمونه‌ها در پارافین جاسازی و با استفاده از میکروتوم (SLEE آلمان، مدل ۴۰۵۵)، برش‌هایی به ضخامت شش میکرومتر تهیه و با هماتوکسیلین-آئوزین رنگ‌آمیزی شد. به منظور ارزیابی شاخص‌های ریخت‌شناسی بافت از جمله طول و عرض پرز و عمق کریپت، میکروسکوپ نوری (Olympus آلمان، مدل BX51) مورد استفاده قرار گرفت. سپس نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و مساحت پرز محاسبه شد (Garcia et al., 2007).

تجزیه آماری داده‌ها

داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار اکسل مرتب و سامان‌دهی شدند، سپس در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD^۱) با آرایش فاکتوریل ۲×۴ (با چهار سطح دما و دو سطح زمان) به روش GLM^۲ به وسیله نرم‌افزار SAS 9.4 مورد تجزیه واریانس دوطرفه قرار گرفتند، مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون آماری توکی‌کرامر در سطح معنی‌داری P<0.05 انجام شد.

نتایج و بحث

کیفیت پلت (PDI): نتایج مربوط به تأثیر زمان و دمای کاندیشنینگ بر کیفیت پلت در جدول ۲ نشان داده شده است. یافته‌ها نشان می‌دهد که زمان و دمای کاندیشنینگ در هیچ یک از دوره‌های آزمایشی بر کیفیت و دوام پلت اثر معنی‌داری نداشت. بررسی اثرات

جدول ۱- ترکیب اقلام خوراکی در جیره‌های آزمایشی (گرم/کیلوگرم)
Table 1- Composition of feed items in experimental diets (g/kg)

ماده خوراکی Ingredient	(۱-۱۰ روزگی) (1-10 days)	(۱۱-۲۴ روزگی) (11-24 days)	(۲۵-۴۲ روزگی) (25-42 days)
ذرت Corn	54.90	56.69	63.79
روغن سویا Soybean oil	1.2	1.2	1.2
کنجاله سویا (۴۴٪ CP) Soybean meal (44% CP)	35.00	33.90	25.95
گلوتن ذرت Corn gluten	0.99	0.00	0.00
سیوس گندم Wheat bran	2.00	2.54	4.16
کلسیم کربنات Calcium carbonate	1.10	1.19	1.12
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.55	1.23	0.58
نمک Salt	0.25	0.25	0.245
سدیم بی کربنات NaHCO ₃	0.071	0.073	0.074
مکمل معدنی ^۱ Mineral premix	0.25	0.25	0.25
مکمل ویتامینی ^۲ Vitamin premix	0.25	0.25	0.25
دی ال - متیونین DL-methionine	0.296	0.280	0.207
ال - لایزین L-lysine	0.331	0.294	0.240
ترئونین Threonine	0.091	0.088	0.06
کوکسیدواستات Coccidostat	0.05	0.05	0.05
بنتونیت Bentonite	1.55	1.60	1.95
توکسین بایندر Toxin binder	0.5	0.5	0.5
مولتی آنزیم Multi enzyme	0.005	0.005	0.005
فیتاز Phytase	0.00075	0.0075	0.0075
مواد مغذی محاسبه شده Calculated nutrient			
انرژی سوخت‌وساز (کیلوکالری بر کیلوگرم) Metabolisable energy (kcal/kg)	2980	3080	3170
پروتئین خام (درصد) Crude protein	22.5	20.5	19.00
کلسیم (درصد) Calcium	1.05	0.98	0.93
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorous	0.53	0.45	0.40
لایزین Lysine	1.45	1.26	1.10
متیونین + سیستئین Met+Cys	0.91	0.78	0.65

^۱ مکمل معدنی تأمین‌کننده مقادیر عناصر معدنی ذیل در هر کیلوگرم خوراک است: ۳ میلی‌گرم مس، ۱۵ میلی‌گرم روی، ۲۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۰ میلی‌گرم آهن و ۰/۳ میلی‌گرم پتاسیم.

^۲ مکمل ویتامینی تأمین‌کننده مقادیر ویتامین‌های ذیل در هر کیلوگرم خوراک است: ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۳ میلی‌گرم ویتامین E، ۲/۲ میلی‌گرم ویتامین K₃، ۱ میلی‌گرم ویتامین B₂، ۴ میلی‌گرم کلسیم پنتوتنات، ۱۵ میلی‌گرم نیاسین و ۱۳ میلی‌گرم برکرم ویتامین B₆.

^۱ Mineral premix supplied the following per kilogram of feed: Cu: 3 mg, Zn: 15 mg, Mn: 20 mg, Fe: 10 mg and K: 0.3 mg.

^۲ The vitamin premix supplied the following per kilogram of feed: vitamin A: 5000 IU, vitamin D₃: 500 IU, vitamin E: 3 mg, vitamin K₃: 3.2 mg, vitamin B₂: 1 mg, Pantothenic acid: 4 mg, Niacin: 15 mg, Pyridoxine: 13 mg.

خوراکی جیره، اثرات متقابل بین مواد خوراکی جیره (روغن و مواد معدنی)، اندازه ذرات خوراک و طول پلت نیز می‌تواند بر کیفیت و استحکام پلت تأثیر بگذارد. در این مطالعه با توجه به کیفیت مواد خوراکی مورد استفاده در تنظیم جیره، دما و زمان بر کیفیت پلت و شاخص پایداری پلت اثر نداشت.

علاوه بر این، مقادیر بالای چربی در جیره می‌تواند ذرات خوراک را پوشانده، مانعی برای نفوذ بخار در ذرات خوراک ایجاد کرده و از ژلاتینه شدن نشاسته و چسبندگی آن جلوگیری کند (Cui et al., 2024; Salahshour et al., 2023). به‌طور کلی می‌توان دریافت که زمان و دمای کاندیشنینگ تنها یکی از عوامل اثرگذار بر کیفیت پلت است و عوامل دیگری همچون ترکیب جیره، تعداد و تنوع مواد

جدول ۲- اثرات دما و زمان کاندیشنینگ در فرآیند تولید خوراک بر کیفیت پلت (درصد)

Table 2- Effect of temperature and time conditioning in feed processing on PDI (%)

دما (سانتیگراد) Temperature (°C)	زمان (دقیقه) Time (minute)	آغازین Starter	رشد Grower	پایانی Finisher
70	45	97.24	98.48	98.18
	65	97.29	98.58	98.22
76	45	97.23	98.57	98.17
	65	97.32	98.59	98.24
82	45	97.21	98.55	98.24
	65	97.22	98.55	98.17
88	45	97.29	98.64	98.26
	65	97.13	98.57	98.16
اشتباه معیار میانگین SEM		0.060	0.056	0.029
سطح معنی داری P-value		0.472	0.700	0.182
دما (سانتیگراد) Temperature (°C)	اثرات اصلی Main effects			
70	97.26	98.53	98.20	
76	97.27	98.58	98.20	
82	97.21	98.55	98.20	
88	97.21	98.60	98.21	
اشتباه معیار میانگین SEM	0.894	0.599	0.689	
سطح معنی داری P-value	0.606	0.596	0.954	
زمان (دقیقه) Time (minute)	45	97.24	98.56	98.21
	65	97.24	98.57	98.20
اشتباه معیار میانگین SEM	0.571	0.773	0.772	
سطح معنی داری P-value	1.000	0.773	0.459	

^{ab} اعداد درون هر ستون که دارای حروف مختلف هستند، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر دارند (تست توکی؛ $P < 0.05$).

^{ab} Values within a column followed by different superscripts are significantly different. ($P < 0.05$; Tukey's pairwise test).

SEM: اشتباه معیار میانگین

SEM: standard error of mean

درجه سانتی‌گراد با زمان ۴۵ ثانیه، بالاترین مقدار مصرف خوراک را نشان داد که این مقدار به‌طور معنی‌داری از تیمارهای مربوط به دماهای ۷۰ و ۷۶ درجه سانتی‌گراد با زمان ۶۵ ثانیه بیشتر بود ($P < 0.05$). در خصوص ضریب تبدیل خوراک، کمترین مقدار مربوط

عملکرد رشد: داده‌های مرتبط با اثر دماهای مختلف و زمان کاندیشنینگ در تولید خوراک پلت بر شاخص‌های عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ ارائه شده است. در بررسی میزان مصرف خوراک روزانه در بازه زمانی ۱ تا ۱۰ روزگی، تیمار دمای ۸۸

به دماهای ۷۶ و ۸۲ درجه سانتی گراد با زمان ۶۵ ثانیه بود و نسبت به برخی تیمارها تفاوت معنی داری نشان دادند ($P < 0.05$).

جدول ۳- اثرات دماهای مختلف و زمان کاندیشینگ در فرایند تولید خوراک پلت بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی

دما (سانتیگراد) Treatments (°C)	زمان (دقیقه) Time (minute)	۱-۱۰ روزگی 1-10 days				۱۱-۲۴ روزگی 11-24 days				۲۵-۴۲ روزگی 25-42 days				۴۳-۷۶ روزگی 43-76 days			
		ADWG (g)	ADFI (g)	FCR	ADWG (g)	ADFI (g)	FCR	ADWG (g)	ADFI (g)	FCR	ADWG (g)	ADFI (g)	FCR	ADWG (g)	ADFI (g)	FCR	ADWG (g)
70	45	23.56	25.37 ^{ab}	1.09 ^{ab}	59.75 ^{bc}	76.88	1.28	56.54 ^a	101.45	1.85 ^c	44.86 ^{ab}	67.82	1.52 ^{cd}	45.20 ^a	67.97	1.50 ^{cd}	43.11 ^{ab}
76	45	20.34	23.41 ^b	1.16 ^a	65.87 ^a	77.02	1.17	56.17 ^{ab}	103.35	1.84 ^c	45.20 ^a	68.17	1.70 ^{bc}	39.95 ^{cd}	68.38	1.66 ^c	42.44 ^b
82	45	22.14	25.02 ^{ab}	1.13 ^a	66.20 ^a	77.10	1.17	41.51 ^{cd}	102.48	2.48 ^b	39.95 ^{cd}	68.17	1.46 ^d	46.27 ^a	68.38	1.66 ^c	43.11 ^{ab}
88	45	23.24	23.05 ^b	0.99 ^b	59.76 ^{bc}	77.78	1.30	60.02 ^a	102.78	1.71 ^c	46.27 ^a	67.80	1.55 ^{cd}	40.90 ^{bc}	68.38	1.66 ^c	43.11 ^{ab}
70	65	22.49	25.51 ^{ab}	1.13 ^a	61.28 ^{abc}	76.90	1.26	46.70 ^{bc}	102.70	2.20 ^{bc}	40.90 ^{bc}	68.38	1.55 ^{cd}	36.25 ^{de}	68.37	1.89 ^{ab}	34.59 ^e
76	65	23.52	23.81 ^{ab}	1.01 ^b	59.51 ^{bc}	77.36	1.30	54.15 ^{ab}	103.48	1.92 ^c	40.90 ^{bc}	68.38	1.55 ^{cd}	36.25 ^{de}	68.37	1.89 ^{ab}	34.59 ^e
82	65	22.52	26.32 ^a	1.17 ^a	64.05 ^{ab}	76.83	1.20	33.34 ^d	102.06	3.09 ^a	36.25 ^{de}	68.37	1.89 ^{ab}	34.59 ^e	67.15	1.94 ^a	34.59 ^e
88	65	21.90	23.83 ^{ab}	1.09 ^{ab}	58.58 ^c	79.70	1.36	32.96 ^d	99.40	3.01 ^a	34.59 ^e	67.15	1.94 ^a	34.59 ^e	67.15	1.94 ^a	34.59 ^e
استیاه معیار میانگین		0.776	0.595	0.041	1.817	1.680	0.049	2.098	1.699	0.114	0.889	1.058	0.043				
SEM		0.136	0.0041	0.038	0.020	0.935	0.100	<0.0001	0.756	<0.0001	<0.0001	0.993	<0.0001				
P-value																	
اثرات اصلی																	
Main effects																	
دما (سانتیگراد)	70	21.82	24.39	1.13	62.81	76.95	1.23	56.35 ^a	102.40	1.85 ^b	45.03 ^a	67.90	1.51 ^b	43.11 ^{ab}	67.98	1.58 ^b	42.44 ^b
76	22.69	24.07	1.06	62.98	77.44	1.23	50.77 ^{ab}	102.62	2.10 ^b	2.10 ^b	43.11 ^{ab}	67.98	1.58 ^b	42.44 ^b	68.31	1.61 ^b	42.44 ^b
82	22.01	24.66	1.07	60.34	77.13	1.28	50.43 ^b	103.09	2.06 ^b	3.05 ^a	35.42 ^c	67.78	1.91 ^a	35.42 ^c	67.78	1.91 ^a	35.42 ^c
88	22.21	25.08	1.13	61.37	78.26	1.28	33.15 ^c	100.72	1.44	0.03	0.639	0.85	0.02				
استیاه معیار میانگین		0.381	0.49	0.02	0.65	1.21	0.02	1.506	1.44	0.03	0.639	0.85	0.02				
SEM		0.434	0.370	0.203	0.425	0.866	0.570	<0.0001	0.451	<0.0001	<0.0001	0.961	<0.0001				
P-value																	
زمان	45	22.60	25.55 ^a	1.13 ^a	62.81	76.93	1.23	44.52 ^b	102.17	2.41	40.51 ^b	68.19	1.69 ^a	42.49 ^a	67.79	1.61 ^b	42.49 ^a
65	22.25	23.52 ^b	1.06 ^b	60.90	77.96	1.28	50.82 ^a	102.25	1.01	0.01	0.451	0.60	0.02				
استیاه معیار میانگین		0.269	0.34	0.02	0.46	0.85	0.03	1.065	1.01	0.01	0.451	0.60	0.02				
SEM		0.526	<0.001	0.029	0.147	0.389	0.134	0.0002	0.950	0.001	0.0036	0.589	0.013				
P-value																	

ADWG: average daily weight gain (g); ADFI: average daily feed intake (g); FCR: feed conversion ratio.
^{ab} Values within a column followed by different superscripts are significantly different. $P < 0.05$; Tukey's pairwise test.
 SEM: standard error of mean

درحالی که مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند. در بررسی افزایش وزن روزانه، بیشترین مقدار

دما و زمان کاندیشینگ تأثیر معنی داری بر افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی در دوره ۱۱ تا ۲۴ روزگی داشتند ($P < 0.05$).

به حداکثر رساندن عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی، ۸۰ درجه سانتی-گراد توصیه کردند. عبداللهی و همکاران (*Abdollahi et al., 2010b*) گزارش کردند که اثر دمای کاندیشینر بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی با تأثیر بر میزان دسترسی مواد مغذی رابطه مستقیم دارد.

در تجزیه و تحلیل رگرسیونی اثرات دماهای کاندیشینر نشان داد که استفاده از بالاترین دمای کاندیشینر (۹۰ درجه سانتی-گراد) در خوراک پلت یا آردی باعث کاهش میزان افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی گردید که احتمالاً به دلیل افزایش گرانیروی مواد گوارشی روده و کاهش دسترسی به مواد مغذی در طول فرآیند حرارت دادن مرتبط باشد (*Netto et al., 2019*). فرآوری حرارتی، حلالیت فیبر و ژلاتینه شدن نشاسته را افزایش می‌دهد که سبب افزایش گرانیروی محتویات گوارشی روده و کاهش جذب برخی از مواد مغذی می‌شود (*Svihus, 2006*). در مقابل، دالکه و همکاران (*Dahlke et al., 2003*) گزارش کردند که مصرف خوراک فرآوری‌شده در دمای بالاتر سبب افزایش وزن بدن می‌شود، زیرا گرما پیوندهای دی سولفیدی را شکسته، مهارکننده‌های پروتئاز را غیرفعال کرده که به دنبال آن گوارش پروتئین بهبود می‌یابد.

وزن لاشه و اندام‌های داخلی: داده‌های مرتبط با وزن نسبی

لاشه و اندام‌های داخلی (جدول ۴) نشان داد که وزن نسبی لاشه، سینه، پانکراس و طول نسبی دوازدهه و ایلئوم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. راندمان لاشه در جوجه‌های مصرف‌کننده جیره پلت در دمای ۸۲ درجه سانتی-گراد و زمان ۶۵ ثانیه (۷۲/۶۲) در مقایسه با سایر تیمارها به جز جیره پلت در دماهای ۷۰ و ۷۶ درجه سانتی-گراد و زمان ۶۵ ثانیه بیشتر بود ($P < 0.01$). همچنین، وزن نسبی سینه در جوجه‌های مصرف‌کننده جیره پلت در دمای ۸۲ درجه سانتی-گراد و زمان ۶۵ ثانیه (۲۵/۶۶) در مقایسه با جیره پلت در دمای ۸۸ درجه سانتی-گراد و زمان ۶۵ ثانیه بیشتر بود ($P = 0.07$). وزن نسبی لوزالمعدة در جوجه‌های مصرف‌کننده پلت تولیدشده در دمای ۸۲ درجه سانتی-گراد و زمان ۴۵ ثانیه (۰/۳۶) نسبت به جیره پلت در دماهای ۷۰ درجه سانتی-گراد و زمان ۴۵ ثانیه و ۷۶ درجه سانتی-گراد و زمان ۶۵ ثانیه بالاتر بود ($P < 0.001$). یافته‌ها نشان می‌دهد که افزایش دما تا ۸۲ درجه همزمان با افزایش زمان کاندیشینر باعث افزایش راندمان لاشه و درصد گوشت سینه شد، ولی در دمای بالاتر، اثر کاهشی داشت. اثر دما و زمان کاندیشینر بر وزن نسبی ران، چربی بطنی، کبد، کیسه صفرا، بورس فابریوس، طحال، قلب و کبد معنی‌دار نبود. جوجه‌های تغذیه‌شده با پلت تولیدی در دمای ۷۰ درجه سانتی-گراد و زمان ۴۵ ثانیه بالاترین طول نسبی دوازدهه را در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی نشان دادند ($P < 0.0001$). جوجه‌های

مربوط به تیمار دمای ۷۶ درجه سانتی-گراد با زمان کاندیشینر ۴۵ ثانیه و دمای ۷۰ درجه سانتی-گراد با زمان ۶۵ ثانیه بود که این مقادیر تفاوت معنی‌داری با برخی تیمارهای دیگر داشتند. کمترین مقدار افزایش وزن روزانه نیز در تیمار دمای ۸۸ درجه سانتی-گراد با زمان ۶۵ ثانیه مشاهده شد. در دوره ۲۵ تا ۴۲ روزگی، بیشترین مقدار افزایش وزن روزانه مربوط به تیمار دمای ۷۶ درجه سانتی-گراد با زمان ۶۵ ثانیه و دمای ۷۰ درجه سانتی-گراد با زمان ۴۵ ثانیه بود که این مقادیر به‌طور معنی‌داری از تیمارهای دارای دمای ۸۸ درجه سانتی-گراد بیشتر بودند. مصرف خوراک روزانه بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمارهای ۷۰ درجه سانتی-گراد با زمان ۴۵ و ۶۵ ثانیه، دماهای ۷۶ و ۸۲ درجه سانتی-گراد با زمان ۶۵ ثانیه بود و بالاترین مقدار در تیمار دمای ۸۸ درجه سانتی-گراد مشاهده شد.

در کل دوره پرورش (۱ تا ۴۲ روزگی)، بیشترین افزایش وزن روزانه مربوط به تیمارهای دمای ۷۶ و ۷۰ درجه سانتی-گراد با زمان ۶۵ ثانیه بود و کمترین مقدار در تیمار دمای ۸۸ درجه سانتی-گراد ثبت شد. مصرف خوراک روزانه بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمار دمای ۷۶ درجه سانتی-گراد با زمان ۶۵ ثانیه (۱/۴۶) بود و بیشترین مقدار به تیمار دمای ۸۸ درجه سانتی-گراد با زمان ۶۵ ثانیه (۱/۹۴) اختصاص یافت. در کل، نتایج نشان می‌دهد که دماهای بالاتر کاندیشینر (به‌ویژه ۸۸ درجه سانتی-گراد) به‌ویژه با زمان کاندیشینر بیشتر منجر به کاهش معنی‌دار افزایش وزن روزانه و افزایش ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی در هر دو دوره انتهایی و کل دوره پرورش می‌شود. در مقابل، دماهای متوسط (به‌ویژه ۷۶ درجه سانتی-گراد با زمان ۶۵ ثانیه) باعث بهبود معنی‌دار عملکرد رشد و کارایی خوراک می‌گردد.

جیره‌های پلت‌شده اثر مثبت بر صفات عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی دارند، زیرا شکل فیزیکی پلت‌ها، مصرف خوراک را افزایش می‌دهد (*Massuquetto et al., 2019*). محققان گزارش کردند که شکل خوراک بر انرژی هر واحد خوراک که برای تولید و افزایش گرما استفاده می‌شود، تأثیر می‌گذارد. در نتیجه، جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با پلت، افزایش حرارت کمتری داشته و از انرژی خوراک بیشتری برای اهداف تولید استفاده کردند (*Latshaw and Moritz, 2009*). در مطالعه حاضر، اثر منفی افزایش دما و زمان کاندیشینر بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی قابل مشاهده است. طبق نظریه سرول و بدفورد (*Creswell and Bedford, 2006*)، دمای بالاتر از ۸۵ درجه سانتی-گراد کاندیشینر مانع عملکرد مناسب جوجه‌های گوشتی می‌شود که احتمالاً به دلیل از بین رفتن جزئی بخشی از مواد مغذی خوراک حساس به گرما شامل بخشی از ویتامین‌ها، مواد معدنی و اسیدهای آمینه فرار باشد. این محققان دمای کاندیشینر را برای

شاخص‌های بیوشیمیایی خون

داده‌های مربوط به تأثیر شرایط کاندیشنینگ خوراک بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون در جدول ۵ ارائه شده است. غلظت گلوکز خون در تیمارهای فرآوری شده در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، در هر دو زمان ۴۵ و ۶۵ ثانیه، نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0.0001$). همچنین، غلظت پروتئین کل در تیمارهای با دمای ۷۶ درجه و زمان ۶۵ ثانیه ($۶/۴۴$) و همچنین دمای ۸۲ درجه و زمان ۴۵ ثانیه ($۶/۴۲$)، نسبت به تیمار دمای ۷۰ درجه و زمان ۴۵ ثانیه افزایش یافت ($P < 0.0001$). غلظت آلبومین نیز در تیمارهای ۷۰ و ۷۶ درجه با زمان ۶۵ ثانیه ($۳/۷$)، در مقایسه با تیمار ۷۰ درجه با زمان ۴۵ ثانیه بالاتر بود ($P < 0.0001$). بیشترین غلظت کلسترول خون مربوط در تیمار دمای ۷۰ درجه با زمان ۶۵ ثانیه ($۱۶۹/۸۷$) مشاهده شد و این مقدار به‌جز در مقایسه با تیمار ۷۰ درجه با زمان ۴۵ ثانیه، تفاوت قابل توجهی داشت. به‌طور کلی، افزایش دما و طولانی‌تر شدن زمان کاندیشنینگ می‌تواند سبب کاهش غلظت گلوکز و کلسترول سرم خون جوجه‌های گوشتی شود، درحالی‌که غلظت پروتئین کل و آلبومین در دماها و زمان‌های بالاتر افزایش یافت ($P < 0.0001$). بیشترین غلظت تری‌گلیسرید مربوط به تیمارهای دمای ۷۰ و ۷۶ درجه با زمان ۶۵ ثانیه بود که از نظر آماری با تیمار دمای ۸۲ درجه و زمان ۴۵ ثانیه تفاوت معنی‌داری داشت. همچنین، بیشترین مقدار HDL در تیمار دمای ۷۰ درجه با زمان ۶۵ ثانیه نسبت به تیمارهای دمای ۷۰ و ۷۶ درجه با زمان ۴۵ ثانیه و تیمار ۸۲ درجه با زمان ۶۵ ثانیه مشاهده شد ($P < 0.0001$). بیشترین مقدار LDL نیز در تیمار دمای ۷۶ درجه با زمان ۶۵ ثانیه ثبت شد که این مقدار نسبت به سایر تیمارها به‌جز تیمار ۷۰ درجه تفاوت معنی‌داری داشت. فعالیت آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز در دمای ۸۸ درجه و در هر دو زمان ۴۵ و ۶۵ ثانیه کاندیشنینگ، به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار دمای ۸۲ درجه با زمان ۶۵ ثانیه افزایش یافت. در مقابل، تأثیر دما و زمان کاندیشنینگ بر آلانین آمینوترانسفراز معنی‌دار نبود و مقادیر این آنزیم در تمامی تیمارها مشابه بود. در مجموع، تیمارهای با دما و زمان پایین‌تر عمدتاً با افزایش مقادیر تری‌گلیسرید و HDL همراه بودند، درحالی‌که دما و زمان بالاتر معمولاً باعث کاهش این شاخص‌ها و افزایش فعالیت آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز می‌شد.

تغذیه‌شده با پلت تولیدی در دمای ۸۸ درجه سانتی‌گراد و زمان ۶۵ ثانیه بالاترین طول نسبی ایلئوم ($۸۰/۹۰$) را نسبت به تیمار با دمای ۷۶ و زمان ۶۵ ثانیه ($۵۵/۴۰$) نشان دادند ($P < 0.003$). محققان بیان کردند که دماهای مختلف کاندیشنینگ (۷۴ ، ۸۵ و ۹۴) و فشارهای بخار مختلف (۲۰ و ۸۰ psi) در تولید پلت بر خصوصیات لاشه و وزن سینه تأثیر معنی‌داری نداشت (Rueda et al., 2024; Loar et al., 2014; Cui et al., 2024). نیز دریافتند که وزن نسبی ماهیچه سینه، ماهیچه ران، چربی محوطه شکمی، کبد، پیش معده، سنگدان و شاخص‌های قلب تحت تأثیر دماهای مختلف مورد استفاده در کاندیشنینگ قرار نگرفتند (Cui et al., 2024; Salahshour et al., 2023). طول نسبی روده باریک، شاخص مهمی در ارزیابی میزان رشد دستگاه گوارش است (Wang et al., 2020; Wen et al., 2022). با این حال، یافته‌های مربوط به اثرات دمای کاندیشنینگ بر طول نسبی روده باریک پرندگان سازگار نیست. اثر دماهای مختلف کاندیشنینگ بر طول نسبی دوازدهه، ژژنوم و ایلئوم در مطالعه عبداللهی و همکاران (Abdollahi et al., 2011) گزارش شد، پرندگانی که با جیره‌های ۶۰، ۷۵ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد کاندیشنینگ تغذیه شدند، طول نسبی روده باریک مشابهی داشتند. همچنین عباسی‌پور و همکاران (Abbasi Pour et al., 2021) نیز دریافتند که زمان کاندیشنینگ تأثیری بر وزن و طول بخش‌های مختلف روده باریک و وزن نسبی اندام‌های داخلی نداشت. با این حال، مطالعه دیگری نشان داد که طول نسبی ژژنوم، ایلئوم و کل روده باریک در جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیره‌های ۶۰ درجه سانتی‌گراد کوتاه‌تر از جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره‌های پلت‌شده در دمای ۷۵ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد بود (Abdollahi et al., 2010a). در مطالعه‌ای در جیره غذایی حاوی ذرت و کنجاله سویا، طول نسبی ژژنوم در جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با پلت تهیه‌شده در زمان دو دقیقه کاندیشنینگ کاهش یافت، درحالی‌که سایر قسمت‌های روده باریک تحت تأثیر قرار نگرفت (Attar et al., 2018). دلیل این نتایج متنوع می‌تواند زمان و دماهای مختلف کاندیشنینگ، ترکیب جیره پایه و سن پرند باشد. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش دمای (۸۸ درجه سانتی‌گراد) کاندیشنینگ، دسترسی پرنده‌ها به مواد مغذی جیره محدود شده و بر عملکرد رشد پرند اثر منفی می‌گذارد. احتمال می‌رود که این افزایش طول ایلئوم به‌دلیل افزایش مواد مغذی آسیب‌دیده حرارتی در شیر به‌گوارشی باشد که باعث افزایش ماندگاری در ایلئوم و افزایش اندازه ایلئوم شده باشد.

جدول ۴- اثرات دما و زمان کاندیشنر در فرآیند تولید خوراک پلت بر وزن نسبی اندامهای داخلی و طول نسبی روده باریک (درصدی از وزن بدن)
Table 4- Effect of temperature and time conditioning in pellet production on the carcass relative weight and relative length of intestine in broiler chickens (% of live body weight)

دما (سانتیگراد) Temperature (°C)	زمان Time	لاشه Carcass	سینه Breast	ران Thigh	کبد Liver	چربی شکمی Abdominal fat	لوزالمده Pancreases	بورس Bursa of Fabricius	کیسه صفرا Gallbladder	قلب Heart	طحال Spleen	طول دوازده Duodenum length (cm)	طول ژنوم Jejunum length (µm)	طول ایلوم Ileum length (µm)
70	45	58.54 ^b	25.05 ^{ab}	11.92	2.01	1.88	0.25 ^{bc}	0.18	0.10	0.46	0.12	40.60 ^a	82.30	72.90 ^{ab}
	65	67.82 ^{ab}	24.17 ^{ab}	12.08	2.11	2.10	0.29 ^{abc}	0.12	0.07	0.54	0.12	34.60 ^{bc}	74.20	69.40 ^{ab}
	76	56.53 ^b	24.54 ^{ab}	11.40	2.13	1.87	0.35 ^{ab}	0.16	0.11	0.48	0.10	37.77 ^b	79.11	66.66 ^{ab}
82	45	62.76 ^{ab}	24.61 ^{ab}	11.94	2.13	1.70	0.23 ^c	0.16	0.10	0.53	0.11	29.90 ^c	71.10	55.40 ^b
	65	58.40 ^b	23.67 ^{ab}	14.21	2.32	1.77	0.36 ^a	0.22	0.11	0.54	0.12	36.88 ^{bc}	83.00	71.33 ^{ab}
	88	72.62 ^a	25.66 ^a	12.21	2.07	2.00	0.27 ^{abc}	0.16	0.07	0.45	0.10	33.60 ^{bc}	81.90	64.10 ^{ab}
88	45	58.48 ^b	24.35 ^{ab}	11.63	2.15	1.56	0.25 ^{abc}	0.15	0.08	0.53	0.10	35.11 ^{bc}	83.11	62.66 ^{ab}
	65	59.33 ^b	21.65 ^b	11.94	2.36	1.76	0.25 ^{abc}	0.16	0.09	0.54	0.12	31.90 ^c	82.50	80.90 ^a
	88	59.33 ^b	21.65 ^b	11.94	2.36	1.76	0.25 ^{abc}	0.16	0.09	0.54	0.12	31.90 ^c	82.50	80.90 ^a
انتخاب معیار میانگین SEM		2.879	0.848	0.650	0.150	0.178	0.024	0.025	0.013	0.043	0.010	2.623	4.411	4.148
سطح معنی داری P-value		0.0014	0.071	0.119	0.732	0.501	0.0017	0.388	0.152	0.620	0.429	<0.0001	0.388	0.003
اثرات اصلی														
Main effects														
دما (سانتیگراد) Temperature (°C)	70	63.18	24.61	12.00	2.06	1.99	0.27	0.15	0.08	0.50	0.12	47.60 ^a	78.25	71.15
	76	59.65	24.57	11.67	2.13	1.79	0.29	0.16	0.10	0.50	0.11	36.83 ^b	75.10	61.03
	82	65.51	24.67	13.21	2.19	1.89	0.31	0.19	0.09	0.49	0.11	35.24 ^b	82.45	67.71
	88	58.90	23.00	11.70	2.26	1.66	0.25	0.16	0.09	0.53	0.11	34.00 ^b	80.80	71.78
انتخاب معیار میانگین SEM		0.847	0.561	0.478	0.081	0.114	0.017	0.014	0.009	0.025	0.007	1.531	3.524	3.652
سطح معنی داری P-value		0.083	0.151	0.078	0.600	0.301	0.076	0.472	0.440	0.783	0.640	<0.0001	0.254	0.044
زمان Time	45	57.99 ^b	24.40	12.29	2.15	1.77	0.30 ^a	0.18	0.10 ^a	0.50	0.11	44.34 ^a	80.88	68.39
	65	65.63 ^a	24.02	12.04	2.17	1.89	0.25 ^b	0.15	0.08 ^b	0.51	0.11	32.50 ^b	77.42	67.45
	88	59.99	0.396	0.338	0.057	0.081	0.012	0.013	0.006	0.018	0.005	1.245	1.956	2.521
انتخاب معیار میانگین SEM		0.003	0.527	0.596	0.903	0.351	0.028	0.207	0.035	0.708	0.835	<0.0001	0.157	0.749
سطح معنی داری P-value		0.003	0.527	0.596	0.903	0.351	0.028	0.207	0.035	0.708	0.835	<0.0001	0.157	0.749

ab Values within a column followed by different superscripts are significantly different. $P < 0.05$; Tukey's pairwise test.
 SEM: Standard error of mean

جدول ۵- اثرات دما و زمان کاندیشینگ در فرآیند تولید خوراک پلت بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون (mg/dl) و فعالیت آنزیم‌ها (U) در جوجه‌های گوشتی

دما (سانتی‌گراد) Temperature (°C)	زمان Time	گلوکز Glucose	پروتئین کل Total Protein	آلبومین Albumin	کلسترول Cholesterol	تری‌گلیسرید Triglyceride	HDL ¹	LDL ²	AST ⁴	ALT ⁵
70	45	258.71 ^a	5.32 ^d	2.79 ^d	156.98 ^{ab}	77.14 ^{ab}	44.28 ^b	138.46 ^a	252.02 ^{abc}	3.68
	65	247.20 ^a	6.17 ^{ab}	3.63 ^a	169.87 ^a	95.29 ^a	58.41 ^a	142.97 ^a	256.08 ^{abc}	3.69
76	45	201.79 ^b	5.37 ^{cd}	2.84 ^{cd}	125.69 ^{bc}	66.30 ^b	40.42 ^b	109.43 ^b	215.18 ^{bc}	3.30
	65	241.33 ^{ab}	6.44 ^a	3.70 ^a	148.74 ^{bc}	94.10 ^a	48.56 ^{ab}	124.10 ^{ab}	264.77 ^{ab}	3.81
82	45	203.12 ^b	6.42 ^a	3.11 ^{bcd}	120.30 ^c	66.87 ^b	49.51 ^{ab}	98.20 ^b	252.51 ^{ab}	3.78
	65	236.14 ^{ab}	5.91 ^b	3.21 ^b	123.08 ^c	63.11 ^b	42.15 ^b	104.22 ^b	204.54 ^c	3.59
88	45	200.12 ^b	6.02 ^{ab}	3.14 ^{bc}	122.71 ^c	76.96 ^{ab}	48.46 ^{ab}	106.34 ^b	285.06 ^a	4.14
	65	231.33 ^{ab}	5.84 ^{bc}	3.25 ^b	140.90 ^{bc}	76.06 ^{ab}	49.40 ^{ab}	120.43 ^b	285.94 ^a	3.34
انتخاب معیار میانگین										
SEM		9.333	0.113	0.075	8.145	4.940	2.342	11.304	14.587	0.326
سطح معنی داری P-value		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.652
اثرات اصلی										
Main effects										
دما (سانتی‌گراد) Temperature (°C)	70	252.95 ^a	5.75 ^b	3.21	163.43 ^a	86.22 ^a	51.34	143.22	254.05	3.68
	76	226.56 ^b	5.74 ^b	3.27	147.20 ^{ab}	80.20 ^a	49.49	141.76	239.97	3.55
	82	219.63 ^b	6.08 ^a	3.16	121.69 ^c	64.99 ^b	45.83	101.22	228.53	3.68
	88	213.17 ^b	6.13 ^a	3.20	131.80 ^{bc}	76.51 ^{ab}	48.93	113.39	285.50	3.75
انتخاب معیار میانگین										
SEM		6.61	0.08	0.05	5.75	13.63	1.65	7.99	10.315	0.231
سطح معنی داری P-value		0.0003	0.005	0.552	<0.0001	0.0006	0.135	0.0004	0.358	0.941
زمان Time	45	215.93 ^b	5.84 ^b	2.97 ^b	131.42 ^b	71.82 ^b	45.66 ^b	113.11 ^b	251.19 ^a	3.73
	65	240.22 ^a	6.01 ^a	3.45 ^a	150.64 ^a	82.14 ^a	52.13 ^a	136.68 ^a	227.83 ^b	3.60
انتخاب معیار میانگین										
SEM		4.66	0.05	0.03	4.07	9.63	1.17	5.65	7.29	0.16
سطح معنی داری P-value		0.0004	0.039	<0.0001	0.001	0.004	0.0002	0.004	0.026	0.582

ab اعداد درون هر ستون که دارای حروف مختلف هستند، تفاوت معنی داری با یکدیگر دارند (تست توکی؛ $P < 0.05$).

¹ لیپوپروتئین چگالی بالا، ² آسپارات آمینوترانسفراز، ³ آلانین آمینوترانسفراز، ⁴ AST، ⁵ انتخاب معیار میانگین

ab Values within a column followed by different superscripts are significantly different. $P < 0.05$; Tukey's pairwise test.

¹ High-density lipoprotein; ² Low-density lipoprotein; ³ Aspartate aminotransferase; ⁴ Alanine aminotransferase; SEM: Standard error of mean

ALT در مقایسه با دمای ۸۲ و ۹۲ درجه سانتی‌گراد کاندیشنر شد (Amirabdollahian et al., 2014) که این افزایش غلظت می‌تواند نشان‌دهنده اختلال در نفوذپذیری سلولی کبد باشد. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که دمای پایین و زمان بالای کاندیشنر سبب بهبود عملکرد سلول‌های بدن و کبد و افزایش کیفیت گوشت می‌شود.

ریخت‌شناسی روده: نتایج حاصل از اثر زمان و دمای کاندیشنر بر تغییرات ریخت‌شناسی ژژنوم در جدول ۶ ارائه شده است. جوجه‌های گوشتی که با پلت فرآوری‌شده در دمای ۷۶ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۶۵ ثانیه تغذیه شده بودند، ارتفاع پرز ($P < 0.025$)، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت ($P = 0.059$) و مساحت پرز ($P < 0.024$) بالاتری نسبت به جیره پلت در دمای ۸۲ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۶۵ ثانیه داشتند، عرض پرز و عمق کریپت تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند.

روده باریک نقش اساسی در گوارش و جذب مواد مغذی دارد و شاخص‌های بافت‌شناسی و ریخت‌شناسی روده باریک از جمله ارتفاع پرز، عمق کریپت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت به‌طور مستقیم با ظرفیت دستگاه گوارش و سلامت روده حیوانات مرتبط است (Zhang et al., 2024). پژوهشگران گزارش کردند که دمای کاندیشنر در تهیه جیره پلت می‌تواند بر ظرفیت گوارشی پرنده تأثیر داشته باشد و سبب بهبود شاخص‌های ریخت‌شناسی روده و در نتیجه بهبود عملکرد رشد پرندگان شود (Zhang et al., 2024). سوی و همکاران (Cui et al., 2024) در مطالعه‌ای گزارش کردند که افزایش دمای کاندیشنر سبب افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ناحیه دوازدهه و ایلئوم شد که می‌تواند تأییدی بر افزایش ظرفیت گوارشی و بهبود عملکرد رشد باشد. مطالعات قبلی پیشنهاد کردند که تأمین مواد مغذی مختلف از طریق پردازش خوراک سبب رشد بهتر پرزها و در نتیجه ایجاد پرزهای بلندتر در روده می‌شود (Zang et al., 2009). پرزهای بلندتر نشان‌دهنده بهبود سلامت روده در پرندگان است که علاوه بر ظرفیت بیشتر برای جذب مواد مغذی، یکنواختی و یکپارچگی در مخاط روده ایجاد می‌کند (Borsatti, 2020). سلحشور و همکاران (Salahshour et al., 2023) گزارش کردند که زمان کاندیشنر نیز به دسترسی و جذب بهتر مواد مغذی مختلف برای پرزها کمک کرده و به‌طور همزمان ویژگی‌های فیزیولوژیکی دستگاه گوارش را بهبود می‌بخشد.

گلوکز به‌عنوان ماده تأمین‌کننده انرژی برای کلیه فرآیندهای متابولیکی در سلول‌های تمام جانوران مورد نیاز است. فرآوری خوراک نقش مهمی در شکستن پیوندهای بین مواد مغذی و در نهایت افزایش گوارش‌پذیری، جذب و آزادسازی گلوکز خون دارد. کاهش غلظت گلوکز خون پرندگان با کاهش مصرف خوراک منجر به اختلال در سوخت‌وساز و رشد می‌شود (Abbas et al., 2020). گزارش شده است، غلظت گلوکز خون پرندگان تغذیه شده با پلت فرآوری شده در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با پرندگان تغذیه شده با پلت فرآوری شده در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد پایین‌تر بود و غلظت آلبومین در پلت فرآوری‌شده تحت دمای ۸۸ درجه سانتی‌گراد بالاتر بود (Ighani et al., 2020).

با افزایش زمان کاندیشنر پلت از دو به چهار دقیقه، غلظت گلوکز خون کاهش یافت (Attar et al., 2018). غلظت کلسترول خون، تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی قرار می‌گیرد. یکی از مؤثرترین عوامل محیطی، خوراک است. همچنین ساخت کلسترول در بدن با وزن بدن رابطه مستقیمی دارد، به‌طوری‌که با افزایش مصرف خوراک و به‌دنبال آن، افزایش وزن و چربی بدن، غلظت کلسترول سرم خون نیز افزایش می‌یابد (Lundblad et al., 2011). فرآوری پلت در دمای پایین‌تر (۷۲ درجه سانتی‌گراد) سبب افزایش غلظت لیپیدهای خونی از جمله تری‌گلیسرید، کلسترول و HDL خون می‌شود (Amirabdollahian et al., 2014). در مطالعه‌ای جهت تولید خوراک پلت تحت دمای کاندیشنر ۷۰ و ۸۵ درجه سانتی‌گراد نشان داده شد که غلظت تری‌گلیسرید و LDL در جوجه‌های تغذیه‌شده با پلت تحت دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد نسبت به جوجه‌های تغذیه‌شده با پلت تحت دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد بیشتر بود. اگرچه غلظت کلسترول و HDL جوجه‌های تغذیه‌شده با پلت تحت دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد بالاتر بود (Ighani et al., 2020).

یکی از شاخص‌های آسیب کبد، افزایش غیرطبیعی غلظت آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) است (Xue et al., 2017). محققان بیان کردند که خوراک پلت سبب کاهش غلظت آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز خون جوجه‌های گوشتی در مقایسه با خوراک آردی شد (Amoozmehr et al., 2023) که افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی می‌تواند بیانگر آسیب به بافت کبد باشد (Hosseini-Vashan & Afzali, 2008). هر چند در مطالعه دیگری، فرآوری پلت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد کاندیشنر سبب افزایش غلظت آنزیم‌های AST و

جدول ۶- اثرات دما و زمان کاندیشینگ در فرآیند تولید خوراک پلت بر تغییرات ریخت‌شناسی ژژنوم روده جوجه‌های گوشتی (میکرومتر)

Table 6- Effect of temperature and time conditioning in pellet production on the jejunal morphology in broiler chickens (μm)

دما (سانتیگراد) Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	زمان Time	ارتفاع پرز Villus height	عرض پرز Villus width	عمق کریپت Crypt depth	VH: CD ¹	VSA ² (mm^2)
70	45	1296.02 ^{ab}	96.70	136.35	9.50 ^{ab}	555.17 ^{ab}
	65	1289.30 ^{ab}	98.15	129.00	9.99 ^{ab}	509.69 ^{ab}
76	45	1277.70 ^{ab}	97.10	132.10	9.68 ^{ab}	532.00 ^{ab}
	65	1319.60 ^a	96.95	129.30	10.20 ^a	577.40 ^a
82	45	1306.60 ^{ab}	98.60	135.00	9.67 ^{ab}	554.41 ^{ab}
	65	1222.78 ^b	98.05	128.40	9.52 ^b	493.34 ^b
88	45	1255.10 ^{ab}	95.05	129.95	9.66 ^b	506.36 ^{ab}
	65	1303.80 ^{ab}	96.30	132.55	9.84 ^{ab}	541.85 ^{ab}
اشتباه معیار میانگین SEM		19.205	1.042	3.799	0.234	17.483
سطح معنی داری P-value		0.025	0.320	0.238	0.059	0.024
دما (سانتیگراد) Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	70	1292.66	97.42	131.18	9.85	532.43
	76	1298.65	94.02	135.90	9.55	554.70
	82	1265.69	98.35	131.70	9.61	523.87
	88	1279.45	95.67	130.55	9.80	521.11
اشتباه معیار میانگین SEM		13.58	0.737	2.687	0.149	12.363
سطح معنی داری P-value		0.313	0.103	0.495	0.104	0.267
زمان Time	45	1283.86	96.86	133.10	9.64	536.98
	65	1283.87	97.36	131.56	9.72	530.57
اشتباه معیار میانگین SEM		9.61	0.521	1.90	0.105	8.74
سطح معنی داری P-value		0.999	0.502	0.571	0.695	0.607

^{ab} اعداد درون هر ستون که دارای حروف مختلف هستند، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر دارند (تست توکی؛ $P < 0.05$).

¹ نسبت طول پرز به عمق کریپت، ² مساحت پرز (میلی متر مربع)، SEM: اشتباه معیار میانگین

^{ab} Values within a column followed by different superscripts are significantly different. $P < 0.05$; Tukey's pairwise test.

Villus height to crypt depth ratio; ² Villus surface area (mm^2)

SEM; Standard error of mean

نتیجه گیری کلی

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که دمای ۷۶ درجه سانتی‌گراد و زمان ۶۵ ثانیه باعث بهبود عملکرد رشد و شاخص‌های بافت‌شناسی روده جوجه گوشتی می‌شود و دمای ۸۲ درجه سانتی‌گراد و زمان ۶۵ ثانیه، راندمان لاشه و درصد گوشت سینه را افزایش می‌دهد. دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۶۵ ثانیه باعث افزایش شاخص‌های لیپیدی خون و گلوکز خون گردید. دمای ۸۸ درجه باعث کاهش عملکرد رشد و شاخص‌های بافت‌شناسی و بیوشیمیایی خون جوجه گوشتی گردید. لذا برای عملکرد رشد و بافت‌شناسی پرز مناسب‌تر در جوجه‌های گوشتی، دمای ۷۶ و زمان ۶۵ ثانیه پیشنهاد می‌شود و برای

بهبود راندمان لاشه و شاخص‌های بیوشیمیایی خون پرند دمای ۸۲ درجه و ۴۵ یا ۶۵ ثانیه برای پلت نمودن خوراک جوجه‌های گوشتی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از دانشگاه بیرجند بابت حمایت مادی و معنوی در اجرای طرح و کارخانه دان ستاره کیان بیرجند بابت همکاری در اجرای طرح سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Abadi, M. H. M. G., Moravej, H., Shivazad, M., Torshizi, M. A. K., & Kim, W. K. (2019). Effects of feed form

- and particle size, and pellet binder on performance, digestive tract parameters, intestinal morphology, and cecal microflora populations in broilers. *Poultry Science*, 98(3), 1432-1440. <https://doi.org/10.3382/ps/pey488>
2. Abbas, Z., Sammad, A., Hu, L., Fang, H., Xu, Q., & Wang, Y. (2020). Glucose metabolism and dynamics of facilitative glucose transporters (GLUTs) under the influence of heat stress in dairy cattle. *Metabolites*, 10(8), 312. <https://doi.org/10.3390/metabo10080312>
3. Abbasi pour, A. R. A., Kermanshahi, H., & Golian, A. (2021). Effects of conditioning time and activated sodium bentonite on pellet quality, performance, intestinal morphology, and nutrients retention in growing broilers fed wheat-soybean meal diets. *Animal Feed Science and Technology*, 277, 114955. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114955>
4. Abdollahi, M. R., Ravindran, V., Wester, T. J., Ravindran, G., & Thomas, D. V. (2010a). Influence of conditioning temperature on performance, apparent metabolisable energy, ileal digestibility of starch and nitrogen and the quality of pellets, in broiler starters fed maize-and sorghum-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 162(3-4), 106-115. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.08.017>
5. Abdollahi, M. R., Ravindran, V., Wester, T. J., Ravindran, G., & Thomas, D. V. (2010b). Influence of conditioning temperature on the performance, nutrient utilisation and digestive tract development of broilers fed on maize-and wheat-based diets. *British Poultry Science*, 51(5), 648-657. <https://doi.org/10.1080/00071668.2010.522557>
6. Abdollahi, M. R., Ravindran, V., Wester, T. J., Ravindran, G., & Thomas, D. V. (2011). Influence of feed form and conditioning temperature on performance, apparent metabolisable energy and ileal digestibility of starch and nitrogen in broiler starters fed wheat-based diet. *Animal Feed Science and Technology*, 168(1-2), 88-99. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.03.014>
7. Abdollahi, M. R., Ravindran, V., Wester, T. J., Ravindran, G., & Thomas, D. V. (2012). Effect of improved pellet quality from the addition of a pellet binder and/or moisture to a wheat-based diet conditioned at two different temperatures on performance, apparent metabolisable energy and ileal digestibility of starch and nitrogen in broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 175(3-4), 150-157. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.05.001>
8. Abdollahi, M. R., Ravindran, V., & Svihus, B. (2013). Pelleting of broiler diets: An overview with emphasis on pellet quality and nutritional value. *Animal Feed Science and Technology*, 179(1-4), 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.10.011>
9. Amerah, A. M., Gilbert, C., Simmins, P. H., & Ravindran, V. (2011). Influence of feed processing on the efficacy of exogenous enzymes in broiler diets. *World's Poultry Science Journal*, 67(1), 29-46. <https://doi.org/10.1017/S0043933911000031>
10. Amirabdollahian, H., Nouri, E. A., & Keramati, K. (2014). A comparative effect of mash and pellet feed with different pelleting temperature on blood metabolites, carcass characteristics and broiler performance. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2, 141-145. <http://www.ijabbr.com>
11. Amoozmehr, A., Dastar, B., Ashayerizadeh, O., Mirshekar, R., & Abdollahi, M. R. (2023). Effect of feed form and nutrient density on growth performance, blood parameters, and intestinal traits in broiler breeder pullets. *Poultry Science*, 102(7), 102700. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102700>
12. Attar, A., Kermanshahi, H., & Golian, A. (2018). Effects of conditioning time and sodium bentonite on pellet quality, growth performance, intestinal morphology and nutrient retention in finisher broilers. *British Poultry Science*, 59(2), 190-197. <https://doi.org/10.1080/00071668.2017.1409422>
13. Aviagen, R. (2014). 308 Broiler: Nutrition Specifications. Huntsville, AL, USA: Aviagen Group.
14. Behnke, K. C. (1994, March). Factors affecting pellet quality. In *Maryland Nutrition Conference*. Dept. of Poultry Science and Animal Science, College of Agriculture, University of Maryland, College Park. pp. 1-11. <https://doi.org/10.1093/ps/78.10.1464>
15. Borsatti, L., Broch, J., de Avila, A. S., Schneiders, J. L., Rocha, C. S., Oxford, J. H., & Nunes, R. V. (2020). Essential oils and prebiotic on broiler diets as feed additives. *Semina: Ciências Agrárias*, 41(4), 1307-1316. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2020v41n4p1307>
16. Cui, W. G., Xue, J. J., Liu, Z. L., Lv, D. Y., Chen, Y., Luo, Y., Wang, Q.G., Zhou, S., & Wang, C. (2024). Effects of feed conditioning temperature on pellet quality, growth performance, intestinal development and blood parameters of geese from 1 to 28 d of age. *Poultry Science*, 103(8), 103849. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.103849>
17. Cutlip, S. E., Hott, J. M., Buchanan, N. P., Rack, A. L., Latshaw, J. D., & Moritz, J. S. (2008). The effect of steam-conditioning practices on pellet quality and growing broiler nutritional value. *Journal of Applied Poultry Research*, 17(2), 249-261. <https://doi.org/10.3382/japr.2007-00081>
18. Creswell, D., & Bedford, M. (2006). High pelleting temperatures reduce broiler performance. In *Proceeding*

- Australian in Poultry Science Symposium, Sydney, New South Wales, Australia, 20-22 February 2006, pp. 1-6.
19. Dahlke, F., Ribeiro, A. M. L., Kessler, A. D. M., Lima, A. R., & Maiorka, A. (2003). Effects of corn particle size and physical form of the diet on the gastrointestinal structures of broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 5, 61-67. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2003000100008>
20. Dansethakul, P., Thapanathamchai, L., Saichanma, S., Worachartcheewan, A., & Pidetcha, P. (2015). Determining a new formula for calculating low-density lipoprotein cholesterol: Data mining approach. *EXCLI Journal*, 14, 478. doi: <https://10.17179/excli2015-162>
21. Dos Santos, R. O. F., Bassi, L. S., Schramm, V. G., da Rocha, C., Dahlke, F., Krabbe, E. L., & Maiorka, A. (2020). Effect of conditioning temperature and retention time on pellet quality, ileal digestibility, and growth performance of broiler chickens. *Livestock Science*, 240, 104110. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104110>
22. Dozier, W. A. (2001). Pelet de calidad para obtener carne de ave más economica. *Alimentary Balance Animal* 8:16-19.
23. Froetschner, J. (2006). Conditioning controls pellet quality. *Feed Technology*, 10, 5-12.
24. Fahrenholz, A. C. (2012). Evaluating factors affecting pellet durability and energy consumption in a pilot feed mill and comparing methods for evaluating pellet durability. Kansas State University for Ph.D. thesis United states.
25. Fletcher, D. L. (2002). Poultry meat quality. *World's Poultry Science Journal*, 58(2), 131-145. <https://doi.org/10.1079/WPS20020013>
26. Garcia, V., Catala-Gregori, P., Hernandez, F., Megias, M. D., & Madrid, J. (2007). Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(4), 555-562. <https://doi.org/10.3382/japr.2006-00116>
27. Greenwood, C. T. (1970). Organization of starch granules. *The Carbohydrates, Chemistry and Technology*, Pages 471-513 in W. Pigman and D. Horton ed. The Carbohydrates, Vol. IIB, Academic Press, New York, NY.
28. Hosseini-Vashan, S.J., & Afzali, N. (2008). Effect of different levels of palm olein oil in laying hens performance and yolk cholesterol. *International Journal of Poultry Science*, 7 (9), 908-912.
29. Jensen, L. S. (2000). Influence of pelleting on the nutritional needs of poultry. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 13,iss 35-46- 57
30. Ighani, V., Sadeghi, A. A., Mousavi, S. N., Jafari, P., & Chamani, M. (2020). Effect of pelleting temperature, probiotic and wheat grain on growth performance, blood biochemical variables, immune responses and Mucin 2 Gene expression of broiler chicks. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 10(3), 517-524. (in Persian with English abstract).
31. Inbarr, J., & Bedford, M. R. (1994). Stability of feed enzymes to steam pelleting during feed processing. *Animal Feed Science and Technology*, 46(3-4), 179-196. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90138-4](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90138-4)
32. Iravani, S., Aziz-Aliabadi, F., & Vakili, R. (2024). Feed processing: A review of the impacts of conditioning time and temperature on feed quality and broilers performance. *World's Poultry Science Journal*, 80(3) 1-23. <https://doi.org/10.1080/00439339.2024.2341276>
33. Latshaw, J. D., & Moritz, J. S. (2009). The partitioning of metabolizable energy by broiler chickens. *Poultry Science*, 88(1), 98-105. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00161>
34. Lecznieski, J. L., Ribeiro, A. M. L., Kessler, A. M., & Penz Jr, A. M. (2001). Influência da forma física e do nível de energia da ração no desempenho e na composição de frangos de corte. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 9(1), 6-11.
35. Loar II, R. E., Wamsley, K. G. S., Evans, A., Moritz, J. S., & Corzo, A. (2014). Effects of varying conditioning temperature and mixer-added fat on feed manufacturing efficiency, 28-to 42-day broiler performance, early skeletal effect, and true amino acid digestibility. *Journal of Applied Poultry Research*, 23(3), 444-455. <https://doi.org/10.3382/japr.2013-00930>
36. Lundblad, K. K., Issa, S., Hancock, J. D., Behnke, K. C., McKinney, L. J., Alavi, S., & Sørensen, M. (2011). Effects of steam conditioning at low and high temperature, expander conditioning and extruder processing prior to pelleting on growth performance and nutrient digestibility in nursery pigs and broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 169(3-4), 208-217. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.06.008>
37. Lv, M., Yan, L., Wang, Z., An, S., Wu, M., & Lv, Z. (2015). Effects of feed form and feed particle size on growth performance, carcass characteristics and digestive tract development of broilers. *Animal Nutrition*, 1(3), 252-256. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.06.001>
38. Massuquetto, A., Durau, J. F., Schramm, V. G., Netto, M. T., Krabbe, E. L., & Maiorka, A. (2018). Influence of feed form and conditioning time on pellet quality, performance and ileal nutrient digestibility in broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 27(1), 51-58. <https://doi.org/10.3382/japr/pfx039>

39. Massuquetto, A., Panisson, J. C., Marx, F. O., Surek, D., Krabbe, E. L., & Maiorka, A. (2019). Effect of pelleting and different feeding programs on growth performance, carcass yield, and nutrient digestibility in broiler chickens. *Poultry Science*, 98(11), 5497-5503. <https://doi.org/10.3382/ps/pez176>
40. Moritz, J. S., Parsons, A. S., Buchanan, N. P., Calvalcanti, W. B., Cramer, K. R., & Beyer, R. S. (2005). Effect of gelatinizing dietary starch through feed processing on zero-to three-week broiler performance and metabolism. *Journal of Applied Poultry Research*, 14(1), 47-54. <https://doi.org/10.1093/japr/14.1.47>
41. Netto, M. T., Massuquetto, A., Krabbe, E. L., Surek, D., Oliveira, S. G., & Maiorka, A. (2019). Effect of conditioning temperature on pellet quality, diet digestibility, and broiler performance. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(4), 963-973. <https://doi.org/10.3382/japr/pfz056>.
42. Perera, W. N. U., Abdollahi, M. R., Zaefarian, F., Wester, T. J., & Ravindran, V. (2021). High steam-conditioning temperature during the pelleting process impairs growth performance and nutrient utilization in broiler starters fed barley-based diets, regardless of carbohydrase supplementation. *Poultry Science*, 100(8), 101166. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101166>.
43. Ran, T., Fang, Y., Wang, Y. T., Yang, W. Z., Niu, Y. D., Sun, X. Z., & Zhong, R. Z. (2020). Effects of grain type and conditioning temperature during pelleting on growth performance, ruminal fermentation, meat quality and blood metabolites of fattening lambs. *Animal*, 15(3), 100146. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2020.100146>
44. Rueda, M., Rubio, A. A., Starkey, C. W., Mussini, F., & Pacheco, W. J. (2022). Effect of conditioning temperature on pellet quality, performance, nutrient digestibility, and processing yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 31(2), 100235. <https://doi.org/10.1016/j.japr.2022.100235>
45. Salahshour, A., Vakili, R., & Nameghi, A. H. (2023). Effect of different conditioning temperatures and times on the pellet quality, performance, intestinal morphology, ileal microbial population, and apparent metabolizable energy in broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 25(3), eRBCA-2023. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2023-1801>
46. Svihus, B., Uhlen, A. K., & Harstad, O. M. (2005). Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 122(3-4), 303-320. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.02.025>
47. Svihus, B. (2006). The role of feed processing on gastrointestinal function and health in poultry. In *Avian Gut Function in Health and Disease*. pp. 183-194. Wallingford UK: CABI.
48. Wang, M., Yang, C., Wang, Q. Y., Li, J. Z., Li, Y. L., Ding, X. Q., Yin, J., Yang, H. S., & Yin, Y. L. (2020). The growth performance, intestinal digestive and absorptive capabilities in piglets with different lengths of small intestines. *Animal*, 14(6), 1196-1203. <https://doi.org/10.1017/S175173111900288X>
49. Wen, J. S., Xu, Q. Q., Zhao, W. Y., Hu, C. H., Zou, X. T., & Dong, X. Y. (2022). Effects of early weaning on intestinal morphology, digestive enzyme activity, antioxidant status, and cytokine status in domestic pigeon squabs (*Columba livia*). *Poultry Science*, 101(2), 101613. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101613>
50. Xue B., Song J., Liu L., Luo J., Tian G., & Yang Y. (2017). Effect of epigal- locatechin gallate on growth performance and antioxidant capacity in heat-stressed broilers. *Archives of Animal Nutrition*, 71, 362-372. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2017.1355129>
51. Zang, J. J., Piao, X. S., Huang, D. S., Wang, J. J., Ma, X., & Ma, Y. X. (2009). Effects of feed particle size and feed form on growth performance, nutrient metabolizability and intestinal morphology in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 22(1), 107-112.
52. Zhang, Y., Xue, J., Chen, Y., Huang, X., Liu, Z., Zhong, H., Qun, X., Luo, Y., Qigui, W. & Wang, C. (2024). Modulation of performance, plasma constituents, small intestinal morphology, and cecum microbiota in growing geese by dietary citric acid supplementation. *Animals*, 14(5), 660. <https://doi.org/10.3390/ani14050660>

Research Article

Vol. 18, No.1, 2026, p. 75-89



Effect of Different Levels of Alfalfa Carotenoids on Yolk Color, Egg Quality, and Indicators of Oxidative Stress in Laying Hens

Soraya Ayatollahi¹, Hassan Kermanshahi^{1*}, Reza Majidzadeh Heravi¹

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

*Corresponding Author's Email: kermansh@um.ac.ir**How to cite this article:**

Received: 28-07-2025

Revised: 02-11-2025

Accepted: 22-11-2025

Available Online: 04-04-2026

Ayatollahi, S., Kermanshahi, H., & Majidzadeh Heravi, R. (2026). Effect of different levels of alfalfa carotenoids on yolk color, egg quality, and indicators of oxidative stress in laying hens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(1), 75-89. (in Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.94640.1263>

Introduction: Carotenoids, particularly lutein and β -carotene, are natural pigments with strong antioxidant properties, widely recognized for their role in improving yolk pigmentation and mitigating oxidative stress in poultry. The growing consumer demand for natural feed additives has prompted the exploration of plant-based sources rich in carotenoids. Alfalfa (*Medicago sativa* L.), a commonly cultivated forage crop, is a particularly promising source due to its high xanthophyll content, including lutein and zeaxanthin, which contribute to both pigmentation and antioxidant defense. While synthetic carotenoid products, such as Lucantin®, are widely utilized in commercial poultry production for yolk pigmentation, there is increasing interest in natural alternatives that can provide comparable efficacy while potentially enhancing consumer acceptance and sustainability. The present study was designed to evaluate the effects of different inclusion levels of alfalfa carotenoid extract in comparison with commercial Lucantin® on egg quality parameters and oxidative stress indicators in laying hens.

Materials and Methods: A total of 128 laying hens were randomly assigned to four dietary treatments using a completely randomized design, with four replicates of eight birds per replicate. The experimental treatments were as follows: C) control diet based on corn-soybean, A20) control diet supplemented with 20 g/ton alfalfa extract, A30) control diet supplemented with 30 g/ton alfalfa extract, and L35) control diet supplemented with 35 g/ton Lucantin®. Carotenoids were extracted from fresh alfalfa through a sequential solvent extraction method using ethanol, ethyl acetate, and hexane at three different temperatures (25°C, 40°C, and 60°C). The extract was subsequently filtered, subjected to rotary evaporation, and saponified using 40% potassium hydroxide to remove lipids. Total carotenoid content was quantified using UV-Vis spectrophotometry according to standard lutein protocols. Egg quality traits, including shell thickness, specific gravity, yolk color (assessed using DSM YolkFan™), yolk diameter, yolk height, yolk index (ratio of yolk height to diameter), and Haugh unit, were measured at weeks 2, 4, 6, and 8. Plasma samples collected at week 8 were analyzed for oxidative stress markers, including malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation indicator, as well as the activities of antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), and total antioxidant capacity (TAC). Statistical analyses were performed using the General Linear Model (GLM) procedure of SAS 9.4, and differences among treatment



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

 <https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.94640.1263>

means were evaluated by Duncan's multiple range test.

Results and Discussion: Dietary supplementation with both alfalfa carotenoid extract and Lucantin® significantly improved yolk pigmentation compared to the control group ($P < 0.0001$), with the Lucantin®-supplemented group exhibiting the highest color index among all treatments. Malondialdehyde (MDA) levels, representing the extent of lipid peroxidation and oxidative damage, were significantly lower in A20 and A30 compared to the control ($P = 0.0233$), indicating enhanced systemic antioxidant status. Although no statistically significant differences were observed in the activities of antioxidant enzymes (SOD, GPx, and CAT) among the treatment groups ($P > 0.1$), upward trends were evident in the carotenoid-supplemented groups, suggesting potential improvements in enzymatic antioxidant defense. The yolk index, an important indicator of internal yolk quality reflecting the ratio of yolk height to diameter, did not differ significantly among treatments during the first two weeks of supplementation ($P > 0.2$). However, by week six, both A30 and L35 treatments exhibited significantly higher yolk index values compared to the control and A20 groups ($P = 0.016$), with A30 achieving the highest yolk index overall. These findings indicate that both natural alfalfa-derived carotenoids and synthetic Lucantin® can improve yolk structural integrity, likely due to the antioxidant properties of lutein and zeaxanthin, which stabilize yolk microstructure and reduce lipid oxidation. Shell thickness remained unaffected across all treatments during the experimental period ($P > 0.3$), and specific gravity, an indicator of internal egg quality and water-to-dry matter ratio, also showed no significant differences among dietary groups ($P > 0.25$). Similarly, yolk diameter was not significantly altered by dietary supplementation ($P > 0.05$), indicating that carotenoid addition primarily influenced yolk pigmentation and consistency rather than gross yolk size.

Conclusion: The current study demonstrates that dietary supplementation with alfalfa-derived carotenoids at a level of 30 g/ton effectively enhances egg yolk pigmentation and supports systemic antioxidant defense in laying hens. These effects were comparable to, and in some parameters even superior to, those observed with synthetic Lucantin®. The results highlight the potential of alfalfa as a sustainable, natural alternative to synthetic carotenoids in poultry diets, providing both functional benefits in oxidative stress mitigation and improvements in egg quality traits. Incorporating alfalfa carotenoid extract into layer diets represents a promising strategy for producing high-quality eggs with enhanced consumer acceptance, supporting both health-promoting and economically viable poultry production practices.

Keywords: Antioxidant status, Lipid peroxidation, Natural feed additives, Poultry nutrition, Xanthophylls

اثر سطوح مختلف کاروتنوئید یونجه بر رنگ زرده، کیفیت تخم مرغ و شاخص های مرتبط با تنش اکسیداتیو در مرغ های تخم گذار

ثریا آیت اللهی^۱، حسن کرمانشاهی^{۱*}، رضا مجیدزاده هروی^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۰۱

چکیده

کاروتنوئیدها علاوه بر نقش در رنگ دهی فرآورده های دامی، به دلیل خواص آنتی اکسیدانی، جایگاه ویژه ای در تغذیه طیور یافته اند. این پژوهش با هدف مقایسه کارایی سه حلال (اتانول، اتیل استات و هگزان) در استخراج کاروتنوئیدها از یونجه و ارزیابی اثر استفاده تغذیه ای از عصاره کاروتنوئیدی یونجه بر کیفیت تخم مرغ و شاخص های اکسیداتیو خون انجام شد. عصاره گیری طی ۱۲ ساعت و در دمای ۲۵، ۴۰ و ۶۰ درجه سانتی گراد انجام گرفت. ۱۲۸ قطعه مرغ تخم گذار ۵۹ هفتهگی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار، ۴ تکرار و ۸ پرند در هر قفس با جیره های آزمایشی تغذیه شدند. تیمارها شامل جیره پایه، جیره پایه + ۲۰ گرم عصاره کاروتنوئیدی یونجه، جیره پایه + ۳۰ گرم عصاره کاروتنوئیدی یونجه و جیره پایه + ۳۵ گرم رنگدانه تجاری لوکانتین در تن خوراک بودند. نمونه گیری تخم مرغ ها هر دو هفته برای ارزیابی شاخص های کیفی و خون گیری در هفته هشتم جهت سنجش فراسنجه های تنش اکسیداتیو انجام شد. بیشترین بازده با حلال هگزان در دمای ۶۰ درجه به دست آمد. براساس روند تغییرات صفات کیفی تخم مرغ، جیره های غنی از کاروتنوئید به ویژه سطح ۳۰ گرم در تن، سبب افزایش تدریجی ارتفاع و بهبود شاخص زرده گردید؛ همچنین در سطح معنی داری موجب افزایش شدت رنگ زرده و کاهش غلظت مالون دی آلدئید خون نسبت به گروه شاهد شد. نتایج این پژوهش نشان می دهد که افزودن این منبع طبیعی رنگدانه در سطح ۳۰ گرم در تن خوراک می تواند به عنوان جایگزینی برای بخشی از رنگدانه های سنتتیک تجاری به کار گرفته شود و به ویژه در دوره های تنش گرمایی یا کاهش کیفیت رنگ زرده توصیه می شود.

واژه های کلیدی: افزودنی های طبیعی خوراک، تغذیه طیور، پراکسیداسیون لیپیدها، زانوفیل ها، وضعیت آنتی اکسیدانی

مقدمه

پرند و بهبود کیفیت فرآورده های حاصل و در نتیجه سلامت مصرف کنندگان مؤثرند (Nimalaratne & Wu, 2015). لوتئین و زی زانتین^۳ موجود در زرده تخم مرغ به دلیل زیست فراهمی بالاتر نسبت به منابع گیاهی، توجه بسیاری را در صنعت غذا و سلامت به خود جلب کرده اند. طبق مرور مطالعات انجام شده، مصرف تخم مرغ غنی از لوتئین و زی زانتین می تواند به بهبود عملکرد بینایی، محافظت از شبکیه چشم در برابر آسیب های نوری و تقویت عملکرد آنتی اکسیدانی بدن کمک کند (Zaheer, 2017).

یونجه^۴ به عنوان یکی از گیاهان غنی از رنگدانه های کاروتنوئیدی، به خصوص لوتئین، بتاکاروتن و زی زانتین شناخته می شود (Englmaierová et al., 2019). این ترکیبات در بافت های برگ و ساقه گیاه تجمع می یابند و از نظر ساختار شیمیایی به خوبی در

در صنعت تولید تخم مرغ، یکی از شاخص های مهم کیفیت محصول که در ترجیح مصرف کننده نقش کلیدی دارد، رنگ زرده است. رنگ زرده عمدتاً ناشی از حضور رنگدانه های طبیعی از جمله کاروتنوئیدها در خوراک طیور می باشد (Abdel-Aal et al., 2017). کاروتنوئیدها، گروهی از ترکیبات طبیعی محلول در چربی هستند که از طریق جیره، قابلیت انتقال به تخم مرغ را دارند (Dansou et al., 2023) و علاوه بر نقش رنگ دهی، به عنوان آنتی اکسیدان های قوی عمل کرده و در کاهش تنش اکسیداتیو^۲، افزایش سلامت عمومی

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

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

<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.94640.1263>

2- Oxidative stress

3- Zeaxanthin

4- *Medicago sativa*

بازده استخراج و کیفیت عصاره‌های کاروتنوئیدی به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر نوع حلال مورد استفاده قرار می‌گیرد. حلال‌های مختلف مانند اتانول، اتیل‌استات و هگزان به‌دلیل تفاوت در قطبیت و توانایی انحلال ترکیبات لیپوفیلیک، عملکرد متفاوتی در استخراج رنگدانه‌ها از ماتریکس^۱ گیاهی نشان می‌دهند، بنابراین انتخاب نوع حلال می‌تواند بر مقدار رنگدانه‌های بازیابی‌شده و ویژگی‌های تغذیه‌ای عصاره نهایی مؤثر باشد (Rodriguez-Amaya, 2001; Saini & Keum, 2018).

در شرایط صنعتی، استفاده از رنگدانه‌های سنتتیک مانند لوکانتین به‌دلیل پایداری بالا و اثرگذاری سریع بر رنگ زرد متداول است، اما نگرانی‌های مربوط به ایمنی غذایی و اثرات زیست‌محیطی موجب افزایش تمایل به جایگزینی آن‌ها با منابع طبیعی کاروتنوئیدی شده است (Yunitasari et al., 2023). مطالعات نشان می‌دهند که مصرف خوراک‌های حاوی رنگدانه طبیعی می‌تواند ضمن بهبود رنگ زرد موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی (کاهش مالون‌دی‌آلدئید^۲) و افزایش ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی پلاسما (ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام^۳، افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیس‌موتاز^۴ و کاتالاز^۵) در طیور تخم‌گذار گردد (Madkour et al., 2025).

با وجود مطالعات متعدد در زمینه تأثیر رنگدانه‌های گیاهی بر کیفیت تخم‌مرغ، تاکنون بررسی جامعی پیرامون مقایسه روش‌های مختلف استخراج کاروتنوئید از یونجه با سه حلال (هگزان، اتیل‌استات و اتانول) و ارزیابی اثرات تغذیه‌ای آن‌ها در کنار مقایسه با یک رنگدانه مصنوعی رایج، در مرغ تخم‌گذار انجام نشده است. از این‌رو، پژوهش حاضر با اهداف زیر طراحی و اجرا گردید:

۱- استخراج کاروتنوئید از یونجه با سه نوع حلال رایج و مقایسه بازده و کیفیت عصاره‌ها

۲- بررسی اثرات تغذیه‌ای عصاره‌های به‌دست‌آمده بر رنگ زرد و شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ

۳- ارزیابی تأثیر رنگدانه‌ها بر شاخص‌های خونی کلیدی مرتبط با تنش اکسیداتیو در مرغ تخم‌گذار

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش و جیره غذایی

مطالعه حاضر در ایستگاه تحقیقاتی و فارم دانشگاه فردوسی مشهد به مدت هشت هفته در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار

چربی‌ها حل شده و قابلیت انتقال به سیستم تغذیه‌ای حیوانات را دارند. غلظت بالای این رنگدانه‌ها در یونجه، آن را به منبع بالقوه‌ای برای جایگزینی رنگدانه‌های مصنوعی در خوراک طیور تبدیل کرده است. گزارش‌ها نشان می‌دهند که مصرف خوراک‌های حاوی یونجه می‌تواند موجب افزایش غلظت کاروتنوئید در زرده تخم‌مرغ شود و در نتیجه، رنگ زرد را به‌طور طبیعی افزایش دهد (Laudadio et al., 2014; Zheng et al., 2019; Englmaierová et al., 2019). همچنین این کاروتنوئیدها با عملکرد آنتی‌اکسیدانی خود قادر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و محافظت از سلول‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد هستند (Delgado-Vargas et al., 2000).

کاربرد رنگدانه‌های سنتتیک در تغذیه طیور علاوه‌بر مسائل اقتصادی و وابستگی وارداتی، نگرانی‌هایی از نظر سلامت مصرف‌کننده نیز به دنبال دارد. بسیاری از رنگدانه‌های مصنوعی مورد استفاده در جیره‌ها، از مشتقات شیمیایی یا فرآورده‌های صنعتی تولید می‌شوند و پایداری زیستی محدود و حساسیت بالا به اکسیداسیون دارند. این موضوع می‌تواند منجر به تشکیل ترکیبات اکسیداتیو در بافت‌های بدن پرنده و ورود احتمالی فرآورده‌های اکسیداسیون لیپیدی و رنگدانه‌های با پایداری پایین به زنجیره غذایی انسان شود. مصرف طولانی‌مدت یا دوزهای بالای رنگدانه‌های سنتتیک می‌تواند با ایجاد تنش اکسیداتیو، التهاب خفیف بافتی و تغییر در کیفیت چربی زرد همراه باشد که از دیدگاه ایمنی غذایی، مورد توجه مصرف‌کنندگان و نهادهای نظارتی قرار گرفته است. رنگدانه‌های طبیعی به‌دلیل منشأ گیاهی یا میکروبی خود، از نظر زیست‌سازگاری و ایمنی غذایی نسبت به رنگدانه‌های سنتتیک ارجحیت دارند. این ترکیبات معمولاً همراه با سایر مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی مانند پلی‌فنول‌ها و ویتامین‌ها هستند و به همین دلیل از پایداری اکسیداتیو و کارایی زیستی بیشتری برخوردارند. این ویژگی باعث می‌شود که رنگدانه‌های طبیعی بدون ایجاد ترکیبات ناخواسته موجب بهبود ویژگی‌های کیفی زرد از جمله رنگ، ارتفاع و شاخص زرد شوند (Nabi et al., 2020). در مقابل، رنگدانه‌های سنتتیک اغلب فاقد این همراهی آنتی‌اکسیدانی هستند. بنابراین، استفاده از منابع طبیعی رنگدانه می‌تواند گزینه‌ای ایمن‌تر، پایدارتر و سازگارتر با سلامت محصول نهایی و خواسته‌های مصرف‌کنندگان باشد. همچنین استفاده از منابع طبیعی رنگدانه، وابستگی به واردات را کاهش داده و امکان تولید محصول سالم‌تر و مورد پذیرش بیشتر مصرف‌کنندگان را فراهم می‌کند. طبق گزارش چاوز و همکاران (Chaves et al., 2022)، استفاده از رنگدانه‌های طبیعی در جیره‌های پایه سورگوم می‌تواند کیفیت رنگ زرد و پذیرش مصرف‌کننده را به‌صورت مؤثرتری نسبت به رنگدانه‌های سنتتیک بهبود دهد. بنابراین، جایگزینی رنگدانه‌های سنتتیک با منابع طبیعی می‌تواند رویکردی پایدار، ایمن و اقتصادی برای تولید تخم‌مرغ با کیفیت بالاتر باشد.

1- Matrix

2- Malondialdehyde

3- Total antioxidant capacity

4- Superoxide Dismutase

5- Catalase

قطبیت و قدرت حلالیت، نقش بسزایی در بازیابی طیف‌های مختلف کاروتنوئیدها دارند. هگزان به‌عنوان حلال غیرقطبی، توانایی بالایی در استخراج کاروتنوئیدهای لیپوفیلیک دارد، اتانول با قطبیت متوسط قادر است ترکیبات قطبی‌تر را استخراج کند و اتیل استات نیز به‌عنوان حلالی با قطبیت نسبی، برای استخراج ترکیبات با قطبیت متوسط مناسب است (Bednarik, 2013; Jiang et al., 2024). استخراج نمونه‌ها به مدت ۱۲ ساعت در دماهای ۲۵، ۴۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا زمانی انجام شد که لایه آلی کاملاً بی‌رنگ گردید، چرا که نشان‌دهنده استخراج کامل بود. نمونه‌ها پس از عبور از فیلتر سرنگی ۰/۴۵ میکرون، تحت خلأ و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با دستگاه روتاری تبخیر شدند. عصاره به‌دست‌آمده شامل استر لوتئین همراه با اسیدهای چرب بود (Rodríguez-Amaya & Kimura, 2004; King & Wang, 2004).

جداسازی لوتئین

برای تفکیک لوتئین از استرهای اسید چرب، عصاره تغلیظ‌شده با محلول ۴۰ درصد پتاسیم هیدروکسید^۴ به مدت دو ساعت در دمای کنترل‌شده صابونی‌سازی^۵ گردید. پس از صابونی شدن و سانتریفیوژ، فاز روپی استونی با دقت و به‌آرامی روبرداری^۶ شد. پس از تبخیر فاز استونی، لایه روغنی حاوی کاروتنوئید کل به دست آمد. این لایه در هگزان حل و محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا کریستال‌های زرد رنگ لوتئین شکل گرفتند. کریستال‌ها جهت اندازه‌گیری و آنالیزهای بعدی حفظ شدند (King & Wang, 2004).

تعیین غلظت کاروتنوئید کل و لوتئین

غلظت کاروتنوئید کل و لوتئین توسط اسپکتروفتومتری^۷ در محدوده طول موج ۲۱۰ تا ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. استاندارد لوتئین (۹۵ درصد خلوص، سیگما^۸، آمریکا) برای رسم منحنی استاندارد و محاسبه غلظت کاروتنوئید کل مورد استفاده قرار گرفت. میزان کاروتنوئید کل با توجه به معادله ۱ محاسبه شد.

$$\text{Total carotenoids (g/g)} = \frac{A \times V \times 10^6}{A_{1cm}^{1\%} \times W} \quad (1) \text{ معادله}$$

و چهار تکرار اجرا شد. هر تکرار شامل هشت پرندۀ نگهداری‌شده در قفس بود. در این مطالعه از مرغ‌های تخم‌گذار سویه شیور سفید^۱ در ۵۹ هفته‌گی استفاده شد. این سویه از جمله لاین‌های تجاری اصلاح‌شده با عملکرد تخم‌گذاری بالا است که توسط شرکت پرورش طیور شیور^۲ در کانادا توسعه یافته است. جیره پایه براساس ذرت و کنجاله سویا و مطابق با نیازهای تغذیه‌ای سویه شیور سفید در سن ۵۹ هفته‌گی تنظیم شد (Shaver, 2020). چهار تیمار آزمایشی به‌شرح زیر در نظر گرفته شدند: ۱- شاهد (بدون افزودن منبع کاروتنوئیدی)، ۲- شاهد + ۲۰ گرم عصاره کاروتنوئیدی استخراج‌شده از گیاه یونجه، ۳- شاهد + ۳۰ گرم عصاره کاروتنوئیدی استخراج‌شده از گیاه یونجه و ۴- شاهد + ۳۵ گرم لوکانتین (رنگدانه شرکت جوانه خراسان) به‌عنوان منبع تجاری کاروتنوئید به‌ازای هر تن خوراک بود. به‌منظور سهولت در ارائه نتایج، تیمارها در جداول و ادامه متن به‌صورت اختصاری نشان داده شدند: C: شاهد، A20: شاهد + ۲۰ گرم عصاره کاروتنوئیدی استخراج‌شده از گیاه یونجه در تن خوراک، A30: شاهد + ۳۰ گرم عصاره کاروتنوئیدی استخراج‌شده از گیاه یونجه در تن خوراک، L35: شاهد + ۳۵ گرم لوکانتین در تن خوراک تمام جیره‌ها از نظر انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام یکسان‌سازی شده و وزن اولیه پرندگان در هر قفس به‌منظور حذف اثر تفاوت‌های آغازین کنترل گردید. خوراک به‌شکل آردی^۳ تهیه شد و تخصیص خوراک به‌صورت محدود به‌میزان ۱۱۰ گرم به‌ازای هر پرندۀ در روز انجام گرفت. آب آشامیدنی به‌صورت آزاد در دسترس پرندگان قرار داشت. هزینه خوراک به‌ازای تولید یک کیلوگرم تخم‌مرغ با استفاده از ضریب تبدیل و قیمت یک کیلوگرم خوراک (Bagheri et al., 2020) در زمان اجرای طرح ۲۸ تا ۳۲ هزار تومان برآورد شد. در آغاز آزمایش، مرغ‌های تخم‌گذار با میانگین وزن بدن ۱۷۰±۱۵ گرم و میانگین وزن تخم‌مرغ ۶۴±۱۱ مورد استفاده قرار گرفتند. تولید تخم‌مرغ اولیه در شروع دوره حدود ۸۶ درصد گزارش شد. ترکیب مواد مغذی جیره‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

آماده‌سازی عصاره کاروتنوئیدی یونجه

یک کیلوگرم از پودر یونجه تازه و سبز پس از آسیاب شدن، ابتدا با آب مقطر شسته شد و سپس به مدت ۲۵ ساعت در پنج لیتر آب مقطر خیسانده گردید. پس از خیساندن، نمونه تحت فشار مکانیکی فشرده و مایع به‌دست‌آمده از طریق کاغذ صافی با تخلخل مناسب فیلتر شد. فرآیند استخراج کاروتنوئیدها با استفاده از سه حلال اتیل استات، اتانول و هگزان انجام گرفت که هر کدام با توجه به تفاوت

4- KOH
5- Saponification
6- Decanting
7- UV-Vis
8- Sigma-Aldrich

1- Shaver White Strain
2- Shaver Poultry Breeding Farms
3- Mash

جدول ۱- اجزاء تشکیل دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه

Table 1-The ingredient and nutrient composition of basal diet

درصد	جیره
افلام خوراکی (درصد ماده خشک)	Ingredients (%DM)
ذرت	Corn
51.00	
کنجاله سویا (پروتئین خام ۴۴ درصد)	Soybean meal (CP 44%)
30.00	
سیوس گندم	Wheat bran
4.00	
پودر سنگ آهک	Limestone powder
9.00	
دی کلسیم فسفات	Di-calcium phosphate
1.40	
روغن گیاهی	Vegetable oil
3.25	
دی ال-متیونین	DL-methionine
0.15	
ال-لایزین هیدروکلراید	L-lysine hydrochloride
0.10	
نمک خوراکی	NaCl
0.30	
بی کربنات سدیم	Sodium bicarbonate
0.20	
کولین کلراید	Choline chloride (60%)
0.10	
مکمل ویتامینه ^۱	Vitamin premix ¹
0.25	
مکمل معدنی ^۲	Mineral premix ²
0.25	
ترکیب شیمیایی جیره پایه	Chemical compounds of the Main diet
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم)	Metabolizable Energy (ME) (kcal/kg)
2750	
پروتئین خام (درصد)	Crude Protein (CP) (%)
16.50	
کلسیم (درصد)	Calcium (Ca) (%)
4.10	
فسفر قابل استفاده (درصد)	Available Phosphorus (%)
0.40	
لیزین قابل دسترس (درصد)	Digestible lysine (%)
0.75	
متیونین + سیستین (درصد)	Digestible methionine + cystine (%)
0.65	
سدیم	Sodium
0.17	

^۱ هر کیلوگرم مکمل ویتامینه شامل ۱۱۰۲۵ واحد بین المللی ویتامین A، ۳۵۲۸ واحد بین المللی ویتامین D₃، ۳۳ واحد بین المللی ویتامین E، ۰/۹۱ میلی گرم ویتامین K₃، ۰/۱۸ گرم ویتامین B₁، ۰/۸۲۵ گرم ویتامین B₂، ۱/۰۰ گرم ویتامین B₃، ۳/۰۰ گرم ویتامین B₅، ۰/۳۰ گرم ویتامین B₆، ۰/۱۲۵ گرم ویتامین B₉، ۰/۱۵ گرم ویتامین B₁₂ و ۵۰ گرم کولین کلراید است.

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

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

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

یا شرایط نامناسب است (Jones & Musgrove, 2005).

معادله (۳)

$$HU = 100 \log (H + 7.57 - 1.7W^{0.37})$$

که در آن، H: ارتفاع سفیده (میلی متر) و W: وزن تخم مرغ (گرم) است.

وزن مخصوص تخم مرغ ها با استفاده از روش جابه جایی آب (اصول ارشمیدس) و مطابق روش گزارش شده توسط ویدال و همکاران (Vidal et al., 2013) و چاوز و همکاران (Chávez et al., 2022) اندازه گیری شد. ابتدا وزن تخم مرغ ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم ثبت گردید. سپس حجم هر تخم مرغ از طریق میزان جابه جایی آب در استوانه مدرج (با دقت یک میلی لیتر) در دمای اتاق (۲۵±۱ درجه سانتی گراد) اندازه گیری شد. در نهایت، وزن مخصوص هر تخم مرغ با استفاده از معادله ۴ محاسبه شد.

$$SG = \frac{W}{V}$$

معادله (۴)

که در آن، SG: وزن مخصوص (g/cm³)، W: وزن تخم مرغ (گرم) و V: حجم تخم مرغ (سانتی متر مکعب، معادل با میلی لیتر) است.

نمونه برداری خون و تعیین شاخص های تنش اکسیداتیو

به منظور تعیین شاخص های خونی مرتبط با وضعیت اکسیداتیو، در پایان هفته هشتم دوره آزمایشی، از هر قفس یک پرنده به صورت تصادفی انتخاب و از ورید بال نمونه گیری خون انجام شد. نمونه ها پس از لخته شدن در لوله های بدون ضد انعقاد قرار داده شده و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. سپس سرم جدا شده به میکروتیوب های استریل منتقل و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمایش ها ذخیره شد.

فراسنجه های مورد اندازه گیری شامل مالون دی آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز، گلووتاتیون پراکسیداز^۴، کاتالاز و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام بودند. انتخاب این شاخص ها به دلیل نقش کلیدی آن ها در تبیین تعادل اکسیداتیو-آنتی اکسیدانی صورت گرفت. مالون دی آلدئید به عنوان یکی از متداول ترین نشانگرهای پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش آن بیانگر آسیب به ساختار غشاء سلولی و تشدید تنش اکسیداتیو است. در مقابل، آنزیم های آنتی اکسیدانی با خنثی سازی گونه های فعال اکسیژن در حفظ پایداری سلولی نقش دارند و فعالیت آن ها شاخصی از توان دفاع آنتی اکسیدانی ارگانیزم محسوب می شود (Ighodaro & Akinloye, 2017). ظرفیت آنتی اکسیدانی تام نیز معیاری ترکیبی برای ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل سرم بوده و نمایانگر تعادل میان تولید رادیکال های آزاد و سامانه های دفاعی بدن است.

که در آن، A: میزان جذب نوری محلول عصاره شده در طول موج ۴۵۰ نانومتر، V: حجم نهایی عصاره (میلی لیتر) و $A_{1cm}^{1\%}$: ضریب جذب ویژه کاروتنوئید (لیتر بر گرم در سانتی متر) است که برای لوتئین معادل عدد ۲۵۹۲ در طول موج ۴۵۰ نانومتر در نظر گرفته شد (Britton, 1995). W: وزن نمونه اولیه (گرم) و 10^6 : ضریب تبدیل واحد به میکروگرم می باشد (Rodríguez-Amaya & Kimura, 2004).

نمونه برداری و ارزیابی شاخص های کیفی تخم مرغ

نمونه برداری تخم مرغ ها به صورت هر دو هفته از هر قفس انجام شد و یک تخم مرغ تازه از هر قفس به صورت تصادفی جمع آوری گردید. ضخامت و وزن پوسته، ارتفاع و قطر زرده با استفاده از ابزارهای دقیق، طول و قطر با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۵ میلی متر و وزن با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری شدند.

همان طور که در معادله ۲ نشان داده شده است، شاخص زرده^۱ به عنوان نسبت ارتفاع زرده به قطر آن تعریف می شود و معیاری برای ارزیابی کیفیت داخلی تخم مرغ به شمار می آید (Heiman & Carver, 1936). این شاخص در مطالعات مختلف به منظور بررسی تأثیر تیمارهای تغذیه ای یا شرایط نگهداری و سن بر کیفیت تخم مرغ به کار گرفته شده است و بیانگر میزان برجستگی و قوام زرده است، به طوری که کاهش آن می تواند نشانه ای از کاهش تازگی یا تخریب ساختار زرده باشد (Akyurek & Okur, 2009; Silversides & Scott, 2000).

$$\text{Yolk index} = \frac{YH}{YD}$$

معادله (۲)

که در آن، YH: ارتفاع زرده و YD: میانگین قطر زرده است. رنگ زرده تخم مرغ با استفاده از از پنل استاندارد فن سنجش رنگ^۲ (سوئیس) به صورت چشمی و با مقیاس عددی ۱۵ مرحله ای تعیین شد. این پنل که در آزمایشگاه های مرغداری ایران کاربرد دارد، یکی از رایج ترین و معتبرترین روش های ارزیابی رنگ زرده، شامل طیفی از رنگ های استاندارد زرده است که به کمک آن رنگ نمونه ها با معیارهای مرجع مقایسه و درجه بندی می شوند.

واحد هاو^۳ که نشان دهنده کیفیت داخلی تخم مرغ است نیز براساس معادله ۳ محاسبه گردید (Zhang et al., 2024). عدد بالاتر در واحد هاو نشان دهنده کیفیت داخلی بهتر و تازگی بیشتر تخم مرغ است، زیرا این شاخص به ارتفاع آلبومین و وزن تخم مرغ وابسته بوده و کاهش آن معمولاً ناشی از افت قوام سفیده در اثر نگهداری طولانی

1- Yolk Index

2- YolkFan (DSM Nutritional Products)

3- Haugh Unit

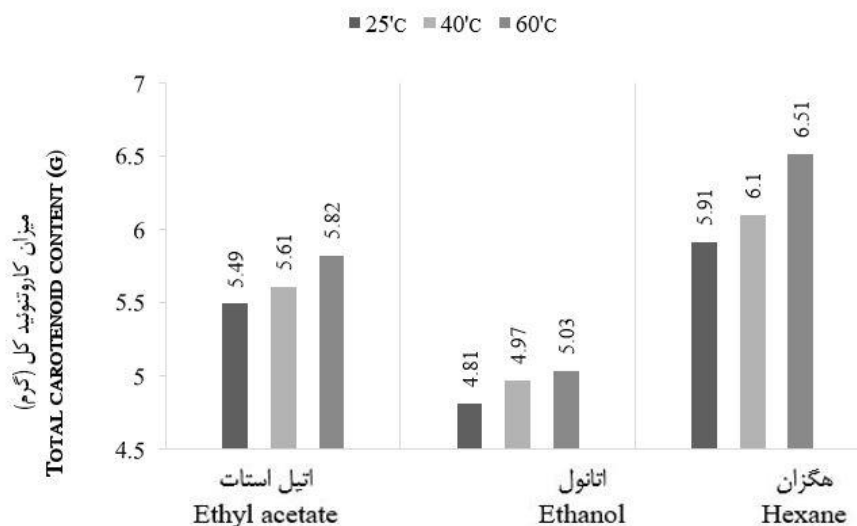
تحلیل آماری

تحلیل داده‌ها براساس طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ (SAS Institute, 2013) و مدل خطی کلی (GLM) صورت گرفت. در صورت وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها، برای مقایسه میانگین‌ها، آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد به کار گرفته شد.

نتیجه‌گیری و بحث

براساس نتایج به‌دست‌آمده در شکل ۱، بیشترین میزان استخراج کاروتنوئید کل با استفاده از حلال هگزان در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به دست آمد (مقدار ۶/۵۱ گرم). این نتایج نشان می‌دهد که حلال‌های غیرقطبی مانند هگزان، به دلیل سازگاری با ساختار لیپوفیلک کاروتنوئیدها، بازده استخراج بالاتری داشته‌اند، مطابق با شواهدی که نشان می‌دهند استفاده از حلال‌های غیرقطبی برای استخراج کاروتنوئیدهای غیرقطبی مؤثرتر است و تأکید کرده‌اند که نوع ساختار مولکولی هر کاروتنوئید و ترکیب ماتریکس زیستی تعیین می‌کند که حلال قطبی یا غیرقطبی مناسب‌تر باشد (Saini & Keum, 2018).

علی‌رغم اینکه استفاده از حلال‌های غیرسمی جدید و تکنیک‌های استخراج سبز در حال افزایش است، اما هنوز هم ترکیبات متداول مثل هگزان به دلیل سهولت و کارایی در استخراج ترکیبات لیپوفیلی ترجیح داده می‌شوند (Arvayo-Enríquez et al., 2013). نکته قابل توجه آن است که نتایج مشابهی در سایر ماتریکس‌های گیاهی نیز گزارش شده است. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای روی دانه نیم، هگزان به عنوان مؤثرترین حلال در استخراج روغن نیم شناخته شد که تأکیدی بر نقش قطبیت حلال در بازده استخراج ترکیبات غیرقطبی است (Ebele et al., 2022). بنابراین، هم‌خوانی نتایج حاضر با مطالعات دیگر نشان می‌دهد که انتخاب حلال با قطبیت مشابه ماهیت مولکولی رنگدانه، عامل کلیدی در افزایش بازده استخراج است. همچنین افزایش دما تا محدوده مناسب باعث کاهش ویسکوزیته حلال و تسهیل انتقال جرم شده و بازده استخراج کاروتنوئید را بهبود می‌دهد (Shahidan et al., 2017). علاوه بر این حضور پروتئین‌ها و فسفولیپیدها در ماده اولیه می‌تواند حل‌پذیری کاروتنوئیدها در حلال‌های قطبی را افزایش دهد. بنابراین، تفاوت در ترکیب ماتریس، نوع کاروتنوئید و شرایط فرآیند می‌تواند علت اختلاف نتایج میان مطالعات مختلف باشد (Yang et al., 2020).



شکل ۱- تأثیر نوع حلال (اتیل استات، اتانول و هگزان) و دمای استخراج (۲۵، ۴۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد) بر میزان کاروتنوئید کل (گرم) استخراج شده از نمونه یونجه
Figure 1- Effect of solvent type (ethyl acetate, ethanol, and hexane) and extraction temperature (25, 40, and 60 °C) on total carotenoid content (g) extracted from alfalfa samples

رنگ زرده

براساس نتایج ارائه‌شده در جدول ۲ مربوط به تغییرات رنگ زرده طی دوره آزمایش، میانگین شاخص رنگ زرده در تیمارهای دریافت‌کننده رنگدانه (A30، A20 و L35) به طور معنی‌داری بالاتر از

تیمار پایه (C) بود ($P < 0.0001$). بیشترین شاخص رنگ زرده در تمامی هفته‌ها مربوط به تیمار L35 (رنگدانه تجاری لوکانتین) بود، اما تیمار A30 که حاوی دُز بالاتر رنگدانه کاروتنوئیدی یونجه بود، نیز عملکرد مطلوبی از خود نشان داد و در تمام هفته‌ها به طور معنی‌داری

(2006) و عبدل-آل و همکاران (Abdel-Aal et al., 2017) که بر اثربخشی منابع گیاهی حاوی کاروتنوئید در افزایش رنگ زرده تأکید داشتند، هم‌راستا است. براساس نتایج این مطالعه، بهبود رنگ زرده را می‌توان به افزایش رسوب کاروتنوئیدهای لیپوفیل در تخمدان و زرده نسبت داد. این موضوع با نتایج گرسویک و همکاران (Grčević et al., 2019) هم‌خوانی دارد که بیان نمودند افزودن منبع طبیعی لوتئین سبب افزایش محتوای رنگدانه و ارتقای شدت رنگ زرده می‌گردد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که منابع طبیعی کاروتنوئید، نقش قابل توجهی در بهبود ویژگی‌های بازاری و کیفی تخم‌مرغ دارند.

بالتر از شاهد قرار گرفت. این روند افزایشی وابسته به دُر، به‌ویژه در هفته ششم، شدت بیشتری داشت که در آن تیمارهای A30 و L35 به‌ترتیب نمراتی معادل ۷/۵ و ۱۱/۴۳۷ کسب کردند، درحالی‌که شاهد تنها شاخص ۴/۶۲۵ را نشان داد. این نتایج مؤید اثر مثبت منابع کاروتنوئیدی طبیعی و مصنوعی در بهبود رنگ‌پذیری زرده تخم‌مرغ است. اگرچه رنگدانه تجاری عملکرد بهتری نشان داد، اما عصاره یونجه نیز به‌عنوان منبع طبیعی لوتئین و زی‌زانتین توانست بهبود قابل توجهی در کیفیت رنگ زرده ایجاد کند. یافته‌های این مطالعه با نتایج گزارش‌شده توسط کاراداس و همکاران (Karadas et al., 2019) هم‌راستا است.

جدول ۲- اثر سطوح مختلف کاروتنوئیدهای استخراجی از یونجه و رنگدانه مصنوعی لوکانتین بر شاخص رنگ زرده تخم‌مرغ در طی دوره آزمایشی

Table 2- Effects of different levels of Alfalfa-derived carotenoids and synthetic pigment (Lucantin®) on egg yolk color index during the experimental period

هفته آزمایشی Experimental week	جیره‌های آزمایشی Experimental diets				مقدار P P value
	جیره پایه C ¹	g 20 کاروتنوئید یونجه A 20 ²	g 30 کاروتنوئید یونجه A 30 ³	g 35 لوکانتین L 35 ⁴	
هفته دوم Week 2	4.19 ± 0.11 ^c	4.75 ± 0.12 ^b	5.13 ± 0.11 ^b	10.19 ± 0.11 ^a	<0.0001
هفته چهارم Week 4	4.50 ± 0.20 ^d	5.50 ± 0.12 ^c	6.38 ± 0.24 ^b	10.56 ± 0.18 ^a	<0.0001
هفته ششم Week 6	4.63 ± 0.12 ^d	6.00 ± 0.11 ^c	7.50 ± 0.18 ^b	11.44 ± 0.10 ^a	<0.0001
هفته هشتم Week 8	4.13 ± 0.11 ^d	5.88 ± 0.15 ^c	6.56 ± 0.15 ^b	10.56 ± 0.29 ^a	<0.0001

مقادیر به‌صورت (میانگین ± خطای استاندارد (SE)) حاصل از چهار تکرار مستقل گزارش شده‌اند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. ^{a-d} میانگین‌هایی که در هر ردیف دارای حروف متفاوت هستند، تفاوت آماری معنی‌داری را در سطح $P < 0.05$ نشان می‌دهند.

C: شاهد (بدون افزودن منبع کاروتنوئیدی)، A20: جیره حاوی ۲۰ گرم عصاره کاروتنوئیدی استخراج‌شده از گیاه یونجه در هر تن جیره، A30: جیره حاوی ۳۰ گرم عصاره کاروتنوئیدی استخراج‌شده از گیاه یونجه در هر تن جیره، L35: جیره حاوی ۳۵ گرم لوکانتین به‌عنوان منبع تجاری کاروتنوئید

Values are expressed as mean ± standard error (SE) based on four independent replicates. Mean comparisons were performed using Duncan's multiple range test at a 95% confidence level.

^{a-d} Means in each row with different superscript letters indicate statistically significant differences at $P < 0.05$.

C¹: Control (no supplemental carotenoid source). A20²: Diet supplemented with 20 mg/kg alfalfa-derived carotenoid extract. A30³: Diet supplemented with 30 mg/kg alfalfa-derived carotenoid extract. L35⁴: Diet supplemented with 35 mg/kg lucantin (commercial carotenoid source)

همراه با کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید می‌شود. هم‌سویی نتایج نشان می‌دهد که منابع رنگدانه طبیعی علاوه‌بر نقش رنگ‌زایی، دارای اثر آنتی‌اکسیدانی مؤثر نیز هستند که می‌تواند به بهبود پایداری لیپیدها و کیفیت تغذیه‌ای تخم‌مرغ منجر شود. این یافته با نتایج مطالعه هنگ و همکاران (Heng et al., 2021) که بیان داشتند استفاده از منابع غنی از آنتی‌اکسیدان، سطح مالون‌دی‌آلدئید را در طیور کاهش می‌دهد، هم‌راستا بود. یافته‌های حاضر با نتایج لی و همکاران (Lee et al., 2014) هم‌راستا بود، آن‌ها نیز کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدئید و بهبود شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی را در مرغ‌های دریافت‌کننده لوتئین گزارش کردند. شاخص‌های آنزیمی شامل سوپراکسید دیس‌موتاز، گلوکاتایون‌پراکسیداز و کاتالاز نیز بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشتند. در مورد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، تفاوت آماری

فراسنجه‌های خون

در هفته هشتم آزمایش، بررسی شاخص‌های خون مرتبط با وضعیت اکسیداتیو در مرغ‌های تخم‌گذار، تحت تأثیر تیمارهای مختلف مکمل‌سازی‌شده با رنگدانه کاروتنوئیدی یونجه، تفاوت‌های قابل توجهی را در برخی شاخص‌ها نشان داد (جدول ۳). مقدار مالون‌دی‌آلدئید در شاهد (C) به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای ۲ و ۳ بود ($P = 0.0233$)، به‌طوری‌که کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید در این دو تیمار، بیانگر بهبود وضعیت اکسیداتیو و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی است (An et al., 2019). این یافته‌ها با نتایج صالح و همکاران (Saleh et al., 2021) هم‌خوانی دارد. آن‌ها گزارش کردند که مصرف رنگدانه‌های طبیعی مانند پاپریکا یا ترکیب آن با رنگدانه شیمیایی موجب افزایش امتیاز رنگ زرده و افزایش ویتامین E زرده

معنی‌داری مشاهده نشد ($P=0.0732$).

جدول ۳- اثر تیمارهای مختلف جیره غذایی حاوی کاروتنوئید یونجه و لوکانتین تجاری بر شاخص‌های خونی مرتبط با تنش اکسیداتیو در مرغ‌های تخم‌گذار در هفته هشتم دوره آزمایش

Table 3 – Effects of dietary treatments containing Alfalfa carotenoid and commercial Lucantin on oxidative stress-related blood parameters in laying hens at week 8 of the experiment

تیمار آزمایشی Treatment	MDA ¹ (nmol/ml)	TAC ² (μmol/L)	SOD ³ (U/ml)	GPx ⁴ (U/ml)	CAT ⁵ (U/ml)
C	8.94±0.19 ^a	301.38±16.44	269.00±13.60	212.63±5.81	124.13±11.64
A 20	7.50±0.07 ^b	314.38±10.83	312.38±30.62	194.00±8.27	138.63±17.95
A 30	7.84±0.34 ^b	286.00±5.72	315.88±18.76	189.38±8.67	161.13±12.22
L 35	8.14±0.41 ^{ab}	332.25±9.72	319.38±13.56	208.13±9.38	129.50±5.33
P value	0.0233	0.0732	0.3063	0.1904	0.2244

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار ($\text{Mean} \pm \text{SE}$) ارائه شده‌اند. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری در سطح $P < 0.05$ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند. ^{a-b} میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف متفاوت هستند، تفاوت آماری معنی‌دار را در سطح $P < 0.05$ نشان می‌دهند.

C = شاهد (بدون افزودن منبع کاروتنوئیدی)، A20 = جیره حاوی ۲۰ گرم عصاره کاروتنوئیدی استخراج‌شده از گیاه یونجه در هر تن جیره، A30 = جیره حاوی ۳۰ گرم عصاره کاروتنوئیدی استخراج‌شده از گیاه یونجه در هر تن جیره، L35 = جیره حاوی ۳۵ گرم لوکانتین به عنوان منبع تجاری کاروتنوئید

MDA¹: مالون‌دی‌آلدئید؛ TAC²: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام؛ SOD³: سوپراکسید دسموتاز؛ GPx⁴: گلوکاتیون پراکسیداز؛ Catalase⁵: کاتالاز.

Values are expressed as mean $\pm$ standard error (SE) based on four independent replicates. Mean comparisons were performed using Duncan's multiple range test at a 95% confidence level. ^{a-b} Means in each column with different superscript letters indicate statistically significant differences at $P < 0.05$.

C = Control (no supplemental carotenoid source). A20 = Diet supplemented with 20 mg/kg alfalfa-derived carotenoid extract. A30 = Diet supplemented with 30 mg/kg alfalfa-derived carotenoid extract. L35 = Diet supplemented with 35 mg/kg lucantin (commercial carotenoid source)

¹MDA: malondialdehyde; ²TAC: total antioxidant capacity; ³SOD: superoxide dismutase; ⁴GPx: glutathione peroxidase; ⁵CAT: catalase.

(۳۵ گرم لوکانتین) کاهش معنی‌داری نسبت به کنترل و تیمار A 20 داشتند (جدول ۴). این یافته ممکن است ناشی از اثرات منفی مصرف بالای رنگدانه‌ها، بر کیفیت سفیده تخم‌مرغ باشد. در هفته هشتم نیز، تیمار لوکانتین به طور معنی‌داری پایین‌ترین مقدار واحد هاو را نشان داد، در حالی که تیمارهای حاوی رنگدانه طبیعی یونجه شاخص هاو نسبتاً بهتری داشتند. در هفته‌های چهارم و ششم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. یافته‌های حاصل از این تحقیق با نتایج حاصل از متاآنالیز یانیتاساری و همکاران (Yunitasari et al., 2023) هم‌راستا است؛ که براساس بررسی ۴۷ مطالعه انجام‌شده، گزارش کردند که افزودن مکمل طبیعی کاروتنوئیدی به جیره مرغ‌های تخم‌گذار باعث افزایش معنی‌دار واحد هاو به میزان ۰/۲۶ واحد می‌شود.

نتایج مربوط به ارتفاع زرده نشان داد که در هفته دوم آزمایش، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P = 0.9161$). باین‌حال، روند تغییرات در طول دوره نشان‌دهنده پاسخ تدریجی زرده به ترکیب‌های متفاوت جیره بود. در هفته ششم، تیمار حاوی عصاره کاروتنوئید یونجه (A30) افزایش معنی‌داری در ارتفاع زرده نسبت به شاهد و A20 نشان دادند ($P = 0.0313$). تیمار A30 با میانگین ارتفاع $18/22 \pm 0/33$ میلی‌متر، بالاترین مقدار را به خود اختصاص داد.

لازم به ذکر است که به دلیل عدم بروز تفاوت‌های معنی‌دار در سنن ابتدایی‌تر، نتایج براساس نمونه‌گیری انجام‌شده در هفته هشتم مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در پژوهش حاضر، افزودن رنگدانه طبیعی سبب کاهش مالون‌دی‌آلدئید زرده شد، اما تغییری در شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی مشاهده نگردید. این نتیجه با گزارش گائو (Gao et al., 2020) همسو نیست، آن‌ها نشان دادند که آستاگزانتین طبیعی علاوه بر کاهش مالون‌دی‌آلدئید، باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز می‌شود. این اختلاف می‌تواند از نوع و قدرت فعالیت آنتی‌اکسیدانی رنگدانه، میزان و مدت زمان مصرف، پایداری مولکول در جیره و ساختار لیپیدی زرده ناشی شود. در واقع، رنگدانه‌های با ساختار اکسی کاروتنوئیدی مانند آستاگزانتین دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به گزانتوفیل‌های معمولی هستند و به دلیل تفاوت در توان جذب رادیکال آزاد و قرارگیری در لایه‌های لیپیدی زرده، می‌توانند اثرات بیولوژیکی متفاوتی نشان دهند. لذا بهبود رنگ زرده و کاهش پراکسیداسیون چربی لزوماً با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی همراه نیست و این موضوع به ساختار شیمیایی و قدرت آنتی‌اکسیدانی منبع رنگدانه وابسته است.

شاخص واحد هاو در هفته‌های دوم و هشتم تحت تأثیر نوع رنگدانه قرار گرفت ($P < 0.05$). در هفته دوم، تیمارهای دریافت‌کننده عصاره کاروتنوئیدی یونجه با دُر بالاتر (۳۰ گرم کاروتنوئید) و لوکانتین

جدول ۴- اثر تیمارهای مختلف جیره غذایی حاوی کاروتنوئید یونجه و لوکانتین تجاری بر شاخص‌های کیفی تخم مرغ در طول دوره آزمایشی
Table 4 – The effect of different dietary treatments containing Alfalfa carotenoid and commercial Lucantin on egg quality traits during the experimental period

تیمار treatment	ارتفاع زرده Yolk height (mm)	میانگین قطر زرده Yolk Diameter (mm)	شاخص زرده Yolk index	وزن مخصوص Specific gravity	ضخامت پوسته Shell thickness (μ m)	واحد هاو Haugh unit
هفته ۲ آزمایش						
Experimental Week 2						
C ¹	19.49 $\pm$ 0.589	41.51 $\pm$ 0.798	0.47 $\pm$ 0.013	1.093 $\pm$ 0.002	463.25 $\pm$ 2.926	98.42 $\pm$ 1.030 ^a
A 20 ²	19.19 $\pm$ 0.515	41.64 $\pm$ 0.203	0.46 $\pm$ 0.012	1.094 $\pm$ 0.002	461.5 $\pm$ 3.663	98.84 $\pm$ 0.377 ^a
A 30 ³	19.35 $\pm$ 0.125	43.16 $\pm$ 0.565	0.45 $\pm$ 0.006	1.092 $\pm$ 0.002	468.25 $\pm$ 2.562	94.43 $\pm$ 1.106 ^b
L 35 ⁴	19.09 $\pm$ 0.274	43.54 $\pm$ 0.699	0.44 $\pm$ 0.010	1.092 $\pm$ 0.002	456.5 $\pm$ 6.384	94.15 $\pm$ 1.627 ^b
P value	0.9161	0.0793	0.2231	0.8626	0.3025	0.0179
هفته ۴ آزمایش						
Experimental Week 4						
C	18.45 $\pm$ 0.290	42.74 $\pm$ 0.570	0.43 $\pm$ 0.003	1.096 $\pm$ 0.003	426.92 $\pm$ 17.100	95.45 $\pm$ 1.240
A 20	19.15 $\pm$ 0.480	42.11 $\pm$ 0.440	0.46 $\pm$ 0.015	1.092 $\pm$ 0.004	448.08 $\pm$ 17.820	97.19 $\pm$ 1.440
A 30	17.83 $\pm$ 0.410	41.72 $\pm$ 0.530	0.43 $\pm$ 0.010	1.092 $\pm$ 0.001	455.08 $\pm$ 11.040	95.39 $\pm$ 0.810
L 35	18.57 $\pm$ 0.310	42.81 $\pm$ 0.490	0.43 $\pm$ 0.010	1.091 $\pm$ 0.002	437.58 $\pm$ 17.140	96.50 $\pm$ 1.050
P value	0.1638	0.4082	0.252	0.5871	0.6321	0.6496
هفته ۶ آزمایش						
Experimental Week 6						
C	16.74 $\pm$ 0.170 ^b	43.97 $\pm$ 0.240	0.38 $\pm$ 0.005 ^b	1.093 $\pm$ 0.002	434.50 $\pm$ 5.430	90.71 $\pm$ 1.880
A 20	16.71 $\pm$ 0.320 ^b	43.28 $\pm$ 0.500	0.39 $\pm$ 0.004 ^b	1.093 $\pm$ 0.001	427.83 $\pm$ 11.860	90.07 $\pm$ 1.950
A 30	18.22 $\pm$ 0.330 ^a	43.89 $\pm$ 0.470	0.41 $\pm$ 0.010 ^a	1.095 $\pm$ 0.001	444.50 $\pm$ 7.780	86.71 $\pm$ 2.180
L 35	17.74 $\pm$ 0.380 ^{ab}	43.03 $\pm$ 0.630	0.41 $\pm$ 0.008 ^a	1.096 $\pm$ 0.002	435.83 $\pm$ 13.130	88.20 $\pm$ 2.710
P value	0.0313	0.4636	0.016	0.5565	0.7117	0.5803
هفته ۸ آزمایش						
Experimental Week 8						
C	14.47 $\pm$ 0.390	45.30 $\pm$ 0.830	0.32 $\pm$ 0.010	1.10 $\pm$ 0.000	431.25 $\pm$ 2.230	76.96 $\pm$ 1.510 ^{ab}
A 20	14.95 $\pm$ 0.600	45.65 $\pm$ 1.040	0.33 $\pm$ 0.020	1.10 $\pm$ 0.000	421.50 $\pm$ 11.870	80.83 $\pm$ 0.980 ^a
A 30	15.19 $\pm$ 0.650	45.91 $\pm$ 0.300	0.33 $\pm$ 0.020	1.10 $\pm$ 0.000	433.42 $\pm$ 5.360	79.14 $\pm$ 1.190 ^a
L 35	14.51 $\pm$ 0.350	46.42 $\pm$ 0.170	0.31 $\pm$ 0.010	1.09 $\pm$ 0.000	430.42 $\pm$ 10.000	72.82 $\pm$ 2.670 ^b
P value	0.713	0.7099	0.7727	0.2539	0.7544	0.0329

مقادیر به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (n = 4) ارائه شده‌اند. ^{a-b} حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ هستند.

C¹ = شاهد (بدون افزودن منبع کاروتنوئیدی)، A20² = جیره حاوی ۲۰ گرم عصاره کاروتنوئیدی استخراج‌شده از گیاه یونجه در هر تن جیره، A30³ = جیره حاوی ۳۰ گرم عصاره کاروتنوئیدی استخراج‌شده از گیاه یونجه در هر تن جیره، L35⁴ = جیره حاوی ۳۵ گرم لوکانتین به‌عنوان منبع تجاری کاروتنوئید

Values are expressed as mean $\pm$ standard error (n = 4). ^{a-b} Means in each column with different superscript letters indicate significant differences at $P < 0.05$.

C¹ = Control (no supplemental carotenoid source). A20² = Diet supplemented with 20 mg/kg alfalfa-derived carotenoid extract. A30³ = Diet supplemented with 30 mg/kg alfalfa-derived carotenoid extract. L35⁴ = Diet supplemented with 35 mg/kg lucantin (commercial carotenoid source)

موجب بهبود انتقال مواد مغذی به زرده و حفظ ساختار میکرونی آن شده باشند. افزایش نرخ تولید تخم مرغ با بهبود وضعیت اکسیداتیو در مرغ‌های تغذیه‌شده با کانتاکسانتین گزارش شده است (Chen et al., 2025).

شاخص زرده که نمایانگر نسبت ارتفاع به قطر زرده است و کیفیت داخلی آن را مشخص می‌کند، در دو هفته ابتدایی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ($P > 0.2$). باین حال، در هفته

در هفته هشتم نیز، با وجود کاهش کلی ارتفاع زرده در تمام تیمارها، تیمار A30 همچنان در بالاترین سطح باقی ماند ($0.65 \pm$ میلی‌متر). افزایش ارتفاع زرده در تیمارهای حاوی کاروتنوئید ممکن است به نقش محافظتی این ترکیبات در برابر اکسیداسیون لیپیدهای زرده مرتبط باشد (Jang et al., 2014; Yunitasari et al., 2023) که به حفظ ساختار فیزیکی آن کمک می‌کند. همچنین احتمال دارد که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره یونجه

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از منابع کاروتنوئیدی، به‌ویژه عصاره کاروتنوئیدی استخراج‌شده از یونجه می‌تواند کیفیت داخلی تخم‌مرغ را در مرغ‌های تخم‌گذار بهبود بخشد. در این تحقیق، افزایش معنی‌دار ارتفاع زرده و شاخص زرده در تیمارهای حاوی سطوح بالاتر کاروتنوئید در مقایسه با گروه شاهد ($P < 0.05$) بیانگر ارتقای ساختار زرده و بهبود خصوصیات فیزیکی آن بود؛ موضوعی که اهمیت زیادی در پذیرش محصول از سوی مصرف‌کننده دارد. از سوی دیگر، کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدئید در تیمارهای دریافت‌کننده کاروتنوئید ($P < 0.05$) در سطح ۳۰ گرم در تن خوراک نشان داد که این ترکیبات با کاهش تنش اکسیداتیو موجب تقویت وضعیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند و در نتیجه می‌توانند با حفظ تعادل اکسایش-کاهش^۲ در بدن پرنده، سلامت فیزیولوژیک آن را تحت تأثیر مثبت قرار دهند. بر این اساس، افزودن کاروتنوئیدهای طبیعی مشتق از منابع گیاهی همچون یونجه می‌تواند به‌عنوان یک راهکار تغذیه‌ای مؤثر توصیه شود. با توجه به بهبود شاخص‌های کیفی زرده (افزایش ارتفاع، شاخص و رنگ زرده) و کاهش مالون‌دی‌آلدئید در تیمار دریافت‌کننده رنگدانه طبیعی یونجه، به‌کارگیری سطح ۳۰ میلی‌گرم رنگدانه طبیعی در هر کیلوگرم جیره (معادل ۳۰ گرم در هر تن خوراک) در شرایط پرورش تجاری مرغ‌های تخم‌گذار قابل توصیه است. استفاده از این سطح رنگدانه علاوه‌بر حفظ سلامت اکسیداتیو تخم‌مرغ موجب بهبود رنگ و جذابیت ظاهری زرده و افزایش پذیرش مصرف‌کننده می‌گردد. با این حال، به‌منظور دستیابی به نتایج نهایی و تعیین دوز بهینه مصرف، انجام مطالعات گسترده‌تر با سطوح مکملی بیشتر، دوره‌های نگهداری طولانی‌تر و بررسی شاخص‌های مولکولی، بافتی و اقتصادی ضروری به نظر می‌رسد.

ششم، تیمارهای حاوی ۳۰ گرم عصاره یونجه و ۳۵ گرم لوکانتین به‌طور معنی‌داری مقادیر بالاتری نسبت به دو تیمار دیگر داشتند ($P = 0.016$). این نتیجه نشان می‌دهد که هر دو نوع کاروتنوئید (طبیعی و تجاری) می‌توانند در بهبود قوام زرده مؤثر باشند، اما تیمار A30 که از عصاره طبیعی یونجه استفاده کرده بود، بالاترین شاخص زرده را نشان داد. در هفته هشتم، علی‌رغم ثبات نسبی مقادیر، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، اما روند حفظ شاخص در تیمارهای کاروتنوئیدی ادامه داشت. این یافته‌ها با نتایج شفچنکو و همکاران (*Shevchenko et al., 2021*) همسو است. آن‌ها گزارش کردند که استفاده از رنگدانه‌های طبیعی مانند لیکوپن و آستاگزانتین، با وجود ایجاد تغییرات جزئی در متابولیت‌های سرمی موجب افزایش محتوای کاروتنوئید زرده و تقویت رنگ آن بدون اثرات نامطلوب فیزیولوژیک می‌شود.

ترکیبات موجود در عصاره یونجه مانند لوتئین و زی‌زانتین ممکن است نقش کلیدی در حفظ کیفیت فیزیکی زرده ایفا کنند. سازوکار اثر این ترکیبات ممکن است شامل تثبیت ساختار میکرونی زرده، کاهش اکسیداسیون لیپیدها و افزایش قوام غشاء زرده باشد. در جیره‌های مبتنی بر سورگوم، جایگزینی رنگدانه‌های سنتتیک با منابع طبیعی، گزینه‌ای پایدارتر و سازگارتر با سلامت محصول نهایی تلقی شده است (*Chaves et al., 2022*). افزایش شاخص زرده در تیمارهای حاوی کاروتنوئید، با یافته‌های کوجیما و همکاران (*Kojima et al., 2022*) که افزایش شاخص زرده و فعالیت ضداکسیدانی (مهار اکسیژن سینگلت^۱) در زرده در اثر مکمل‌های کاروتنوئیدی را نشان دادند، هم‌راستا بود. همچنین یافته‌های ما مبنی بر افزایش شاخص زرده تحت تأثیر کاروتنوئید یونجه با نتایج انگلمارووا و همکاران (*Englmaierová et al., 2013*) هم‌راستا هستند، به‌طوری‌که بیان شده استفاده از لوتئین طبیعی، پایداری زرده و شاخص زرده را بهبود بخشید.

در طول دوره آزمایشی، ضخامت پوسته در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). بنابراین، مصرف سطوح مختلف کاروتنوئید منجر به تغییر قابل استناد در این صفت نشد. وزن مخصوص هم که به‌عنوان شاخصی از کیفیت داخلی و نسبت آب به ماده خشک تخم‌مرغ در نظر گرفته می‌شود، در این مطالعه، وزن مخصوص تخم‌مرغ‌ها در طول هفته‌های مختلف به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای غذایی قرار نگرفت ($P > 0.25$). در طی بررسی‌های به‌عمل آمده در این آزمایش، میانگین قطر زرده در تمامی تیمارها روند افزایشی نشان داد که بیانگر تأثیر سن و بلوغ تدریجی دستگاه تولیدمثلی طیور تخم‌گذار است (*Johnson, 2015*). اگرچه اختلاف آماری معناداری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$).

References

1. Abdel-Aal, E. M., Akhtar, H., Chambers, J. R., & Zaheer, K. (2016). Lutein and zeaxanthin carotenoids in eggs. In P. Hester (Ed.), *Egg innovations and strategies for improvements* (pp. 199–206). Academic Press: Boston, MA, USA. (Total pages: 646). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800879-9.00019-6>
2. Ebele, A. A., Ngolube, B. C., Udoye, M. C., Nzeoma, C., Okonkwo, I. J. & Anyikwa, S. O. (2022). Comparative Analysis of Methanol, Acetone, Ethanol and N-hexane Used in the Extraction of Oil from Neem Seeds (Response Surface Methodology). *International Journal of Science and Engineering Investigations* (IJSEI), 11(122), 1-8. <http://www.ijsei.com/papers/ijsei-1112222-01.pdf>.
3. Akyurek, H., & Okur, A. A. (2009). Effect of storage time, temperature and hen age on egg quality in free-range layer hens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(10), 1953–1958.
4. An, B. K., Choo, W. D., Kang, C. W., Lee, J., & Lee, K. W. (2019). Effects of dietary lycopene or tomato paste on laying performance and serum lipids in laying hens and on malondialdehyde content in egg yolk upon storage. *Journal of Poultry Science*, 56(1), 52–57. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0170118>
5. Arvayo-Enríquez, H., Mondaca-Fernández, I., Gortáñez-Moroyoqui, P., López-Cervantes, J., & Rodríguez-Ramírez, R. (2013). Carotenoids extraction and quantification: A review. *Analytical Methods*, 5(12), 2916–2924. <https://doi.org/10.1039/C3AY26295b>
6. Bagheri, S., Golian, A., Nasiri Moghaddam, H., & Zarghi, H. (2020). Effect of dietary energy and nutrients density on performance and egg quality in the 2nd production cycle in laying hens. *International Journal of Advanced Scientific Research*, 12(2), 197–209. (in Persian with English abstract) <https://doi.org/10.22067/ijasr.v12i2.73162>.
7. Bédécarrats, G. Y., & Leeson, S. (2006). Dietary lutein influences immune response in laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 15(2), 183–189. <https://doi.org/10.1093/japr/15.2.183>
8. Bednarik, P. (2013). Influence of sample processing on the analysis of carotenoids in maize: A comparative study using hexane, ethyl acetate and ethanol. *Molecules*, 17(9), 11255–11270. <https://doi.org/10.3390/molecules170911255>
9. Britton, G. (1995). UV/visible spectroscopy. In G. Britton, S. Liaaen-Jensen, & H. Pfander (Eds.), *Carotenoids, volume 1B: Spectroscopy* (pp. 13–62). Birkhäuser Verlag: Basel, Switzerland.
10. Chaves, C. A. R., Miranda, D. A., Geraldo, A., Machado, L. C., Valentim, J. K., & Garcia, R. G. (2022). Natural and synthetic pigments in sorghum-based diets for laying hens. *Acta Scientiarum, Animal Sciences*, 44, e53060.
11. Chen, J., Yu, S., Zhang, X., Song, Y., Zhou, X., Xiao, M., Liu, W., & An, L. (2025). Dietary canthaxanthin improves egg production rate through regulating hepatic lipid metabolism and redox status in indigenous chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, 12, 1607039. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1607039>
12. Dansou, D. M., Zhang, H., Yu, Y., Wang, H., Tang, C., Zhao, Q., Qin, Y., & Zhang, J. (2023). Carotenoid enrichment in eggs: From biochemistry perspective. *Animal Nutrition*, 14, 315–333. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2023.05.012>
13. Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R., & Paredes-López, O. (2000). Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3), 173–289. <https://doi.org/10.1080/10408690091189257>
14. Englmaierová, M., Skřivan, M., & Vít, T. (2019). Alfalfa meal as a source of carotenoids in combination with ascorbic acid in the diet of laying hens. *Czech Journal of Animal Science*, 64, 17–25. <https://doi.org/10.17221/116/2018-CJAS>
15. Englmaierová, M., Skřivan, M., & Bubancová, I. (2013). A comparison of lutein spray-dried Chlorella and synthetic carotenoids: Effects on yolk colour, oxidative stability and reproductive performance of laying hens. *Czech Journal of Animal Science*, 58(9), 412–419. <https://doi.org/10.17221/6941-CJAS>
16. Gao, S., Li, R., Heng, N., Chen, Y., Wang, L., Li, Z., Guo, Y., Sheng, X., Wang, X., Xing, K., Ni, H., & Qi, X. (2020). Effects of dietary supplementation of natural astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* on antioxidant capacity, lipid metabolism, and accumulation in the egg yolk of laying hens. *Poultry Science*, 99(11), 5874–5882. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.029>.
17. Grčević, M., Kralik, Z., Kralik, G., & Galović, O. (2019). Effects of dietary marigold extract on lutein content, yolk color and fatty acid profile of omega-3 eggs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), 2292–2299. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9425>
18. Heiman, V., & Carver, J. S. (1936). The albumen index as a physical measurement of observed egg quality. *Poultry Science*, 15(2), 141–148. <https://doi.org/10.3382/ps.0150141>
19. Heng, N., Gao, S., Chen, Y., Wang, L., Li, Z., Guo, Y., Sheng, X., Wang, X., Xing, K., Xiao, L., Ni, H., & Qi, X. (2021). Effects of dietary supplementation with astaxanthin-rich *Phaffia rhodozyma* on antioxidant enzyme activity, free radical scavenging ability, and gene expression of antioxidant enzymes in laying hens. *Poultry Science*, 100(5), 101045. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101045>

20. Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2017). First line defence antioxidants – superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
21. Jang, I., Ko, Y., Kang, S., Kim, S., Song, M., Cho, K., Ham, J., & Sohn, S. (2014). Effects of dietary lutein sources on lutein-enriched egg production and hepatic antioxidant system in laying hens. *The Journal of Poultry Science*, 51(1), 58–65. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0130017>
22. Jiang, Y., Ye, J., Hu, Y., Zhang, J., Li, W., Zhou, X., Yu, M., Yu, Y., Yang, J., Yang, W., Jiang, J., Cui, J., & Hu, Y. (2024). Extraction and synthesis of typical carotenoids: Lycopene, β -carotene, and astaxanthin. *Molecules*, 29(19), Article 4549. <https://doi.org/10.3390/molecules29194549>
23. Johnson, A. L. (2015). Reproduction in the Female. In G. C. Whittow (Ed.). *Sturkie's Avian Physiology*. 6th Ed., pp. 635–665. Academic Press: San Diego, CA, USA. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407160-5.00028-2>
24. Jones, D. R., & Musgrove, M. T. (2005). Effects of extended storage on egg quality factors. *Poultry Science*, 84(11), 1774–1777. <https://doi.org/10.1093/ps/84.11.1774>
25. Karadas, F., Grammenidis, E., Surai, P. F., Acamovic, T., & Sparks, N. H. C. (2006). Effects of carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and carotenoid composition. *British Poultry Science*, 47(5), 561–566. <https://doi.org/10.1080/00071660600962976>
26. King, J. E., & Wang, S. Y. (2004). Isolation of lutein from alfalfa via saponification with 40% KOH. WO2004080933A2 (Patent).
27. Kojima, S., Koizumi, S., Kawami, Y., Shigeta, Y., & Osawa, A. (2022). Effect of dietary carotenoid on egg yolk color and singlet oxygen quenching activity of laying hens. *The Journal of Poultry Science*, 59(2), 137–142. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0210032>
28. Laudadio, V., Ceci, E., Lastella, N. M. B., Introna, M., & Tufarelli, V. (2014). Low-fiber alfalfa (*Medicago sativa* L.) meal in the laying hen diet: Effects on productive traits and egg quality. *Poultry Science*, 93(7), 1868–1874. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03831>
29. Lee, S. S., Lin, Y. C., Chen, W. C., Wang, S. H., Xia, W. G., & Hu, Y. C. (2014). Effects of dietary lutein sources on lutein-enriched egg production and hepatic antioxidant system in laying hens. *Journal of Poultry Science*, 51(1), 17–23. <https://doi.org/10.2141/jpsa.51.0130017>
30. Nabi, F., Arain, M. A., Rajput, N., Alagawany, M., Soomro, J., Umer, M., Soomro, F., Wang, Z., Ye, R., & Liu, J. (2020). Health benefits of carotenoids and potential application in poultry industry: A review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(5), 1809–1818. <https://doi.org/10.1111/jpn.13375>
31. Nimalaratne, C., & Wu, J. (2015). Hen egg as an antioxidant food commodity: A review. *Nutrients*, 7(10), 8274–8293. <https://doi.org/10.3390/nu7105394>
32. Madkour M, Ali SI, Alagawany M, El-Kholy MS, El-Baz FK, Alqhtani AH, Alharthi AS, Pokoo-Aikins A and Elolimy AA (2025). Dietary *Dunaliella salina* microalgae enriches eggs with carotenoids and long-chain omega-3 fatty acids, enhancing the antioxidant and immune responses in heat-stressed laying hens. *Frontiers in Veterinary Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1545433>
33. Rodríguez-Amaya, D. B. (2001). A guide to Carotenoid Analysis in Foods (pp. 1–71). ILSI Press. International Life Sciences Institute: Washington, DC, USA.
34. Rodríguez-Amaya, D. B., & Kimura, M. (2004). Using UV–Vis spectrophotometry for β -carotene determination. *HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis*.
35. Saini, R. K., & Keum, Y. S. (2018). Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chemistry*, 240, 90–103. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.099>
36. Saleh, A. A., Gawish, E., Mahmoud, S. F., Amber, K., Awad, W., Alzawqari, M. H., Shukry, M., & Abdel-Moneim, A. E. (2021). Effect of natural and chemical colorant supplementation on performance, egg-quality characteristics, yolk fatty-acid profile, and blood constituents in laying hens. *Sustainability*, 13, 4503. <https://doi.org/10.3390/su13084503>
37. SAS Institute Inc. (2013). SAS/STAT® 9.4 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
38. Shahidan, N., Noriham, A., & Nooraziah, A. A. (2017). The effect of time, temperature and solid to solvent ratio on pumpkin carotenoids extracted using food grade solvents. *Sains Malaysiana*, 46(2), 231–237. <https://doi.org/10.17576/jsm-2017-4602-07>
39. Shaver. (2020). Shaver White Commercial Management Guide. Hendrix Genetics, Boxmeer, The Netherlands. Available at: <https://www.hendrix-genetics.com>.
40. Shevchenko, L. V., Iakubchak, O. M., Davydovych, V. A., Honchar, V. V., Ciorga, M., Hartung, J., & Kołacz, R. (2021). Influence of lycopene and astaxanthin in feed on metabolic parameters of laying hens, yolk color of eggs and their content of carotenoids and vitamin A when stored under refrigerated conditions. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 24(4), 525–535. <https://doi.org/10.24425/pjvs.2021.139977> International Life Sciences Institute: Washington, DC, USA.
41. Silversides, F. G., & Scott, T. A. (2000). Effect of storage and strain of hen on egg quality. *Poultry Science*, 79(12), 1725–1729. <https://doi.org/10.1093/ps/79.12.1725>

42. Vidal, T. F., Pereira, A. L. F., Abreu, V. K. G., Freitas, E. R., Sousa Neto, M. A., & Zapata, J. F. F. (2013). Egg quality and yolk lipid composition of laying hens fed diets containing cashew nut meal. *Food Science and Technology*, 33(1), 172-179. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612013005000006>
43. Yang, C., Zhang, L., & Tsao, R. (2020). Chemistry and biochemistry of dietary carotenoids: bioaccessibility, bioavailability and bioactivities. *Journal of Food Bioactives*, 10 . <https://doi.org/10.31665/JFB.2020.10229>
44. Yunitasari, F., Jayanegara, A., & Ulupi, N. (2023). Performance, egg quality, and immunity of laying hens due to natural carotenoid supplementation: A meta-analysis. *Food Science of Animal Resources*, 43(2), 282–304. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2022.e76>
45. Zaheer, K. (2017). Hen egg carotenoids (lutein and zeaxanthin) and nutritional impacts on human health: A review. *CyTA - Journal of Food*, 15(3), 474–487. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1266033>
46. Zheng, M., Mao, P., Tian, X., Guo, Q., & Meng, L. (2019). Effects of dietary supplementation of alfalfa meal on growth performance, carcass characteristics, meat and egg quality, and intestinal microbiota in Beijing-you chicken. *Poultry Science*, 98(5), 2250–2259. <https://doi.org/10.3382/ps/pey550>
47. Zhang, J., Mao, Z., Zheng, J., Sun, C., & Xu, G. (2024). The effects of different doses of canthaxanthin in the diet of laying hens on egg quality, physical characteristics, metabolic mechanism, and offspring health. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(13), 7154. <https://doi.org/10.3390/ijms25137154>



Effects of Corn Grain Replacement with Triticale on Performance, Qualitative Traits of Eggs, and Some Biochemical Parameters of Blood Serum in Breeder Japanese Quail

Mohammad Javad Agah^{1*}, Elnaz Kami¹, Seyed Mohammad Reza Hashemi¹, Abdolhamid Karimi¹,
Mohammad Javad Abarghuei¹, Hossein Norollahi¹

1- Animal Science Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran

*Corresponding Author's Email: mjagah1400@gmail.com, m.agah@areeo.ac.ir

How to cite this article:

Received: 14-08-2025
Revised: 28-11-2025
Accepted: 02-12-2025
Available Online: 04-04-2026

Agah, M. J., Kami, E., Hashemi, S. M. R., Karimi, A., Abarghuei, M. J., & Norollahi, H. (2026). Effects of corn grain replacement with triticale on performance, qualitative traits of eggs, and some biochemical parameters of blood serum in breeder Japanese quail. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(1), 91-104. (in Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94923.1267>

Introduction: Cereal grains are the primary source of energy in poultry diets. Energy from cereal grains is primarily derived from highly digestible carbohydrates, with a small contribution from the fat they contain. Therefore, depending on dietary energy requirements, cereal grains constitute a substantial proportion of poultry rations and play a major role in overall feed costs. On the other hand, among cereal grains, corn is more widely used in poultry nutrition than other cereal grains due to its high energy content and digestibility. Due to human consumption and the limitations of corn cultivation in Iran, such as water supply, climatic conditions, and soil type, it seems necessary to replace corn with other feedstuffs in order to provide energy in poultry diets. One of these grains is triticale, which can be used as an alternative cereal in poultry diets. Triticale is a hybrid of wheat and rye. The combination of wheat-like nutritional attributes and the robustness of rye make triticale adaptable to poor soils and highly tolerant to drought and cold stress. Furthermore, triticale is a suitable source of energy (3200 Kcal of metabolizable energy) and has a higher protein percentage than corn (14% compared to 9%). This makes it a suitable alternative for a major portion of corn and soybean meal in poultry diet composition. Therefore, the aim of this study was to investigate the effects of replacing corn grain with triticale in the diet on the performance, egg quality traits, and some biochemical parameters of blood serum in breeder Japanese quail.

Materials and Methods: A total of 288 mature breeder Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) were obtained at 6 weeks of age and transferred to the research farm. The breeder quails with the same average weight (240 birds) were placed in 12 groups (3 males and 9 females) in each experimental unit (cages measuring 35×70 cm). The experimental period was 7 weeks, with the first 2 weeks dedicated to habituation and the remaining 5 weeks focused on collecting experimental data. The experiment was conducted using a



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

 <https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94923.1267>

completely randomized design with 5 treatments, 4 replicates and 12 birds in each experimental unit (3 males and 9 females). The treatments were as follows: 1) control group based on corn and soybean meal (without triticale grains), 2) replacing 25% of corn grains with triticale, 3) replacing 50% of corn grains with triticale, 4) replacing 75% of corn grains with triticale, and 5) replacing 100% of corn grains with triticale. Performance parameters, egg quality traits, hatchability, and fertility of eggs were evaluated throughout the experimental period. At the end of the experimental period (13 weeks) blood samples were taken from two birds from each experimental unit and serum lipid concentrations were measured.

Results and Discussion: The results indicated that replacing corn with triticale up to 50% had no significant effects on egg production, feed conversion ratio, egg mass, or the production cost per kilogram of eggs. However, higher levels of replacement significantly reduced egg production and egg mass while increasing the cost of egg production ($P < 0.01$). Previous studies have reported a clear relationship between albumen content and overall egg weight. Triticale has also been reported to contain a relatively high protein level (ranging from 10.5 to 14.6%). Therefore, the increase in egg weight with the progressive inclusion of triticale might be attributed to the high protein levels of triticale compared to other cereal grains. In the present study, the control group and the group with 100% replacement of corn grain by triticale showed the highest and lowest yolk color index, respectively ($P < 0.01$). Given the role of pigments in corn grain and the decrease in their levels in diets containing high levels of triticale, the decrease in yolk color index is expected. Replacing corn grain with triticale up to 75% did not have a significant effect on total hatchability. In the current study, replacing corn grain with different levels of triticale did not have a significant effect on serum lipid parameters of breeder quails at 13 weeks of age.

Conclusion: In the present study, replacing corn grain with triticale up to 50% did not significantly affect egg production, feed intake, egg mass, the production cost per kilogram of quail eggs, fertility, hatchability, or most egg quality parameters. Therefore, replacing triticale grain up to 50% in balanced diets of breeder quails, even without the inclusion of exogenous enzymes, is feasible and recommended.

Keywords: Egg mass, Feed conversion ratio, Hatchability, Lipid profile parameters, Yolk color index

اثرات جایگزینی دانه ذرت با تریتیکاله بر عملکرد، صفات کیفی تخم و برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون بلدرچین ژاپنی مولد

محمدجواد آگاه^{۱*}، الناز کمی^۱، سید محمدرضا هاشمی^۱، عبدالحمید کریمی^۱، محمدجواد ابرقوئی^۱، حسین نوراللهی^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۱

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی تأثیر جایگزینی دانه ذرت با تریتیکاله در جیره بر عملکرد، صفات کیفی تخم و برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون بلدرچین ژاپنی (*Coturnix coturnix japonica*) مولد از سن ۷ تا ۱۳ هفتگی انجام شد. تعداد ۳۴۰ قطعه بلدرچین مولد در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار، چهار تکرار و ۱۲ قطعه بلدرچین در هر تکرار (به ترتیب نه و سه قطعه پرنده ماده و نر) توزیع شدند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد برپایه دانه ذرت و کنجاله سویا، ۲- جایگزینی ۲۵ درصد دانه ذرت با دانه تریتیکاله، ۳- جایگزینی ۵۰ درصد دانه ذرت با دانه تریتیکاله، ۴- جایگزینی ۷۵ درصد دانه ذرت با دانه تریتیکاله و ۵- جایگزینی ۱۰۰ درصد دانه ذرت با دانه تریتیکاله (جیره برپایه دانه تریتیکاله و کنجاله سویا) بودند. نتایج نشان داد که جایگزینی دانه تریتیکاله تا ۵۰ درصد ذرت جیره، تأثیر معنی‌داری بر درصد تخم‌گذاری، ضریب تبدیل غذایی، توده تخم تولیدی و هزینه یک کیلوگرم تخم بلدرچین تولیدی نداشت، اما سطوح بالاتر جایگزینی، میزان تخم‌گذاری و توده تخم تولیدی را کاهش داده و هزینه تولید تخم را افزایش داد ($P < 0.01$). شاهد و جایگزینی ۱۰۰ درصد دانه ذرت با دانه تریتیکاله به‌ترتیب بیشترین و کمترین شاخص رنگ زرده را داشتند ($P < 0.01$). جایگزینی دانه تریتیکاله تا ۷۵ درصد ذرت جیره تأثیر معنی‌داری بر درصد جوجه‌درآوری کل نداشت. بنابراین جایگزینی دانه تریتیکاله تا سطح ۵۰ درصد دانه ذرت در جیره بلدرچین‌های مولد، به دلیل نداشتن اثرات منفی بر شاخص‌های کمی و کیفی تولید تخم پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: توده تخم تولیدی، جوجه‌درآوری، شاخص رنگ زرده، ضریب تبدیل غذایی، فراسنجه‌های لیپیدی خون

مقدمه

میزان الیاف خام، سهولت هضم و مقدار گزانتوفیل موجود نسبت به سایر دانه‌های غلات در تغذیه طیور کاربرد بیشتری دارد و به‌ترتیب ذرت خوشه‌ای، گندم، جو و سایر غلات در درجات بعدی اهمیت قرار دارند (NRC, 1989; Golian et al., 2009). این در حالی است که قیمت جهانی ذرت به دلیل محدودیت عملکرد جهانی در پوشش نیازهای انسان و دام در حال افزایش است. با توجه به محدودیت کشت ذرت در ایران از نظر تأمین آب مورد نیاز، شرایط آب‌وهوایی، مسطح نبودن اراضی کشاورزی و نوع خاک، انگیزه جایگزین نمودن اقلام خوراکی دیگر برای تأمین انرژی جیره غذایی طیور به جای ذرت وجود دارد (Chizari & Hajiheidary, 2010). یکی از این دانه‌ها تریتیکاله می‌باشد که می‌توان از آن در تهیه جیره‌های خوراکی طیور استفاده نمود. نام تریتیکاله از نام علمی گونه‌های به‌وجودآورنده آن گرفته شده است. در این مورد، گندم به‌عنوان پایه مادر به کار گرفته شده و دانه گرده از چاودار می‌باشد. تریتیکاله گیاهی یک‌ساله و تیپ

غلات به‌عنوان منابع اصلی تأمین انرژی در جیره طیور می‌باشند. انرژی حاصل از غلات، توسط کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم و به‌مقدار کمتری چربی موجود در آن‌ها تأمین می‌شود. بنابراین با توجه به سطح انرژی جیره و نیاز حیوان، غلات معمولاً سهم قابل توجهی از کل جیره طیور را به خود اختصاص می‌دهند و همواره تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر هزینه پرورش طیور دارند (Ahiwe et al., 2018). از طرف دیگر، ذرت در بین غلات به علت داشتن انرژی بالا، پایین بودن

۱- بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

(*) نویسنده مسئول: (Email: mjagah1400@gmail.com)
<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94923.1267>

یکنواخت در طی شبانه‌روز انجام شد. در شروع دوره تخم‌گذاری (دوره عادت‌پذیری) بلدرچین‌هایی که دارای رکوردهای تولیدی نامناسب (تخم‌های نامتعارف، پوسته نازک و تخم‌های کوچک) بوده و یا بلدرچین‌های بیمار از گله حذف و جایگزین شدند.

تعیین ترکیب شیمیایی دانه تربیتیکاله

در این پژوهش، رقم تربیتیکاله مورد استفاده رقم هاشمی (لاین ET-84-17) بود. به‌منظور تعیین مقدار ترکیبات مواد مغذی دانه تربیتیکاله رقم یادشده ابتدا درصد رطوبت، پروتئین خام، خاکستر و چربی خام به‌روش AOAC (۲۰۰۵) اندازه‌گیری شد و مقدار عصاره عاری از ازت NFE آن از معادله ۱ به دست آمد (Pond *et al.*, 2004). سپس مقدار انرژی قابل سوخت‌وساز دانه تربیتیکاله به‌وسیله معادله ۲ محاسبه شد (Janssen, 1989) (جدول ۱). در مورد سایر ترکیبات شیمیایی دانه تربیتیکاله، دانه ذرت و کنجاله سویا به جداول ترکیبات مواد غذایی استناد شد (NRC, 1994).

$$\text{معادله (۱)} \quad \text{NFE} = 100 - (\% \text{EE} + \% \text{Ash} + \% \text{CP} + \% \text{Fiber})$$

$$\text{معادله (۲)} \quad \text{MEn (Kcal/kg)} = (34.49 \times \text{CP}) + (62.16 \times \text{EE}) + (35.61 \times \text{NFE})$$

تیمارهای آزمایشی

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار، چهار تکرار و ۱۲ قطعه بلدرچین در هر تکرار (به‌ترتیب ۱ و ۲ سه قطعه پرنده ماده و ۱ جیره شاهد برپایه دانه ذرت و کنجاله سویا فاقد دانه تربیتیکاله)، ۲- جایگزینی ۲۵ درصد دانه ذرت با دانه تربیتیکاله، ۳- جایگزینی ۵۰ درصد دانه ذرت با دانه تربیتیکاله، ۴- جایگزینی ۷۵ درصد دانه ذرت با دانه تربیتیکاله و ۵- جایگزینی ۱۰۰ درصد دانه ذرت با دانه تربیتیکاله (جیره برپایه دانه تربیتیکاله و کنجاله سویا) بودند (جدول ۲). جیره‌های آزمایشی با توجه به جدول نیازمندی‌های توصیه‌شده برای پرورش بلدرچین ژاپنی مولد (NRC, 1994) با نرم‌افزار Excel (UNE Form) تنظیم شدند.

صفات کمی تولید تخم

برای اندازه‌گیری درصد تخم‌گذاری، تخم بلدرچین‌های هر واحد آزمایشی روزانه، ساعت هشت صبح جمع‌آوری، شمارش و رکوردها شامل تعداد تخم‌های مشکل‌دار از نظر پوسته (تخم‌های بی‌پوسته یا لمبه، تخم‌های با پوسته شکسته و تخم‌های بدشکل) و تعداد تخم‌های سالم و وزن تخم‌ها به همراه تعداد تلفات احتمالی روزانه هر تکرار ثبت شدند. درصد تولید در نهایت مطابق معادله ۳ محاسبه شد (Baylan *et al.*, 2024).

عمومی آن شبیه گندم است. در مقایسه با گندم از قابلیت رشد و مقاومت بیشتری برخوردار بوده و نسبت به شرایط آب‌وهوایی و زمین برای مناطق نامناسب توصیه شده است (Babic *et al.*, 2021; Coblentz *et al.*, 2022; Poaty Ditengou *et al.*, 2024). پروتئین تربیتیکاله از گندم بیشتر و انرژی قابل سوخت‌وساز آن مشابه گندم می‌باشد (Lim *et al.*, 2021). بنابراین تربیتیکاله به‌عنوان یک ماده خوراکی انرژی‌زا (با ۳۲۰۰ کیلوکالری انرژی قابل سوخت‌وساز) و نیز به‌دلیل بالاتر بودن درصد پروتئین آن نسبت به دانه ذرت (۱۴ درصد در مقایسه با ۸ درصد) می‌تواند جایگزین مناسبی برای بخش عمده‌ای از ذرت و کنجاله سویا در ترکیب جیره طیور باشد (Zarghi *et al.*, 2012). از طرفی، پرورش بلدرچین در سال‌های اخیر به‌منظور تولید گوشت و تخم به‌ویژه در واحدهای کوچک نیمه‌صنعتی و در فعالیت‌های اشتغال‌زایی مورد توجه قرار گرفته است. در جیره بلدرچین (با سنین مختلف و در جیره‌های با اقلام خوراکی مختلف) دانه ذرت در حدود ۵۰ تا ۶۰ درصد کل جیره را تشکیل می‌دهد، که با جایگزینی بخشی از دانه ذرت با تربیتیکاله می‌توان تا حدودی از نیاز صنعت طیور به دانه ذرت را کاهش داد. بنابراین، هدف این پژوهش بررسی اثرات جایگزینی دانه ذرت با تربیتیکاله بر عملکرد، صفات کیفی تخم و برخی فراساده‌های بیوشیمیایی سرم خون بلدرچین ژاپنی مولد (*Coturnix coturnix japonica*) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پرنده‌ها و مدیریت پرورش

این پژوهش در سالن پرورش بلدرچین مزرعه تحقیقاتی علی‌آباد کمین واقع در شهرستان پاسارگاد در ۱۲۰ کیلومتری شهرستان شیراز انجام شد. تعداد ۲۸۸ قطعه بلدرچین بالغ مولد از نژاد کوترنیکس ژاپنی (*Coturnix-coturnix japonica*) در پایان شش هفته‌گی از یک مزرعه تجاری خریداری و به سالن پرورش منتقل شدند. تعداد ۲۴۰ قطعه بلدرچین مولد تخم‌گذار با میانگین وزن مشابه (ماده‌ها ۲۸۵±۲۰ گرم و نرها ۲۵۰±۲۰ گرم)، در گروه‌های ۱۲ تایی (سه قطعه نر و ۹ قطعه ماده) در هر واحد آزمایشی با قفس‌هایی به ابعاد ۳۵×۷۰ سانتی‌متر قرار گرفتند. طول دوره آزمایشی هفت هفته بود که دو هفته اول عادت‌پذیری و پنج هفته بعدی جمع‌آوری داده‌های آزمایشی انجام شد. برنامه نوری در ابتدا به‌صورت ۱۴ ساعت روشنائی و ۱۰ ساعت تاریکی اعمال گردید و به‌تدریج بر ساعات روشنائی افزوده شد، به‌طوری‌که ساعات روشنائی در آخر دوره عادت‌پذیری به ۱۶ ساعت رسید که تا پایان دوره بدون تغییر باقی ماند. دمای سالن در طول دوره آزمایش در محدوده ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در طول دوره آزمایش، بلدرچین‌ها سه نوبت در روز (ساعت هشت صبح، دو و شش بعد از ظهر) تغذیه شدند. تهویه مناسب سالن به‌طور

گرم توده تخم تولیدی بلدرچین از حاصل ضرب میانگین وزن تخم پرنده در دوره مورد نظر در میزان تخم تولیدی (درصد) به دست آمد (Agah et al., 2019). ضریب تبدیل غذایی در یک دوره زمانی برای یک واحد آزمایشی و یا گروه پرندگان، از تقسیم گرم خوراک مصرفی روزانه بر وزن تجمعی تخم‌های تولیدی همان گروه محاسبه شد (Agah et al., 2019).

تعیین کارایی اقتصادی جیره‌های آزمایشی از طریق تعیین هزینه خوراک به‌ازای هر کیلو تخم بلدرچین تولیدی انجام شد. بر این اساس با در نظر گرفتن درصد مصرفی هر نهاده در جیره و متوسط قیمت نهاده در طول دوره اجرای پروژه، هزینه کیلوگرم جیره مصرفی برای هر تیمار (CF_j) از طریق معادله ۷ محاسبه شد (Shakeri, 2010; Kay, 1991).

معادله (۷)

$$CF_j = (Pe_{ij} \times Pr_{ij}) + \dots + (Pe_{nj} \times Pr_{nj})$$

که در آن، CF_j: هزینه کیلوگرم جیره مصرفی برای هر تیمار، Pe_{ij}: درصد مصرف نهاده خوراکی i در جیره j، Pr_{ij}: متوسط قیمت نهاده خوراکی i در جیره و i = 1, 2, ..., n: تعداد اقلام مصرفی در جیره است (محاسبه هزینه تغذیه براساس قیمت‌های زمان انجام پژوهش در شهریور ۱۴۰۱ است).

$$\text{معادله (۳)} \quad \text{درصد تولید} = \frac{\text{تعداد تخم تولیدی}}{\text{تعداد بلدرچین‌های زنده موجود}}$$

میانگین وزن تخم از معادله ۴ به‌دست آمد. در این رابطه، منظور از وزن کل تخم شامل همه تخم‌ها اعم از شکسته، لمبه و بدشکل است (Agah et al., 2019).

معادله (۴)

$$\text{گرم میانگین وزن تخم بلدرچین} = \frac{\text{گرم وزن کل تخم بلدرچین گروه آزمایشی}}{\text{تعداد کل تخم بلدرچین تولیدی گروه آزمایشی}}$$

مقدار خوراک مصرفی برای هر دوره برای هر واحد از اختلاف وزن خوراک تخصیص داده‌شده در ابتدای هر دوره با خوراک باقی مانده محاسبه شد. میانگین خوراک مصرفی روزانه هر پرنده، با احتساب تلفات و براساس گرم/پرنده/روز با استفاده از معادله‌های ۵ و ۶ محاسبه شد (Agah et al., 2019).

معادله (۵)

جوجه روز هر واحد آزمایش = (تعداد پرنده زنده در آخر دوره × تعداد روزهای دوره) + (مجموع روزهایی که پرنده‌های تلف شده در طول آن دوره زنده بودند)

معادله (۶)

$$\text{خوراک مصرفی} = \frac{\text{گرم خوراک باقیمانده در انتهای دوره} - \text{گرم خوراک داده شده ابتدای دوره}}{\text{پرنده/روز}}$$

جدول ۱- ترکیب شیمیایی تریتیکاله رقم هاشمی (لاین ET-84-17)، دانه ذرت و کنجاله سویا

Table 1- Chemical composition of Hashemi variety triticale (ET-84-17), corn grain and soybean meal

رقم Variety	ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	فیبر خام (درصد) Crude fiber (%)	خاکستر (درصد) Ash (%)	چربی خام (درصد) Ether extract (%)	عصاره عاری از ازت (درصد) Nitrogen free extract (%)	کلسیم (درصد) Calcium (%)	فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus (%)	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم) ME (kcal/kg)
هاشمی (ET-84-17)	95.12	12.00	3.20	1.82	1.59	75.50	0.05	0.1	3201
Yellow corn ¹	89.00	8.50	2.20	-	3.80	-	0.02	0.08	3350
کنجاله سویا ^۱ Soybean meal ¹	89.00	44.00	7.00	-	0.80	-	0.29	0.27	2230

^۱ مطابق با NRC، ۱۹۹۴ و مقادیر تعیین‌شده برای دانه ذرت، همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است.

¹ According to NRC, 1994 and determined values for corn grains as shown in Table 1.

جدول ۲- اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره‌های پایه و آزمایشی

Table 2- Ingredient and chemical composition of basal and experimental diets

اجزای خوراکی (درصد ماده خشک) Ingredients (% DM)	جیره‌های آزمایشی Experimental diets				
	شاهد Control	۲۵ درصد تریتیکاله 25% triticale	۵۰ درصد تریتیکاله 50% triticale	۷۵ درصد تریتیکاله 75% Triticale	۱۰۰ درصد تریتیکاله 100% triticale
ذرت Corn	57.00	43.82	29.33	16.02	0
تریتیکاله Triticale	0	14.30	29.33	44.46	62.34
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین) Soybean meal (44% CP)	29.91	28.65	27.88	25.94	23.90
گلوتن ذرت Corn gluten	2.76	2.70	2.63	2.66	2.70
سنگ آهک (کلسیم کربنات) Limestone (calcium carbonate)	5.59	5.59	5.59	5.59	5.59
دی‌کلسیم فسفات Di-calcium phosphate	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
نمک Common salt	0.26	0.28	0.29	0.30	0.30
سدیم بی‌کربنات Sodium bicarbonate	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
ال-ترئونین L-threonine	0.06	0.07	0.08	0.10	0.13
ال-لیزین کلراید L-lysine HCl	0.09	0.10	0.11	0.14	0.17
دی ال-متیونین DL-methionine	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
روغن سویا Soybean oil	2.39	2.55	2.82	2.85	2.93
مکمل ویتامینی و معدنی ^۱ Vitamin and Mineral premix ¹	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
ترکیبات محاسبه شده Calculated compositions					
انرژی قابل متابولیسم ظاهری (کیلوکالری بر کیلوگرم) Apparent metabolizable energy (kcal/kg)	2900	2900	2900	2900	2900
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	20	20	20	20	20
کلسیم (درصد) Calcium (%)	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus (%)	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
متیونین کل (درصد) Total methionine (%)	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
متیونین + سیستئین کل (درصد) Total methionine + cysteine (%)	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70
لیزین کل (درصد) Total lysine (%)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
ترئونین کل (درصد) Total threonine (%)	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15

^۱ هر کیلوگرم جیره حاوی: ویتامین A، ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله کلسیفرول، ۲۳۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۱۲ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K₃، ۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B₁₂، ۰/۰۲ میلی‌گرم؛ تیامین، ۴ میلی‌گرم؛ ریوفلاوین؛ ۴ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۱ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۰۳ میلی‌گرم؛ پیرودوکسین، ۴ میلی‌گرم؛ کولین کلراید، ۸۴۰ میلی‌گرم؛ اتوکسی کوئین، ۰/۱۲۵ میلی‌گرم؛ سولفات منگنز، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم (سدیم سلنات)، ۰/۲ میلی‌گرم؛ ید، ۱ میلی‌گرم؛ سولفات مس، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ آهن، ۵۰ میلی‌گرم بود.

¹ Per kilogram of diet contains: Vitamin A: 11000 IU; vitamin D₃: 2300 IU; vitamin E: 121 IU; vitamin K₃: 2 mg; vitamin B₁₂: 0.02 mg; thiamine: 4 mg; riboflavin: 4 mg; folic acid: 1 mg; biotin: 0.03 mg; vitamin B₆: 4 mg; choline chloride: 840 mg; etoxyquin: 0.125 mg; manganese (II) sulfate: 100 mg; Se (sodium selenite): 0.2 mg; Iodine: 1 mg; copper (II) sulfate: 100 mg and Fe: 50 mg.

خصوصیات کیفی تخم بلدرچین (واحد هاو^۱، وزن پوسته، ضخامت

صفات کیفی تخم

برای اندازه‌گیری درصد شاخص شکل تخم، ابتدا طول و عرض تخم را به وسیله کولیس دیجیتالی (TESA Cal, IP65, SWISS) اندازه‌گیری کرده و درصد شاخص شکل تخم بلدرچین از حاصل تقسیم عرض (میلی‌متر) به طول تخم (میلی‌متر) ضرب در ۱۰۰ به- دست آمد (Abdel Wahed et al., 2010; Baylan et al., 2024).

نرخ جوجه‌درآوری

برای محاسبه نرخ جوجه‌درآوری، تخم‌های بلدرچین در چهار روز منتهی به هفته آخر آزمایش جمع‌آوری، شمارش و توزین شدند. به این ترتیب که تعداد ۱۰۰ عدد تخم از هر گروه تیماری و برای پنج تیمار در مجموع تعداد ۵۰۰ عدد تخم بلدرچین، جمع‌آوری و به دستگاه جوجه‌کشی منتقل و پس از گذراندن دوره ستری ۱۴ روزه به دستگاه هچر منتقل شدند. درصد جوجه‌درآوری کل به‌صورت نسبت بین تعداد جوجه‌های تفریخ‌شده و تعداد کل تخم‌های گذاشته‌شده در دستگاه ستر و درصد جوجه‌درآوری از تخم‌های بارور به‌صورت نسبت بین تعداد جوجه‌های تفریخ‌شده به تعداد تخم‌های بارور انکوباسیون‌شده محاسبه گردید (Ozkan et al., 2024).

غلظت لیپیدهای خون

به‌منظور تعیین غلظت لیپیدهای خون در پایان دوره (۱۳ هفته‌گی) از هر واحد آزمایشی از دو پرنده نمونه خون گرفته شد. پس از جداسازی سرم خون به کمک سانتریفیوژ (۲۵۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه)، در میکروتیوب‌های ۵/۰ سی‌سی تا زمان آنالیز در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. در آزمایشگاه مقدار کلسترول تام، LDL، HDL و تری‌گلیسرید هر نمونه پس از یخ‌کشایی توسط دستگاه اتوآنالیزر اسپکتروفوتومتری (BIOSYSTEM A15, Spain) و با استفاده از کیت تجاری زیست شیمی (Ziest Chem Diagnostic, Tehran, Iran) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی داده‌ها بعد از مرتب شدن با نرم‌افزار JMP تست نرمالیتیه شدند. نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (SAS, 2008) و با استفاده از رویه One Way ANOVA در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. مدل آماری استفاده‌شده در این آزمایش به‌صورت معادله ۹ بود.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + e_{ij} \quad \text{معادله (۹)}$$

که در آن، Y_{ijk} : مقدار هر مشاهده، μ : میانگین جامعه، A_i : اثر

پوسته، درصد سفیده، درصد زرده، درصد پوسته، شاخص شکل و شاخص رنگ زرده) در هفته پایانی بر روی سه عدد تخم (سالم و بدون ترک‌خوردگی با اندازه متوسط از هر واحد آزمایشی در سن ۱۳ هفته‌گی) اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن پوسته، ابتدا محتویات پوسته تخم‌ها تمیز شده و پوسته‌ها به مدت ۴۸ ساعت برای خشک شدن در دمای اتاق نگهداری شدند. بعد از خشک شدن، وزن آن‌ها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم (Sartorius, TE153S, Germany) اندازه‌گیری گردید (Yilmaz et al., 2011). پس از محاسبه وزن پوسته (گرم) و تقسیم آن به وزن کل تخم (گرم)، حاصل آن در ۱۰۰ ضرب شده و درصد پوسته تخم بلدرچین به‌عنوان معیاری از کیفیت پوسته مورد ارزیابی قرار گرفت (Yilmaz et al., 2011). برای اندازه‌گیری ضخامت پوسته، ابتدا ضخامت پوسته تخم بلدرچین با استفاده از ریزسنج دیجیتالی (مدل FE20) با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر در سه نقطه نوک پهن، وسط و نوک باریک اندازه‌گیری گردید و میانگین آن‌ها به‌عنوان ضخامت نهایی پوسته در نظر گرفته شد. این کار برای هر ۳۶ عدد تخم بلدرچین انجام گردید و میانگین آن‌ها به‌عنوان ضخامت نهایی پوسته تخم برای هر یک از واحدهای آزمایشی در نظر گرفته شد (Baylan et al., 2024). برای مشخص کردن رنگ زرده از واحد راش^۲ استفاده شد. در این روش ۱۵ شابلن رنگی به‌صورت بادبزنی هستند و هر شابلن دارای یک رنگ می‌باشد که به‌طور چشمی اندازه‌گیری می‌شود. دامنه رنگ‌ها از زرد کم رنگ شماره ۱ تا نارنجی مایل به قرمز ۱۵ می‌باشد (Wu et al., 2005). از تقسیم وزن زرده به وزن تخم بلدرچین (گرم)، حاصل آن، در ۱۰۰ ضرب شده و درصد زرده تخم بلدرچین به‌عنوان معیاری از کیفیت زرده مورد ارزیابی قرار گرفت (Yilmaz et al., 2011). با کم کردن وزن زرده و وزن پوسته از وزن کل تخم، وزن سفیده برحسب گرم محاسبه شد. سپس از تقسیم وزن سفیده به وزن تخم بلدرچین (گرم) و ضرب حاصل آن در ۱۰۰، درصد سفیده تخم بلدرچین به‌عنوان معیاری از کیفیت سفیده مورد ارزیابی قرار گرفت (Yilmaz et al., 2011). برای تعیین واحد هاو^۱، ارتفاع سفیده غلیظ از یک نقطه مشخص برای تمامی تخم‌ها با استفاده از دستگاه ارتفاع‌سنج (TESA Cal, IP65, SWISS) اندازه‌گیری و با استفاده از معادله ۸ واحد هاو محاسبه شد. هرچه واحد هاو بزرگ‌تر باشد، کیفیت سفیده بهتر است (Baylan et al., 2024).

$$\text{معادله (۸)} \quad HU = 100 \log (H + 7.57 - 1.7 W^{0.37})$$

که در آن، HU: واحد هاو، H: ارتفاع سفیده (میلی‌متر) و W: وزن تخم (گرم) است.

تیمار و Eij: اثر خطای آزمایش بود.

نتایج و بحث

صفات کمی تولید تخم

در این پژوهش، به جز صفات خوراک مصرفی و درصد تخم بلدرچین پوسته نازک و لمبه، بقیه صفات عملکردی مورد ارزیابی شامل وزن تخم، درصد تولید تخم، ضریب تبدیل غذایی، توده تخم تولیدی و هزینه یک کیلوگرم تخم تولیدی در پایان دوره آزمایشی (۷ تا ۱۳ هفتگی) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند ($P < 0.01$) (جدول ۳). به طوری که جایگزینی دانه ذرت با تریتیکاله تا سطح ۷۵ درصد در مقایسه با گروه شاهد منجر به افزایش وزن تخم تولیدی (به ترتیب ۱۲/۴ در برابر ۱۲/۱۳ گرم) شد، اما جایگزینی ۱۰۰ درصدی دانه ذرت با تریتیکاله در مقایسه با گروه شاهد منجر به کاهش معنی-دار وزن تخم بلدرچین (۱۱/۸۸ در برابر ۱۲/۱۳ گرم) شد ($P < 0.01$). محققان در متاآنالیزی نشان دادند که هرچند سطوح مختلف دانه تریتیکاله با سوبه های متفاوت بر مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراک و تولید تخم اثر معنی داری نداشت، اما وزن تخم تحت تأثیر سطوح مختلف دانه تریتیکاله در ترکیب جیره قرار گرفت، به طوری که نتایج حاکی از آن بود که همبستگی مثبتی بین درصد تریتیکاله و وزن تخم مرغ در مرغ های تخم گذار وجود داشت (Poaty Ditengou et al., 2024). همچنین محققان بیان کردند که بین آلومین (از اجزای پروتئین تخم) و وزن تخم رابطه واضحی وجود داد (Silversides & Budgell, 2004). از آنجا که تریتیکاله حاوی سطوح نسبتاً بالای پروتئین (بین ۱۰/۵ تا ۱۴/۶ درصد) است (Dennett et al., 2013)، بنابراین افزایش وزن تخم با گنجاندن تدریجی دانه تریتیکاله در ترکیب جیره خوراکی پرندگان تخم گذار ممکن است به دلیل سطح بالای پروتئین تریتیکاله در مقایسه با غلات جایگزین باشد (Poaty Ditengou et al., 2024).

مطابق نتایج جدول ۳، در مورد صفات درصد تخم گذاری و ضریب تبدیل غذایی نیز این محدودیت در استفاده از دانه تریتیکاله وجود داشت، به طوری که گروه های تغذیه شده با جیره های جایگزینی دانه ذرت با تریتیکاله تا سطح ۵۰ درصد تفاوت معنی داری با جیره شاهد نداشتند، اما سطوح بالاتر جایگزینی دانه ذرت با تریتیکاله (۷۵ و ۱۰۰ درصد) باعث کاهش معنی دار درصد تخم گذاری و افزایش عددی ضریب تبدیل غذایی شد ($P < 0.01$). توده تخم تولیدی و هزینه یک کیلوگرم تخم بلدرچین تولیدی نیز با جایگزینی دانه تریتیکاله تا سطح ۵۰ درصد تفاوت معنی داری با جیره شاهد نشان نداد. اما جایگزینی ۱۰۰ درصدی سهم دانه ذرت جیره با دانه تریتیکاله، کمترین مقدار توده تخم بلدرچین تولیدی (۹/۶۰ گرم) و بیشترین هزینه برای تولید یک کیلوگرم تخم بلدرچین تولیدی (۵۵۷۷۱ تومان) را نشان داد.

همسو با نتایج پژوهش حاضر، تحقیقات انجام شده روی بلدرچین تخم گذار نشان داد که جایگزینی گندم یا ذرت با تریتیکاله در نسبت های بالا (بین ۵۰ تا ۱۰۰ درصد) منجر به کاهش مصرف خوراک و تولید تخم می شود. در واقع، در مقایسه با گندم و ذرت، تریتیکاله حاوی مقادیر زیادی آرایینوزایلان های محلول و کل پلی ساکاریدهای غیرنشاسته ای است، بنابراین گنجاندن بیش از حد آن در رژیم غذایی می تواند مصرف خوراک، دسترسی به مواد مغذی و عملکرد پرنده را کاهش دهد (Ebrahimi et al., 2017; Bakhtiyari Moez et al., 2020). در پژوهش عبدالواحد و همکاران (Abdel Wahed et al., 2010) نیز جایگزینی دانه تریتیکاله تا سطح ۶۰ درصد با دانه ذرت در جیره بلدرچین های تخم-گذار ژاپنی، بهترین عملکرد و بالاترین بازده اقتصادی را در مقایسه با شاهد داشت. در مطالعه ای دیگر نیز بالاترین مقادیر برای تولید تخم بلدرچین، وزن تخم و راندمان خوراک مصرفی در جیره بلدرچین های تخم گذار را استفاده از دانه تریتیکاله تا سطح ۴۰ درصد کل جیره (۶۷ درصد سهم دانه ذرت) همراه با یک گرم در کیلوگرم آنزیم آویزیم گزارش کردند، اگرچه استفاده از دانه تریتیکاله تا سطح ۶۰ درصد کل جیره (۱۰۰ درصد سهم دانه ذرت) همراه با یک گرم در کیلوگرم آنزیم آویزیم نیز امکان پذیر بود، اما استفاده از ۴۰ درصد دانه تریتیکاله با آنزیم برای بهبود عملکرد تولیدی مؤثرتر بود (Gucly, 2003). در پژوهشی دیگر نیز جایگزینی دانه ذرت با دانه تریتیکاله در سطوح ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد ترکیب جیره مرغ های تخم گذار تأثیری بر عملکرد تولیدی مرغ های تخم گذار نداشت (Lim et al., 2021). سایر محققان نشان دادند که گنجاندن دانه تریتیکاله تا سطح ۳۰ درصد در جیره دوره تخم گذاری، اثر معنی داری بر مصرف خوراک، تولید تخم و وزن تخم در مرغ های تخم گذار ندارد (Hermes & Johnson, 2004). پژوهشگران بیان کردند که افزودن دانه تریتیکاله به جیره مرغ های تخم گذار چه به عنوان منبع انرژی اولیه و چه به عنوان جایگزین جزئی برای سایر غلات، تأثیر قابل توجهی روی نرخ تخم-گذاری، ضریب تبدیل خوراک، توده تخم و تولید ندارد (Jamroz et al., 2001). در پژوهش هاشمی و همکاران (Hashemi et al., 2016) نیز جایگزینی ۷۵ درصدی دانه ذرت با تریتیکاله در مقایسه با گروه شاهد، در جیره مرغ های بومی تخم گذار تفاوت معنی داری در میزان تخم گذاری (۵۰ در برابر ۵۴/۸ درصد)، وزن تخم مرغ (۵۷ در برابر ۵۸/۶ گرم)، مصرف خوراک (۱۰۲/۴ در برابر ۱۰۴/۶ گرم مرغ/روز) و ضریب تبدیل غذایی (۳/۶۲ در برابر ۳/۳۰) ایجاد نکرد، بنابراین جایگزینی دانه ذرت با دانه تریتیکاله تا سطح ۷۵ درصد در جیره مرغ های تخم گذار بومی توصیه شد.

محققان بیان کردند که تفاوت ها در نتایج یافته های عملکردی مرغ های تخم گذار می تواند به خاطر سطوح مختلف فیبر در انواع دانه تریتیکاله مصرفی باشد، امروزه انواع جدیدی از گیاه تریتیکاله با

تریتیکاله (پنتوزان‌های محلول، ممانعت کننده‌های تریپسین و محتوی پکتین) در مقایسه با دانه ذرت عنوان کردند (Vieira et al., 1995; Zarghi & Golian, 2009). همچنین افزایش مقادیر قابلیت هضم ظاهری برای جیره شاهد (برپایه دانه ذرت) در مقایسه با جیره‌های با جایگزینی سطوح بالای غلاتی مثل جو، گندم، چاودار و تریتیکاله به- دلیل افزایش ویسکوزیته محتویات دستگاه گوارش پرندگان می‌باشد. این شرایط باعث کاهش آزادسازی مواد مغذی، قابلیت هضم و جذب و در نتیجه کاهش عملکرد پرند می‌شود (Bakhtiyari Moez et al., 2020; Lim et al., 2021).

عوامل ضدتغذیه‌ای کمتر، پرورش داده شده‌اند که هم عملکرد و هم ارزش غذایی آن را بهبود می‌بخشند (Lim et al., 2021). به‌طور کلی نتایج اکثر پژوهش‌های یادشده در جیره انواع طیور، جایگزینی کامل (۱۰۰ درصدی) دانه تریتیکاله به‌جای دانه ذرت و یا سهم غله جیره را به‌دلیل کاهش یک یا تعدادی از شاخص‌های عملکردی توصیه نمی‌کنند. پژوهشگران بدتر شدن ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیره برپایه دانه تریتیکاله در مقایسه با دانه ذرت را در ارتباط با مواد مغذی کمتر، پایین بودن قابلیت هضم مواد مغذی و یا بالاتر بودن مواد مضر تغذیه‌ای در دانه

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین صفات عملکردی و برآورد کارایی اقتصادی جیره‌ها در طول دوره آزمایشی (۷ تا ۱۳ هفته‌گی)

Table 3- Effect of experimental treatments on average performance traits, and estimation of economic efficiency of diets during the experimental period (7 to 13 weeks)

شاخص‌ها Items	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments					خطای استاندارد	سطح احتمال
	شاهد Control	۲۵٪ تریتیکاله 25% triticale	۵۰٪ تریتیکاله 50% triticale	۷۵٪ تریتیکاله 75% triticale	۱۰۰٪ تریتیکاله 100% triticale	میانگین SEM	معنی‌داری P-value
وزن تخم (گرم) Egg weight (gr)	12.13 ^b	12.36 ^a	12.23 ^b	12.40 ^a	11.88 ^c	0.017	0.001
میزان تخم‌گذاری (%) Egg production (%)	90.59 ^a	89.17 ^a	88.61 ^a	80.84 ^b	80.78 ^b	0.443	0.001
تخم بلدرچین لمبه (%) Quail eggs without shell (%)	0.39	0.22	0.14	0.68	0.45	0.073	0.145
تخم بلدرچین پوسته نازک (%) Thin shell quail eggs (%)	0.20	0.55	0.05	0.53	0.23	0.078	0.185
مصرف خوراک (گرم/پرند/روز) Feed intake (g/bird/d)	25.42	25.28	25.25	25.33	25.12	0.075	0.797
ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio	3.16 ^b	3.13 ^b	3.18 ^b	3.50 ^a	3.65 ^a	0.022	0.001
توده تخم (گرم/پرند/روز) Egg mass (g/bird/d)	10.99 ^a	11.03 ^a	10.84 ^a	10.03 ^b	9.60 ^c	0.057	0.001
هزینه تولید یک کیلوگرم تخم بلدرچین (تومان)* * The cost of producing one kilogram of quail eggs (toman)	49597 ^b	48876 ^b	49028 ^b	54173 ^a	55771 ^a	344.824	0.001

SEM: خطای استاندارد میانگین

^{a-c}: در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

* محاسبه هزینه تغذیه براساس قیمت‌های زمان انجام پژوهش در شهریور ۱۴۰۱ است.

SEM: Standard error of the mean

^{a-c}: Means with different superscript within the same row differ significantly ($P < 0.05$).

* The cost of nutrition was calculated based on prices at the time of the research in August 2022.

صفات کیفی تخم بلدرچین

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میانگین صفات کیفی تخم بلدرچین- های مولد تغذیه شده با جیره های آزمایشی در سن ۱۳ هفتگی در **جدول ۴** نشان داده شده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که شاخص های کیفی تخم بلدرچین شامل واحد هاو، نسبت پوسته، نسبت سفیده و زرده، ضخامت پوسته و شاخص شکل تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. اما شاخص رنگ زرده با جایگزینی سطوح مختلف دانه تریتیکاله به جای دانه ذرت در جیره های آزمایشی تحت تأثیر قرار گرفت ($P < 0.01$). به طوری که جایگزینی سطوح بالاتر از ۲۵ درصد دانه تریتیکاله به جای دانه ذرت در جیره باعث کاهش معنی دار شاخص رنگ زرده در مقایسه با گروه شاهد شد. بیشترین کمترین شاخص رنگ زرده (به ترتیب ۵/۶۳ و ۴/۱۹) مربوط به گروه های تغذیه شده با شاهد و تیمار با جایگزینی ۱۰۰ درصد دانه ذرت با تریتیکاله بود.

مطابق پژوهش لیم و همکاران (Lim et al., 2021) نیز شاخص های اصلی مربوط به ارزیابی کیفیت تخم مرغ (رنگ پوسته، ارتفاع سفیده، واحد هاو، ضخامت پوسته و وزن پوسته) تحت تأثیر

تریتیکاله در جیره ها قرار نگرفتند. اما رنگ زرده تخم مرغ به تدریج با افزودن دانه تریتیکاله در ترکیب جیره کاهش یافت، در واقع یک پاسخ خطی کاهشی از رنگ زرده به تریتیکاله در جیره ها وجود داشت. مطابق پژوهش هاشمی و همکاران (Hashemi et al., 2016) نیز جایگزینی دانه ذرت با دانه تریتیکاله در سطوح مختلف (صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ درصد) در جیره مرغان تخم گذار تفاوت معنی داری در شاخص های کیفی شامل استحکام پوسته، واحد هاو و ارتفاع سفیده بین تیمارهای آزمایشی با شاهد ایجاد نکرد. اگرچه جایگزینی دانه تریتیکاله تا سطح ۳۰ درصد دانه ذرت تأثیر معنی داری بر شاخص رنگ زرده تخم مرغ نداشت، اما در مرغ های تغذیه شده با جیره های حاوی ۶۰ و ۷۵ درصد دانه تریتیکاله، شاخص رنگ زرده به طور معنی داری نسبت به شاهد و سایر تیمارها پایین تر بود. همچنین در یک متاآنالیز مشخص شد که رنگ زرده تخم مرغ تحت تأثیر سطوح مختلف تریتیکاله قرار گرفته است، به طوری که با افزایش ثابت تریتیکاله در جیره خوراکی رنگ زرده به صورت خطی کاهش نشان داد (Poaty Ditengou et al., 2024).

جدول ۴- اثر جیره های آزمایشی بر میانگین صفات کیفی تخم بلدرچین های مولد در سن ۱۳ هفتگی

Table 4- Effect of experimental diets on the average quality traits of breeder quail eggs at 13 weeks of age

شاخص ها Items	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments					خطای استاندارد میانگین SEM	سطح احتمال معنی داری P-value
	شاهد Control	۲۵٪ تریتیکاله 25% triticale	۵۰٪ تریتیکاله 50% triticale	۷۵٪ تریتیکاله 75% triticale	۱۰۰٪ تریتیکاله 100% triticale		
واحد هاو Haugh unit	84.59	87.92	86.94	86.25	86.72	0.005	0.6546
نسبت پوسته (%) Eggshell ratio (%)	8.60	8.24	8.38	8.52	8.19	0.077	0.4572
نسبت سفیده (%) Albumen ratio (%)	58.14	57.57	59.51	59.84	57.81	0.285	0.1140
نسبت زرده (%) Yolk ratio (%)	33.26	34.20	32.11	33.64	34	0.279	0.1546
ضخامت پوسته (میلی متر) Eggshell thickness (mm)	0.272	0.261	0.270	0.272	0.244	0.004	0.0710
شاخص شکل (%) Shape index (%)	75.14	77.50	78.73	77.60	77.65	0.331	0.0823
شاخص رنگ زرده (راش) Yolk color index (Rhosh)	5.63 ^a	5.62 ^a	5.05 ^b	4.65 ^c	4.19 ^d	0.050	0.0001

SEM: خطای استاندارد میانگین

^{a-d}: در هر ردیف میانگین های دارای حروف غیر مشابه اختلاف معنی داری دارند ($P < 0.05$)

SEM: Standard error of the mean

^{a-d}: Means with different superscript within the same row differ significantly ($P < 0.05$)

تیمارهای آزمایشی نشان داد ($P < 0.05$). به طوری که کمترین درصد جوجه‌درآوری کل (۸۴/۵ درصد) را بلدرچین‌های تغذیه‌شده با جایگزینی ۱۰۰ درصد دانه ذرت با دانه تریتیکاله در جیره داشتند. اما جایگزینی دانه ذرت با دانه تریتیکاله تا سطح ۷۵ درصد در جیره بلدرچین‌های مولد تأثیر معنی‌داری بر درصد جوجه‌درآوری کل نداشت. در پژوهشی که تأثیر جایگزینی دانه ذرت با سطوح مختلف دانه تریتیکاله در جیره بلدرچین‌های مولد را مورد بررسی قرار دادند، بالاترین مقادیر برای شاخص‌های عملکرد تولیدی و درصد جوجه‌درآوری و باروری با استفاده از دانه تریتیکاله تا ۴۰ درصد کل جیره (۶۷ درصد سهم دانه ذرت) همراه با یک گرم در کیلوگرم آنزیم آویزیم در جیره بلدرچین‌های مولد گزارش شد، که در توافق با نتایج پژوهش حاضر است (Guclu, 2003). علاوه بر این، استفاده از سطوح ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ درصد دانه تریتیکاله به جای دانه ذرت در جیره بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار باعث افزایش باروری شد و بلدرچین‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی ۴۵ درصد دانه تریتیکاله باروری بالاتری داشتند، در حالی که بلدرچین‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی ۱۵ درصد دانه تریتیکاله درصد جوجه‌درآوری بالاتری داشتند (Abdel Wahed et al., 2010).

در توافق با نتایج پژوهش حاضر، عدم تأثیر استفاده از دانه تریتیکاله در جیره بر بیشتر شاخص‌های کیفی تخم بلدرچین و یا تخم مرغ توسط سایر محققان نیز گزارش شده است (Abdel Wahed et al., 2007; Bakhtiyari Moez et al., 2010; Roberts et al., 2020). محققان پایین بودن شاخص رنگ زرده در پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی سطوح بالای دانه گندم و تریتیکاله نسبت به دانه ذرت را به کمبود کاروتنوئیدهای موجود در دانه تریتیکاله نسبت دادند (Roberts et al., 2007). باتوجه به نقش رنگدانه‌های موجود در دانه ذرت و کاهش میزان آن در جیره‌های دارای سطوح بالای تریتیکاله، کاهش شاخص رنگ زرده قابل توجیه است (Lim et al., 2021).

جوجه‌درآوری و باروری تخم بلدرچین مولد

در جدول ۵، تأثیر تغذیه جیره‌های آزمایشی بر درصد جوجه‌درآوری کل، جوجه‌درآوری از تخم‌های بارور و درصد باروری تخم بلدرچین‌های مولد در سن ۱۳ هفتگی نشان داده شده است. جایگزینی دانه ذرت با سطوح مختلف دانه تریتیکاله تأثیر معنی‌داری بر درصد جوجه‌درآوری از تخم‌های بارور و درصد باروری نداشت. اما آنالیز واریانس تفاوت معنی‌داری را بین میانگین صفت جوجه‌درآوری کل

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر جوجه‌درآوری کل، جوجه‌درآوری از تخم‌های بارور و میزان باروری تخم بلدرچین‌های مولد در سن ۱۳ هفتگی
Table 5- Effect of experimental treatments on the hatchability of total eggs, hatchability of fertile eggs, and fertility of breeder quail eggs at 13 weeks of age

شاخص‌ها Items	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments					خطای استاندارد میانگین SEM	سطح احتمال معنی‌داری P-value
	شاهد Control	۲۵٪ تریتیکاله 25% triticale	۵۰٪ تریتیکاله 50% triticale	۷۵٪ تریتیکاله 75% triticale	۱۰۰٪ تریتیکاله 100% triticale		
جوجه‌درآوری کل (%) Hatchability of total eggs (%)	91.75 ^{ab}	89 ^{ab}	85.80 ^{ab}	93.30 ^a	84.50 ^b	0.908	0.034
جوجه‌درآوری از تخم‌های بارور (%) Hatchability of fertile eggs (%)	99	96	95	98	92	0.962	0.206
باروری (%) Fertility (%)	93	90	90	95	93	0.763	0.289

SEM: خطای استاندارد میانگین

^{a-b}: در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

SEM: Standard error of the mean

^{a-b}: Means with different superscript within the same row differ significantly ($P < 0.05$).

(کلسترول، تری گلیسرید، LDL و HDL) بلدرچین‌های مولد در سن ۱۳ هفتگی نداشت (جدول ۶). در پژوهشی، جایگزینی دانه ذرت با سطوح مختلف دانه تریتیکاله با افزودن و بدون افزودن مکمل آنزیمی

فراسنجه‌های لیپیدی سرم خون

در پژوهش حاضر، جایگزینی دانه ذرت با سطوح مختلف دانه تریتیکاله تأثیر معنی‌داری بر میانگین فراسنجه‌های لیپیدی سرم خون

بتاگلوکان‌ها به دلیل ایجاد ویسکوزیته در محتویات هضمی ممکن است جذب چربی و کلسترول را کاهش دهند، به همین خاطر به عنوان مواد کاهنده کلسترول شناخته شده‌اند (Zarghi & Golian, 2009). چندین سازوکار ممکن است بیانگر ویژگی کاهندگی کلسترول فیبر جیره باشد که به صورت ترکیبی و یا به تنهایی ممکن است عمل کنند، از جمله کاهش سرعت تخلیه معده، بهبود متابولیسم و جذب اسیدهای صفراوی، تولید اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه از تخمیر فیبر در روده بزرگ، تنظیم گیرنده‌های LDL کبدی و تغییر در غلظت پلازما یا بافت حساس به انسولین یا سایر هورمون‌ها (Adam et al., 2001).

در جیره بلدرچین‌های پرورشی تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های لیپیدی خون بلدرچین‌ها در پایان دوره پرورش (۴۲ روزگی) نداشت، هرچند که با افزایش سطح جایگزینی دانه تریتیکاله به میزان ۱۰۰ درصد در جیره، مقدار کلسترول تام به صورت عددی کاهش یافت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Zarghi & Golian, 2009; Lim et al., 2021). شاخص‌های بیوشیمیایی و خون‌شناسی طیور توسط عوامل ژنتیکی و محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرند. خوراک، یکی از عوامل محیطی است که تأثیر بیشتری بر متابولیسم لیپید و کلسترول دارد (Attia et al., 2014). فیبرهای غذایی محلول مثل

جدول ۶- میانگین فراسنجه‌های لیپیدی سرم خون بلدرچین‌های مولد تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی در سن ۱۳ هفته‌گی

Table 6- The average serum lipid parameters of breeder quails fed experimental diets were measured at 13 weeks of age

شاخص‌ها Items	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments					خطای استاندارد	سطح احتمال
	شاهد Control	۲۵٪ تریتیکاله 25% Triticale	۵۰٪ تریتیکاله 50% triticale	۷۵٪ تریتیکاله 75% triticale	۱۰۰٪ تریتیکاله 100% triticale	میانگین SEM	معنی‌داری P-value
(میلی گرم بر دسی لیتر) (mg/dl)							
تری گلیسرید Triglyceride	182	174	181	175	178	8.50	0.998
لیپوپروتئین با دانسیته بالا High-density lipoprotein	78	86	75	79	81	1.83	0.373
لیپوپروتئین با دانسیته پایین Low-density lipoprotein	21	29	27	24	20	2.37	0.716
کلسترول تام Total cholesterol	233	218	212	214	207	10.42	0.941

SEM: خطای استاندارد میانگین

SEM: Standard error of the mean

نتیجه‌گیری کلی

میزان تخم‌گذاری، مصرف خوراک، ضریب تبدیل غذایی، توده تخم تولیدی، هزینه یک کیلوگرم تخم بلدرچین، درصد باروری و جوجه-درآوری و بیشتر شاخص‌های کیفی تخم نطفه‌دار تولیدی در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، بنابراین جایگزینی دانه تریتیکاله تا سطح یادشده بدون استفاده از آنزیم در جیره‌های متعادل بلدرچین‌های مولد امکان‌پذیر بوده و توصیه می‌شود.

طبق پژوهش حاضر بیشتر شاخص‌های کمی و برخی از شاخص‌های کیفی تولیدی در بلدرچین‌های مولد تغذیه‌شده با سطوح مختلف دانه تریتیکاله که جایگزین دانه ذرت شدند، در مقایسه با شاهد (جیره حاوی ۱۰۰ درصد دانه ذرت) تحت تأثیر قرار گرفت. از آنجاکه با جایگزینی دانه تریتیکاله تا سطح ۵۰ درصد سهم دانه ذرت جیره، در

References

- Abdel Wahed, H. M., Namra, M. M. M., & Ragab, M. S. (2010). Triticale grains as substitute for yellow corn in laying Japanese quail diets. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 13(3), 567-580.
- Adam, A., Levrat-Verny, M. A., Lopez, H. W., Leuillet, M., Demigne, C., & Remesy, C. (2001). Whole wheat and triticale flours with differing viscosities stimulate cecal fermentations and lower plasma and hepatic lipids in rats. *Journal of Nutrition*, 31(6), 1770-1776. <https://doi.org/10.1093/jn/131.6.1770>
- Agah, M. J., Boostani, A., Rahmani, R., Noorollahi, H., Hashemi, M., Jokar, L., Izadi, G. H., Movasaghi, S., Jazayeri, S. A., & Moshtaghian, A. M. (2019). Comparison of the effect Multi-Behsil probiotic with a common

- commercial probiotic on performance, blood parameters, egg quality, egg yolk cholesterol levels, and immune system of laying hens. Final Report of the Research Project, Institute of Animal Science Research, p 47. (In Persian).
4. Ahiwe, B. U., Omede, A. A., Abdallah, M. B., & Iji, P. A. (2018). Managing dietary energy intake by broiler chickens to reduce production costs and improve product quality. *Animal Husbandry and Nutrition*, 115,145. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.76972>
5. AOAC. (2005). Official Methods of Analysis. 18th Ed. Association of Analytical Chemists, AOAC International, Arlington VA.
6. Attia, Y. A., El-Tahawy, W. S., Abd El-Hamid, A. E., Nizza, A., Al-Harathi, M. A., El-Kelway, M. I., & Bovera, F. (2014). Effect of feed form, pellet diameter and enzymes supplementation on carcass characteristics, meat quality, blood plasma constituents and stress indicators of broilers. *Archiv Tierzucht*, 30, 1-14. <https://doi.org/10.7482/0003-9438-57-030>
7. Babic, V., Rajcic, V., & Duric, N. (2021). Economic significance, nutritional value and application of triticale. *Economics of Agriculture*, 68,1089-1107. <https://doi.org/10.5937/ekoPolj2104089B>
8. Bakhtiyari Moez, N., Mirzaie Goudarzi, S., Saki, A. A., & Ahmadi, A. (2020). Effect of ground or whole wheat and triticale on productive performance, egg quality, gastrointestinal tract traits and nutrient digestibility of laying Japanese quails. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 10(2),355-363. Available at <https://www.ijas.ir>
9. Baylan, M., Kursun, K., Abdallah, N., Celik, L. B., Yenilmez, F., & Kutay, H. (2024). The effect of housing systems on the growth, egg production, overall egg weight and egg quality traits of a new Turkish laying hen hybrid, Akbay. *Brazilian journal of Poultry Science*, 26(3),001-014. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2024-1924>
10. Chizari A. & Hajiheidary M. (2010). The effects of market factors and government policies on maize marketing in Iran. *African Journal of Agricultural Research*. 5(12), 1351-1359.
11. Coblenz, W. K., Ottman, M. J., & Kieke, B. A. (2022). Effects of harvest date and growth stage on triticale forages in the southwest United States: Agronomic characteristics, nutritive value, energy density, and in vitro disappearance of dry matter and fiber. *Journal of Animal Science*, 100, 1-16.
12. Dennett, A. L., Wilkes, M. A., & Trethowan, R. M. (2013). Characteristics of modern triticale quality: The relationship between carbohydrate properties, α -amylase activity, and falling number. *Cereal Chemistry*, 90, 594-600. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-10-12-0129-R>
13. Ebrahimi E., Sobhani Rad S., Zarghi H., (2017). Effect of triticale level and exogenous enzyme in the grower diet on performance, gastrointestinal tract relative weight, jejunal morphology and blood lipids of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 19, 569-580. Available at <https://www.jast.modares.ac.ir>
14. Golian, A., Salar Moeini, M., & Mazhari, M. (2009). Commercial Poultry Nutrition. 3th Ed. Kausar Agricultural Research and Development. Tehran, Iran. 475 pages. (In Persian).
15. Guclu, B. (2003). The effects of triticale used in different amounts in laying quail rations on egg production and egg quality. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27, 949-956.
16. Hashemi, M. R., Agah, M. J., Norollahi, H., Hashemi, M., Movasaghi, S., Loghavi, M., Ilami, B., & Nabati, F. (2016). Effect of Feeding Different Levels of Triticale on Production Performance of Fars Native Chicken. Final Report of the Research Project, Institute of Animal Science Research. p. 35. (In Persian).
17. Hermes, J. C., & Johnson, R. C. (2004). Effects of feeding various levels of triticale var. Bogo in the diet of broiler and layer chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 13, 667-672. <https://doi.org/10.1093/japr/13.4.667>
18. Jamroz, D., Skorupinska, J., Orda, J., Wiliczekiewicz, A., & Klünter, A. M. (2001). Use of wheat, barley or triticale in feed for laying hens supplemented with carbohydrases derived from *Trichoderma longibrachiatum*. *Journal of Applied Animal Research*, 19, 107-116. <https://doi.org/10.1080/09712119.2001.970671>
19. Janssen, W. M. M. A. (1989). European Table of Energy Values for Poultry Feedstuffs. 3rd Ed. Spelderholt Center for Poultry Research and Information Services, Beekbergen, the Netherlands. p. 84.
20. Kay, R. D. (1991). Farm Management. Vol. 1. Translator: M. R. Arsalanbod. Anzali Press, Urmia, Iran, Urmia University Press. pp. 243-272. (In Persian).
21. Lim, C. I., Poaty Ditengou, J., Ryu, K. S., Ku, J. H., Park, M. R., Whiting, I. M., & Pirgozliev, V. (2021). Effect of maize replacement with different triticale levels on layers production performance, egg quality, yolk fatty acid profile and blood parameters. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 30, 360-366. <https://doi.org/10.22358/jafs/144848/2021>
22. NRC. (1989). Triticale: A promising addition to the world, cereal grains. National Academy Press, Washington, DC, USA. 172 pages.
23. Ozkan, B., Abdallah, N., Boga, Y. E., Kursun, K., & Baylan, M. (2024). The effect of breeder body mass on laying performance, egg quality, and hatching traits of Japanese quail. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 22, 4. <https://doi.org/10.5424/sjar/202422-20998>
24. Poaty Ditengou, J. I. C., Ahn, S. I., Cho, S., Chae, B., Hirwa, F., Cheon, I., & Choi, N. J. (2024). Factors

- influencing the effects of triticale on laying hens' performance: A meta-analysis. *Applied Science*, 14, 5745. <https://doi.org/10.3390/app14135745>
25. Pond, W. G., Church, D. C., & Pond, K. R. (2004). *Basic Animal Nutrition and Feeding*. 5th Ed. Wiley, 608 p.
26. Roberts, S. A., Xin, H., Kerr, B. J., Russell, J. R., & Bregendahl, K. (2007). Effect of dietary fiber and reduced crude protein on nitrogen balance and egg production in laying hens. *Poultry Science*, 86, 1716-1725. <https://doi.org/10.1093/PS/86.8.1716>
27. SAS. (2008). *Statistical Analysis Systems*. Version 9.2. Cary, NC: SAS Inst. Inc.
28. Shakeri, A. (2010). *Macroeconomics: Theories and Policies*. Vol. 1. Rafe Press, Tehran, Iran. pp. 95-125. (In Persian).
29. Silversides, F., & Budgell, K. (2004). The relationships among measures of egg albumen height, pH, and whipping volume. *Poultry Science*, 83, 1619-1623. <https://doi.org/10.1093/PS/83.10.1619>
30. Vieira, S. L., Penz, A. M., Kessler, A. M., & Catellan, E. V. J. (1995). A nutritional evaluation of triticale in broiler diets. *Journal of Applied Poultry Research*, 4(4), 352-355. <https://doi.org/10.1093/japr/4.4.352>
31. Wu, G., Bryant, M. M., Voitle, R. A., & Roland Sr, D. A. (2005). Performance comparison and nutritional requirement of five commercial layer strain in phase four. *International Journal of Poultry Science*, 4, 182-186. <https://doi.org/10.3923/IJPS.2005.182.186>
32. Yılmaz, A., Tepeliand, C., & Çağlayan, T. (2011). External and internal egg quality characteristics in Japanese quails of different plumagecolor lines. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9, 375-379.
33. Zarghi, H., & Golian, A. (2009). Effect of triticale replacement and enzyme supplementation on performance and blood chemistry of broiler chickens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8, 1316-1321.
34. Zarghi, H., Golian, A., Kermanshahi, H., Raji, A. R., & Heravi, A. (2012). Effects of dietary triticale levels and enzyme supplementation on performance, gut morphology and blood chemistry of very young broiler chicks. *Iranian Journal of Animal Science and Research*, 3(4), 324-334. <https://doi.org/10.22067/IJASR.V3I4.12484>. (In Persian).

Research Article

Vol. 18, No.1, 2026, p. 105-119



Study of the Extra-Beneficial Effects of using Mealworm Powder in the Diet on Quantitative and Qualitative Traits of Egg Production, Blood Indices and Immune Response of Laying Hens

Mona Salamat¹, Ali Aghaei^{1*}, Somayyeh Salari¹

1- Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

*Corresponding Author's Email: aghaei@asnrukh.ac.ir

Received: 30-06-2025
Revised: 07-12-2025
Accepted: 17-12-2025
Available Online: 04-04-2026

How to cite this article:

Salamat, M., Aghaei, A., & Salari, S. (2026). Study of the extra-beneficial effects of using mealworm powder in the diet on quantitative and qualitative traits of egg production, blood indices and immune response of laying hens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(1), 105-119. (in Persian with English abstract).
<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94169.1254>

Introduction: The most important and widely used plant-based protein sources in poultry nutrition are soybean meal, rapeseed meal, and canola meal. However, due to limited production and competition between humans and animals for the consumption of common protein sources, the prices of these items are increasing. Therefore, finding an alternative protein source is important (Tacon & Metian, 2008). Typically, animal-derived protein sources contain all the essential amino acids required by poultry. Insects grow and reproduce rapidly and have a good feed conversion ratio because they are cold-blooded. They are also able to convert agricultural waste into valuable biomass with high levels of energy and protein (Collavo et al., 2005). Insects are also highly efficient protein sources, with nearly their entire biomass being edible. Mealworms are the larvae of a species of nocturnal beetle, *Tenebrio molitor*, from the family Tenebrionidae, found worldwide and are known as Mealworms because they are a pest of grains, flour, and stored food (Ramos et al., 2002). This larva is commercially reared worldwide and is available in live, canned, dried, and powdered forms as feed for pets, birds, and fish. The crude protein content of the dried powder of this larva is reported to be between 31 and 50 percent, crude fiber is 10 to 15 percent, ash is 3 to 5 percent, ether extract is 31 to 43 percent, and its gross energy is between 5890 and 6520 kcal/kg (Makkar et al., 2014). It has also been reported that the presence of chitin in these larvae, due to its prebiotic properties, can have beneficial effects on the consumer's immune system (Bovera et al., 2015). The nutritional composition of mealworms depends strongly on their developmental stage, diet, and environmental conditions (Siemianowaska et al., 2013). In general, considering the price of common protein sources and the possibility of less access to them in the future, the use of animal protein, including insects and their larvae, could be one of the proposed solutions (Huis et al., 2013).

Materials and Methods: An experiment was designed to investigate the effects of different dietary levels of mealworm powder on the performance and immune response of laying hens. This experiment was conducted at the Department of Animal Husbandry of Agricultural and Natural Resources University of Khuzestan. The



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

 <https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94169.1254>

experiment was conducted for 8 weeks (two weeks of adaptation and 6 weeks of data collection) using 120 Leghorn laying hens of the Hy-Line W-80 strain, in a completely randomized design with four levels of mealworm powder (0, 1, 2, and 3%) with 4 treatments, 5 replications, and 6 chickens per replication with corn-soybean based diets. Propagation, rearing, and preparation of mealworm larvae for use in diets were carried out at Sarzamin Salamat Company. Records were taken throughout the experiment. At the end of the experiment, blood and egg samples were collected for hematological, immunological, and egg quality analyses.

Results and Discussion: Chemical analysis of mealworm powder revealed 97% dry matter, 40% crude protein and 28% extract. The results showed that dietary inclusion of mealworm powder significantly improved the overall performance of laying hens compared with the control group during the experimental period. During weeks 1–2 of the experiment, performance was not affected by the experimental treatments. During weeks 3–4, feed conversion ratio decreased under the influence of mealworm consumption. During weeks 5–6, percentage production and egg mass increased under the influence of 1 and 2% mealworm consumption, and feed conversion ratio decreased with 1% mealworm consumption. Throughout the entire experimental period, chickens fed diets containing mealworm powder produced more egg mass and had better feed conversion ratios compared to the control group. The egg production efficiency index increased significantly with the inclusion of mealworm powder in the diet. Chickens fed with 1% of mealworm powder significantly reduced LDL levels compared to other groups. Alanine aminotransferase (ALT) activity increased significantly with increasing mealworm powder levels. Glucose, triglycerides, cholesterol, and aminotransferase enzyme were not affected by the experimental treatments. The highest secondary antibody titer against sheep red blood cells (SRBC) was observed in the groups fed diets containing mealworm powder.

Conclusion: Overall, the findings of this study demonstrate that dietary supplementation with 1% mealworm powder effectively improves feed conversion ratio, enhances the egg production efficiency index (EPEI), and positively influences egg quality, hematological parameters, and immune response in laying hens.

Keywords: Hy-line W80, Immune response, Liver enzyme, Performance

بررسی اثرات فراسودمند کاربرد پودر میلورم در جیره، بر صفات کمی و کیفی تولید تخم مرغ، شاخص های خونی و پاسخ ایمنی مرغ های تخم گذار

مونا سلامت^۱، علی آقائی^{۱*}، سمیه سالاری^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۶

چکیده

پژوهش حاضر به منظور بررسی سطوح مختلف پودر میلورم بر عملکرد و پاسخ ایمنی مرغ های تخم گذار انجام شد. این آزمایش به مدت هشت هفته با استفاده از ۱۲۰ قطعه مرغ تخم گذار لگهورن سویه های -لاین (W-80)، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح پودر میلورم (صفر، یک، دو و سه درصد) با چهار تیمار، پنج تکرار و شش قطعه مرغ در هر تکرار اجرا گردید. جیره ها بر پایه ذرت-کنجاله سویا و با انرژی و پروتئین مشابه تهیه شد. نتایج نشان داد که استفاده از سطوح مختلف پودر میلورم باعث بهبود عملکرد مرغ های تخم گذار نسبت به شاهد شد. به طوری که مرغ های تغذیه شده با تیمار حاوی پودر میلورم نسبت به شاهد میزان توده تخم مرغ را افزایش داده و ضریب تبدیل غذایی را بهبود بخشید. شاخص کیفی زرده تخم مرغ به طور معنی داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت، گروه های تغذیه شده با یک و سه درصد پودر میلورم نسبت به سایر تیمارها دارای بیشترین درصد زرده بودند. در سرم خون مرغ های تغذیه شده با سطح یک درصد پودر میلورم نسبت به سایر گروه ها، میزان LDL به طور معنی داری کاهش یافت. سطح آلانین آمینو ترانسفراز با افزایش سطح پودر میلورم به طور معنی داری افزایش یافت. بالاترین عیار پادتن ثانویه علیه گلبول های قرمز گوسفندی در گروه های تغذیه شده با پودر میلورم مشاهده شد. به طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از سطح یک درصد پودر میلورم علاوه بر بهبود ضریب تبدیل خوراک و شاخص بهره وری تولید تخم مرغ، صفات کیفی تخم مرغ، صفات خونی و پاسخ ایمنی را بهبود بخشید.

واژه های کلیدی: آنزیم های کبدی، پاسخ ایمنی، های-لاین W80، عملکرد

مقدمه

می باشد. علاوه بر این ارزش تغذیه ای حشرات از گیاهان بیشتر است، زیرا حشرات دارای مقادیر زیادی پروتئین، ویتامین، مواد معدنی و اسیدهای آمینه ضروری هستند و گزارش شده است زمانی که برای تغذیه حیوانات تکمیل استفاده می شوند باعث بهبود عملکرد رشد و قابلیت هضم در مقایسه با منابع پروتئینی دیگر می شوند (Veldkamp et al., 2012). از آنجا که حشرات به طور طبیعی توسط بسیاری از حیوانات از جمله ماهی و پرندگان وحشی مصرف می شوند، می توانیم فرض کنیم که این حیوانات به طور کاملی با خوردن آن ها به عنوان بخشی از رژیم عادی خود سازگار شده اند. بنابراین، منطقی به نظر می رسد که پروتئین حشرات را به عنوان یک منبع خوراک تجاری قابل قبول در سال های آینده در نظر بگیریم (Ribeiro, 2017). میلورم، لارو گونه ای سوسک شبزی با نام علمی *Tenebrio molitor* از خانواده Tenebrionidae است که در سراسر جهان یافت شده و چون آفت غلات، آرد و غذای انباری به شمار می رود، به کرم آرد یا میلورم معروف است (Ramos et al., 2002). میلورم دارای

مهم ترین و پرمصرف ترین منابع پروتئینی در تغذیه طیور کنجاله سویا، کنجاله منداب و کنجاله کانولا می باشد، اما به علت تولید محدود و رقابت بین انسان و حیوان برای مصرف منابع پروتئینی متداول، قیمت این اقلام رو به افزایش می باشد، بنابراین، یافتن یک منبع پروتئینی جایگزین، دارای اهمیت می باشد (Tacon & Metian, 2008). حشرات به سرعت رشد کرده و تکثیر می شوند و ضریب تبدیل غذایی مناسبی دارند. آن ها همچنین قادرند که پسماندهای کشاورزی را به زیست توده های با ارزش، با انرژی و پروتئین مناسب تبدیل نمایند (Collavo et al., 2005). حشرات، منبع پروتئین قابل مصرف برای انسان و حیوان هستند و نزدیک به ۱۰۰ درصد آن قابل مصرف

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

(Email: aghaei@asnrukh.ac.ir)

(*) نویسنده مسئول:

<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94169.1254>

تا ۱۲ روز تغریخ شده و بعد از گذشت ۳ تا ۴ ماه به لارو بالغ تبدیل می شدند. میلورم ها به مدت ۱۸-۱۶ هفته تا زمان رسیدن به لارو کامل، پرورش داده شد و قبل از تبدیل شدن به شفیره، لاروها به وسیله الک از بستر، سوسک و شفیره جدا شدند. سپس به مدت ۴۸ ساعت بدون آب و غذا رها شدند تا محتویات دستگاه گوارش آنها به طور کامل تخلیه شود، که به آن روده شویی گفته می شود. سپس لاروها به منظور کشتن، در دمای ۲۱- درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت فریز شدند. لاروها به منظور خشک کردن به مدت ۲۴ ساعت تحت دمای ۶۰ درجه سانتی گراد در داخل آون قرار گرفتند تا رطوبت آنها خارج شود. در نهایت، لاروهای خشک شده آسیاب و پودر شدند و به منظور تعیین مقدار ماده خشک، رطوبت، پروتئین خام و چربی مورد تجزیه تقریبی قرار گرفتند (AOAC, 2005).

آنالیز شیمیایی پودر میلورم

آزمایش هایی جهت اندازه گیری ترکیب شیمیایی پودر میلورم (شامل ماده خشک، چربی خام و پروتئین خام) و بررسی اثرات استفاده از آن در جیره بر صفات عملکردی و خصوصیات کیفی تخم مرغ مرغ های تخم گذار انجام شد. میلورم از شرکت سرزمین سلامت تهیه گردید. نمونه میلورم آسیاب و مخلوط شد و برای تعیین ماده خشک، نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد در دستگاه آون قرار داده شدند. سپس ماده خشک، چربی خام، پروتئین خام، فیبر خام، خاکستر و عصاره عاری از ازت اندازه گیری گردید (AOAC, 2005).

آزمایش اصلی

این آزمایش در ایستگاه دامپرووری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، به مدت هشت هفته با استفاده از ۱۲۰ قطعه مرغ تخم گذار لگهرون سویه های -لاین (W-80) با سن ۶۸ هفته به مدت هشت هفته (شامل دو هفته عادت پذیری و شش هفته رکوردبرداری) به صورت پرورش در قفس، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار (چهار سطح میلورم ۰، ۱، ۲ و ۳ درصد جیره) و پنج تکرار (شش قطعه مرغ در هر تکرار) انجام شد. برای هر قفس ۷۶ سانتی متر دانخوری ناودانی و دو آبخوری نیپل قرار داشت. برنامه نوری به صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. جیره های آزمایشی شامل ۱- شاهد: جیره برپایه ذرت و کنجاله سویا بدون افزودن پودر میلورم (شاهد)، ۲- استفاده از یک درصد پودر میلورم در جیره پایه، ۳- استفاده از دو درصد پودر میلورم در جیره پایه و ۴- استفاده از سه درصد پودر میلورم در جیره پایه بودند. جیره ها مطابق کاتالوگ راهنمای سویه های -لاین (W-80) براساس احتیاجات غذایی و با استفاده از نرم افزار WUFFDA با انرژی و پروتئین مشابه تنظیم شد. ترکیب جیره های تنظیم شده در جدول ۱ گزارش شده است.

چهار مرحله زیستی تخم، لارو، شفیره و سوسک بالغ است. مرحله اول زندگی به صورت تخم می باشد، بعد از آن، دوره لاروی است که تخم تبدیل به لارو شده و در واقع ما در این مرحله آن را به اسم میلورم می شناسیم (Finke, 2002). این لارو در دنیا به صورت صنعتی تکثیر شده و به شکل زنده، کنسرو شده، خشک شده و پودر شده به عنوان خوراک حیوانات پرندگان عرضه می شود. میزان پروتئین خام پودر خشک شده این لارو بین ۳۱ تا ۵۰ درصد، فیبر خام ۱۰ تا ۱۵ درصد، خاکستر ۳ تا ۵ درصد، چربی خام ۳۱ تا ۴۳ درصد و انرژی خام آن بین ۵۸۹۰ تا ۶۵۲۰ کیلوکالری در هر کیلوگرم گزارش شده است (Makkar et al., 2014). همچنین گزارش شده است که وجود مقادیری کیتین در این لارو به دلیل خاصیت پری بیوتیکی می تواند اثرات مفیدی بر سیستم ایمنی مصرف کننده داشته باشد (Bovera et al., 2015). مقدار و تناسب ترکیبات مغذی میلورم بستگی زیادی به مرحله زندگی، نوع رژیم غذایی و شرایط محیط پرورش دارد (Siemianowska et al., 2013). اگرچه استفاده از میلورم در مقادیر محدود قادر به جایگزینی کامل با منابع پروتئینی متداولی همچون کنجاله سویا نیست، اما اهمیت اصلی آن بیشتر به دلیل اثرات فراسودمند بر ویژگی های تولیدی و کیفی محصولات دامی است. مصرف مقادیر کم از این منبع می تواند بر عملکرد مرغ های تخم گذار، کیفیت پوسته و زرده تخم مرغ، رنگ و ترکیب داخلی آن اثر مثبت داشته باشد. همچنین ترکیبات زیست فعال موجود در میلورم، از جمله اسیدهای چرب غیر اشباع و کیتین با اثرات پری بیوتیک، می توانند متابولیسم چربی و انرژی را تحت تأثیر قرار داده و از طریق تغییر در شاخص های خونی مانند تری گلیسرید، گلوکز، آنزیم های کبدی (ALT و AST) و فلور میکروبی روده، سلامت پرنده را بهبود بخشند (Jiang et al., 2024). به طور کلی، با توجه به قیمت بالای منابع پروتئینی رایج و نقش بالقوه میلورم در ارتقای سلامت و کیفیت تولید، بررسی اثرات این لارو در جیره مرغ های تخم گذار می تواند راهکار مفیدی برای بهبود عملکرد تولیدی و کیفی تخم مرغ و بهینه سازی وضعیت متابولیکی پرنده باشد (Huis et al., 2013).

مواد و روش ها

پرورش حشره و تهیه پودر میلورم (پیش آزمایش)

تکثیر، پرورش و آماده سازی لارو میلورم به منظور استفاده در جیره در شرکت سرزمین سلامت انجام شد. لاروها درون کشوهای پلاستیکی و روی بستر سیوس گندم و آرد جو پرورش داده شدند. شرایط محیطی اتاقک پرورش حشرات شامل دمای ۲۸ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۶۵ درصد و برنامه نوری ۲۴ ساعت تاریکی بود. از سبزیجاتی مانند کلم، کاهو و هویج جهت تأمین ویتامین و رطوبت مورد نیاز لاروها استفاده شد. تخم سوسک ها بعد از حدود ۱۰

جدول ۱- ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های غذایی آزمایشی
Table 1- The ingredient and nutrient composition of experimental diets

ترکیب جیره (درصد ماده خشک) Ingredients (%DM)	شاهد Control	۱٪ میلورم Mealworm 1 %	۲٪ میلورم Mealworm 2%	۳٪ میلورم Mealworm 3%
ذرت Corn	55.65	55.80	56.00	56.15
کنجاله سویا Soybean meal	24.5	23.5	22.5	21.5
میلورم Mealworm	0	1	2	3
سیوس گندم Wheat bran	3	3	3	3
روغن گیاهی Vegetable oil	3.5	3.35	3.15	3
صدف Shell	5.25	5.25	5.25	5.25
دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate	1.7	1.7	1.7	1.7
سنگ آهک Limestone	5	5	5	5
جوش شیرین Bicarbonate	0.22	0.22	0.22	0.22
نمک Salt	0.23	0.23	0.23	0.23
دی‌ال - متیونین DL-methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
ال - لیزین L-lysine	0.08	0.08	0.08	0.08
ترئونین Threonine	0.07	0.07	0.07	0.07
مکمل معدنی ^۱ Mineral-permix ¹	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل ویتامینی ^۲ Vitamin-permix ²	0.25	0.25	0.25	0.25
ترکیب شیمیایی Chemical compounds				
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری/کیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg)	2778	2782	2784	2789
پروتئین خام (%) Crude protein	16.39	16.36	16.34	16.31
کلسیم (%) Ca (%)	4.36	4.36	4.36	4.36
فسفر در دسترس (%) Available P (%)	0.44	0.44	0.44	0.44
متیونین + سیستئین (%) Methionine + cysteine (%)	0.83	0.83	0.83	0.83
متیونین (%) Methionine (%)	0.56	0.56	0.56	0.56
لیزین (%) Lysine	0.9	0.9	0.9	0.9
سدیم (%) Na (%)	0.17	0.17	0.17	0.17
کلر (%) Cl (%)	0.17	0.17	0.17	0.17

^۱ مکمل مواد معدنی در هر کیلوگرم جیره غذایی: کولین کلرید، ۱۵۰ میلی گرم؛ منگنز، ۱۱۲/۵ میلی گرم؛ روی، ۶۲/۵ میلی گرم؛ مس، ۱۲/۵ میلی گرم؛ سلنیم، ۰/۳۱ میلی گرم؛ ید، ۱/۴ میلی گرم؛ آهن، ۳۲/۵ میلی گرم.

^۲ مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم جیره غذایی: رتینیل استات، ۱۰۰۰۰ واحد بین المللی؛ کوله کلسیفرول، ۴۵۰۰ واحد بین المللی؛ α-توکوفرول استات، ۳۷/۵ واحد بین المللی؛ تیامین، ۱/۲۵ میلی گرم؛ نیاسین، ۳۹/۲۵ میلی گرم؛ اسید فولیک، ۰/۵ میلی گرم؛ اسید پانتوتنیک، ۱۰ میلی گرم؛ ویتامین K، ۵ میلی گرم؛ نیکوتینامید، ۴/۶۳ میلی گرم؛ کولین، ۳۷/۵ میلی گرم؛ کوبالامین، ۰/۰۲۵ میلی گرم.

¹ Mineral-permix (kg/diet): Choline chloride, 150 mg; manganese, 112.5 mg; zinc, 62.5 mg; copper, 12.5 mg; selenium, 0.31 mg; iodine, 1.4 mg; iron, 32.5 mg.

² Vitamin-permix (kg/diet): Retinyl acetate, 10000 IU; cholecalciferol, 4500 IU; α-tocopherol acetate, 37.5 IU; thiamine, 1.25 mg; niacin, 39.25 mg; folic acid, 0.5 mg; pantothenic acid, 10 mg; vitamin K, 5 mg; nicotinamide, 4.63 mg; choline, 37.5 mg; cobalamin, 0.025 mg.

عملکرد

(توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم) و ثبت شد. میانگین وزن تخم‌مرغ‌ها با استفاده از معادله ۲ و درصد تولید با استفاده از معادله ۳ محاسبه شد. توده تخم‌مرغ و ضریب تبدیل خوراک نیز به‌ترتیب با استفاده از معادله ۴ و ۵ محاسبه شدند (Çabuk et al., 2003).

میزان خوراک مصرفی از تفاضل خوراک توزیع‌شده در طول هفته و خوراک باقی‌مانده آن در آخر هفته به دست آمد. سپس به‌ازای هر پرنده در روز محاسبه شد (معادله ۱). در این آزمایش، تخم‌مرغ‌های تولیدشده توسط مرغ‌ها، به‌صورت روزانه جمع‌آوری (ساعت ۲ بعد از ظهر)، توزین

میانگین مصرف خوراک (گرم/مرغ/روز)

$$\text{معادله (۱)} = \frac{\text{غذای باقیمانده در پایان دوره در هر تکرار} - (\text{تعداد روزهای دوره} \times \text{مقدار خوراک روزانه برای تکرار})}{\text{تعداد روزهای دوره} \times \text{تعداد مرغ در هر تکرار}}$$

$$\text{معادله (۲)} = \frac{\text{وزن کل تخم مرغ تولیدی در هر گروه آزمایشی}}{\text{تعداد کل تخم مرغ تولیدی در آن گروه آزمایشی}} = \text{میانگین وزن تخم مرغ (گرم)}$$

$$\text{معادله (۳)} = \frac{\text{تعداد کل تخم مرغ تولید شده در طول یک دوره در هر واحد آزمایشی}}{(\text{تعداد تلفات} \times \text{تعداد روز تلف شده}) - (\text{تعداد روز} \times \text{تعداد مرغ در اول دوره})} \times 100 = \text{درصد تولید تخم‌مرغ}$$

$$\text{معادله (۴)} = \text{درصد تخم‌گذاری} \times \text{میانگین وزن تخم‌مرغ (گرم)} = \text{توده تخم‌مرغ تولیدی (گرم در روز)}$$

$$\text{میانگین مصرف خوراک (گرم/مرغ/روز)} = \frac{\text{توده تخم مرغ (گرم/مرغ/روز)}}{\text{ضریب تبدیل خوراک}}$$

$$\text{معادله (۵)}$$

کیت‌های تشخیصی تجاری (پارس آزمون، ایران) براساس دستورالعمل سازنده و به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway Genova MK3, UK) و دستگاه اتوآنالایزر انجام شد (Yang et al., 2009).

SRBC

برای بررسی عیار پادتن تولیدشده علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC) (ایمنی هومورال)، با استفاده از بافر فسفات سالین محلول ۵ درصد SRBC (۵ میلی‌لیتر SRBC + ۹۵ میلی‌لیتر بافر فسفات) آماده و در هفته‌های پنج و هفت به‌میزان ۰/۵ میلی‌لیتر به عضله سینه دو مرغ از هر تکرار تزریق شد. در هفته‌های شش و هشت دوره آزمایش (یک هفته بعد از هر تزریق) خون‌گیری از پرنده‌های دریافت‌کننده SRBC انجام گردید. برای تعیین عیار پادتن تولیدشده علیه SRBC از روش هموگلوآگتیون استفاده گردید (Matson et al., 2005).

اندازه‌گیری شاخص بهره‌وری تولید تخم‌مرغ

برای اندازه‌گیری شاخص بهره‌وری تولید تخم‌مرغ از معادله ۶ (Lucanov et al., 2023) استفاده شد.

$$\text{معادله (۶)} \quad \text{EPEI} = [(L \times \text{DEMP}) / \text{FCR}] \times 100$$

$$\text{DEMP} = (\text{HDEP} \times \text{AEW}) / t$$

که در آن، EPEI: شاخص بهره‌وری تولید تخم‌مرغ، L: درصد زنده‌مانی، DEMP (kg): توده تخم‌مرغ تولید روزانه، FCR: ضریب

خصوصیات کیفی تخم‌مرغ

به‌منظور بررسی خصوصیات کیفی تخم‌مرغ‌های تولیدشده، در پایان دوره آزمایش چهار تخم‌مرغ از هر تکرار جمع‌آوری و پس از شماره‌گذاری به آزمایشگاه منتقل شدند و خصوصیات کیفی شامل دو دسته: کیفیت خارجی (شامل مقاومت، ضخامت و وزن پوسته) و کیفیت داخلی تخم‌مرغ (شامل ارتفاع سفیده، واحد‌ها، وزن زرده و رنگ زرده) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری واحد‌ها از دستگاه Egg Multi tester japan, 5200-EMT استفاده گردید. تعیین مقاومت پوسته به‌وسیله دستگاه مقاومت‌سنج دستی پوسته تخم‌مرغ انجام شد. سپس پوسته‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند. بعد از خشک شدن، وزن پوسته‌ها توسط ترازوی دقیق با حساسیت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن زرده و سفیده، تخم‌مرغ‌ها را شکسته، سفیده و زرده آن‌ها از هم جدا شد. سپس با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شدند (Çabuk et al., 2003).

تجزیه بیوشیمیایی خون

در پایان آزمایش، خون‌گیری از دو پرنده از هر تکرار از طریق ورید بال انجام گرفت. نمونه‌های خون به آزمایشگاه منتقل شدند و سرم نمونه‌های خون جداسازی شد. تجزیه بیوشیمی سرم خون شامل گلوکز، کلسترول، LDL، تری‌گلیسرید و آنزیم‌های کبدی ALT (آلانین آمینوترانسفراز) و AST (آسپاراتات آمینوترانسفراز) با استفاده از

تبدیل غذایی، HDEP: تولید تخم مرغ، روز-مرغ AEW: میانگین وزن تخم مرغ و t: تعداد روز است.

که در آن، Y_{ij} : مقدار عددی هر مشاهده، μ : میانگین جامعه، T_i : اثر ماده آزمایشی و e_{ij} : خطای آزمایش است.

روش آماری تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج به دست آمده از این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار آماری SAS و رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و سطح معنی داری پنج درصد انجام شد. مدل آماری مورد استفاده جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها به شرح معادله ۷ بود.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad \text{معادله (۷)}$$

نتایج

جدول ۲- $C:\Users\sf-2$
soltani\AppData\Roaming\Microsoft\Word\8-1254.docx
درصد ترکیبات موجود در میلورم مورد استفاده در مطالعه حاضر را نشان می‌دهد. ماده خشک ۹۷ درصد، پروتئین خام ۴۰ درصد و چربی خام ۲۸ درصد بود.

جدول ۲- ترکیب مواد مغذی پودر میلورم (درصد)

Table 2- Nutrient composition of mealworm powder (percentage)

ترکیبات Composition	ماده خشک Dry Matter	پروتئین خام Crude protein	چربی خام Ether Extract	فیبر خام Crude Protein	عصاره عاری از ازل Nitrogen Free Extract	خاکستر Ash
پودر میلورم Mealworm	97	40	28	12.06	29.21	3.84

نتایج اثر پودر میلورم بر شاخص بهره‌وری تولید تخم مرغ (جدول ۳) نشان داد که به جز دوهفته اول، در بقیه هفته‌های اندازه‌گیری و کل دوره آزمایش، پرندهای تیمارهای دریافت کننده پودر میلورم به‌طور معنی داری ($P \leq 0.05$) شاخص بهره‌وری تولید تخم مرغ بالاتری نسبت به شاهد داشتند.

نتایج مربوط به تأثیر افزودن سطوح مختلف پودر میلورم بر صفات کیفی تخم مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار در جدول ۴ نشان داده شده است. درصد زرده تخم مرغ به‌طور معنی داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند ($P \leq 0.05$). سایر صفات کیفی تخم مرغ تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P > 0.05$). گروه‌های تغذیه شده با یک و سه درصد پودر میلورم نسبت به سایر تیمارها دارای بیشترین درصد زرده بودند ($P \leq 0.05$).

نتایج مربوط به تأثیر افزودن سطوح مختلف پودر میلورم بر فراسنجه‌های خونی مرغ‌های تخم‌گذار در جدول ۵ نشان داده شده است. میزان LDL و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) به‌طور معنی داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند ($P \leq 0.05$). در سرم خون مرغ‌های تغذیه شده با سطح یک درصد پودر میلورم نسبت به سایر گروه‌ها، میزان LDL به‌طور معنی داری کاهش یافت ($P \leq 0.05$). سطح آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز با افزایش سطح پودر میلورم به‌طور معنی داری افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در سطح سه درصد جیره میلورم مشاهده شد ($P \leq 0.05$). گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول و آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P > 0.05$).

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار طی دوره آزمایش در جدول ۳ ارائه شده است. هرچند که تأثیر تیمارهای آزمایشی طی دو هفته اول آزمایش بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار معنی داری نبود ($P > 0.05$)، اما مرغ‌های تغذیه شده با یک درصد پودر میلورم نسبت به سایر گروه‌ها، بالاترین درصد تولید و کمترین میزان ضریب تبدیل خوراک را داشتند ($P > 0.05$).

اثر تیمارهای آزمایشی طی دو هفته دوم آزمایش تنها بر ضریب تبدیل غذایی مرغ‌های تخم‌گذار معنی داری بود ($P \leq 0.05$)، به‌طوری که مرغ‌های تغذیه شده با سطوح مختلف پودر میلورم نسبت به سایر گروه‌ها، کمترین میزان ضریب تبدیل خوراک را طی دو هفته دوم آزمایش داشتند ($P \leq 0.05$).

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار طی دو هفته سوم آزمایش نشان دادند که درصد تولید تخم مرغ، توده تخم مرغ و ضریب تبدیل خوراک به‌طور معنی داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند ($P \leq 0.05$). مرغ‌های تغذیه شده با سطوح یک و دو درصد پودر میلورم نسبت به شاهد، بالاترین درصد تولید و میزان توده تخم مرغ را داشتند ($P \leq 0.05$). همچنین گروه تغذیه شده با سطح یک درصد پودر میلورم، ضریب تبدیل خوراک را به‌طور معنی داری نسبت به سایر تیمارها بهبود بخشید ($P \leq 0.05$).

نتایج کل دوره آزمایش نشان داد که توده تخم مرغ و ضریب تبدیل خوراک به‌طور معنی داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند ($P \leq 0.05$). مرغ‌های تغذیه شده با سطوح یک و دو درصد پودر میلورم نسبت به شاهد بالاترین میزان توده تخم مرغ را داشتند ($P \leq 0.05$). همچنین سطوح مختلف پودر میلورم، ضریب تبدیل خوراک را به‌طور معنی داری نسبت به شاهد بهبود بخشید ($P \leq 0.05$).

جدول ۳- تأثیر استفاده از سطوح مختلف پودر میلو در جیره بر عملکرد مرغهای تخمگذار
Table 3- Effect of using different levels of mealworm powder in the diet on the Performance parameters of laying hens

تیمار Treatment	دو هفته اول The first two weeks					دو هفته دوم The second two weeks					دو هفته سوم The third two weeks					کل دوره The whole course				
	EW میانگین وزن	EP درصد تولید	EM نرخ تولید	FI خوراک	FCR میانگین خوراک	EW میانگین وزن	EP درصد تولید	EM نرخ تولید	FI خوراک	FCR میانگین خوراک	EW میانگین وزن	EP درصد تولید	EM نرخ تولید	FI خوراک	FCR میانگین خوراک	EW میانگین وزن	EP درصد تولید	EM نرخ تولید	FI خوراک	FCR میانگین خوراک
شاهد Control	69.35	86.6 7	60.0 7	93.2 9	1.55	64.81	90.2 4	58.5 0	98.8 7	1.69 ^a	63.73	90.59 ^b	57.76 ^b	95.9 4	1.66 ^a	65.97	89.1 6	58.78 ^b	96.0 3	1.64 ^a
میلو ۱ درصد Mealworm 1 %	69.69	89.7 6	62.5 5	93.1 1	1.49	66.67	93.5 7	62.3 9	95.5 7	1.53 ^b	65.83	94.90 ^a	62.48 ^a	92.6 6	1.48 ^b	67.40	92.7 4	62.47 ^a	93.7 8	1.50 ^b
میلو ۲ درصد Mealworm 2 %	70.64	85.0 0	60.0 5	91.9 5	1.53	65.89	92.6 2	61.0 1	95.4 1	1.57 ^b	64.48	95.69 ^a	61.68 ^a	95.6 7	1.55 ^{ab}	67.01	91.1 0	60.91 ^a	94.3 4	1.55 ^b
میلو ۳ درصد Mealworm 3 %	69.97	85.9 5	60.1 0	93.5 4	1.56	66.45	94.7 6	62.9 6	97.5 3	1.55 ^b	65.39	93.33 ^a ^b	61.06 ^a ^b	94.3 0	1.55 ^{ab}	67.27	91.3 5	61.37 ^a	95.1 2	1.55 ^b
انحراف استاندارد SEM	0.48	0.68	0.49	0.48	0.01	0.32	0.81	0.65	0.73	0.02	0.38	0.72	0.66	0.86	0.02	0.26	0.55	0.48	0.47	0.01
P-value	0.83	0.06	0.20	0.70	0.41	0.17	0.24	0.06	0.30	0.02	0.22	0.05	0.04	0.54	0.04	0.21	0.14	0.03	0.37	0.01

EW: Egg weight (g/m), EP: Egg production (%), EM: Egg mass (g/h/d), FI: Feed intake (g/d), FCR: Feed conversion ratio (g feed intake/g egg mass)
In each column, means with different letters are statistically significantly different ($P \leq 0.05$).

جدول ۳- تأثیر استفاده از سطوح مختلف پودر میلورم در جیره بر شاخص بهره‌وری تولید تخم‌مرغ

Table 4- Effect of using different levels of mealworm powder in egg production efficiency index (EPEI)

تیمار Treatment	دو هفته اول The first two weeks شاخص بهره‌وری EPEI	دو هفته دوم The second two weeks شاخص بهره‌وری EPEI	دو هفته سوم The third two weeks شاخص بهره‌وری EPEI	کل دوره The whole course شاخص بهره‌وری EPEI
شاهد Control	387.27	384.11 ^b	348.65 ^b	360.01 ^b
یک درصد پودر میلورم Mealworm 1%	421.64	435.56 ^a	422.72 ^a	416.84 ^a
دو درصد پودر میلورم Mealworm 2%	392.40	421.56 ^a	398.69 ^a	394.23 ^a
سه درصد پودر میلورم Mealworm 3%	386.74	429.33 ^a	395.96 ^a	396.50 ^a
انحراف استاندارد میانگین SEM	14.15	10.69	15.64	10.62
سطح احتمال value-P	0.283	0.016	0.029	0.013

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مختلف تفاوت آماری معنی‌داری دارند ($P \leq 0.05$).

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

جدول ۴- تأثیر استفاده از سطوح مختلف پودر میلورم در جیره بر صفات کیفی تخم‌مرغ مرغ‌های تخم‌گذار

Table 5- Effect of using different levels of mealworm powder in the diet on the egg quality traits of laying hens

تیمار Treatment	وزن تخم‌مرغ (گرم) Egg weight (g)	درصد سفیده Albumen percentage	درصد زرده Yolk percentage	درصد پوسته Egg shell percentage	واحد هاو Hough unit	استحکام پوسته (kg m/s ²)
شاهد Control	65.87	60.03	26.74 ^b	13.22	65.42	2.10
یک درصد پودر میلورم Mealworm 1%	65.42	56.46	30.24 ^a	13.29	65.87	2.82
دو درصد پودر میلورم Mealworm 2%	63.62	61.04	26.69 ^b	12.26	63.62	2.50
سه درصد پودر میلورم Mealworm 3%	64.42	56.78	29.61 ^a	13.60	64.42	2.62
انحراف استاندارد میانگین SEM	0.86	0.77	0.57	0.35	0.96	0.22
سطح احتمال value-P	0.87	0.06	0.02	0.60	0.87	0.74

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مختلف تفاوت آماری معنی‌داری دارند ($P \leq 0.05$).

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

جدول ۵- تأثیر استفاده از سطوح مختلف پودر میلورم در جیره بر فراسنجه‌های خونی مرغ‌های تخم‌گذار

Table 6- Effect of using different levels of mealworm powder in the diet on the blood parameters of laying hens

تیمار Treatment	گلوکز Glucose (mg/dl)	تری‌گلیسرید Triglyceride (mg/dl)	کلسترول Cholesterol (mg/dl)	کلسترول بد (mg/dl) LDL*	آسپاراتات ترانس AST (u/L) آمیناز	آلانین ترانس (u/L) آمیناز ALT
شاهد Control	261.00	1583.6	139.40	71.80 ^a	177.60	8.80 ^{bc}
یک درصد پودر میلورم Mealworm 1%	252.60	1255.6	121.20	47.80 ^b	162.60	8.00 ^c
دو درصد پودر میلورم Mealworm 2%	278.60	1979.4	199.00	71.60 ^a	166.60	10.20 ^{ab}
سه درصد پودر میلورم Mealworm 3%	269.80	1619.4	174.40	67.40 ^a	162.80	11.00 ^a
انحراف استاندارد میانگین SEM	4.74	117.10	13.41	3.28	4.25	0.36
سطح احتمال value-P	0.25	0.19	0.16	0.01	0.59	0.004

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مختلف تفاوت آماری معنی‌داری دارند ($P \leq 0.05$).In each column, means with different letters are statistically significantly different ($P \leq 0.05$).

*Low-Density Lipoprotein, Aspartate Transaminase, Alanine Transaminase.

جدول ۶- تأثیر استفاده از سطوح مختلف پودر میلورم در جیره بر عیار پادتن علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی در مرغ‌های تخم‌گذار (لگاریتم در مبنای ۲)

Table 7- Effect of using different levels of mealworm powder in the diet on the immune response of laying hens (Log 2)

تیمار Treatment	پاسخ اولیه Primary response	پاسخ ثانویه Secondary response
شاهد Control	6.25	7.25 ^b
یک درصد پودر میلورم Mealworm 1%	6.85	8.42 ^a
دو درصد پودر میلورم Mealworm 2%	7.20	8.37 ^a
سه درصد پودر میلورم Mealworm 3%	7.37	8.5 ^a
انحراف استاندارد میانگین SEM	0.18	0.21
سطح احتمال value-P	0.08	0.03

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مختلف تفاوت آماری معنی‌داری دارند ($P \leq 0.05$).In each column, means with different letters are statistically significantly different ($P \leq 0.05$).

جدول ۷- نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای آزمایشی بر سیستم

ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار را نشان می‌دهد. میزان عیار پادتن اولیه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$). در عیار ثانویه علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی اثر تیمارها معنی‌دار بود و عیار پادتن تیمارهای دریافت‌کننده میلورم به‌طور معنی‌داری بالاتر از شاهد بود

بحث

در این پژوهش، اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی میلورم مورد استفاده ۲۸ درصد چربی خام، ۴۰ درصد پروتئین خام و ۹۷ درصد ماده

خشک را نشان داد. درحالی که نویسندگان دیگری گزارش کردند که میزان پروتئین خام پودر خشک شده میلورم بین ۳۱ تا ۵۰ درصد، فیبر خام ۱۰ تا ۱۵ درصد، خاکستر ۳ تا ۵ درصد، چربی خام ۳۱ تا ۴۳ درصد و انرژی خام آن بین ۵۸۹۰ تا ۶۵۲۰ کیلوکالری در هر کیلوگرم گزارش شده است (Makkar et al., 2014). مقدار پروتئین و چربی موجود در لاروها بستگی زیادی به نوع رژیم غذایی آن‌ها دارد. همچنین پروفایل اسیدهای آمینه موجود در لاروها نیز تحت تأثیر رژیم غذایی آن‌ها قرار می‌گیرد. این پدیده از آن جهت دارای اهمیت است که می‌توان با تغییر رژیم غذایی، میزان اسیدهای آمینه دارای گوگرد (مانند سیستئین و متیونین) را در لاروها افزایش داد و از لاروها به عنوان رژیم غذایی مناسب برای پرورش ماکیان استفاده کرد. لارو میلورم یکی از بالاترین مقادیر پروتئین (از ۴۷/۷۶ تا ۵۳/۱۳ درصد) و لیپید (۲۷/۲۵ تا ۳۸/۲۶ درصد) را دارد، و در هر ۱۰۰ گرم آن حدود ۳۷۹ تا ۵۷۳ کیلوکالری انرژی دارد. بنابراین انرژی دریافتی از حشرات برای امنیت غذایی مهم می‌باشد (Ribeiro, 2017; Alves et al., 2016). میلورم‌ها دارای میزان بالایی از پروتئین هستند و همچنین مقادیر قابل توجهی اسیدهای چرب اشباع نشده دارند. میلورم‌ها به عنوان منبع روی شناخته می‌شوند و همچنین حاوی منیزیم و کلسیم هستند. میلورم‌ها همچنین منبع خوبی از تمام اسیدهای آمینه ضروری می‌باشند. آنالیز ترکیبات نشان می‌دهد که در هر ۱۰۰ گرم وزن خشک لارو میلورم ۵۲ گرم پروتئین، ۲۵ گرم چربی، ۲ گرم فیبر، ۳/۶ خاکستر و ۱۸۶۰ کیلوکالری انرژی وجود دارد (Jin et al., 2016).

در آزمایش حاضر طی دو هفته اول، عملکرد پرندگان تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت و طی دو هفته دوم، ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر مصرف میلورم بهبود یافت. طی دو هفته سوم آزمایش، مصرف سطوح یک و دو درصد میلورم، تولید و توده تخم‌مرغ را افزایش و سطح یک درصد، ضریب تبدیل خوراک را کاهش داد. در کل شش هفته در این مطالعه مصرف خوراک، درصد تولید و میانگین وزن تخم‌مرغ تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. درحالی که تحت تأثیر مصرف میلورم، توده تخم‌مرغ افزایش و ضریب تبدیل خوراک کاهش یافت. زوته و همکاران (Dalle Zotte et al., 2019) و اولاده و همکاران (Ullah et al., 2017) با افزودن حشرات در جیره بلدرچین‌های تخم‌گذار و مرغ‌های تخم‌گذار اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک، درصد تولید تخم و وزن تخم مشاهده نکردند که با نتایج مطالعه حاضر، به غیر از دو هفته سوم که درصد تولید با مصرف میلورم افزایش یافت، هم‌خوانی دارد. این نویسندگان همچنین اثر معنی‌داری بر ضریب تبدیل خوراک با استفاده از حشرات در جیره طیور مشاهده نکردند که مخالف نتایج کلی این پژوهش است. در پژوهشی گزارش شد که استفاده از چهار درصد میلورم در جوجه‌های گوشتی به عنوان جایگزین پروتئینی در دوره رشد و کل دوره نسبت به

شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد، اما در دوره استارتر وزن‌گیری را افزایش داد (Elahi et al., 2020). در پژوهش دیگری نیز جایگزینی کامل کنجاله سویا با میلورم در جیره جوجه‌های گوشتی ۳۰ تا ۶۲ روزگی، وزن بدن و وزن‌گیری تحت تأثیر قرار نگرفت، اما مصرف خوراک ۴۶ تا ۶۲ روزگی و ضریب تبدیل خوراک نیز ۴۶ تا ۶۲ روزگی و ۳۰ تا ۶۲ روزگی نیز تحت تأثیر مصرف میلورم کاهش یافت (Bovera et al., 2015). ایسلام و یانگ (Islam & Yang, 2017) با استفاده از میلورم و سوپر میلورم به عنوان پروبیوتیک جایگزین آنتی‌بیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی تحت چالش با *Salmonella* و *E. coli* افزایش وزن نهایی، وزن‌گیری و مصرف خوراک و در نهایت کاهش ضریب تبدیل خوراک را گزارش کردند. در پژوهش دیگری، مصرف سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد میلورم در جوجه‌های گوشتی در سنین ۱۲ و ۲۵ روزگی به صورت خطی و در ۵۳ روزگی به صورت درجه دوم باعث افزایش وزن زنده شد. برخلاف نتایج پژوهش حاضر، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک نیز در پژوهش مذکور به صورت معنی‌دار یا تمایل به معنی‌داری افزایش پیدا کرد (Biasato et al., 2018).

لیزین، دومین اسید آمینه محدودکننده در گونه‌های پرندگان است. براساس نتایج فخرایی و همکاران (Fakhraei et al., 2010)، نیاز به لیزین برای توده تخم‌مرغ مطلوب، بیشتر از احتیاج به لیزین براساس تولید تخم‌مرغ است (حدود ۱۵ درصد بیش از مقدار توصیه شده). بنابراین، تأمین مقدار لیزین بیشتر، اضافه بر میزان پیشنهاد شده توسط استانداردهای پرورش است که بر توده تخم‌مرغ تأثیر مثبت می‌گذارد. میلورم‌ها کیفیت و کمیت بالایی از مشخصات پروتئین و اسیدهای آمینه دارند و لیزین جزء فراوان‌ترین اسیدهای آمینه ضروری در لاروهای میلورم می‌باشد. براساس (NRC, 2012) محتوای لیزین در لاروهای میلورم از ۱/۵۸ تا ۵/۷۶ درصد متفاوت است. حشرات، منبع پروتئین و قابل مصرف برای انسان و حیوان هستند و نزدیک به ۱۰۰ درصد آن قابل مصرف می‌باشد. حشرات دارای مقادیر زیادی پروتئین، ویتامین، مواد معدنی و اسیدهای آمینه ضروری هستند و اعلام شده زمانی که برای تغذیه حیوانات تک‌معدده‌ای استفاده می‌شوند باعث بهبود عملکرد رشد و قابلیت هضم در مقایسه با دیگر منابع پروتئینی می‌شوند (Veldkamp et al., 2012). میلورم سرشار از فیبر و اسیدهای چرب است. بنابراین، هضم غذا را بهبود می‌بخشد (Siemianowska et al., 2013). به دلیل اینکه حشرات جزئی از جیره طبیعی طیور هستند، بنابراین طیور می‌توانند حشرات را با بازده بیشتری نسبت به حیوانات دیگر استفاده کنند. کیتیناز، همان آنزیمی که می‌تواند کیتین اسکلت خارجی بی‌مهرگان را هیدرولیز کند، در معده بعضی از پرندگان حشره‌خوار یافت می‌شود. مواد مغذی بالای میلورم و بالا بودن قابلیت هضم آن و همچنین بهبود قابلیت هضم در پرندگان می‌تواند دلیل افزایش تولید، توده تخم‌مرغ و در نهایت بهبود

کیفیت خوراک بر پروفیل خون تأثیر می‌گذارد. مطالعه خون‌شناسی ابزار مهمی است که به‌عنوان یک شاخص واقعی و حساس برای پایش تغییرات فیزیولوژیکی و پاتولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرد. سنجش شاخص‌های خون به‌عنوان یک رویکرد ارزشمند برای تجزیه و تحلیل وضعیت سلامت پرندگان و حیوانات پرورشی تأیید شده است، زیرا این شاخص‌ها اطلاعات ثابتی در مورد اختلالات متابولیک و وضعیت استرس در یک محیط آزمایشی ارائه می‌دهند (Bahmani et al., 2001). در این پژوهش، اکثر فراسنجه‌های خونی بدون تغییر باقی ماندند، بنابراین نشان می‌دهد که استفاده از پودر لارو میلورم هیچ اثر نامطلوبی بر فراسنجه‌های فیزیولوژیکی و عملکردی نداشته است.

بوورا و همکاران (Bovera et al., 2018) گزارش کردند که در مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه‌شده با جیره غذایی لارو مگس سرباز سیاه در جایگزینی با کنجاله سویا در دو سطح (۲۵ و ۵۰ درصد) غلظت کلسترول سرم کاهش یافت، اما نتایج آزمایش دیگری نشان داد که غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول در جوجه‌های گوشتی نر از سن ۳۰ تا ۶۲ روز، تحت تأثیر جایگزینی کامل کنجاله سویا با پودر لارو میلورم قرار نگرفت (Bovera et al., 2015). در پژوهش مارنو و همکاران (Marono et al., 2017)، کاهش غلظت کلسترول سرم مرغ‌های تخم‌گذار دریافت‌کننده کنجاله لارو مگس سرباز سیاه به‌عنوان جایگزین کل کنجاله سویا از ۲۴ تا ۴۵ هفتهگی مشاهده شد. همچنین مشابه نتایج آزمایش حاضر، گزارش شد که غلظت گلوکز سرم، غلظت آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز کبد تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی (جایگزینی کامل کنجاله سویا با لارو مگس سرباز سیاه) قرار نگرفت (Marono et al., 2017). شریعت‌زاده و همکاران (Shariat Zadeh et al., 2020) در بررسی تأثیرات افزودن پودر میلورم به‌عنوان جایگزین پودر ماهی در جیره بر غلظت فراسنجه‌های سرم بلدرچین‌های تخم‌گذار گزارش کردند که غلظت کلسترول سرم در بلدرچین‌های تغذیه‌شده با ۷۵ و ۱۰۰ درصد پودر میلورم به‌جای پودر ماهی بیشتر از غلظت مشاهده‌شده برای پرندگان در گروه‌های دیگر بود. تری‌گلیسرید و HDL سرم در آزمایش مذکور تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند.

مخالف با نتایج پژوهش حاضر، در مطالعه زنگ و همکاران (Zang et al., 2018)، تأثیر پودر کرم خاکی (۱، ۳ و ۵ درصد) بر پولات‌های نه هفته، نتایج غلظت آلانین آمینوترانسفراز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. شیوانه و همکاران (Schiavone et al., 2017)، اثر لارو مگس سرباز سیاه در دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ درصد جایگزینی با کنجاله سویا را مورد مطالعه قرار دادند. صفات خونی (تری‌گلیسرید، کلسترول، آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز) به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر تیمارهای غذایی قرار نگرفت و تمام صفات ارزیابی‌شده در آزمایش در محدوده فیزیولوژیکی

ضریب تبدیل خوراک باشد. میلورم در مقایسه با منابع پروتئین حیوانی دیگر، منبع خوبی از اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب ضروری است و همچنین مقادیر قابل توجهی از ویتامین‌ها، مواد معدنی و سایر مؤلفه‌های ضروری جیره غذایی را تأمین می‌کند. پروتئین استخراج شده از میلورم حاوی پروتئین و لیپیدی است که عملکردی شبیه به پروتئین‌های حیوانی و گیاهی دیگر را دارد و این خواص همراه با محتوای اسید آمینه ضروری، از آن‌ها یک ماده غذایی مناسب می‌سازد (Costa, 2017) و می‌تواند در نهایت باعث افزایش بهره‌وری در شاخص‌های تولیدی شود.

استاستنیک و همکاران (Stastnik et al., 2021) نشان دادند که استفاده از پودر میلورم در مرغ‌های تخم‌گذار اثرات قابل توجهی بر سلامت دستگاه گوارش، تولیدمثل، ایمنی و پروفایل لیپیدی خون دارد و مصرف پودر میلورم موجب بهبود ریخت‌شناسی روده، افزایش ارتفاع پرزهای روده و عمق کریپت می‌شود. مشخص شد که پودر میلورم دارای ترکیبات زیست‌فعالی از قبیل کیتین و پپتیدها می‌باشد که نقش پروبیوتیکی داشته و باعث رشد باکتری‌های مفید روده و کاهش عوامل بیماری‌زا و ارتقای سلامت دستگاه گوارش می‌شود (Mohammadi et al., 2025). از اثرات دیگر فراسودمند پودر میلورم، می‌توان بهبود سیستم ایمنی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و کاهش تنش‌های اکسیداتیو (Jiang et al., 2024) را نام برد. نتایج این آزمایش نشان داد که پودر میلورم، اثرات فراسودمندی دارد و باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی و پاسخ ایمنی و کاهش سطح LDL سرم خون شد و در تمام سطوح استفاده‌شده در جیره نسبت به شاهد، شاخص بهره‌وری تولید تخم‌مرغ را افزایش داد.

در پژوهش حاضر، خصوصیات کیفی تخم‌مرغ شامل درصد پوسته، واحد هاو و استحکام پوسته در این آزمایش تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند، اما در سطح یک درصد و سه درصد میلورم، درصد زرده نسبت به شاهد و دو درصد میلورم افزایش یافت. اولاده و همکاران (Ullah et al., 2017) اظهار داشتند که جایگزین کردن کنجاله سویا با پودر کرم ابریشم، وزن و ضخامت پوسته، میانگین وزن سفیده و زرده و واحد هاو تخم‌مرغ را تحت تأثیر قرار نداد. در مطالعه آگانیاد و همکاران (Agunbiade et al., 2007)، جیره‌های دارای سطوح مختلف لارو ماگوت به‌عنوان جایگزین با پودر ماهی، ضخامت و وزن پوسته را به‌صورت خطی کاهش دادند. تخم‌مرغ‌های پرندگانی که با گروه شاهد تغذیه شدند در مقایسه با ۱۰۰ درصد پودر ماهی، بیشترین ضخامت و وزن پوسته را داشتند. با این حال تأثیر معنی‌داری بر واحد هاو مشاهده نشد. آماو و همکاران (Amao et al., 2010) تأثیر مصرف ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد لارو وست وود بر خصوصیات کیفی تخم‌مرغ‌های نژاد براون را بررسی کردند و طبق نتایج، پودر این لارو حشره، واحد هاو را تحت تأثیر قرار نداد.

گرمینگر و اسکنز (Griminger & Scanes, 1986) بیان کردند که غلظت بالای گلوبولین و نسبت پایین آلبومین به گلوبولین نشان دهنده مقاومت بهتر در برابر بیماری و پاسخ ایمنی در پرندگان است. همچنین نتایج شریعتزاده و همکاران (Shariat Zadeh et al., 2020) نشان داد که پودر لارو میلورم هیچ تأثیر مخربی بر ایمنی ندارد و بر وضعیت سلامتی بلدرچین‌های تخم‌گذار تأثیر منفی نمی‌گذارد. در مطالعه حاضر، استفاده از پودر لارو میلورم عیار پادتن ثانویه را نسبت به شاهد افزایش داد. بنابراین این نتایج نشان می‌دهد که کرم‌های میلورم باعث بهبود پاسخ ایمنی پرندگان می‌شوند. حشرات خوراکی، میزان قابل توجهی فیبر به‌شکل کیتین دارند (Liu et al., 2007; Finke, 2012). کیتین در این لارو به‌دلیل خاصیت پری‌بیوتیکی می‌تواند اثرات مفیدی بر سیستم ایمنی مصرف‌کننده داشته باشد (Bovera et al., 2015). علاوه بر این، ون هویز (Van Huis, 2013) مشاهده کرد که تغذیه حشرات به جوجه‌ها ممکن است استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها را در صنعت طیور کاهش دهد که می‌تواند به‌دلیل اثرات نامطلوب شناخته‌شده آنتی‌بیوتیک‌ها بر سلامت انسان (سویه‌های باکتری مقاوم به دارو) بسیار مهم باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از یک درصد پودر میلورم در جیره مرغ‌های تخم‌گذار می‌تواند سبب بهبود پاسخ ایمنی، شاخص بهره‌وری تولید تخم‌مرغ و ضریب تبدیل غذایی شود.

سپاسگزاری

از مسئولین دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت فراهم‌نمودن امکانات پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

قرار گرفتند (Lumej, 2008)، بنابراین نشان می‌دهد که گنجاندن لارو مگس سرباز سیاه به جیره غذایی بر وضعیت سلامت حیوانات تأثیر منفی نمی‌گذارد. موافق با نتایج حاضر، غلظت آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز در جوجه‌های گوشتی نر از سن ۳۰ تا ۶۲ روز، تحت تأثیر جایگزینی کامل کنجاله سویا با پودر لارو میلورم افزایش یافت (Bovera et al., 2015). در آزمایش حاضر، غلظت آلانین آمینوترانسفراز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت، به‌طوری‌که تیمار حاوی یک درصد پودر میلورم پایین‌ترین غلظت آلانین آمینوترانسفراز را داشت. برخلاف اکثر حیوانات اهلی، آلانین آمینوترانسفراز یک شاخص کمتر اختصاصی برای عملکرد کبد در پرندگان است، زیرا در بسیاری از بافت‌های محیطی (به‌ویژه ماهیچه‌ها) نیز یافت می‌شود و از این رو دارای تنوع بسیار گسترده‌ای است (Attia et al., 2014). از آنجایی که فعالیت آلانین آمینوترانسفراز در بسیاری از بافت‌های مختلف رخ می‌دهد، ارزش تشخیصی خاص این آنزیم در پرندگان ضعیف است، زیرا فعالیت‌های بالا را می‌توان با تغییرات پاتولوژیک تقریباً در همه بافت‌ها افزایش داد. به‌عنوان مثال، فعالیت در گلبول‌های قرمز ۱/۶ برابر بیشتر از پلاسما است و همولیز باعث افزایش فعالیت می‌شود (Lumej, 1988).

مطالعات بسیار کمی در مورد تأثیر استفاده از پودر حشرات به‌عنوان منبع پروتئین جایگزین بر ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار وجود دارد. در مطالعه حاضر، عدم وجود مرگ‌ومیر و علائم بالینی مشکل (مانند اسهال) و همچنین عدم کاهش وزن در گروه‌های آزمایشی نشان داد که پودر لارو میلورم هیچ اثر منفی بر وضعیت سلامت مرغ تخم‌گذار نداشت. بوورا و همکاران (Bovera et al., 2015)، مشاهده کردند که استفاده از کنجاله لارو میلورم برای تغذیه جوجه‌های گوشتی نر از سن ۳۰ تا ۶۲ روز، نسبت آلبومین به گلوبولین در گروهی که با پودر لارو میلورم تغذیه کردند، کاهش یافت. در این رابطه،

References

- Agunbiade, J. A., Adeyemi, O. A., Ashiru, O. M., Awojobi, H. A., Taiwo, A. A., Oke, D. B., & Adekunmisi, A. (2007). Replacement of fish meal with maggot meal in cassava-based layers' diets. *The Journal of Poultry Science*, 44(3), 278-282. <https://doi.org/10.2141/jpsa.44.278>
- Alves, A. V., Sanjinez-Argandoña, E. J., Linzmeier, A. M., Cardoso, C. A. L., & Macedo, M. L. R. (2016). Food value of mealworm grown on *Acrocomia aculeata* pulp flour. *Public Library of Science*, 11(3), e0151275. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151275>
- Amao, O. A., Oladunjoye, I. O., Togun, V. A., Olubajo, K., & Oyaniyi, O. (2010). Effect of westwood (*Cirina forda*) larva meal on the laying performance and egg characteristics of laying hen in a tropical environment. *International Journal of Poultry Science*, 9(5), 450-454. <https://doi.org/10.3923/ijps.2010.450.454>
- AOAC International. (2005). Official Methods of Analysis of AOAC International (Vol. 17, No. 1-2). AOAC International.
- Attia, Y. A., Abd Al-Hamid, A. E., Ibrahim, M. S., Al-Harhi, M. A., Bovera, F., & Elnaggar, A. S. (2014). Productive performance, biochemical and hematological traits of broiler chickens supplemented with propolis, bee pollen, and mannan oligosaccharides continuously or intermittently. *Livestock Science*, 164, 87-95. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.03.005>
- Bahmani, M., Kazemi, R., & Donskaya, P. J. F. P. (2001). A comparative study of some hematological features in

- young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). *Fish physiology and Biochemistry*, 24, 135-140. <https://doi.org/10.1023/A:1011911019155>
7. Biasato, I., Gasco, L., De Marco, M., Renna, M., Rotolo, L., Dabbou, S. & Schiavone, A. (2018). Yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) inclusion in diets for male broiler chickens: effects on growth performance, gut morphology, and histological findings. *Poultry science*, 97(2), 540-548. <https://doi.org/10.3382/ps/pex308>
8. Bovera, F., Piccolo, G., Gasco, L., Marono, S., Loponte, R., Vassalotti, G., & Nizza, A. (2015). Yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*, L.) as a possible alternative to soybean meal in broiler diets. *British Poultry Science*, 56(5), 569-575. <https://doi.org/10.1080/00071668.2015.1080815>
9. Çabuk, M., Alçiçek, A., Bozkurt, M., & İmre, N. (2003). Antimicrobial properties of the essential oils isolated from aromatic plants and using possibility as alternative feed additives. II. National Animal Nutrition Congress. 18-20 September, Konya, Turkey. pp. 184-187.
10. Collavo, A. L. B. E. R. T. O., Glew, R. H., Huang, Y. S., Chuang, L. T., Bosse, R. E. B. E. C. C. A., & Paoletti, M. G. (2005). House cricket small-scale farming. *Ecological Implications of Minilivestock: Potential of Insects, Rodents, Frogs and Snails*, 27, 515-540.
11. Costa, S. M. (2017). Proteínas de larvas de *Tenebrio molitor* (L., 1758): *Extração, caracterização e aplicação num produto alimentar*. MSc. Thesis, Universidade de Lisboa (Portugal).
12. Dalle Zotte, A., Singh, Y., Michiels, J., & Cullere, M. (2019). Black soldier fly (*Hermetia illucens*) as dietary source for laying quails: Live performance, and egg physico-chemical quality, sensory profile and storage stability. *Animals*, 9(3), 115. <https://doi.org/10.3390/ani9030115>
13. Elahi, U., Wang, J., Ma, Y. B., Wu, S. G., Wu, J., Qi, G. H., & Zhang, H. J. (2020). Evaluation of yellow mealworm meal as a protein feedstuff in the diet of broiler chicks. *Animals*, 10(2), 224. <https://doi.org/10.3390/ani10020224>
14. Fakhraei, J., Loutfollahian, H., Shivazad, M., Chamani, M., & Hoseini, S. A. (2010). Reevaluation of lysine requirement based on performance responses in broiler breeder hens. *African Journal of Agricultural Research*, 5(16), 2137-2142. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.12.003>
15. Finke, M. D. (2002). Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology: Published in Affiliation with the American Zoo and Aquarium Association*, 21(3), 269-285. <https://doi.org/10.1002/zoo.10031>
16. Finke, M. D. (2007). Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biology: Published in Affiliation with the American Zoo and Aquarium Association*, 26(2), 105-115. <https://doi.org/10.1002/zoo.20123>
17. Griminger, P., & Scanes, C. G. (1986). Protein Metabolism. In *Avian Physiology*. pp. 326-344. New York, NY: Springer New York.
18. Huis, A. V., Itterbeeck, J. V., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., & Vantomme, P. (2013). Edible insects: Future prospects for food and feed security. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 171, 1-201.
19. Islam, M. M., & Yang, C. J. (2017). Efficacy of mealworm and super mealworm larvae probiotics as an alternative to antibiotics challenged orally with *Salmonella* and *E. coli* infection in broiler chicks. *Poultry Science*, 96(1), 27-34. <https://doi.org/10.3382/ps/pew220>
20. Jiang, T., Zhao, X., Li, H., Zhang, L., Tang, B., Ding, Y., & Wu, Y. (2024). Effects of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae meal on the growth performance, serum biochemical parameters and caecal metabolome in broiler chicks. *Italian Journal of Animal Science*, 23(1), 813-823. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2024.2350230>
21. Jin, X. H., Heo, P. S., Hong, J. S., Kim, N. J., & Kim, Y. Y. (2016). Supplementation of dried mealworm (*Tenebrio molitor* larva) on growth performance, nutrient digestibility and blood profiles in weaning pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(7), 979. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0535>
22. Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., Zhu, F., & Yang, Q. (2012). Extraction and characterization of chitin from the beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky. *Molecules*, 17(4), 4604-4611. <https://doi.org/10.3390/molecules17044604>
23. Lukanov, H., Atanas Genchev, A., & Todor Petrov, T. (2023). The Egg Production Efficiency Index (EPEI) as an economic indicator for measuring poultry egg production. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 29(4), 747-751.
24. Lumeij, J. T. (1988). Avian Clinical Pathology: Some Experimental Findings of Importance to the Practitioner. In *Proc. Association of Avian Veterinarians*. pp. 79-86.
25. Lumeij, J. T. (2008). Avian Clinical Biochemistry. In: JJ Kaneko, JW Harwey and ML Bruss (Eds). *Clinical*

- Biochemistry of Domestic Animals. Oxford (UK): Elsevier Academic Press; p. 839–872. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.00030-1>
26. Makkar, H. P., Tran, G., Heuzé, V., & Ankers, P. (2014). State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 197, 1-33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>
27. Marono, S., Loponte, R., Lombardi, P., Vassalotti, G., Pero, M. E., Russo, F., Gasco, L., Parisi, G., Piccolo, G., Nizza, S., Di Meo, C., Attia, Y.A., & Bovera, F. (2017). Productive performance and blood profiles of laying hens fed *Hermetia illucens* larvae meal as total replacement of soybean meal from 24 to 45 weeks of age. *Poultry Science*, 96(6), 1783-1790. <https://doi.org/10.3382/ps/pew461>
28. Matson, K. D., Ricklefs, R. E., & Klasing, K. C. (2005). A hemolysis–hemagglutination assay for characterizing constitutive innate humoral immunity in wild and domestic birds. *Developmental & Comparative Immunology*, 29(3), 275-286. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2004.07.006>
29. Mohammadi, S., Torki, M., & Maryam Darbemamieh, M. (2025). Effects of mealworm-based synbiotics on productive performance, egg quality, blood metabolites, and gut health in laying Japanese quails. *Food Science Nutrition*, Nov 26, 13(12), e71281. <https://doi.org/10.1002/fsn3.71281>
30. National Research Council, Life Studies, & Committee on Nutrient Requirements of Swine. (2012). Nutrient Requirements of Swine. T. R. Edition.
31. Ramos-Elorduy, J., González, E. A., Hernández, A. R., & Pino, J. M. (2002). Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. *Journal of Economic Entomology*, 95(1), 214-220. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-95.1.214>
32. Ribeiro, N. T. G. M. (2017). *Tenebrio molitor* for Food or Feed: Rearing Conditions and the Effects of Pesticides on its Performance. Masters Thesis, *Polytechnic Institute of Coimbra*, 1-51.
33. Schiavone, A., Cullere, M., De Marco, M., Meneguz, M., Biasato, I., Bergagna, S., & Dalle Zotte, A. (2017). Partial or total replacement of soybean oil by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) fat in broiler diets: Effect on growth performances, feed-choice, blood traits, carcass characteristics and meat quality. *Italian Journal of Animal Science*, 16(1), 93-100. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1249968>
34. Shariat Zadeh, Z., Kheiri, F., & Faghani, M. (2020). Productive performance, egg-related indices, blood profiles, and interferon- γ gene expression of laying Japanese quails fed on *Tenebrio molitor* larva meal as a replacement for fish meal. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1), 274-281. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1722970>
35. Siemianowska, E., Kosewska, A., Aljewicz, M., Skibniewska, K. A., Polak-Juszczak, L., Jarocki, A., & Jedras, M. (2013). Larvae of mealworm (*Tenebrio molitor* L.) as European novel food. *Agricultural Sciences*, 4(6), 287-291. <https://doi.org/10.4236/as.2013.46041>
36. Stastnik, O., Novotny, J., Roztocilova, A., Kouril, P., Kumbar, V., Cernik, J., Kalhotka, L., Pavlata, L., & Lacina, L. (2021). Safety of mealworm meal in layer diets and their influence on gut morphology. *Animals*, 11(5), 1439. <https://doi.org/10.3390/ani11051439>
37. Tacon, A. G., & Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 285(1-4), 146-158. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.015>
38. Ullah, R., Khan, S., Khan, N. A., Mobashar, M., Sultan, A., Ahmad, N., & Lohakare, J. (2017). Replacement of soybean meal with silkworm meal in the diets of white leghorn layers and effects on performance, apparent total tract digestibility, blood profile and egg quality. *International Journal of Veterinary Health Science Research*, 5(7), 200-207. <https://doi.org/10.19070/2332-2748-1700040>
39. Van Huis, A. (2013). Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annual Review of Entomology*, 58(1), 563-583. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704>
40. Veldkamp, T., Van Duinkerken, G., van Huis, A., Lakemond, C. M. M., Ottevanger, E., Bosch, G., & Van Boekel, T. (2012). Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets: A feasibility study= Insecten als duurzame diervoedergrondstof in varkens-en pluimveevoeders: Een haalbaarheidsstudie (No. 638). Wageningen UR Livestock Research.
41. 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>
42. Zang, Y. T., Bing, S., Zhang, Y. Z., Sheng, X. W., & Shu, D. Q. (2018). Effects of dietary supplementation with earthworm powder on production performance, blood characteristics, and heavy metal residues of broiler pullets. *Journal of Applied Poultry Research*, 27(4), 609-615. <https://doi.org/10.3382/japr/pfy024>

Research Article

Vol. 18, No.1, 2026, p. 121-135



Phylogeny Analysis and Determination of Haplogroups of Different Sheep Breeds Based on the Complete Mitochondrial Genome

Fereshteh Ehsanifar¹, Gholam Reza Dashab^{1*}, Hossein Bazzi¹

1- Department of Animal Science, University of Zabol, Zabol, Iran

*Corresponding Author's Email: dashab@uoz.ac.ir

Received: 21-08-2025

Revised: 27-12-2025

Accepted: 28-12-2025

Available Online: 04-04-2026

How to cite this article:Ehsanifar, F., Dashab, G. R. & Bazzi, H. (2026). Phylogeny analysis and determination of haplogroups of different sheep breeds based on the complete mitochondrial genome. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(1), 121-135. (in Persian with English abstract).<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.95040.1268>

Introduction: Domestic sheep (*Ovis aries*), one of the earliest domesticated animal species, have played a major role in human nutrition and clothing and have expanded to nearly all regions of the world through human migrations. The genetic diversity of domestic sheep is crucial for understanding their domestication history and evolutionary relationships. This study was conducted to investigate the genetic diversity and phylogenetic structure, with particular emphasis on indigenous Iranian breeds.

Materials and Methods: In the present study, a total of 933 mitochondrial genome nucleotide sequences of domestic sheep, representing 202 breeds from 49 countries, were retrieved from the NCBI Genome Database. The dataset was classified into 14 geographical regions. The sequences were aligned using MAFFT v7.526 on the Galaxy v25.0.2 platform with the FFT-NS-2 algorithm. Nucleotide composition, genetic distance, and the number of transition and transversion mutations were calculated using MEGA12 software. Genetic diversity parameters, including nucleotide diversity (π), mean number of nucleotide differences (k), number of haplotypes, polymorphic sites, and total number of mutations, were estimated using DnaSP 6. A phylogenetic tree for the entire dataset was constructed in MEGA12 using the Neighbor-Joining algorithm, the resulting tree was visualized using iTOL v7. Molecular variance analysis was performed using Arlequin 3.5. Neutrality tests to assess nucleotide diversity deviations from the neutral evolution hypothesis and to detect signatures of natural selection (Tajima's D and Fu's F_s) were conducted in DnaSP 6. The obtained haplotypes were matched against the reference genome in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) using BLAST. Haplotype networks for Iranian breeds were constructed using PopART1.7, while NETWORK 4.1 was used for the entire dataset.

Results and Discussion: The results revealed significant haplotype diversity across different regions and Iranian breeds, highlighting patterns of genetic differentiation within and between populations. The mean nucleotide composition indicated an AT-rich sequence. The level of conserved sequences across all samples was 0.861. A total of 686 haplotypes were identified globally, including 57 haplotypes in Iran. The haplotype network, with over 500 unique haplotypes and the predominance of haplogroup B in Europe and Africa, haplogroup A in Asia, confirmed the Fertile Crescent origin and global dispersal. Haplogroup B, with a



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

 <https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.95040.1268>

frequency of 528, was the most prevalent across geographical regions, while haplogroup D, with only 3 occurrences, was the least frequent. The highest haplogroup diversity was observed in geographical regions 2, 3, and 5 (West Asia, Central Asia and East Asia). Haplogroup E was detected in Georgia, China, Afghanistan, and Palestine, while haplogroup D was observed in Turkey and Georgia. Haplogroups A and B were present in all geographical regions. In Iran, the frequencies of haplogroups were 52% for A, 30% for B, and 18% for C. Out of 72 samples, 57 haplotypes were identified, of which 80% were unique. Mitochondrial genome sequences from Iranian local breeds exhibited haplogroups A, B, and C. Haplogroups A and B were observed in Moghani and Maku breeds, A and C in Baluchi and Shirazi Gray breeds, A in Shal breed, and A, B, and C in Afshari and Qaregol breeds. Tajima's D and Fu's Fs statistics were negative in 13 geographical regions, indicating population expansion, particularly in regions with ancient domestication histories. The phylogenetic tree revealed evolutionary relationships between Iranian breeds and global populations. Most studied breeds clustered in closely related branches, suggesting gene flow between different geographical regions and historical admixture. Asian populations exhibited higher haplotype diversity compared to European populations. Molecular variance analysis revealed that the majority of genetic variance (71.53%) occurred within populations, indicating high genetic diversity at the local level. However, 23.68% of the variation was observed among four continental groups, reflecting significant genetic differentiation across continents (Asia, Europe, Africa, and South America). The high statistical significance of these indices confirms the presence of a robust genetic structure and significant differentiation between continents and populations, likely reflecting the influence of geographical, historical, or ecological factors on genetic dispersal.

Conclusion: This study demonstrated that the mitochondrial genetic diversity of domestic sheep has been shaped by the intertwined processes of domestication, human migrations, and subsequent gene flow. A significant genetic structure was observed among geographical regions, with high local diversity primarily attributed to within-population differences. Haplogroup patterns, particularly the predominance of haplogroup B and the geographical distribution of haplogroups A and C, indicate rapid expansion following domestication and the influence of ancient trade routes. These findings underscore the importance of conserving high genetic diversity, particularly in regions like Iran with unexplored genetic potential, and highlight the need for more advanced genomic studies. To preserve the genetic diversity of domestic sheep and sustainably utilize their genetic potential, conservation strategies focused on local populations with high diversity, especially in regions like Iran, should be designed and implemented.

Keyword: Evolution, Genetic diversity, Gene flow, Phylogenetics

تجزیه فیلوژنی و تعیین هاپلوگروه نژادهای مختلف گوسفند براساس ژنوم کامل میتوکندریایی

فرشته احسانی فرا^۱، غلامرضا داشاب^{۱*} و حسین بزی^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۷

چکیده

تنوع ژنتیکی گوسفندان اهلی (*Ovis aries*) نقش مهمی در درک تاریخچه اهلی سازی و روابط تکاملی آن ها دارد. هدف این مطالعه، بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار فیلوژنی، توالی های کامل میتوکندریایی ۹۳۳ نمونه از ۴۹ کشور جهان، با تأکید ویژه بر نژادهای بومی ایران بود. هم ترازوی و رسم درخت فیلوژنی به روش اتصال-همسایگی به وسیله نرم افزار MEGA12 انجام شد. تنوع نوکلئوتیدی، هاپلوئیدی و جایگاه های چندشکلی و انواع جهش ها توسط نرم افزار DNAsp نسخه ۶ و تجزیه واریانس مولکولی به وسیله ARLIQUIN3.5 محاسبه گردید. برای رسم شبکه هاپلوگروهی از popART1.7 و NETWORK4.163 استفاده شد. داده ها از طریق شناسایی هاپلوטיפ ها، ترسیم شبکه های هاپلوטיפی، تحلیل های آماری (تاجیما Fu's F_D و AMOVA) و ساخت درخت فیلوژنی بررسی گردید. میزان توالی حفاظت شده در کل ۰/۸۶۱ بود. تعداد ۶۸۶ هاپلوטיפ در کل (بیش از ۵۰۰ هاپلوטיפ منحصر به فرد) و ۵۷ هاپلوטיפ در ایران شناسایی شدند. غلبه هاپلوگروه A در آسیا و B در اروپا منشأ هلال حاصلخیز و پراکندگی جهانی را تأیید کرد. تجزیه واریانس مولکولی ۲۳/۶۸ درصد از تنوع بین قاره ها، ۴/۷۹ درصد بین جمعیت ها در قاره ها و ۷۱/۵۳ درصد درون جمعیت ها را نشان داد. نژادهای ایرانی در هاپلوگروه های A، B و C گروه بندی شدند. آماره های تاجیما Fu's F_D و Fu's F_D در ۱۳ منطقه جغرافیایی منفی به دست آمد که گسترش جمعیتی را به ویژه در مناطق با تاریخچه اهلی سازی باستانی نشان داد. جمعیت های آسیایی تنوع هاپلوטיפی بالاتری نسبت به جمعیت های اروپایی داشتند. این یافته ها نقش اهلی سازی، مهاجرت و انتخاب را در شکل دهی تنوع ژنتیکی گوسفندان روشن کرده و بر اهمیت حفاظت از تنوع و مطالعات ژنومی تکمیلی تأکید دارد.

واژه های کلیدی: تکامل، تنوع ژنتیکی، جریان ژنی، گوسفندان اهلی

مقدمه

امروزی، عراق، شرق ترکیه و بخش هایی از شام اهلی شدند (Lv et al., 2015; Wanjala et al., 2021; Koshkina et al., 2023). پراکنش گوسفندان اهلی همراه با مهاجرت های انسانی رخ داده است. دو مسیر اصلی در پراکنش نژادهای گوسفند در دنیا گزارش شده است یکی از طریق دریای مدیترانه و دره دانوب که به اروپا رسیدند و دیگری از طریق قفقاز و استپ های روسیه به شمال و جنوب غربی چین، فلات مغولستان و شبه قاره هند گسترش یافتند. گسترش گوسفندان در اروپا، ابتدا از شمال ایتالیا و جنوب فرانسه شروع شده و سپس به بخش های اروپای مرکزی و شمالی کشیده شدند (Koshkina et al., 2023).

ژنوم میتوکندریایی، ابزاری ضروری در مطالعات ژنتیک تکاملی و ژنتیک جمعیت محسوب می شود که دارای چندین ویژگی مطلوب شامل تعداد و مقدار فراوان در سلول، اندازه کوچک ژنوم، حالت هاپلوئید، وراثت مادری، نرخ جهش بالاتر نسبت به DNA هسته ای و

گوسفندان اهلی^۲ از نخستین حیوانات اهلی شده به شمار می روند و نقش کلیدی در تأمین غذا، پوشاک و مواد خام جوامع بشری ایفا کرده اند. براساس آمار FAO، جمعیت گوسفندان اهلی در جهان در سال ۲۰۲۱ بالغ بر ۱/۲۸۴ میلیارد رأس بوده و تا سال ۲۰۲۲ تعداد ۱۳۸۴ نژاد مختلف گوسفند شناسایی شده است (FAO, 2023). اکثر این نژادها از اورپال آسیایی^۳ منشأ گرفته اند که حدود ۸ تا ۱۱ هزار سال پیش در منطقه هلال حاصلخیز، به ویژه کوه های زاگرس (ایران

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

(Email: dashab@uoz.ac.ir)

*) نویسنده مسئول:

<https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.95040.1268>2- *Ovis aries*3- *Ovis orientalis*

ردیابی هاپلو تیپ‌ها، محاسبه شبکه‌های هاپلوگرومی، ارزیابی تنوع ژنتیکی از طریق تحلیل‌های آماری (تاجیما D و AMOVA) و ترسیم درخت فیلوژنتیک برای بررسی روابط تکاملی و الگوهای مهاجرت جمعیت‌های گوسفندی در سطح جهانی و نژادهای بومی ایران بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، از مجموع ۱۰۰۰ توالی کامل ژنوم میتوکندری گوسفندان اهلی که در ابتدا از بانک اطلاعاتی ژنوم (GenBank) NCBI استخراج شدند، پس از اعمال معیارهای کنترل کیفی، ۹۳۳ توالی نهایی مربوط به ۲۰۲ نژاد و ۴۹ کشور انتخاب گردید. معیارهای حذف شامل موارد زیر بودند:

الف- توالی‌های ناقص یا فاقد پوشش کامل منطقه کنترلی (D-loop) و ژن‌های کدکننده،

ب- توالی‌های با کیفیت پایین (Phred score <30) یا حاوی تعداد زیادی نوکلئوتید مبهم (N) یا گپ،

ج- توالی‌های تکراری از یک نژاد یکسان،

د- توالی‌های هیبرید یا دارای آلودگی آشکار (تأییدشده با BLAST و درخت فیلوژنتیکی مقدماتی)،

ه- نمونه‌های فاقد اطلاعات دقیق جغرافیایی یا نژادی.

این فرآیند ارزیابی کیفی، مجموعه داده‌ای یکدست، با کیفیت بسیار بالا و عاری از خطای نمونه‌گیری ایجاد کرد که نماینده واقعی تنوع جهانی گوسفندان اهلی دنیا باشند و قابلیت اطمینان نتایج فیلوژنتیکی و تحلیل‌های جمعیتی بعدی را به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش دهد. داده‌ها به ۱۴ منطقه جغرافیایی تقسیم‌بندی شدند (جدول ۱). تقسیم‌بندی مناطق جغرافیایی در جدول ۱ براساس ترکیبی از معیارهای جغرافیایی-زیستی استاندارد، طبقه‌بندی‌های پذیرفته‌شده در مقالات مرجع تنوع ژنتیکی گوسفند، موقعیت جغرافیایی واقعی مراکز اصلی اهلی‌سازی و مسیرهای تاریخی مهاجرت گوسفندان با محوریت جداگانه برای ایران انجام شده است.

توالی‌های مذکور به‌منظور دستیابی به نواحی مشترک با استفاده از ابزار MAFFT7.526 (Katoh & Standley, 2013) در پلتفرم Galaxy25.0.2 (Afgan et al., 2022) به‌وسیله الگوریتم-FFT NS-2 هم‌تراز شدند. ویرایش توالی هم‌تراز شده، محاسبه فراوانی نوکلئوتیدی، فاصله ژنتیکی، تعداد جهش‌های انتقالی^۲ و تقاطعی^۳، به‌وسیله نرم‌افزار MEGA نسخه ۱۲ (Kumar et al., 2024) انجام شد. برای به‌دست آوردن نسبت تبدیل انتقالی/تقاطع (R) از معادله ۱ استفاده شد.

نرخ پایین نوترکیبی می‌باشد. همه این ویژگی‌ها، ژنوم میتوکندری را به نشانگری سودمند و یکی از پرکاربردترین نشانگرها در ژنتیک مولکولی تبدیل کرده است و معمولاً از آن برای تعیین ساختار جمعیت، تنوع ژنتیکی، تکامل جمعیت و مطالعات فیلوژنی جانوران استفاده می‌شود (Nikbaksh et al., 2022; Jalilian Majd et al., 2023).

مطالعات متعددی برای ردیابی دودمان مادری، ایجاد روابط فیلوژنتیکی و بررسی ساختار و تنوع جمعیت براساس حلقه D و ژن CytB انجام شده است (Koshkina et al., 2023). تحلیل‌های گذشته روی توالی میتوکندریایی گوسفندان نشان داده که همه گوسفندان اهلی دنیا به پنج هاپلوگروه اصلی مادری تقسیم می‌شوند که با حروف A، B، C، D و E نام‌گذاری شده‌اند (Ilmira et al., 2018; Meadows et al., 2011; Kandoussi et al., 2020; et al., 2015). برخی از آن‌ها دارای محدوده جغرافیایی خاصی هستند و دلالت بر خاستگاه‌های مادری متعدد و احتمالاً رویدادهای اهلی‌سازی مستقل در گوسفندان دارند (Lv et al., 2015). در آسیا هاپلوگروه‌های A و B و در اروپا هاپلوگروه B غالب است. هاپلوگروه C با تنوع ژنتیکی بیشتری نسبت به A و B مشخص می‌شود. این هاپلوگروه در پرتغال، قفقاز، خاورمیانه و آسیا یافت می‌شود. هاپلوگروه D نزدیک‌ترین هاپلوگروه به کوچ کوهی^۱ است (Koshkina et al., 2023) که با هاپلوگروه A مرتبط است و در گوسفندان کراچی، رومانیایی و قفقازی وجود دارد. هاپلوگروه E در خاورمیانه، سوریه، فلسطین و ترکیه یافت می‌شود. به‌طور کلی، هاپلوگروه‌های D و E نادرترین هاپلوگروه‌ها هستند که فقط در گوسفندان ترکیه، قفقاز، اروپا، تبت و ایران شناسایی شده‌اند. این هاپلوگروه‌ها احتمالاً از ۵ تا ۳۵ هزار سال پیش تشکیل شده‌اند (Koshkina et al., 2023; Wanjala et al., 2021; Ilmira et al., 2018; Meadows et al., 2020).

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی روشی است که با بررسی جهش‌های نقطه‌ای، حذف و اضافه‌ها و آرایش‌های مجدد، چگونگی تکامل، جدایی و خویشاوندی بین افراد یا جمعیت‌های یک گونه را نشان می‌دهد (Kalaydzhev et al., 2023). تنوع ژنتیکی برای تکامل یک جمعیت یا گونه در صورت تغییرات در شرایط آب‌وهوایی یا محیطی و همچنین افزایش سازگاری حیوانات در شرایط محیطی موجود ضروری است (Wanjala et al., 2021). یک مطالعه جامع از کل ژنوم میتوکندریایی امکان رمزگشایی از رویدادهای تکاملی که در طول مهاجرت جمعیت‌های گوسفندان اهلی در طول تاریخ اهلی‌سازی آن‌ها در ایران و سایر کشورها رخ داده است، فراهم می‌کند. هدف این تحقیق، تحلیل توالی‌های کامل میتوکندری ۹۳۳ نمونه از گوسفندان اهلی از ۴۹ کشور با تأکید ویژه بر نژادهای ایرانی، به‌منظور شناسایی و

2- Transition

3- Transversion

1- Ovis gmelini anatolica Valenciennes

جدول ۱- مناطق جغرافیایی، نژادها و کشورهای دارای گوسفندان اهلی استخراجی از پایگاه اطلاعاتی NCBI
Table 1- Geographical regions, breeds and countries with domestic sheep extracted from the NCBI database

منطقه Region	منطقه جغرافیایی Geographical area	نام کشورها Names of countries	تعداد نمونه Number of samples	تعداد نژاد Breed number
1	آسیای مرکزی Central Asia	ایران Iran	72	9
2	غرب آسیا West Asia	کردستان عراق، عراق، فلسطین، ترکیه Iraqi Kurdistan, Iraq, Palestine, Türkiye	29	9
3	آسیای مرکزی Central Asia	افغانستان، قزاقستان، آذربایجان، گرجستان، ازبکستان Afghanistan, Kazakhstan, Azerbaijan, Georgia, Uzbekistan	38	8
4	جنوب آسیا South Asia	هند، پاکستان، نپال، سریلانکا، اردن India, Pakistan, Nepal, Sri Lanka, Jordan	122	28
5	شرق آسیا East Asia	چین، مغولستان China, Mongolia	172	41
6	شمال اروپا Northern Europe	نروژ، سوئد، فنلاند، ایسلند Norway, Sweden, Finland, Iceland	65	13
7	جزایر بریتانیا British Isles	ایرلند، اسکاتلند، انگلیس، ولز Ireland, Scotland, England, Wales	32	12
8	غرب اروپا Western Europe	آلمان، هلند، فرانسه، اسپانیا، جمهوری چک، سوئیس Germany, Netherlands, France, Spain, Czech Republic, Switzerland	95	19
9	جنوب و شرق اروپا Eastern and Southern Europe	ایتالیا، رومانی، صربستان، کرواسی، لهستان Italy, Romania, Serbia, Croatia, Poland	57	15
10	شمال و شرق آفریقا East and North Africa	مصر، لیبی، اتیوپی، چاد، مراکش Egypt, Libya, Ethiopia, Chad, Morocco	91	16
11	جنوب و غرب آفریقا West and South Africa	نیجریه، بورکینافاسو، بنین Nigeria, Burkina Faso, Benin	36	6
12	شمال آسیا North Asia	روسیه، اوکراین Russia, Ukraine	107	19
13	اقیانوسیه Oceania	استرالیا، اندونزی Australia, Indonesia	6	4
14	آمریکای جنوبی South America	برزیل Brazil	11	4

که در آن، X: فراوانی هاپلوتیپی از هر هاپلوتیپ در نمونه و n: اندازه نمونه است. ضریب تمایز ژنتیکی براساس معادله ۳ محاسبه گردید.

$$F_{ST} = \frac{F_B - F_W}{F_W} \quad \text{معادله (۳)}$$

که در آن، F_{ST} : شاخص تثبیت ژنتیکی، F_B : میانگین تفاوت‌های بین دو فرد در جمعیت‌های مختلف و F_W : میانگین تفاوت‌های بین دو فرد در درون یک جمعیت می‌باشد (Manesh et al., 2022).

درخت فیلوژنتیکی کل جمعیت (۹۳۳ توالی کامل میتوکندری) با استفاده از الگوریتم اتصال-همسایگی^۱ (NJ) در نرم‌افزار MEGA نسخه ۱۲ ترسیم شد. برای بهبود زیبایی‌شناسی و افزودن اطلاعات تکمیلی (نژاد، کشور و هاپلوگروه)، درخت نهایی در پلتفرم آنالین

$$R = \frac{[A \times G \times K_1 + T \times C \times K_2]}{[(A + G) \times (T + C)]} \quad \text{معادله (۱)}$$

که در آن، K_1 : نسبت انتقال برای پورین‌ها و K_2 : برای پیریمیدین‌ها است. برای محاسبه فراسنجه‌های تنوع ژنتیکی شامل تعداد جایگاه‌های چندشکلی (S)، میانگین تعداد تفاوت‌های نوکلئوتیدی (K)، تعداد هاپلوتیپ‌ها (H)، تنوع هاپلوتیپی (Hd) و تعداد کل جهش‌ها (Eta) از نرم‌افزار DNAsp نسخه ۶ استفاده شد (Rozas et al., 2017) تنوع هاپلوتیپی مطابق با معادله ۲ محاسبه شد.

$$H = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^n X_i^2 \right) \quad \text{معادله (۲)}$$

نتایج و بحث

نتایج حاصل از درصد جایگزینی توالی نوکلئوتیدی ژنوم کامل میتوکندریایی گوسفندان اهلی در (جدول ۲) ارائه شده است. احتمال جایگزینی نوکلئوتیدی هر باز براساس مدل تامورا-ئی محاسبه شده است. بالاترین مقادیر مشاهده شده مربوط به جایگزینی انتقالی بین پورین‌ها یا پیریمیدین‌ها بود. نرخ جایگزینی تقاطعی پایین‌تر و بین ۰/۲۲ تا ۰/۵۷ درصد مشاهده شد. مقادیر K_1 ، K_2 و R به ترتیب ۵۶/۲۱۶، ۵۷/۴۹۳ و ۲۶/۳۰۸ به دست آمد. انحراف بالای R و عدم تقارن در نرخ جایگزینی منعکس کننده عواملی مانند انحرافات جهشی، سازوکار ترمیم ژنوم یا فشار انتخاب است. فراوانی نسبی آدنین، تیمین، سیتوزین، و گوانین به ترتیب ۳۳/۶۶، ۲۷/۳۶، ۲۵/۹۰ و ۱۳/۰۸ درصد بودند. نسبت $A+T$ در طول توالی‌ها برابر ۶۱/۰۲ درصد بود که نشان‌دهنده غالب بودن این دو باز است. این نسبت با یافته‌های برخی از محققان مطابقت داشت (Hu & Gao, 2016; Qiao et al., 2020).

ناحیه کنترل (D-loop) در فرآیند تکثیر و رونویسی mtDNA نقش کلیدی دارد و به عنوان ناحیه غنی از AT نیز شناخته می‌شود. ژنوم میتوکندریایی نسبت به هسته معمولاً دارای نسبت $A+T$ بالاتری است. این به دلیل فشارهای تکاملی و کارایی بالاتر در همانندسازی و رونویسی ژنوم میتوکندریایی است. توالی غنی از GC بیشتر مستعد جهش است. نسبت بیشتر $A+T$ سبب پایداری بیشتر DNA می‌شود (Vinogradov & Anatskaya, 2017).

نواحی حفاظت‌شده، بخش‌هایی از ژنوم هستند که در طول تکامل تحت فشار قوی انتخاب تصفیه‌کننده (purifying selection) یا (negative selection) قرار داشته‌اند. این امر به این معناست که جهش‌های عملکردی (به ویژه جهش‌های غیرهم‌معنی یا جهش‌های تنظیم‌کننده بیان که باعث تغییر عملکرد ژن یا پروتئین می‌شوند) معمولاً با کاهش قابل توجه برازندگی (fitness) همراه بوده و در نتیجه به‌طور مؤثر توسط انتخاب طبیعی از جمعیت حذف شده‌اند (Wanjala et al., 2021).

سطح حفاظت، اهمیت یک بخش از DNA را ارائه می‌دهد. مناطق کدکننده ژن‌ها با عملکردهای اساسی بین گونه‌هایی دور از هم حفظ شده‌اند. نتایج حاصل از تجزیه نواحی حفاظت‌شده ۴۴ ناحیه با میزان حفاظت توالی برابر با ۰/۸۶۱ را نشان داد. بسیاری از متخصصان ژنتیک جمعیت از چندشکلی‌های DNA برای مطالعه ساختار ژنتیکی واقعی و روابط گونه‌های دام، درون و بین جمعیت‌ها استفاده کرده‌اند (Wanjala et al., 2021). تعداد جایگاه‌های چندشکل وابسته به تعداد نمونه است، لذا از فراسنجه تنوع نوکلئوتیدی یا هتروزیگوسیتی در سطح نوکلئوتید استفاده می‌شود که به طول DNA و تعداد نمونه بستگی ندارد و بیانگر میانگین تفاوت

ITOL7 (Letunic & Bork, 2024) بازسازی و تصویرسازی گردید. ^۱در الگوریتم NJ، تلاش بر حداقل کردن طول شاخه‌های داخلی و سپس طول کل درخت است. این روش را می‌توان کاربرد پارسیمونی در داده‌های فاصله‌ای در نظر گرفت. الگوریتم NJ بر مبنای الگوهای تکاملی آماری مشخص برای نوسازی درخت‌های تکاملی است. در این روش از ماتریس (Q) که شامل کل شاخه‌ها است، استفاده می‌شود و سپس کمترین مقدار که نشان از بالا بودن شباهت شاخه دارد، انتخاب می‌شوند و در یک انشعاب از درخت فیلوژنی به کار می‌روند.

$$Q_{(i,j)} = (r-2)d_{(i,j)} - \sum d_{(i,T)} - \sum d_{(j,T)} \quad \text{معادله (۴)}$$

که در آن، $d_{(i,j)}$: فاصله بین شاخه i و j ، T : شاخه AM درخت، r : تعداد کل شاخه‌ها و $Q_{(i,j)}$: مقدار عددی شاخه‌های i و j هستند (Asghari & Dashab, 2018).

از روش حداکثر درست‌نمایی ترکیبی ^۲ و مدل تامورا-ئی ^۳ (Tamura et al., 2004; Kumar et al., 2024) برای محاسبه میزان جایگزینی نوکلئوتیدها در نرم‌افزار (MEGA12 استفاده شد. تجزیه واریانس مولکولی ^۴ با مدل فاصله‌ای تاجیما و نئی برای ارزیابی تمایز بین و درون جمعیت‌ها با نرم‌افزار Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010) انجام گردید. تحلیل خنثی بودن برای بررسی تنوع نوکلئوتیدی حاصل از مشاهدات و انحراف از فرضیه صفر تکامل خنثی و شناسایی اثرات انتخاب طبیعی (تاجیما D^5 و F_s Fu's) در DNAsp نسخه ۶ انجام شد.

برای تعیین هاپلوگروه جمعیت گوسفندان اهلی مورد مطالعه، تمام هاپلوگروه‌های به‌دست‌آمده با استفاده از ابزار BLASTn در پایگاه NCBI با توالی کامل ژنوم میتوکندری مرجع گوسفند اهلی (Ovis aries) دارای کد دسترسی NC_001941.1 تطبیق داده شدند. این توالی مرجع به عنوان استاندارد جهانی برای تعیین هاپلوگروه‌های میتوکندریایی گوسفند (A, B, C, D و E) پذیرفته شده و در مطالعات متعدد پیشین نیز مورد استفاده قرار گرفته است. هاپلوگروه هر توالی براساس الگوهای جهش‌های شناخته‌شده در منطقه کنترلی (D-loop) و ژن‌های کدکننده نسبت به این ژنوم مرجع تعیین گردید. ترسیم شبکه هاپلوگروه‌ها برای کل جمعیت توسط نرم‌افزار NETWORK نسخه 4.1 و برای جمعیت ایران شبکه اتصال-میانه ^۶ در نرم‌افزار PopART1.7 (Leigh et al., 2015) ترسیم شد.

- 1- Neighbor joining tree
- 2- Maximum composite likelihood
- 3- Tamura-nei
- 4- AMOVA
- 5- Tajima's D
- 6- Median-joining

نوکلئوتیدی در هر جایگاه در مقایسه‌های جفتی بین توالی‌های DNA تعریف می‌شود (De Jong et al., 2011).

نوکلئوتیدی در هر جایگاه است (Asghari & Dashab, 2018). تنوع هاپلوتیپی (که به‌عنوان تنوع ژنی نیز شناخته می‌شود) نشان‌دهنده احتمال متفاوت بودن دو آلل نمونه‌برداری شده تصادفی است، درحالی‌که تنوع نوکلئوتیدی به‌عنوان میانگین تعداد تفاوت‌های

جدول ۲- فراوانی جایگزینی نوکلئوتیدها در ژنوم میتوکندریایی در نژادهای مختلف گوسفندان اهلی

Table 2- Maximum composite likelihood estimate of the pattern of nucleotide substitution in different breeds of domestic sheep

	A	T	C	G
A	-	0.46	0.44	12.49
T	0.57	-	25.28	0.22
C	0.57	26.71	-	0.22
G	32.13	0.46	0.44	-

احتمال جایگزینی هر ورودی از یک ردیف به ستون دیگر است. در این جدول، درصد جهش‌های انتقالی به‌صورت ضخیم و جهش تقاطعی به‌صورت معمولی نشان داده شده‌اند. الگوی جایگزینی تحت مدل تامورا-نتی و با استفاده از روش آماری حداکثر درست‌نمایی ترکیبی برآورد شدند. (A, T, C و G به ترتیب بازهای آدنین، تیمین، سیتوزین و گوانین هستند)

The probability of substitution is of each entry from one row to another column. In this table, the percentage of transitional substitution is shown in **bold** and transversional substitution in *italic* text. The substitution pattern was estimated under the Tamura-Netti model using the combined maximum likelihood statistical method. (A, T, C and G are the Adenine, Thymine, Cytosine and Guanine bases, respectively)

۱۲۳ جایگاه چندشکلی نشان داد. تنوع هاپلوتیپی، تنوع نوکلئوتیدی و میانگین تعداد تفاوت‌های نوکلئوتیدی به‌ترتیب 0.003 ± 0.996 ، 0.001 ± 0.372 و $25/23$ گزارش شدند (Rafia & Tarang, 2016).

تحلیل نتایج آزمون‌های تاجیما Fu and Li's D و Fu and Li's F نشان‌دهنده الگوهای تکاملی متنوعی در جمعیت‌های مورد مطالعه است (جدول ۴). آزمون تاجیما D برای تمایز بین توالی‌های در حال تکامل خنثی و توالی‌هایی که تحت انتخاب جهت‌دار تکامل یافته‌اند، نشان می‌دهد. مقادیر منفی نشان‌دهنده انتخاب مثبت و مقادیر مثبت بیانگر انتخاب متعادل کننده یا کاهش اندازه جمعیت هستند. این آزمون از فراوانی جایگاه‌های نوکلئوتیدی در حال تفکیک استفاده می‌کند (Wanjala et al., 2021). نتایج نشان داد که مقادیر D در مناطق مختلف به‌طور قابل توجهی متفاوت است و می‌تواند به فرآیندهای تکاملی و انتخابی اشاره کند. در ناحیه ۴، ۷ و ۱۱ مقادیر D منفی و در سطح پنج درصد معنی‌دار بودند ($P < 0.05$) که ممکن است نشان‌دهنده انبساط جمعیتی اخیر، انتخاب مثبت (انتخاب جهت‌دار)، یا جاروب انتخابی^۱ باشد (De Jong et al., 2011). این الگوها می‌توانند نتیجه افزایش اندازه جمعیت یا تطابق ژنتیکی با شرایط محیطی خاص در این مناطق باشد. همچنین در برخی نواحی، D منفی در سطح یک درصد معنی‌دار بود، که شدت بیشتری از انحراف از تعادل تکاملی را نشان می‌دهد و احتمالاً به رویدادهای تکاملی شدیدتر مانند بطالت جمعیتی یا گلوگاه ژنتیکی اشاره دارد (De Jong et al., 2011). در مقابل، ناحیه ۱۳ با مقدار D مثبت، اما غیرمعنی‌دار ($P > 0.05$) مشاهده شد، که می‌تواند نشان‌دهنده وجود

در بررسی چندشکلی، تعداد ۱۷۲۹ جایگاه و ۶۸۶ هاپلوتیپ شناسایی شدند. نتایج تحلیل جدول ۳ نشان می‌دهند که تنوع هاپلوتیپی در محدوده $0.982/0$ تا $0.994/0$ تغییر می‌کند که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه در میان جمعیت‌ها است، درحالی‌که تنوع نوکلئوتیدی در دامنه $0.0105/0$ تا $0.0546/0$ نشان‌دهنده نرخ پایین‌تر تغییرات نوکلئوتیدی است. بیشترین تنوع در ناحیه جغرافیایی ۵ و کمترین در ناحیه ۱۴ مشاهده شد که ممکن است ناشی از کاهش تنوع ژنتیکی یا فشار انتخاب طبیعی باشد. منطقه ۱ (ایران) با تعداد مکان‌های چندشکلی ($S=360$)، هاپلوتیپ ($H=57$)، تفاوت نوکلئوتیدی ($K=62.353$) و تنوع هاپلوتیپ بالا ($Hd=0.994$) به‌عنوان منطقه‌ای با تنوع ژنتیکی بالا شناسایی شد. این نتایج بیانگر تأثیر عوامل جغرافیایی و تکاملی بر الگوی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مورد مطالعه است. این الگوها ممکن است به انتخاب طبیعی، مهاجرت یا انزوای ژنتیکی در مناطق جغرافیایی مختلف مرتبط باشد.

در بررسی تنوع ناحیه کنترل ژنوم میتوکندریایی برای درک روابط فیلوژنتیکی و جمعیت‌شناسی نژادهای اهلی گوسفند آفریقایی ۲۷۲ هاپلوتیپ، با ۲۰۷ مورد منحصربه‌فرد گزارش شد. تعداد جایگاه‌های چندشکلی، تنوع نوکلئوتیدی و هاپلوتیپی بالا گزارش شد (به‌ترتیب $0.284/0$ ، $0.12/0$ و $0.993/0 \pm 0.002$) (Wanjala et al., 2021).

در تحقیق تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی نژادهای گوسفندان بومی روسیه براساس توالی‌های ژنوم میتوکندریایی، تنوع هاپلوتیپی $0.999/0$ و تنوع نوکلئوتیدی $0.378/0$ گزارش شد (Koshkina et al., 2023). در تحقیق روی ۱۰ نژاد از گوسفندان ایرانی، ۷۴ هاپلوتیپ و

قوی است. این نتایج با پراکندگی جهانی نمونه‌های ایرانی (مشاهده‌شده در درخت فیلوژنتیک) هم‌راستا است و ممکن است انعکاسی از مهاجرت تاریخی یا تبادل ژن بین جمعیت‌ها باشد (De Jong *et al.*, 2011).

تعادل جمعیتی یا تنوع ژنتیکی پایدار باشد، هرچند عدم معنی‌داری آماری ممکن است به دلیل نمونه‌برداری محدود یا تنوع پایین نوکلئوتیدی باشد. نواحی ۱۴، ۱۲، ۹، ۵، ۳، ۲ و ۱ نیز با D منفی غیرمعنی‌دار مواجه بود که احتمالاً نشان‌دهنده عدم وجود فشار انتخابی

جدول ۳- شاخص‌های تنوع ژنتیکی توالی نوکلئوتیدی در بین مناطق جغرافیایی مختلف دنیا

Table 3- Nucleotide sequence genetic diversity indices among different geographical regions of the world

منطقه Region	شاخص‌های تنوع ژنتیکی توالی نوکلئوتیدی ^۱ Nucleotide sequence genetic diversity indices ¹					
	S	H	Hd	Pi	Eta	K
1	360	57	0.994	0.00406	0.00488	62.353
2	381	28	0.998	0.00546	0.00623	85.229
3	311	31	0.990	0.00402	0.00473	63.104
4	430	92	0.994	0.00185	0.00516	28.974
5	646	146	0.997	0.00389	0.00726	61.050
6	267	35	0.982	0.00126	0.00360	20.462
7	223	27	0.990	0.00169	0.00352	26.651
8	286	59	0.985	0.00105	0.00350	16.436
9	286	40	0.985	0.00264	0.00383	42.634
10	397	74	0.996	0.00110	0.00487	17.642
11	125	26	0.983	0.00084	0.00189	13.559
12	585	95	0.998	0.00342	0.00704	54.624
13	116	6	1.000	0.00377	0.00311	61.533
14	41	10	0.982	0.00079	0.00085	12.945

^۱ S: تعداد جایگاه چندشکلی، H: تعداد هاپلوتیپ، Hd: تنوع نوکلئوتیدی، Eta: تعداد جهش‌ها، K: تفاوت نوکلئوتیدها بین جمعیت.

¹ S: Number of polymorphic loci, H: Number of haplotypes, Hd: Haplotypic diversity, Pi: Nucleotide diversity, Eta: Total number of mutations, K: Nucleotide difference between populations

توانند نشان‌دهنده تعادل یا ناکافی بودن داده‌ها باشند. علاوه بر این، مقادیر منفی قابل توجه نشان می‌دهد که جمعیت دارای هاپلوتیپ‌های نادر بیش از حد انتظار در حالت خنثی است (De Jong *et al.*, 2011). مقادیر مثبت آن نشان‌دهنده رانش ژنی، تنگنای ژنی و یا اثرات متعادل‌کننده در طول تاریخ تکاملی جمعیت است.

تجزیه واریانس مولکولی به عنوان یک روش تجزیه آماری در محاسبه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت‌ها و میزان تمایز درون جمعیت‌ها محسوب می‌شود (Shariat *et al.*, 2019). نتایج براساس ۱۰۲۳ جهش نشان می‌دهد که اکثریت واریانس ژنتیکی (۷۱٪/۵۳) در سطح درون جمعیت‌ها رخ داده که بیانگر تنوع بالای ژنتیکی در سطح محلی است (جدول ۵). با این حال، ۲۳/۶۸ درصد تنوع میان چهار گروه اصلی، نشان‌دهنده تفاوت ژنتیکی قابل توجه میان قاره‌ها (آسیا، اروپا، آفریقا، و آمریکای جنوبی) است. معناداری آماری بالای این شاخص‌ها ($P < 0.001$) تأییدکننده وجود ساختار ژنتیکی قوی و تمایز معنادار بین قاره‌ها و جمعیت‌ها است که احتمالاً منعکس‌کننده اثرات عوامل جغرافیایی، تاریخی یا بوم‌شناختی بر پراکندگی ژنتیکی است (Sharma *et al.*, 2020).

نتایج آزمون‌های F_s و F_u هم تأییدکننده نتایج فوق هستند. در گوسفندان اهلی روسیه D تاجیما در تمام جمعیت‌های گوسفند نزدیک به صفر و از نظر آماری ناچیز بود، که نشان می‌دهد تکامل دودمان‌های مادری نسبتاً تصادفی بوده است (Koshkina *et al.*, 2023). با این حال، مقادیر بالای F_s و F_u منفی (-۱۰.۵۷۲^{**} ؛ -۸.۹۸۷^{**}) در چندین گروه گزارش شد که نشان‌دهنده گسترش جمعیت است (Koshkina *et al.*, 2023). نتایج مشابهی در گوسفندان هندی (تاجیما $D = -۲/۱$ ؛ $-۰/۹۷$ ؛ F_u و $F_s = -۲۶/۱۲$ ؛ $-۲۵/۶۶$) (Sharma *et al.*, 2020) و در گوسفندان آفریقایی (تاجیما $D = -۰/۹۲۱$ ؛ $-۳/۱۷۵$ ؛ F_u و $F_s = -۲۴/۰۰۳$ ؛ $-۱۰/۱۲۶$) گزارش شد (Wanjala *et al.*, 2021). بررسی گوسفندان صحرایی سودان برای تاجیما D و F_u و F_s مقادیر منفی معنی‌داری را نشان داد (Salim *et al.*, 2023) و همچنین برای گوسفندان تبتی مقادیر منفی قابل توجه و بزرگی گزارش گردید (Liu *et al.*, 2018).

به طور کلی، الگوهای مشاهده‌شده در آزمون تاجیما نشان‌دهنده تنوع تکاملی در جمعیت‌های گوسفندان در مناطق مختلف است. مقادیر منفی معنی‌دار ممکن است به انبساط جمعیتی یا انتخاب طبیعی اشاره کنند، در حالی که مقادیر مثبت یا منفی غیرمعنی‌دار می

جدول ۴- آزمون های F و آزمون تاجیما D در مناطق جغرافیایی مختلف دنیا
Table 4- Fus F test and Tajima D test in geographical regions of world

منطقه	آزمون های F و آزمون تاجیما D در مناطق جغرافیایی مختلف دنیا		
Region	Fu and Li's D (FLD)	Fu and Li's F (FLF)	Tajima's D
1	-2.02	-1.72	-0.58
2	-0.78	-0.81	-0.48
3	-1.08	-1.07	-0.56
4	-2.93*	-3.07**	-2.13*
5	-5.97**	-4.51**	-1.50
6	-3.88**	-3.93**	-2.33**
7	-1.61	-2.07	-1.99*
8	-2.72*	-3.06**	-2.34**
9	-1.12	-1.34	-1.11
10	-3.94**	-4.06**	-2.64**
11	-2.22	-2.58*	-2.06*
12	-3.89**	-3.50**	-1.73
13	0.95	1.14	1.36
14	-0.90	-0.86	-0.35

*: معنی داری در سطح پنج درصد، **: معنی داری در سطح یک درصد
*Significant at the 5% level, **Significant at the 1% level

درصد واریانس ژنتیکی بین گروه ها و ۴۵/۳۰ درصد درون جمعیت ها گزارش گردید (Wanjala et al., 2021). در بررسی تنوع توالی در ناحیه D-loop ژنوم میتوکندریایی ۱۰ نژاد گوسفند بومی ایران، تحلیل واریانس مولکولی نشان داد که ۳/۴۳ درصد از تنوع در بین جمعیت ها و ۹۶/۵۷ درصد تنوع در داخل جمعیت ها یافت شد (Rafia & Tarang, 2016).

در مطالعه نژادهای گوسفندان بومی روسیه، اکثریت واریانس ژنتیکی درون گروه ها (۷۷/۸۷ درصد) و تفاوت بین جمعیت های مورد مطالعه ۲۲/۱۳ درصد گزارش شد (Koshkina et al., 2023). در بررسی هاپلوتیپ و تنوع ژنتیکی ژنوم میتوکندریایی در گوسفندان بومی ایران، ۹۷ درصد تنوع درون نژادها و ۳ درصد بین نژادها گزارش شد (Moradi et al., 2017). در نژادهای اهلی آفریقایی، ۵۴/۶۹

جدول ۵- تجزیه واریانس مولکولی توالی های نوکلئوتیدی ژنوم میتوکندریایی گوسفندان اهلی بین قاره ای

Table 5- Analysis of molecular variance of nucleotide sequences of mitochondrial genomes of intercontinental domestic sheep

منابع واریانس (Source of Varyance)	درجه آزادی df	مجموع مربعات Sum of squares	مولفه واریانس Variance componeents	درصد تغییرات Percentage of varation	درصد تغییر Fixation indices
بین گروه ها Among groups	3	5521.86	8.88 Va	23.68	F _{CT} =0.23684***
بین جمعیت ها Among populations	10	1429.24	1.79 Vb	4.79	F _{SC} =0.06372***
زیر گروه های هر جمعیت Subgroups of each population	919	24659.55	26.83 Vc	71.53	
کل Total	932	31610.66	37.51	100	F _{ST} =0.28471***

***: معنی داری در سطح ۰/۰۰۱
***Significant at the 0.001 level.

فراوانی نسبی هر یک از هاپلوگروه ها در مناطق جغرافیایی مختلف در شکل ۱ و شبکه پیوسته حاصل هاپلوگروه ها در شکل ۲ نمایش داده شده است. هاپلوگروه B با فراوانی ۵۲۸ مورد، بیشترین فراوانی را در میان مناطق جغرافیایی داشت، درحالی که هاپلوگروه D با تنها ۳ مورد، کمترین فراوانی را داشت. در مناطق جغرافیایی اول تا پنجم (آسیا) فراوانی هاپلوگروه A و در سایر مناطق (اروپا، آفریقا) هاپلوگروه B غالب بود. بالاترین تنوع هاپلوگروه در مناطق جغرافیایی

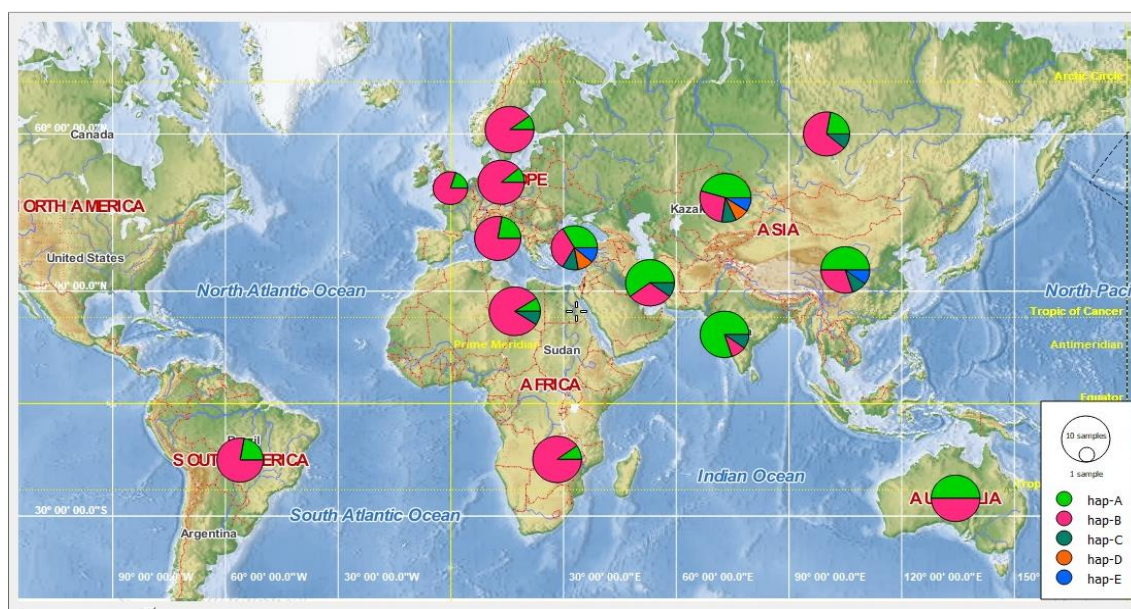
تعداد ۶۸۶ هاپلوتیپ به دست آمده از نرم افزار DNAsp با ژنوم مرجع تطبیق داده شد و در پنج هاپلوگروهی شامل A, B, C, E و D دسته بندی شدند. از ۶۸۶ هاپلوتیپ مشاهده شده ۷۵/۵ درصد منحصر به فرد بودند که نشان دهنده تنوع قابل توجهی بین افراد مورد مطالعه بود. از ۲۴/۵ درصد هاپلوتیپ های مشترک، کمتر از ۲۵ درصد به صورت فرامنطقه ای، درون مناطق و به طور خاص تر درون کشورهای خاص مشترک بودند.

رایج‌ترین است (Wanjala et al., 2021). در گوسفندان اهلی روسیه فراوانی هاپلوگروه B ۶۴/۸ درصد، A ۲۸/۹ درصد، C ۵/۵ درصد و D ۰/۸ درصد گزارش شدند (Koshkina et al., 2023). در مطالعات مشابه در گوسفندان بومی قزاقستان هاپلوگروه B ۳۶ درصد، A ۵۷ درصد، C ۷ درصد (Tarlykov et al., 2021)؛ در گوسفندان بومی پاکستان هاپلوگروه B ۱۸/۸۷ درصد، A ۷۷/۹۹ درصد و C ۳/۱۴ درصد (Ahmed et al., 2025)؛ در گوسفندان صحرای سودان هاپلوگروه B ۸۵ درصد و A ۱۵ درصد (Salim et al., 2023)؛ در هشت نژاد گوسفندان بلغارستان B ۹۵/۲ درصد و A ۴/۸ درصد (Kalaydzhiev et al., 2023) گزارش شدند که با نتایج به‌دست‌آمده هم‌خوانی داشت.

شبکه هاپلوگروهی نژادهای ایران که شامل نُه نژاد می‌باشد، در شکل ۳ نمایش داده شده است. فراوانی هاپلوگروه B ۳۰ درصد، A ۵۲ درصد، C ۱۸ بودند. از ۷۲ نمونه تعداد ۵۷ هاپلوتیپ تشکیل داده که ۸۰ درصد منحصر به فرد بودند. در بررسی توالی‌های ژنوم میتوکندریایی که به‌عنوان محلی ایران ثبت شده بودند، هاپلوگروه‌های A، B و C مشاهده شد. در نژادهای مغانی و ماکویی A و B، نژاد بلوچی و خاکستری شیرازی A و C، نژاد شال A و در نژادهای افشاری و قره گل A، B و C مشاهده شدند.

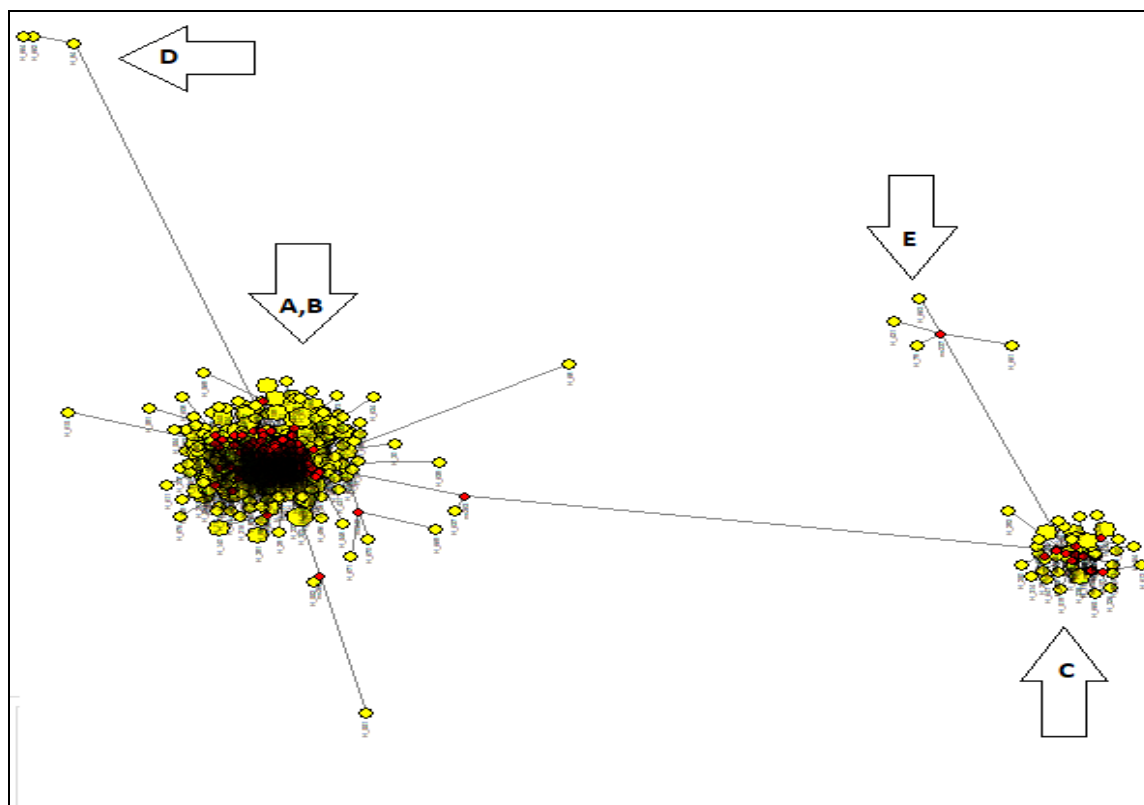
۳، ۵ و مشاهده شد. هاپلوگروه E در کشورهای گرجستان، چین، افغانستان و فلسطین؛ هاپلوگروه D در کشورهای ترکیه و گرجستان مشاهده گردید. هاپلوگروه A و B در تمامی مناطق جغرافیایی وجود داشتند.

مطالعه تنوع هاپلوتیپی در گوسفندان مصری و ایتالیایی سه هاپلوگروهی A، B و C را در نمونه‌های مورد بررسی نشان داد. همه نمونه‌های ایتالیایی با هاپلوگروه B خوشه‌بندی شدند و همین هاپلوگروه در نمونه‌های مصری هم غالب بود، اما در نژاد بارکی مصری یک خوشه جداگانه با هاپلوگروه A، در نژاد اوسیمی یک خوشه جداگانه با هاپلوگروه C و همچنین دو خوشه جداگانه با هاپلوگروه‌های A و C در نژاد رحمانی گزارش شدند (Othman et al., 2015). در بررسی تنوع ناحیه کنترل ژنوم میتوکندری نژادهای گوسفند آفریقایی، سه هاپلوگروه اصلی (A، B و C) را گزارش گردید (Wanjala et al., 2021). در این مطالعه، زیرگروه B1 شامل تعدادی از گوسفندان غرب، شرق و شمال آفریقا بود، زیرگروه B2 شامل گوسفندانی از جمعیت‌های شمال (مراکش، مصر و الجزایر) و شرق آفریقا (عمدتاً کنیا) بودند. زیرگروه B3 شامل نژادهای گوسفندان باستانی از آفریقای جنوبی بود. خوشه‌بندی هاپلوتیپ از توزیع جغرافیایی پیروی نکرد و گزارش شد که گروه B در برخی نژادهای گوسفند از الجزایر، اتیوپی، آفریقای جنوبی، مصر، کنیا و مراکش



شکل ۱- پراکندگی هاپلوگروه‌های مختلف براساس ژنوم میتوکندری در نژادهای مختلف گوسفندان اهلی دنیا

Figure 1- Haplogroup distribution of different mitochondrial genomes in different breeds of domestic sheep of world



شکل ۲- شبکه پیوسته حاصل از ۶۸۶ هاپلوتیپ مربوط به توالی نوکلئوتیدی ژنوم میتوکندریایی در نژادهای مختلف گوسفندان اهلی (شماره‌ها شامل شماره هاپلوتیپ و اندازه دایره‌ها متناسب با فراوانی هر هاپلوگروه است)

Figure 2- Continuous network resulting from 686 haplotypes related to the nucleotide sequence of the mitochondrial genome in different breeds of domestic sheep (numbers include haplotype number and the size of the circles is proportional to the frequency of each haplotype)

توالی‌های ژنوم میتوکندری استفاده می‌گردد، زیرا تأثیر انتخاب بر این نوع داده‌ها کمتر است و روابط فیلوژنتیکی واقعی را نشان می‌دهند (Ahmed et al., 2025). در این مطالعه برای رسم درخت فیلوژنتیکی از روش اتصال-همسایگی (NJ) استفاده شد (شکل ۴). نتایج حاصل از بررسی درخت فیلوژنتیکی تأییدکننده نتایج مباحث قبلی است. برای درک آسان‌تر درخت فیلوژنتیک شاخه‌های مربوط به هاپلوگروه‌های A، B، C، D و E به ترتیب با رنگ‌های سبز، صورتی، بنفش روشن، بنفش تیره و آبی نمایش داده شدند. نمونه‌های متعلق به ناحیه جغرافیایی ۱ در درخت با رنگ سیاه علامت‌گذاری شدند. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد، درخت فیلوژنی به سه شاخه اصلی مجزا تفکیک شده است. هاپلوگروه D در شاخه‌ای کاملاً مجزا و هاپلوگروه‌های C و E در شاخه دیگری و در نهایت هاپلوگروه‌های A و B در شاخه اصلی سوم قرار گرفتند که تأییدی بر صحت شبکه هاپلوگروهی شکل ۲ می‌باشد. بیشتر نژادهای مورد بررسی در شاخه-های نزدیک به یکدیگر قرار گرفتند. این امر نشان‌دهنده جریان ژنی بین مناطق جغرافیایی مختلف و آمیخته‌گری در گذشته می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی درخت فیلوژنتیکی علاوه بر نشان دادن تنوع فراوان

در مطالعه تغییرات توالی D-Loop میتوکندری در نژادهای گوسفندان بومی ایران که شامل ۸۲ گوسفند غیرخویشاوند از ۱۰ نژاد بودند، هاپلوگروه‌های A، B، C و E گزارش شدند (Rafia & Tarang, 2016). مرادی و همکاران (Moradi et al., 2017) در بررسی خود، دو هاپلوگروه A و B را در دو نژاد لری-بختیاری و زل گزارش کردند. در تحلیل ژنتیکی و فیلوژنتیکی بخشی از ناحیه کنترلی ژنوم میتوکندری که بر ۲۵ رأس گوسفند غیرخویشاوند نژاد زندگی انجام گرفت؛ نتایج نشان‌دهنده کمتر بودن تنوع نوکلئوتیدی نژاد زندگی نسبت به گوسفندان مغانی و بلوچی بود. نتایج ترسیم درخت فیلوژنی نشان داد که گوسفند نژاد زندگی متعلق به هاپلوگروه A می-باشد (Pirkhazraian et al., 2017). در مطالعه مشابه روی گوسفندان نژاد بلوچی، این نژاد نیز در هاپلوگروه A قرار گرفت (Bahri et al., 2018).

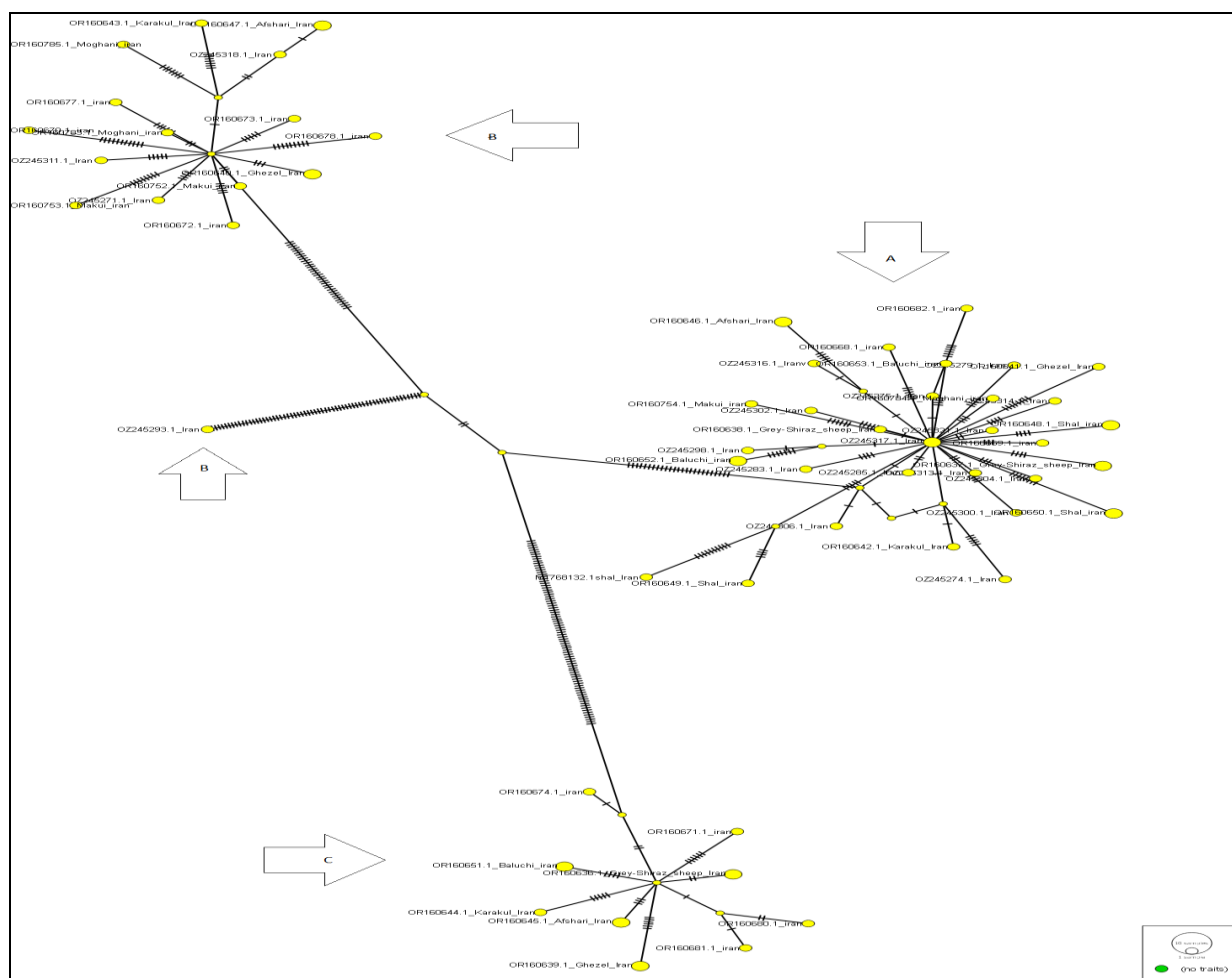
درختان فیلوژنتیک به دلیل نشان دادن مسیرهای تکاملی برای درک روابط تکاملی بسیار مناسب هستند. در این نمودارهای درختی، هرچه نمونه مورد بررسی در مولکول‌های توارثی مشابهت بیشتری داشته باشد، خویشاوندی نزدیک‌تری دارند. برای رسم این نمودارها از

نتیجه‌گیری کلی

تحلیل توالی کامل ژنوم میتوکندریایی ۹۳۳ گوسفند اهلی از ۴۹ کشور، بزرگ‌ترین بانک داده mtDNA کامل در جهان را ایجاد کرد و برای اولین بار جایگاه دقیق نژادهای بومی ایران را در تنوع جهانی مشخص نمود. نتایج نشان داد که نژادهای ایرانی بالاترین تنوع هاپلوتیپی (۰/۹۹۴) و تفاوت نوکلئوتیدی (۶۲/۳۵۳) را در بین ۱۴ منطقه جغرافیایی داشتند و در هر سه هاپلوگروه اصلی A، B و C حضور گسترده و معنی‌دار داشتند. این یافته‌ها پیامدهای عملی مستقیمی برای برنامه‌های اصلاح نژاد گوسفند در ایران و منطقه دارد. نژادهای بومی ایران به‌عنوان مخزن غنی هاپلوتیپ‌های منحصربه‌فرد (۵۷) هاپلوتیپ شناسایی شده در ایران) منبع ارزشمندی برای وارد کردن تنوع میتوکندریایی جدید به جمعیت‌های تجاری پربازده (که اغلب دچار کاهش تنوع مادری هستند) می‌باشند.

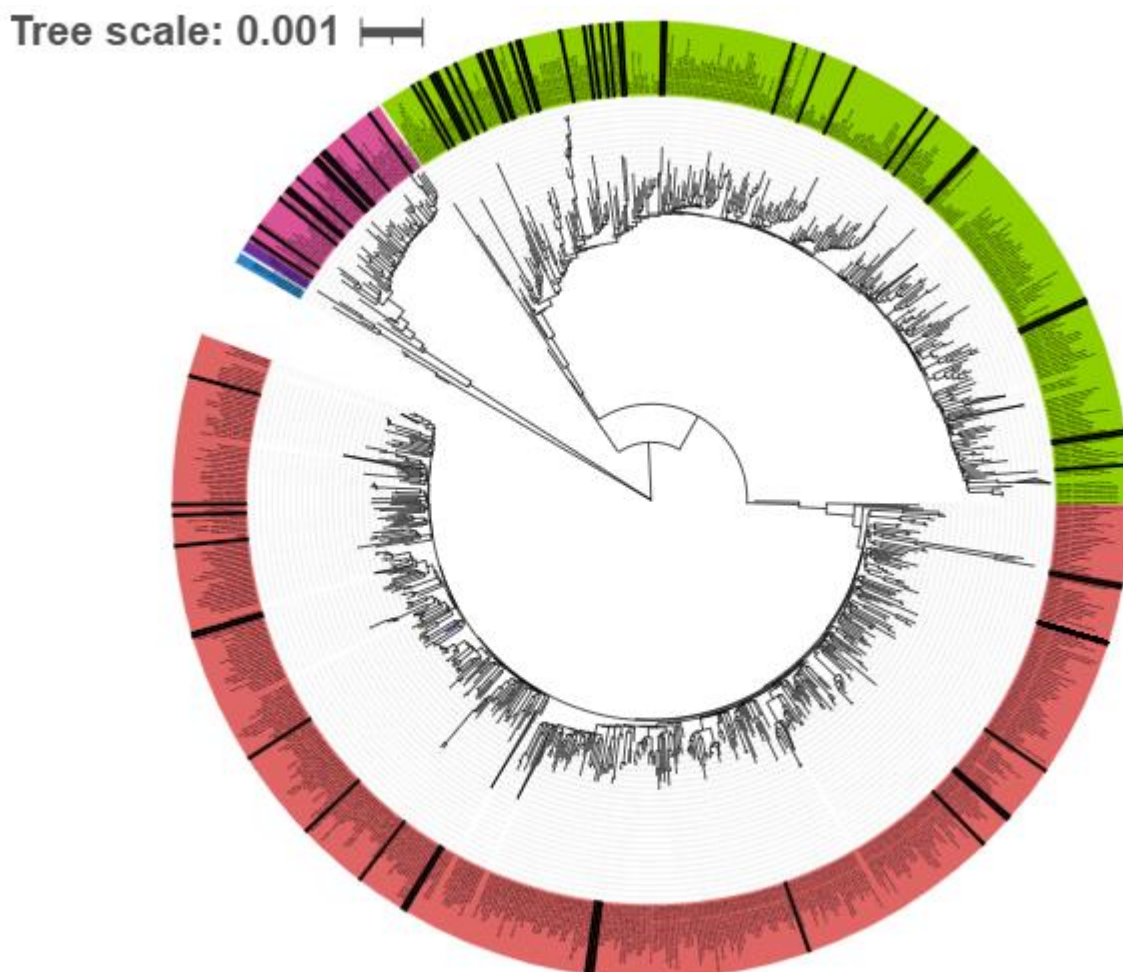
در نژادهای گوسفندان ایرانی؛ عدم پیروی تنوع و خوشه‌بندی در نژادهای اهلی گوسفندان از مناطق جغرافیایی مختلف را نشان داد. در مطالعه تجزیه و تحلیل ژنوم میتوکندری اوربیل آسیایی در ایران، براساس نتایج درخت فیلوژنتیک، منشأ هاپلوگروه C چندین جمعیت گوسفندان اهلی در جنوب و جنوب شرقی آسیا، اوربیل آسیایی ایرانی گزارش شدند (Wang et al., 2025).

با وجود تلاش برای به دست آوردن اطلاعات جامع از نژادهای گوسفندان دنیا، اما برخی محدودیت‌ها از جمله متفاوت بودن شرایط نمونه‌گیری و آزمایش، محدود بودن تعداد نمونه در برخی نواحی، احتمال ناهمگنی در کیفیت توالی‌یابی و پوشش خوانش‌ها و روش‌های و برنامه‌های مورد استفاده در تجزیه و تحلیل داده‌ها می‌تواند موجب تفسیر متفاوت گردد.



شکل ۳- شبکه اتصال میانه ارتباطات هاپلوتیپ‌های شناسایی شده در نژادهای گوسفند ایران

Figure 3- The median connectivity network of identified haplotypes in Iranian sheep breeds



شکل ۴- درخت فیلوژنتیکی حاصل از تجزیه و تحلیل ژنوم میتوکندری در نژادهای مختلف گوسفندان اهلی
Figure 4- Phylogenetic tree resulting from mitochondrial genome analysis in different breeds of domestic sheep

اولویت حفاظت و تکثیر قرار گیرند. بنابراین، نژادهای بومی ایران، یکی از غنی‌ترین منابع تنوع دودمان مادری گوسفند اهلی در جهان هستند و باید به‌عنوان ماده اولیه کلیدی در برنامه‌های اصلاح نژاد ملی و منطقه‌ای (به‌ویژه برای بهبود سازگاری محیطی، باروری و مقاومت به بیماری) مورد استفاده قرار گیرند. نتایج مطالعه حاضر، پایه علمی برای تدوین راهبرد ملی حفاظت و بهره‌برداری پایدار از منابع ژنتیکی گوسفندان ایران را فراهم می‌کند.

حضور همزمان هاپلوگروه‌های A، B و C در جمعیت ایرانی، امکان انتخاب هدفمند دودمان‌های مادری متفاوت را برای تلاقی‌های اصلاحی فراهم می‌کند؛ به‌ویژه هاپلوگروه A (غالب در ایران و آسیا) که با سازگاری به شرایط گرم و خشک همراه است و می‌تواند برای بهبود تحمل حرارتی نژادهای صنعتی استفاده شود. نقشه دقیق پراکندگی هاپلوטיפ‌های ایرانی، امکان شناسایی نژادهای حامل هاپلوטיפ‌های نادر یا باستانی را فراهم می‌کند تا در بانک ژن ملی

References

1. Afgan, E., Nekrutenko, A., Grüning, B. A., Blankenberg, D., Goecks, J., Schatz, M. C., Ostrovsky, A. E., Mahmoud, A., Lonie, A. J., Syme, A., Fouilloux, A., Bretaudeau, A., Kumar, A., Eschenlauer, A. C., Desanto, A. D., Guerler, A., Serrano-Solano, B., Batut, B., Grüning, B. A., & Briggs, P. J. (2022). *The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses*. *Nucleic Acids Research*, 50(1), 345–351. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac247>.
2. Ahmed, S., Nadeem, M. S., Johansson, A. M., Jonas, E., Muhammad, K., & Mehmood, S. A. (2025). Molecular diversity and phylogenetic analysis of ten sheep breeds from Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan, based on mitochondrial D-loop sequences. *Mammalian Genome*, 36(1), 129–139. <https://doi.org/10.1007/s00335-024-10093-w>

3. Asghari, B., & Dashab, G. R. (2018). Nucleotide sequence analysis of phylogenetic and evolutionary status of BLG gene. *New Cellular & Molecular Biotechnology Journal*, 8(30), 61-69. (In Persian).
4. Bahri Binabaj, F., Bihamta, G., & Pirkhezranian, Z. (2018). Genetic diversity and phylogenetic analysis of D-loop region of mtDNA in Baluchi sheep breed. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 10(1), 131-139. (in Persian with English abstract) <https://doi.org/10.22067/ijasr.v10i1.63715>
5. De Jong, M. A., Wahlberg, N., Van Eijk, M., Brakefield, P. M., & Zwaan, B. J. (2011). Mitochondrial DNA signature for range-wide populations of *Bicyclus anynana* suggests a rapid expansion from recent refugia. *PloS One*, 6(6), e21385. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021385>
6. Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564-567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
7. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Available online: https://www.fao.org/livestock-systems/glob_distributions/sheep/en/. (accessed on 21 August 2023).
8. Hu, X. D., & Gao, L. Z. (2016). The complete mitochondrial genome of domestic sheep, *Ovis aries*. *Mitochondrial DNA Part A*, 27(2), 1425-1427. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08011>
9. Ilmira, M. S., Islamov, Y., Shauyenov, S., Ibrayev, D., Atavliyeva, S., & Tarlykov, P. (2018). Genetic characterization of Kazakh native sheep breeds using mitochondrial DNA. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 18(3), 341-348. <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2018.341.348>
10. Jalilian Majd, H., Varkoohi, S., & Seyedabadi, H. R. (2023). Mitochondrial DNA Cytochrome-b variability in Iranian Kurdish horse breed. *Iranian Journal of Animal Science*, 54(2), 139-149. (in Persian with English abstract) <https://doi.org/10.22059/IJAS.2022.342038.653886>
11. Kalaydzhiev, G., Palova, N., Dundarova, H., Lozanova, L., Mehandjyiski, I., Radoslavov, G., & Hristov, P. (2023). Mitochondrial diversity and phylogenetic relationship of eight native Bulgarian sheep breeds. *Animals*, 13(23), 3655. <https://doi.org/10.3390/ani13233655>
12. Kandoussi, A., Boujenane, I., Auger, C., Serranito, B., Germot, A., Piro, M., & Petit, D. (2020). The origin of sheep settlement in Western Mediterranean. *Scientific Reports*, 10(1), 10225. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67246-5>
13. Katoh, K., & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 772-780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
14. Koshkina, O., Deniskova, T., Dotsev, A., Kunz, E., Selionova, M., Medugorac, I., & Zinovieva, N. (2023). Phylogenetic analysis of Russian native sheep breeds based on mtDNA sequences. *Genes*, 14(9), 1701. <https://doi.org/10.3390/genes14091701>
15. Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, 41(12), msae263. <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>
16. Leigh, J. W., Bryant, D., & Nakagawa, S. (2015). POPART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology & Evolution*, 6(9), 1110-1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>
17. Letunic, I., & Bork, P. (2024). Interactive Tree of Life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W78-W82. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae268>
18. Liu, J., Ding, X., Zeng, Y., Guo, X., Sun, X., & Yuan, C. (2020). Phylogenetic evolution and phylogeography of Tibetan sheep based on mtDNA D-loop sequences. *Animals*, 10(7), 1177. <https://doi.org/10.3390/ani10071177>
19. Lv, F. H., Peng, W. F., Yang, J., Zhao, Y. X., Li, W. R., Liu, M. J., & Li, M. H. (2015). Mitogenomic meta-analysis identifies two phases of migration in the history of eastern Eurasian sheep. *Molecular Biology and Evolution*, 32(10), 2515-2533. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv139>
20. Manesh, A. N., Feyzi, M. A., Kashkoieh, A. I., Nanaei, H. A., & Ezzaldinlo, L. (2022). Investigating the genetic diversity of the BRCA1 gene in some of domestic and wild sheep breeds of the world and drawing their phylogenetic structure. *Research on Animal Production*, 13(38), 176-186. (In Persian). <https://doi.org/10.52547/rap.13.38.176>
21. Meadows, J. R. S., Hiendleder, S., & Kijas, J. W. (2011). Haplogroup relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel. *Heredity*, 106(4), 700-706. <https://doi.org/10.1038/hdy.2010.122>
22. Moradi, M. H., Phua, S. H., Hedayat, N., Khodaei, M. M., & Razmkabir, M. (2017). Haplotype and genetic diversity of mtDNA in indigenous Iranian sheep and an insight into the history of sheep domestication. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 19(3), 591-601.
23. Nikbakhsh, M., Varkoohi, S., & Seyedabadi, H. R. (2022). Mitochondrial DNA D-loop hyper-variable region 1 variability in Kurdish horse breed. *Veterinary Medicine and Science*, 8(5), 1-8. <https://doi.org/10.1002/vms3.996>
24. Othman, O. E., Pariset, L., Balabel, E. A., & Marioti, M. (2015). Genetic characterization of Egyptian and

- Italian sheep breeds using mitochondrial DNA. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 13(1), 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2014.12.005>
25. Pirkhazraian, Z., Razmkabir, M., & Nazifi, N. (2017). Genetic and phylogenetic analyses of partial control region of mtDNA in Zandi sheep breed. *Agricultural Biotechnology Journal*, 9(3), 25-40. (In Persian). <https://doi.org/10.22103/jab.2018.1877>
26. Qiao, G., Zhang, H., Zhu, S., Yuan, C., Zhao, H., Han, M., & Yang, B. (2020). The complete mitochondrial genome sequence and phylogenetic analysis of Alpine Merino sheep (*Ovis aries*). *Mitochondrial DNA Part B*, 5(1), 990-991. <https://doi.org/10.1080/23802359.2020.1720536>.
27. Rafia, P., & Tarang, A. (2016). Sequence variations of mitochondrial DNA displacement-loop in Iranian indigenous sheep breeds. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6(2), 363-368. (in Persian with English abstract).
28. Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34(12), 3299-3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>
29. Salim, B., Alasmari, S., Mohamed, N. S., Ahmed, M. K. A., Nakao, R., & Hanotte, O. (2023). Genetic variation and demographic history of Sudan desert sheep reveal two diversified lineages. *BMC Genomics*, 24(1), 118. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09231-6>
30. Shariat, M., Dashab, G. R., & Vafaye Valleh, M. (2019). Phylogenetic and Haplogroup analysis of native goats of Iran based on nucleotide sequence of HVR1 region of mitochondrial genome. *Iranian Journal of Animal Science*, 50(1), 35-46. (In Persian). <https://doi.org/10.22059/ijas.2019.272018.653672> .
31. Sharma, R., Ahlawat, S., Sharma, H., Sharma, P., Panchal, P., Arora, R., & Tanti, M. S. (2020). Microsatellite and mitochondrial DNA analyses unveil the genetic structure of native sheep breeds from three major agro-ecological regions of India. *Scientific Reports*, 10(1), 20422. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77480-6>
32. Tamura, K., Nei, M., & Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(30), 11030-11035. <https://doi.org/10.1073/pnas.0404206101>
33. Tarlykov, P., Atavliyeva, S., Auganova, D., Akhmetollayev, I., Loshakova, T., Varfolomeev, V., & Ramankulov, Y. (2021). Mitochondrial DNA analysis of ancient sheep from Kazakhstan: Evidence for early sheep introduction. *Heliyon*, 7(9), e08011. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08011>
34. Vinogradov, A. E., & Anatskaya, O. V. (2017). DNA helix: The importance of being AT-rich. *Mammalian Genome*, 28(9), 455-464. <https://doi.org/10.1007/s00335-017-9713-8>
35. Wang, D. F., Orozco-terWengel, P., Salehian-Dehkordi, H., Esmailzadeh, A., & Lv, F. H. (2025). Genomic analyses of Asiatic Mouflon in Iran provide insights into the domestication and evolution of sheep. *Genetics Selection Evolution*, 57(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s12711-025-00978-y>
36. Wanjala, G., Bagi, Z., & Kusza, S. (2021). Meta-analysis of mitochondrial DNA control region diversity to shed light on phylogenetic relationship and demographic history of African Sheep (*Ovis aries*) breeds. *Biology*, 10(8), 762. <https://doi.org/10.3390/biology10080762>

Research Article

Vol. 18, No.1, 2026, p. 137-149



Transcriptomic Analysis of Broiler Chicken Liver in Response to LPS with Emphasis on Endogenous Anti-inflammatory Peptides

Maryam Moshiri¹, Mojtaba Tahmoores pour^{1*}, Mohammad Hadi Sekhavati¹

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

*Corresponding Author's Email: tahmoores@um.ac.ir**How to cite this article:**

Received: 18-08-2025

Revised: 05-10-2025

Accepted: 11-10-2025

Available Online: 04-04-2026

Moshiri, M. Tahmoores pour, M. & Sekhavati, M. H (2026). Transcriptomic analysis of broiler chicken liver in response to LPS with emphasis on endogenous anti-inflammatory peptides. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(1), 137-149. (in Persian with English abstract).<http://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94631.1264>

Introduction: The growing prevalence of antibiotic resistance in the poultry industry has created a critical demand for safe, effective, and natural alternatives to conventional antimicrobials. Antimicrobial peptides (AMPs) are key components of the innate immune system, functioning as the first line of defense against invading pathogens. These molecules possess broad-spectrum activity against bacteria, viruses, and fungi, while also modulating immune responses. Consequently, they are considered promising alternatives to antibiotics in poultry production. Understanding the transcriptional regulation of AMPs in response to immune challenges is essential for evaluating their potential application. Lipopolysaccharide (LPS), a component of Gram-negative bacterial cell walls, is widely used as an immune stimulant because it activates inflammatory pathways via pattern recognition receptors (PRRs). Studying LPS-induced immune responses provides valuable insights into host defense mechanisms even in the absence of active infection. This study aimed to investigate the transcriptomic response of the liver of broiler chickens (*Gallus gallus*) to LPS stimulation, with a particular focus on the expression of AMP-related genes. By identifying differentially expressed genes (DEGs), enriched pathways, and regulatory factors, we sought to provide a comprehensive overview of how AMPs are transcriptionally and post-transcriptionally modulated under inflammatory stress.

Materials and Methods: RNA-seq data were obtained from an experiment in which broiler chickens were injected intraperitoneally with 1 mg/kg of LPS derived from *Escherichia coli*. Control animals received no treatment. Liver samples were collected 24 h post-injection to capture acute immune responses. Total RNA was extracted and sequenced using Illumina sequencing platform, producing high-quality paired-end reads. The raw reads underwent quality control (QC) steps to remove low-quality bases and adapters. Clean reads were then aligned to the *Gallus gallus* reference genome (version Galgal7) to ensure accurate transcript alignment. Gene expression levels were quantified, and differential expression analysis was performed between LPS-treated and control groups. DEGs were identified using adjusted p-values and |log2 fold change| thresholds. Functional enrichment analysis was conducted using Gene Ontology (GO) categories and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathways. Additionally, transcription factors (TFs) and microRNAs (miRNAs) predicted to regulate DEGs were analyzed to reveal upstream and post-transcriptional regulatory mechanisms.



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

 <http://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94631.1264>

Results and Discussion: Transcriptomic profiling revealed a total of 2,949 DEGs in broiler chicken liver following LPS stimulation, including 1,552 upregulated and 1,397 downregulated genes. This extensive transcriptional reprogramming highlights the strong impact of LPS on the hepatic immune landscape. Among the most notable findings was the upregulation of AMP-related genes such as *AvBD13*, *AvBD9*, *AvBD8*, and *CATH3*. These peptides, belonging to the avian β -defensin and cathelicidin families, are crucial for direct antimicrobial defense and immune modulation. Their induction demonstrates that LPS alone, without the presence of live pathogens, is sufficient to trigger innate host defense responses. Enrichment analyses identified several innate immune signaling pathways as significantly enriched, including the Toll-like receptor (TLR), NOD-like receptor (NLR), and MAPK signaling cascades. These pathways are central to pathogen recognition and cytokine-mediated immune responses. Activation of the TLR4 pathway reflects canonical LPS sensing by hepatocytes and immune cells in the liver. Further investigation revealed that transcription factors such as *IRF1*, *NF- κ B*, and *ICSBP* play central roles in orchestrating this immune response. These TFs regulate downstream AMP expression and cytokine production, thereby bridging pathogen recognition with effector functions. In parallel, miRNAs, including *gga-miR-130a-3p* and *gga-miR-16-5p*, were predicted to modulate post-transcriptional regulation of immune-related genes. This highlights the layered regulatory mechanisms by which chickens fine-tune their immune responses. The observed transcriptomic signature of LPS-stimulated livers closely resembles the immune activation patterns associated with necrotic enteritis, a major poultry disease caused by *Clostridium perfringens*. This suggests that the LPS model is a valuable experimental system to study inflammatory responses relevant to disease conditions, even in the absence of infection. Importantly, the activation of AMPs under these conditions reinforces their potential as natural alternatives to antibiotics for maintaining poultry health and reducing reliance on conventional antimicrobials.

Conclusion: This study demonstrates that intraperitoneal LPS challenge induces extensive transcriptional reprogramming in the liver of broiler chickens. AMP-related genes, including *AvBD13*, *AvBD9*, *AvBD8*, and *CATH3*, were significantly upregulated, reflecting their role in innate immune defense. Key signaling pathways such as TLR, NLR, and MAPK were activated, with transcription factors *IRF1*, *NF- κ B*, and *ICSBP* identified as master regulators. Moreover, miRNAs such as *gga-miR-130a-3p* and *gga-miR-16-5p* were implicated in fine-tuning these immune responses. Together, these results underscore the importance of AMPs in poultry immunity and highlight LPS stimulation as an effective experimental model for studying host defense mechanisms. The findings provide valuable insights for the development of AMP-based strategies as sustainable alternatives to antibiotics in the poultry industry.

Keywords: Differentially expressed genes, Endogenous antimicrobial peptides, Innate immune response in poultry, LPS-induced immune stimulation, Transcriptomic gene expression analysis

تحلیل ترنسکرپتومی کبد مرغ گوشتی در پاسخ به LPS با تأکید بر پتیدهای ضدالتهابی درون تنی

مریم مشیری^۱، مجتبی طهمورث پور^{۱*}، محمدهادی سخاوتی^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۹

چکیده

با توجه به گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در صنعت طیور، شناسایی راهکارهای ایمن، مؤثر و طبیعی برای مقابله با بیماری‌های عفونی ضروری است. پتیدهای ضد میکروبی (AMPs) از مهم‌ترین اجزای ایمنی ذاتی محسوب می‌شوند که می‌توانند جایگزین بالقوه‌ای برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند. درک نحوه تنظیم بیان این پتیدها در مواجهه با عوامل التهابی در سطح ترنسکرپتومی اهمیت بالایی دارد. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر تحریک ایمنی القا شده توسط لیپوپلی‌ساکارید (LPS) بر بیان ژن‌های مرتبط با پتیدهای دفاعی درون تنی در بافت کبد مرغ گوشتی انجام شد. داده‌های RNA-seq از مطالعه‌ای استخراج شد که در آن جوجه‌ها با دوز یک میلی‌گرم در کیلوگرم LPS گرفته شده از *E. coli* به صورت درون صفاقی تیمار و ۲۴ ساعت بعد نمونه‌گیری شدند. پس از توالی‌یابی با پلتفرم Illumina و نگاشت به ژنوم مرجع *Gallus gallus* نسخه (Galgal6)، ۲۹۴۹ ژن با بیان متمایز (۱۵۵۲ افزایش و ۱۳۹۷ کاهش) شناسایی گردید. ژن‌های کلیدی مانند *AvBD8*، *AvBD9*، *AvBD13* و *CATH3* افزایش بیان داشتند. مسیرهای ایمنی ذاتی شامل TLR، NOD-like و MAPK فعال شدند. فاکتورهای رونویسی *IRF1*، *NF-κB* و *ICSBP* تنظیم‌کننده‌های اصلی این پاسخ بودند. همچنین miRNAهای *gga-miR-16-5p* و *gga-miR-130a-3p* در تنظیم پسارونویسی این ژن‌ها نقش داشتند. نتایج نشان می‌دهند که LPS بدون حضور بیمارگر خاص موجب فعال‌سازی پاسخ ایمنی مشابه نکروتیک انتریت شده و مدلی کاربردی برای غربالگری راهکارهای جایگزین آنتی‌بیوتیکی در صنعت طیور فراهم می‌سازد.

واژه‌های کلیدی: پاسخ ایمنی ذاتی طیور، پتیدهای ضد میکروبی درون تنی، تحریک ایمنی توسط LPS، تحلیل بیان ژن ترنسکرپتومی، ژن‌های با بیان متمایز

مقدمه

(Moore, 2024). سیستم ایمنی پرندگان متشکل از دو بخش ذاتی و اکتسابی است. ایمنی ذاتی به‌عنوان نخستین سد دفاعی بدن عمل کرده و با پاسخ سریع و غیراختصاصی خود، نقش مهمی در کنترل اولیه عوامل بیماری‌زا ایفا می‌کند. (Kaiser, 2010; Sarson et al., 2008) پتیدهای ضد میکروبی درون تنی (AMPs) از جمله β دفنسین‌های پرندگان (AvBDs) و کاتلیسیدین‌ها از اجزای کلیدی این پاسخ هستند که علاوه بر فعالیت گسترده علیه باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها، در تنظیم پاسخ‌های ایمنی میزبان نیز نقش دارند (Cuperus et al., 2013). با این حال، انتخاب ژنتیکی برای صفات رشد سریع در نژادهای تجاری مرغ گوشتی، اغلب به کاهش توان ایمنی و افزایش حساسیت به بیماری‌ها منجر شده است (Van Immerseel et al., 2004). یکی از بیماری‌های مهم و پرهزینه این

مرغ (*Gallus gallus domesticus*) نه تنها یکی از منابع اصلی تأمین پروتئین حیوانی در جهان به شمار می‌رود، بلکه به‌عنوان ارگانیزم مدل در مطالعات ایمنی‌شناسی پرندگان و زیست‌شناسی تکوینی نیز کاربرد گسترده‌ای دارد (Buncic et al., 2016). با رشد روزافزون جمعیت و افزایش تقاضا برای فرآورده‌های پروتئینی طیوری، صنعت مرغداری با چالش‌هایی جدی جهت افزایش بهره‌وری در عین حفظ سلامت طیور و رعایت اصول ایمنی زیستی مواجه است.

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

کبدی جوجه‌های گوشتی در هفته دوم پس از جوجه در آوری در دو گروه شاهد و تیمار با LPS تزریق درون صفاقی لیپوپلی ساکارید مشتق از *E. coli* (دوز یک میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) از پایگاه GEO با کد GSE189591 دانلود شدند (Guo et al., 2022). توالی‌یابی با پلتفرم Illumina NovaSeq 6000 و استراتژی PE150 انجام شده است.

کنترل کیفیت و پیش‌پردازش داده‌ها: ابتدا کیفیت فایل‌های FASTQ با نرم‌افزار FastQC (نسخه ۰/۱۲/۰) بررسی شد. سپس داده‌ها به وسیله Trimmomatic (نسخه ۰/۳۹) و پارامترهای مناسب از جمله حذف آداپتورها و بازهای با کیفیت پایین، پالایش شدند. کیفیت مجدد داده‌های پالایش شده بررسی و تأیید شد.

نگاشت و شمارش خوانش‌ها: خوانش‌های تریب شده با استفاده از HISAT2 (نسخه ۲/۲/۱) به ژنوم مرجع *Gallus gallus* نسخه (bGalGal1.mat.broiler.GRCg7b v109) نگاشت شدند. فایل‌های BAM حاصل با Samtools مرتب شده و شمارش خوانش‌ها با HTSeq انجام گرفت.

تحلیل آماری و شناسایی ژن‌های با بیان متمایز: پس از حذف ژن‌های کم‌بیان، نرمال‌سازی با روش TMM (Trimmed Mean of M-values) در بسته edgeR صورت گرفت تا اثر عمق توالی‌یابی و ترکیب نمونه‌ها حذف گردد. تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) برای ارزیابی واریانس، نمونه‌های پرت و اثرات دسته‌ای انجام شد. ژن‌های با $|\log_2FC| > 1$ و مقدار $FDR < 0.05$ به عنوان ژن‌های با بیان متمایز (DEGs) شناسایی شدند.

تحلیل عملکردی و مسیرها: تحلیل غنی‌سازی واژگان Gene Ontology و مسیرهای KEGG با استفاده از WebGestalt (<http://www.webgestalt.org/>) انجام شد. برای درک بهتر ارتباطات زیستی میان ژن‌های دارای بیان متمایز، اهداف غنی‌شده microRNA (miRNA) و سایت‌های اتصال فاکتورهای رونویسی (TFs) با استفاده از ابزار WebGestalt شناسایی گردید. اصطلاحات معنادار با $FDR < 0.05$ گزارش شدند.

شبکه تعاملات پروتئینی: برای تحلیل تعاملات عملکردی میان ژن‌های ایمنی و AMPs، شبکه PPI با استفاده از پایگاه STRING نسخه ۱۲/۰ و با گونه *Gallus gallus* ساخته شد. تعاملات با $confidence \geq 0.4$ در نظر گرفته شدند و تحلیل شبکه برای شناسایی ژن‌های مرکزی و مسیرهای کلیدی به کار رفت.

نتایج و بحث

کنترل کیفیت و نگاشت داده‌های RNA-Seq: در مرحله اول، توالی‌های آداپتوری حذف شدند و در ادامه کمتر از هشت درصد

صنعت، انتريت نكروتيك (NE) است كه عمدتاً توسط *Clostridium perfringens* ايجاد می‌شود و با آسیب به مخاط روده، اختلال در جذب مواد مغذی و افزایش نرخ مرگ‌ومیر همراه است (Shojadoost et al., 2012). استفاده طولانی‌مدت از آنتی‌بیوتیک‌ها برای مهار این بیماری، با بروز مقاومت‌های دارویی و نگرانی‌های مصرف‌کنندگان، ضرورت یافتن جایگزین‌های ایمن و مؤثر را برجسته کرده است (McDevitt et al., 2006). پپتیدهای ضد میکروبی به دلیل قابلیت دوگانه در نابودی مستقیم ریزجانداران و تنظیم ایمنی، به عنوان گزینه‌هایی نویدبخش برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها مطرح شده‌اند (Park & Lee, 2013). درک نحوه تنظیم بیان این پپتیدها در شرایط التهاب سیستمیک از اهمیت بالایی برخوردار است. لیپوپلی ساکارید، یکی از اجزای دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی، محرک شناخته‌شده‌ای برای فعال‌سازی سیستم ایمنی در مدل‌های طیوری است که با اتصال به گیرنده TLR4، مسیرهای پیام‌رسانی کلیدی از جمله NF-κB، MAPK و IRFs را فعال می‌سازد (Akira & Takeda, 2004). شواهد نشان داده‌اند که مسیرهای ایمنی فعال شده توسط LPS به‌ویژه در زمینه فعال‌سازی پپتیدهای ضد میکروبی تا حد زیادی با پاسخ‌های ناشی از *C. perfringens* هم‌پوشانی دارند (Szkopek et al., 2024). پیشرفت‌های اخیر در فناوری RNA-seq امکان تحلیل جامع تعاملات میزبان-بیمارگر، مسیرهای سیگنالینگ ایمنی و شبکه‌های تنظیم ژنی را فراهم کرده‌اند. مطالعات ترنسکریپتومی در طیور مسیرهایی چون گیرنده‌های Toll-like، گیرنده‌های NOD-like و MAPK را به عنوان محورهای اصلی پاسخ ایمنی شناسایی کرده‌اند (Lu et al., 2009; Medzhitov, 2007). در مطالعه حاضر، از داده‌های RNA-Seq استخراج شده از بافت کبد مرغ‌های گوشتی تیمار شده با LPS برای بررسی تغییرات بیان ژن ناشی از تحریک سیستم ایمنی سیستمیک استفاده شد. تمرکز اصلی روی ژن‌های کدکننده پپتیدهای ضد میکروبی درون تنی و تنظیم‌کننده‌های رونویسی و پسارونویسی آن‌ها بود. نتایج نشان داد که چندین ژن مرتبط با AMPs در پاسخ به تحریک LPS به‌طور معنی داری افزایش بیان داشتند. اگرچه این مطالعه در شرایط چالش مستقیم با بیماری NE انجام نشده است، با توجه به هم‌پوشانی مسیرهای ایمنی فعال شده توسط LPS و *C. perfringens*، یافته‌ها می‌توانند به عنوان یک مدل معتبر برای تبیین سازوکارهای مولکولی NE در نظر گرفته شوند و کاربرد بالقوه پپتیدهای ضد میکروبی را به عنوان جایگزینی پایدار برای آنتی‌بیوتیک‌ها در مدیریت سلامت طیور تقویت نمایند.

مواد و روش‌ها

استخراج داده‌ها: داده‌های توالی‌یابی RNA از ۴ نمونه بافت

نرخ نگاشت موفق در تمامی نمونه‌ها از ۹۱ درصد فراتر بود، که نشان‌دهنده کیفیت مطلوب داده‌ها و کفایت مراحل پالایش و آماده‌سازی است. نتایج مربوط به تعداد توالی‌های خام، خوانش‌های پالایش‌شده و درصد نگاشت موفق به ژنوم در **جدول ۱** ارائه شده است.

از کل خوانش‌ها به دلیل کیفیت پایین یا وجود بازهای مبهم فیلتر شدند. در مجموع، بیش از ۹۲ درصد از توالی‌های خام حفظ شد. همچنین نرخ نگهداری پس از پیش‌پردازش نهایی بیش از ۹۹/۹ درصد بود که بیانگر کیفیت مناسب داده‌ها است. خوانش‌های پالایش‌شده با اجازه حداکثر دو عدم تطابق در هر خوانش ۱۵۰ نوکلئوتیدی به ژنوم مرجع *Gallus gallus* نگاشت شدند. میانگین

جدول ۱- مشخصات پایه‌ای توالی‌یابی RNA-Seq شامل تعداد خوانش‌ها و درصد نگاشت موفق برای نمونه‌های شاهد و تیمار شده با LPS
Table1- Summary of RNA-Seq data quality metrics including raw reads, filtered reads, and overall mapping rate for Control and LPS-treated samples

نام نمونه Sample name	LPS 2 (GSM5704244)	LPS 1 (GSM5704243)	Control 2 (GSM5704242)	Control 1 (GSM5704241)
توالی‌های خام Raw reads	26467868	26785572	26377422	26364536
خوانش‌های پالایش‌شده Filtered reads	26446418	26756334	26356254	26342974
درصد نگاشت موفق (%) Overall mapping rate (%)	91.17	91.21	91.14	91.09

تحلیل افتراقی بیان با استفاده از معیارهای $FDR < 0.05$ و $|\log_2 FC| \geq 1$ منجر به شناسایی ۲،۹۴۹ ژن با بیان متفاوت (DEGs) گردید که از این میان، بیان ۱،۵۵۲ ژن افزایش و بیان ۱،۳۹۷ ژن کاهش یافته بود (**جدول ۲**).

در تحلیل نتایج مشاهده می‌شود که تفاوت محسوسی بین گروه‌های تیمار (LPS) و شاهد در نرخ نگاشت وجود ندارد که نشان می‌دهد کیفیت داده‌ها در بین نمونه‌ها یکنواخت بوده و خطاهای سیستماتیک در مرحله توالی‌یابی رخ نداده است.
تحلیل بیان ژنی: در مجموع، ۱۱،۹۵۲ ژن شناسایی شد.

جدول ۲- خلاصه ژن‌های دارای بیان افتراقی بین گروه‌های تیمار و شاهد
Table 2- Summary of Differentially Expressed Genes (DEGs) between LPS-treated and control groups

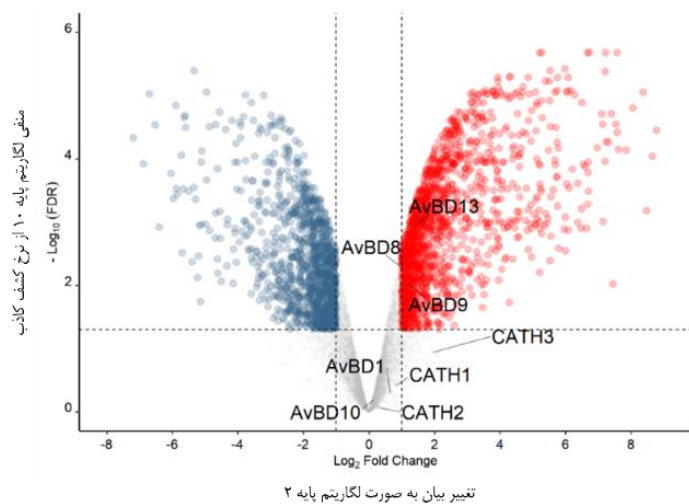
گروه‌های مقایسه Comparison group	کل ژن‌های ورودی Total input genes	ژن‌های افزایش بیان یافته Upregulated genes	ژن‌های کاهش بیان یافته Downregulated genes	معیار آستانه Threshold criteria
LPS vs. control	11952	1552	1397	Limma + EdegeR $FDR < 0.05$ $ \log_2 \text{FoldChange} \geq 1$

است.

در سطح ژنی، تعدادی از ژن‌های کدکننده پپتیدهای ضد میکروبی (AMPs) از جمله *AvBD13*، *AvBD9* و *CATH3* به‌طور معناداری افزایش بیان و ژن *Leap2* کاهش بیان نشان داد. الگوی بیانی مشاهده‌شده حاکی از آن است که ژن‌های با افزایش بیان، عمدتاً در مسیرهای مرتبط با ایمنی ذاتی و دفاع مخاطی فعال هستند، در حالی که ژن‌های با کاهش بیان بیشتر در مسیرهای تنظیمی و متابولیسم مشارکت دارند که احتمالاً تحت تأثیر سرکوب ناشی از LPS قرار گرفته‌اند. این بازآرایی ترنسکریپتومی مؤید آن است که تحریک LPS می‌تواند مسیرهای بیولوژیکی خاصی را به‌منظور مقابله با التهاب فعال‌سازی کند. این نتایج با مطالعات پیشین در زمینه نقش AMPs در تقویت دفاع میزبان و کاهش التهاب هم‌راستا است (Lee

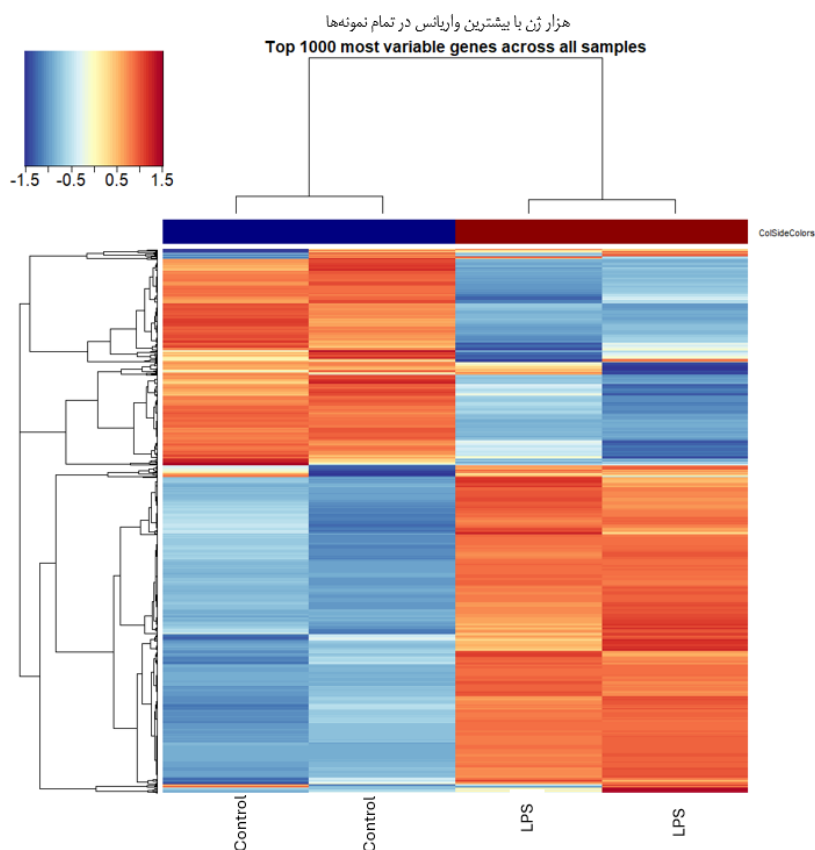
نمودار آتشفشانی (**شکل ۱**) تغییرات لگاریتمی دو برابری بیان ژن‌ها ($\log_2 \text{Fold Change}$) را در مقابل مقدار معناداری آماری ($-\log_{10} FDR$) نشان می‌دهد. نقاط قرمز نشان‌دهنده ژن‌های با بیان افزایشی و نقاط آبی نمایانگر ژن‌های با بیان کاهشی با آستانه‌های $FDR \leq 0.05$ و $|\log_2 FC| \geq 1$ هستند. ژن‌های متمایز مانند *AvBD13*، *AvBD9* و *CATH3* به‌وضوح در پاسخ به القای LPS تغییر بیان معنادار داشته‌اند.

همچنین (**شکل ۲**) نقشه حرارتی براساس الگوی بیان ۱۰۰۰ ژن با بیشترین تغییرات در نمونه‌های تیمار شده با LPS و شاهد تنظیم شده است. رنگ قرمز نشان‌دهنده بیان بالا و رنگ آبی بیان پایین‌تر را نشان می‌دهد. این تصویر خوشه‌بندی واضح بین دو گروه را نشان می‌دهد و گویای تغییرات بیان گسترده در پاسخ به لیپوپلی ساکارید



شکل ۱- تحلیل بیان تفاضلی ژن‌ها بین گروه تیمار شده با LPS و شاهد با استفاده از نمودار آتشفشانی

Figure 1- Differential gene expression analysis between LPS-treated and control groups using volcano plot



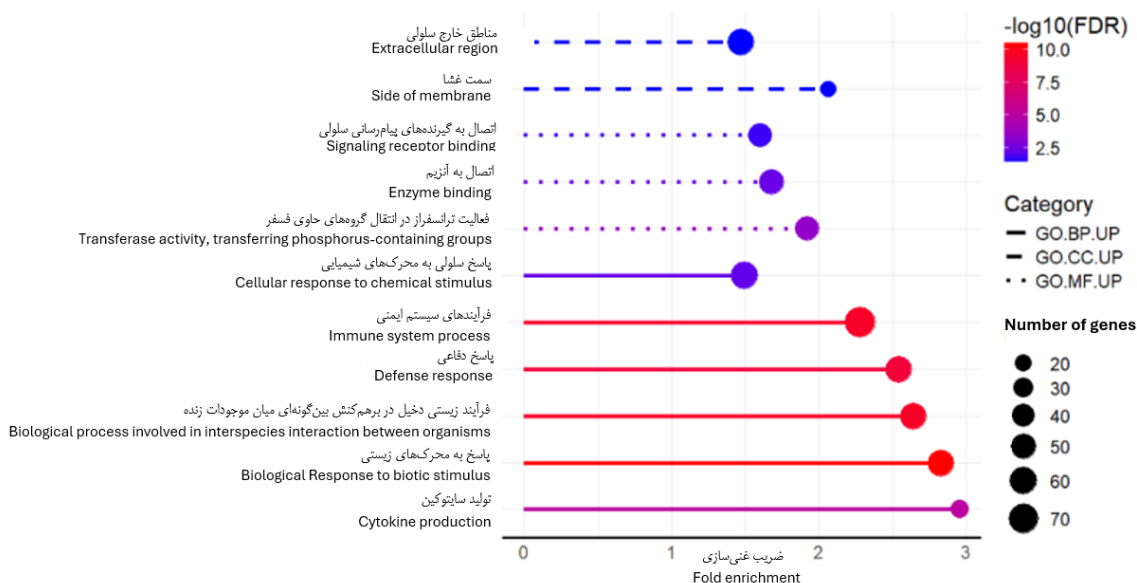
شکل ۲- نقشه حرارتی بیان ۱۰۰۰ ژن با بیشترین واریانس در نمونه‌های بافت کبدی مرغ گوشتی

Figure 2- Heatmap of the 1,000 most variable genes in broiler chicken liver samples

اندام ایمنی محور در تنظیم التهاب اشاره دارند. شکل‌های ۳ و ۴ این نتایج را به صورت طبقه‌بندی شده در سه حیطه اصلی هستی‌شناسی ژن شامل فرآیند زیستی (BP)، مؤلفه سلولی (CC) و عملکرد مولکولی (MF) نمایش می‌دهند. این طبقه‌بندی کمک می‌کند تا نمایی ساختاری از نقش غالب ژن‌های با بیان افزایش و کاهش یافته در پاسخ ایمنی ایجاد شود. به عنوان نمونه، حضور اصطلاحاتی مانند cytokine production در دسته BP و همچنین receptor binding در MF حاکی از درگیری مستقیم این ژن‌ها در تنظیم پاسخ‌های دفاعی است. در مجموع، این نتایج نشان می‌دهند که تیمار LPS موجب بازآرایی عملکردی عمده در بیان ژن‌های ایمنی در بافت کبد می‌شود. این بازآرایی احتمالاً بخشی از پاسخ تطبیقی میزبان به شرایط التهابی حاد است که از طریق فعال‌سازی مسیرهای کلیدی ایمنی صورت می‌گیرد. درک دقیق‌تر این مسیرها می‌تواند در توسعه راهکارهای تقویتی غیرآنتی‌بیوتیکی از جمله مکمل‌های ایمنی‌زا و اصلاح نژادی هدفمند، مؤثر واقع شود.

توضیح عملکردی ژن‌های دارای بیان متفاوت: به منظور

درک بهتر نقش عملکردی ژن‌های با بیان افتراقی در شرایط شبه‌التهابی، تحلیل غنی‌سازی مجموعه ژنی (GSEA) بر روی داده‌های ترنسکرپتومی حاصل از بافت کبد جوجه‌های گوشتی تیمار شده با LPS انجام شد. نتایج این تحلیل نشان داد که ۷۸ اصطلاح زیستی به طور معناداری در میان ژن‌های با بیان افزایش یافته غنی شده‌اند (اصلاح شده $p < 0.05$). این اصطلاحات غالباً به پاسخ ایمنی ذاتی، فعال‌سازی سایتوکاین‌ها، مهاجرت لکوسیت‌ها و پاسخ‌های التهابی مربوط بودند. یافته‌های این مطالعه با مطالعات پیشین در طیور که پاسخ ایمنی کبد به تحریک LPS یا عفونت با *Clostridium perfringens* بررسی کرده‌اند، هم‌راستا است. به طور مثال، مطالعات انجام شده توسط گاتام و همکاران (Gautam et al., 2024) نیز فعال‌سازی مسیرهای مرتبط با TLR و مهاجرت لکوسیتی را در شرایط مشابه گزارش کرده‌اند. همچنین، فعال‌سازی مسیرهای مرتبط با سایتوکاین‌ها و پاسخ التهابی در مطالعات اسکوپکو همکاران (Szkopek et al., 2024) تأیید شده‌اند که به نقش کبد به عنوان یک



شکل ۳- طبقه‌بندی هستی‌شناسی ژن (GO) برای ژن‌های با بیان افتراقی افزایشی
Figure 3- Gene Ontology (GO) classification of upregulated differentially expressed genes

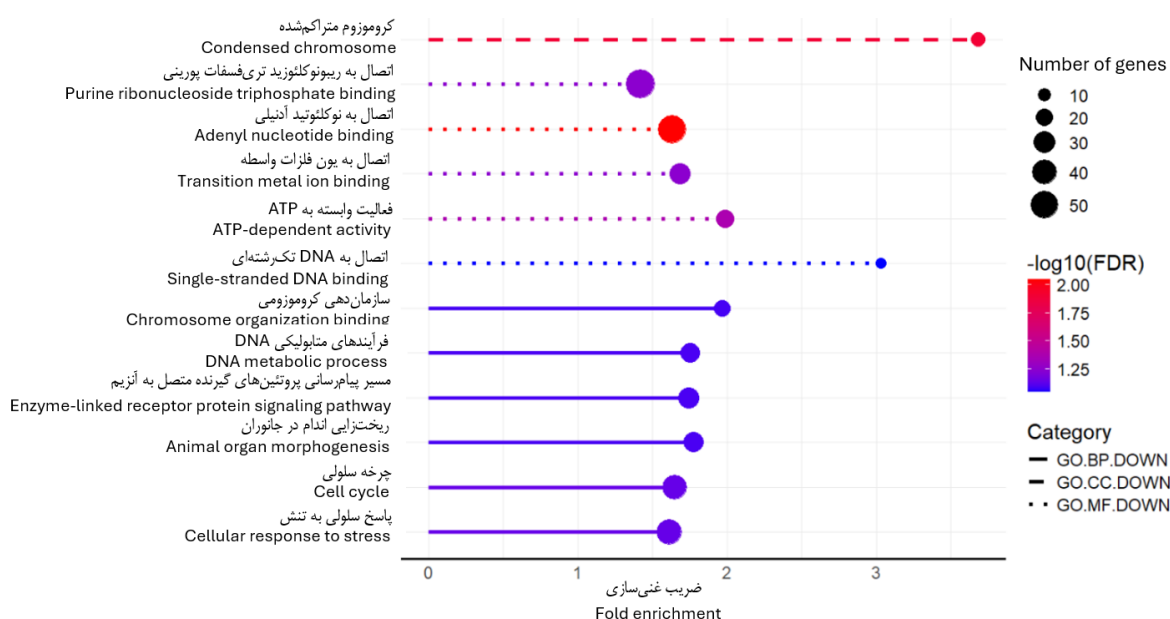
توجهی غنی شده‌اند. این مسیرها نقش کلیدی در تشخیص بیمارگرها و آغاز پاسخ‌های ایمنی التهابی در برابر باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی ایفا می‌کنند. فعال شدن این مسیرها در مطالعه حاضر، همسو با نتایج مطالعات پیشین در طیور و سایر مدل‌های جانوری است که LPS را به عنوان یک محرک قوی ایمنی ذاتی معرفی

تحلیل غنی‌سازی مسیرهای زیستی با استفاده از پایگاه KEGG نشان داد که تیمار با LPS منجر به فعال‌سازی معنادار ۱۲ مسیر مرتبط با ایمنی ذاتی در بافت کبد جوجه‌های گوشتی شده است. در میان این مسیرها، سیگنالینگ گیرنده Toll-like، گیرنده NOD-like، MAPK و NF-κB از برجسته‌ترین مسیرهایی بودند که به طور قابل

(Gautam et al., 2024) نیز گزارش شده است.

به طور کلی، نتایج تحلیل مسیرها بیانگر آن است که تحریک سیستم ایمنی با LPS، علاوه بر فعال سازی مسیرهای التهابی باعث تغییرات گسترده در بیان ژن های متابولیکی و تنظیمی نیز می شود. این بازآرایی بیان ژن ها نشان دهنده پیچیدگی پاسخ میزبان به شرایط شبه عفونی است و می تواند در طراحی راهبردهای تقویت ایمنی ذاتی در صنعت پرورش طیور مورد استفاده قرار گیرد. شکل ۵، نتایج تحلیل عملکردی ژن های با افزایش یا کاهش بیان را در مسیرهای زیستی KEGG نشان می دهد.

کرده اند. به طور مثال، مطالعات لو و همکاران (Lu et al., 2009) نیز نشان داده اند که مسیرهای TLR و NF- κ B به عنوان پاسخ اولیه میزبان به LPS، فعال شده و ترشح سایتوکاین ها و کیمی کاین ها را تنظیم می کنند. در مقابل، ژن های با کاهش بیان عمدتاً در مسیرهای متابولیکی، آنتی اکسیدانی و حفظ تعادل سلولی دخیل بودند. به ویژه، مسیر پاسخ به تنش اکسیداتیو وابسته به NRF2 یکی از مسیرهای مهم سرکوب شده در شرایط التهابی بود. کاهش فعالیت این مسیرها احتمالاً نشان دهنده تخصیص مجدد منابع سلولی به سمت پاسخ های ایمنی در شرایط التهاب است، که این الگو در مطالعات Gautam



شکل ۴- طبقه بندی هستی شناسی ژن (GO) برای ژن های با بیان افتراقی کاهشی

Figure 4- Gene Ontology (GO) classification of downregulated differentially expressed genes

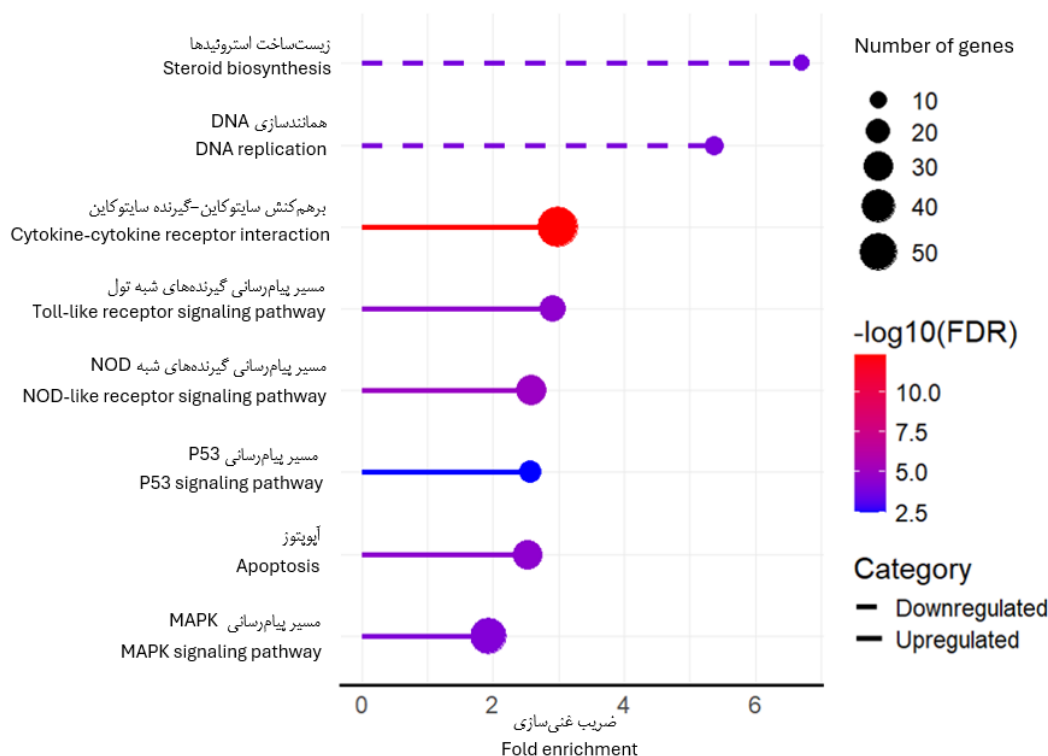
به بیان طیف وسیعی از ژن های سایتوکاینی، گیرنده های ایمنی و عوامل ضدپاتوژنی می شود. نقش NF- κ B در بسیاری از مطالعات، از جمله بررسی های انجام شده در طیور تحت تنش های میکروبی، به خوبی مستند شده و به عنوان یک واسطه مرکزی در تنظیم التهاب شناخته می شود (Zhang et al., 2019). در همین راستا، IRF-8 (ICSBP) که عمدتاً در ماکروفاژها و سلول های دندریتیک بیان می شود، با تنظیم تمایز سلول های ایمنی و تولید پاسخ های ضد میکروبی مؤثر شناخته شده است. این فاکتور در پاسخ به عفونت های باکتریایی نیز نقشی کلیدی دارد و کاهش عملکرد آن می تواند به اختلال در پاک سازی بیمارگرها منجر شود. این نتایج، در کنار بیان افزایش یافته ژن های دخیل در مسیرهای ایمنی، نشان می دهند که تنظیم ترنسکریپتومی پاسخ التهابی در کبد طیور به طور هدفمند و هماهنگ توسط این فاکتورهای رونویسی صورت می گیرد. هم راستایی این نتایج با مطالعات پیشین، از جمله تحقیقات هان و

در تحلیل غنی سازی فاکتورهای رونویسی (TFs) در گونه *Gallus gallus*، چهار فاکتور رونویسی اصلی IRF-1، IRF-2، NF- κ B و ICSBP (IRF-8) با مقادیر آماری معنی دار شناسایی شدند. این فاکتورها از عناصر کلیدی تنظیمی در مسیرهای ایمنی ذاتی و التهابی محسوب می شوند. IRF-1 به عنوان یکی از اعضای خانواده فاکتورهای تنظیمی اینترفرون، در القای بیان ژن های ضد ویروسی و تقویت پاسخ ایمنی اولیه نقش مهمی دارد. این موضوع پیش تر نیز در مطالعات انجام شده روی پرندگان و پستانداران تأیید شده است (Han et al., 2016). در مقابل، IRF-2 به عنوان تنظیم کننده منفی IRF-1 عمل کرده و با کنترل بیش فعالی مسیرهای ایمنی، تعادل در بیان ژن های پاسخ دهنده را برقرار می سازد.

NF- κ B (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) نیز یکی از فاکتورهای رونویسی کلیدی در تنظیم پاسخ های التهابی و بقای سلولی است که فعال سازی آن منجر

IRF-1 و *NF-κB*، اهداف کلیدی بالقوه برای تنظیم ژن‌های ایمنی در شرایط التهابی بوده و می‌توانند در توسعه رویکردهای ژنتیکی یا دارویی برای ارتقای سلامت طیور مورد توجه قرار گیرند.

همکاران و زایتسوف و همکاران (Han et al., 2016; Zaytsoff et al., 2022) اعتبار یافته‌ها را تقویت می‌کند و نقش بنیادین این فاکتورها در سازوکار دفاعی میزبان را برجسته می‌سازد. در نتیجه، می‌توان چنین برداشت کرد که فاکتورهای شناسایی‌شده، به‌ویژه



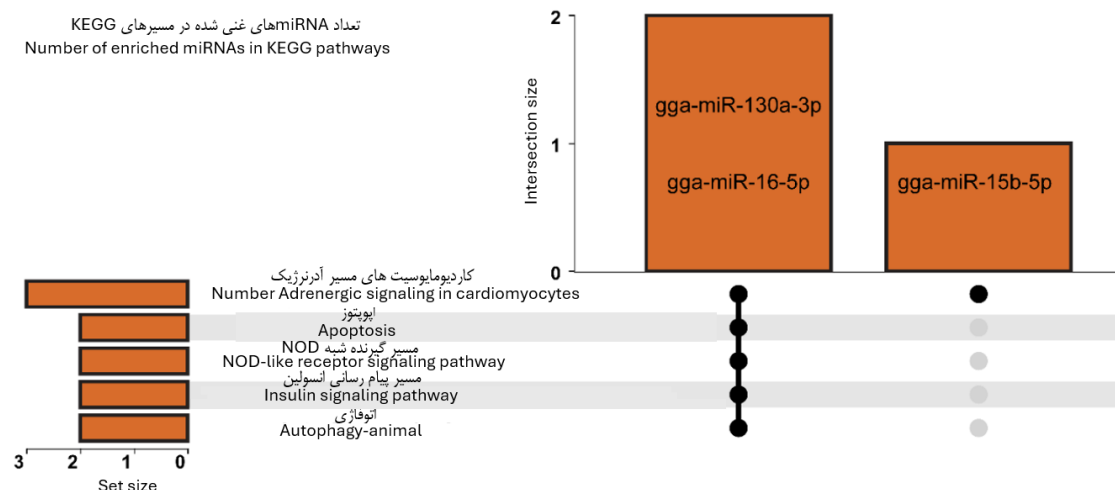
شکل ۵- نمودار غنی‌سازی مسیرهای زیستی (KEGG)
Figure 5- KEGG pathway enrichment analysis chart

مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول‌ها و کنترل مسیرهای مرتبط با التهاب در طیور اشاره کرده‌اند (Han et al., 2016). همچنین *gga-miR-16-5p* پیش‌تر به‌عنوان یک miRNA سرکوب‌گر در شرایط التهابی با توانایی مهار مسیر PI3K/Akt/NF-κB و القای آپوپتوز معرفی شده است (Zhang et al., 2019). هم‌پوشانی یافته‌های حاضر با مطالعات مذکور، نه‌تنها اعتبار نتایج را تقویت می‌کند، بلکه نقش مهم این miRNAها را به‌عنوان اهداف مولکولی قابل مداخله برجسته می‌سازد. با توجه به ارتباط این miRNAها با مسیرهای مرتبط با تنظیم ایمنی، مرگ سلولی و فرآیندهای خودتنظیمی اتوفاجی (autophagy)، به نظر می‌رسد که آن‌ها می‌توانند نقش مهمی در تعدیل پاسخ‌های التهابی و حفظ تعادل سلولی در شرایط شبه‌پاتولوژیک ایفا کنند. یافته‌های این بخش نشان می‌دهد که miRNAهای شناسایی‌شده نه‌تنها نشانگرهای زیستی بالقوه‌ای برای ارزیابی وضعیت ایمنی هستند، بلکه می‌توانند به‌عنوان اهداف مولکولی جهت مداخلات درمانی جدید مورد استفاده قرار گیرند. اعتبارسنجی

در این مطالعه، تحلیل عملکردی miRNAهای معنی‌دار نشان داد که مولکول‌هایی نظیر *gga-miR-16-5p* و *gga-miR-130a-3p* می‌توانند نقش تنظیمی کلیدی در مسیرهای مرتبط با ایمنی، التهاب، آپوپتوز و متابولیسم سلولی ایفا کنند. نتایج حاصل از آنالیز غنی‌سازی مسیرهای زیستی KEGG بیانگر آن بود که این miRNAها به‌طور معنی‌داری در پنج مسیر حیاتی شامل سیگنالینگ آدرنژیک در کاردیومیوسیت‌ها، آپوپتوز، سیگنالینگ گیرنده‌های NOD-like، مسیر انسولینی و اتوفاجی در حیوانات نقش دارند. یافته‌ها نشان دادند که *gga-miR-16-5p* و *gga-miR-130a-3p* در تمامی مسیرهای فوق مشارکت دارند و به‌عنوان عناصر تنظیمی مرکزی شناسایی شدند. همچنین *gga-miR-15b-5p* به‌طور اختصاصی در مسیر سیگنالینگ آدرنژیک فعال بود (شکل ۶). چنین الگوهایی از بیان و مشارکت در مسیرهای کلیدی زیستی، نقش چندگانه و تنظیمی این miRNAها را در تعادل بین پاسخ ایمنی و فرآیندهای متابولیکی برجسته می‌سازد. مطالعات پیشین نیز به نقش *gga-miR-130a-3p* در تنظیم

مزرعه‌ای می‌تواند گام بعدی در مسیر کاربردی‌سازی آن‌ها باشد.

تجربی عملکرد این miRNAها در مدل‌های حیوانی و شرایط



شکل ۶- تحلیل غنی‌سازی عملکردی miRNAهای معنی‌دار در مسیرهای زیستی KEGG

Figure 6- Functional enrichment plot of significantly associated miRNAs in KEGG biological pathways

التهاب القاشده توسط LPS گزارش شده است.

به‌منظور شناسایی ژن‌های کلیدی در شبکه تعامل پروتئین-پروتئین مرتبط با پاسخ ایمنی و پپتیدهای ضد میکروبی، سه شاخص مرکزیت شامل درجه، بین مرکزی و نزدیکی محاسبه شد. نتایج مربوط به ۱۰ گره دارای بالاترین امتیاز در این شاخص‌ها در جدول ۳ ارائه شده است. ژن *CAMP* با بیشترین میزان تعامل به‌عنوان مهم‌ترین گره مرکزی در شبکه شناخته شد. همچنین *DEFB7* با بالاترین مقدار بین مرکزی، نقش واسطه‌ای مؤثری در انتقال سیگنال‌ها و هماهنگی درون شبکه‌ای ایفا می‌نماید. علاوه بر این دو ژن، ژن‌های دیگری از جمله *CCL5*، *IL18*، *CATH3*، *IL1B*، *CXCL8L1*، *IRF7*، *NFKB1* و *RIPK2* نیز در میان گره‌های برتر قرار گرفتند. این ژن‌ها عمدتاً در مسیرهای تنظیم پاسخ التهابی، فعال‌سازی لکوسیت‌ها و سیگنالینگ ایمنی ذاتی نقش دارند.

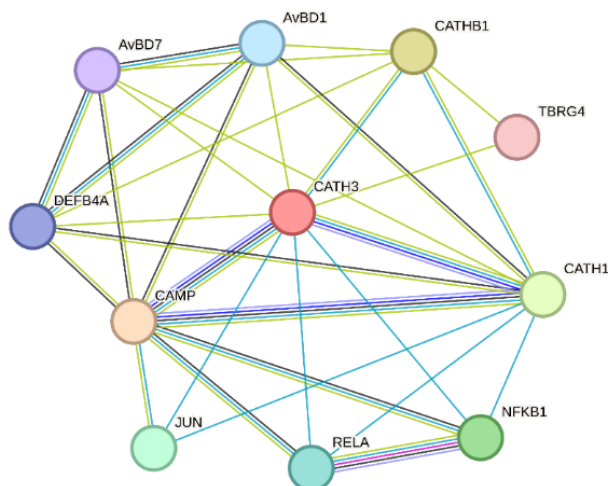
اگرچه استفاده از LPS به‌عنوان یک مدل استاندارد و مفید برای تحریک پاسخ التهابی سیستمیک در طیور شناخته شده است، اما این مدل نمی‌تواند تمامی پیچیدگی‌های بیماری‌های واقعی مانند نکروز انتريت (NE) را بازسازی کند. در NE، عوامل میکروبی به‌ویژه *Clostridium perfringens*، ترشحات توکسینی، آسیب مخاطی و تعامل میزبان-میکروبیوم نقش مهمی ایفا می‌کنند که مدل LPS به‌تنهایی قادر به بازنمایی کامل آن‌ها نیست. همچنین در شرایط طبیعی، اغلب این بیماری همراه با عوامل استرس‌زای تغذیه‌ای یا عفونت‌های ثانویه رخ می‌دهد، درحالی‌که مدل LPS معمولاً بدون این چالش‌های ترکیبی استفاده می‌شود. از سوی دیگر، پاسخ به LPS

شبکه تعامل پروتئین-پروتئین (PPI) ژن‌های مرتبط

با سیستم ایمنی و پپتیدهای ضد میکروبی: به‌منظور شناسایی بازیگران کلیدی در تعاملات مولکولی مرتبط با ایمنی ذاتی و پپتیدهای ضد میکروبی، شبکه تعامل پروتئین-پروتئین (PPI) از طریق پایگاه داده STRING برای ۱۱۲ ژن منتخب بازسازی شد. از این میان، ۹۵ ژن تعامل‌پذیر شناسایی و وارد تحلیل شبکه شدند. نتایج تحلیل توپولوژیکی نشان دادند که گره‌هایی نظیر *CAMP* و *DEFB7* از بالاترین شاخص‌های مرکزیت (Betweenness Degree) برخوردارند و به‌عنوان هاب‌های مرکزی در تنظیم پاسخ‌های ایمنی و دفاع میزبان ایفای نقش می‌کنند. تحلیل غنی‌سازی عملکردی این شبکه، مسیرهایی همچون فعال‌سازی لکوسیت‌ها، پاسخ‌های التهابی، و تنظیم پپتیدهای ضد میکروبی را به‌عنوان مسیرهای غالب برجسته ساخت. حضور ژن‌های *IRF7*، *NFKB1*، *CCL5*، *IL18*، *CATH3*، *IL1B*، *CXCL8L1* و *RIPK2* در میان مؤثرترین گره‌ها، بیانگر فعال‌سازی شبکه‌ای از پاسخ‌های وابسته به سایتوکاین‌ها، مسیرهای NOD-like و سیگنالینگ NF-κB است. یافته‌های این مطالعه با گزارش‌های قبلی هم‌راستا هستند؛ برای مثال زیتسافت و همکاران (Zaytsoff et al., 2022) نیز نقش برجسته *CAMP* و بتا-دفنسین‌ها را در محوریت شبکه‌های ایمنی طیور تأیید کرده‌اند. همچنین عملکرد واسطه‌ای *RIPK2* در انتقال سیگنال‌های مرتبط با شناسایی بیمارگرها و القای پاسخ التهابی، پیش‌تر در مطالعات اسپیر و همکاران و همچنین یانگ و همکاران (Speir et al., 2021; Yang et al., 2024) در زمینه

ترکیبی) برای تأیید عملکرد پپتیدهای ضد میکروبی و سایر یافته‌های این مطالعه توصیه می‌شود.

عمدتاً کوتاه‌مدت و وابسته به دوز و مسیر تزریق است، درحالی‌که بیماری NE می‌تواند چندمرحله‌ای یا مزمن باشد. بنابراین نتایج این پژوهش باید با احتیاط تفسیر شوند و انجام مطالعات تکمیلی با مدل‌های عفونی باکتریایی (مانند *C. perfringens*) یا مدل‌های



شکل ۷- شبکه تعامل پروتئین-پروتئین (PPI) ژن‌های مرتبط با سیستم ایمنی و پپتیدهای ضد میکروبی

Figure 7- Protein-protein interaction (PPI) network of genes associated with the immune system and antimicrobial peptides

جدول ۳- گره‌های کلیدی شبکه تعامل پروتئین-پروتئین (PPI) با بالاترین مقادیر مرکزیت توپولوژیکی شامل Degree، Closeness و Betweenness

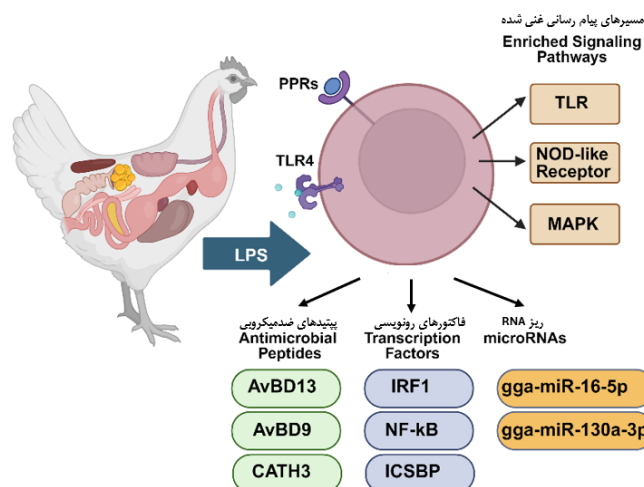
Table 3- Key nodes in the protein-protein interaction (PPI) network with the highest topological centrality values (Degree, Betweenness, and Closeness)

ژن	درجه	مرکزیت میانی	مرکزیت نزدیکی
Gene	Degree	Betweenness centrality	Closeness centrality
CAMP	45	1234.67	0.468
DEFB7	43	1290.22	0.459
CXCL8L1	41	1180.35	0.456
IL1B	39	1123.88	0.447
CATH3	37	1075.94	0.441
IL18	36	1040.71	0.437
CCL5	34	980.13	0.432
NFKB1	33	955.40	0.429
IRF7	32	921.68	0.426
RIPK2	30	875.23	0.421

بیماری‌زا دارند. در مقابل، کاهش بیان Leap2 نشان‌دهنده سرکوب مسیرهای تنظیمی خاص در پاسخ به التهاب بود. تحلیل فاکتورهای رونویسی و miRNAها از جمله *gga-miR-130a-3p* و *gga-miR-16-5p* حاکی از مشارکت آن‌ها در تنظیم مسیرهای کلیدی مانند آپوپتوز، متابولیسم، سیگنالینگ سایتوکاینی و مسیرهای NOD-like بود (شکل ۸).

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه حاضر با استفاده از آنالیز ترنسکریپتومیک RNA-Seq، شواهد روشنی از فعال‌سازی مسیرهای ایمنی ذاتی در بافت کبد جوجه‌های گوشتی تحت تحریک لیپوپلی‌ساکارید (LPS) ارائه داد. به‌طور خاص، مسیرهای TLR، NOD-like و MAPK به‌طور معناداری فعال شده و منجر به افزایش بیان ژن‌هایی نظیر *AvBD13* و *CATH3* شدند که نقشی حیاتی در دفاع اولیه علیه عوامل



شکل ۸- سیگنال دهی ایمنی القا شده توسط LPS و تنظیم ژن های ضد میکروبی در کبد مرغ
Figure 8- LPS-induced immune signaling and antimicrobial gene regulation in chicken liver

طیور معرفی می کند. یافته های این پژوهش از نقش کلیدی پپتیدهای ضد میکروبی و مسیرهای تنظیمی در ایمنی طیور پرده برداشتند. بر این اساس، استفاده از مکمل های ایمنی زا، انتخاب ژنتیکی برای تقویت ایمنی ذاتی، و جایگزینی آنتی بیوتیک ها با راهکارهای زیستی هدفمند می تواند به عنوان رویکردی مؤثر برای ارتقای سلامت و مقاومت طیور در برابر بیماری ها در نظر گرفته شود. انجام مطالعات تجربی در شرایط مزرعه و مدل های تجربی NE گام بعدی برای اعتبارسنجی این نتایج و کاربرد آن ها در صنعت مرغداری خواهد بود.

تحلیل عملکردی و شبکه تعاملات پروتئینی نیز ژن های CAMP و DEF7 را به عنوان گره های مرکزی در دفاع مخاطی و پاسخ سایتوکاینی معرفی کرد که تأکیدی بر نقش برجسته پپتیدهای ضد میکروبی در ایمنی میزبان دارد. این یافته ها در مجموع بر بازآرایی گسترده در الگوی بیان ژن ها در پاسخ به LPS و فعال سازی مسیرهای التهابی مؤثر در مقابله با عفونت های باکتریایی تأکید دارند. هم پوشانی نتایج با مطالعات مرتبط با *Clostridium perfringens* بر اعتبار استفاده از مدل LPS برای شبیه سازی مراحل اولیه بیماری NE افزوده و آن را به عنوان یک ابزار مناسب برای مطالعه ایمنی ذاتی

References

1. Akira, S., & Takeda, K. (2004). Toll-like receptor signalling. *Nature Reviews Immunology*, 4(7), 499–511. <https://doi.org/10.1038/NRI1391>
2. Buncic, S., Antic, D., & Blagojevic, B. (2016). Microbial ecology of poultry and poultry products. *Modeling the Microbial Ecology of Foods: Quantitative Microbiology in Food Processing*, 483–498. <https://doi.org/10.1002/9781118823071.CH24>
3. Cuperus, T., Coorens, M., van Dijk, A., & Haagsman, H. P. (2013). Avian host defense peptides. *Developmental & Comparative Immunology*, 41(3), 352–369. <https://doi.org/10.1016/J.DCI.2013.04.019>
4. Gautam, H., Shaik, N. A., Banaganapalli, B., Popowich, S., Subhasinghe, I., Ayalew, L. E., Mandal, R., Wishart, D. S., Tikoo, S., & Gomis, S. (2024). Elevated levels of butyric acid in the jejunum of an animal model of broiler chickens: From early onset of *Clostridium perfringens* infection to clinical disease of necrotic enteritis. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 15(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/S40104-024-01105-5/FIGURES/8>
5. Guo, F., Zhang, Y., Ma, J., Yu, Y., Wang, Q., Gao, P., Wang, L., Xu, Z., Wei, X., & Jing, M. (2022). m6A mRNA methylation was associated with gene expression and lipid metabolism in liver of broilers under lipopolysaccharide stimulation. *Frontiers in Genetics*, 13. <https://doi.org/10.3389/FGENE.2022.818357/PDF>
6. Han, B., Lian, L., Li, X., Zhao, C., Qu, L., Liu, C., Song, J., & Yang, N. (2016). Chicken gga-miR-130a targets HOXA3 and MDFIC and inhibit Marek's disease lymphoma cell proliferation and migration. *Molecular Biology Reports*, 43(7), 667–676. <https://doi.org/10.1007/S11033-016-4002-2>
7. Kaiser, P. (2010). Advances in avian immunology--prospects for disease control: A review. *Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A.*, 39(5), 309–324. <https://doi.org/10.1080/03079457.2010.508777>
8. Lee, C. K., Hu, X., Decker, T., & Platanitis, E. (2018). Regulatory networks involving STATs, IRFs, and NFκB in inflammation. *Frontiers in Immunology*, 9, 2542. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02542>
9. Lu, Y., Sarson, A. J., Gong, J., Zhou, H., Zhu, W., Kang, Z., Yu, H., Sharif, S., & Han, Y. (2009). Expression

- profiles of genes in toll-like receptor-mediated signaling of broilers infected with *Clostridium perfringens*. *Clinical and Vaccine Immunology*, 16(11), 1639–1647. <https://doi.org/10.1128/CVI.00254-09/ASSET/0D3F1962-0F9B-4768-A74C-59C522CD30E2/ASSETS/GRAPHIC/ZCD0110936690003.JPEG>
10. McDevitt, R. M., Brooker, J. D., Acamovic, T., & Sparks, N. H. C. (2006). Necrotic enteritis; a continuing challenge for the poultry industry. *World's Poultry Science Journal*, 62(2), 221–247. <https://doi.org/10.1079/WPS200593>
11. Medzhitov, R. (2007). Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*, 449(7164), 819–826. <https://doi.org/10.1038/NATURE06246>.
12. Moore, R. J. (2024). Necrotic enteritis and antibiotic-free production of broiler chickens: Challenges in testing and using alternative products. *Animal Nutrition*, 16, 288–298. <https://doi.org/10.1016/J.ANINU.2023.08.012>
13. Park, B. S., & Lee, J. O. (2013). Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. *Experimental and Molecular Medicine*, 45(12), e66–e66. <https://doi.org/10.1038/EMM.2013.97;KWRD=BIOMEDICINE>
14. Sarson, A. J., Parvizi, P., Lepp, D., Quinton, M., & Sharif, S. (2008). Transcriptional analysis of host responses to Marek's disease virus infection in genetically resistant and susceptible chickens. *Animal Genetics*, 39(3), 232–240. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2052.2008.01710.X>
15. Shojadoost, B., Vince, A. R., & Prescott, J. F. (2012). The successful experimental induction of necrotic enteritis in chickens by *Clostridium perfringens*: A critical review. *Veterinary Research*, 43(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-74/TABLES/3>
16. Speir, M., Djajawi, T. M., Conos, S. A., Tye, H., & Lawlor, K. E. (2021). Targeting RIP kinases in chronic inflammatory disease. *Biomolecules*, 11(5), 646. <https://doi.org/10.3390/BIOM11050646>
17. Szkopek, D., Mendel, M., Kinsner, M., Fotschki, B., Juśkiewicz, J., Kozłowski, K., Matusevičius, P., & Konieczka, P. (2024). Interaction between peroxisome proliferator-activated receptors and cannabidiol in the gut of chickens applied to different challenge conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(21), 11398. <https://doi.org/10.3390/IJMS252111398>
18. Van Immerseel, F., De Buck, J., Pasmans, F., Huyghebaert, G., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R. (2004). *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animals and public health. *Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A.*, 33(6), 537–549. <https://doi.org/10.1080/03079450400013162>
19. Yang, C., Machado da Silva, M. C., Howell, J. A., Larochelle, J., Liu, L., Gunraj, R. E., Pinheiro de Oliveira, A. C., & Candelario-Jalil, E. (2024). RIPK2 is crucial for the microglial inflammatory response to bacterial muramyl dipeptide but not to lipopolysaccharide. *BioRxiv: The Preprint Server for Biology*, 25(21), 11754. <https://doi.org/10.3390/ijms252111754>
20. Zaytsoff, S. J. M., Montina, T., Boras, V. F., Brassard, J., Moote, P. E., Uwiera, R. R. E., & Inglis, G. D. (2022). Microbiota transplantation in day-old broiler chickens ameliorates Necrotic Enteritis via modulation of the intestinal microbiota and host immune responses. *Pathogens*, 11(9), 972. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS11090972/S1>
21. Zhang, K., Han, Y., Zhao, Y., Sun, Y., Zou, M., Fu, Y., & Peng, X. (2019). Upregulated gga-miR-16-5p inhibits the proliferation cycle and promotes the apoptosis of MG-infected DF-1 cells by repressing PIK3R1-mediated the PI3K/Akt/NF-κB pathway to exert anti-inflammatory effects. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), 1036. <https://doi.org/10.3390/IJMS20051036>

Research Article

Vol. 18, No.1, 2026, p. 151-168



Comparison of Colonies Performance of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Housed in Open-Bottom and Closed-Bottom Langstroth Wooden Hives

Babak Rokhzad¹, Ataollah Rahimi^{1*}, Hamidreza Bahmani¹, Saleh Salehi¹, Baharak Mohammadian¹

1- Animal Science Research Department, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Sanandaj, Iran

*Corresponding Author's Email: ata.rahimi@areeo.ac.ir

How to cite this article:

Received: 14-12-2025

Revised: 14-08-2026

Accepted: 26-04-2026

Available Online: 04-04-2026

Rokhzad, B., Rahimi, A., Bahmani, H., Salehi, S., & Mohammadian, B. (2026). Comparison of colonies performance of honey bee (*Apis mellifera* L.) housed in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(1), 151-168. (in Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/IJASR.2026.96981.1285>

Introduction: Many flowering plants rely on honey bees (*Apis mellifera* L.) for pollination. Any human or natural factor that threatens the survival of a honey bee colony can have a major impact on plant production. Various threats and factors affect honey bee colonies and beekeeping success, including genotype, internal hive factors (such as the queen, bee pests and diseases), and external hive factors (such as hive type, weather conditions, temperature, humidity, etc.). One of the factors that has a great impact on the success of beekeeping and increasing the performance of honey bee colonies is the type of hive. Open-bottom hives have been used in European countries including Germany for decades, but the use of open-bottom hives in Iran is new. There is not much information available to beekeepers about the use of open-bottom hives in Iran. For this reason, beekeepers do not routinely use these hives. The limited number of beekeepers who use these hives are always concerned about hive losses, especially during the cold seasons. Few studies have been conducted in Iran on the type of hive, especially open-bottom and closed-bottom wooden Langstroth hives, hives made of different materials, and the effect of hive type on the performance of honeybee colonies. Therefore, the present study aimed to compare the performance of honey bee colonies (*Apis mellifera* L.) housed in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the climatic conditions of Kurdistan province, Iran during 2019-2021.

Material and Methods: The present study was conducted in a completely randomized design with two treatments (the first treatment was open-bottomed Langstroth wooden hives, and the second treatment was closed-bottomed Langstroth wooden hives) and seven replications. In May 2019, a colony with a modified Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*) queen was purchased from the Animal Science Research Institute of Iran, and 20 sister queens were raised from this hive in the climatic conditions of Sanandaj county, Kurdistan province. At the same time, seven open-bottomed Langstroth wooden colonies and seven closed-bottomed Langstroth wooden colonies were prepared for the introduction of reared queens. Four frames of bees (preferably frames containing larvae and pupae) were transferred from the supporting colonies into open and closed-bottom hives for the implementation of the project four days before the birth of virgin queens. Then, the hives were placed one meter apart inside the Gerizeh Research Station of the Kurdistan Agricultural and



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

 <https://doi.org/10.22067/IJASR.2026.96981.1285>

Natural Resources Research and Education Center. One day before the queens were born, queen cells were removed from the studied hives, and then virgin queens were simultaneously introduced into open-bottom and closed-bottom hives. After 10 days and observing egg laying to ensure successful mating of the queens, the hives were simultaneously homogenized in terms of population (adults and brood) according to the instructions of Delaplane et al. (2013). The colonies were maintained in the pastures of the Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center until the following year, and then the studied traits were measured. In the present study, honey production, pollen collection, brood population, adult population, overwintering ability, and Varroa mite infestation traits were investigated in the studied colonies. In the present study, temperature and humidity inside the colonies were also measured during the project implementation.

Results and Discussion: The results of analysis of variance showed that the effect of treatment on the studied traits was significant ($p<0.01$) in the present study. The results of comparing the means based on Tukey's method at a probability level of 1% showed that the highest mean of honey production, pollen collection, overwintering performance, brood population, and adult population were related to open-bottomed Langstroth wooden hives, and the lowest of these traits were related to closed-bottomed Langstroth wooden hives. Also, the highest average Varroa mite infestation with an average of 165 mites was associated with closed-bottom Langstroth wooden hives, and the lowest with an average of 105 mites was associated with open-bottom Langstroth wooden hives.

Conclusion: Our findings show that the open-bottomed Langstroth wooden hives performed better than closed-bottomed Langstroth wooden colonies in terms of the traits studied in the present study. Therefore, considering the significant superiority of all studied traits in open-bottom Langstroth wooden hives, the use of open-bottom Langstroth wooden hives can be recommended to improve the functional traits of colonies and increase the productivity of apiaries in the climatic conditions of Kurdistan province and other neighboring provinces with similar climatic conditions.

Keywords: *Apis mellifera meda*, Functional traits, Hive type, Kurdistan, Langstroth

مقایسه عملکرد کلنی‌های زنبورعسل (*Apis mellifera* L.) نگهداری شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته

بابک رخزاد^۱، عطااله رحیمی^{۱*}، حمیدرضا بهمنی^۱، صالح صالحی^۱، بهارک محمدیان^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۰۶

چکیده

پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار و هفت تکرار با هدف مقایسه عملکرد کلنی‌های زنبورعسل (*Apis mellifera* L.) نگهداری شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته طی سال‌های ۱۳۹۸ تا ۱۴۰۰ انجام شد. تیمارها شامل کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته بودند. در سال اول مطالعه (۱۳۹۸)، کلنی‌های آزمایشی از لحاظ سن ملکه و جمعیت (نوزادان و زنبورهای بالغ) مورد همسان‌سازی قرار گرفتند. در مطالعه حاضر، صفاتی از قبیل تولید عسل، جمع‌آوری گرده، جمعیت نوزادان، جمعیت زنبورهای بالغ، آلودگی به کنه واروا و توان زمستان‌گذرانی کلنی‌های زنبورعسل مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار بر صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود ($p < 0.01$). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میانگین صفات تولید عسل (۱۸/۳ کیلوگرم)، جمع‌آوری گرده (۱۷۵/۶۸ گرم)، جمعیت نوزادان (۱۲/۵ قاب)، جمعیت زنبورهای بالغ (۸/۵ قاب) و توان زمستان‌گذرانی (۰/۶۸) مربوط به کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کمترین میانگین این صفات مربوط به کندوهای چوبی لانگستروت کف بسته بود. همچنین، بیشترین میانگین آلودگی به کنه واروا با میانگین ۱۶۵ کنه مربوط به کندوهای چوبی لانگستروت کف بسته و کمترین آن با میانگین ۱۰۵ کنه مربوط به کندوهای چوبی لانگستروت کف باز بود. با عنایت به برتری معنی‌دار همه صفات مورد مطالعه در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز در مطالعه حاضر می‌توان استفاده از این کندوها را برای بهبود صفات عملکردی کلنی‌های زنبورعسل و افزایش بازده اقتصادی زنبورستان‌ها در شرایط اقلیمی استان کردستان و سایر استان‌های همجوار با شرایط آب و هوایی مشابه توصیه کرد.

واژه‌های کلیدی: زنبورعسل ایرانی، صفات عملکردی، کردستان، لانگستروت، نوع کندو

مقدمه

و آب و هوا و پوشش گیاهی عوامل اصلی مؤثر بر این حرفه هستند (Erdogan et al., 2019). تهدیدات و فاکتورهای مختلف کلنی‌های زنبورعسل و موفقیت در امر زنبورداری را تحت تأثیر قرار می‌دهند که از آن جمله می‌توان به ژنوتیپ، عوامل داخلی کندو (مثل ملکه، آفات و بیمارهای زنبورعسل) و عوامل خارجی کندو (مثل نوع کندو، شرایط آب و هوایی، دما، رطوبت و غیره) اشاره کرد (Al-Qarni, 2006; Tan et al., 2012; Abou-Shaara et al., 2013; Abou-Shaara, 2014).

اگرچه تحقیقات زیادی در مورد عوامل مؤثر بر زنبورداری در جهان انجام شده است، اما مطالعات بسیار کمی در ایران به‌ویژه در مورد تأثیر انواع کندو بر عملکرد کلنی‌ها که برای زنبورداری از اهمیت بالایی برخوردار است، صورت گرفته است. در طول دهه‌های اخیر، با ورود آفات خطرناکی مانند کنه واروا (*Varroa destructor*)

زنبورعسل (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758) یکی از مهم‌ترین حشرات اجتماعی موجود در طبیعت است که نقش برجسته‌ای در گرده افشانی گل‌ها، تأمین امنیت غذایی و اشتغال‌زایی در صنایع جانبی دارد (Rahimi & Parichehreh, 2024; Karami et al., 2025). زنبورداری به‌عنوان یک شاخه ضروری در کشاورزی در نظر گرفته می‌شود و مطالعات در این زمینه در جهان رو به گسترش است. پرورش زنبورعسل یک سیستم تولیدی وابسته به طبیعت است

۱- بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی

کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران

(Email: ata.rahimi@areeo.ac.ir)

(*) نویسنده مسئول:

<https://doi.org/10.22067/IJASR.2026.96981.1285>

Anderson & Trueman, 2000) به کلنی‌های زنبورعسل، سلامتی زنبورها به‌طور خاص کاهش یافته است (Ramsey et al., 2019; Islam et al., 2023; Rahimi et al., 2025)، به‌طوری‌که این موضوع منجر به انجام فعالیت‌های زیادی در جهت شناسایی "انواع آفات و بیماری‌های موجود در کلنی‌ها" که به جهات مختلف حیات زنبورعسل را تهدید می‌کنند، شده است (Rashid et al., 2020; Wueppenhors et al., 2024). از سوی دیگر، استفاده از روش‌های مدیریتی برای کنترل برخی از آفات و بیماری‌های زنبورعسل و افزایش عملکرد زنبورستان باعث شده است که استفاده از انواع مختلف کندوها مدنظر زنبورداران قرار گیرد. یکی از انواع کندوهای مورد استفاده در سال‌های اخیر در ایران کندوهای چوبی لانگستروت کف باز است که بخش زیرین آن باز بوده و به‌وسیله صفحات مشبک یا توری مانع عبور زنبورها از زیر کندو به داخل آن می‌شود اما به‌دلیل باز بودن، ورود هوا به داخل کندو راحت‌تر صورت می‌گیرد. همچنین، باز بودن کف کندو و نصب صفحات مشبک یا توری در کف کندو راهی برای حذف کنه‌هایی است که به دلایل مختلف از بدن زنبورها سقوط می‌کنند. استفاده از کندوی کف باز در کشور آلمان و دیگر کشورهای اروپای مرکزی از سال ۱۹۷۰ کاربرد داشته و زنبورداران این مناطق به علت مزایای آن نسبت به کندوهای کف بسته رضایت مطلوبی را هنگام استفاده از این نوع کندو گزارش کردند (Traynor, 2007). در مطالعه‌ای گزارش شد که استفاده از کندوهای کف باز مزایای زیادی از قبیل آرام کردن زنبورها، نیش زدن کمتر زنبورها، جلوگیری از تجمع رطوبت در داخل کندو و کپک زدگی کلنی در فصول سرد و مرطوب سال، جلوگیری از گرمای زیاد داخل کندو، جلوگیری از خفگی زنبورها، کنترل آفات و بیماریها از جمله کنه واروا و نوزما (*Nosema apis*)، افزایش عملکرد و صرفه جویی در نیروی انسانی در مقایسه با کندوهای کف بسته دارد (Ataian, 2010). در پژوهش دیگری، محققان دما و رطوبت را در انواع مختلف کندو مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند دما و رطوبت در کندوهای لانگستروت چوبی کف باز، لانگستروت چوبی کف بسته، پلی استایرن ساده، پلی استایرن روکش‌دار و پلی استایرن روکش‌دار کف باز متفاوت است. این محققان کندوهای پلی استایرن روکش‌دار و چوبی کف باز را به‌دلیل تأمین دما و رطوبت ایده‌آل برای کلنی زنبورعسل به زنبورداران برای استفاده در زنبورستان توصیه کردند (Amiri, 2025; Ghanatsaman et al., 2025). همچنین، در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۴، تأثیر نوع کندوی چوبی و فومی بر پرورش نوزادان، تولید عسل و جمع‌آوری گرده کلنی‌های زنبور عسل (*A. mellifera*) در مصر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که مساحت نوزادان زنبورهای کارگر در کندوهای فومی بیشتر از کندوهای چوبی بود، ولی از لحاظ مساحت نوزادان زنبور نر، جمع‌آوری گرده، تعداد سلول ملکه و تولید عسل بین این دو نوع کندو تفاوت معنی‌داری

مشاهده نشد. نتایج این پژوهش نشان داد که کندوی چوبی برای پرورش زنبورعسل مناسب‌تر از کندوهای فومی در مطالعه حاضر بوده و کندوهای چوبی برای استفاده در زنبورستان‌های این کشور پیشنهاد شد (Taha, 2014). در پژوهش دیگری، اثر کندوهای چوبی، پلی استایرن و کندوهای عایق کامپوزیتی بر رشد کلنی‌های زنبورعسل مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی، صفاتی مانند تعداد قاب‌های زنبورهای بالغ، رشد نوزادان، افزایش وزن در دوره جریان شهد، فعالیت پرواز زنبورها، واکنش پرخاشگری و میزان تولید عسل به‌عنوان نشانگرهای انتخاب‌شده برای رشد کندو مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین بهره‌وری کلنی به‌طور معنی‌داری ($p < 0.01$) از لحاظ صفات مورد بررسی مربوط به کندوهای ساخته‌شده از جنس چوب بود، به‌طوری‌که تولید عسل آن‌ها تقریباً ۳۵ درصد بیشتر از کندوهای ساخته‌شده از جنس پلی استایرن و ۱۴ درصد بیشتر از کندوهای عایق‌شده از جنس کامپوزیت بود (Erdogan et al., 2019).

عمده فعالیت زنبورداری و تعداد کلنی‌های زنبورعسل کشور مربوط به مناطق شمال غرب و غرب کشور است. زنبورداران این مناطق به علت سرمای شدید و طولانی‌مدت زمستان و نوسانات دمایی ماه‌های ابتدایی سال (فروردین و اردیبهشت ماه) و نگرانی از سرمازدگی و تلفات کلنی‌ها در این فصول به‌طور کلی از کندوهای کف باز استفاده نمی‌کنند یا خیلی محدود از این کندوها استفاده می‌کنند. براساس بررسی‌های انجام‌شده، متأسفانه در کشور، کمترین مطالعه در خصوص مقایسه کندوهای مختلف تولیدی با در نظر گرفتن عوامل اصلی مانند عملکرد کلنی‌ها انجام شده است و اطلاعات مدون و مطالعات بر مبنای اصول علمی، اندک یا تقریباً در دسترس نیست. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف مقایسه عملکرد کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در شرایط اقلیمی استان کردستان انجام شد.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان اجرای آزمایش

پژوهش حاضر طی بازه زمانی ۱۳۹۸ الی ۱۴۰۰ برای مقایسه عملکرد کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در شرایط اقلیمی شهرستان سنندج استان کردستان انجام شد.

نحوه اجرای آزمایش

مطالعه حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار (تیمار اول کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و تیمار دوم کندوهای چوبی لانگستروت کف بسته) و هر تیمار در هفت تکرار اجرا گردید. در

و کف بسته معرفی شد. بعد از گذشت ۱۵ روز و مشاهده یک قاب پشت‌ورو تخم‌ریزی و اطمینان از جفت‌گیری موفقیت‌آمیز ملکه‌ها، به‌طور هم‌زمان اقدام به همسان‌سازی کندوها از لحاظ جمعیت براساس دستورالعمل دلاپلین و همکاران (Delaplane et al., 2013) گردید. کلنی‌ها بعد از اتمام شهد و گرده در منطقه (مرداد ۱۳۹۸) برای مدت محدودی (۳۶ روز به‌صورت یک روز در میان) با شربت شکر (۱ به ۲) تغذیه و سپس در ابتدای آبان ماه ۱۳۹۸ برای دوره زمستان‌گذرانی آماده گردید. با توجه به ضعیف بودن طبیعت از لحاظ شهد و گرده در اسفندماه تغذیه شدند. مجدداً کلنی‌ها با استفاده از خمیر شیرین در اسفندماه تغذیه شدند. مجدداً کلنی‌ها در اواخر فروردین ماه ۱۳۹۹ مورد بازدید و سپس از لحاظ جمعیت مورد همسان‌سازی قرار گرفتند. از آن زمان به بعد، کلنی‌های آزمایشی برای ارزیابی صفات تولید عسل، جمع‌آوری گرده، جمعیت نوزادان، جمعیت زنبورهای بالغ، توان زمستان‌گذرانی و آلودگی به کنه واروا مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند.

اردیبهشت ماه ۱۳۹۸ یک کلنی با ملکه اصلاح‌شده زنبور عسل ایرانی از مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور خریداری و از این‌کندو، ۲۰ ملکه خواهری در شرایط اقلیمی شهرستان سنندج استان کردستان (ایستگاه تحقیقاتی گریزه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان (جدول ۱) پرورش داده شد. هم‌زمان با این کار، هفت کلنی چوبی لانگستروت کف باز و هفت کلنی چوبی لانگستروت کف بسته برای معرفی ملکه‌های پرورش داده‌شده از شرکت‌های معتبر خریداری و برای ادامه پروژه آماده گردید (شکل ۱). سپس، چهار روز قبل از تولد ملکه‌های باکره، چهار قاب زنبور (ترجیحاً قاب‌های حاوی لارو و شفیره) از کلنی‌های پشتیبان به داخل کندوهای کف باز و کف بسته منتقل و برای ادامه و اجرای پروژه، کندوها به فاصله یک متر از هم در داخل ایستگاه تحقیقاتی گریزه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان مستقر شدند. یک روز قبل از تولد ملکه‌ها، اقدام به شاخون‌تراشی کندوهای آزمایشی گردید و سپس هم‌زمان ملکه‌های باکره به کندوهای کف باز

جدول ۱- مختصات جغرافیایی، دما و بارش سالیانه ایستگاه‌های تحقیقاتی در مطالعه حاضر

Table 1- Geographical coordinates, annual rainfall and average temperature of research stations in the present study

ایستگاه تحقیقاتی	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع	بارش سالیانه (میلی‌متر)	متوسط دما (درجه‌سانتی‌گراد)
Research station	Longitude	Latitude	Altitude	Annual rainfall (mm)	Average temperature (°C)
Gerizeh station	68° 45' 60.60	39° 05' 173.05	1384	425	18.4



شکل ۱- استقرار و آماده‌سازی کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در شرایط اقلیمی استان کردستان در مطالعه حاضر

Figure 1- Setting up and preparing open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the climatic conditions of Kurdistan province in the present study

در منطقه (مرداد ۱۳۹۹)، وزن عسل برداشتی و باقی‌مانده در هر کندو محاسبه شد. تفاوت وزن قاب‌های عسل هر کندو قبل و بعد از استخراج عسل، میزان عسل تولیدی قاب‌ها و مجموع عسل

ارزیابی صفات مورد مطالعه

تولید عسل

برای ارزیابی مقدار عسل تولیدی کلنی‌ها در فصل برداشت عسل

مترمربع عسل در دو طرف قاب را معادل ۳۰۴ گرم عسل در نظر گرفته می‌شود، استفاده گردید. با قرار دادن این کادرها روی هر دو طرف قاب‌های باقی‌مانده عسل در کندوها، در مجموع سطح عسل باقی‌مانده در هر کلنی محاسبه و ثبت گردید. در پایان با مجموع عسل باقی‌مانده و برداشتی، کل عسل تولیدی هر کندو به دست آمده و برای آن کندو ثبت شد. ارزیابی این صفت روی تمام کلنی‌های مورد مطالعه در فصل برداشت عسل در منطقه (مرداد ۱۳۹۹) انجام گردید.

استخراج‌شده از قاب‌های هر کلنی، میزان عسل تولیدی آن کلنی را تشکیل داد. جهت ارزیابی وزن دقیق عسل باقی‌مانده، از روش ارزیابی سطح عسل باقی‌مانده روی قاب‌ها به وسیله قاب‌های مخصوص که با سیم گالوانیزه به مسطیل ۵×۱۰ سانتی‌متر کادربندی شده است، استفاده گردید (شکل ۲) برای تخمین عسل باقی‌مانده با استفاده از تجربیات محققان ایرانی (Yarahmadi et al., 2008) و دیگر کشورها از روش تبدیل سطح به وزن، بدین ترتیب که هر دسی-



شکل ۲- ارزیابی عسل باقی‌مانده در کندو با استفاده از قاب مخصوص کادربندی‌شده

Figure 2- Evaluation of remaining honey in the hive by a specially framed frame

بودند، متناسب با جمعیت روی سطح قاب، قسمتی از یک قاب به‌عنوان جمعیت زنبورهای بالغ محسوب گردید. مجموع جمعیت قاب-ها به‌عنوان جمعیت کندو در نظر گرفته و ثبت شد (Rahimi et al., 2023).

جمعیت زنبورهای نوزاد

تعیین جمعیت نوزادان نیز در دو مرحله در ماه‌های خرداد و شهریور ۱۳۹۹ روی تمام کلنی‌ها انجام شد. برای بالا بردن دقت کار، از یک قاب خالی که با سیم گالوانیزه به مربع‌های ۵×۵ سانتی‌متر تقسیم شده بود، استفاده گردید و سپس با انطباق قاب کادربندی‌شده روی تک تک قاب‌های نوزادان هر کلنی، تعداد کادرهای نوزاد در هر قاب شمارش و سطح پوشش نوزادان برحسب سانتی‌مترمربع محاسبه شد (Rahimi et al., 2023).

توان زمستان‌گذرانی

برای ارزیابی صفت توان زمستان‌گذرانی، میزان جمعیت زنبورهای بالغ و ذخیره عسل تک تک کندوهای مورد مطالعه در دو نوبت مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیابی نوبت اول در اواسط پاییز ۱۳۹۹ هنگام

جمع‌آوری گرده

اندازه‌گیری سطح گرده ذخیره‌شده براساس دستورالعمل سپهری و همکاران (Sepehri et al., 2007) انجام شد. بدین ترتیب، طول و عرض یک کادر خالی به اندازه‌های دو سانتی‌متری درج و سپس به‌وسیله سیم گالوانیزه کادربندی گردید. شبکه‌های مربع به‌دست‌آمده، مساحتی برابر با چهار سانتی‌متر داشت. با منطبق نمودن کادر تقسیم‌بندی‌شده بر روی تک تک شان‌های کلنی‌ها و شمارش تعداد شبکه‌های مربع پر از گرده، سطح گرده ذخیره‌شده کلنی‌ها ارزیابی شد. ارزیابی این صفت در ماه‌های اردیبهشت-خرداد سال ۱۳۹۹، هر هفته یک بار به تعداد چهار بار روی کلنی‌های مورد مطالعه انجام گردید.

جمعیت زنبورهای بالغ

ارزیابی جمعیت زنبورهای بالغ در طی اجرای پروژه در دو مرحله (نوبت اول در خرداد و نوبت دوم در شهریور) در سال ۱۳۹۹ انجام شد. تعیین جمعیت زنبورهای بالغ به‌صورت بصری صورت گرفت. شیوه این ارزیابی بدین ترتیب بود که در موقع بازرسی کندو، قابی که دو طرف آن پوشیده از زنبور بالغ بود، به‌عنوان یک قاب کامل زنبور لحاظ گردید و در صورتی که زنبورهای بالغ بخشی از قاب را پوشش داده

ثبت دما و رطوبت

برای ثبت دما و رطوبت در تیمارهای آزمایشی، سنسور ثبت دما و رطوبت در داخل کندو و بیرون کندو نصب و دما و رطوبت به صورت هر یک ساعت در ماه‌های مختلف سال ثبت گردید (شکل ۳).

تجزیه آماری

بعد از حصول اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS V.9.4 و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون توکی به وسیله همین نرم‌افزار در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

مدل آماری مورد استفاده در مطالعه حاضر به صورت معادله ۲ بود:

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

که در آن، Y_{ij} : مقدار مشاهده ij ام، μ : میانگین جامعه، α_i : اثر ثابت i ام و ε_{ij} : اثر خطای آزمایشی است.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد بررسی

صفت تولید عسل

نتایج تجزیه واریانس صفت تولید عسل کلنی‌های زنبورعسل نگهداری شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در **جدول ۲** ارائه شده است. نتایج نشان داد که اثر تیمار بر صفت تولید عسل کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه معنی‌دار بود ($p < 0.01$). نتایج مقایسه میانگین ارائه شده در **شکل ۴** نشان داد که بیشترین میزان تولید عسل با میانگین ۱۸/۳ کیلوگرم مربوط به تیمار کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کمترین مقدار این صفت با میانگین ۱۱/۳ کیلوگرم مربوط به کندوهای چوبی لانگستروت کف بسته بود. از دلایل این برتری معنی‌دار کندوهای چوبی لانگستروت کف باز می‌توان به تهویه بهتر کلنی و کاهش تنش گرمایی در فصول گرم سال، کاهش مصرف انرژی زنبورها برای خنک نگه داشتن زنبورها در تابستان، کاهش رطوبت درون کلنی و در نتیجه سلامت بیشتر کلنی‌های کف باز اشاره کرد. در یک مطالعه‌ای، اثر پنج نوع کندوی لانگستروت چوبی کف بسته، لانگستروت چوبی کف باز، پلی‌استایرن ساده، پلی‌استایرن روکش‌دار و پلی‌استایرن روکش‌دار کف باز روی صفت تولید عسل توسط امیری قنات سامان (Amiri, 2024) مورد مقایسه قرار گرفت.

آماده‌سازی کلنی‌ها برای زمستان‌گذرانی و ارزیابی نوبت دوم در اوایل بهار ۱۴۰۰ هنگام شروع فعالیت کلنی‌ها انجام شد. پس از ارزیابی جمعیت و ذخیره عسل در پاییز و بهار سال بعد، از ذخیره عسل آن کندو در بهار نسبت به پاییز و جمعیت بهار نسبت به پاییز آن کندو نسبت گرفته و سپس میانگین آن‌ها به عنوان توان زمستان‌گذرانی آن کلنی ثبت گردید (Tahmasebi et al., 2018) و همین ارزیابی برای تمام کلنی‌های مورد مطالعه انجام شد.

معادله (۱)

$$\left(\frac{\text{جمعیت کندو در اول بهار}}{\text{جمعیت کندو در پاییز}} + \frac{\text{ذخیره عسل کندو در اول بهار}}{\text{ذخیره عسل کندو در پاییز}} \right) = \text{توان زمستان‌گذرانی کندو}$$

آلودگی کلنی‌ها به کنه واروآ

نرخ آلودگی اولیه و بعد از اجرای آزمایش کندوها به کنه واروآ با استفاده از دستورالعمل دیتمان و همکاران (Dietmann et al., 2013) برای زنبورهای بالغ و براساس دستورالعمل زمنه و همکاران (Zemene et al., 2013) برای نوزادان ارزیابی شد. برای تعیین نرخ آلودگی اولیه و بعد از اجرای آزمایش زنبورهای بالغ به کنه واروآ، سه نمونه تقریباً ۱۰۰ تایی زنبور از هر کلنی به صورت جداگانه از شان‌های نوزادان در ابتدا و انتهای دوره آزمایشی برداشته و آن‌ها را به داخل یک شیشه ۱۵۰ میلی‌لیتری که حاوی آب و صابون بود، منتقل گردید. سپس، سه دقیقه شیشه حاوی زنبورها را تکان داده و بعد از یک دقیقه، اکثر زنبورهای داخل شیشه به سطح محلول آمده و کنه‌ها از بدن زنبورها جدا شده و در کف شیشه قرار گرفتند. زنبورهای عسل را با کمک یک جفت پنس از محلول داخل شیشه خارج کرده و به صورت جداگانه زنبورها از نظر باقی ماندن کنه روی بدن آن‌ها، مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد زنبورها و کنه‌های داخل هر شیشه را شمارش و سپس نسبت آلودگی زنبورها از تقسیم تعداد کنه‌های شمارش شده بر تعداد زنبورهای داخل هر شیشه در نمونه‌های جمع‌آوری شده در ابتدا و انتهای دوره آزمایشی محاسبه شد. برای اندازه‌گیری نرخ آلودگی نوزادان به کنه واروآ در ابتدا و انتهای آزمایش، تقریباً ۱۰۰ شفیره کارگر را از شان‌های مختلف نوزادی هر کلنی از سلول‌های آن‌ها خارج کرده و از نظر وجود کنه واروآ مورد بررسی و شمارش قرار داده شد. در نهایت، برای تعیین نرخ آلودگی نوزادان به کنه واروآ، تعداد کنه‌های مشاهده شده را به تعداد سلول‌های باز شده (۱۰۰ سلول) تقسیم گردید. سرانجام، نرخ آلودگی هر کلنی، از حاصل میانگین درصد آلودگی نمونه‌های زنبورهای بالغ و نوزادان در ابتدا و انتهای آزمایش برای هر کلنی به دست آمد و به عنوان آلودگی اولیه و انتهای دوره آزمایشی کلنی‌ها به کنه واروآ در نظر گرفته شد.



شکل ۳- الف: نصب حسگرهای حرارتی در داخل کندو، ب: حسگر رطوبتی مورد استفاده در داخل کندو، ج: سیستم اتوماسیون ثبت درجه حرارت و رطوبت داخل و بیرون کندوها، د: استقرار کندوها کف باز و بسته در محل اجرای آزمایش

Figure 3- a: installation of thermal sensors inside the hive, b: humidity sensor used inside the hive, c: automation system for recording temperature and humidity inside and outside the hives, d: setting up of open and closed-bottom hives at the project site

سازگاری بیشتر کندوهای چوبی با زیست زنبورعسل، استفاده از کندوهای چوبی در زنبورستان‌های این کشور برای پرورش زنبورعسل در این پژوهش پیشنهاد شد (Taha, 2014). هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر، محققان دیگری نیز برای بهبود تولید عسل و افزایش عملکرد کلنی‌ها، استفاده از کندوهای چوبی کف باز را در زنبورستان‌ها توصیه کردند (Ataian, 2010; Erdogan et al., 2019).

هم‌راستا با نتایج مطالعه حاضر، این محقق بیشترین میانگین تولید عسل را در کندوهای کف باز گزارش کردند. در مطالعه دیگری در مصر، تأثیر نوع کندوی چوبی و فومی بر تولید عسل کلنی‌های زنبورعسل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که از لحاظ صفت تولید عسل بین نوع کندوهای زنبورعسل استفاده‌شده در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p < 0.05$). با توجه به

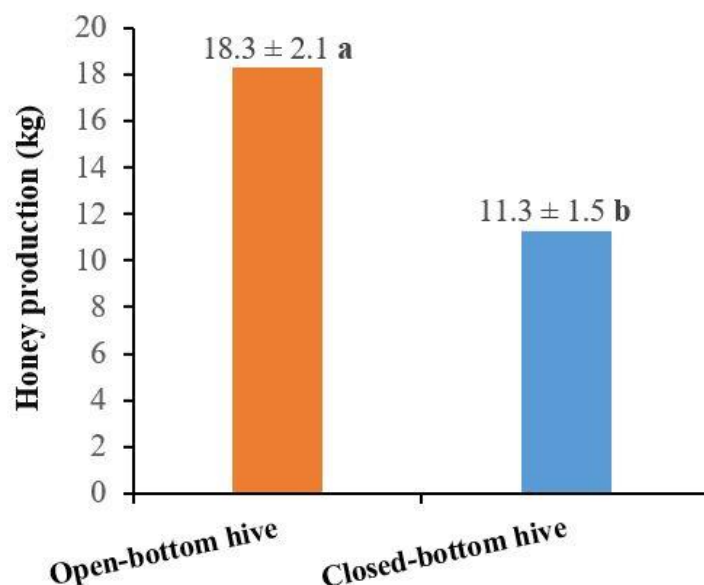
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفت تولید عسل کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروث کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر

Table 2- Variance analysis results of honey production trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار احتمال	ضریب تعیین	ضریب تغییرات
Source of variation	df	Mean of squares	p-value	R ²	CV
تیمار	1	171.50**	0.0001	0.87	23.98
Treatment					
خطا	12	7.053			
Error					

*: معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، **: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد، n.s: غیر معنی‌دار

*: significance at the 5 percent probability level, **: significance at the 1 percent probability level, n.s: not-significant



شکل ۴- مقایسه میانگین صفت تولید عسل کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر به‌روش توکی (Mean ± SE)

Figure 4- Mean comparison of honey production trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study by Tukey's test (Mean ± SE)

باز و کف بسته در مطالعه حاضر نشان نداد. بیشتر زنبورداران مناطق سردسیر کشور از کندوهای کف باز به‌دلیل باز بودن کف کندو و ترس از سرمازدگی زنبورها و تلفات زمستانه کلنی استفاده نمی‌کنند. برخلاف این تصور اشتباه، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری از لحاظ دمای داخل کندو در زمستان بین کندوهای کف باز و بسته وجود نداشت. علی‌رغم تولید عسل بالاتر، شاخص زمستان‌گذرانی کندوهای چوبی کف باز به‌طور معنی‌داری ($p < 0.01$) بهتر از کندوهای چوبی کف بسته در مطالعه حاضر بود و در طول اجرای آزمایش در هیچ کدام از تکرارهای تیمار کندوهای چوبی کف باز، تلفات کل کندو مشاهده نشد. بنابراین، به‌دلیل برتری معنی‌دار کندوهای کف باز در مطالعه حاضر از لحاظ توان زمستان‌گذرانی می‌توان استفاده از این کندوها را برای افزایش عملکرد زنبورستان به زنبورداران توصیه کرد.

جمع‌آوری گرده

نتایج تجزیه واریانس صفت جمع‌آوری گرده کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر در **جدول ۴** ارائه شده است. نتایج نشان داد که اثر تیمار روی صفت جمع‌آوری گرده کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه معنی‌دار بود ($p < 0.01$). نتایج مقایسه میانگین‌های ارائه‌شده در **شکل ۶**

توان زمستان‌گذرانی

در **جدول ۳**، نتایج تجزیه واریانس صفت توان زمستان‌گذرانی کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر ارائه شده است. نتایج نشان داد که اثر تیمار بر صفت توان زمستان‌گذرانی کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه معنی‌دار بود ($p < 0.01$). نتایج مقایسه میانگین‌های ارائه‌شده در **شکل ۵** نشان داد که بیشترین توان زمستان‌گذرانی با میانگین 0.68 ± 0.06 مربوط به تیمار کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کمترین مقدار این صفت با میانگین 0.42 ± 0.04 مربوط به کندوهای چوبی لانگستروت کف بسته بود. از دلایل برتری کندوهای کف باز در مطالعه حاضر می‌توان به کاهش رطوبت کندو در فصول سرد سال به‌دلیل تهویه بهتر و متناسب با آن، کاهش آلودگی کلنی به بیماری‌های رایج در این فصول مثل بیماری‌های نوزما و قارچی اشاره کرد. نتایج یک مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۴ روی بررسی تأثیر نوع کندوی کف باز و بسته ساخته‌شده از جنس چوب، پلی‌استایرن و کامپوزیت نشان داد که از لحاظ توان زمستان‌گذرانی بین کندوهای کف باز و کف بسته ساخته‌شده از مواد مختلف در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (Kutby et al., 2024). اطلاعات دمایی دریافت‌شده از سنسورهای نصب‌شده در داخل کلنی‌ها در مطالعه حاضر، تفاوت دمایی معنی‌داری از لحاظ دمای داخل کندو بین کندوهای چوبی کف

سطح گرده جمع‌آوری شده با میانگین ۷۸/۵۵ گرم مربوط به کندوی لانگستروت چوبی کف باز بود (Taha, 2014) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. همچنین نتایجی مشابهی نیز توسط سایر محققان گزارش شد (Abou-Shaara et al., 2013; Bhatia et al., 2022; Aishwarya et al., 2022).

نشان داد که بیشترین میزان جمع‌آوری گرده با میانگین ۱۷۵/۶۸ گرم مربوط به تیمار کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کمترین مقدار این صفت با میانگین ۱۵۴/۴ گرم مربوط به کندوهای چوبی لانگستروت کف بسته بود. در یک پژوهشی، تأثیر نوع کندوی لانگستروت کف باز و بسته ساخته‌شده از جنس چوب و فوم روی سطح ذخیره گرده در کلنی‌های زنبورعسل نشان داد که بیشترین

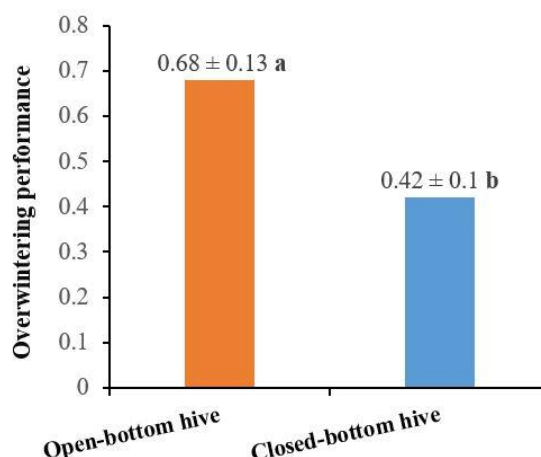
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفت توان زمستان‌گذرانی کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر

Table 3- Variance analysis results of overwintering performance trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار احتمال	ضریب تعیین	ضریب تغییرات
Source of variation	df	Mean of squares	p-value	R ²	CV
تیمار	1	0.154**	0.0001	0.71	7.11
Treatment					
خطا	12	0.006			
Error					

*: معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، **: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد، n.s: غیر معنی‌دار

*: significance at the 5 percent probability level, **: significance at the 1 percent probability level, n.s: not-significant



شکل ۵- مقایسه میانگین صفت توان زمستان‌گذرانی کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر به روش توکی (Mean ± SE)

Figure 5- Mean comparison of overwintering performance trait of honey production trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study by Tukey's test (Mean ± SE)

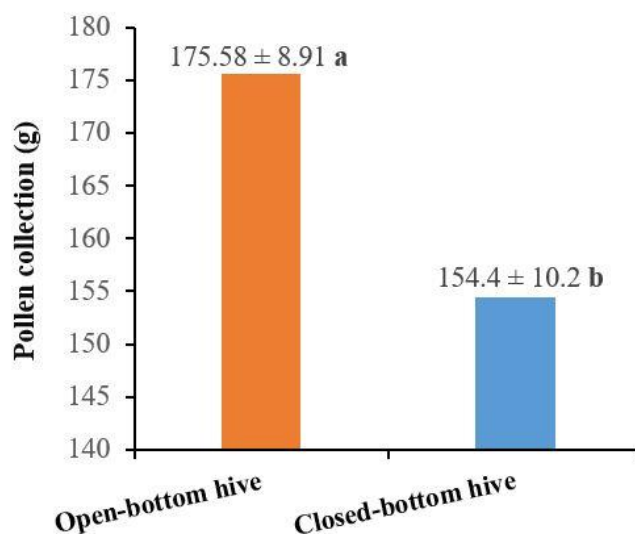
جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس صفت جمع‌آوری گرده کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر

Table 4- Variance analysis results of pollen collection trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار احتمال	ضریب تعیین	ضریب تغییرات
Source of variation	df	Mean of squares	p-value	R ²	CV
تیمار	1	5222.700**	0.0001	0.81	24.55
Treatment					
خطا	12	222.442			
Error					

*: معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، **: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد، n.s: غیر معنی‌دار

*: significance at the 5 percent probability level, **: significance at the 1 percent probability level, n.s: not-significant



شکل ۶- مقایسه میانگین صفت جمع‌آوری گرده کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر به روش توکی (Mean $\pm$ SE)

Figure 6- Mean comparison of pollen collection trait of honey production trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study by Tukey's test (Mean $\pm$ SE)

جمعیت زنبورهای بالغ

در جدول ۵، نتایج تجزیه واریانس صفت جمعیت زنبورهای بالغ کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر ارائه شده است. نتایج نشان داد که اثر تیمار بر صفت جمعیت زنبورهای بالغ کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه معنی‌دار بود ($p < 0.01$). نتایج مقایسه میانگین‌های ارائه شده در شکل ۷ نشان داد که بیشترین میزان جمعیت زنبورهای بالغ با میانگین ۸/۵ قاب مربوط به تیمار کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کمترین مقدار این صفت با میانگین ۴/۵ قاب مربوط به کندوهای چوبی لانگستروت کف بسته بود. در یک مطالعه، اثر پنج نوع کندوی لانگستروت چوبی کف بسته، کندوی لانگستروت چوبی

کف باز، پلی‌استاین ساده، پلی‌استاین روکش‌دار و پلی‌استاین روکش‌دار کف باز از لحاظ صفات جمعیت زنبورهای بالغ مورد مقایسه قرار گرفت. هم راستا با نتایج مطالعه حاضر، در این تحقیق نیز بیشترین میانگین جمعیت زنبورهای بالغ مربوط به کندوهای کف باز گزارش شد (Amiri Ghanatsaman, 2024). در پژوهش دیگری، تأثیر نوع کندوی چوبی و فومی بر جمعیت زنبورهای بالغ کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه نشان داد که از لحاظ صفت جمعیت زنبورهای بالغ بین کلنی‌های زنبورعسل استفاده‌شده در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p < 0.05$) و بیشترین جمعیت زنبورهای بالغ مربوط به کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی بود (Taha, 2014).

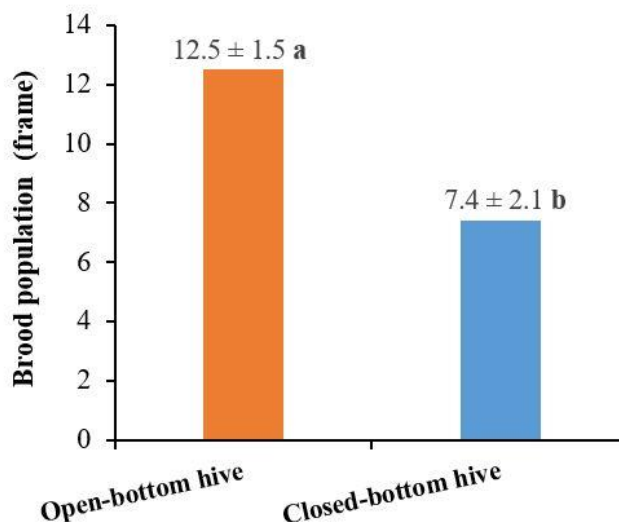
جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس صفت جمعیت زنبورهای بالغ کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر

Table 5- Variance analysis results of adults population trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار احتمال	ضریب تعیین	ضریب تغییرات
Source of variation	df	Mean of squares	p-value	R ²	CV
تیمار	1	68.208**	0.0001	0.79	8.16
Treatment					
خطا	12	3.415			
Error					

*: معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، **: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد، n.s: غیر معنی‌دار

*: significance at the 5 percent probability level, **: significance at the 1 percent probability level, n.s: not-significant



شکل ۷- مقایسه میانگین صفت جمعیت زنبورهای بالغ کلنی‌های زنبورعسل نگهداری شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر به روش توکی (Mean $\pm$ SE)

Figure 7- Mean comparison of adults population trait of honey production trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study by Tukey's test (Mean $\pm$ SE)

نگهداری شده در کندوهای لانگستروت چوبی و واره (Warré) کف باز و بسته را از لحاظ صفات مختلف از جمله جمعیت نوزادان مورد بررسی قرار دادند. این محققان گزارش کردند که نوع کندو روی مناطق کلیدی کلنی مثل تعداد قاب‌های نوزادان، رشد جمعیت، تخم ریزی ملکه تأثیر می‌گذارند و هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر بیشترین رشد جمعیت نوزادان را در کلنی‌های زنبورعسل نگهداری شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز گزارش کردند (Kutby *et al.*, 2024). همچنین نتایج مشابهی نیز برای رشد جمعیت نوزادان در کندوهای چوبی توسط سایر محققان (Aishwarya *et al.*, 2022; Akongte *et al.*, 2023) نیز گزارش شد.

جمعیت نوزادان

نتایج تجزیه واریانس صفت جمعیت نوزادان کلنی‌های زنبورعسل نگهداری شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در جدول ۶ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اثر تیمار بر صفت جمعیت نوزادان کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه معنی‌دار بود ($p < 0.01$). نتایج مقایسه میانگین‌های ارائه شده در شکل ۸ نشان داد که بیشترین میزان جمعیت نوزادان با میانگین ۱۲/۵ قاب مربوط به تیمار کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کمترین مقدار این صفت با میانگین ۷/۴ قاب مربوط به کندوهای چوبی لانگستروت کف بسته بود. در یک پژوهشی، محققان عملکرد کلنی‌های زنبورعسل

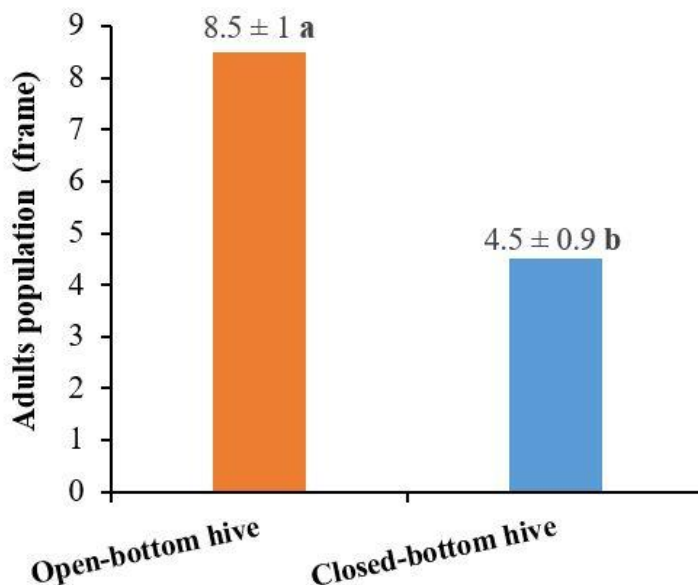
جدول ۶- نتایج تجزیه واریانس صفت جمعیت نوزادان کلنی‌های زنبورعسل نگهداری شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر

Table 6- Variance analysis results of brood population trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار احتمال	ضریب تعیین	ضریب تغییرات
Source of variation	df	Mean of squares	p-value	R ²	CV
تیمار	1	14.213**	0.0001	0.78	10.11
Treatment					
خطا	12	0.405			
Error					

*: معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، **: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد، n.s: غیر معنی‌دار

: significance at the 5 percent probability level, **: significance at the 1 percent probability level, n.s: not-significant



شکل ۸- مقایسه میانگین صفت جمعیت نوزادان کلنی‌های زنبور عسل نگهداری شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر به روش توکی (Mean $\pm$ SE)

Figure 8- Mean comparison of brood population trait of honey production trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study by Tukey's test (Mean $\pm$ SE)

پایین کندو (کف کندو) سقوط می‌کنند. همچنین زنبورها با استفاده از رفتار نظافت‌گری هم تعدادی کنه را از بدن خود جدا کرده که این کنه‌ها هم به سمت کف کندو سقوط می‌کنند. در کندوهای کف باز، این کنه‌ها دیگر نمی‌توانند به سمت زنبورها حرکت کنند و بدین ترتیب از آلودگی کندو نسبت به آن‌ها کاسته خواهد شد. نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که به‌خاطر همین موضوع، کندوهای کف باز آلودگی کمتری نسبت به کندوهای کف بسته داشتند. هم‌راستا با نتایج مطالعه حاضر، عطائیان (Ataian., 2010) نیز گزارش کردند که آلودگی زنبورها به کنه واروآ در کندوهای کف باز به علت باز بودن کف کندو و حذف کنه‌های سقوط کرده از روی بدن زنبورها از کلنی خیلی کمتر از کندوهای کف بسته است.

آلودگی به کنه واروآ

در جدول ۷، نتایج تجزیه واریانس صفت آلودگی به کنه واروآ کلنی‌های زنبور عسل نگهداری شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر ارائه شده است. نتایج نشان داد که اثر تیمار بر صفت آلودگی به کنه واروآ کلنی‌های زنبور عسل مورد مطالعه معنی‌دار بود ($p < 0.01$). نتایج مقایسه میانگین‌های ارائه شده در شکل ۹ نشان داد که بیشترین میزان آلودگی به کنه واروآ با میانگین ۱۶۷ کنه مربوط به تیمار کندوهای چوبی لانگستروت کف بسته و کمترین مقدار این صفت با میانگین ۱۰۵ کنه مربوط به کندوهای چوبی لانگستروت کف باز بود. تعداد زیادی از کنه‌ها هنگام حرکت روی زنبورها یا جابه‌جا شدن روی قاب‌های کندو به‌طرف

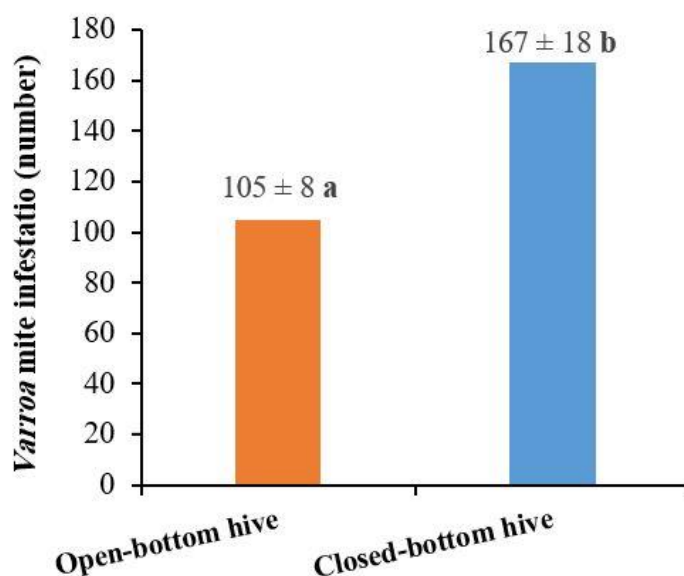
جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس صفت آلودگی به کنه واروآ کلنی‌های زنبور عسل نگهداری شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر

Table 7- Variance analysis results of *Varroa* mite infestation trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار احتمال	ضریب تعیین	ضریب تغییرات
Source of variation	df	Mean of squares	p-value	R ²	CV
تیمار	1	1383.36**	0.0001	0.95	27.21
Treatment					
خطا	12	14.35			
Error					

*: معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، **: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد، n.s: غیر معنی‌دار

*: significance at the 5 percent probability level, **: significance at the 1 percent probability level, n.s: not-significant



شکل ۹- مقایسه میانگین صفت آلودگی به کنه واروا کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر به روش توکی (Mean ± SE)

Figure 9- Mean comparison of *Varroa* mite infestation trait of honey production trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study by Tukey's test (Mean ± SE)

کندو در فصول گرم سال به علت مصرف انرژی کمتر توسط زنبورهای کارگر برای خنک نگه داشتن کلنی یک مزیت محسوب می‌شود و از این لحاظ، استفاده از کندوهای چوبی کف باز نسبت به کف بسته برتری دارد. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در فصل زمستان نیز باز بودن کف کندو تأثیر معنی‌داری بر توان زمستان‌گذرانی کلنی‌ها داشته و تلفات کلنی در کندوهای کف بسته در مطالعه حاضر بیشتر از کندوهای کف باز بود. نتایج مشابهی نیز توسط سایر پژوهشگران (Abou-Shaara *et al.*, 2013; Erdogan *et al.*, 2022) گزارش شد.

دما

نتایج تجزیه واریانس دمای داخل کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در جدول ۸ ارائه شده است. نتایج نشان داد که اثر تیمار بر دمای کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه میانگین ارائه شده در شکل ۱۰ نشان داد که بیشترین میزان دمای داخل کندو با میانگین ۳۲/۴ درجه مربوط به تیمار کندوهای چوبی لانگستروت کف بسته و کمترین میزان دمای داخل کندو با میانگین ۳۱/۵ درجه مربوط به کندوهای چوبی لانگستروت کف باز بود. کمتر بودن دمای داخل

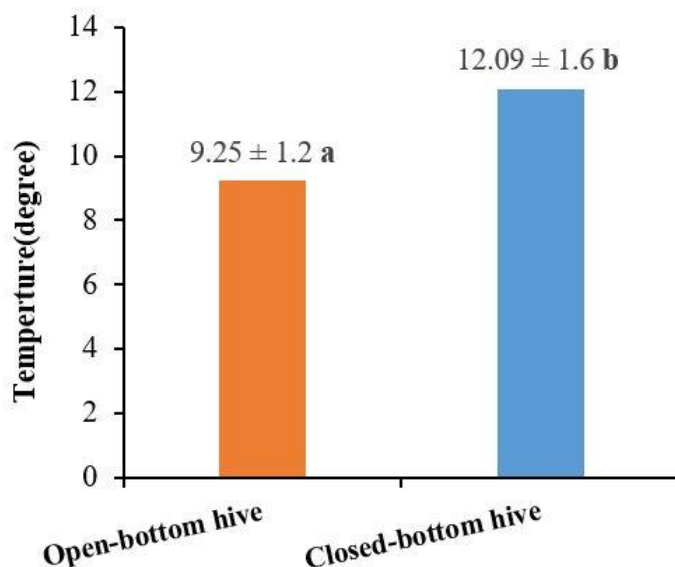
جدول ۸- نتایج تجزیه واریانس دمای داخل کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر

Table 8- Variance analysis results of temperature of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار احتمال	ضریب تعیین	ضریب تغییرات
Source of variation	df	Mean of squares	p-value	R ²	CV
تیمار	1	n.s 226.99	0.2401	0.15	28.11
Treatment					
خطا	12	1.76			
Error					

*: معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، **: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد، n.s: غیر معنی‌دار

*: significance at the 5 percent probability level, **: significance at the 1 percent probability level, n.s: not-significant



شکل ۱۰- مقایسه میانگین دمای داخل کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر به روش توکی (Mean ± SE)
Figure 10- Mean comparison of temperture of honey production trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study by Tukey's test (Mean ± SE)

رطوبت

در **جدول ۹**، نتایج تجزیه واریانس رطوبت داخل کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر ارائه شده است. نتایج نشان داد که اثر تیمار بر رطوبت داخل کلنی‌های زنبورعسل مورد مطالعه معنی‌دار بود ($p < 0.01$). نتایج مقایسه میانگین‌های ارائه‌شده در **شکل ۱۱** نشان داد که بیشترین میزان رطوبت با میانگین ۴۸/۲۳ درصد مربوط به تیمار کندوهای چوبی لانگستروت کف بسته و کمترین میزان رطوبت با میانگین ۳۶/۵ درصد مربوط به کندوهای چوبی لانگستروت کف باز

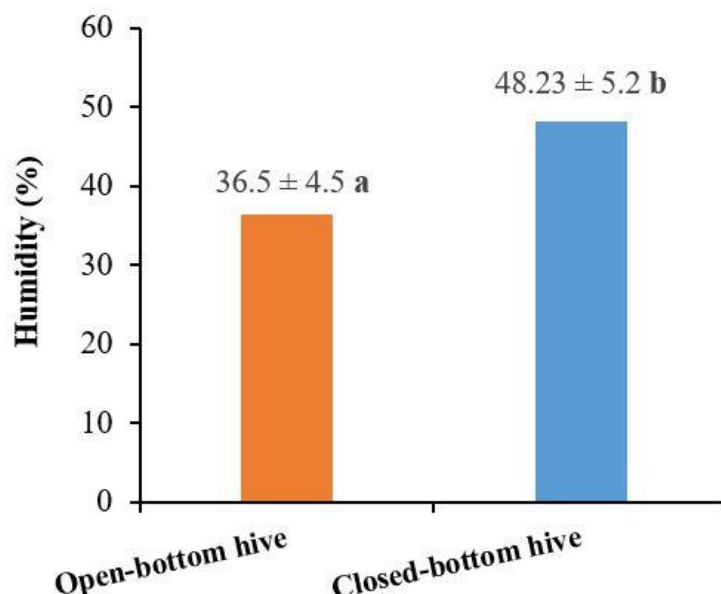
بود. همان‌طور که نتایج مطالعه حاضر نشان داد، رطوبت در کندوهای کف باز کمتر از کندوهای کف بسته بود. باز بودن کف کندو به علت تهویه بهتر، یک مزیت برای کندوهای کف باز محسوب می‌شود که این امر می‌تواند از کپک‌زدگی محصولات کندو در فصول مرطوب سال، توسعه بیماری‌های قارچی و همچنین تخریب چوب کندو جلوگیری کند. نتایج مشابهی نیز توسط سایر محققان (Ataian, 2010; Abou-Shaara et al., 2013; Kutby et al., 2024) گزارش شد.

جدول ۹- نتایج تجزیه واریانس رطوبت داخل کلنی‌های زنبورعسل نگهداری‌شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر
Table 9- Variance analysis results of humidity of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares	مقدار احتمال p-value	ضریب تعیین R ²	ضریب تغییرات CV
تیمار Treatment	1	348.99**	0.0001	0.15	6.11
خطا Error	12	1.76			

*: معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد، **: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد، n.s: غیر معنی‌دار

*: significance at the 5 percent probability level, **: significance at the 1 percent probability level, n.s: not-significant



شکل ۱۱- مقایسه میانگین رطوبت داخل کلنی‌های زنبورعسل نگهداری شده در کندوهای چوبی لانگستروت کف باز و کف بسته در مطالعه حاضر به روش توکی (Mean ± SE)

Figure 11- Mean comparison of humidity of honey production trait of honey bee colonies maintained in open-bottom and closed-bottom Langstroth wooden hives in the present study by Tukey's test (Mean ± SE)

نتیجه گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که از لحاظ صفات تولید عسل، جمع‌آوری گرده، جمعیت نوزادان، جمعیت زنبورهای بالغ، توان زمستان‌گذرانی و آلودگی به کنه واروا، کندوهای چوبی لانگستروت کف باز عملکرد بهتری نسبت به کلنی‌های چوبی لانگستروت کف بسته داشتند. بنابراین، با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر و نتایج تحقیقات قبلی در مورد کندوهای چوبی لانگستروت کف باز می‌توان استفاده از کندوهای چوبی لانگستروت کف باز را برای بهبود صفات

عملکردی کلنی‌ها و افزایش بازده اقتصادی زنبورستان‌ها در شرایط اقلیمی استان کردستان و سایر استان‌های هم‌جوار با شرایط آب و هوایی مشابه توصیه کرد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از همه مسئولان مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان که در کارهای اجرایی این پژوهش نهایت همکاری را داشتند، تشکر و قدردانی دارند.

References

1. Abou-Shaara, H. F. (2014). The foraging behavior of honeybees, *Apis mellifera*: A review. *Veterinarni Medicina*, 59, 1-10. <https://doi.org/10.1016/C2021-0-00252-2>
2. Abou-Shaara, H. F., Al-Ghamdi, A. A., & Mohamed, A. A. (2013). Honey bee colonies performance enhance by newly modified beehives. *Journal of Apiculture Science*, 57(2), 45-57. <https://doi.org/10.2478/jas-2013-0016>
3. Al-Qarni, A. S. (2006). Tolerance of summer temperature in imported and indigenous honeybee *Apis mellifera* L. races in central Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 13(2), 123-127. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1315506111>
4. Akongte, P. N., Park, B. S., Kim, D. W., & Choi, Y. S. (2023). Honey Bee Colonies (*Apis mellifera* L.) Perform Orientation Defensiveness That Varies among Bred Lines. *Insects*, 14(6), 546. <https://doi.org/10.3390/insects14060546>
5. Ataian, A. (2010). The use of open-bottom hive system and its advantages over common hives in the country. *Iranian Honey Bee Science and Technology*, 1(4), 21-28. (in Persian with English abstract)
6. Amiri Ghanatsaman, Z., Tahmasebi, G. H., Agah, M. A., Hosseini, S. H., Bahrani, A. K., Karimi, H., Abarghuei, M. J., Hashemi, S. M., & Boostani, A. (2025). Investigation of temperature and humidity in honey bee colonies using different types of hives. In: Proceeding of 11th National and 3rd International Animal Sciences Congress of

- Iran, 17-18 Septamber, Iran. pp. 2901-2904. (in Persian with English abstract)
7. Amiri Ghanatsaman, Z. (2024). Comparison of colony performances of honeybee (*Apis mellifera meda*) housed in Longstrouth wooden, simple polystyrene and covered polystyrene hives. Final Report of the Research Project, *the Animal Science Research Institute of Iran*. 43 p. (in Persian with English abstract)
8. Aishwarya, A., Srinivasan, M. R., Suganthi, S., & Krishnan, R. (2022). Suitability of hive wood type for italian honeybee (*Apis mellifera* L.). *Biological Forum – An International Journal*, 14(2a), 227-231.
9. Bhatia, S., Rana, K., Thakur, M., Negi, N., Jit Singh, S., Dogra, A., Chauhan, O., & Monika, O. (2022). Impact of hive volume on colony performance in *Apis mellifera ligustica* colonies in sub temperate zone India. *The Pharma Innovation Journal*, 11(9), 23-29.
10. Delaplane, K. S., Van der Steen, J., & Guzmán-Novoa, E. (2013). Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apiculture Science*, 52(1), 1-12. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.03>
11. Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S. J., Anderson, D. L., Locke, B., Delaplane, K. S., Wauquiez, Q., Tannahill, C., Frey, E., Ziegelmann, B., Rosenkranz, P., & Ellis, J. D. (2013). Standard methods for *Varroa* research. In: V. Dietemann, J. D. Ellis & P. Neumann, (Eds.) *The Coloss Beebook, Volume II: Standard Methods For Apis mellifera Pest and Pathogen Research*. *Journal Apiculture Research*, 52(3), 1-54. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.16>
12. Erdogan, Y., Dodologlu, A., & Emsen, B. (2009). Some physiological characteristics of honeybee (*Apis mellifera* L.) housed in heated, fan wooden and insulated beehives. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(8), 934-940. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2019.1604088>
13. Islam, N., Amjad, M., Haq, E., & Naz, F. (2023). Comparative field efficiency of the extracts of plant materials for controlling *Varroa destructor* about brood development in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *International Journal Bioscience*, 16(1), 126-138. <https://doi.org/10.12692/ijb/16.1.126-138>
14. Karami, H., Sepehri, R., Tahmasebi, G. H., & Mollaei, M. (2025). Evaluation of the effect of a herbal compound based on plant essential oils and oxalic acid in controlling *Varroa* mite (*Varroa destructor*) in Iranian honeybee (*Apis mellifera meda*) colonies. *Research Journal of Livestock Science*, 148(38), 159-174. (in Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22092/asj.2024.367618.2436>
15. Kutby, R., Baer-Imhoof, B., Robinson, S., Porter, L., & Baer, B. (2024). The effect of hive type on colony homeostasis and performance in the honey bee (*Apis mellifera*). *Insects*, 15(10), 1-16. <https://doi.org/10.3390/insects15100800>
16. Mcmenamin, A., Mumoki, F., Frazier, M., Kilonzo, J., Mweu, B., Baumgarten, T., Patch, H., Torto, B., Masiga, D., Tumlinson, J., Grozinger, C., & Muli, E. (2017). The impact of hive type on the behavior and health of honey bee colonies (*Apis mellifera*) in Kenya. *Apidologie*, 48(1), 703-715. <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0515-5>
17. Rahimi, A., Tahmasebi, G., Bahmani, H. R., Salehi, S., Zare, B., Parsanaseb, A., & Rokhzad, B. (2023). Comparative evaluation of performance for improved Iranian honey bee queens (*Apis mellifera meda* Skorikov, 1929) in the climate conditions of Kurdistan province. *Research on Animal Production*, 39(14), 102-111. (in Persian with English abstract). <https://doi.org/10.61186/rap.14.39.102>
18. Rahimi, A., & Parichehreh, S. (2024). Evaluation and introduction of a new plant-based formulation to control *Varroa* mite (*Varroa destructor*) in honey bee colonies (*Apis mellifera*). *Journal of Entomological Society of Iran*, 44(4), 417-428. (in Persian with English abstract). <https://doi.org/10.61186/jesi.44.4.5>
19. Rahimi, A., Rashed, R., & Abdulla, B. (2025). Biological activity of some plant extracts on *Varroa* mite (*Varroa destructor*) and Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*). *Trends in Advanced Science and Technology*. (In Press).
20. Ramsey, S. D., Ochoa, R., Bauman, G., Gulbranson, C., Mowery, J. D., Mowery, A., Lim, D., Joklik, J., Cicero, J. M., Ellis, J. D., Hawthorne, D., & vanEngelsdorp, D. (2019). *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *PNAS Latest Articles*, 16(5), 1792-1801. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818371116>
21. Rashid, B., Khani, A., Ghasemi, V., Ghadamyari, M., & Sahebzadeh, N. (2020). Evaluation of a new plant-based formulation for the treatment of varroosis in the honey bee colonies: Efficacy and safety. *Apidologie*, 51(6), 1074-1090. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00786-x>
22. Sepehri, R., Tahmasebi, G. H., & Jalali Zanoz, M. J. (2007). Estimation of the number of sex alleles in the central Iranian honey bee population and its relationship with stored pollen, colony size, and honey production. *Journal of Agricultural Science and Technology and Natural Resources*, 11(41), 321-331. (in Persian with English abstract)
23. Taha, A. A. (2014). Effect of hive type on strength and activity rate of honeybee colonies (*Apis mellifera* L.) in Egypt. *Journal of Plant Protection and Pathology*, 5(6), 773-784. <https://doi.org/10.21608/jppp.2014.87990>
24. Tahmasebi, G. H., Babaei, M., Tajabadi, N., Seyfi, E., Mashayekhi, N., & Rezazadeh, H. (2018). The performance of improved honey bee colonies obtained from the thirteenth generation of Iranian queens and control colonies in different apiaries of Iran. *Journal of Animal Production*, 19(4), 739-750. (in Persian with

- English abstract). <https://doi.org/10.22059/jap.2018.235090.623198>
25. Traynor, K. (2007). German beekeeping institute open house - A glance into German beekeeping. *American Bee Journal*, 147(1), 37-40.
26. Wueppenhorst, K., Alkassab, A. K., Beims, H., Ulrich Ernst, U., Ingrid Illies, F., Janke, M., Kirchner, H. F., Seidel, K., Steinert, M., Yurkov, A., Erler, S., & Odemer, R. (2024). Honey bee colonies can buffer short-term stressor effects of pollen restriction and fungicide exposure on colony development and the microbiome. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 289, 116723. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116723>
27. Yarahamdi, S., Mirai, S., Ashtiani, A., Ebadi, R., & Tahmasebi, G. (2001). Phenotypic correlation between nine morphological traits and three production traits in the population of honey bees in Tehran province. *Agricultural Sciences and Techniques and Natural Resources*, 5(2), 157-168. (In Persian).
28. Zemene, M., Bogale, B., Derso, S., Belete, S., Melaku, S., & Hailu, H. (2015). A review on *Varroa* mites of honey bees. *Academic Journal of Entomology*, 8(3), 150-159. <https://doi.org/10.5829/idosi.aje.2015.8.3.95259>

Contents

Ruminant Nutrition

Effects of Buffer and Plant Extracts on Degradability, Gas Production Parameters, and Nutrient Digestibility in Zel Sheep	1
Fatemeh Rezvani Badeleh, Yadollah Chashnidel, Asdollah Teymouri Yanesari, Radman Bakhtiari	
Estimation of Milk Production Loss Due to Clinical Mastitis in Holstein cows in Isfahan	15
Alireza Ghafori, Ali Sadeghi-Sefidmazgi, Rabie Rahbar	
Effects of Hyssop (<i>Hyssopus officinalis</i> L.) Essential Oil on Ruminal Fermentation Parameters, Nutrient Degradability, and Methane Production <i>in vitro</i>	29
Mohsen Kazemi	
Effects of Duration and Different Processing Methods with Urea and Molasses on <i>in vitro</i> Rumen Fermentation of Diets Containing Sugarcane Bagasse	43
Negin Menati, Farshid Fatahnia, Sayed Reza Mousavi, Mohammad Shamsollahi, Parisa Darat	

Poultry Nutrition

Effects of Time and Temperature Conditioner on Feed Pellet Quality and Growth Performance, Blood Indices and Jejenal Morphology of Broilers	57
Amirasadollah Mazroei, Seyyed Javad Hosseini-Vashan, Mohsen Mojtahedi, Hossein Naeemipour Younesi	
Effect of Different Levels of Alfalfa Carotenoids on Yolk Color, Egg Quality, and Indicators of Oxidative Stress in Laying Hens	75
Soraya Ayatollahi, Hassan Kermanshahi, Reza Majidzadeh Heravi	
Effects of Corn Grain Replacement with Triticale on Performance, Qualitative Traits of Eggs, and Some Biochemical Parameters of Blood Serum in Breeder Japanese Quail	91
Mohammad Javad Agah, Elnaz Kami, Seyed Mohammad Reza Hashemi, Abdolhamid Karimi, Mohammad Javad Abarghuei, Hossein Norollahi	
Study of the Extra-Beneficial Effects of using Mealworm Powder in the Diet on Quantitative and Qualitative Traits of Egg Production, Blood Indices and Immune Response of Laying Hens	105
Mona Salamat, Ali Aghaei, Somayyeh Salari	

Animal Genetics & Breeding

Phylogeny Analysis and Determination of Haplogroups of Different Sheep Breeds Based on the Complete Mitochondrial Genome	121
Fereshteh Ehsanifar, Gholam Reza Dashab , Hossein Bazzi	
Transcriptomic Analysis of Broiler Chicken Liver in Response to LPS with Emphasis on Endogenous Anti-inflammatory Peptides	137
Maryam Moshiri, Mojtaba Tahmoores pour, Mohammad Hadi Sekhavati	

Other

Comparison of Colonies Performance of Honey Bee (<i>Apis mellifera</i> L.) Housed in Open-Bottom and Closed-Bottom Langstroth Wooden Hives	151
Babak Rokhzad, Ataollah Rahimi, Hamidreza Bahmani, Saleh Salehi, Baharak Mohammadian	

« Scientific Journal»
Iranian Journal of Animal Science Research

Vol. 18

No. 1

2026

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.)	Shahrekord 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.)
Javadmanesh, A	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: +98-51-38804654

Fax: +98-51-38787430

E-Mail: ijasr@ferdowsi.um.ac.ir

Web Site: <https://ijasr.um.ac.ir>

Contents

Ruminant Nutrition

- Effects of Buffer and Plant Extracts on Degradability, Gas Production Parameters, and Nutrient Digestibility in Zel Sheep..... 1
Fateme Rezvani Badeleh, Yadollah Chashnidel, Asdollah Teymouri Yanesari, Radman Bakhtiari

- Estimation of Milk Production Loss Due to Clinical Mastitis in Holstein cows in Isfahan..... 15
Alireza Ghafori, Ali Sadeghi-Sefidmazgi, Rabie Rahbar

- Effects of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) Essential Oil on Ruminal Fermentation Parameters, Nutrient Degradability, and Methane Production *in vitro* 29
Mohsen Kazemi

- Effects of Duration and Different Processing Methods with Urea and Molasses on *in vitro* Rumen Fermentation of Diets Containing Sugarcane Bagasse 43
Negin Menati, Farshid Fatahnia, Sayed Reza Mousavi, Mohammad Shamsollahi, Parisa Darat

Poultry Nutrition

- Effects of Time and Temperature Conditioner on Feed Pellet Quality and Growth Performance, Blood Indices and Jejenal Morphology of Broilers..... 57
Amirasadollah Mazroei, Seyyed Javad Hosseini-Vashan, Mohsen Mojtahedi, Hossein Naeemipour Younesi

- Effect of Different Levels of Alfalfa Carotenoids on Yolk Color, Egg Quality, and Indicators of Oxidative Stress in Laying Hens..... 75
Soraya Ayatollahi, Hassan Kermanshahi, Reza Majidzadeh Heravi

- Effects of Corn Grain Replacement with Triticale on Performance, Qualitative Traits of Eggs, and Some Biochemical Parameters of Blood Serum in Breeder Japanese Quail 91
Mohammad Javad Agah, Elnaz Kami, Seyed Mohammad Reza Hashemi, Abdolhamid Karimi, Mohammad Javad Abarghuei, Hossein Norollahi

- Study of the Extra-Beneficial Effects of using Mealworm Powder in the Diet on Quantitative and Qualitative Traits of Egg Production, Blood Indices and Immune Response of Laying Hens 105
Mona Salamat, Ali Aghaei, Somayyeh Salari

Animal Genetics & Breeding

- Phylogeny Analysis and Determination of Haplogroups of Different Sheep Breeds Based on the Complete Mitochondrial Genome 121
Fereshteh Ehsanifar, Gholam Reza Dashab, Hossein Bazzi

- Transcriptomic Analysis of Broiler Chicken Liver in Response to LPS with Emphasis on Endogenous Anti-inflammatory Peptides..... 137
Maryam Moshiri, Mojtaba Tahmoorepour, Mohammad Hadi Sekhavati

Other

- Comparison of Colonies Performance of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Housed in Open-Bottom and Closed-Bottom Langstroth Wooden Hives..... 151
Babak Rokhzad, Ataollah Rahimi, Hamidreza Bahmani, Saleh Salehi, Baharak Mohammadian