# نشریه علمی پژوهشهای علوم دامی ایران

# Iranian Journal of Animal Science Research

Ferdowsi University of Mashhad

جلد ۱۳ شماره ۲

سال ۱۴۰۰

Vol. 13 No. 2

2021

(شماره پیاپی: ٤٦)

ISSN:2008-3106

۲۰۰۸-۳۱۰٦ :شاپا


## Contents


**Ruminant Nutrition**

**Effects of some plant essential oils and probiotic (Protexin) on performance, nutrient digestibility and blood metabolites of Holstein dairy calves** ..... 172
Farshid Sarraf, Alireza Vakili and Mohsen Danesh Mesgaran

**Effect of Calcium Salts of Fatty Acids on Performance and Milk Fatty Acids Profile in Holstein Cows** ..... 191
Javad nasiri, Hassan aliarabi and Pouya zamani

**The effect of Slow-Release Bolus of Copper on Performance and Some Blood Metabolites of Lori-Bakhtiari Pregnant Ewes and Their Lambs** ..... 204
Parvin Nasr Chaleshtori, Amir Fadayifar, Ayob Azizi and Arash Azarfar

**Investigationg nutritive value of wheat straw and sugarcane tops treated with bacteria with lignin and lignocellulose-degrading potential isolated from *Zeuzera pyrina* L. larvae gut** ..... 219
Ayoub Azizi, Jahanshir Shakarami, Fahimeh Dehghanikhah and Afrooz Sharifi

**The effect of dietary flaxseed supplementation on sperm fatty acid composition, semen quality attributes and some blood parameters in Kurdish ram** ..... 232
Saeed Firouzeh, Amir Hooshang Fallah rad, Pezhman Mirshokraei , Abbas Parham and Mohsen Daneshmesgaran

**Poultry Nutrition**

**Determination of wheat distillers dried grains Analysis and effect DDGS on performance and histological characteristics of jejunum in broiler chickens in starter and finisher** ..... 247
Heshmat Sepehri Moghadam, Zainab Noori, Amir Azarli and Alireza Hesabi Nameghi

**Effect of *Hyssopus Officinalis*, Aspirin and Virginiamycine on Performance, Blood Metabolites, Carcass Parameters and Ileum Microbial Population of Broiler Chicken under Cold Stress** ..... 261
Nazar Akbarizadeh, Ali Khatibjoo, Seifali Varmaghany, Hooshang Jafari and Alinaghi Shokri

**Effects of Different Levels of Black Seed Meal on Laying Hens Performance in Second Production Cycle** ..... 272
Mohammad Reza Ghorbani, Ahmad Tatar, Somayyeh Salari, Mohammad Hadi Soleimani and Solmaz Khalili Samani

**Determination of Metabolisable Energy of Wheat Processed at Different Temperatures and Effect of their Inclusion in Mash Diets with and without Enzyme Supplementation on Small Intestine Morphology and Growth Performance of Broiler Chickens During 11-24 days** ..... 289
Mohammad Reza Salavati, Abolghasem Golian, Ahmad Hassanabadi

**Effect of silver nanoparticles and ,rebiotic on growth performance, microbial population of ceca and blood indices inbroiler chicken** ..... 301
Reza Vakili and Qasem Ramazani

**Genetic and Breeding**

**Estimation of Genetic Parameters for Lamb Survival Traits of Arabi sheep using Linear and Weibull Models** ..... 311
Nasir Karimi, Mohammad Taghi Beigi Nasiri and Arsalan Barazandeh

**Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Discovery on Transcriptomes of American Holstein and Pakistanian Cholistani Cows** ..... 318
Mojgan Ghasemi-Siab, Sheida Varkoohi and Mohammad Hossein Banabazi


## عنوان مقالات


**تغذیه نشخوارکنندگان**

**اثر افزودن پروتکسین و اسانس نعناع، آویشن و دارچین به شیر بر عملکرد و فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار نژاد هلشتاین** ..... ۱٦۱
فرشید صراف، سید علیرضا وکیلی و محسن دانش مسگران

**اثر انواع نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب بر عملکرد و الگوی اسیدهای چرب شیر گاوهای هلشتاین** ..... ۱۷۵
جواد نصیری، حسن علی‌عربی و پویا زمانی

**تأثیر قرص آهسته‌رهش مس بر عملکرد و برخی فراسنجه‌های خونی میش‌های آبستن لری-بختیاری و بره‌های آن‌ها** ..... ۱۹۳
پروین نصر چالشتری، امیر فدایی‌فر، ایوب عزیزی و آرش آذرفر

**بررسی ارزش تغذیه‌ای کاه گندم و سرشاخه نیشکر عمل‌آوری شده توسط باکتری‌های تجزیه کننده‌ی لیگنین و لیگنوسلولز جدا شده از روده لارو کرم خراط (*Zeuzera pyrina* L.)** ..... ۲۰۷
ایوب عزیزی، جهانشیر شاکرمی، فهیمه دهقانی‌خواه و افروز شریفی

**تأثیر مکمل دانه کتان در جیره بر ترکیب اسیدهای چرب ، خصوصیات کیفی اسپرم و برخی پارامترهای خونی در قوچ کردی..** ۲۲۱
سعید فیروزه، امیر هوشنگ فلاح راد، پژمان میر شکرایی، عباس پرهام و محسن دانش مسگران

**تغذیه طیور**

**بررسی ترکیبات ضایعات تقطیری گندم و اثر سطوح مختلف آن بر عملکرد و ریخت‌شناسی ژژنوم در جوجه‌های گوشتی در دوره-های آغازین و رشد** ..... ۲۳۵
حشمت سپهری، زینب نوری، امیر آذرلی و علی رضا حسابی نامقی

**تأثیر گیاه زوفا (*Hyssopus Officinalis*)، آسپرین و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر عملکرد، متابولیت‌های خونی، خصوصیات لاشه و جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی القائی** ..... ۲٤۹
نظر اکبری‌زاده ، علی خطیب جو، صیفعلی ورمقانی، هوشنگ جعفری و علی‌نقی شکری

**تأثیر سطوح مختلف کنجاله سیاه دانه بر عملکرد مرغان تخم‌گذار در سیکل دوم تولید** ..... ۲٦۳
محمدرضا قربانی، احمد طاطار، سمیه سالاری، محمد هادی سلیمانی و سولماز خلیلی سامانی

**تعیین انرژی قابل متابولیسم گندم فرآوری شده در دماهای مختلف و اثر آن در جیره با و بدون مکمل آنزیمی بر مورفولوژی روده کوچک و عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در دوره ۲٤ – ۱۱ روزگی** ..... ۲۷۵
سیدمحمدرضا صلواتی، ابوالقاسم گلیان و احمد حسن آبادی

**اثر نانو ذرات نقره و پری‌بیوتیک برعملکرد رشد، جمعیت میکروبی روده کور و برخی شاخص‌های خونی جوجه‌های گوشتی ..** ۲۹۱
رضا وکیلی و قاسم رمضانی

**ژنتیک و اصلاح**

**برآورد پارامترهای ژنتیکی زنده‌مانی در بره‌های گوسفند عربی با استفاده از دو مدل خطی و وایبال** ..... ۳۰۳
نصیر کریمی، محمد تقی بیگی نصیری و ارسلان براززنده

**شناسایی چند شکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) بر روی ترانسکریپتوم گاوهای هلشتاین آمریکا و کلیستانی پاکستان** ..... ۳۱۳
مژگان قاسمی سیاب، شیدا ورکوهی و محمدحسین بنابازی



نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران — Iranian Journal of Animal Science Research — جلد ۱۳ — شماره ۲ — سال ۱۴۰۰

# 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 ۱۳ شماره ۲ تابستان ۱۴۰۰**



**صاحب امتیاز** : دانشگاه فردوسی مشهد

**مدیر مسئول** : دکتر حسن نصیری مقدم

**سردبیر** : دکتر رضا ولی زاده

**اعضای هیئت تحریریه** :

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



**ناشر: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد**

**چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد**

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

**نمابر: ۰۵۱-۳۸۷۸۷۴۳۰**

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

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

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

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

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

**اسامی ارزیابان جلد ۱۳ شماره ۲ (تابستان ۱۴۰۰) نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران (به ترتیب الفبا)**

| | |
|---|---|
| دکتر فاطمه بحری بیناباج | دانشگاه گنبد کاووس |
| دکتر عطیه بهلولی قائن | دانشگاه پیام نور مشهد |
| دکتر جواد بیات کوهسار | دانشگاه گنبد کاووس |
| دکتر علی جوادمنش | دانشگاه فردوسی مشهد |
| دکتر احمد حسن آبادی | دانشگاه فردوسی مشهد |
| دکتر سید جواد حسینی واشان | دانشگاه بیرجند |
| دکتر بابک خرمیان طوسی | دانشگاه فردوسی مشهد |
| دکتر علی خطیب جو | دانشگاه ایلام |
| دکتر عطیه رحیمی | دانش آموخته دکتری دانشگاه فردوسی مشهد |
| دکتر وحید رضائی پور | دانشگاه آزاد اسلامی- واحد قائمشهر |
| دکتر سونیا زکی زاده | موسسه تحقیقات علوم دامی کشور |
| دکتر سمیه سالاری | دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان |
| دکتر سعید سبحانی راد | دانشگاه فردوسی مشهد |
| دکتر حشمت سپهری | دانشگاه پیام نور مشهد |
| دکتر مهدی سلطانی | مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی |
| دکتر رشید صفری | دانشگاه تبریز |
| دکتر یونس علی علی جو | دانشگاه ارومیه |
| دکتر علیرضا علیزاده ماسوله | دانشگاه آزاد اسلامی- واحد ساوه |
| دکتر شاهرخ قوتی رودسری | دانشگاه گیلان |
| دکتر محسن کاظمی | مجتمع آموزش عالی تربت جام |
| دکتر هوشنگ لطف الهیان | موسسه تحقیقات علوم دامی کشور |
| دکتر رضا مجیدزاده هروی | دانشگاه فردوسی مشهد |
| دکتر مژگان مظهری | دانشگاه جیرفت |
| دکتر میلاد منافی | دانشگاه ملایر |
| دکتر علی نوبخت | دانشگاه آزاد اسلامی- واحد مراغه |
| دکتر محمد نوروزی ابدال آبادی | مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی |
| دکتر علیرضا نوشری | دانشگاه آزاد اسلامی- واحد کرج |
| دکتر رضا ولی زاده | دانشگاه فردوسی مشهد |
| دکتر طاهر یلچی | دانشگاه محقق اردبیلی |

بسم الله الرحمن الرحیم

## مندرجات


**تغذیه نشخوارکنندگان** **صفحه**

**اثر افزودن پروتکسین و اسانس نعناع، آویشن و دارچین به شیر بر عملکرد و فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار نژاد هلشتاین** ۱۶۱
فرشید صراف، سید علیرضا وکیلی و محسن دانش مسگران

**اثر انواع نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب بر عملکرد و الگوی اسیدهای چرب شیر گاوهای هلشتاین** ۱۷۵
جواد نصیری، حسن علی‌عربی و پویا زمانی

**تأثیر قرص آهسته‌رهش مس بر عملکرد و برخی فراسنجه‌های خونی میش‌های آبستن لری-بختیاری و بره‌های آن‌ها** ۱۹۳
پروین نصر چالشتری، امیر فدایی‌فر، ایوب عزیزی و آرش آذرفر

**بررسی ارزش تغذیه‌ای کاه گندم و سرشاخه نیشکر عمل‌آوری شده توسط باکتری‌های تجزیه کننده‌ی لیگنین و لیگنوسلولز جدا شده از روده لارو کرم خراط (*Zeuzera pyrina* L.)** ۲۰۷
ایوب عزیزی، جهانشیر شاکرمی، فهیمه دهقانی‌خواه و افروز شریفی

**تأثیر مکمل دانه کتان در جیره بر ترکیب اسیدهای چرب ، خصوصیات کیفی اسپرم و برخی پارامترهای خونی در قوچ کردی** ۲۲۱
سعید فیروزه، امیر هوشنگ فلاح راد، پژمان میر شکرایی، عباس پرهام و محسن دانش مسگران

**تغذیه طیور**

**بررسی ترکیبات ضایعات تقطیری گندم و اثر سطوح مختلف آن بر عملکرد و ریخت‌شناسی ژژنوم در جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین و رشد** ۲۳۵
حشمت سپهری، زینب نوری، امیر آذرلی و علی رضا حسابی نامقی

**تأثیر گیاه زوفا (*Hyssopus Officinalis*)، آسپرین و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر عملکرد، متابولیت‌های خونی، خصوصیات لاشه و جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی القائی** ۲۴۹
نظر اکبری‌زاده، علی خطیب جو، صیفعلی ورمقانی، هوشنگ جعفری و علی‌نقی شکری

**تأثیر سطوح مختلف کنجاله سیاه دانه بر عملکرد مرغان تخم‌گذار در سیکل دوم تولید** ۲۶۳
محمدرضا قربانی، احمد طاطار، سمیه سالاری، محمد هادی سلیمانی و سولماز خلیلی سامانی

**تعیین انرژی قابل متابولیسم گندم فرآوری شده در دماهای مختلف و اثر آن در جیره با و بدون مکمل آنـزیمی بر مورفولوژی روده کوچک و عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در دوره ۲۴ – ۱۱ روزگی** ۲۷۵
سیدمحمدرضا صلواتی، ابوالقاسم گلیان و احمد حسن آبادی

**اثر نانو ذرات نقره و پری‌بیوتیک برعملکرد رشد، جمعیت میکروبی روده کور و برخی شاخص‌های خونی جوجه‌های گوشتی** ۲۹۱
رضا وکیلی و قاسم رمضانی

**ژنتیک و اصلاح**

**برآورد پارامترهای ژنتیکی زنده‌مانی در بره‌های گوسفند عربی با استفاده از دو مدل خطی و ویبال** ۳۰۳
نصیر کریمی، محمد تقی بیگی نصیری و ارسلان برازنده

**شناسایی چند شکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) بر روی ترانسکریپتوم گاوهای هلشتاین آمریکا و کلیستانی پاکستان** ۳۱۳
مژگان قاسمی سیاب، شیدا ورکوهی و محمدحسین بنابازی

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

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

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

## نکات مهم:

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

### الف) فرم صفحه مشخصات مقاله

صفحه مشخصات باید به هر دو زبان فارسی و انگلیسی حاوی عنوان کامل مقاله، نام و نام خانوادگی، مرتبه علمی و سمت نویسنده (گان)، نام گروه یا مؤسسه ای که نویسنده (گان) در آن شاغل هستند و محلی که تحقیق در آن انجام شده است، آدرس کامل نویسنده (گان) شامل آدرس پستی، شماره تلفن، دورنگار و آدرس پست الکترونیکی باید در این صفحه قید شود. توجه شود که نام و محل خدمت نویسنده (گان) باید فقط در این صفحه نوشته شود و از تکرار آن در صفحات دیگر مقاله خودداری شود.

### ب) فرم تعهد نامه

فرم تعهدنامه که در سایت بارگذاری شده است باید توسط نویسندگان تکمیل و پس از اینکه **به امضای تمام نویسنده (گان) مقاله** رسید، اسکن شده و همراه فرم صفحه مشخصات نویسندگان به عنوان فایل مکمل در سایت بارگذاری گردد.

### ت) دستورالعمل تهیه مقاله؛ روش تحریر

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

## ث) ترتیب بخش ها

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

### ۱- عنوان

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

### ۲- چکیده فارسی

چکیده فارسی باید حداکثر در ۲۵۰ کلمه تهیه شود. در این بخش مقاله اهداف عمده، مواد و روشها، نتایج و کاربردهای شاخص بصورت خلاصه و گویا ذکر شوند. از ذکر علائم آماری چون ($P<۰/۰۵$) و منابع مورد استفاده در این قسمت مقاله خودداری شود.

### ۳- واژه های کلیدی

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

### ٤- مقدمه

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

### ٥- مواد و روش ها

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

### ٦- نتایج و بحث

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

#### ٦-۱- نحوه تهیه جدول ها و شکل ها

#### ٦-۱-۱- جدول

- ✓ **الگوی جدول باید دقیقا مشابه جدول نمونه ذیل باشد.**
- ✓ **عنوان و اطلاعات نوشتاری درون جدول به دو صورت فارسی و انگلیسی نوشته شوند، اما اعداد فقط به انگلیسی نوشته شوند.**
- ✓ فونت عنوان و محتویات جدول برای فارسی B Mitra و برای انگلیسی Times New Ruman با اندازه ۱۰ باشد. زیرنویس با اندازه فونت ۹ نوشته شود.
- ✓ عنوان جدول در بالا و با فرمت وسط چین نوشته و گویای نتایج مندرج در آن باشد. عنوان از شماره جدول با خط تیره جدا شود. در کل جدول **فقط عبارت جدول و شماره آن** پررنگ گردد و از ارائه پررنگ سایر قسمت‌های جدول خودداری شود. (**جدول ۱**- تأثیر .....)
- ✓ هر جدول با یک خط افقی از عنوان آن و سر جدول با یک خط افقی از متن جدول جدا و در زیر متن جدول نیز یک خط افقی کشیده شود. در صورت لزوم می‌توان برای تقسیم سر جدول از خطوط افقی در داخل کادر سر جدول استفاده کرد.
- ✓ تیمارها در ردیف اول، سر جدول و به صورت وسط چین، اما متغیرها در سمت چپ جدول و به صورت چپ چین ارائه گردد.
- ✓ از کشیدن هر گونه خط عمودی در جدول خودداری شود.
- ✓ توضیحات اضافی عنوان و متن جدول باید بصورت زیر نویس ارائه شوند و ارتباط آنها با جدول و عنوان با استفاده از علامت های عددی در بالا و سمت راست جمله ها، اعداد و غیره به صورت توان و اندازه کوچکتر مشخص شود. برای نوشتن زیر نویس یک سطر به جدول اضافه و آن سطر را Merge کرده و زیر نویس ها را در آن بنویسید تا خطوط شروع جدول و زیر نویس همراستا باشند.
- ✓ توضیحات زیرنویس درصورتی که به زبان فارسی است، راست چین و درصورتی که به زبان انگلیسی است، چپ چین باشند.
- ✓ واحدهای مربوط به هر پارامتر جدول روبروی آن نوشته شود و اگر کل پارامترهای جدول یک واحد دارند در عنوان جدول نوشته شود. (مانند مثال زیر):

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

**Table1-** Effect of different levels of by-productsin dietaryon plasma metabolites (mg/dl)

| متابولیتهای پلاسما<br>Plasma metabolites | جیره های آزمایشی<br>Experimental diets | | | | *P-value* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Alfalfa | 5% BP[1] | 20% BP | SEM | *treat* | *time* | *Treat × time* |
| گلوکز<br>Glucose (mg/dl) | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 0.002 | 0.002 | 0.002 |
| نیتروژن اوره ای خون<br>BUN (%)[2] | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 0.002 | 0.002 | 0.002 |
| آسپارتات آمینو ترانسفراز<br>AST (U/L)[3] | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 0.002 | 0.002 | 0.002 |
| آلانین آمینو ترانسفراز<br>ALT (U/L)[4] | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 0.002 | 0.002 | 0.002 |
| لیپوپروتئین با دانسیته پایین<br>LDL (mol/L)[6] | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 0.002 | 0.002 | 0.002 |

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

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

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

[2]Blood urea nitrogen

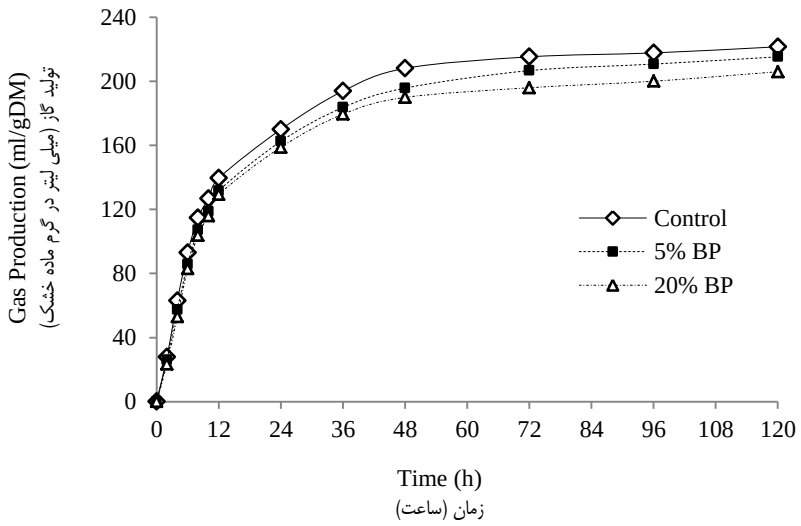
[3]Aspartate Aminotransferase

[4]Alanine Aminotransferase

[5]Low density lipoprotein

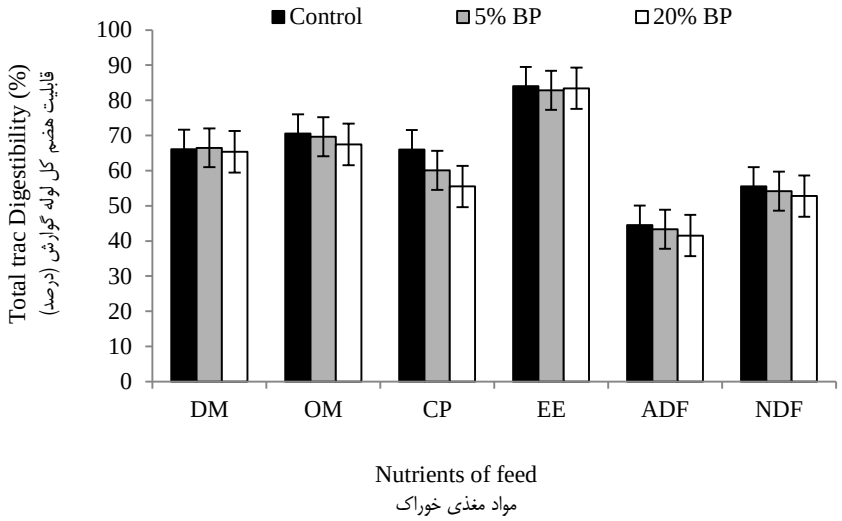
**٦-١-٢- شکل**

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




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

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




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

**Figure 1-** Effects of different levels of by-productsin dietary on rumen digestibility of nutrients

## ۷- نتیجه گیری کلی

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

## ۸- سپاسگزاری

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

## ۹-منابع

## الف) ارجاع به منابع

در متن مقاله ارجاع به منابع مقاله باید با استفاده از ذکر شماره هر منبع در آخر هر جمله یا پاراگراف صورت گیرد. درصورتی که یک جملـه یا پاراگراف به چند منبع ارجاع می دهد، رعایت ترتیب اعداد از کوچک به بزرگ الزامی است.

**همچنین مطالعات ژنتیکی محدودی روی ژنوم شتر در ایران صورت گرفته است (۲، ٤، ۱۸). خبیری و همکاران (۵)، توالی نوکلئوتیدی را در دو گونه شتر مورد بررسی قرار دادند.**

## ب- منابع مورد استفاده

منابع مورد استفاده باید شامل جدیدترین منابع در زمینه کار مورد نظـر باشـد. فهرسـت منـابع بـه ترتیـب حـروف الفبـای نـام خـانوادگی نویسنده(گان) مقاله مرتب و شماره‌گذاری شود. وقتی از چند اثر مختلف یک نویسنده استفاده می‌شود، ترتیب شماره‌گذاری این مقاله‌ها بـر حسب سال انتشار آنها (از قدیم به جدید) انجام گیرد **(توجه شود که تمام منابع فارسی و انگلیسی مورد استفاده در قسـمت منابع باید به انگلیسی نوشته شوند. سال‌های شمسی به میلادی تبدیل شوند. در برگردان اسامی افـراد اطمینـان حاصل شود که املاء آن‌ها و سال انتشار درست باشد. ضروری است در انتهای منـابع فارسـی کـه بـه انگلیسـی برگردان شده است عبارت In Persian در انتهای منبع داخل پرانتز ذکر شود).**

### ۹-۱- نکات مهم درمورد نوشتن منابع

- ✓ نحوه نگارش منابع اتخاذ شده از نشریه های علمی، کتاب، همایش ها و یا درگاه الکترونیکی بایستی به صورت ذیل باشد.
- ✓ نام نشریه و یا همایش علمی باید به صورت کامل نوشته شود و از نوشتن مخفف آنها جداً خودداری شود.
- ✓ نام خانوادگی نویسنده اول، حرف اول اسم (اسامی) کوچک نویسنده اول، از نویسنده دوم به بعد حرف اول اسم (اسامی) کوچک و بعد نام خانوادگی. سال انتشار. عنوان. مشخصات ناشر. صفحه.
- ✓ به نقطه و ویرگولها در نوشتن منابع بسیار توجه شود.

به مثالها توجه نمایید:

#### ۹-۱-۱- نشریه های علمی

1. Lane, M. A., R. L. Baldwin, and W. Jesse. 2011. Sheep rumen metabolic development in response to different dietary treatment. Journal of Dairy Science, 78(Supp1.1):310(Abstr).
2. Tyrrell, H. F., and P. W. Moe. 2008. Effect of intake on digestive efficiency. Journal of Dairy Science, 58:1151-1163.
3. Ansari-Renani, H., M. Salehi, Z. Ebadi, and S. Moradi. 2010. Identification of hair follicle characteristics and activity of one and two humped camels. Small Ruminant Research, 90(1):64-70.
4. Akbari, M., and H. R. Afshari. 2014. Mapping of transcription factor binding Region of kappa casein (CSN3) gene in Iranian Bacterianus and Dromedaries camels. Iranian Journal of Animal Science Research, 6(4):57-65. (In Persian).
5. Karimi, M. A., M. C. Esfahan, G. Hisseini, and M. Rezaei. 2012. Effect of glutamic acid on broiler given sub marginal crude protein with adequate essential amino acids using feeds high and low in potassium. Iranian Journal of Animal Science Research, 5(2):17-25. (In Persian).

#### ۹-۱-۲- کتاب ها

6. AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
7. Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications). Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.
8. Lengemann, F. W., R. A. Wentworth, and C. L. Comar. 1974. Physiological and biochemical aspects of the accumulation of contaminant radionuclides in milk. Pages 159–170 in Lactation: A Comprehensive Treatise. Nutrition and Biochemistry of Milk/Maintenance. Vol. 3. B. L. Larson and V. R. Smith, ed. Academic Press, London, UK.
9. National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

#### ۹-۱-۳- همایش ها

10. Barbano, D. M. 1996. Mozzarella cheese yield: Factors to consider. Page 29 in Proc. Wisconsin Cheese Markers Meeting Center of Dairy Research, University of Wisconsin, Madison.
11. National Mastitis council. 1995. Summary of peer-reviewed publications on efficacy of premilking and postmilking teat distinfections published since 1980. Pages 82-92 in Natl. Mastitis Council Regional Meeting proceeding, Harrisburg, PA. Natl. Mastitis counc, Inc., Madison. WI.

#### ۹-۱-٤- درگاه الکترونیکی (Web Site)

12. Buch, L. H., A. C. Sorensen, J. Lassen, P. Berg, J. A. Eriksson, J. H. Jakobsen, and M. K. Sorensen. 2011. Hygiene-related and feed-related hoof diseases show different patterns of genetic correlations to clinical mastitis and female fertility. Journal of Dairy Science, 94:1540–1551. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2010-3137.

13. Mathieu R., H. M. Richards, S. J. Brooks, W. Stewart, and M. Sbins. 2004. Relationships between Milk production and heritability in Holstein dairy cattle. International Journal of Animal Science, 24(2):65–81. Available at http://www.informaworld.com/contentUa/V.24-2.

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

## ۱۰- چکیده انگلیسی

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

- ✓ ابتدای واژه‌های اصلی عنوان انگلیسی مقاله و کلمات کلیدی با حروف بزرگ نوشته شود.
- ✓ از ذکر اسامی و آدرس نویسندگان به انگلیسی در بخش چکیده مبسوط خودداری گردد.

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

**Introduction** Text type here. Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here**.**

**Materials and Methods** Text type here. Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.

**Results and Discussion** Text type here. Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.

**Conclusion** Text type here. Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.Text type here.

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

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۱۷۳-۱۶۱

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 161-173

مقاله علمی- پژوهشی

# اثر افزودن پروتکسین و اسانس نعناع، آویشن و دارچین به شیر بر عملکرد و فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار نژاد هلشتاین

فرشید صراف[۱]، سید علیرضا وکیلی[۲*]، محسن دانش مسگران[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۲۴

## چکیده

به منظور بررسی اثرات اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن، دارچین و همچنین پروبیوتیک پروتکسین به شیر بر عملکرد، برخی فراسنجه‌های خونی، اندازه بدنی و قابلیت هضم مواد مغذی، آزمایشی با استفاده از ۲۵ رأس گوساله شیرخوار نژاد هلشتاین (۱۰ راس ماده و ۱۵ راس نر) با میانگین وزن تولد ۸ ± ۴۰ کیلوگرم در قالب طرح کامل تصادفی انجام شد. جیره‌های آزمایشی شامل ۱) شیر بدون افزودنی (گروه شاهد)، ۲) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر اسانس نعناع فلفلی، ۳) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر اسانس آویشن، ۴) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر اسانس دارچین و ۵) شیر + ۰/۵ گرم پروبیوتیک پروتکسین بود. گوساله‌ها در جایگاه انفرادی نگهداری شده و به آب و خوراک دسترسی آزاد داشتند. گوساله‌ها به مدت ۳ روز آغوز و پس از آن با مقدار ۱۰ درصد وزن تولد تا زمان ۸۰ روزگی شیر دریافت کردند. استارتر از روز سوم آزمایش در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. داده‌های بدست آماده با استفاده از مدل عمومی خطی (GLM) رویه تکرار در زمان آنالیز شدند. نتایج بدست آمده نشان داد مصرف استارتر تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، با این وجود گوساله‌های مصرف کننده اسانس دارچین و پروتکسین دارای افزایش وزن روزانه بالاتری نسبت به دیگر اسانس‌ها و گروه شاهد بودند. حداقل بازده خوراک مربوط به گوساله‌های تیمار شاهد و حداکثر آن مربوط به گوساله‌های مصرف کننده اسانس دارچین و پروتکسین بود. فراسنجه‌های خونی و نیتروژن آمونیاکی شکمبه تحت تأثیر نوع اسانس و پروبیوتیک مصرفی قرار نگرفت. میزان pH شکمبه‌ای در گوساله‌های تغذیه شده با اسانس‌های مختلف و همچنین پروتکسین نسبت به گروه شاهد پایین‌تر بود. عرض هیپ، دور سینه، عمق شکم و ارتفاع جدوگاه تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. با این وجود طول بدن و ارتفاع هیپ در گوساله‌های دریافت کننده اسانس دارچین نسبت به گروه شاهد بالاتر بود. قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در گوساله‌های مصرف کننده اسانس دارچین تمایل به معنی‌داری بیشتری نسبت به گروه شاهد داشت. بطورکلی مصرف اسانس دارچین و پروتکسین با بهبود بازده خوراک و تخمیر شکمبه ممکن است منجر به بهبود عملکرد گوساله‌های شیرخوار گردد.

**واژه‌های کلیدی:** نعناع، آویشن، دارچین، پروتکسین، گوساله، عملکرد.

## مقدمه

بی‌تردید راز موفقیت هر واحد گاوداری در پرورش و نگهداری صحیح گوساله‌ها و تلیسه‌های جایگزین است زیرا از یک سو هر ساله ۲۰ تا ۳۰ درصد گاوهای شیری هر گاوداری جایگزین می‌شوند و از سوی دیگر پرورش گوساله‌ها از تولد تا زایش، دومین هزینه بزرگ گله‌های شیری را (حدود ۲۰ درصد) پس از هزینه خوراک به خود اختصاص می‌دهد (۱۶). همچنین سرعت رشد گوساله‌ها، سن اولین زایش و میزان شیر تولید شده در آینده را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳۱). در صورت فراهم بودن امکانات، اقتصادی‌ترین روش تامین تلیسه مورد نیاز هر گله، پرورش گوساله‌های شیری است. در واقع آینده هر مجموعه پرورش گاو شیری بستگی به موفقیت در امر پرورش گوساله‌ها و تلیسه‌های جایگزین دارد (۵). یکی از اصول مهم در تغذیه گوساله‌های شیرخوار ترغیب آن‌ها به مصرف شیر و استارتر می‌باشد. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در دوره پرورش گوساله‌ها یکی از روش‌های مورد توجه در کاهش بیماری و مرگ و میر گوساله‌ها بوده است (۸). کاهش اقبال عمومی به مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و با ممنوعیت کاربرد آن‌ها در اتحادیه اروپا در خوراک حیوانات به علت باقی‌ماندن اثرات سوء آن‌ها در گوشت و بدن و همچنین ایجاد سویه‌های مقاوم، محققان را به بررسی جایگزین‌های آنتی‌بیوتیکی سوق داده است که یکی از این موارد اسانس‌ها یا

۱-دانشجوی دکتری تغذیه دام پردیس بین الملل دانشگاه فردوسی مشهد،
۲-دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی،دانشگاه فردوسی مشهد،
۳- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی،دانشگاه فردوسی مشهد.
(*- نویسنده مسئول: Email: savakili@um.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.82290

پروبیوتیک‌ها می‌باشند (۷). اسانس‌های گیاهی مایعات آب گریز تغلیظ شده‌ای هستند که حاوی ترکیبات فرار آروماتیک می‌باشند. اسانس‌های گیاهی مخلوطی از ترکیبات مختلف (عمدتا ترپن‌ها و مشتقات ترپنی) را شامل می‌شوند (۶). خاصیت ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی به ترکیبات فنولیک و ترپنوئید موجود در آنها نسبت داده شده است (۷). هدف از بکارگیری این دست از افزودنی‌ها، بهبود وضعیت طعم و مزه خوراک، افزایش شیرابه‌های هضمی و آنزیم‌های هضم کننده موجود در سیستم گوارش، بهبود وضعیت سلامتی، جلوگیری از فساد مواد خوراکی و عمده تأثیر این ترکیبات بر رشد گوساله‌ها از طریق اثر بر جمعیت میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ای می‌باشد. بسیاری از اسانس‌ها در شرایط برون تنی منجر به کاهش تولید متان گردید (۸). آکراوال و همکاران (۲) اذعان داشتند که استفاده از اسانس نعناع بر تولید متان تاثیر گذاشته و کاهش تولید متان را در بر دارد. نتایج ضد و نقیضی در مورد افزودن اسانس‌ها به خوراک گوساله‌ها مشاهده گردیده است که تفاوت در این مطالعات، به دلیل نوع و مقدار اسانس استفاده شده، اثر متقابل عوامل زیستی فعال موجود در آن‌ها و روش آزمایش برمی‌گردد (۹، ۱۸ و ۲۹). در آزمایش اکبریان و همکاران (۳) افزودن اسانس نعناع به استارتر گوساله‌های شیرخوار اثر معنی‌داری بر ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه نداشت، اما منجر به کاهش سن از شیرگیری و افزایش قوام مدفوع گردید. در آزمایشی دیگر غنی سازی شیر و آب گوساله‌های شیرخوار با اسانس نعناع و اکالیپتوس منجر به بهبود ضریب تبدیل و قابلیت هضم مواد مغذی گردید (۲۶). افزودن مخلوطی از مواد موثره اسانس‌ها از قبیل کارواکرول، سینئول و سینامالدئید (از اجزای تشکیل دهنده اسانس دارچین) به جایگزین شیر و یا استارتر گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تاثیری بر خوراک مصرفی و افزایش وزن روزانه نداشت (۲۶). هیل و همکاران (۱۸) بیان کردند که افزودن اسانس‌ها به جایگزین شیر گوساله‌های هلشتاین منجر به افزایش عملکرد و بازده خوراک گردید. با این وجود مطالعات اندکی در مورد حضور اسانس‌ها و مقایسه آن‌ها با پروبیوتیک تجاری پروتکسین در شیر بر عملکرد و سیستم ایمنی گوساله‌ها پرداخته شده است. هدف از اجرای این آزمایش بررسی اثرافزودن اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن، دارچین و همچنین پروتکسین به شیر بر عملکرد و سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار بود.

## مواد و روش‌ها

### گوساله‌ها و تیمارهای آزمایشی

مطالعه حاضر در فاصله زمانی آذر تا بهمن ۱۳۹۶ با استفاده از ۲۵ راس گوساله نر و ماده شیرخوار نژاد هلشتاین (۱۰ راس ماده و ۱۵ راس نر) با میانگین وزن تولد ۸ ± ۴۲ کیلوگرم در قالب طرح کامل تصادفی در مرکز تحقیقات گاو شیری دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد صورت پذیرفت. گوساله‌ها در ۲۴ ساعت اولیه پس از تولد از مادران خود جدا و به باکس‌های انفرادی حاوی بستر کاه و کلش منتقل شدند. بستر همه روزه تمیز می‌شد. گوساله‌ها بلافاصله پس از تولد با ۲ لیتر آغوز در دو نوبت متوالی هر روز تا روز سوم تغذیه شدند. هر یک از گوساله‌ها تا زمان از شیرگیری به میزان ۱۰ درصد از وزن تولد، شیر دریافت کردند. در روز سوم گوساله‌ها براساس وزن به صورت تصادفی به تیمارهای آزمایشی۱) شیر بدون افزودنی (گروه شاهد)، ۲) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر اسانس نعناع فلفلی، ۳) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر اسانس آویشن، ۴) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر اسانس دارچین و ۵) شیر + ۰/۵ گرم پروتکسین اختصاص داده شدند. افزودنی‌ها به میزان ثابت به شیر گوساله‌ها اضافه می‌شد. اسانس‌ها به غلظت ۰/۴ درصد از شرکت داروسازی مزدیسنا سام نوش دارو (خراسان رضوی، مشهد) با استفاده از روش تقطیر با استفاده از حلال شیمیایی هگزان تهیه گردید. استارتر تمامی تیمارها یکسان و از سه روزگی در اختیار دام‌ها قرار گرفت. اجزای جیره و ترکیب شیمیایی آن در جدول ۱ آورده شده است که در کل دوره ثابت بود.

### نمونه‌گیری

میزان استارتر مصرفی و باقیمانده روز قبل به صورت روزانه وزن کشی و ثبت شد. از هر یک از خوراک و باقیمانده مقداری نمونه برداری شده و تا انجام آزمایشات آنالیز تقریبی در فریزر (دمای ۲۰- درجه سانتی گراد) نگهداری شد.

به منظور تعیین قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی (ماده خشک، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی) با استفاده از روش ونکولن و یانگ (۳۰)، یک مرحله ۵ روزه نمونه گیری از مدفوع در انتهای دوره در نظر گرفته شد. نمونه گیری از طریق تحریک رکتال روزانه یک بار در ساعت هشت صبح با دستکش لاتکس جمع‌آوری می‌شد. نمونه‌های مدفوع تا هنگام آنالیز آزمایشگاهی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری ماده خشک از آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد و مقدار خاکستر خام با قرار دادن نمونه‌ها در کوره با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت تعیین شدند.

میزان نیتروژن موجود در استارتر و مدفوع با استفاده از دستگاه کجلدال اتوماتیک( Behr distillation unit S5، مدل ۱۰۳۰، سوئد) اندازه‌گیری شد.

نمونه‌گیری از خون، ۲ ساعت قبل خوراک‌دهی صبح در ابتدا و انتهای دوره آزمایشی صورت گرفت و به میزان ۱۰ میلی‌لیتر خون توسط سرنگ از سیاهرگ وداج گردن گرفته شد و درون لوله‌های استریل حاوی هپارین (BDVacationer Systems) ریخته شد، به آرامی تکان داده و بلافاصله پلاسما با سانتریفوژ در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه بدست آمد.

**جدول ۱**- مواد خوراکی و ترکیب مواد مغذی جیره پایه مورد استفاده گوساله‌های شیرخوار نژاد هلشتاین

**Table 1-** Ingredients and chemical composition of basal diet for Holstein dairy calves

| ترکیب جیره<br>Diet composition | جیره پایه<br>Basal diet |
|---|---|
| جو<br>Barley grain | 10 |
| ذرت<br>Corn grain | 50 |
| کنجاله سویا<br>Soybean meal | 29 |
| تفاله چغندرقند<br>Suger beet pulp | 3 |
| کاه خرد شده<br>Choped straw | 3 |
| سبوس گندم<br>Wheat bran | 3 |
| کربنات کلسیم<br>Calcium carbonate | 0.50 |
| مکمل ویتامینی و مواد معدنی۱<br>Mineral-vitamin supplement[1] | 1.5 |
| Chemical composition (percent) ترکیب مواد مغذی | |
| ماده خشک<br>Dry matter | 90.50 |
| پروتئین خام<br>Crude protein | 22 |
| فیبر نامحلول در شوینده خنثی<br>Neutral detergent fiber | 21 |
| چربی<br>Fat | 4.5 |
| کلسیم<br>Calcium | 0.81 |
| فسفر<br>Phosphorus | 0.52 |
| انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری بر کیلوگرم)<br>Metabolizable energy (Mcal/kg)[2] | 2.81 |
| انرژی خالص افزایش وزن (مگاکالری بر کیلوگرم)<br>Net gain energy (Mcal/kg)[3] | 1.26 |

[1] هر کیلوگرم مکمل معدنی و ویتامینی حاوی: ۲۵۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۵۰۰۰۰ واحد ویتامین D، ۱۵۰۰ واحد ویتامین E، ۲/۲۵ گرم منگنز، ۱۲۰ گرم کلسیم، ۷/۷ گرم روی، ۲۰ گرم فسفر، ۲۰/۵ گرم منیزیوم، ۱۸۶ گرم سدیم، ۱/۲۵ گرم آهن، ۳ گرم گوگرد، ۱۴ میلی‌گرم کبالت، ۱/۲۵ گرم مس، ۵۶ میلی‌گرم ید

[1]Every kilogram of minaral and vitamin supplement containing: 250,000 IU vitamin A, 50,000 IU vitamin D, 1,500 IU vitamin E, 2.25 g Mn, 120 g Ca, 7.7 g Zn, 20 g P, 20.5 g Mg, 186 g Na, 1.25 g Fe, 3 g S, 14 mg Co, 1.25 g Cu, 56 mg I.

[2]ME = 1.1 * Digestible energy (Mcal/kg) – 0.45

[3]NEg = -0.003340 + 0.4979 BW/bw$^{0.75}$

پلاسمای خون توسط سرنگ به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتر انتقال داده شد و تا زمان آنالیز فراسنجه‌های خونی در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌های خون جهت تعیین گلوکز، نیتروژن اوره‌ای، کلسترول، تری‌گلیسیریدها و آنزیم‌های کبدی آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز با استفاده از کیت‌های بیوشیمی شرکت پارس آزمون (تهران) و با دستگاه اتوآنالایزر مدل BT3000

ساخت کشور اسپانیا اندازه‌گیری شد. محتوای مایع شکمبه حدود ۳ ساعت بعد از تغذیه صبح (ساعت ۳۰´ ± ۱۱) توسط دستگاه Stomach tube گرفته شد. محتوای مایع شکمبه توسط پارچه متقال چهار لایه صاف و بلافاصله pH آن اندازه‌گیری می‌شد. سپس با اسید سولفوریک ۰/۲ نرمال مخلوط و بلافاصله جهت بررسی و انجام آنالیز نیتروژن آمونیاکی توسط دستگاه اسپکت به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل و ذخیره شدند.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

در ارتباط با داده‌های تکرار شونده (میزان خوراک مصرفی، افزایش وزن، بازده خوراک)، اثرات تیمارها به عنوان اثرات اصلی، اثر گوساله به عنوان اثر تصادفی و اثر دوره به عنوان اثر تکرار شونده و وزن اولیه گوساله ها به عنوان کوواریت (متغیر کمکی) در نظر گرفته شد. مصرف خوراک روزانه و افزایش وزن روزانه و بازده خوراک با استفاده از دستور داده‌های تکرار در زمان Repeated Measurement از رویه Mixed و با استفاده از ساختار کوواریانس CS (Covariance Structure) مورد آنالیز قرار گرفت. سایر آنالیزهای آماری از قبیل داده‌های اندازه بدنی، pH، غلظت نیتروژن آمونیاکی با استفاده از رویه مدل خطی تعمیم یافته (GLM) و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. وزن اولیه گوساله‌ها، فراسنجه‌های خونی و اندازه بدنی در زمان ورود به طرح به عنوان متغیر کمکی در مدل قرار گرفت. مدل آماری مورد استفاده جهت پردازش داده‌های مربوط به عملکرد:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + A_{ij} + \beta\,(BW_{ij} - \bar{x}) + e_{ij}$$

که $Y_{ij}$: مشاهده مربوط به گوساله j ام در تیمار i ام، $\mu$: میانگین کل، $T_i$ :اثر تیمار i ام، $A_{ij}$: اثر حیوان j ام در تیمار i ام، $\beta\,(BW_{ij} - \bar{x})$: وزن اولیه به عنوان متغیر کمکی و $e_{ij}$: خطای باقیمانده می‌باشد.

مدل آماری سایر آنالیزها به شرح زیر می‌باشد.

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

که $Y_{ij}$: مشاهده مربوط به گوساله j ام در تیمار i ام، $\mu$: میانگین کل، $T_i$ :اثر تیمار i ام و $e_{ij}$: خطای باقیمانده می‌باشد.

## نتایج و بحث

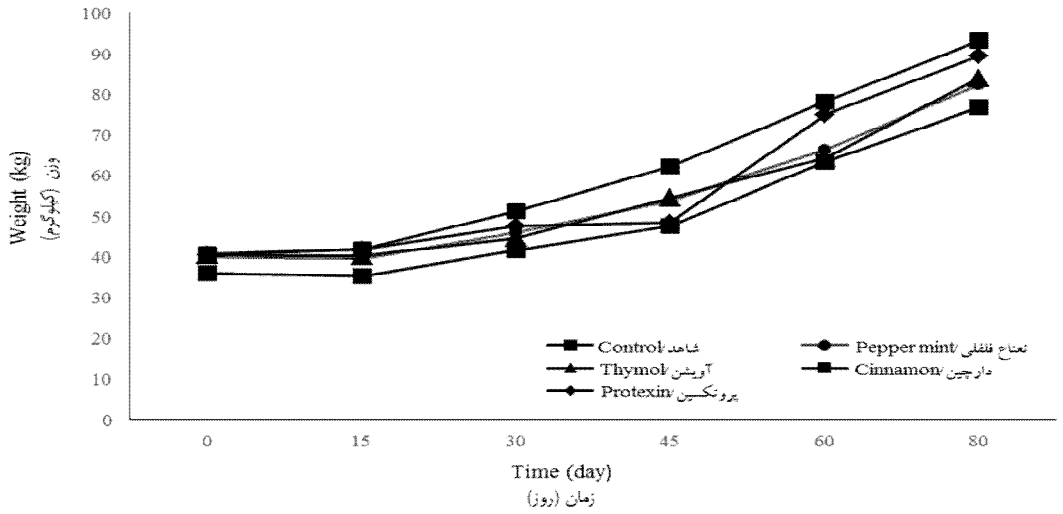
### عملکرد

نتایج مربوط به مصرف استارتر و ماده خشک روزانه در کل دوره نشان داد که بین تیمارهای حاوی اسانس‌های مختلف و همچنین افزودنی پروبیوتیکی پروتکسین تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (جدول ۲، $P>0/05$). در آزمایش‌های مختلف نشان داده شده است که استفاده از اسانس‌ها یا مخلوطی از آن‌ها باعث افزایش (۲۱)، بدون تاثیر (۱۱ و ۲۹) و حتی کاهش در مصرف استارتر و ماده خشک می‌شود (۲۷). علت اثر متناقض در مطالعات را احتمالا بتوان به مقدار مصرف و نوع اسانس و یا حتی جیره پایه نسبت داد. گوساله‌های مصرف کننده اسانس دارچین و پروتکسین دارای افزایش وزن روزانه بالاتری نسبت به دیگر اسانس‌ها و گروه شاهد بودند و کمترین میزان افزایش وزن روزانه مربوط به گروه شاهد بود. گوساله‌های مصرف کننده اسانس دارچین از ۱۵ روزگی به جهت افزایش وزن پیشی گرفتند (نمودار ۱) و این روند تا انتهای دوره ادامه پیدا کرد. ابراهیمی و همکاران (۱۱) اذعان داشتند که نعناع فلفلی نسبت به آویشن منجر به افزایش وزن روزانه شد. همچنین جشاری و همکاران (۲۱) بیان کردند که اسانس پونه منجر به افزایش ۰/۳ درصد افزایش وزن روزانه گردیده است. وزن اولیه گوساله‌ها در بین تیمارهای آزمایشی مختلف تفاوت معنی داری نداشت با این وجود در انتهای دوره گوساله‌های مصرف کننده شیر حاوی افزودنی اسانس دارچین و پروتکسین دارای وزن بالاتری نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی بودند. حداقل بازده خوراک مربوط به گوساله‌های تیمار شاهد و حداکثر آن مربوط به گوساله‌های مصرف کننده اسانس دارچین و پروتکسین بودند. افزودن مقادیر مختلف اسانس نعناع به جیره گوساله‌ها تفاوت معنی‌داری در افزایش وزن گوساله‌ها در دوره قبل از شیرگیری، بعد از شیرگیری و کل دوره مشاهده نگردید (۱). اسانس می‌تواند بر میکروفلور دستگاه گوارش تاثیر بگذارند (۸). بنابراین بهبود سلامت دستگاه گوارش به دلیل استفاده از اسانس ممکن است در دسترس بودن مواد مغذی برای جذب، و به تبع آن رشد را بهتر کند (۱۳). تحریک بافت اپی تلیال که موجب افزایش ترشح موکوس و آنزیم‌ها می‌شود از تاثیرات دیگر اسانس می‌باشد که باعث هضم و جذب بهتر مواد مغذی می‌شود (۲۶). افزایش بازده خوراک در تیمارهای حاوی اسانس خصوصا اسانس دارچین و همچنین افزودنی پروتکسین می‌تواند بدلیل تغییر در فلور میکروبی شکمبه در حضور اسانس‌ها و پروبیوتیک باشد به طوری که کاهش فعالیت باکتری‌های تولید کننده گاز متان و برخی پروتوزوآها باعث کاهش متان شده و افزایش بازدهی خوراک را در پی دارد (۲۸).

### فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای

افزودن اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن، دارچین و پروتکسین به شیر گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تاثیری بر میزان میانگین غلظت گلوکز، کلسترول، پروتئین کل، آلبومین، اوره، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، کلسیم و فسفر نداشت (جدول ۳: $P>0/05$). مطالعات ابابکری و همکاران (۱) و سلطان (۲۷) در راستای مطالعه حاضر گزارش کردند افزودن اسانس‌های مختلف از قبیل نعناع، نعناع فلفلی، اکالیپتوس و منتول به استارتر و جایگزین شیر بر فراسنجه‌های خونی اثر نداشت، با این وجود سطح بالای این اسانس‌ها منجر به

افزایش گلوکز خون در مقایسه با گروه شاهد شد.




**شکل ۱**- تغییرات وزن بدن گوساله‌های هلشتاین تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

**Figure 1**- Body weight changes of Holstein dairy calves fed with the experimental diets

**جدول ۲**- مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و بازده خوراک در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

**Table 2**- Feed intake, average daily gain and feed efficiency of Holstein dairy calves fed with the experimental

| فراسنجه Parameter | تیمارها[1] Treatments[1] | | | | | SEM[2] | P-Value[3] | | تیمار * زمان |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | | تیمار | زمان | |
| مصرف خوراک (گرم در روز) Feed intake (g/d) | 1136.34 | 1062.33 | 995.46 | 1175.49 | 1102.89 | 138.07 | 0.90 | 0.13 | 0.12 |
| افزایش وزن روزانه (گرم) Daily weight gain (g) | 498.01$^{c}$ | 530.95$^{c}$ | 544.31$^{bc}$ | 662.51$^{a}$ | 647.03$^{ab}$ | 38.91 | 0.05 | 0.17 | 0.16 |
| بازده خوراک (گرم در روز) Feed efficiency (g/d) | 466.90$^{b}$ | 529.90$^{ab}$ | 556.10$^{ab}$ | 584.42$^{a}$ | 585.57$^{a}$ | 4.10 | 0.05 | 0.09 | 0.08 |
| وزن اولیه (کیلوگرم) Initial weight (kg) | 37.88 | 39.96 | 40.46 | 40.52 | 40.46 | 1.79 | 0.32 | - | - |
| وزن نهایی (کیلوگرم) Final weight (kg) | 76.64$^{b}$ | 82.30$^{ab}$ | 83.74$^{ab}$ | 93.24$^{a}$ | 89.45$^{ab}$ | 3.36 | 0.02 | - | - |

[۱] تیمارهای آزمایشی۱) شیر بدون افزودنی (گروه شاهد)، ۲) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر اسانس نعناع فلفلی، ۳) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر آویشن، ۴) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر دارچین و ۵) شیر + ۰/۵ گرم پروبیوتیک پروتکسین

[۲] میانگین خطای استاندارد

[۳] سطح احتمال معنی‌داری

[a-c] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

[1] Treatment consisted 1) milk without additive (control), milk + 40 ml pepper mint, 3) milk + 40 ml thymol, 4) milk + 40 ml cinnamon, 5) milk + 0.5 g protexin

[2] Standard error of mean

[3] Probability value

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

میزان غلظت pH شکمبه‌ای در گوساله‌های تغذیه شده با اسانس‌های مختلف و همچنین پروتکسین نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (شکل ۱: P<۰/۰۵)،که این کاهش pH با افزودن اسانس و پروبیوتیک احتمالا مربوط به افزایش سطح پروپیونات شکمبه‌ای نسبت به استات می‌باشد (۸). میزان غلظت تری‌گلیسرید در گوساله‌های تغذیه شده با اسانس دارچین نسبت به دیگر اسانس‌ها و

همچنین پروتکسین بالاتر بود (P<۰/۰۵). نتایج ضد و نقیضی در ارتباط با حضور اسانس بر میزان غلظت کلسترول و تری‌گلیسیرید وجود دارد. السهت و همکاران (۴) به عدم تاثیر اسانس‌ها بر این فراسنجه‌های خونی اشاره داشتند. چاوس و همکاران (۱۰) اذعان داشتند که اسانس‌ها منجر به افزایش ۱۸ برابری تری‌گلیسیرید و کلسترول نسبت به گروه شاهد شد، با این وجود السون و کورشی (۱۲) به کاهش غلظت تری گلیسیرید و کلسترول خون در گوساله‌ها در حضور اسانس اشاره کردند. غلظت نیتروژن اوره‌ای خون در مطالعه حاضر تحت تاثیر افزودن اسانس‌ها و پروتکسین در جیره قرار نگرفت (شکل ۲). یکی از راه‌های سنتز اوره در کبد، سنتز اوره از آمونیاک جذب شده از دیواره شکمبه می‌باشد، در نتیجه غلظت نیتروژن اوره‌ای خون همبستگی زیادی با غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه دارد (۱۹). به دلیل این که غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه در این مطالعه تحت تاثیر نوع افزودنی در جیره قرار نگرفت، عدم تغییر در نیتروژن اوره‌ای خون قابل انتظار بود.

**جدول ۳**- غلظت متابولیت‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

**Table 3**- Blood metabolite concentrations of Holstein dairy calves fed with the experimental diets

| فراسنجه Parameter | تیمارها[1] Treatments[1] | | | | | SEM[2] | P-Value[3] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | | |
| گلوکز (میلی‌گرم در دسی لیتر) Glucose (mg/dl) | 10.66 | 104.80 | 110.27 | 111.12 | 115.82 | 4.24 | 0.51 |
| کلسترول (میلی‌گرم در دسی لیتر) Cholesterol (mg/dl) | 54.18 | 46.16 | 47.23 | 46.68 | 49.61 | 2.82 | 0.28 |
| تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم در دسی لیتر) Triglyceride (mg/dl) | 28.90[b] | 26.08[b] | 25.64[b] | 32.24[a] | 25.80[b] | 1.63 | 0.04 |
| پروتئین کل (گرم در دسی لیتر) Total protein (g/dl) | 6.40 | 6.54 | 6.56 | 6.54 | 6.56 | 0.11 | 0.81 |
| آلبومین (میلی‌گرم در دسی لیتر) Albumin (mg/dl) | 4.20 | 4.11 | 4.24 | 4.32 | 4.30 | 0.11 | 0.68 |
| اوره (میلی‌گرم در دسی لیتر) Urea (mg/dl) | 13.81 | 13.37 | 13.40 | 11.98 | 12.20 | 0.81 | 0.43 |
| آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد در لیتر) Aspartate amino transferase (unit/l) | 48.18 | 48.57 | 49.90 | 48.33 | 47.10 | 3.67 | 0.98 |
| آلانین آمینوترانسفراز (واحد در لیتر) Alanine amino transferase (unit/l) | 14.06 | 11.33 | 14.14 | 11.31 | 12.29 | 1.30 | 0.36 |
| کلسیم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Calcium (mg/dl) | 10.70 | 10.99 | 10.88 | 10.94 | 10.71 | 0.17 | 0.69 |
| فسفر (میلی‌گرم در دسی لیتر) Phosphor (mg/dl) | 6.25 | 6.34 | 6.03 | 6.29 | 6.21 | 0.20 | 0.85 |

[۱] تیمارهای آزمایشی۱) شیر بدون افزودنی (گروه شاهد)، ۲) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر اسانس نعناع فلفلی، ۳) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر آویشن، ۴) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر دارچین و ۵) شیر + ۰/۵ گرم پروبیوتیک پروتکسین

[۲] میانگین خطای استاندارد

[۳] سطح احتمال معنی‌داری

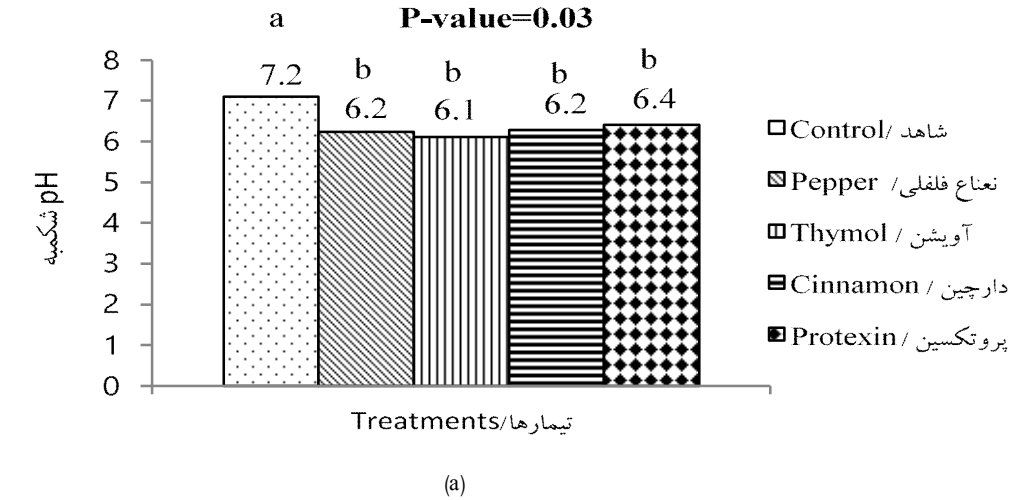
[a-b]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P < 0.05) .

[1]Treatment consisted 1) milk without additive (control), milk + 40 ml pepper mint, 3) milk + 40 ml thymol, 4) milk + 40 ml cinnamon, 5) milk + 0.5 g protexin

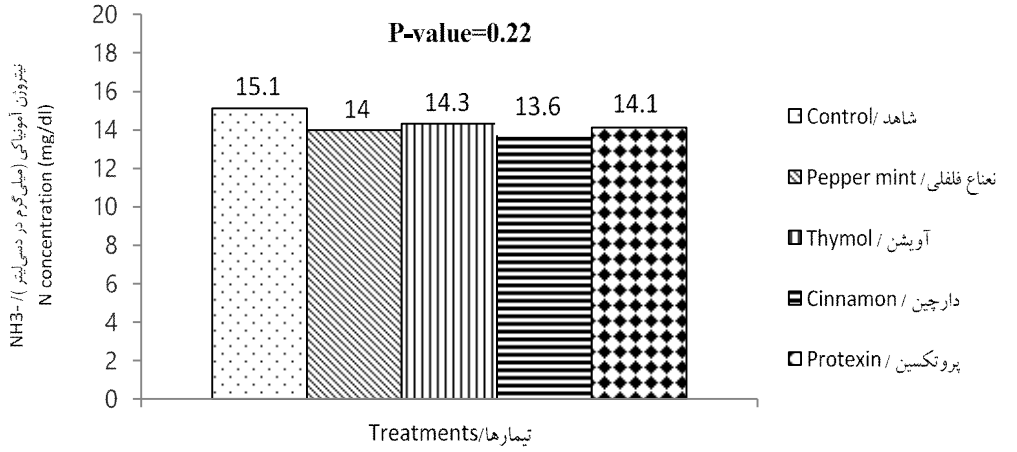
[2] Standard error of mean

[3] Probability value

[a-b] Means with different letters in a row differ (P < 0.05)




(a)




(b)

**شکل ۲**- مقدار pH (a) و غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه (b) در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

**Figure 2**- pH value (a) and NH3-N concentrations (b) of Holstein dairy calves fed with the experimental diets

**اندازه بدنی**

صفات مربوط به رشد اسکلتی یا اندازه‌های بدنی گوساله‌های مصرف کننده اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن، دارچین و پروتکسین در شیر در جدول ۴ نشان داده شده است. عرض هیپ، دور سینه، عمق شکم و ارتفاع جدوگاه در هر دو دوره ۰-۴۰ روزگی و ۴۰-۸۰ روزگی تحت تاثیر افزودن اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن، دارچین و همچنین مکمل پروبیوتیکی پروتکسین قرار نگرفت (P>۰/۰۵). با این وجود طول بدن و ارتفاع هیپ در گوساله‌های دریافت کننده اسانس دارچین نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (P<۰/۰۵)، که نشان دهنده نرخ رشد بهتر در این گوساله‌ها می‌باشد. فروهلیچ (۱۴) گزارش کردند که ارتفاع هیپ در گوساله‌های مصرف کننده اسانس به میزان ۱/۲۵ گرم در روز نسبت به گوساله‌های دریافت کننده اسانس در مقادیر ۲/۵ و ۳/۷۵ گرم در روز بالاتر بود با این وجود دیگر اندازه‌های بدنی از قبیل طول بدن، عمق شکم، عرض هیپ و ارتفاع جدوگاه تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای حاوی مکمل اسانس با گروه شاهد نداشت. اکبریان و همکاران (۳) نیز تفاوت معنی‌داری را در رابطه با اندازه بدنی در گوساله‌های مصرف کننده اسانس‌های آویشن، اکالیپتوس، کرفس و همچنین پروبیوتیک مونسین مشاهده نکردند. عدم معنی‌داری تاثیر اسانس‌ها و پروتکسین بر اندازه بدنی بنظر می‌رسد احتمالا بدلیل تامین مواد معدنی و ویتامینه مورد نیاز اسکلت در تمامی تیمارهای آزمایشی بوده است با این وجود بررسی‌های بیشتر بر روی دیگر متابولیت‌های خونی از قبیل کلسیم و فسفر برای اظهار نظر دقیق‌تر در این زمینه می‌تواند راهگشای دقیق‌تر در زمینه تاثیر اسانس‌های گیاهی و پروبیوتیک بر اندازه بدنی باشد.

**جدول ٤**- اندازه‌های بدنی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

**Table 4-** Body measurements of Holstein dairy calves fed with the experimental diets

| فراسنجه Parameter | تیمارها[1] Treatments[1] | | | | | SEM[2] | P-Value[3] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | | |
| طول بدن (سانتی‌متر) Body length (cm) | | | | | | | |
| صفر تا ۵۶ روزگی 0 - 56 d | 40.38[c] | 44.80[b] | 43.41[b] | 46.49[a] | 43.25[b] | 0.93 | 0.005 |
| ۵۶ تا ۷۰ روزگی 56 - 70 d | 50.46 | 52.25 | 53.44 | 55.37 | 54.80 | 1.45 | 0.17 |
| ارتفاع هیپ (سانتی‌متر) Hip height (cm) | | | | | | | |
| صفر تا ۵۶ روزگی 0 - 56 d | 82.70[b] | 86.93[a] | 86.23[a] | 88.33[a] | 86.31[a] | 1.48 | 0.03 |
| ۵۶ تا ۷۰ روزگی 56 - 70 d | 95.59 | 94.59 | 96.90 | 95.93 | 95.96 | 1.87 | 0.92 |
| عرض هیپ (سانتی‌متر) Hip width (cm) | | | | | | | |
| صفر تا ۵۶ روزگی 0 - 56 d | 21.88 | 22.41 | 22.90 | 22.05 | 21.94 | 0.38 | 0.27 |
| ۵۶ تا ۷۰ روزگی 56 - 70 d | 26.09 | 26.85 | 25.93 | 27.35 | 25.96 | 0.92 | 0.51 |
| دور سینه (سانتی‌متر) Heart girth (cm) | | | | | | | |
| صفر تا ۵۶ روزگی 0 - 56 d | 87.99 | 85.42 | 86.95 | 91.06 | 87.95 | 2.87 | 0.36 |
| ۵۶ تا ۷۰ روزگی 56 - 70 d | 105.43 | 108.54 | 107.20 | 108.62 | 103.66 | 2.59 | 0.49 |
| عمق شکم (سانتی‌متر) Body barrel (cm)_ | | | | | | | |
| صفر تا ۵۶ روزگی 0 - 56 d | 92.72 | 87.05 | 91.97 | 92.44 | 94.12 | 2.32 | 0.30 |
| ۵۶ تا ۷۰ روزگی 56 - 70 d | 118.69 | 120.22 | 119.14 | 120.12 | 117.78 | 2.58 | 0.96 |
| ارتفاع جدوگاه (قد) (سانتی‌متر) Withers height (cm) | | | | | | | |
| صفر تا ۵۶ روزگی 0 - 56 d | 80.20 | 85.41 | 83.49 | 89.51 | 81.43 | 2.37 | 0.88 |
| ۵۶ تا ۷۰ روزگی 56 - 70 d | 93.09 | 91.62 | 93.13 | 93.57 | 93.95 | 2.75 | 0.91 |

[1] تیمارهای آزمایشی۱) شیر بدون افزودنی (گروه شاهد)، ۲) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر اسانس نعناع فلفلی، ۳) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر آویشن، ۴) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر دارچین و ۵) شیر + ۰/۵ گرم پروبیوتیک پروتکسین

[2] میانگین خطای استاندارد

[3] سطح احتمال معنی‌داری

[a-c] میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

[1] Treatment consisted 1) milk without additive (control), milk + 40 ml pepper mint, 3) milk + 40 ml thymol, 4) milk + 40 ml cinnamon, 5) milk + 0.5 g protexin

[2] Standard error of mean

[3] Probability value

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

## قابلیت هضم مواد مغذی

داده‌های مرتبط با قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و فیبر نامحلول در شوینده خنثی در تیمارهای حاوی اسانس‌های نعناع فلفلی، آویشن، دارچین و پروتکسین در جدول ۵ نشان داده شده است. قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در گوساله‌های مصرف کننده اسانس دارچین تمایل به معنی‌داری بیشتری نسبت به گروه

شاهد داشت (P=۰/۰۶ و P=۰/۰۷). قابلیت هضم پروتئین خام و فیبر نامحلول در شوینده خنثی تحت تاثیر نوع افزودنی اسانس و پروتکسین در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین قرار نگرفت. لیو و همکاران (۲۲) اذعان داشتند که گوساله‌های دریافت کننده اسانس-های گیاهی دارای قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی بالاتری نسبت به گروه کنترل بودند. با این وجود، نیوبولد و همکاران (۲۵) نشان دادند که ترکیب تجاری اسانس-های گیاهی (۱۱۰ میلی‌گرم در روز به ازای هر راس) نرخ تجزیه پذیری ماده خشک کنجاله سویا را در شکمبه گوسفندان کاهش داد. گزارشات خیلی کمی در رابطه با اثرات اسانس‌های گیاهی بر تجزیه پروتئین در شکمبه (۲۳ و ۲۴) وجود دارد. مک ایوان (۲۳) نشان دادند که استفاده از مخلوط اسانس‌های گیاهی می‌تواند تجزیه سوبستراهای غنی از پروتئین و نشاسته را در کیسه‌های انکوبه شده در شکمبه کاهش دهد. که با نتایج مطالعه حاضر از جهت کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه همخوانی دارد و ممکن است به کاهش میزان تجزیه پروتئین در شکمبه به دلیل استفاده از اسانس‌های گیاهی مربوط باشد. اسانس‌های گیاهی موجب تغییر اتصال و استقرار مواد گیاهی وارد شده به شکمبه می‌شوند و به احتمال زیاد بر تفکیک پذیری منابع پروتئینی تاثیر می‌گذارند (۱۵). با این وجود در طیور اسانس‌های گیاهی منجر به بهبود قابلیت هضم پروتئین خام و ماده خشک گردیده است. هرناندز و همکاران (۱۷) گزارش کردند که دارچین، آویشن و فلفل در جیره پایانی جوجه‌های گوشتی منجر به بهبود قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام شده است. در گزارشی دیگر افزودن سینامالدئید و کارواکرول به جیره جوجه‌های گوشتی باعث بهبود قابلیت هضم ظاهری پروتئین و اسیدهای آمینه شد (۲۰). یکی از دلایل نقض پژوهش حاضر با تحقیقات تک معده‌ای‌ها احتمالا به خاطر حضور اسانس‌ها در جیره‌های کم‌پروتئین در این نوع تحقیقات می‌باشد به این خاطر که اسانس‌ها و پروبیوتیک‌ها در کاهش اتلاف انرژی (از متان) و پروتئین (از نیتروژن آمونیاکی) در شکمبه موفق عمل کرده‌اند (۸) و در جیره‌های غنی از پروتئین خام نقس اسانس‌ها احتمالا مشهودتر است. همچنین اثر اسانس‌های گیاهی بر تجزیه مواد مغذی در شکمبه با توجه به طول دوره عادت پذیری، نوع جیره پایه، نوع اسانس و غلظت آن متغیر می‌باشد و دلیل عدم یکنواختی در نتایج مطالعات احتمالا به دلایل مذکور مربوط می‌باشد.

**جدول ۵-** قابلیت هضم مواد مغذی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

**Table 5-** Nutrient digestibility of Holstein dairy calves fed with the experimental diets

| فراسنجه Parameter | تیمارها[1] Treatments [1] | | | | | SEM[2] | P-Value[3] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | | |
| قابلیت هضم ماده خشک Dry matter digestibility | 79.39 | 61.67 | 72.36 | 78.17 | 75.40 | 4.69 | 0.06 |
| قابلیت هضم ماده آلی Organic matter digestibility | 80.41 | 64.36 | 73.81 | 79.36 | 77.36 | 3.91 | 0.07 |
| قابلیت هضم پروتئین خام Crude protein digestibility | 65.84 | 62.79 | 66.38 | 69.22 | 64.88 | 3.44 | 0.29 |
| قابلیت هضم فیبر نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber digestibility | 74.84 | 59.87 | 69.10 | 71.87 | 64.41 | 4.72 | 0.31 |

[1] تیمارهای آزمایشی۱) شیر بدون افزودنی (گروه شاهد)، ۲) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر اسانس نعناع فلفلی، ۳) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر آویشن، ۴) شیر + ۴۰ میلی‌لیتر دارچین و ۵) شیر + ۰/۵ گرم پروبیوتیک پروتکسین

[2] میانگین خطای استاندارد

[3] سطح احتمال معنی‌داری

[1]Treatment consisted 1) milk without additive (control), milk + 40 ml pepper mint, 3) milk + 40 ml thymol, 4) milk + 40 ml cinnamon, 5) milk + 0.5 g protexin

[2] Standard error of mean

[3] Probability value

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد افزودن اسانس‌ها بویژه دارچین یا پروبیوتیک پروتکسین در استارتر گوساله‌های شیرخوار منجر به افزایش وزن بدن و حداکثر بازدهی خوراک نسبت به شاهد می‌شود. اگرچه مصرف خوراک تحت تاثیر افزودنی‌های خوراکی قرار نگرفت. بنابراین حضور این افزودنی‌ها در شیر روزانه مصرفی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بدیل افزایش سود ناخالص پرورش گوساله پیشنهاد می‌گردد.

## منابع


1. Ababakri, R., A. Riasi., M. H. Fathi., H. Naeemipoor., and S. Khorsandi. 2012. The effect of spearmint sativum essence added to starter diet on ruminal fermentation, weaning age and performance of Holstein calves. Animal Science Research Journal, 22: 141-154.
2. Agarwal, N., C. Shekhar., R. Kumar., L. Chaudhary., and D. Kamra. 2009. Effect of peppermint (Mentha piperita) oil on in vitro methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. Journal of Animal Feed Science and Technology, 148: 321-327.
3. AkbarianTefaghi, M., E. Ghasemi., and M. Khorvash. 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: 630-638.
4. Alsaht, A. A., S. M. Bassiony., G. A. Abdel Rahman., and S. A. Shehata. 2014. Effect of cinnamaldehyde thymol mixture on growth performance and some ruminal and blood constituents in growing lambs fed high concentrate diet. Life Science Journal, 11: 240-248.
5. Batt, R. A. L. 1980. Studies in biology, influences on animal growth and development. Camelot Press. London.
6. Benchaar, C., H. V. Petit., R. Berthiaume., T. D. Whyte., and P. Y. Chouinard. 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: 4352-4364.
7. Benchaar, C., S. Calsamiglia., A. V. Chaves., G. R. Fraser., D. Colombatto., T. A. McAllister., and K. A. Beauchemin. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Journal of Animal Feed Science and Technology, 145: 209-228.
8. Calsamiglia, S., M. Busquet., P. W. Cardozo., L. Castillejos., and A. Ferret. 2007. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science, 90: 2580-259.
9. Cardozo, P. W., S. Calsamiglia., A. Ferret., and C. Kamel. 2004. Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. Journal of Animal Science, 82: 3230-3236.
10. Chaves, A. V., K. Stanford., M. E. R. Dugan., L. L. Gibson., T. A. McAllister., F. Van Herk., and C. Benchaar. 2008. Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. Journal of Livestock Science, 117: 215-224.
11. Ebrahimi, M., M. Dehghan banadaki., M. Ganj khanloo., and H. khalilvand 2018. Effect of peppermint (Mentha piperita) in starter on performance of Holstein dairy calves. University of Tehran, Third edition. 10: 53-62.
12. Elson, C. E., and A. A. Qureshi. 1995. Coupling the cholesterol- and tumor-suppressive actions of palm oil to the impact of its minor constituents on 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity. Prostaglandins Leukothea. Essential Journal of Fatty Acids, 52: 205-208.
13. Franz, C., K. H. C. Baser., and W. Windisch. 2010. Essential oils and aromatic plants in animal feeding–a European perspective. A review. Flavour and Fragrance Journal, 25: 327-340.
14. Froehlich, K. A. 2016. Evaluation of Essential Oils (Stay Strong) for Dairy Calves.
15. Hart, K. J., D. R. Yanez-Ruiz, S. M. Duval., N. R. McEwan., and C. J. Newbold. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. Journal of Animal Feed Science and Technology, 147: 8-35.
16. Heinrich, A. J. 1993. Raising dairy Replacement to meet the needs of the 21st century. Journal of Dairy Science, 76: 3179-3187.
17. Hernandez, F., J. Madrid., V. Garcia., J. Orengo., and M. D. Megias. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility and digestive organ size. Poultry Science, 83: 169-174.
18. Hill, T. M., J. M. Aldrich., R. L. Schlotterbeck., and H. G. Bateman. 2007. Effects of changing the fat and fatty acid composition of milk replacers fed to neonatal calves. The Professional Animal Scientist, *23*: 135-143.
19. Huhtanen, P., E. H. Cabezas-Garcia., S. J. Krizsan., and K. J. Shingfield. 2015. Evaluation of between-cow variation in milk urea and rumen ammonia nitrogen concentrations and the association with nitrogen utilization and diet digestibility in lactating cows. Journal of Dairy Science, 98: 3182-3196.
20. Jamroz, D., A. Wiliczkiewicz., T. Wertelelecki., J. Orda., and J. Skorupinska. 2005. Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. British Poultry Science, 46: 485-493
21. Jeshari, M., A. Riasi., A. H. Mahdavi., M. Khorvash., and F. Ahmadi. 2016. Effect of essential oils and distillation residues blends on growth performance and blood metabolites of Holstein calves weaned gradually or abruptly. Journal of Livestock Science, 185: 117-122.
22. Liu, T., H. Chen., D. P. Casper., and J. Wu. 2017. Impact of essential oils on the growth performance of newborn Holstein calves. Journal of Animal Science, 95: 371-372.
23. McEwan, N., R. C. Graham., R. J. Wallace., R. Losa., P. Williams., and C. J. Newbold. 2002. Effects of essential oils on protein digestion in the rumen. Reproductive Nutrition Development, 42: 65–66.
24. McIntosh, F. M., V. J. Newbold., R. Losa., P. Williams., and R. J. Wallace. 2000. Effects of essential oils on rumen

fermentation Reproductive Nutrition Development, 40: 221–222.
25. Newbold, C. J., F. M. McIntosh., P. Williams., R. Losa., and R. J. Wallace. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. Journal of Animal Feed Science and Technology, 114: 105–112.
26. Santos, F. H. R., M. R. De Paula., and D. Lezier. 2015. Essential oils for dairy calves: effects on performance, scours, rumen fermentation and intestinal fauna. Journal of Animal, 9: 958-965.
27. Soltan, M. A. 2009. Effect of essential oils supplementation on growth performance, nutrient digestibility, health condition of Holstein male calves during pre- and post- weaning periods. Pak Journal Nutrition, 8:642-652.
28. Tatsuoka, N., K. Hara., K. Mikuni., K. Hara., H. Hashimoto., and H. Itabashi. 2008. Effects of the essential oil cyclodextrin complexes on ruminal methane production in vitro. Journal of Animal Science, 79:68-75.
29. Vakili, A. R., B. Khorrami., M. Danesh Mesgaran., and E. Parand. 2013. The effects of thyme and cinnamon essential oils on performance, rumen fermentation and blood metabolites in Holstein calves consuming high concentrate diet. Asian Australasian Journal of Animal Science, 26: 935-944.
30. Van Keulen, J. Y. B. A., and B. A. Young. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. Journal of Animal Science, 44: 282-287.
31. Virtala, A. M. K., G. D. Mechor., Y. T. Grohn., and E. J. Dubovi. 1996. Epidemiologic and pathologic characteristics of respiratory tract disease in dairy heifers during the first three months of life. Journal of American Veterinary Medical Association, 208: 2035-2042.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 161-173

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۱۷۳-۱۶۱

# Effects of some plant essential oils and probiotic (Protexin) on performance, nutrient digestibility and blood metabolites of Holstein dairy calves

**Farshid Sarraf[1], Alireza Vakili[2*], Mohsen Danesh Mesgaran[3]**
Submitted: 03-08-2019
Accepted: 14-03-2020

**Introduction** The present study was conducted to investigate the efficacy of inclusion peppermint, thyme, cinnamon essential oils and also probiotic supplement (Protexin, Probiotics International Ltd., south Petherton, UK) when added to whole milk on performance, some blood parameters, skeletal growth, and nutrient digestibility of Holstein dairy calves.

**Material and Methods** A total of 25 Holstein dairy calves (10 females and 15 males; 1–10 days) with 42 ± 8 kg of average birth weight were used in a completely randomized design in which calves were randomly assigned to one of five different dietary treatments including 1) control diet without inclusion of any milk essential oil supplementation, 2, 3 and 4) control diet + 40 ml (20 ml in the morning and 20 ml in evening meals) per day of peppermint, thyme, cinnamon essential oils, respectively and 5) control diet + 0.5 g per day probiotic Protexin. Calves were individually housed and bedded with straw that was replaced every day. Feed and water were available *ad libitum* throughout the experiment. Calves were fed colostrum for 3 days and then fed with 10% of their birth weight until 80 days of age. The rations were iso-energetic. Ruminal fluid samples were collected by esophagus tube after morning feeding at the end of study. Starter intake was recorded individually and daily. The amount of feed consumed daily was calculated throughout the experiment from the difference between the feed poured and the remaining feed. Edible samples from calves were kept in the freezer (-20 °C) for approximate analysis experiments. Performance was analyzed in repeated measures of the mixed model (PROC MIXED) including initial BW as a covariate (covariate structure: compound symmetry) with treatment, week and their interaction as fixed components and animal as random effect. Structural growth data were evaluated by GLM. Gender was considered a block but was not significant and drop from the model. A mixed-effects regression analysis, which included calf and period as random effects and treatment and time relative to weaning (before or after) as fixed effects, was then performed. Analytical model was $Y_{ij} = \mu + T_i + A_{ij} + \beta (BW_{ij} - x) + e_{ij}$, where $Y_{ij}$ was each observation, $\mu$ was the overall mean, $T_i$ was the fixed effect of treatment i, $A_{ij}$ was the random effect of calve j in treatment i, $\beta (BW_{ij} - x)$ was using initial BW as a covariate and $e_{ij}$ was residual error. Treatments means were statistically compared by the test of Duncan.

**Results and Discussion** The results showed that starter intake was not affected by the experimental treatments ($p > 0.05$). However, calves consuming cinnamon essential oil and probiotic Protexin had higher daily weight gain than other essential oils and control group ($p < 0.05$). Calves fed milk without any additives had the lowest feed efficiency but it was highest for calves fed whole milk based on cinnamon essential oil or Protexin ($p<0.05$). Rumen parameters and ammonia nitrogen concentration were not affected by essential oils and probiotic intake ($p > 0.05$). Ruminal pH value was lower in calves were fed milk supplemented with different essential oils and Protexin than those fed control treatment ($p<0.05$). This decrease in pH by inclusion of essential oil and Protexin was probably due to increased ruminal propionate to acetate ratio. Addition of peppermint, thyme, cinnamon essential oils and probiotic Protexin to milk of Holstein calves had no detectable effect on the mean concentration of glucose, cholesterol, total protein, albumin, urea, aspartate-aminotransferase and alanine-aminotransferase ($p > 0.05$). The concentration of triglyceride in calves fed cinnamon essential oil

1-PhD candidate of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, International Campus,Mashhad, Iran
2-Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad,Mashhad, Iran
3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad,Mashhad, Iran
(*- Corresponding Author Email: savakili@um.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.82290

was higher than that of other essential oils as well as probiotic Protexin ($p < 0.05$). Inactivation of blood urea nitrogen concentration by the addition of essential oils was associated with a significant lack of ruminal ammonia nitrogen concentration. Increased ammonia nitrogen levels, more than the microbial requirement, lead to absorption through the rumen wall and hepatic vein, and most of it is converted into urea in the liver and ultimately increases in blood urea concentrations, which in this study did not affect the essential oils. Different effects of Protexin on ruminal ammonia nitrogen concentration resulted in no significant blood urea nitrogen concentration.

Hip width, heart girth, body barrel and wither height were not affected by the addition of essential oils, as well as probiotic supplementation ($p > 0.05$). However, body length and hip heights were higher in the calves fed cinnamon essential oil than the control group. The apparent digestibility of dry matter and organic matter in calves consumed cinnamon essential oil tended to increase than the control group ($p=0.06$ and $p=0.07$, respectively). The digestibility of crude protein and neutral detergent fiber was not affected by the type of essential oil and Protexin supplementation in Holstein dairy calves.

**Conclusion** Overall, essential oils especially cinnamon and probiotic Protexin may improve growth and performance by increasing daily gain and feed efficiency of Holstein dairy calves.

**Key words**: Blood and ruminal parameters, Calf, Essential oil, Protexin, Performance.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۱۹۲-۱۷۵

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 175-192

مقاله علمی- پژوهشی

# اثر انواع نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب بر عملکرد و الگوی اسیدهای چرب شیر گاوهای هلشتاین

جواد نصیری[۱]، حسن علی‌عربی[۲*]، پویا زمانی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۲۲

## چکیده

این مطالعه به‌منظور بررسی اثر انواع نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب بر عملکرد و الگوی اسیدهای چرب شیر انجام شد. در این مطالعه از ۲۱ رأس گاو هلشتاین با روزهای شیردهی ۸/۵ ± ۳۰ استفاده شد. گاوها به سه گروه مساوی تقسیم و جیره‌های زیر را دریافت کردند: ۱. جیره شاهد ۲. جیره حاوی منبع چربی A (ساخته شده در آزمایشگاه)۳. جیره حاوی منبع چربی B (مرسوم در بازار). گاوها در سه نوبت دوشیده شدند. رکورد و مصرف خوراک به‌صورت روزانه ثبت شدند و نمونه‌گیری از شیر، خوراک و مدفوع جهت تعیین ترکیب به‌صورت هفتگی انجام گرفت. خون‌گیری از دام‌ها به عمل آمد. در پایان دوره آزمایش نمونه شیر جهت تعیین الگوی اسید چرب جمع‌آوری شد. مصرف ماده خشک در جیره شاهد ۵ درصد بیشتر از دو جیره دیگر بود در حالیکه میزان تولید شیر در جیره حاوی مکمل چربی A افزایش معنی‌داری نسبت به جیره شاهد داشت و با جیره حاوی مکمل چربی B تفاوتی نداشت. BCS و تغییرات وزن بدن تحت تاثیر جیره‌ها قرار نگرفت. مکمل چربی A بر قابلیت هضم فیبر جیره تاثیر منفی نداشت و مشابه جیره شاهد و مکمل چربی B بود. میزان C18:2 شیر گاوهای دریافت کننده جیره حاوی مکمل A نسبت به مکمل B و جیره شاهد به ترتیب ۲۱ و ۴۷ درصد افزایش داشت. درصد چربی و C14:0 شیر در جیره شاهد نسبت به دو جیره دیگر افزایش معنی‌دار پیدا کرد. مکمل چربی A می‌تواند به عنوان منبع چربی در اوایل دوره شیردهی استفاده شود و نتایج مشابهی با نمونه تجاری مرسوم داشت.

**واژه‌های کلیدی:** گاو شیری، ترکیب شیر، تولید شیر، نمک کلسیمی اسید چرب.

## مقدمه

حدود ۴۰ درصد از گاوهای دنیا در قاره آسیا قرار دارند اما فقط ۷ درصد شیر دنیا را تولید می‌کنند. سطح عملکرد تولیدی دام در آسیا پایین بوده و در طی ۲۰ سال گذشته تغییر چندانی نداشته است. به توصیه سازمان خوار و بار جهانی مهمترین کاری که در این قاره بایستی انجام گیرد بهبود کیفیت و کمیت مواد خوراکی مورد استفاده است (۵۱). از بین مواد مغذی، تامین انرژی به عنوان یکی از احتیاجات غذایی در آغاز شیردهی اغلب بسیار مشکل است. بعد از زایش به دلیل تولید شیر نیاز به انرژی زیاد می‌شود که به علت کم بودن مصرف خوراک تعادل انرژی در دام منفی شده که این پدیده در اغلب گاوهای شیری به راحتی قابل رویت است. از طرفی دیگر دام‌ها در این زمان جهت جلوگیری از افت تولید از ذخایر بدنی جهت تامین کمبود انرژی استفاده می‌کنند و از آنجایی که جیره مصرفی قادر به تامین کل انرژی مورد نیاز دام نیست، دام کاهش وزن پیدا کرده که تاثیر منفی بر آمادگی گاو برای تولید مثل می‌گذارد. علاوه بر غلات، چربی‌ها نیز می‌توانند به عنوان منبع انرژی در جیره مورد استفاده قرار گیرند. یکی از این مواد خوراکی نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب می‌باشد (۱۴). مکمل چربی به این دلیل جهت تغذیه در گاوهای شیری مورد استفاده قرار می‌گیرد که ترکیبی متراکم از انرژی را داراست. بنابراین این مکمل غالبا در اوایل شیردهی جهت افزایش دادن غلظت انرژی قابل متابولیسم و کاهش بسیج بافت چربی در

۱-دانشجوی دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ایران.
۲-دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: h_aliarabi@yahoo.com)
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.87392

گاوهای تازه‌زا کاربرد دارد (۷). تحقیقات نشان داده است که افزودن چربی به جیره گاوهای شیرده تولید شیر را بهبود می‌بخشد و تداوم شیردهی را افزایش می‌دهد (۳۵). افزایش ۲ تا ۱۰ درصدی تولید شیر در گاوهای تغذیه شده با مکمل چربی نسبت به گاوهای تغذیه شده با جیره بدون مکمل چربی گزارش شده است (۶). اثر افزودن انواع مختلف منابع چربی از قبیل پنبه دانه، پیه حیوانی، نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب بلند زنجیر، روغن‌های پسمانده رستوران‌ها و چربی-های محافظت شده به شکل قرص شده (prilled fat) در طول دوره شیردهی مطالعه شده و در اکثر موارد اثر مثبت این منابع بر تولید شیر مشاهده شده است (۲۵). یکی از محدودیت‌های استفاده از مکمل‌های چربی برای نشخوارکنندگان، اثرات منفی بر هضم الیاف در شکمبه هست (۳۱). در برخی از مطالعات، استفاده از منابع چربی غیرمحافظت شده، موجب کاهش قابلیت هضم الیاف (۴۴، ۵۶) و چربی شیر تولیدی در اوایل شیردهی (۲۲) شد. برخلاف این مطلب نیز برخی محققین گزارش کرده‌اند که افزودن چربی‌های محافظت‌شده به جیره گاوهای شیرده منجر به افزایش تولید شیر شده و اثر منفی بر چربی شیر نداشته است (۴۰). دلیل این امر عدم تغییر تخمیر شکمبه بیان شده است. ازاین‌رو، امروزه در تغذیه نشخوارکنندگان از چربی‌های محافظت‌شده استفاده می‌شود. استفاده از چربی محافظت‌شده به میزان ۳۹۰ تا ۱۰۰۰ گرم به‌صورت روزانه تأثیری بر هضم شکمبه‌ای نداشته است (۴۷). همچنین، این منابع چربی باعث بهبود بازده تبدیل انرژی در گاوهای شیرده شده‌اند (۱۳). با مصرف این چربی‌ها، افت وزن بدن در گاوهای با پتانسیل تولید بالا در اوایل دوره شیردهی کاهش می‌یابد (۴۱). چربی‌های محافظت‌شده معمول شامل چربی محافظت‌شده بافرمالدئید، چربی کریستاله شده، اسیدهای چرب آمیدی، چربی‌های هیدروژنه شده و نمک کلسیمی اسیدهای چرب بلند زنجیر (LCFA-Ca) هستند. نمک کلسیمی اسیدهای چرب بلند زنجیر قابلیت تجزیه‌پذیری کمتری در شکمبه نسبت به دیگر منابع چربی محافظت‌شده دارد (۴۵). با توجه به پایین بودن میزان تولید و همچنین تقاضا برای کیفیت بهتر مکمل چربی و با توجه به شرایط حال حاضر کشور باید مطالعات بیشتری در این زمینه صورت گیرد؛ بنابراین هدف از انجام این مطالعه، بررسی تاثیر استفاده از نمک کلسیمی اسیدهای چرب ساخته شده در آزمایشگاه (مکمل A) و مقایسه آن با نمک کلسیمی اسیدهای چرب مرسوم در بازار و جیره بدون نمک کلسیمی اسیدهای چرب بر عملکرد گاوهای هلشتاین در اوایل دوره شیردهی بود.

## مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر یکی از منابع نمک کلسیمی اسیدهای چرب (مکمل چربی A) در آزمایشگاه تولید شد. فرآیند ساخت به این صورت بود که روغن مورد نظر با نمک‌های کلسیمی مخلوط شد. سپس به آن آب افزوده و پس از حرارت دادن پیوندهای مورد نظر با استفاده از دستگاه IR (Infrared) بررسی شد. در این آزمایش ۲۱ رأس گاو شیرده هلشتاین ازشرکت کشت و صنعت تـوداک (استان همدان، شهرستان فامنین) با روزهای شیردهی ۸/۵ ± ۳۰ و میانگین وزنی ۶۹/۴ ± ۵۷۳ کیلوگرم انتخاب و به ۳ گروه با تعداد تکرار ۷ رأس در هر گروه (هر گروه ۳ رأس گاو با یک شکم زایش و ۴ رأس گاو با بیش از یک شکم زایش) تقسیم شدند و جیره‌های ذیل را به‌صورت انفرادی و در حد اشتها دریافت کردند: ۱- جیره شاهد (بدون مکمل چربی)، ۲- جیره حاوی منبع چربیA و ۳- جیره حاوی منبع چربی B (پرشیافت ،شرکت کیمیا دانش الوند، تهران، ایران). مکمل-های چربی حاوی ۱۲ درصد کلسیم و ۸۸ درصد چربی بودند. جیره‌ها به‌صورت کاملاً مخلوط (TMR) با غلظت یکسان پروتئین بودند و بر اساس جداول NRC (۳۹) تنظیم شدند. اجزا و ترکیب شیمیایی جیره-ها در جدول ۱ آورده شده است. الگوی اسیدهای چرب جیره‌ها در جدول ۲ ذکر شده است.

گاوها بعد از شیردوشی نوبت صبح و قبل از دریافت وعده غذایی در روزهای ۳۰، ۷۰ و ۱۰۰ شیردهی، توزین و امتیازدهی بدنی شدند. امتیاز وضعیت بدنی (BCS) با استفاده ازسیستم نمره‌دهی ویلدمن و همکاران (شماره ۱=لاغر تا ۵=چاق) توسط سه فرد مجرب به دست آمد (۵۵). گاوها روزانه سه بار دوشیده شدند و جیره‌های غذایی به‌صورت مصرف آزاد روزانه در ساعت‌های ۰۵:۳۰، ۱۴:۳۰ و ۲۲:۳۰ در اختیار دام‌ها قرار گرفت. در روز بعد، قبل از تغذیه وعده صبح باقیمانده جمع‌آوری و وزن شد.

نمونه‌گیری از مدفوع به روش جمع‌آوری مستقیم از راست روده هر دام دوبار در هفته انجام گرفت. نمونه‌ها درآون خشک و آسیاب شدند و سپس نمونه‌های هفتگی هر دام با هم مخلوط شدند. نمونه‌گیری از جیره نیز هر هفته دوبار انجام شد. نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری مواد مغذی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند(۲). ماده خشک جیره‌های کاملاً مخلوط شده مصرفی از طریق خشک کردن در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شد. میزان خاکستر خوراک و مدفوع از قرار دادن نمونه در کوره با دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد پس از ۸ ساعت به دست آمد(۲). چربی و پروتئین خوراک و مدفوع طبق روش AOAC اندازه‌گیری شد(4). میزان فیبر نامحلول در شوینده خنثی (NDF) از طریق روش ون سوست و همکاران (۵۳) و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) طبق روش AOAC(۴) اندازه‌گیری شد.

**جدول ۱**- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (گرم در صد گرم ماده خشک)

**Table 1-**Ingredients and chemical composition of experimental diets (g/100g DM)

| اجزا Ingredients | جیره Ration | | |
|---|---|---|---|
| | شاهد Control | مکمل چربی A Supplement A | مکمل چربی B Supplement B |
| یونجه Alfalfa hay | 20.44 | 20.51 | 20.51 |
| سیلاژ ذرت Corn silage | 20.33 | 20.41 | 20.41 |
| جو آسیاب شده Barley grain, ground | 17.99 | 17.04 | 17.04 |
| ذرت آسیاب شده Corn grain, ground | 16.99 | 16.04 | 16.04 |
| کنجاله سویا Soy bean meal | 13.79 | 13.84 | 13.84 |
| کنجاله کلزا Canola Meal | 6 | 6.02 | 6.02 |
| پودر ماهی Fish powder | 2 | 2.02 | 2.02 |
| نمک کلسیمی اسیدهای چرب CSFA[1] | 0 | 2.01 | 2.01 |
| نمک Salt | 0.39 | 0.38 | 0.38 |
| سدیم بیکربنات Sodium bicarbonate | 0.76 | 0.76 | 0.76 |
| مکمل معدنی/ویتامینی Mineral/Vitamin premix | 0.79 | 0.79 | 0.97 |
| کربنات کلسیم Calcium carbonate | 0.34 | 0 | 0 |
| ترکیب شیمیایی(٪) Chemical composition (%) | | | |
| انرژی خالص شیردهی(مگا کالری بر کیلوگرم) $NE_L$(Mcal/kg)[2] | 1.64 | 1.7 | 1.7 |
| پروتئین خام Crude protein | 17.8 | 17.7 | 17.5 |
| عصاره اتری Ether Extract | 2.4 | 4.2 | 4 |
| خاکستر Ash | 7.74 | 8 | 8.05 |
| فیبر نامحلول در شوینده خنثی Neutral Detergent Fiber | 30.3 | 29.9 | 30 |
| فیبر نامحلول در شوینده اسیدی Acid Detergent Fiber | 19.4 | 19.2 | 19.4 |
| کلسیم Calcium | 0.5 | 0.4 | 0.35 |
| فسفر Phosphorus | 0.7 | 0.76 | 0.8 |

[1] نمک کلسیمی اسیدهای چرب
[2] محاسبه شده بر طبق NRC

[1] Calcium salt of fatty acids
[2] Calculated according NRC (2001)

**جدول۲**-الگوی اسید چرب جیره‌ها (درصد)
**Table 2**- Fatty acid profile of diets (%)

| الگوی اسید چرب Fatty acid profile | جیره Ration | | |
|---|---|---|---|
| | شاهد Control | مکمل چربی A Supplement A | مکمل چربی B Supplement B |
| C16:0 | 17.75 | 14.37 | 21.59 |
| C16:1 | 0.2 | 0.12 | 0.46 |
| C18:0 | 2.65 | 3.94 | 4.44 |
| C18:1 | 21.43 | 22.11 | 29.92 |
| C18:2 | 32 | 41.83 | 25.5 |
| C18:3 | 11.3 | 8.71 | 6.69 |
| سایر others | 14.67 | 8.92 | 11.4 |
| نسبت امگا ۶ به امگا ۳ n 6: n 3 | 2.83 | 4.80 | 3.81 |
| اسیدهای چرب اشباع | 20.15 | 18.31 | 26.03 |
| اسیدهای چرب غیراشباع | 79.85 | 81.69 | 73.97 |

قابلیت هضم مواد مغذی جیره با استفاده از خاکستر نامحلول در اسید به‌عنوان معرف غیرقابل‌هضم تعیین شد(۵۲). در پایان قابلیت هضم ماده خشک و مواد مغذی با استفاده از رابطه پیشنهادی چرچ و پوند محاسبه شد(۱۸).

حجم شیر تولیدی به‌صورت روزانه ثبت و نمونه‌گیری از شیر به‌منظور تعیین ترکیب شیر به‌صورت هفتگی انجام شد. نمونه حاصل از شیر به دست آمده در سه نوبت شیردوشی در ظروف حاوی قرص های نگهدارنده (Broad Spectrum Microtabs II, USA) ریخته و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد. پروتئین، چربی و لاکتوز شیر توسط دستگاه میلکواسکن ( Milko-scan 133B,N. FOSS Electric, Denmark) تعیین گردید. تعداد سلول‌های سوماتیک ( SCC) نمونه‌های شیر نیز توسط دستگاه شمارش سلولی دلاوال (DeLaval, Tumba, Sweden) اندازه‌گیری شد و همچنین در پایان آزمایش یک نمونه از شیر تولیدی هر گاو به نسبت ثابت بر اساس مقدار شیر دوشیده شده در هر وعده دوشش برداشته و برای تعیین الگوی اسید چرب شیر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. الگوی اسیدچرب با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی ( GC, shimadzu, 2014) در دو مرحله استخراج چربی و مشتق سازی تعیین گردید(۱۷، ۲۳ و ۳۰). پانزده میلی‌لیتر n-هگزان و ۲ میلی‌لیتر پتاس متانولی به ۲۰ میلی‌لیتر شیر اضافه شد. سپس در بن ماری ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بدون تکان از فاز رویی برای تزریق به دستگاه برداشته شد.

در روزهای شیردهی ۴۵، ۷۰ و ۱۰۰ نمونه خون با استفاده از لوله‌های ونوجکت هپارینه تحت خلا جمع‌آوری و پلاسمای نمونه‌ها با استفاده از سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی گردید. نمونه‌های پلاسما در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تجزیه نگهداری شدند. پس از یخ گشایی نمونه‌ها، کلسترول، تری‌گلیسرید و گلوکز با استفاده از کیت‌های پارس آزمون (تهران) و اسیدهای چرب غیر استریفیه (NEFA) با استفاده ازکیت شرکت Randox Laboratories Ltd., UK با روش کالری متریک و براساس دستورالعمل کیت مربوطه اندازه‌گیری شدند.

داده‌های این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل ۳ جیره و تعداد زایش ۲ و ۷ تکرار به‌صورت اندازه‌های تکرار شده با استفاده از رویه MIXED نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۴) تجزیه شدند؛ اما برای داده‌های قابلیت هضم و اسیدهای چرب شیر از رویه GLM استفاده شد. مدل آماری طرح به‌صورت زیر بود:

$$Y_{ijkL}=\mu+D_i+P_j+DP_{ij}+W_k+DW_{ik}+PW_{jk}+DPW_{ijk}+Ea_{ij.L}+Ebijk L \quad (۱)$$

در این مدل، $Y_{ijkL}$ متغیر وابسته، $\mu$ میانگین صفت مشاهده شده، $D_i$ اثر جیره، $P_j$ اثر تعداد زایش و $DP_{ij}$ بر هم کنش جیره و تعداد زایش، $W_k$ اثر هفته، $DW_{ik}$ بر هم کنش جیره و هفته، $PW_{jk}$ برهم کنش تعداد زایش و هفته، $DPW_{ijk}$ بر هم کنش جیره، تعداد زایش و هفته، $Ea_{ij.L}$ خطای اصلی آزمایش و $Eb_{ijkL}$ خطای فرعی آزمایش بود. میانگین کمترین مربعات با استفاده از آزمون توکی کرامر در سطح خطای ۰/۰۵ مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

جدول ۳ نتایج مربوط به مصرف ماده خشک، تغییرات وزن بدن و BCS را نشان می‌دهد. محققان بیان کرده‌اند که اثر مکمل‌های چربی بر ماده خشک مصرفی متغیر است(۳۸). تنوع مشاهده شده به عوامل مختلفی مانند منبع و شکل چربی، مرحله تولید و میزان ماده خشک مصرفی مربوط است(۱۵).

در آزمایش حاضر مصرف ماده خشک در جیره حاوی مکمل A در مقایسه با شاهد و جیره حاوی مکمل B تفاوت نداشت که در توافق با نتایج گذشته بود (۱۶ و ۲۴). به نظر می‌رسد عدم تاثیر مصرف مکمل‌های A و B بر مصرف ماده خشک احتمالا به دلیل خنثی بودن مکمل چربی در شکمبه و نداشتن اثرات سوء بر تخمیر شکمبه باشد. با توجه به مشابهت در قابلیت هضم مواد مغذی بین جیره‌ها در مطالعه حاضر به نظر می‌رسد دلیل عدم تغییر در میزان مصرف ماده خشک احتمالا به خاطر خنثی بودن مکمل A در شکمبه است. پژوهشگران دیگر (۲۱) نیز عدم تغییر در مصرف را هنگام تغذیه نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب گزارش کردند. اما عامل آن را سطح پایین چربی و عدم ایجاد محدودیت متابولیکی که از طریق عدم تفاوت در سطح NEFA خون ارزیابی شد دانستند. با توجه به سطح NEFA پلاسما در مطالعه حاضر می‌توان گفت که این سطح از مکمل‌های چربی A و B محدودیت متابولیکی ایجاد نکرده‌اند. مخالف با نتایج حاضر، بعضی از مطالعات کاهش در مصرف ماده خشک را به دلیل خوش خوراک نبودن نمک‌های کلسیمی گزارش کرده‌اند (۲۸،۳۴ و ۴۶). با توجه به میزان مصرف ماده خشک بین جیره‌ها در مطالعه حاضر، مکمل چربی A کاهشی در میزان خوش-خوراکی ایجاد نکرد. مطالعات دیگر افزایش ماده خشک مصرفی را به دنبال تغذیه نمک‌های کلسیمی گزارش کرده‌اند (۳۷) که دلیل این امر را پایین بودن حرارت افزایشی مکمل‌های چربی دانستند (۳). با توجه به اینکه مطالعه حاضر در منطقه سردسیر کشور و در فصل پاییز انجام شده است، احتمالا گرمای حاصل از هضم خوراک تاثیر قابل توجهی بر مصرف ماده خشک نداشته است.

استفاده از مکمل‌های چربی در مطالعه حاضر تاثیری بر امتیاز بدنی نداشت. براون –کراودر و همکاران (۱۱) نتایج مشابهی با افزودن مکمل چربی گزارش کردند. محققین دلیل این امر را شیفت انرژی به سمت تولید شیر از طریق اسیدهای چرب غیراشباع گزارش کردند (۲۶). در این مطالعه میزان اسیدهای چرب غیراشباع در مکمل چربی A نسبت به جیره شاهد بالاتر است و احتمالا باعث جهت‌دهی انرژی به سمت تولید شیر شده است.

قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، NDF، ADF و عصاره اتری تحت تأثیر جیره‌ها قرار نگرفت (P≥ ۰/۰۵، جدول ۴). همسو با نتایج مطالعه حاضر، پژوهشگران دیگر( ۳۴ و ۴۶) نیز گزارش کردند که نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب به دلیل عبور از شکمبه، قابلیت هضم مواد مغذی را تحت تأثیر قرار نمی‌دهند. مکمل چربی عبوری در سطح ۵ تا ۱۵ درصد از ماده خشک جیره اثر نامطلوبی بروی تخمیر شکمبه‌ای نداشت (۱۳). بااین‌حال بات و ساهو (۶) قابلیت هضم بالاتری از عصاره اتری در تغذیه چربی‌های محافظت‌شده نسبت به گروه شاهد گزارش کردند. این محققین قابلیت هضم بالای نمک کلسیمی اسیدهای چرب در روده را عامل اصلی آن می‌دانند.

تاثیر استفاده از نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب بر تولید شیر نشان داد (جدول ۵) که مقدار شیر تولید گاوهای دریافت کننده جیره حاوی مکمل چربی A در مقایسه با تیمار شاهد بالاتر بود (P≤ ۰/۰۵) اما با جیره حاوی مکمل چربی B تفاوت نداشت. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود تولید شیر پس از گذشت دو هفته از شروع آزمایش در گاوهای دریافت‌کننده مکمل چربی افزایش معنی‌داری پیدا کرد. اثرات استفاده از مکمل چربی بر تولید شیر در مطالعات انجام شده متناقض بوده است که احتمالاً مرتبط با سطح و منبع چربی در دوره شیردهی است (۴۳). نتایج این مطالعه همسو با نتایج سایر محققین (۱۹، ۴۰، ۴۲ و ۴۷) بود. تولید شیر بیشتر احتمالا به دلیل افزایش مصرف انرژی کل از طریق مشارکت دادن مستقیم اسیدهای چرب بلند زنجیر در چربی شیر است که این نظریه مورد تایید پالمکوئیست (۴۲) می‌باشد. به نظر می‌رسد مکانیسم دیگری که در افزایش تولید شیر هنگام تغذیه مکمل چربی دخالت دارد، صرفه‌جویی در مصرف گلوکز است که با ممانعت از سنتز دنووی اسیدهای چرب در غده پستانی توسط اسیدهای چرب جیره، احتمالا از اکسیداسیون گلوکز برای تولید اکی‌والان‌های احیاکننده برای سنتز چربی شیر جلوگیری کرده و این گلوکز اضافی ممکن است در سایر فرآیندهای شیر مثل سنتز لاکتوز شرکت کند و تولید شیر را افزایش دهد (۴۸). نتایج مطالعه حاضر نیز همسو با نتایج این محققین می‌باشد و همانطور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود مکمل چربی A باعث افزایش معنی‌دار میزان لاکتوز در جیره حاوی مکمل A شده است. از طرفی تغییر در ترکیب اسید چرب بافتی توسط مکمل چربی، که می-تواند بر تقسیم‌بندی مواد مغذی تاثیرگذار باشد ممکن است مسئول این افزایش تولید باشد (۲۶).

درصد چربی شیر در جیره شاهد بیشتر از دو جیره دیگر بود(P≤ ۰/۰۱). این افزایش درصد چربی شیر در هفته دوم آزمایش مشاهده شد (شکل ۲). به طور معمول مکمل نمودن جیره با مکمل‌های غنی از اسیدهای چرب چند غیراشباع، موجب کاهش در میزان چربی شیر می‌شود(۱۰،۱۹ و ۵۴). کاهش چربی شیر در مطالعه حاضر را می‌توان ناشی از میزان بالای اسیدهای چند غیراشباع در جیره‌های حاوی مکمل‌های A و B دانست. به نظر می‌رسد کاهش درصد چربی شیر به کاهش سنتز اسیدهای چرب در بافت پستان نیز مرتبط است(۱). در مطالعه کوینارد و همکاران (۱۶) علت کاهش چربی شیر بر اثر تغذیه نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب را الگویی از اسیدهای چرب نمک‌های کلسیمی بیان کردند.

سایر محققین نیز (۴۹) هنگام تغذیه نمک‌های کلسیمی روغن سویا و کانولا تغییری در درصد چربی شیر مشاهده نکردند که دلیل آن را میزان استفاده از نمک کلسیمی (یک درصد ماده خشک) گزارش کرده‌اند.

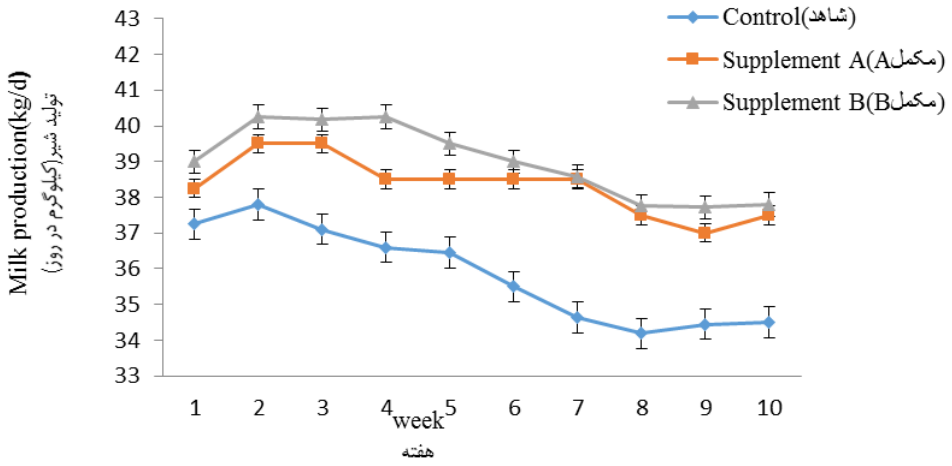
**جدول۳**- اثر جیره‌های آزمایشی روی مصرف ماده خشک، وزن بدن و امتیاز وضعیت بدنی

**Table 3**- Effect of experimental diets on dry matter intake, body weight and BCS

| مورد Item | شاهد Control | جیره Diet: حاوی مکمل چربی A Supplement A | حاوی مکمل چربی B Supplement B | شکم زایش Parity: شکم زایش۱ Primiparous | چند شکم زایش Multiparous | SEM | P value: جیره Diet | شکم زایش Parity | شکم زایش*جیره Diet*Parity | هفته week | هفته*جیره Diet*week |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| مصرف ماده خشک DMI [2](kg/d) | 21.67 | 20.59 | 20.91 | 19.03[b] | 23.08[a] | 0.39 | 0.1737 | <0.0001 | 0.932 | 0.1642 | 0.2745 |
| تغییر وزن بدن BW[3] Change (kg) | 0.298 | 0.363 | 0.31 | .359 | 0.288 | 0.03 | 0.9432 | 0.7821 | 0.8842 | <0.0001 | 0.9834 |
| امتیاز وضعیت بدنی BCS[4] | 2.74 | 2.71 | 2.7 | 2.73 | 2.7 | 0.03 | 0.7222 | 0.3542 | 0.9181 | 0.0012 | 0.6412 |

[۱]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P< 0.05)

[1]Means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).
[2]Dry Matter Intake
[3]Body Weight
[4]Body Condition Score




**شکل ۱**- میانگین هفتگی تولید شیر در جیره‌های حاوی مکمل چربی نسبت به شاهد.

**Figure 1-** Weekly average of milk production in rations containing fat supplement compared to control.

**جدول٤**- اثر جیره‌های آزمایشی بر قابلیت هضم ماده خشک و مواد مغذی جیره(٪)

**Table4-** Effect of experimental diets on DM and nutrients digestibility (%)

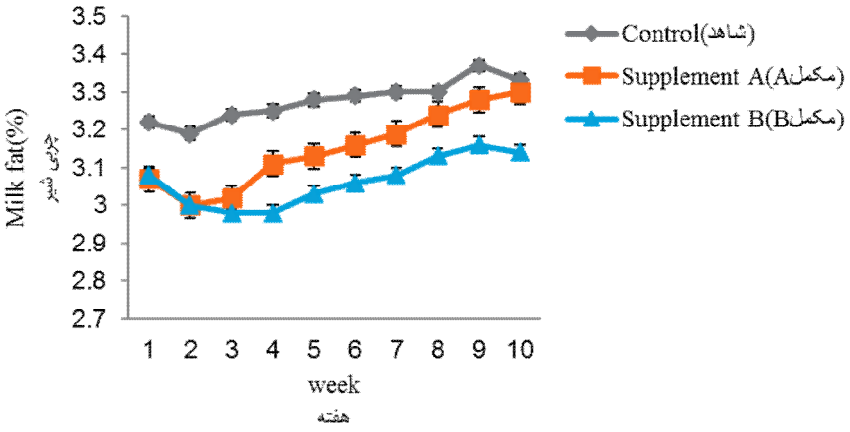
| مورد Item | شاهد Control | جیره Diet: حاوی مکمل چربی A Supplement A | جیره Diet: حاوی مکمل چربی B Supplement B | شکم زایش Parity: شکم زایش ۱ Primiparous | شکم زایش Parity: چند شکم زایش Multiparous | SEM | P value: جیره Diet | P value: شکم زایش Parity | P value: شکم زایش*جیره Diet*Parity |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ماده خشک DM[1] | 66.06 | 65.33 | 66.34 | 66.67 | 65.15 | 1.49 | 0.8824 | 0.3912 | 0.8241 |
| پروتئین خام CP[2] | 67.65 | 66.21 | 67.38 | 67.96 | 66.21 | 1.38 | 0.7411 | 0.2945 | 0.5631 |
| فیبر نامحلول در شوینده خنثی NDF[3] | 57.44 | 55.54 | 56.31 | 57.1 | 55.76 | 1.56 | 0.6922 | 0.4634 | 0.5724 |
| فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ADF[4] | 56 | 54.02 | 55.09 | 55.71 | 54.37 | 1.54 | 0.6734 | 0.4621 | 0.6343 |
| عصاره اتری EE[5] | 55.02 | 58.04 | 59.2 | 57.93 | 56.92 | 1.37 | 0.1182 | 0.5312 | 0.7732 |

[1]Dry Matter
[2]Crude Protein
[3]Neutral Detergent Fiber
[4]Acid Detergent Fiber
[5]Ether Extract

اثر جیره‌های حاوی مکمل چربی A و B بر درصد پروتئین شیر نسبت به جیره شاهد معنی‌دار نبود. تقی‌زاده و همکاران (۵۰) گزارش نمودند که مرحله شیردهی حیوان در رابطه با کاهش پروتئین شیر تاثیرگذار است بطوریکه در اوایل شیردهی، مکمل چربی اثری روی

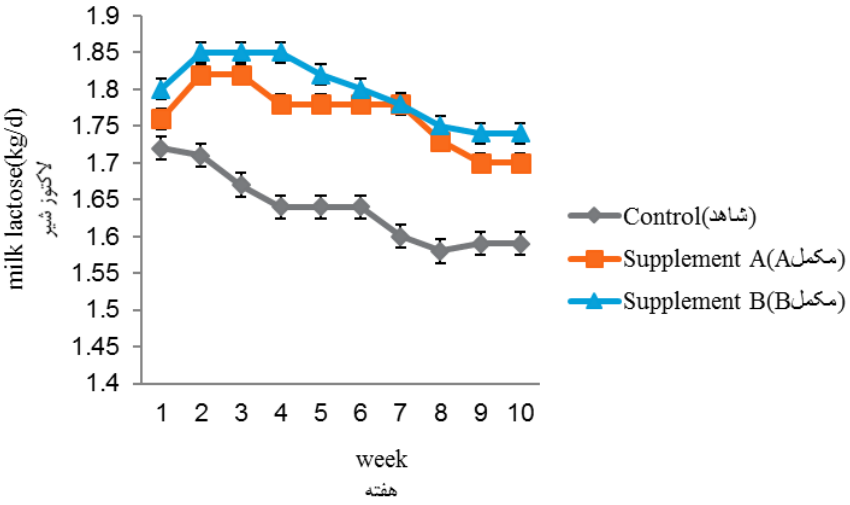
پروتئین شیر ندارد. همچنین درصد لاکتوز شیر نیز تحت تاثیر جیره‌ها قرار نگرفت. این یافته با داده‌های آویال و همکاران (۵) هماهنگ بود. لاکتوز شیر گاوها غالبا تحت تاثیر جیره غذایی قرار نمی‌گیرد. بیشتر مطالعات، عدم پاسخ به لاکتوز را هنگام استفاده از مکمل چربی گزارش کرده‌اند. با توجه به اینکه لاکتوز عامل تنظیم فشار اسمزی در غده پستان می‌باشد و از طریق این ماده آب به بافت پستان انتشار می‌یابد، غلظت لاکتوز تا حدود ۹۵٪ ثابت می‌ماند (۵).

میزان اسید لینولئیک شیر در جیره حاوی مکمل چربی A بیشتر از جیره شاهد بود ($P\leq ۰/۰۵$) و از لحاظ عددی بیشتر از جیره حاوی مکمل چربی B بود. اسیدهای چرب متوسط زنجیر (به جز C14:1) و کوتاه زنجیر C8:0 و C4:0 در جیره‌های حاوی مکمل‌های چربی از لحاظ عددی کاهش یافتند. این کاهش در مورد C14:0 معنی‌دار بود($P\leq ۰/۰۵$). درصد C8:0 شیر در جیره شاهد ۱۶ درصد بیشتر از گاوهای دریافت‌کننده مکمل چربی بود(جدول ۶).




**شکل ۲**-میانگین هفتگی درصد چربی شیر در جیره‌های حاوی مکمل چربی نسبت به شاهد.

**Figure 2**. Weekly average milk fat percentage in rations containing fat supplement compared to control




**شکل ۳**- میانگین هفتگی میزان لاکتوز شیر در جیره‌های حاوی مکمل چربی نسبت به شاهد.

**Figure 3**- Weekly average of milk lactose in rations containing fat supplement compared to control.

**جدول٤**- اثر جیره‌های آزمایشی بر قابلیت هضم ماده خشک و مواد مغذی جیره(٪)

**Table4-** Effect of experimental diets on DM and nutrients digestibility (%)

| مواد Item | جیره Diet | | شکم زایش Parity | | | P value | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | شاهد Control | حاوی مکمل چربی A Supplement A | حاوی مکمل چربی B Supplement B | شکم زایش ۱ Primiparous | چند شکم زایش Multiparous | SEM | جیره Diet | شکم زایش Parity | شکم زایش*جیره Diet*Parity |
| ماده خشک DM[2] | 66.06 | 65.33 | 66.34 | 66.67 | 65.15 | 1.49 | 0.8824 | 0.3912 | 0.8241 |
| پروتئین خام CP[3] | 67.65 | 66.21 | 67.38 | 67.96 | 66.21 | 1.38 | 0.7411 | 0.2945 | 0.5631 |
| فیبر نامحلول در شوینده خنثی NDF[4] | 57.44 | 55.54 | 56.31 | 57.1 | 55.76 | 1.56 | 0.6922 | 0.4634 | 0.5724 |
| فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ADF[5] | 56 | 54.02 | 55.09 | 55.71 | 54.37 | 1.54 | 0.6734 | 0.4621 | 0.6343 |
| عصاره اتری EE[6] | 55.02 | 58.04 | 59.2 | 57.93 | 56.92 | 1.37 | 0.1182 | 0.5312 | 0.7732 |

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P< 0.05$)

[1]Means in column with different superscripts differ significantly ($P<0.05$).
[2]Dry Matter
[3]Crude Protein
[4]Neutral Detergent Fiber
[5]Acid Detergent Fiber
[6]Ether Extract

**جدول ۵**- اثر جیره‌های آزمایشی روی تولید و ترکیب شیر

**Table 3-** Effect of experimental diets milk production and composition

| مورد Item | شاهد Control | جیره Diet: حاوی مکمل چربی A Supplement A | حاوی مکمل چربی B Supplement B | شکم زایش Parity: شکم زایش۱ Primiparous | چند شکم زایش Multiparous | SEM | P value: جیره Diet | شکم زایش Parity | شکم زایش*جیره Diet*Parity | هفته week | هفته*جیره Diet*week |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تولید شیر Milk production (kg/d) | 35.61[b] | 38.42[a] | 39.14[a] | 33.39[b] | 42.05[a] | 0.89 | 0.03222 | <0.0001 | 0.9892 | <0.0001 | 0.7534 |
| شیر تصحیح شده (۴٪) FCM[2](4%)(kg/d) | 31.66 | 33.38 | 33.54 | 29.21[b] | 36.5[a] | 0.71 | 0.1543 | <0.0001 | 0.9254 | 0.0023 | 0.2336 |
| چربی شیر Milk fat (%) | 3.27[a] | 3.13[b] | 3.05[b] | 3.18 | 3.13 | 0.03 | 0.0002 | 0.1516 | 0.4735 | <0.0001 | 0.4145 |
| چربی شیر Milk fat (kg/d) | 1.16 | 1.20 | 1.19 | 1.06[b] | 1.31[a] | 0.02 | 0.4933 | <0.0001 | 0.8318 | 0.8135 | 0.0092 |
| پروتئین شیر Milk protein (%) | 2.98 | 2.93 | 2.92 | 2.94 | 2.93 | 0.02 | 0.1547 | 0.9737 | 0.7444 | <0.0001 | <0.0001 |
| پروتئین شیر Milk protein (kg/d) | 1.06 | 1.12 | 1.14 | 0.98 | 1.23 | 0.02 | 0.0934 | <0.0001 | 0.8843 | 0.3736 | 0.0434 |
| لاکتوز شیر Milk lactose (%) | 4.61 | 4.61 | 4.61 | 4.59 | 4.62 | 0.02 | 0.9934 | 0.7723 | 0.9742 | 0.1431 | 0.9932 |
| لاکتوز شیر Milk lactose (kg/d) | 1.64[b] | 1.77[a] | 1.8[a] | 1.54 | 1.94 | 0.04 | 0.0343 | <0.0001 | 0.9812 | <0.0001 | 0.7111 |
| تعداد سلول‌های بدنی SCC[3] (*1000cells/ml) | 66.43 | 57.23 | 58.54 | 49.21 | 72.26 | 13.27 | 0.8712 | 0.1543 | 0.4822 | 0.8323 | 0.6371 |

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P< 0.05)

[1]Means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05)

[2]Fat Corrected Milk.

[3]Somatic Cell Count

**جدول٦**- اثر جیره‌های آزمایشی بر پروفیل اسید چرب شیر(گرم در صد گرم اسیدهای چرب)

**Table 6-** Effect of experimental diets on milk fatty acids profile(g/100g fatty acids)

| مورد Item | شاهد Control | جیره Diet: حاوی مکمل چربیA Supplement A | جیره Diet: حاوی مکمل چربیB Supplement B | شکم زایش Parity: شکم زایش ۱ Primiparous | شکم زایش Parity: چند شکم زایش Multiparous | SEM | P value: جیره Diet | P value: شکم زایش Parity | P value: شکم زایش*جیره Diet*Parity |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C4:0 | 1.9 | 1.55 | 1.59 | 1.73 | 1.62 | 0.12 | 0.1102 | 0.4607 | 0.1425 |
| C6:0 | 1.87 | 2.08 | 1.92 | 2.05 | 1.87 | 0.13 | 0.4823 | 0.2344 | 0.9219 |
| C8:0 | 1.63 | 1.22 | 1.37 | 1.41 | 1.4 | 0.12 | 0.1133 | 0.9825 | 0.7228 |
| C10:0 | 3.01 | 2.36 | 2.71 | 2.63 | 2.76 | 0.25 | 0.2091 | 0.6412 | 0.9340 |
| C12:0 | 3.46 | 3.15 | 3.25 | 3.33 | 3.24 | 0.33 | 0.8043 | 0.8223 | 0.6312 |
| C14:0 | 12.81[a] | 9.06[b] | 10.1[b] | 10.47 | 10.84 | 0.85 | 0.0202 | 0.7143 | 0.9122 |
| C14:1 | 0.41[b] | 0.84[a] | 0.61[a] | 0.69 | 0.55 | 0.07 | 0.0023 | 0.0822 | 0.3433 |
| C16:0 | 32.97 | 27.77 | 29.22 | 30.03 | 29.94 | 1.77 | 0.1343 | 0.9614 | 0.8445 |
| C16:1 | 1.38 | 1.47 | 1.49 | 1.46 | 1.43 | 0.09 | 0.6745 | 0.7543 | 0.8032 |
| C18:0 | 12.75 | 13.76 | 13.4 | 13.4 | 13.2 | 0.51 | 0.3829 | 0.7291 | 0.8915 |
| C18:1 | 23.6 | 26.68 | 26.37 | 25.84 | 25.27 | 0.99 | 0.0802 | 0.6222 | 0.0831 |
| C18:2 | 2.82[b] | 5.32[a] | 4.18[a] | 3.79 | 4.44 | 0.52 | 0.0123 | 0.3129 | 0.2337 |
| C18:3 | 0.28 | 0.22 | 0.19 | 0.22 | 0.23 | 0.03 | 0.1312 | 0.9102 | 0.1712 |
| سایر others | 1.41 | 4.52 | 3.6 | 2.95 | 3.21 | 1.94 | 0.3363 | 0.4467 | 0.7824 |

[۱]میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P< 0.05$)

[1]Means in a row with different superscripts differ significantly ($P<0.05$)

در مطالعات دیگر نیز (۹ و ۲) هنگام تغذیه مکمل چربی کاهش در اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیر و افزایش در اسیدهای چرب بلند زنجیر مشاهده شد. برنارد و همکاران (۸) گزارش کردند که تغذیه چربی محافظت شده، اسیدهای چرب شیر را متناسب با مقدار آنها در مکمل چربی افزایش می‌دهد. در مطالعه کیم و همکاران (۳۳) تغذیه چربی بصورت نمک کلسیمی اسید چرب و سویای اکسترود شده باعث افزایش میزان اسیدهای چرب غیراشباع شیر شد که علت آن، فرار اسیدهای چرب از بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای ذکر گردید.

اسیدهای چرب بلند زنجیر شیر از طریق ممانعت از فعالیت آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز یا ممانعت از چسبیدن اسیدهای چرب کوتاه یا متوسط زنجیر به موقعیت ۲ و ۳ گلیسرول باعث کاهش این اسیدهای چرب شیر می‌شوند(۲۹). با توجه به افزایش معنی‌دار میزان C18:2 شیر در جیره‌های حاوی مکمل‌های چربی A و B می‌توان نتیجه گرفت که مکمل چربی به میزان کمی تحت تأثیر بیوهیدروژناسیون شکمبه قرارگرفته است و احتمالاً سنتز دنووی اسیدهای چرب در غده پستان را از طریق مهار استیل کو آنزیم آ کربوکسیلاز کاهش داده است.

در غده پستان نشخوارکنندگان، اسیدهای چرب غیراشباع تک باند از طریق جذب مستقیم یا به وسیله غیراشباع کردن اسیدهای چرب اشباع C14:0، C16:0 و C18:0 توسط آنزیم دلتا ۹ دسچوراز افزایش می‌یابند(۷ و ۲۱). به نظر می‌رسد نسبت بالای C14:1 در مطالعه حاضر می‌تواند به علت مکانیسم ذکر شده باشد.

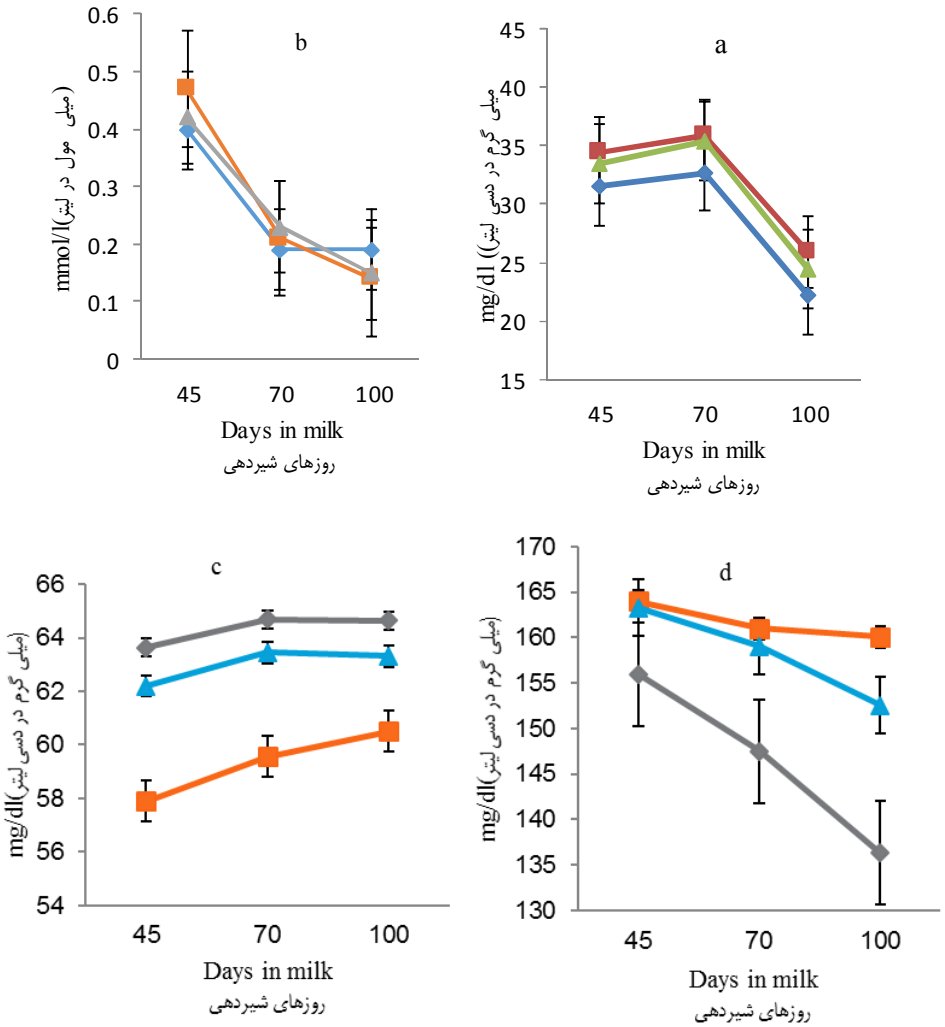
نتایج مربوط به ترکیبات خون گاوها در جدول ۷ گزارش شده است.. از نظر غلظت کلسترول خون بین جیره حاوی مکمل چربی A و جیره شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت($P\leq$ ۰/۰۵، اما با جیره حاوی مکمل چربی B تفاوت نداشت. شکل ۴-د الگوی این افزایش را نشان می‌دهد. سایر محققین افزایش در غلظت کلسترول پلاسما را هنگام تغذیه مکمل چربی در گاوهای شیری نشان دادند، که احتمالا در نتیجه افزایش نیاز کلسترول برای هضم، جذب و انتقال مقدار افزایش یافته اسیدهای چرب رسیده به روده کوچک است(۲۰). با توجه به مطالب فوق به نظر می‌رسد افزایش کلسترول در مطالعه حاضر نیز به علت عبوری بودن مکمل چربی و در نتیجه آن افزایش ورود میزان اسیدهای چرب به روده باشد.

جیره حاوی مکمل چربی A باعث افزایش میزان NEFA پلاسما نشد و نتایجی مشابه جیره شاهد و جیره حاوی مکمل چربی B داشت. با توجه به ارتباط مستقیم متابولیسم NEFA و تری-گلیسرید (۳۶) و عدم تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان NEFA، میزان تری‌گلیسرید نیز تغییر نکرد. با این حال گزارش شده است که مکمل چربی می‌تواند غلظت NEFA خون را در دوره انتقال و اوایل شیردهی افزایش دهد (۴۹). فعّالیّت انسولین در پی مکمّل‌سازی چربی در جیره مختل شده که منجر به رهاسازی مجدّد اسید چرب از بافت چربی بدن می‌شود (۴۰).

نظر به این‌که مطالعه حاضر ۳۰ روز پس از زایش انجام شده است غلظت‌های NEFA، گلوکز و تری‌گلیسرید تحت تأثیر افزودن مکمل چربی قرار نگرفتند. همچنین غلظت‌های گلوکز و NEFA در محدوده طبیعی بودند که نشان می‌دهد گاوهای مورد مطالعه دچار کتوز

نیستند.

برخی از مطالعات عدم تأثیر تیمارهای حاوی پودر چربی بر گلوکز خون را ناشی از مهار فعالیت آنزیم فسفوانول پیرووات کربوکسی‌کیناز در چرخه گلکونئوژنز توسط برخی از اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه (32) و ممانعت از اکسیداسیون گلوکز (۲۷) می‌دانند. با توجه به افزایش تولید شیر در جیره‌های حاوی مکمل چربی در مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که دلیل عدم تفاوت در میزان گلوکز پلاسما، شرکت گلوکز اضافی در تولید لاکتوز است.




**شکل ٤**– میانگین فراسنجه‌های خونی گاوهای دریافت کننده جیره شاهد (♦) جیره حاوی مکمل چربی A (■) و جیره حاوی مکمل چربی B (▲). a. تری‌گلیسرید b. NEFA، c. گلوکز، d. کلسترول.

**Figure 4-** Blood parameters average in control (♦), Supplement A (■) and Supplement B (▲). a. triglyceride b. Non Esterified Fatty Acid (NEFA) c. glucose d. cholesterol

**جدول۷**- اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی(میلی‌گرم در دسی‌لیتر)

**Table5-** Effect of experimental diets on blood parameters(mg/dl)

| مورد Item | شاهد Control | جیره Diet: حاوی مکمل چربی A Supplement A | حاوی مکمل چربی B Supplement B | شکم زایش Parity: شکم زایش۱ Primiparous | چند شکم زایش Multiparous | SEM | P value: جیره Diet | شکم زایش Parity | شکم زایش*جیره Diet*Parity | هفته week | هفته*جیره Diet*week |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| گلوکز Glucose | 64.32 | 59.33 | 62.99 | 63.34 | 61.08 | 2.55 | 0.38 | 0.4501 | 0.7823 | 0.0602 | 0.8742 |
| اسیدهای چرب غیر استریفه NEFA[2](mmol/l) | 0.26 | 0.27 | 0.27 | 0.25 | 0.29 | 0.02 | 0.24 | <0.0001 | 0.7511 | <0.0001 | 0.6012 |
| تری‌گلیسرید triglyceride | 28.79 | 32.04 | 31.12 | 30.13 | 31.17 | 1.25 | 0.13 | 0.4341 | 0.4821 | <0.0001 | 0.9328 |
| کلسترول Cholesterol | 146.62[b] | 161.69[a] | 158.28[a] | 153.38 | 157.68 | 4.21 | 0.04 | 0.3852 | 0.9632 | <0.0001 | <0.0001 |

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند($P< 0.05$)

[1]Means in column with different superscripts differ significantly ($P<0.05$)

[2]Non Esterified Fatty Acid

## منابع


1.AbuGhazaleh, A. A. 2008. Effect of fish oil and sunflower oil supplementation on milk conjugated linoleic acid content for grazing dairy cows. Animal Feed Science and Technology, 141: 220-232.

2.Ahmadpour, A., H. Aliarabi, M. Ghelich-Khan, A. P. Robert, and M. B. Rupert. 2017. Temporal changes in milk fatty acid distribution due to feeding different levels of rolled safflower seeds to lactating Holstein cows. Journal of Dairy Science,100: 4484–4499.

3.Alipour, H., and H. Amanlu. 2012. Effect of whole soy bean levels on dairy Holstein cows performance in early lactation. Journal of Ruminant Research, 1(4): 31-46.

4.AOAC International. 2002. Official Methods of Analysis. 19th ed.AOAC International,Washington, DC.

5.Avial, C. D., E. J. Depeters, H. Perez-Monti, J. Taylor, and R. A. Zinn. 2000. Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield in dairy cows. Journal of Dairy Science, 83:1505-1519.

6.Ben Salem, M., and R. Bouraoui. 2008. Effects of calcium salts of palm fatty acids and protected methionine supplementation on milk production and composition and reproductive performances of early lactation dairy cows. International Journal of Dairy Science, 4: 187-193.

7.Benson, J. A., C. K. Reynolds, D. J. Humphries, S. M. Rutter, and D. E. Beever. 2001. Effects of abomasal infusion of long-chain fatty acids on intake, feeding behavior and milk production in dairy cows. Journal of Dairy Science, 84: 1182-1191.

8.Bernard, L., J. Rouel, C. Leroux, A. Ferlay, Y. Faulconnier, P. Legrand, and Y. Chilliard. 2005. Mammary lipid metabolism and milk fatty acid secretion in alpine goats fed vegetable lipids, Journal of Dairy Science, 88:1478-1489.

9.Bhatt, R.S., and A. Sahoo.2017. Effect of feeding complete feed block containing rumen protected protein, non-protein nitrogen and rumen protected fat on improving body condition and carcass traits of cull ewes. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 101:1147–1158.

10.Boeckaert, C., B. Vlaeminck, J. Dijkstra, A. Issa-Zacharia, T. Van Nespen, Van Straalen, W., and V. Fievez. 2008. Effect of dietary starch or micro algae supplementation on rumen fermentation and milk fatty acid composition of dairy cows. Journal of Dairy Science, 91: 4714-4727.

11.Brown-Crowder, E. I., S. P. Hart, M. Cameron, T. Sahlu, and A. L. Goetsch. 2001. Effects of dietary tallow level on performance of alpine does in early lactation. Small Ruminant Research, 39:233-241.

12.Canale, C. J., L. D. Muller, H. A. McCahon, T. J. Whitsel, G. A. Varga, and M. J. Larmore. 1990. Dietary fat and ruminally protected amino acids for high producing dairy cows. Journal of Dairy Science, 73:135.

13.Chalupa, W., B. Vecchiarelli, A. E. Elm, D. S. Kronfeld, D. Sklan, and D. L. Palmquist. 1986. Ruminal fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids. Journal of Dairy Science, 69: 1293-130.

14.Chalupa, W., P. Moate, and R. Boston. 2002. Ruminal metabolism and intestinal digestion of fatty acids. Unpublished University of Pensilvania. Kennett square.

15.Chilliard, Y. 1993. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: a review. Journal of Dairy Science, 76: 3897.3931.

16.Chouinard, P. Y., V. Girard, and G. J. Brisson.1998. Fatty Acid Profile and Physical Properties of Milk Fat from Cows fed Calcium Salts of Fatty Acids with Varying Unsaturation. Journal of Dairy Science, 81:471–481.

17.Christie, W. W. 1982. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. Journal of Lipid Research, 23(7):1072-1075.

18.Church, D.C., and W.G. Pond.1988.Basic animal nutrition and feeding, 2nd edn. John Wiley & Sons, New York.

19.De Souza, J., B. Fernanda, and F. A. P. Santos. 2017. Effect of sources of calcium salts of fatty acids on production, nutrient digestibility, energy balance, and carryover effects of early lactation grazing dairy cows. Journal of Dairy Science, 100:1072–1085.

20.Douglas, G. N., J. Rehage, A. D. Beaulieu, A. O. Bahaa, and J. K. Drackley. 2007. Prepartum nutrition alters fatty acid composition in plasma, adipose tissue, and liver lipids of periparturient dairy cows. Journal of Dairy Science, 90:2941–2959.

21.Elmeddah, Y., M. Doreau, J. Rouel, and Y. Chilliard.1994.Effects of calcium salt supplementation on dairy cow performances in early lactation. Influence of the nature of concentrates. Annales de Zootechnie (Paris), 43:341–353.

22.Fatahnia, F., A. Nikkhah, M. J. Zamiri, and D. Kahrizi. 2008. Effect of dietary fish oil and soybean oil on milk production and composition of Holstein cows in early lactation. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 21:386–391.

23.Folch, J., M. Lees, and G. H. Sloane-Stanley.1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal Biology of Chemistry, 226:497–509.

24.Gandra, J. R., J. Freitas, E. Jose, M. Filho, and P. Francisco.2014. Soybean oil and calcium salts of fatty acids as fat sources for Holstein dairy cows in transition period. RevistaBrasileira de SaudeProducao Animal, 15(1):83-93.

25.Ganjkhanlu, M., K. Rezayazdi, GH. R. Ghorbani, H. Moravej, M. Dehghan-Banadaky, and M. R. Emami.2009.

Effect of two kind of protected fat in early lactation on dairy Holstein cows performance. Iranian Journal of Animal science,40(1):37-44.(In Persian).
26. Greco, L.F., J. N. Neto, A. Pedrico, R . A. Ferrazza, F. S. Lima, R. S. Bisinotto, N. Martinez, M. Garcia, E. S. Ribeiro, G. C. Gomes, and J. H. Shin. 2015. Effects of altering the ratio of dietary n-6 to n-3 fatty acids on performance and inflammatory responses to a lipopolysaccharide challenge in lactating Holstein cows. Journal of Dairy Science. 98(1):602–617.
27. Grummer, R. R., and D. J. Carroll.1991. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. Journal of Animal Science, 69:3838–3852.
28. Grummer, R. R., M. L. Hatfield, and M. R. Dentine. 1990. Acceptability of fat supplements in four dairy herds. Journal of Dairy Science, 73:852-857.
29. Hansen, H. O., and J. Knudsen. 1987. Effect of exogenous long-chain fatty acids on lipid biosynthesis in dispersed ruminant mammary gland epithelial cells: esterification of long-chain exogenous fatty acids. Journal of Dairy Science, 70:1344–1349.
30. Hurley W. L., G. J. Warner, and R. R. Grummer. 1987. Changes in triglyceride fatty acid composition of mammary secretions during involution. Journal of Dairy Science, 70(11):2406-2410.
31. Jenkins, T. C.1993. Lipid metabolism in the rumen. Journal of Dairy Science, 76:3851– 3863.
32. Kim, D. H., H. J. Lee, S. M. Amanullah, A. T.Adesogan, and S. C. Kim. 2016. Effects of dietary n-6/n-3 fatty acid ratio on nutrient digestibility and blood metabolites of Hanwoo heifers. Animal Science Journal, 87(1):46-53.
33. Kim, Y. K., D. J. Schingoethe, D. P. Casper, and F. C. Ludens. 1993. Supplemental dietary fat from extruded soybeans and calcium soaps of fatty acids for lactating dairy cows. Journal Dairy Science, 76:197-204.
34. Klusmeyer, T. H., and J. H. Clark. 1991. Effects of dietary fat and protein on fatty acid flow to the duodenum and in milk produced by dairy cows. Journal of Dairy Science, 74:3055-3067.
35. Kokkonen, T., J. Taponen, M. Tuori, S. Lohenoja, and M. Kulcsar. 2004. Effect of fat supplementation in early lactation dairy cows. Journal of Animal and Feed Science,13:499-502.
36. Lohrenz, A. K., K. Duske, F. Schneider, K. Nürnberg, B. Losand, H. M. Seyfert, and H. M. Hammon. 2010. Milk performance and glucose metabolism in dairy cows fed rumen-protected fat during mid lactation. Journal of Dairy Science, 93(12):5867-5876.
37. M'hamed, D., P. Faverdin, and R. Verite. 2001. Effects of the level and source of dietary protein on intake and milk yield in dairy cows. Animal Research, 50: 205-211.
38. Mosley, S. A., E. E. Mosley, B. Hatch, J. I. Szasz, A. Corato, N. Zacharias, D. Howes, and M. A. McGuire. 2007. Effect of varying levels of fatty acids from palm oil on feed intake and milk production in Holstein cows. Journal of Dairy Science, 90: 987.993.
39. NRC.2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academic Press, Washington, DC.
40. Palmquist, D. L. and T. C. Jenkins.1980. Fat in lactation rations, Review. Journal of Dairy Science, 63:1–14.
41. Palmquist, D. L., and W. P. Weiss. 1994. Blood and hydrolyzed feather meals as sources of undegradable protein in high fat diets for cows in early lactation. Journal of Dairy Science, 77:1630-1643.
42. Palmquist, D. L. 1994. The role of dietary fats in efficiency of ruminants. Journal of Nutrition, 124:1377S–1382S.
43. Rabiee, A. R., K. Breinhild, W. Scott, H. M. Golder, E. Block, and I. J. Lean. 2012. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta regression. Journal of Dairy Science, 95:3225–3247.
44. Rodrigues, J. P. P., R. M. de Paula, L. N. Rennó, M. M. S. Fontes, A. F. Machado, S. Valadares Filho, P. Huhtanen, and M. I. Marcondes. 2017. Short-term effects of soybean oil supplementation on performance, digestion, and metabolism in dairy cows fed sugarcane-based diets. Journal of Dairy Science, 100:4435–4447.
45. Savsani, H., K . S. Murthy, J. P. Ramesh, A. Bhadaiya, and V. Kalaria. 2013. Effect of bypass fat supplementation on haematology, growth and reproductive performance in Jaffrabadi buffaloes. Asian Journal of Animal Science, 8(1):12-15.
46. Schauff, D. J., and J.H. Clark. 1992. Effects of feeding diets containing calcium salts of long-chain fatty acids to lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 75:2990–3002.
47. Schroeder, G. F., G. A. Gagliostro, D. Becu-Villalobos, and I. Lacau-Mengido. 2002. Supplementation with partially hydrogenated oil in grazing dairy cows in early lactation. Journal of Dairy Science, 85:580– 594.
48. Storry, J. E., A. J. Hail, and V. W. Johnson. 1973. The effects of increasing amounts of dietary tallow on milk-fat secretion in the cow. Journal of Dairy Research, 40:293–299.
49. Sultana, H., T. Ishida, T. Shintaku, S. Kanda, and H. Itabashi. 2008. Effect of feeding Ca-salts of fatty acids from soybean oil and linseed oil on c9,t11-CLA production in ruminal fluid and milk of Holstein dairy cows. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 21: 1262 - 1270
50. Taghizaadeh, A., A. Abbasi-Moghadam, A. Safamehr, and Y. Mehmannavaz. 2011. Evaluation of the effects of nutrition of different levels of soybean oil in early lactation on milk production and composition and blood parameters of Holstein dairy cows. Journal of Animal Science Research, 22:17-26. (In Persian)
51. Teymouri, A., S. Karimzadeh, and H. Mirzaei. 2006. Functional feeding of dairy cows. Masih Ava Press, Page 205.

52. Van Keulen, J. Y. B. A., and B. A. Young. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. Journal of Animal Science, 44(2):282-287.
53. Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74:3583–3597.
54. Whitlock, L. A., D. J. Schingoethe, A. R. Hippen, K. F. Kalscheur, R. J. Baer, N. Ramaswamy, and K.M. Kasperson. 2002. Fish oil and extruded soybean fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. Journal of Dairy Science, 85: 234-243.
55. Wildman, E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, R. L. Boman, H. F. Troutt, and T. N. Lesch. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. Journal of Dairy Science, 65:495–501.
56. Yang, S. L., D. P. Bu, J. Q. Wang, Z. Y. Hu, D. Li, H. Y. Wei, L.Y. Zhou, and J. J. Loor. 2009.Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. Animal, 3:1562–1569.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 175-192

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۱۹۲-۱۷۵

# Effect of Calcium Salts of Fatty Acids on Performance and Milk Fatty Acids Profile in Holstein Cows

**Javad nasiri[1], Hassan aliarabi[2*] and Pouya zamani[2]**

Submitted: 20-06-20
Accepted: 13-09-20

**Introduction** Cows need a lot of energy to produce milk in early lactation. Due to the low dry matter intake in this period, it is necessary to increase diet energy concentration. Therefore, fat supplements are often used to increase the concentration of metabolizable energy for reduce mobilization of adipose tissue in fresh cows. Many studies shown that adding fat to diet of lactating cows, improves milk production and increases lactation persistency. Increasing milk yield by 2 to 10 percent was reported in cows receiving fat supplement compared to control. One of the limitations of using fat supplements for ruminant is its negative effects on digestion of fiber. In some studies, using of unprotected fat sources reduced digestibility of fibers and milk fat percentage in early lactation. In contrast, some researchers have reported that adding protected fats to the diet of lactating cows increased milk production and had not negative effect on milk fat. The reason for this was minimum effect of protected fat on ruminal fermentation. Usual protected fats include crystalline or prilled fatty acids, formaldehyde treated protein encapsulated fatty acids, hydrogenated lipids, fatty acyl amides and calcium salts of fatty acids. Calcium salts of fatty acids are lower degradable than other fat sources in rumen. More studies should be done because of the low production of calcium salts of fatty acids in Iran and as well as the demand for better quality of fat supplements.

**Materials and Methods** Twenty one Holstein cows were used under days in milk 30±8.5 with body weight 573 ± 69.4. The cows were divided into three groups (3primiparous and 4 multiparous) and were offered following rations for 100 days period:1- control (without fat supplementation), 2- ration containing fat supplement A (laboratory made for this research in Bu-Ali Sina University), 3- ration containing fat supplement B (Persia fat, Kimia Danesh Alvand Co, Tehran, Iran). Diets were designed to be iso-nitrogenous. After morning milking and before feeding, cows were weighed and body scored in 30, 70 and 100 days in milk. The cows were milked three times daily. The TMR was fed at 0530, 1430 and 2230hours daily. Feed intake and milk yield were recorded daily and weekly sampling was performed to determine milk, feed and feces compositions. Milk samples were analyzed for protein, fat and lactose. Feed and feces samples were analyzed for DM, Ash, CP, ether extract and ADF. Digestibility of ration nutrients was determined using acid insoluble ash as an indigestible marker. Blood samples were withdrawn on 45, 70 and 100 days in milk. Blood samples then were centrifuged at 4 ºC and 3000×g for 15 minutes. Then plasma was analyzed for glucose, cholesterol, triglyceride and non-esterified fatty acids. At the end of the experiment milk samples were collected to determine milk fatty acids profile. The fatty acids were determined using a direct method for fatty acid methyl ester synthesis using a gas chromatograph. Data were analyzed as a completely randomized design using the MIXED procedure of SAS.

**Results and Discussion** in this study using fat supplements had not effect on BCS. Dry matter intake was not affected by diets. Milk production were higher in cows receiving fat supplement A than control while was not different compared to fat supplement B. milk production increased significantly after two weeks. During the treatment period, control increased milk fat percentage. Milk fat increasing was started in second week of experiment. The amount of milk lactose increased due to the milk production increasing in cows receiving fat

1-PhD student, Animal nutrition, Animal science department, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University
2-Associate professor, Ruminant nutrition, Animal science department, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University
(*- Corresponding Author Email: h_aliarabi@yahoo.com)
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.87392

supplement compared to control. FCM was not different between treatments. In this study, fat supplement A and B increased blood cholesterol. Amount of triglyceride increased but was not significant. NEFA and glucose were not affected by diets. C14:0, C14:1 and C18:2 were influenced by rations. Percent of C8:0 was higher in control than other treatments by 16 percent, it was not significant. Percent of C18:1 was higher in cows receiving fat supplement A and B than control, but was not significant. Rations had not affected on nutrients digestibility.

**Conclusion** according to the results, fat supplement A can be used as fat source in early lactation.

**Key words:** Calcium Salt of Fatty Acids, Dairy Cows, Milk production, Milk composition.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۰۵-۱۹۳

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 193-205

مقاله علمی- پژوهشی

# تأثیر قرص آهسته‌رهش مس بر عملکرد و برخی فراسنجه‌های خونی میش‌های آبستن لری-بختیاری و بره‌های آن‌ها

پروین نصر چالشتری[۱]، امیر فدایی‌فر[۲*]، ایوب عزیزی[۲]، آرش آذرفر[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۲۹

## چکیده

به‌منظور مطالعهٔ عملکرد و تعیین تغییرات برخی از فراسنجه‌های خونی بره‌های متولد شده از میش‌های آبستن دریافت‌کنندهٔ قرص آهسته‌رهش مس، ۸۰ رأس میش لری-بختیاری (شکم زایش چهارم و نمره وضعیت بدنی ۳ الی ۳/۵) همزمان شده برای زایش به دو گروه ۴۰ رأسی تقسیم‌بندی شدند. تیمارها شامل: ۱) گروه شاهد و ۲) گروه دریافت‌کنندهٔ قرص آهسته‌رهش مس بود. میش‌ها ۶۰ روز قبل از تاریخ پیش‌بینی زایمان، قرص آهسته‌رهش مس را دریافت کردند. در روز اول آزمایش، ۱۰ و ۶۰ روز پس از زایمان، خون‌گیری از میش‌ها انجام شد. پس از شروع زایمان، وزن تولد، جنسیت، تک‌قلو یا چندقلو بودن بره‌ها ثبت و خون‌گیری از آن‌ها در سن ۱۰ و ۶۰ روزگی انجام شد. غلظت مس و سرولوپلاسمین سرم به‌طور معنی‌داری در میش‌های دریافت‌کنندهٔ قرص مس نسبت به میش‌های گروه شاهد بالاتر بود ($P<0/05$). در روز اول آزمایش (۶۰ روز قبل از زایمان) غلظت مس و سرولوپلاسمین سرم خون میش‌ها نسبت به روز ۱۰ و ۶۰ پس از زایش پایین‌تر بود، اما بین روزهای ۶۰ و ۱۰ پس از زایش تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بره‌های متولد شده از مادران دریافت‌کنندهٔ قرص آهسته‌رهش مس در مقایسه با بره‌های متولد شده از میش‌های گروه شاهد، وزن از شیرگیری، افزایش وزن روزانه، غلظت مس سرم، غلظت سرولوپلاسمین سرم، درصد هماتوکریت، تعداد گلبول قرمز و غلظت هموگلوبین بالاتری داشتند ($P<0/05$). به‌طور کلی نتایج نشان داد که خوراندن قرص آهسته‌رهش مس به میش‌ها در اواخر دورهٔ آبستنی، باعث بهبود افزایش وزن روزانه و وزن از شیرگیری بره‌های آن‌ها شد.

**واژه‌های کلیدی:** بره، سرولوپلاسمین، گوسفند، گوگرد، مس.

## مقدمه

جنین برای تأمین مواد مغذی از جمله عناصر معدنی کم‌مصرف به مادر وابسته است و آن‌ها را از طریق جفت تأمین می‌کند. عدم تأمین کافی عناصر معدنی طی آبستنی منجر به کمبود این عناصر در جنین شده که نتیجهٔ آن بروز اختلالات در رشد، سیستم عصبی مرکزی، اسکلتی و متابولیسم جنین است (۱۳). علاوه بر این، نوزادان متولد شده از مادرانی که کمبود مواد معدنی داشته‌اند ذخایر مواد معدنی در بدن آن‌ها کاهش یافته و مستعد بیماری‌های ناشی از کمبود مواد معدنی در اوایل زندگی هستند (۳۳). مس از جمله عناصر معدنی کم‌مصرف است که در ساختار بسیاری از پروتئین‌های دخیل در سوخت و ساز، رشد، سیستم ایمنی و تولیدمثل وجود دارد و به‌عنوان کوفاکتور برخی از متالوآنزیم‌ها ایفای نقش می‌کند (۳۴). اگر چه مس جزئی از هموگلوبین نیست اما به‌واسطهٔ آن که در ساختار سرولوپلاسمین وجود دارد برای تشکیل هموگلوبین ضروری است (۲۲). علاوه بر آن انتقال گروه متیل از متیل تتراهیدروفولات به طیف وسیعی از ماکرومولکول‌ها در چرخهٔ متیلاسیون توسط آنزیم‌های

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
۳- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Fadayifar.a@lu.ac.ir)
DOI: 10.22067/ijasr.v13i2.86149

وابسته به مس همانند متیونین‌سنتتاز و S-آدنوزیل هموسیستئین هیدرولاز انجام می‌گیرد (۱۶). هنگامی که فعالیت آنزیم متیونین سنتتاز مختل شود، متیلاسیون کاهش یافته و متیله شدن میلین مختل شده که باعث آسیب نخاعیِ ناشی از کمبود مس می شود (۱۶). مس در اکثر موارد یکی از عناصر معدنی محدودکننده برای رشد طبیعی جنین و نوزاد است و کمبود آن باعث کاهش رشد و نمو جنین می‌شود (۱۰). هنگامی که در جیرهٔ مادر کمبود مس وجود داشته باشد، انتقال مس از مادر به جنین برای رشد طبیعی کافی نبوده و این امر باعث اختلال در سیستم اعصاب مرکزی، سیستم اسکلتی و در نتیجه اختلال در متابولیسم بدن می شود (۸) که در بره و بزغاله‌ها این به دو شکل متفاوت بروز می‌کند: اول، شکل حاد که در آن حیوانات در بدو تولد مبتلا هستند و دوم، شکل تأخیری که ممکن است پس از گذشت ۳ ماه از تولد بروز کند که علائم آن شامل عدم تعادل در برخی از بره‌ها و بزغاله‌ها است که به صورت فلج آتاکسیک بروز پیدا کرده و در صورت عدم مداوا منجر به مرگ آن‌ها می‌شود (۳۳). این اختلال که به آن آتاکسیا نیز گفته می‌شود یک اختلال عصبی در بره‌ها و بزغاله‌هاست، که مشخصهٔ آن عدم هماهنگی در حرکت و مرگ و میر بالاست، و سال‌هاست که در بسیاری از مناطق دنیا با عناوین متفاوتی ازجمله پشت لرزان شناخته شده است (۳۳).

عوارض و اختلالات ناشی از کمبود مس به اشکال بالینی و تحت‌بالینی در بسیاری از مناطق کشور گزارش شده است (۹، ۱۳ و ۱۵). در مناطق جنوبی ایران گزارش‌های زیادی در خصوص کمبود مس وجود دارد، به‌طوری‌که (۲۴) با بررسی میزان مس در سرم و کبد و مطالعهٔ آسیب‌شناسی مغز و نخاع در بره‌های ارجاعی به دانشگاه شهید چمران اهواز، آتاکسی منطقه‌ای در مناطقی از استان خوزستان تأیید شده است. همچنین، سایر محققین نیز کمبود مس در گوسفندان برخی از مناطق استان خوزستان را گزارش دادند (۳۰). نتایج پژوهش‌های پیشین مؤید آن است که مصرف مواد معدنی کم‌مصرف به‌صورت قرص‌های آهسته‌رهش به‌طور کارآمدی سبب بهبود وضعیت عناصر و عملکرد دام‌های مصرف‌کننده آن‌ها می‌شود (۱، ۲، ۳، ۱۸، ۱۹، ۲۰ و ۳۵). به هر حال مطالعه‌ای در خصوص خوراندن قرص آهسته‌رهش مس به میش در اواخر دوره آبستنی و تأثیر آن بر وضعیت مس مادر و بره‌های آن‌ها تا زمان از شیرگیری موجود نمی‌باشد. از طرفی قرص آهسته‌رهش مس برای خود بره تا زمان ازشیرگیری محدودیت مصرف دارد، بنابراین هدف از مطالعهٔ حاضر بررسی تأثیر خوراندن قرص آهسته‌رهش مس بر عملکرد و برخی فراسنجه‌های خونی میش‌های آبستن و بره‌های متولد شده از آن‌ها بود.

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در ایستگاه تحقیقاتی و آزمایشگاه تغذیه دام تکمیلی گروه علوم دامی دانشگاه لرستان انجام شد. در حدود هشت هفته قبل از زایمان، ۸۰ رأس میش لری بختیاری با میانگین وزنی۳/۴۳ ± ۶۸/۳۲ (شکم زایش چهارم و نمرهٔ وضعیت بدنی ۳ الی ۳/۵) همزمان شده برای زایش به دو گروه ۴۰ رأسی تقسیم‌بندی شدند: ۱) گروه شاهد و ۲) گروه دریافت کنندهٔ قرص آهسته‌رهش مس. شصت روز قبل از تاریخ پیش‌بینی شدهٔ زایمان، قرص‌های (شرکت دگر اندیش مهرگان، ایران) مورد نظر توسط قرص‌خوران به هر یک از دام‌ها خورانده شد. نمره وضعیت بدنی هر گوسفند به‌طور جداگانه در حالت ایستاده با استفاده از روش نمره‌دهی کامل تعیین شد (۲۷)، در جایی‌که به امتیازدهی نیم نیاز بود، بر اساس اینکه وضعیت نمره بدنی حیوان بین کدام دو نمره وضعیت بدنی قرار گرفته، نمره وضعیت بدنی نیم توسط ارزیاب ثبت شد. میش‌ها قبل از شروع آزمایش، با استفاده از دو تزریق متوالی پروستاگلاندین (۲۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر کلوپرو ستنول سدیم، شرکت دارو سازی نصر، ایران) با فاصله ۹ روز برای فحلی همزمان شدند (۱۷). جهت اطمینان از مصرف قرص توسط دام‌ها، میش‌ها به مدت نیم‌ساعت به‌صورت انفرادی نگهداری شدند. طول دورهٔ آزمایش ۱۵۰ روز بود (۲ ماه قبل از زایمان تا ۳ ماه بعد از زایمان). میانگین وزن هر قرص ۰/۱±۱۰ گرم با نیمهٔ عمر یکسال با میانگین نرخ آزادسازی ۲ میلی‌گرم مس در روز بود. تمامی میش‌ها در طول دورهٔ آزمایش به‌صورت گروهی در یک گله نگهداری شدند و همگی با یک نوع جیرهٔ غذایی بر اساس جداول احتیاجات غذایی (۲۶) تغذیه شدند (جدول ۱). جهت تعیین پروتئین خام، چربی خام، خاکستر، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی از دستگاه طیف‌سنج بازتابی نزدیک به مادون قرمز ( Near infrared reflectance spectroscope، مدل DA 7250، ساخت کشور سوئد) استفاده شد. غلظت عنصر کلسیم، روی، مس و مولیبدن با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل 240FS AA، ساخت کشور آمریکا) اندازه‌گیری شد. غلظت گوگرد با استفاده از دستگاه آنالیز عنصریCHNS-O (مدل TECS 4010، ساخت کشور ایتالیا) تعیین شد.

پس از شروع زایمان، وزن تولد بره‌ها، جنسیت و تک‌قلو یا چندقلو بودن آن‌ها ثبت گردید. جهت بررسی عملکرد بره‌ها از اطلاعات حاصل از تمام ۴۰ رأس میش در هر گروه استفاده شد، اما جهت بررسی فراسنجه‌های خونی از هر گروه ۱۰ رأس برهٔ تک‌قلو و نر مورد ارزیابی قرار گرفت. بره‌ها از سن ۷ روزگی تا زمان ازشیرگیری با جیره کاملاً مخلوط شده حاوی ۷۵ درصد کنسانتره آغازین و ۲۵ درصد علوفه به صورت مصرف اختیاری تغذیه شدند (جدول ۱).

**جدول ۱**- آنالیز شیمیایی و ترکیبات جیرهٔ پایه.

**Table 1-** Chemical composition and ingredients of basal diets.

| ترکیبات (درصد ماده خشک)<br>Ingredient (%DM) | **میش** | بره شیرخوار |
|---|---|---|
| جو<br>Barley | 4.5 | 10 |
| ذرت<br>Corn | 6 | 32 |
| سبوس گندم<br>Wheat bran | 5 | 10 |
| کنجاله سویا<br>Soybean meal | 4.5 | 19 |
| یونجه خشک<br>Alfalfa hay | 22 | 20 |
| کاه گندم<br>Wheat straw | 44 | 5 |
| سیلوی ذرت<br>Corn silage | 12 | – |
| پیش‌مخلوط معدنی و ویتامینه میش داشتی[1]<br>Mineral and vitamin premix for ewe | 2 | - |
| پیش‌مخلوط معدنی و ویتامینه بره شیرخوار[2]<br>Mineral and vitamin premix for suckling lamb | - | 4 |
| آنالیز شیمیایی<br>Chemical composition | | |
| ماده آلی (درصد ماده خشک)<br>Organic matter (%DM) | 93.8 | 91.4 |
| پروتئین خام (درصد ماده خشک)<br>Crude protein (%DM) | 9.6 | 18.1 |
| عصاره اتری (درصد ماده خشک)<br>Ether extract (%DM) | 1.72 | 2.86 |
| الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد ماده خشک)<br>Neutral detergent fiber (%DM) | 53.2 | 26.0 |
| الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد ماده خشک)<br>Acid detergent fiber (%DM) | 32.0 | 32.0 |
| کربوهیدرات‌های غیر فیبری (درصد ماده خشک)<br>Non-fiber carbohydrates (%DM) | 26.0 | 44.5 |
| خاکستر (درصد ماده خشک)<br>Ash (%DM) | 6.15 | 8.55 |
| انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری/کیلوگرم ماده خشک)<br>Metabolizable Energy (Mcal/Kg DM) | 2.18 | 2.68 |
| کلسیم (درصد ماده خشک)<br>Calcium (%DM) | 0.76 | 0.92 |
| فسفر (درصد ماده خشک)<br>Phosphorus (%DM) | 0.31 | 0.50 |
| گوگرد (درصد ماده خشک)<br>Sulfur (%DM) | 0.53 | 0.24 |
| روی (میلی‌گرم/کیلوگرم ماده خشک)<br>Zinc (mg/kg DM) | 23.4 | 57.4 |
| مس (میلی‌گرم/کیلوگرم ماده خشک)<br>Copper (mg/kg DM) | 5.79 | 7.66 |
| مولیبدن (میلی‌گرم/کیلوگرم ماده خشک)<br>Molybdenum (mg/kg DM) | 0.14 | 0.32 |

[1]هر کیلوگرم از پیش‌مخلوط حاوی: ۲۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۴۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۴۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۶۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۶۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۰۰ گرم کلسیم، ۲۰ گرم فسفر، ۱۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰ میلی‌گرم ید، ۲ گرم منیزیم، ۵۰۰ گرم سدیم و ۲۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان بود.

[2]هر کیلوگرم از پیش‌مخلوط حاوی: ۲۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین $D_3$، ۸۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۰ میلی‌گرم ویتامین $K_3$، ۱۰ میلی‌گرم ویتامین $B_1$، ۲۵ میلی‌گرم ویتامین $B_2$، ۵۰ میلی‌گرم ویتامین $B_5$، ۱۵ میلی‌گرم ویتامین $B_6$، ۶ میلی‌گرم ویتامین $B_9$، ۰/۲۰ میلی‌گرم ویتامین $B_{12}$، ۳۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۴۰۰ میلی‌گرم روی، ۵ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۶۰ گرم کلسیم، ۲۰ گرم فسفر، ۱۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰ میلی‌گرم ید، ۲ گرم منیزیم، ۳/۹۰ گرم سدیم و ۲۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان بود.

[1]Each kilogram of premix contains: 200,000 IU of vitamin A, 40,000 IU of vitamin D3, 4,000 IU of vitamin E, 600 mg of manganese, 600 mg of zinc, 10 mg of selenium, 200 g calcium, 20 g phosphorus, 10 mg cobalt, 10 mg iodine, 2 g magnesium, 500 g sodium and 200 mg antioxidants.

[2]Each kilogram of premix contains: 250,000 IU of vitamin A, 20,000 IU of vitamin D3, 800 IU of vitamin E, 10 mg of vitamin K3, 10 mg of vitamin B1, 25 mg of vitamin B2, 50 mg of vitamin B5, 15 mg of vitamin B6, 6 mg of vitamin B9, 0.20 mg of vitamin B12, 300 mg of manganese, 400 mg of zinc, 5 mg of selenium, 160 g of calcium, 20 g of phosphorus, 10 mg of cobalt, 10 mg of iodine, 2 g of magnesium, 3.90 g of sodium and 200 mg of antioxidants.

بره‌های متولد شده در زمان تولد و سن سه ماهگی توزین شدند و میانگین افزایش وزن روزانه محاسبه گردید. در روز اول آزمایش قبل از خوراندن قرص (۶۰ روز قبل از زایش) از تمامی میش‌ها خون‌گیری انجام شد، اما در روزهای ۱۰ و ۶۰ پس از زایش از میش‌هایی خون‌گیری به‌عمل آمد که بره‌های آن‌ها نیز برای خون‌گیری در سن ۱۰ و ۶۰ روزگی انتخاب شده بودند. نمونه‌های خون مربوط به هر دام در هر روز در ۲ لولهٔ مجزا جمع‌آوری شدند. یک لوله حاوی هپارین برای تهیهٔ نمونه خون کامل و یک لوله بدون ماده ضد انعقاد برای استخراج سرم بود. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده بدون ماده ضد انعقاد به مدت ۱۵ دقیقه در ۹۰۰ g سانتریفوژ (مدل Rotofix 32A، ساخت آلمان) شدند و سرم آن‌ها جدا شد. نمونه‌های سرم جمع‌آوری شده به‌منظور تعیین غلظت روی، مس، آهن و سرولوپلاسمین در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگه‌داری شدند. از نمونه خون کامل برای تعیین فراسنجه‌های خونی استفاده شد. غلظت مس سرم مادر و غلظت روی و مس سرم بره‌های متولد شده با استفاده از کیت‌های مخصوص شرکت بایرکس فارس، میزان غلظت آهن سرم با استفاده از کیت تشخیص کمی آهن شرکت پارس آزمون با روش فتومتریک و میزان سرولوپلاسمین سرم خون میش و بره‌های آن‌ها با استفاده از کیت سرولوپلاسمین شرکت بیونیک بر اساس دستورالعمل هر کدام از کیت‌ها تعیین شدند. روش آماده سازی کالیبراتور، کنترل و نمونه‌ها به شرح دستورالعمل شرکت‌های سازنده انجام شد. به‌منظور اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی بره‌ها (تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین) خون‌های گرفته شده در ۱۰ و ۶۰ روزگی در لوله‌های حاوی هپارین، بلافاصله به آزمایشگاه ارسال شد و شمارش یاخته‌های خونی با استفاده از دستگاه شمارش سلولی (مدل Coulter S8، ساخت آمریکا) انجام شد.

### آنالیز آماری داده‌ها

داده‌های وزن تولد، وزن از شیرگیری بره‌ها و افزایش وزن روزانهٔ بره‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیهٔ آماری شد. همچنین داده‌ها به صورت میانگین حداقل مربعات گزارش شد و میانگین بین تیمارها با آزمون T مقایسه شد (معادلهٔ ۱) اثرات متقابل بین تیمار، جنس بره (نر یا ماده) و نوع تولد (تک‌قلو یا چندقلو) معنی‌دار نبود، بنابراین اثر متقابل آن‌ها از مدل حذف شد:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + A_j + B_k + e_{ijkl} \qquad (۱)$$

که در این مدل، $\mu$: میانگین جامعه، $T_i$ اثر تیمار iام، $A_j$ اثر جنسیت jام (ماده یا نر)، $B_k$ اثر نوع تولد kام (تک‌قلو یا چندقلو) و e اثر خطا است.

فراسنجه‌های خونی میش‌ها و بره‌های آن‌ها به صورت داده‌های تکرار شده در واحد زمان و در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیهٔ آماری شدند که مدل آماری آن در ذیل (معادلهٔ ۲) نشان داده شده است:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{aijl} + e_{bijkl} \qquad (۲)$$

در این مدل $\mu$ اثر میانگین، $A_i$ اثر تیمار iام، $B_j$ اثر زمان خون‌گیری jام، $AB_{ij}$ اثر متقابل تیمار و زمان نمونه‌گیری، $e_{aijl}$ اثر تصادفی حیوان و $e_{bijkl}$ خطای باقیمانده هستند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح احتمال معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) انجام شد.

## نتایج و بحث

### فراسنجه‌های خونی میش‌ها

غلظت مس و سرولوپلاسمین سرم (جدول ۲) به‌طور معنی‌داری در میش‌های دریافت‌کنندهٔ قرص مس نسبت به شاهد بالاتر بود ($P<۰/۰۵$). در روز صفر آزمایش (۶۰ روز قبل از زایش) غلظت مس و سرولوپلاسمین سرم خون میش‌ها نسبت به روز ۱۰ و ۶۰ پس از زایش پائین‌تر بود ($P<۰/۰۵$)، اما بین روز ۶۰ پس از زایش و روز ۱۰ پس از زایش تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

غلظت مس سرم در نشخوارکنندگان در حالت طبیعی در دامنهٔ ۹ تا ۱۵ میکرومول در لیتر (۰/۵۵ تا ۰/۹۵ میلی‌گرم در لیتر) گزارش شده است (۳۳) به‌طوری‌که غلظتِ مس سرم در میش‌ها قبل از شروع آزمایش در دامنهٔ طبیعی قرار داشت. مطابق با نتایج تحقیق حاضر، چراغی مشعوف و همکاران گزارش کردند که افزودن ۸ میلی‌گرم مس به جیره میش‌های آبستن با جیرهٔ پایه حاوی ۷/۵۱ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشک در ۴۵ روز قبل از زایمان و ۳۰ روز پس از زایمان سبب افزایش غلظت مس پلاسما شد (۹). مشخص شده است که استفاده از ترکیبات خوراکی و تزریقی مس در گله‌های با کمبود مس در منطقه خوزستان، غلظت سرمی مس میش‌های آبستن را افزایش داد (۳۱).

همسو با نتایج حاضر، استفاده از ترکیبات خوراکی و تزریقی مس در میش‌های دچار کمبود مس، سبب افزایش غلظت سرولوپلاسمین سرم در خون آن‌ها شد (۳۱). افزودن ۱۴ میلی‌گرم پروتئینات مس به جیره بره‌های پرواری با جیرهٔ پایه حاوی ۷/۳۸ میلی‌گرم مس در هر کیلوگرم ماده خشک نیز غلظت سرولوپلاسمین سرم خون را افزایش داد (۳۲). همچنین محققین دیگری نیز (۱۳) با افزودن مس به صورت آلی و معدنی به جیرهٔ بره‌های پرواری افزایش در غلظت سرولوپلاسمین سرم خون را گزارش کردند. سرولوپلاسمین در پلاسما فعالیت فروکسیدازی دارد و سبب تسهیل انتقال آهن از طریق تشکیل Fe (III) ترانسفرین می‌گردد.

**جدول ۲**- اثر استفاده از قرص آهسته‌رهش مس بر غلظت‌های مس و سرلوپلاسمین سرم میش‌ها[1]

**Table 2**- The effect of slow-release bolus of copper on serum copper and ceruloplasmin concentrations of ewes[1]

| تیمار<br>Treatment | متابولیت‌های سرم<br>Serum metabolites | |
|---|---|---|
| | مس<br>Copper (mg/l) | سرولوپلاسمین<br>Ceruloplasmin (mg/dl) |
| شاهد<br>Control | 0.70[b] | 9.68[b] |
| قرص مس<br>Copper bolus | 0.83[a] | 11.80[a] |
| SEM | 0.03 | 0.40 |
| روز<br>Day | | |
| ۶۰ روز قبل از زایش<br>60 days before lambing | 0.63[b] | 9.38[b] |
| ۱۰ روز پس از زایش<br>10 days after lambing | 0.81[a] | 12.02[a] |
| ۶۰ روز پس از زایش<br>60 days after lambing | 0.83[a] | 11.45[a] |
| SEM | 0.04 | 0.40 |
| P-value | | |
| تیمار<br>Treatment | 0.01 | 0.03 |
| روز<br>Day | 0.02 | <0.01 |
| تیمار × روز<br>Treatment × Day | 0.20 | 0.09 |

[a,b] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P< 0.05$)

[a,b] **Means** in column with different superscripts differ significantly ($P<0.05$).

نقش مس در خون‌سازی از طریق سرولوپلاسمین انجام می‌گیرد، زیرا سرولوپلاسمین در جذب آهن از مخاط روده‌ای، برداشت آن از بافت‌ها و استفاده از آهن در سنتز هموگلوبین به جای بیوسنتز هِم نقش دارد (۳۳). همچنین سرولوپلاسمین باعث تسهیل اتصال آهن به پروتئین ذخیره‌ای فریتین می‌شود و همچنین ممکن است از طریق جمع‌آوری آهن آزاد و حذف رادیکال‌های آزاد در دفاع آنتی‌اکسیدانی نقش داشته باشد (۳۳).

## عملکرد رشد

نتایج مربوط به میانگین حداقل مربعات وزن تولد، وزن ازشیرگیری و افزایش وزن روزانه بره‌های متولد شده در جدول ۳ نشان داده شده است. میانگین حداقل مربعات وزن تولد تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت ($P>0/05$)، اما میانگین حداقل مربعات وزن ازشیرگیری و افزایش وزن روزانه در بره‌های متولد شده از مادران دریافت‌کنندهٔ قرص‌های آهسته‌رهش مس نسبت به بره‌های متولد شده از تیمار شاهد بیشتر بود ($P<0/05$). میانگین حداقل مربعات وزن تولد، وزن از شیرگیری و افزایش وزن روزانه تحت تأثیر اثر جنسیت و نوع زایش قرار نگرفتند.

همسو با نتایج تحقیق حاضر، افزودن ۱۰ میلی‌گرم مکمل مس به‌صورت سولفات مس در هر کیلوگرم ماده خشک به جیرهٔ پایه حاوی ۷/۳۸ میلی‌گرم مس در هر کیلوگرم ماده خشک، باعث بهبود افزایش وزن روزانه در بزهای کشمیری شد (۳۷). همچنین، افزودن ۱۹ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشک به صورت کلرید مس به جیرهٔ پایه حاوی ۴/۷۲ میلی‌گرم مس در هر کیلوگرم ماده خشک، باعث بهبود عملکرد بزهای کشمیری شد (۳۶).

جدول ۳- وزن تولد، وزن ازشیرگیری و افزایش وزن روزانه برههای متولد شده از مادران دریافتکنندهٔ قرص آهستهرهش مس

**Table 3-** Birth weight, weaning weight, and average daily gain in lambs born to mothers receiving slow-release bolus of copper.

| تیمار<br>Treatment | وزن تولد<br>Birth weight (Kg) | وزن از شیرگیری<br>Weaning weight (Kg) | افزایش وزن روزانه<br>Daily weight gain (Kg) |
|---|---|---|---|
| شاهد<br>Control | 5.31 | 23.2[b] | 0.20[b] |
| قرص مس<br>Copper bolus | 5.22 | 27.6[a] | 0.25[a] |
| SEM | 0.15 | 1.32 | 0.01 |
| جنسیت<br>Gender | | | |
| نر<br>Male | 5.25 | 26.0 | 0.23 |
| ماده<br>Female | 5.12 | 25.6 | 0.22 |
| SEM | 0.16 | 1.42 | 0.01 |
| نوع زایش<br>Type of birth | | | |
| تک قلو<br>Singleton | 5.21 | 26.1 | 0.23 |
| دوقلو<br>Twin | 4.90 | 24.1 | 0.21 |
| SEM | 0.20 | 1.72 | 0.01 |
| P-value | | | |
| Treatment | 0.10 | 0.03 | 0.02 |
| Gender | 0.63 | 0.74 | 0.69 |
| Type of Birth | 0.18 | 0.84 | 0.96 |

[a,b] وجود حروف متفاوت در هر ستون، نشاندهندهٔ اختلاف آماری معنیدار بین میانگینها در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد میباشد.

[a,b] Means in a column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

در پژوهشی افزودن ۱۰ میلیگرم مس در هر کیلوگرم ماده خشک به جیره برههای پرواری حاوی ۸/۲ میلیگرم مس در کیلوگرم ماده خشک اثر مطلوبی بر عملکرد آنها داشت (۱۴). در تحقیقی دیگر، افزودن ۳۰ میلیگرم سولفات مس به جیره غذایی گوسالههای پرواری با کمبود مس باعث بهبود افزایش وزن روزانه شد (۱۱). بر خلاف نتایج تحقیق حاضر، در پژوهشی افزودن ۸ میلیگرم مس به جیرهٔ غذایی مادر حاوی ۷/۵۱ میلیگرم مس در هر کیلوگرم ماده خشک، ۴۵ روز قبل از زایمان و ۳۰ روز پس از زایمان اثری بر عملکرد برهها در سن یک ماهگی نداشت (۹)، که ممکن است یکی از دلایل اختلاف نتایج تحقیق حا ضر با مطالعه فوق مربوط به زمان وزنک شی برههای متولد شده، اختلاف در غلظت مس جیره پایه یا آنتاگونیستهای مس جیرهای با شد. کمبود عنا صر کممصرف به ویژه روی و مس باعث تحریک کاتابولیسم پروتئین میشود و با ایجاد تفاوت در متابولیسم ا سیدنوکلئیک، بیو سنتز پروتئین را محدود می کند و در نتیجه باز سازی و رشد را تحت تأثیر قرار میدهد (۶). به هر حال کمبود مس میتواند عملکرد نتاج را از طریق کاهش شیر تولیدی توسط مادر و افزایش ضریب تبدیل غذایی تحت تاثیر قرار دهد (۳۳).

## فراسنجههای خونی برهها

نتایج مربوط به غلظت مس، روی، آهن و سرولوپلاسمین سرم خون برههای متولد شده از مادران دریافت کنندهٔ قرص آهستهرهش مس، در جدول ۴ ارائه شده ا ست. غلظت مس، آهن، سرولوپلا سمین سرم، در صد هماتوکریت، تعداد گلبولهای قرمز و غلظت هموگلوبین خون بهطور معنیداری در برههای متولد شده از مادران دریافتکنندهٔ قرص آهستهرهش مس نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (P<۰/۰۵). تعداد گلبولهای سفید برههای متولد شده از مادران دریافتکنندهٔ قرص آهستهرهش مس نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنیداری نداشت. غلظت مس، روی و سرولوپلاسمین سرم و درصد هماتوکریت، تعداد گلبولهای قرمز و غلظت هموگلوبین خون برههای متولد شده تحت تأثیر روزهای نمونهبرداری قرار نگرفتند، اما غلظت آهن سرم و تعداد گلبولهای سفید خون بهطور معنیداری در سن ۶۰ روزگی نسبت به سن ۱۰ روزگی بیشتر بود (P<۰/۰۵).

جدول ٤- مواد معدنی سرم و برخی فراسنجه‌های خونی برّه‌های متولد شده از مادران دریافت‌کنندهٔ قرص آهسته‌رهش مس.

**Table 4-** Serum minerals and some blood parameters in lambs born to mothers receiving slow-release bolus of copper

| تیمار<br>Treatment | مس<br>Copper (mg/l) | روی<br>Zinc (mg/l) | آهن<br>Iron (mg/l) | سرولوپلاسمین<br>Ceruloplasmin (mg/dl) | هماتوکریت<br>Hematocrit (%) | گلبول‌های سفید خون<br>White blood cells ($\times10^3/\mu l$) | گلبول‌های قرمز خون<br>Red blood cells ($\times10^6/\mu l$) | هموگلوبین<br>Hemoglobin (g/dl) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد<br>Control | 0.69[b] | 1.26 | 2.250[b] | 7.54[b] | 27.5[b] | 12.2 | 3.93[b] | 11.3[b] |
| قرص مس<br>Copper bolus | 0.10[a] | 1.17 | 2.65[a] | 11.77[a] | 32.1[a] | 13.0 | 4.61[a] | 12.1[a] |
| SEM | 0.03 | 0.08 | 0.13 | 0.48 | 1.26 | 0.83 | 0.15 | 0.22 |
| روز<br>Day | | | | | | | | |
| سن ۱۰ روزگی<br>10 days old | 0.93 | 1.12 | 2.03[b] | 10.3 | 29.5 | 10.6[b] | 4.10 | 11.4 |
| سن ۶۰ روزگی<br>60 days old | 0.81 | 1.27 | 2.78[a] | 9.62 | 29.7 | 14.25[a] | 4.36 | 11.9 |
| SEM | 0.03 | 0.08 | 0.14 | 0.49 | 1.26 | 0.83 | 0.15 | 0.22 |
| P-value | | | | | | | | |
| Treatment | <0.01 | 0.44 | 0.04 | <0.01 | <0.01 | 0.20 | <0.01 | 0.03 |
| Day | 0.40 | 0.37 | <0.01 | 0.98 | 0.73 | 0.01 | 0.17 | 0.29 |
| Treatment×Day | 0.22 | 0.98 | 0.62 | 0.37 | 0.39 | 0.16 | 0.91 | 0.06 |

[a,b] وجود حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهندهٔ اختلاف آماری معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

[a,b] Means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

مسو با نتایج تحقیق حاضر، در مطالعه‌ای افزودن ۸ میلی‌گرم مس به جیرهٔ میش‌های آبستن سبب افزایش معنی‌دار غلظت مس پلا سما در بره‌های متولد شده در سن ۲۰ روزگی شد (۹). مشخص شده است که اســـتفاده از ترکیبات خوراکی و تزریقی مس در گله دچار کمبود مس، غلظت سرمی مس در میش‌های آبستن را افزایش می‌دهد (۳۱). با افزودن ۱۰ میلی‌گرم مس به جیرهٔ غذایی بزهای کشـــمیری غلظت مس پلاسمای آن‌ها افزایش یافت (۳۷). در بررسی دیگری نیز افزودن ۱۵ میلی‌گرم مس به‌صـــورت مس–لیزین به جیره غذایی بره‌های پرواری حاوی ۵/۶ میلی‌گرم مس در ماده خشک جیره، افزایش غلظت مس پلاســـما گزارش شـــد (۱۵). افزودن ۱۰ میلی‌گرم مس به جیرهٔ غذایی گوساله‌های پرواری حاوی ۸/۲ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشک، سبب افزایش غلظت مس پلاسمای آن‌ها شد (۲۲). زمانی‌که غلظت مس علوفه های غالب چراگاه کمتر از ۳ میلی‌گرم در هر کیلوگرم ماده خشک باشد علائم کمبود مس در دام کاملاً مشهود شده و در غلظت ۳ تا ۵ میلی‌گرم مس در هر کیلوگرم ماده خشک حیوان را در معرض کمبود قرار داده و ســـطوح بالاتر از ۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم ماده خشک برای دام کافی بوده، مگر اینکه آنتاگونیست‌های تغذیه‌ای مس ســـبب کمبود ثانویهٔ مس شـــوند (۲۹). مهمترین آنتاگونیســـت‌های تغذیه‌ای مس، غلظت بالای مولیبدن، گوگرد و روی در جیرهٔ غذایی اســـت (۳۳). مولیبدن از طریق تشـــکیل تیومولیبدات مس، گوگرد از طریق تشـــکیل ســـولفید مس و روی از طریق تحریک ســـنتز پروتئین متالوتیونین در جذب مس اختلال ایجاد می‌کنند (۳۳). سطح قابل تحملِ گوگرد جیره‌ای در گوسفندهای دریافت‌کنندهٔ نسبت بالای کنســـانتره، ۰/۳ درصـــد ماده خشـــک جیره و در گوســـفندان دریافت‌کنندهٔ سطح بالای علوفه، ۰/۵ درصد ماده خشک جیره گزارش شده است (۲۵). گوگرد زیست‌فراهمی مس را از طریق تشکیل رسوب سولفید مس کاهش داده و از این طریق سبب کاهش سطح مس خون می‌شـود (۳۳). در پژوهش حاضـر پس از آنالیز جیرهٔ غذایی مشـخص شد که جیرهٔ پایه حاوی ۰/۵۳ درصد گوگرد است و ممکن است کمبود مس مشاهده شده مربوط به همین موضوع باشد. این اطلاعات نشان می‌دهد که در هنگام ارزیابی میزان مصرف مس در نشخوارکنندگان، در نظر گرفتن میزان گوگرد جیره بسیار حائز اهمیت است. در آزمایش حاضر، غلظت مس سرم خون بره‌های متولد شده از مادران گروه شاهد در مقایســـه با بره‌های متولد شـــده از مادران دریافت‌کننده قرص مس کمتر بود و ۳ رأس از آن‌ها، در روزهای اولیه پس از تولد با علائم فلجی به ویژه در پاهای عقبی، عدم تعادل و تلوتلو خوردن تلف شدند.

مطابق با نتایج حاضـــر، با افزودن ۸ میلی‌گرم مس به جیرهٔ میش‌های آبســـتن، تغییری در غلظت روی پلاســـمای بره‌های متولد شده مشاهده نشد (۹). همچنین، افزودن مس به جیرهٔ پایه حاوی ۸/۶ میلی‌گرم مس در هر کیلوگرم ماده خشـــک اثر معنی‌داری بر غلظت روی پلاسما بره‌های پرواری نداشت (۴). در بررسی دیگری نیز افزودن ۱۵ میلی‌گرم مس به‌صـــورت مس–لیزین به جیرهٔ بره‌های پرواری اثر معنی‌داری بر غلظت روی پلاســـما نداشـــت (۱۵). در تحقیقات دیگری نیز افزودن مس به جیره پایه، تغییر معنی‌داری در غلظت روی پلا سما ایجاد نکرد (۱۰و۱۳). غلظت بالای مس در جیره غذایی سبب تحریک سنتز متالوتیونین شده و این پروتئین در سلول‌های انتروسیت روده به علت میل ترکیبی شدید به روی و مس مانع جذب آن‌ها می‌شود (۳۳).

همسو با نتایج تحقیق حاضر، مشخص گردید که موش‌های تازه متولد شده و دچار کمبود مس، از غلظت آهن پایین‌تری در پلا سمای خود برخوردار بودند (۲۸) که مکانیســـم‌های مختلفی در این زمینه گزارش شده است. کمبود مس می‌تواند عملکرد آنزیم فروا کسیداز را کاهش داده و انتقال آهن از طریق جفت به جنین را محدود کند (۵). در موش‌های متولد شـــده از مادران دچار کمبود مس، انتقال آهن در سلول‌های انتروسیت کاهش یافته و این امر سبب کاهش غلظت آهن پلا سما می شود (۲۸). کاهش فعالیت سرولوپلا سمین در حیوانات با کمبود مس، احتمالاً توانایی حمل و نقل آهن از ماکروفاژها و ذخایر کبدی را مختل کرده، و از این طریق سبب کاهش غلظت آهن پلاسما می‌شود (۲۸).

در تأیید نتایج حاضر، استفاده از ترکیبات خوراکی و تزریقی مس در میش‌های دچار کمبود مس، سبب افزایش غلظت سرولوپلا سمین ســـرم خون شـــد (۳۱). افزودن ۱۴ میلی‌گرم پروتئینات مس به جیرهٔ بره‌های پرواری (جیره پایه حاوی ۷/۳۸ میلی‌گرم مس در هر کیلوگرم ماده خشک) سبب افزایش غلظت سرولوپلاسمین سرم خون شد (۳۲).

همسو با نتایج تحقیق حاضر، افزودن ۲۰ میلی‌گرم مس به جیرهٔ بره‌های پرواری (حاوی ۸/۶ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشـــک) ســـبب افزایش درصـــد هماتوکریت شـــد (۷). در گزارشـــی، درصـــد هماتوکریت در میش های دچار کمبود مس، کاهش یافت (۲۳). همچنین کمبود مس در موش سـبب کاهش درصـد هماتوکریت شـد (۲۱) که این محققین دلیل کاهش درصـــد هماتوکریت را مرتبط با کاهش تعداد گلبول های قرمز خون گزارش کردند. ممکن اســـت افزایش درصـد هماتوکریت در تحقیق حاضـر نیز انعکاسـی از افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون باشد.

همســـو با نتایج تحقیق حاضـــر، افزودن ۸ میلی‌گرم مس به جیرهٔ میش‌های آبســـتن، باعث افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون بره‌های متولد شده از آن‌ها شد (۹). در تحقیق دیگری نیز افزودن ۲۰ میلی‌گرم مس به جیرهٔ بره های پرواری (حاوی ۸/۶ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشـــک)، باعث افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون گردید (۷). عنوان شـــده اســـت که کمبود مس در موش ســـبب کاهش تعداد گلبول‌های قرمز می شود (۲۱). مس موجود در سرولوپلا سمین، برای جذب آهن از کبد و انتقال آن به مغز اســـتخوان ضـــروری اســـت. در صورت کمبود مس، آهن در کبد تجمع می‌یابد و آهن در گردش خون و مغز اســـتخوان کاهش می‌یابد، در نتیجه کمبود مس باعث کاهش

کارآیی خون‌سازی می‌شود (۱۲).

همسو با نتایج تحقیق حاضر، غلظت هموگلوبین خون بره‌های متولد شده از میش‌های آبستنی که روزانه ۸ میلی‌گرم مس دریافت می‌کردند، افزایش یافت (۹). همچنین، افزودن ۲۰ میلی‌گرم مسِ آلی و معدنی به جیرهٔ بره‌های پرواری، سبب افزایش غلظت هموگلوبین خون شد (۷). افزایش غلظت گلبول‌های قرمز و به‌دنبال آن هموگلوبین در بره‌های متولد شده از مادران دریافت کنندهٔ قرص آهسته‌رهش مس، می‌تواند مرتبط با نقش آنتی‌اکسیدانی مس به‌واسطهٔ آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در حفاظت از گلبول‌های قرمز و هموگلوبین خون باشد (۳۳).

## نتیجه گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که خوراندن قرص آهسته‌رهش مس به مادر در اواخر دورهٔ آبستنی سبب بهبود وضعیت مس در مادر و افزایش عملکرد بره‌های آن‌ها شد.

## سپاسگزاری

از پرسنل محترم آزمایشگاه مرکزی دانشگاه لرستان به‌خاطر همکاری‌های لازم در خصوص اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی تحقیق حاضر تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

## منابع


1. Abdelrahman, M. M., R. S. Aljumaah, and R. U. Khan. 2017. Effects of prepartum sustained-release trace elements ruminal bolus on performance, colustrum composition and blood metabolites in Najdi ewes. Environmental Science and Pollution Research, 24: 9675-9680.
2. Abdollahi, E., H. Kohram, M. Shahir, and M. Nemati. 2015. The influence of a slow-release multi-trace element ruminal bolus on trace element status, number of ovarian follicles and pregnancy outcomes in synchronized Afshari ewes. Iranian Journal of Veterinary Research, 16: 63-68.
3. Aliarabi, H., A. Fadayifar, R. Alimohamady, and A. H. Dezfoulian. 2018. The effect of maternal supplementation of Zinc, Selenium, and Cobalt as slow-release ruminal bolus in late pregnancy on some blood metabolites and performance of ewes and their lambs. Biological Trace Element Research, 187: 403-410.
4. Aliarabi, H., M. Tabatabaei, A. Fadayifar, S. Torkashvand, A. Bahari, P. Zamani, D. Alipour, and A. H. Dezfoulian. 2012. Effects of supplementing organic zinc, with or without copper, on performance, plasma minerals and some enzymes activities in Mehraban male lambs. Journal of Animal Science Research, 21: 111-122. (In Persian).
5. Andersen, H. S., L. Gambling, G. Holtrop, and H. J. McArdle. 2007. Effect of dietary copper deficiency on iron metabolism in the pregnant rat. British Journal of Nutrition, 97: 239-246.
6. Ashour, M. P., and A. P. R. Saber. 2012. Assessment of serum values of copper in ewes. Annals of Biological Research, 3: 1645-1649.
7. Bahari, A., H. Aliarabi, M. M. Tabatabaei, A. H. Dezfoulian, J. Rashidi, P. Zamani, D. Alipour, A. Sadeghinasab, Z. Bakhtiari and A. Fadayifar. 2012. Influence of different levels and sources of copper supplementation on hematology, ceruloplasmin, and plasma concentration of copper, zinc and iron in Mehraban male lambs. Iranian Journal of Animal Science, 43: 161-171. (In Persian).
8. Bastian, T. W., J. R. Prohaska, M. K. Georgieff and G. W. Anderson. 2010. Perinatal iron and copper deficiencies alter neonatal rat circulating and brain thyroid hormone concentrations. Endocrinology, 151: 4055-4065.
9. Cheraghi Mashoof, L., H. Aliarabi, A. Farahavar, P. Zamani and R. Alimohamady. 2018. The effect of adding zinc and copper to diet of late-pregnant ewes on blood and milk minerals profile, lambs growth performance and some blood parameters. Iranian Journal of Animal Science, 49: 267-284. (In Persian).
10. Ergaz, Z., D. Shoshani-Dror, C. Guillemin, M. Neeman-azulay, L. Fudim, S. Weksler-Zangen, C. J. Stodgell, R. K. Miller and A. Ornoy. 2012. The effect of copper deficiency on fetal growth and liver anti-oxidant capacity in the Cohen diabetic rat model. Toxicology and Applied Pharmacology, 265: 209-220.
11. Fagari-Nobijari, H., H. Amanlou and M. Dehghan-Banadaky. 2013. The use of copper supplementation to improve growth performance and claw health in young Holstein bulls. Journal of Agricultural Science and Technology, 15: 77-86.
12. Halfdanarson, T. R., N. Kumar, C. Y. Li, R. L. Phyliky and W. J. Hogan. 2008. Hematological manifestations of copper deficiency: a retrospective review. European Journal of Haematology, 80: 523-531.
13. Hidiroglou, M. and J. Knipfel. 1981. Maternal-fetal relationships of copper, manganese, and sulfur in ruminants. A review. Journal of Dairy Science, 64: 1637-1647.

14. Hosainpour, N. and M. A. Norouzian and A. Afzalzadeh. 2014. The effect of different sources of copper supplement on gas production and nutrient digestibility parameters in Zandi sheep. Journal of Animal Production. 16: 93-101. (In Persian).
15. Hozhabri, F., M. Darabi and M. M. Moeini. 2018. Assessing the various copper supplements effect on performance, some blood parameters and humoral immune response of male Sanjabi lambs. Journal of Ruminant Research, 6: 101-116. (In Persian).
16. Jaiser, S. and G. Winston. 2008. Copper deficiency myelopathy and subacute combined degeneration of the cord: why is the phenotype so similar?. Medical Hypotheses, 71: 229-236.
17. Kachuee, R., M. Moeini, and M. Souri. 2014. Effects of organic and inorganic selenium supplementation during late pregnancy on colostrum and serum Se status, performance and passive immunity in Merghoz goats. Animal Production Science, 54: 1016-1022.
18. Kendall, N., A. Mackenzie and S. Telfer. 2001. Effect of a copper, cobalt and selenium soluble glass bolus given to grazing sheep. Livestock Science, 68: 31-39.
19. Kendall, N., A. Mackenzie and S. Telfer. 2012. The trace element and humoral immune response of lambs administered a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus. Livestock Science, 148: 81-86.
20. Kendall, N., S. McMullen, A. Green and R. Rodway. 2000. The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on trace element status and semen quality of ram lambs. Animal Reproduction Science, 62: 277-283.
21. Matak, P., S. Zumerle, M. Mastrogiannaki, S. El Balkhi, S. Delga, J. R. Mathieu, F. Canonne-Hergaux, J. Poupon, P. A. Sharp and S. Vaulont. 2013. Copper deficiency leads to anemia, duodenal hypoxia, upregulation of $HIF_2$-α and altered expression of iron absorption genes in mice. PLoS One, 8: e59538.
22. McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D.Greenhalgh, C. A. Morgan, L. A. Sinclair and R. G. Wilkinson. 2011. Animal Nutrition. 7th edition. England UK.
23. Naji, H. A. 2017. The effect of zinc and copper deficiency on hematological parameters, oxidative stress and antioxidants levels in the sheep. Basrah Journal of Veterinary Research, 16: 344-355.
24. Nouri, M. and A. Rasooli and B. Mohammadian. 2005. Enzootic ataxia in lambs. Indian Veterinary Journal 82: 1007-1008.
25. NRC. 2005. Mineral tolerance of animals. National Academies Press. 560p.
26. NRC. 2007. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids. National Academy of Science, Washintgton, DC. 347p.
27. Phythian, C. J., D. Hughes, E. Michalopoulou, P. J. Cripps, and J. S. Duncan. 2012. Reliability of body condition scoring of sheep for cross-farm assessments. Small Ruminant Research, 104: 156-162.
28. Pyatskowit, J. W. and J. R. Prohaska. 2008. Multiple mechanisms account for lower plasma iron in young copper deficient rats. Biometals, 21: 343.
29. Radostits, O. M., C. Gay, K. W. Hinchcliff and P. D. Constable. 2007. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Veterinary Medicine, 10: 2045-2050.
30. Rasooli, A. and M. Nouri and M. Razi-Jalali. 2010. Influence of antagonistic minerals in soil and pastures on the blood and liver copper in goats in Khuzestan province, Iran. Iranian Journal of Veterinary Research, 11: 46-50. (In Persian).
31. Rasooli, A., M. Nouri, M. R. Haji-Hajikolaei and A. Shahriari. 2011. A comparison of the effect of oral and injectable copper preparations on serum copper status in sheep . Iranian Journal of Veterinary Research, 66: 343-348. (In Persian).
32. Senthilkumar, P., D. Nagalakshmi, Y. R. Reddy and K. Sudhakar. 2009. Effect of different level and source of copper supplementation on immune response and copper dependent enzyme activity in lambs. Tropical Animal Health and Production, 41: 645-653.
33. Suttle, N. F. 2010. Mineral nutrition of livestock. Cabi. 579 p.
34. Yang, W., J. Wang, L. Liu, X. Zhu, X. Wang, Z. Liu, Z. Wang, L. Yang and G. Liu. 2011. Effect of high dietary copper on somatostatin and growth hormone-releasing hormone levels in the hypothalami of growing pigs. Biological Trace Element Research, 143: 893-900.
35. Zarbalizadeh-Saed, A., J. Seifdavati, H. Abdi-Benemar, A. Z. Salem, A. Barbabosa-Pliego, L. M. Camacho-Diaz, A. Fadayifar and R. Seyed-Sharifi. 2019. Effect of slow-release pellets of selenium and iodine on performance and some blood mtabolites of pregnant moghani ewes and their lambs. Biological Trace Element Research, 195: 461-471.

36. Zhang ,W., R. Wang, D. O. Kleemann, D. Lu, X. Zhu, C. Zhang and Z. Jia. 2008. Effects of dietary copper on nutrient digestibility, growth performance and plasma copper status in cashmere goats. Small Ruminant Research, 74: 188-193.
37. Zhang, W., Y. S. Zhang, X. P. Zhu, R. L. Wang and Z. H. Jia. 2011. Effect of different levels of copper and molybdenum supplements on performance, nutrient digestibility, and follicle characteristics in cashmere goats. Biological trace element research, 143: 1470-1479.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 193-205

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۰۵-۱۹۳

# The effect of Slow-Release Bolus of Copper on Performance and Some Blood Metabolites of Lori-Bakhtiari Pregnant Ewes and Their Lambs

**Parvin Nasr Chaleshtori[1], Amir Fadayifar[2], Ayob Azizi[2] and Arash Azarfar[3]**

Submitted: 25-03-2020
Accepted: 19-09-2020

**Introduction** The provision of nutrients during the late gestation not only affects maternal status and reproductive performance, but also affects prenatal and postnatal litter growth and offspring's health. Although trace elements are needed by the body in small amounts, they are essential nutrients for several metabolic functions such as growth, development, reproduction, and immunity. Copper (Cu) is often one of the most limiting trace elements for the fetus and neonate for normal development and copper play a major etiologic role in decrease of fetal growth and development. Deficiency of copper impairs fetal growth and causes serious consequences and can cause death. When intakes of Cu are deficient, maternal transfer of Cu to the fetus is insufficient for normal development, and abnormalities to the central nervous system, skeleton, and metabolism result. In ruminants, newborn animals are dependent on their dams for transferring nutrients via the placenta and mammary glands. To our knowledge, little information is available on the effects of maternal supplementation of copper via intra-ruminal administration of slow-release bolus at the late gestation on the copper status of ewes and their lambs. Because the slow-release ruminal bolus cannot be used in the newborn lambs until weaning, this study aimed to determine the effects of maternal supplementation of copper via intra-ruminal administration of slow-release boluses at the late gestation (8 weeks prepartum) on performance and some blood metabolites of ewes and their lambs until weaning.

**Materials and Methods** To evaluate the performance and changes in some blood parameters of lambs born from ewes receiving slow-release boluses of copper, 80 Lori-Bakhtiari ewes (The fourth pregnancy with a body condition score 3 to 3.5) were divided into two groups of 40 heads each in a completely randomized design. Treatments were 1) control ewes and 2) ewes received slow-release boluses of copper, 60 days prepartum. After parturition, birth weight, sex, and the birth status of lambs (singlet or twin) were recorded. Lambs were weighed at birth and weaning at age 90 days. On the first day, days 10 and 60 postpartum, blood samples were taken from the ewes, while the blood samples of their lambs were taken at age 10 and 60 days. Serum samples were used to determine copper and ceruloplasmin concentrations in the ewes and their lambs, while iron, zinc, hematocrit, red blood and white cells, and hemoglobin were only determined in the born lambs.

**Results and Discussion** The serum concentration of copper in the ewes were within the normal physiological range of 0.55 to 0.95 mg/l. Serum copper and ceruloplasmin concentrations of ewes at the first day of experiment were lower compared to days 10 and 60 postpartum ($P<0.05$), but similar between days 60 and 10 postpartum ($P>0.05$). Lambs born from ewes receiving slow-release bolus of copper had higher weaning weight, average daily weight gain, copper and ceruloplasmin concentrations, hematocrit percentage, red and white blood cell counts, and hemoglobin concentration compared to those born from control ewes ($P<0.05$). The serum concentration of ceruloplasmin was higher in lambs born from ewes receiving two boluses than those born from ewes receiving only one bolus ($P<0.05$). Ceruloplasmin concentration is also a reliable indicator of copper deficiency as it carries between 60-95 percent of serum copper, and changes in serum copper concentration usually parallel the ceruloplasmin concentration in the blood. Lambs born from ewes in the control group had lower serum copper concentrations, and 3 lambs in this group showed the symptoms of paralysis, especially in their hind legs,

1- MSc student, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Islamic Republic of Iran
2- Assistant Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Islamic Republic of Iran
3- Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Islamic Republic of Iran
(*- Corresponding Author Email: Fadayifar.a@lu.ac.ir)
DOI: 10.22067/ijasr.v13i2.86149

imbalances, dog sitting, and lost appetite. Adequate maternal intake of Cu is essential for development of the central nervous system (CNS) of the embryonic lamb. Consequences of Cu deficiency during intrauterine life may include gross brain lesions, with affected lambs born dead or dying shortly after birth.

**Conclusion** Overall, serum copper concentrations of ewes were in the normal range, but lambs born from ewes received slow-release copper bolus had greater weaning weight, average daily weight gain, serum copper and ceruloplasmin concentrations, hematocrit percentage, hemoglobin concentration, and red blood cell count compared to those born from control ewes. In conclusion, the results of the present study showed that lambs were benefited from copper supplementation of their dams via intra-ruminal administration of slow-release boluse of copper in the late gestation.

**Keywords:** Ceruloplasmin, Copper, Lamb, Sheep, Sulfur.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۲۰-۲۰۷

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 207-220

مقاله علمی- پژوهشی

# بررسی ارزش تغذیه‌ای کاه گندم و سرشاخه نیشکر عمل‌آوری شده توسط باکتری‌های تجزیه کننده‌ی لیگنین و لیگنوسلولز جدا شده از روده لارو کرم خراط (*Zeuzera pyrina* L.)

ایوب عزیزی[1*]، جهانشیر شاکرمی[2]، فهیمه دهقانی‌خواه[3]، افروز شریفی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۲۵

## چکیده

هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی ارزش تغذیه‌ای کاه گندم و سرشاخه نیشکر عمل‌آوری شده توسط باکتری‌های تجزیه کننده لیگنین و لیگنوسلولز جدا شده از دستگاه گوارش لارو کرم خراط (*Zeuzera pyrina* L.) بود. بدین منظور، ابتدا بر اساس آنالیز توالی 16S rDNA، سه ایزوله باکتریایی با قابلیت تجزیه‌کنندگی لیگنین و لیگنو سلولز شامل انتروباکتر کلوا سه (*Enterobacter cloacae*)، ا ستافیلوکوکوس ا سکویری (*Staphylococcus sciuri*) و گونه بروی‌باکتریوم (*Brevibacterium* sp.) از دستگاه گوارش این کرم جداسازی شد. سپس هر کدام از دو سوبسترای کاه گندم و سرشاخه نیشکر به‌طور مجزا توسط هر کدام از ایزوله‌های مذکور یا مخلوط هر سه آن‌ها (۴ تیمار آزمایشی برای هر سوبسترا) فرآوری شدند. در هر دو سوبسترا، بیشترین میزان ناپدید شدن ماده خشک، پروتئین خام، گوارش‌پذیری ماده خشک و انرژی قابل متابولیسم در تیمار حاوی مخلوط باکتریایی روده‌ی کرم خراط و کمترین در تیمار شاهد به دست آمد. بیشترین حجم و پتانسیل تولید گاز (b) پس از عمل‌آوری سوبستراها توسط مخلوط باکتریایی روده‌ی کرم خراط در مقایسه با تیمار شاهد به دست آمد. در هر دو سوبسترا، بیشترین غلظت کل اسیدهای چرب فرار شکمبه، استات، نسبت استات به پروپیونات و غلظت آمونیاک توسط انکوباسیون تیمار تلقیح شده با مخلوط باکتریایی در مقایسه با تیمار شاهد به دست آمد. در کل، نتایج این پژوهش نشان داد که عمل‌آوری کاه گندم و سرشاخه نیشکر توسط باکتری‌های مجزای روده‌ی کرم خراط، به خصوص مخلوط آنها سبب بهبود ارزش غذایی پسماندهای مذکور از طریق افزایش قابلیت هضم ماده خشک و غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه جهت استفاده به‌عنوان خوراک دام شد.

**واژه‌های کلیدی:** ارزش تغذیه‌ای، تولید گاز، کرم خراط، لیگنوسلولز، نشخوارکنندگان

## مقدمه

شرایط اقلیمی نامساعد موجب کمبود خوراک دام در بسیاری از نقاط جهان شده است. در راستای جبران کمبودهای مزبور، عمل‌آوری و استفاده‌ی بهینه از مواد لیگنو سلولزی به‌عنوان خوراک دام ضرورت دارد (۱۴ و ۱۵). سالانه حجم زیادی از مواد لیگنو سلولزی در سراسر جهان تولید می‌گردد. بخش زیادی از این مواد شامل کاه غلات و بقایای زراعی است که به‌عنوان منابع عمده خوراک دام در بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما ارزش غذایی این مواد خوراکی بسیار کم است (۱ و ۲۳). مقادیر پروتئین خام، عناصر معدنی و انرژی قابل متابولیسم مواد مذکور اندک است و خوشخوراکی کمی نیز دارند. این در حالی است که پتانسیل تولید انرژی نسبتاً زیادی دارند، زیرا عمدتاً از کربوهیدرات‌های بالقوه انرژی‌زا تشکیل شده‌اند. بنابراین، کاربرد روش‌های فراوری مناسب با هدف افزایش بازده استفاده از محتوای کربوهیدراتی آن‌ها سبب افزایش ارزش غذایی آن‌ها برای نشخوارکنندگان خواهد گردید. از جمله این

۱- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان
۲- استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان
۳- دانشجوی دکتری گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان
۴- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان (اهواز)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
(*- نویسنده مسئول: Email: azizi.ay@lu.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.83479

روش‌ها، می‌توان روش‌های فیزیکی، شیمیایی، فیزیکوشیمیایی، اکسیداسیون آبکافت و زیستی را نام برد (۷).

روش‌های فرآوری زیستی به کار رفته تاکنون برای تجزیه لیگنین نتایج متفاوتی در پی داشته‌اند (۱). مشخص شده است که روش فرآوری زیستی در مقایسه با دیگر روش‌ها ارزش غذایی مواد لیگنوسلولزی را به میزان بیشتری افزایش داده، سبب آلودگی کمتری برای دام، انسان و محیط زیست شده و در نهایت قیمت تمام شده آن‌ها ارزانتر خواهد بود (۷). در کل، سه دسته از موجودات شامل قارچ‌های پوساننده، بعضی از میکروارگانیسم‌های موجود در خاک و آب و برخی حشرات قادر به تجزیه بیولوژیکی لیگنین هستند (۸ و ۱۶). قارچ‌ها، تک‌یاخته‌ها و باکتری‌ها با ترشح آنزیم‌های تجزیه کننده‌ی دیواره سلولی امکان استفاده از مواد خشبی برای نشخوارکنندگان و نیز بعضی از گروه‌های حشرات را فراهم می‌کنند. حشرات چوب‌خوار با کمک آنزیم‌های تولیدی توسط میکروب‌های روده‌ای خود قادر به تجزیه‌ی مواد لیگنوسلولزی هستند. میکروارگانیسم‌های مذکور پروتئین‌ها و آنزیم‌هایی تولید می‌کنند که قادر به جدا کردن لیگنین از لیگنوسلولز بوده و به این ترتیب سلولز و همی‌سلولز را برای تجزیه شدن و ایجاد انرژی بیشتر در دسترس میکروب‌های شکمبه قرار می‌دهند (۳۳). تاکنون پژوهش‌های اندکی در باره جداسازی باکتری‌های تجزیه کننده‌ی لیگنین و لیگنوسلولز از روده‌ی حشرات چوب‌خوار صورت گرفته که بیشتر مرتبط با باکتری‌های روده موریانه‌های مختلف بوده است. برجی و همکاران (۱۳۸۲) در مطالعه‌ای بقایای زراعی را توسط سه باکتری تجزیه کننده‌ی لیگنین، جدا شده از دستگاه گوارش موریانه‌ها، فرآوری نموده و بهبود ارزش تغذیه‌ای بقایای مذکور را گزارش کردند. اخیراً در پژوهشی سه باکتری تجزیه کننده‌ی لیگنوسلولز و لیگنین شامل باسیلوس لیپنیفورمیس، آکروباکتریوم اینترمدیوم و میکروباکتریوم پالادیکولا از روده موریانه‌ها جداسازی و به روش مولکولی شناسایی شدند (۷). ایزوله‌های مذکور تأثیر اندکی بر کاهش میزان لیگنین کاه گندم و سرشاخه خرما داشتند، اما سبب بهبود قابلیت هضم مواد مغذی مواد لیگنوسلولزی مذکور شدند. ذکر این نکته نیز ضروری است که در عمده تحقیقات صورت گرفته در گذشته اثر ایزوله‌های باکتریایی به‌طور مجزا بر تجزیه لیگنوسلولز و لیگنین مورد بررسی قرار گرفته است (۷ و ۸)، این در حالی است که تجزیه مواد لیگنوسلولزی نیازمند مجموعه کاملی از آنزیم‌های سلولولایتیک و لیگنولایتیک می‌باشد که در تحقیق حاضر اثر تجزیه‌ی لیگنوسلولز توسط مخلوطی از باکتری‌های جداسازی شده نیز مورد بررسی قرار گرفت.

در ایران، کرم خراط (*Zeuzera pyrina* L.) یکی از آفات مهم بسیاری از گیاهان است. لاروان حشره چوب‌خوار بوده و به شاخه و تنه‌های بیش از ۱۵۰ گونه‌ی درختی و بوته‌ای حمله می‌کنند (۳). تاکنون قارچ‌های سفید و قهوه‌ای پوساننده به عنوان اصلی‌ترین میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده‌ی لیگنین معرفی شده‌اند و در زمینه‌ی استفاده از باکتری‌ها تحقیقات کمی صورت گرفته و آنچه که انجام شده نیز در مورد باکتری‌هایی بوده که از محیط (مواد در حال پوسیدگی) جدا شده‌اند. در رابطه با باکتری‌های استخراج شده از دستگاه گوارش حشرات و به‌ویژه کرم خراط تحقیقات بسیار ناچیز می‌باشد. اخیراً در پژوهشی با بررسی میکروفلور روده‌ای ۳۰ گونه مختلف این حشره، مشخص شد که انتروباکتریاسه (*Enterobacteriaceae*)، باسیلاسه (*Bacillaceae*) و سودوموناسه (*Pseudomonadaceae*) بیشترین گونه‌ها و سودوموناس (*Pseudomonas*)، باسیلوس (*Bacillus*)، استافیلوکوکوس (*Staphylococcus*)، انتروباکتر (*Enterobacter*) و انتروکوکوس‌ها (*Enterococcus*) بیشترین جنس‌ها بودند (۳۶). با توجه مطالب فوق‌الذکر، هدف از انجام پژوهش حاضر جداسازی و شناسایی باکتری‌های تجزیه کننده‌ی لیگنین و لیگنوسلولز از دستگاه گوارش لارو کرم خراط و بررسی اثر آن‌ها بر فراسنجه‌های تولید گاز و تخمیر برون‌تنی کاه گندم و سرشاخه نیشکر بود.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری حشرات

پژوهش حاضر طی سال‌های ۹۸-۱۳۹۷ در آزمایشگاه تغذیه دام تکمیلی، آزمایشگاه حشره‌شناسی و ایستگاه دامپروری دانشگاه لرستان صورت گرفت. تعداد مورد نیاز از لاروهای سن سوم کرم‌های خراط چوبخوار از سرشاخه‌های آلوده باغات گردوی شهرستان سامان واقع در ۲۲ کیلومتری شمال شرقی شهرکرد جمع‌آوری شد. لارو سن سوم این حشره خسارت‌زایی زیادی دارد و دسترسی به آن نسبت به لاروهای سایر سنین آسانتر می‌باشد، زیرا بیشتر در بخش‌های سطحی و سر شاخه گیاهان و درختان وجود دارد. سپس، تشخیص و شناسایی آنها توسط متخصصان حشره‌شناسی و روش‌های موجود انجام شد. در هر مرحله جداسازی باکتری، تعداد کافی از لاروهای کرم خراط به آزمایشگاه منتقل، و دستگاه گوارش آنها جداسازی شد.

### جداسازی و شناسایی باکتریهای تجزیه کننده لیگنین و لیگنوسلولز

به‌منظور جداسازی باکتری‌ها، از مخلوط کاملاً له شده و هموژنیزه‌ی روده‌ی کامل لارو کرم خراط در زیر میکروسکوپ نوری استفاده شد. پس از جدا کردن روده کامل از بدن، آن‌ها توسط یک لوپ استریل در محیط کشت محلول نمکهای پایه ( Sterile Basal Media; SBM) کاملاً له و مخلوط می‌شدند. در تمام آزمایش‌های مربوط به جداسازی ایزوله‌ها از محلول M9 (Media 9)، SBM یا

TB (Terrific Broth) به عنوان محلول پایه که دارای املاح معدنی هستند، استفاده شد (۱۶). در این تحقیق از روش انتخاب برای جداسازی باکتری‌های تجزیه کننده‌ی مواد لیگنوسلولزی استفاده شد (۸). منظور از روش انتخاب کشت محتوای روده روی محیط کشت خاصی بود که فقط باکتری‌های با قابلیت مورد نظر امکان رشد داشته باشند. مخلوط هموژنیزه‌ی روده ابتدا در آون با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت مایع SBM حاوی نمک‌های شیمیایی همراه با لیگنین کرافت به عنوان تنها منبع کربن و انرژی کشت داده شدند (۷). سپس، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محیط‌های کشت مایع حاوی باکتری برداشته، و بر روی محیط‌های کشت جامد مشابه اما حاوی آگار گسترش داده شد. محیط‌های کشت جامد تلقیح شده به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. کلنی‌های رشد یافته مجدداً جداسازی شد و بر روی محیط های کشت جامد استریل حاوی مواد لیگنینی و لیگنوسلولزی مورد نظر (شامل ۳ ماده لیگنوسلولزی کاه گندم، سرشاخه نیشکر و تراشه چوب و لیگنین‌های حاصل از آن‌ها) به‌عنوان منبع کربن و انرژی کشت داده شدند. ایزوله‌هایی که به خوبی رشد کردند به‌عنوان گونه‌های جداسازی شده انتخابی در نظر گرفته شدند. پس از حصول اطمینان از خلوص ایزوله‌های نهایی بر اساس چندین بار کشت متوالی آن‌ها، اقدام به استخراج ژنوم گردید (۴). از پرایمرهای عمومی ارائه شده در جدول ۱ جهت تکثیر ژنوم باکتری‌ها استفاده شد (۱۸). مواد شیمیایی مورد استفاده برای انجام PCR شامل یک مخلوط نهایی ۲۵ میکرولیتری بود که محتوای آن شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR با غلظت ۱X، ۰/۴ میکرولیتر پرایمر رفت و برگشت هر کدام با غلظت ۱۰ پیکومول در لیتر، ۰/۵ میکرولیتر مخلوط نوکلئوتیدی با غلظت ۰/۲ میلی مولار، ۱/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم ۳ میلی مولار، ۰/۳ میکرولیتر آنزیم تگ پلیمراز، ۲ میکرولیتر ژنوم و ۱۷/۴ میکرولیتر آب miliQ بود.

جدول ۱- توالی پرایمرهای استفاده شده برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

**Table 1-** Primer sequences used for conducting polymerase chain reaction (PCR)

| | | |
|---|---|---|
| 16sF | 20 bases | 5′ AGAGTTTGATCCTGGCTCAG |
| 16sR | 20 bases | 5′ACGGCTACCTTGTTACGACT 3′ |

برنامه دمایی تنظیم شده برای واکنش PCR در جدول ۲ ارائه شده است (۳۷). از محصول PCR نهایی حاصل شده برای تشخیص باکتریهای نهایی بر اساس روش توالی‌یابی ژن 16S rDNA استفاده شد و نمونه‌ها به شرکت بیوتکنولوژی بایونیر کره جنوبی (Bioneer Biotechnology Company, Seoul, South Korea) ارسال شدند.

**جدول ۲**- برنامه دمایی تنظیم شده برای واکنش PCR

**Table 2-** Thermal program used for polymerase chain reaction (PCR)

| تعداد سیکل<br>Cycle number | مرحله واکنش<br>Reaction step | زمان<br>Time (s) | دما<br>Temprature (°C) |
|---|---|---|---|
| ۱ سیکل<br>1 cycle | دناتوره شدن اولیه<br>Initial denaturation | 300 | 95 |
| ۴۰ سیکل<br>40 cycles | دناتوره شدن<br>Denaturation | 30 | 94 |
| | اتصال<br>Annealing | 30 | 62 |
| | گسترش<br>Extension | 120 | 72 |
| ۱ سیکل<br>1 cycle | گسترش نهایی<br>Final extension | 600 | 72 |

## عمل‌آوری لیگنوسلولز کاه گندم و سرشاخه نیشکر با ایزوله‌های جدا شده

از هر سه ایزوله جداسازی شده یا مخلوط هر سه آن‌ها برای فرآوری کاه گندم و سرشاخه نیشکر در محیط کشت مایع M9 استفاده گردید. محتوای ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و لیگنین در کاه گندم اولیه به ترتیب ۹۵/۵، ۹۰/۲، ۳/۸۷، ۷۱/۵ و ۸/۱۵ درصد و ترکیبات مذکور در سرشاخه نیشکر به ترتیب ۳۶/۸، ۹۱/۸، ۵/۱۲، ۶۸/۱ و ۱۲/۵ درصد بود. برای هر سویه سترا تعداد ۸ ارلن مایر ۱ لیتری (۴ تیمار آزمایشی شامل ۱- فرآوری با انتروباکتر کلواسه، ۲- استافیلوکوکوس اسکویری، ۳- جنس بروی باکتریوم و ۴- مخلوط هر سه ایزوله، هر تیمار در ۲ تکرار) در نظر گرفته شد. بدین منظور، به داخل هر ارلن مایر میزان ۵۰۰

میلی‌لیتر محیط کشت مایع M9 و ۲/۵ درصد سوبسترای لیگنوسلولزی (معادل ۱۲/۵ گرم) قرار داده شد (۷). عمل استریل کردن ارلن‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت، پس از خنک شدن، به هر ارلن میزان ۱ میلی‌لیتر محیط کشت باکتریایی تازه که از قبل به مدت ۲۴ ساعت در محیط کشت نوترینت براث کشت شده بود، تلقیح گردید. سپس درب ارلن‌ها (در کل ۱۶ ارلن برای هر دو سوبسترا) بسته شده و در داخل بن‌ماری شیکردار به مدت ۱۰ روز در دمای ۳۹ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پس از پایان انکوباسیون، محتوای هر ارلن توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید و بقایای جمع‌آوری شده در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. بقایای خشک به دست آمده برای هر تیمار آزمایشی جهت تعیین ارزش تغذیه‌ای آنها مورد بررسی قرار گرفت (۷).

## تعیین ترکیب شیمیایی نمونه‌ها

ابتدا میزان ناپدید شدن ماده خشک نمونه‌های کاه گندم و سرشاخه خرما از اختلاف بین وزن اولیه و وزن پس از انکوباسیون در محیط کشت مایع توسط ایزوله‌های باکتریایی تعیین شد. سپس آن‌ها توسط آسیاب با الک ۱ میلی‌متری آسیاب شدند. محتوای پروتئین خام نمونه‌ها با روش AOAC تعیین شد (۲). میزان لیگنین خام نیز توسط روش استاندارد محاسبه شد (۲۸).

## آزمون تولید گاز روی سوبسترای‌های عمل‌آوری شده

جهت انجام آزمون تولید گاز از دو رأس گاو بومی خشک و غیر آبستن فیستولاگذاری شده به‌عنوان دهنده مایع شکمبه استفاده شد. گاوهای مذکور ابتدا حداقل به مدت دو هفته با یک جیره غذایی حاوی ۶۸/۵ درصد علوفه و ۳۱/۵ درصد کنسانتره تغذیه شدند. سپس قبل از خوراکدهی وعده صبح، با قرار دادن دست به داخل شکمبه از طریق فیستولا محتویات شکمبه از بخش‌های مختلف شکمبه جمع‌آوری شد. جیره آزمایشی دام‌ها حاوی ۳۰ درصد کاه گندم، ۲۳/۵ درصد سیلاژ ذرت، ۱۵ درصد یونجه خشک، ۱۰ درصد بلغور ذرت، ۲۰ درصد سبوس گندم، ۰/۵ درصد اوره، ۰/۵ درصد کربنات کلسیم، ۰/۲۵ درصد مواد معدنی و ویتامینه و ۰/۲۵ درصد نمک بر حسب ماده خشک بود. جیره مذکور که بر اساس جداول احتیاجات تغذیه‌ای گاو خشک فرموله شده بود، دو بار در روز و در حد احتیاجات نگهداری به دام‌ها تغذیه شد (۲۴). محتوای پروتئین خام و انرژی قابل متابولیسم جیره آزمایشی تغذیه شده به گاوها به ترتیب ۱۱/۵ درصد و ۲/۲ مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک بود. محتویات شکمبه در یک فلاسک عایق که از قبل توسط گاز دی اکسید کربن بی‌هوازی شده بود، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد سریعاً به آزمایشگاه منتقل گردید. محتویات قبل از تزریق به داخل ویال‌های آزمایشی به وسیله چهار لایه پارچه پنیر صاف گردید. آزمون تولید گاز در سه سری (Run) مجزا صورت گرفت.

آزمون تولید گاز روی هر کدام از سوبسترای‌های کاه گندم و سرشاخه نیشکر عمل‌آوری شده (۴ تیمار آزمایشی و ۱۰ تکرار در هر تیمار) انجام شد. برای این منظور مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم نمونه کاملاً خشک آسیاب شده با اندازه ذرات یک میلی‌متر به داخل هر ویال شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری برای تعیین فراسنجه‌های تولید گاز قرار داده شد. سپس، هر ویال که از قبل دمای آن با قرار دادن در بن‌ماری به ۳۹ درجه سانتی‌گراد رسیده بود، با ۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف شده و ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی تلقیح گردید (۲۰). سه ویال نیز به عنوان بلانک (حاوی فقط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی) در نظر گرفته شد. با تزریق گاز دی اکسید کربن به داخل هر ویال، از بی هوازی بودن آنها اطمینان حاصل شد. سپس درب ویال‌ها توسط دستگاه پرس مخصوص بسته شد و در بن‌ماری با دمای حدود ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. فشار گاز تولیدی در ویال‌ها توسط دستگاه فشارسنج در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از انکوباسیون اندازه‌گیری شد. سپس بر اساس معادلات مربوطه مقادیر فشار به‌دست آمده تبدیل به حجم شد (۳۲). برای تعیین پارامترهای‌های تولید گاز از رابطه ۱ استفاده گردید (۲۶):

$$P = b(1 - e^{-ct}) \quad (۱)$$

که در آن b گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر)، c ثابت نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت)، t زمان انکوباسیون بر حسب ساعت و P حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان مورد نظر می‌باشد.

به‌منظور تعیین فراسنجه‌های تخمیر شامل گوارش‌پذیری ماده خشک (IVDMD)، انرژی قابل متابولیسم، pH، غلظت نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار تولید شده، پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (۳۵)، ابتدا حجم گاز تولیدی هر ویال ثبت گردید. سپس درب ویال‌ها باز گردیده و pH آن‌ها به وسیله دستگاه pH متر (مدل 744؛ شرکت Metrohm سوئیس) ثبت گردید. محتوای هر ویال با ۲۰۰۰g× به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید (Varifuge 3.2RS, Heraeus Instruments, Germany). مقدار گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک (IVDMD) از اختلاف وزن سوبسترای اولیه و وزن بقایا پس از انکوباسیون و طبق رابطه ۲ محاسبه گردید:

$$IVDMD\ (\%) = (\text{وزن سوبسترای اولیه} - \text{وزن بقایا پس از انکوباسیون}) / (\text{اولیه}) \times ۱۰۰ \quad (۲)$$

محتوای انرژی قابل متابولیسم (ME) خوراک‌های آزمایشی بر اساس معادله زیر (رابطه ۳) تخمین زده شد (۲۱):

$$ME\ (MJ/kg\ DM) = 2.20 + 0.136\ GAS + 0.057\ CP + 0.0029\ CP^2 \quad (۳)$$

که در آن ME انرژی قابل متابولیسم؛ GAS مقدار گاز خالص

تولیدی برای ۲۰۰ میلی‌گرم سوبسترا پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (۱۲) و CP مقدار پروتئین خام به صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک می‌باشد.

غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بر اساس روش فنل-هیپوکلریت اندازه‌گیری شد (۹). برای این منظور، نمونه های سوپرناتانت (۵ میلی‌لیتر) سریعاً با یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند.

غلظت اسیدهای چرب فرار شامل کل اسیدهای چرب فرار، اسیدهای پروپیونات، بوتیرات، ایزوبوتیرات، والرات و ایزووالرات در محتویات انکوبه شده ویال‌ها پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Shimadzu GC-14 B, Shimadzu, Tokyo, Japan) اندازه‌گیری شد (۱۱). نحوه آماده‌سازی نمونه‌ها به این صورت بود که هر میلی‌لیتر مایع شکمبه سانتریفیوژ شده قبل از تزریق به داخل دستگاه گروماتوگرافی، با ۰/۲۵ میلی‌لیتر از یک محلول اسیدی حاوی ۲۰ درصد اورتوفسفریک اسید و ۲۰ میلی‌مول در لیتر ۲-اتیل بوتیرات به عنوان استاندارد داخلی مخلوط شد. دمای تزریق کننده، ستون و تشخیص دهنده دستگاه کروماتوگرافی به ترتیب ۲۷۰، ۱۷۲ و ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد بود. از هلیوم به‌عنوان گاز ناقل در دستگاه استفاده شد و تشخیص دهنده آن از نوع شعله یونی بود. دمای ستون دستگاه در شروع کار برابر ۱۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بود، به طوری که در ابتدا به مدت ۲ دقیقه در این دما نگه داشته شده، سپس به مدت ۵ دقیقه دمای آن به حدود ۲۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه افزایش یافت. ستون مورد استفاده دستگاه از نوع مویینه و به طول ۳۰ متر بود (Alltech Capillary Column, ECTM 1000, length 30 meters, inside diameter 0.53 mm, film thickness 1 micron) بود. غلظت هر یک از اسیدهای چرب فرار از تقسیم سطح زیر پیک آن اسید چرب بر سطح زیر پیک مجموع اسیدهای چرب محاسبه و به صورت میلی‌مول در لیتر بیان شد.

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تولید گاز و تخمیر نمونه‌ها با استفاده از رویه مختلط و توسط نرم‌افزار آماری SAS (۳۰) با استفاده از مدل آماری زیر (رابطه ۴) صورت گرفت:

$$Y_{ijk}= \mu + T_i + R_j + e_{ijk} \quad (۴)$$

که در این مدل $Y_{ijk}$، $\mu$، $T_i$، $R_j$ و $e_{ijk}$ به ترتیب رکورد مشاهده شده، میانگین کل، اثر تیمار آزمایشی iام، اثر دوره آزمایش jام و اثر خطای آزمایشی بود. دلیل استفاده از رویه مختلط این بود که اثر ران در مدل به‌عنوان یک اثر تصادفی در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

تعیین توالی 16S rDNA نشان داد که ایزوله‌های نهایی تجزیه کننده‌ی لیگنین و لیگنوسلولز شامل انتروباکتر کلواسه (*Enterobacter cloacae*)، استافیلوکوکوس اسکویری (*Staphylococcus sciuri*) و گونه بروی باکتریوم (*Brevibacterium* sp.) بودند. نتایج مربوط به تغییر ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تولید گاز، هضم و تخمیر نمونه‌های کاه گندم و سرشاخه نیشکر عمل‌آوری شده با باکتری‌های روده کرم خراط در جدول ۳ نشان داده شده است.

در هر دو سوبسترا، حداکثر میزان ناپدید شدن ماده خشک در تیمار فرآوری شده با مخلوط باکتریایی روده کرم خراط (مخلوطی از هر سه ایزوله) و کمترین میزان توسط تیمار شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). در ارتباط با پروتئین خام، در کاه گندم فرواری شده با مخلوط باکتریایی بیشترین میزان به دست آمد و کمترین میزان را تیمار شاهد به خود اختصاص داد ($P<۰/۰۵$). در دیگر سوبسترا یعنی سرشاخه نیشکر، بیشترین میزان پروتئین خام در تیمار انکوبه شده با مخلوط باکتریایی به دست آمد ($P<۰/۰۵$)، هرچند آن اختلاف معنی‌داری با فرآوری با دیگر ایزوله‌های مجزا یعنی انتروباکتر کلواسه، استافیلوکوکوس اسکویری و گونه بروی‌باکتریوم نداشت. در کاه گندم، بیشترین و کمترین میزان لیگنین به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار انکوبه شده با مخلوط باکتریایی مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). هرچند در سرشاخه نیشکر اختلافی بین تیمارهای آزمایشی از نظر لیگنین وجود نداشت. فرآوری کاه گندم با مخلوط باکتریایی روده کرم خراط سبب افزایش معنی‌دار قابلیت هضم ماده خشک و انرژی قابل متابولیسم نمونه‌ها در مقایسه با تیمار شاهد شد ($P<۰/۰۵$). هرچند، در سرشاخه نیشکر مخلوط باکتریایی کرم خراط قابلیت هضم ماده خشک را افزایش داد ($P<۰/۰۵$)، اما اختلافی از نظر میزان انرژی قابل متابولیسم بین تیمارها وجود نداشت. در هر دو سوبسترا، بیشترین میزان پتانسیل تولید گاز (ضریب b) در تیمار فرآوری شده با مخلوط باکتریایی به دست آمد ($P<۰/۰۵$)، هرچند آن اختلافی با تیمارهای تلقیح شده با ایزوله‌های مجزا نداشت. نرخ تولید گاز (ضریب c) در هر دو سوبسترا تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

نمودار ۱ نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر تولید گاز تجمعی کاه گندم را نشان می‌دهد. عمل‌آوری بیولوژیکی کاه گندم تأثیری بر تولید گاز در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون نداشت. هرچند که فرآوری کاه گندم با باکتری‌های مجزا یا مخلوط هر سه آن‌ها سبب افزایش حجم گاز تولیدی در زمان‌های ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ (کل گاز تولیدی) ساعت پس از انکوباسیون در مقایسه با تیمار شاهد شد ($P<۰/۰۵$)، اما بیشترین میزان این پارامترها حین عمل‌آوری کاه با تیمار حاوی مخلوط باکتریایی به دست آمد که تفاوتی با تیمار تلقیح

شده با ایزوله استافیلوکوکوس اسکویری نداشت.

**جدول ۳**- تغییر ترکیب شیمیایی و هضم (درصد ماده خشک) و فراسنجه‌های تولید گاز (میلی‌لیتر) آزمایشگاهی کاه گندم و سرشاخه نیشکر عمل‌آوری شده با باکتری‌های روده‌ی کرم خراط[۱]

**Table 3-** Changing chemical composition and digestion (DM basis) and *in vitro* gas production (IVGP; ml) parameters of wheat straw (WS) treated with *Zeuzera pyrina* L. gut bacteria[1]

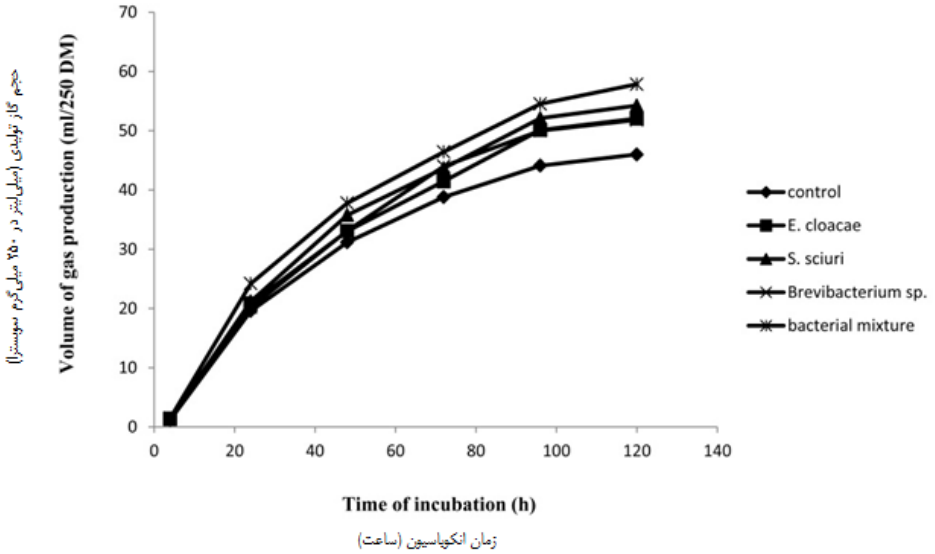
| تیمارها Treatments | کاهش وزن Weight loss | پروتئین خام CP | لیگنین Lignin | ناپدید شدن ماده خشک IVDMD | انرژی قابل متابولیسم ME (MJ/kg DM) | پتانسیل تولید گاز b | نرخ تولید گاز c |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| کاه گندم WS | | | | | | | |
| کاه گندم (کنترل) WS (control) | 2.47$^{b}$ | 3.73$^{b}$ | 8.12$^{a}$ | 34.5$^{b}$ | 5.93$^{b}$ | 46.3$^{b}$ | 0.038 |
| کاه گندم+ انتروباکتر کلواسه WS + *E. cloacae* | 4.47$^{b}$ | 4.44$^{b}$ | 7.96$^{ab}$ | 36.4$^{ab}$ | 6.06$^{ab}$ | 52.6$^{ab}$ | 0.041 |
| کاه گندم+ استافیلوکوکوس اسکویری WS + *S. sciuri* | 4.81$^{b}$ | 4.68$^{b}$ | 7.56$^{bc}$ | 37.3$^{ab}$ | 6.10$^{ab}$ | 54.9$^{a}$ | 0.044 |
| کاه گندم+بروی‌باکتریوم WS + *Brevibacterium* sp. | 4.08$^{b}$ | 4.55$^{b}$ | 7.92$^{ab}$ | 35.1$^{b}$ | 6.05$^{ab}$ | 52.2$^{ab}$ | 0.041 |
| کاه گندم+ مخلوط باکتریایی WS + bacterial mixture | 8.20$^{a}$ | 5.90$^{a}$ | 7.40$^{c}$ | 39.5$^{a}$ | 6.22$^{a}$ | 58.4$^{a}$ | 0.048 |
| خطای استاندارد میانگین SEM | 0.739 | 0.534 | 0.152 | 0.971 | 0.058 | 2.03 | 0.002 |
| احتمال معنی‌داری P-value | <0.01 | 0.03 | 0.04 | 0.03 | 0.05 | 0.02 | 0.11 |
| سرشاخه نیشکر ST | | | | | | | |
| سرشاخه نیشکر (کنترل) ST (control) | 1.78$^{d}$ | 5.03$^{b}$ | 12.4 | 31.3$^{b}$ | 5.64 | 42.1$^{b}$ | 0.036 |
| سرشاخه+ انتروباکتر کلواسه ST + *E. cloacae* | 4.56$^{b}$ | 6.29$^{ab}$ | 11.9 | 33.4$^{ab}$ | 5.76 | 50.4$^{a}$ | 0.039 |
| سرشاخه+ استافیلوکوکوس اسکویری ST + *S. sciuri* | 4.78$^{b}$ | 6.55$^{a}$ | 11.7 | 34.3$^{ab}$ | 5.84 | 50.8$^{a}$ | 0.042 |
| سرشاخه+بروی‌باکتریوم ST + *Brevibacterium* sp. | 3.14$^{c}$ | 6.04$^{ab}$ | 11.8 | 32.1$^{b}$ | 5.84 | 49.5$^{a}$ | 0.040 |
| سرشاخه+ مخلوط باکتریایی ST + bacterial mixture | 6.29$^{a}$ | 7.29$^{a}$ | 11.8 | 36.2$^{a}$ | 6.05 | 53.8$^{a}$ | 0.044 |
| خطای استاندارد میانگین SEM | 0.277 | 0.432 | 0.277 | 0.912 | 0.098 | 1.28 | 0.004 |
| احتمال معنی‌داری P-value | <0.01 | 0.04 | 0.09 | 0.02 | 0.10 | <0.01 | 0.34 |

[۱]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

[1]Means in a column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

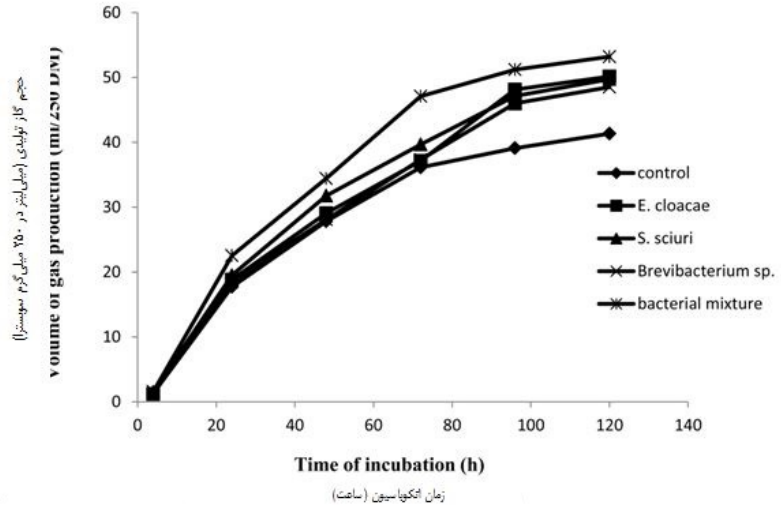
بر اساس نتایج نمودار ۲، در زمان‌های انکوباسیون ۲۴ و ۷۲ ساعته سرشاخه نیشکر، بیشترین میزان تولید گاز در تیمار فرآوری شده با مخلوط باکتریایی به دست آمد که با سایر تیمارهای بیولوژیکی دیگر و نیز تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$). بیشترین میزان تولید گاز در زمان ۴۸ ساعت و نیز کل گاز تولیدی در تیمار حاوی مخلوط باکتریایی نسبت به سایر تیمارها به دست آمد ($P<۰/۰۵$)، هر چند که آن با تیمار فرآوری شده با استافیلوکوکوس اسکویری تفاوتی نداشت. حداکثر میزان تولید گاز در زمان ۹۶ ساعت انکوباسیون در تیمار تلقیح شده با مخلوط باکتریایی در مقایسه با تیمار شاهد حاصل شد ($P<۰/۰۵$)، هرچند آن با تیمارهای فرآوری شده با

انتروباکتر کلواسه، استافیلوکوکوس اسکویری و گونه بروی‌باکتریوم تفاوت معنی‌داری نداشت.




**شکل ۱**- تولید گاز آزمایشگاهی کاه گندم عمل‌آوری شده با باکتری‌های روده‌ی کرم خراط

**Figure 1-** *In vitro* cumulative gas production of wheat straw treated with *Zeuzera pyrina* L. gut bacteria during time of incubation




**شکل ۲**- تولید گاز آزمایشگاهی سرشاخه نیشکر عمل‌آوری شده با باکتری‌های روده‌ی کرم خراط

**Figure 2-** *In vitro* cumulative gas production of sugarcane tops treated with *Zeuzera pyrina* L. gut bacteria during time of incubation

همان‌طوری که در جدول ۴ نشان داده شده است، بیشترین غلظت کل اسیدهای چرب فرار شکمبه با انکوباسیون کاه گندم توسط مخلوط باکتری های روده‌ی کرم خراط به دست آمد ($P<0/05$)، هرچند آن تفاوتی با تیمار تلقیح شده با استافیلوکوکوس اسکویری نداشت. بیشترین غلظت استات و نسبت استات به پروپیونات با انکوباسیون کاه گندم توسط مخلوط باکتریایی در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد ($P<0/05$)، هرچند آن اختلاف قابل توجهی با تیمار تلقیح شده با ایزوله استافیلوکوکوس اسکویری نداشت. همچنین، بیشترین میزان غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه با فرآوری کاه گندم توسط مخلوط باکتریایی حاصل شد که با سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف قابل توجهی نشان داد ($P<0/05$). هرچند، غلظت سایر اسیدهای چرب فرار شامل پروپیونات، بوتیرات، ایزوبوتیرات، والرات و

ایزو والرات و pH شکمبه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

**جدول ٤**- غلظت اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول در لیتر) و نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و pH کاه گندم عمل‌آوری شده با باکتری‌های روده‌ی کرم خراط[1]

**Table 4-** Concentration of volatile fatty acids (VFA; mmol/l) and ammonia-N (mg/dl) and pH of wheat straw (WS) treated with *Zeuzera pyrina* L. gut bacteria[1]

| تیمارها Treatments | کل اسیدهای چرب فرار Total VFA | استات Acetate (A) | پروپیونات Propionate (P) | بوتیرات Butyrate | ایزوبوتیرات Iso-butryrate | والرات Valerate | ایزووالرات Iso-valerate | نسبت استات به پروپیونات A:P | pH | نیتروژن آمونیاکی NH3-N |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| کاه گندم (کنترل) WS (control) | 31.9$^{b}$ | 21.8$^{c}$ | 7.17 | 3.20 | 0.31 | 0.35 | 0.59 | 3.05$^{b}$ | 6.23 | 11.6$^{b}$ |
| کاه گندم+ انتروباکتر کلواسه WS + *E. cloacae* | 33.1$^{b}$ | 23.1$^{bc}$ | 7.33 | 3.43 | 0.33 | 0.37 | 0.65 | 3.15$^{b}$ | 6.17 | 12.1$^{b}$ |
| کاه گندم+ استافیلوکوکوس اسکویری WS + *S. sciuri* | 33.7$^{ab}$ | 24.7$^{ab}$ | 7.33 | 3.83 | 0.35 | 0.42 | 0.64 | 3.39$^{ab}$ | 6.18 | 12.5$^{b}$ |
| کاه گندم+ بروی‌باکتریوم WS + *Brevibacterium* | 32.7$^{b}$ | 24.3$^{abc}$ | 7.47 | 3.63 | 0.35 | 0.36 | 0.62 | 3.34$^{ab}$ | 6.16 | 12.3$^{b}$ |
| کاه گندم+ مخلوط باکتریایی WS + bacterial mixture | 36.7$^{a}$ | 26.8$^{a}$ | 7.43 | 4.30 | 0.34 | 0.41 | 0.67 | 3.59$^{a}$ | 6.08 | 13.5$^{a}$ |
| خطای استاندارد میانگین SEM | 0.97 | 0.86 | 0.52 | 0.27 | 0.034 | 0.035 | 0.039 | 0.10 | 0.035 | 0.305 |
| احتمال معنی‌داری P-value | 0.04 | 0.02 | 0.75 | 0.11 | 0.56 | 0.64 | 0.59 | 0.04 | 0.11 | 0.02 |

۱میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P< 0.05$).

[1]Means in a column with different superscripts differ significantly ($P<0.05$).

در مبحث فراسنجه‌های تخمیر سرشاخه نیشکر (جدول ۵)، بیشترین و کمترین میزان کل اسیدهای چرب فرار به ترتیب در تیمار تلقیح شده با مخلوط باکتریایی و تیمار شاهد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$)، هرچند آن با تیمارهای فرآوری شده با انتروباکتر کلواسه و استافیلوکوکوس اسکویری تفاوتی نشان نداد. غلظت اسید چرب استات در تیمار فرآوری شده با مخلوط باکتریایی بیشترین میزان بود که با تیمار شاهد و سایر تیمارهای بیولوژیکی اختلاف قابل توجهی داشت ($P<۰/۰۵$). همچنین، بیشترین میزان نسبت استات به پروپیونات و نیتروژن آمونیاکی شکمبه در تیمار حاوی مخلوط باکتریایی و کمترین میزان آن‌ها در تیمار شاهد به دست آمد ($P<۰/۰۵$). هرچند سایر فراسنجه های تخمیر تحت تأثیر نوع ایزوله تلقیحی قرار نگرفت.

در ارتباط با فراوری بیولوژیکی پسماندهای لیگنوسلولزی توسط باکتری‌های جدا شده از روده حشرات مطالعات اندکی صورت گرفته است و عمده تحقیقات صورت گرفته در ارتباط با ایزوله‌های باکتریایی جدا شده از باکتریهای محیط در حال پوسیدگی بوده است. پژوهش حاضر اولین مطالعه‌ای است که در آن از باکتری‌های جدا شده از روده کرم خراط با قابلیت تجزیه‌کنندگی لیگنین و لیگنوسلولز، به‌عنوان عوامل بیولوژیکی جهت بهبود ارزش تغذیه‌ای مواد لیگنوسلولزی به عنوان خوراک دام استفاده شده است. باید اذعان نمود که در این مطالعه اثرات مطلوب فرآوری بیولوژیکی هر دو سوبسترای مورد آزمون یعنی کاه گندم و سر شاخه خرما با هر کدام از باکتری‌های جدا شده شامل انتروباکتر کلواسه، استافیلوکوکوس اسکویری و گونه بروی‌باکتریوم، و به خصوص تیمار حاوی مخلوط هر سه ایزوله در مقایسه با تیمار شاهد (فاقد هرگونه ماده تلقیحی) مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که در کرم خراط، علاوه بر آنزیم‌های درون‌زادی خود حشره، عمل تجزیه لیگنین و لیگنوسلولز توسط میکروفلور روده‌ای آن‌ها نیز انجام می‌شود. افزایش ناپدید شدن ماده خشک و کاهش میزان لیگنین در تیمارهای باکتریایی به خصوص تیمار حاوی مخلوط باکتریایی روده‌ی کرم خراط در مقایسه با تیمار شاهد نشان دهنده رشد باکتریایی و تجزیه‌ی لیگنین و لیگنوسلولز توسط ایزوله‌های مذکور است. مطابق با این نتایج، برجی (۱۳۸۲) گزارش کرد که فرآوری کاه گندم به مدت ۶ هفته توسط سه باکتری جدا شده از روده موریانه سبب ناپدید شدن ماده خشک بیشتری در مقایسه با تیمار شاهد شد (۸).

در مطالعه مذکور ناپدید شدن ماده خشک در ایزوله باسیوس اسفریکوس بیشتر از سایر ایزوله‌ها بود. باید بیان نمود که در مطالعه حاضر میزان ناپدید شدن ماده خشک در هر دو سوبسترا کمتر از مقادیر گزارش شده با فرآوری کاه گندم با باکتری‌های روده‌ی موریانه

بود (۷)، و از طرفی قابل مقایسه با نتایج مطالعه برجی و همکاران (۱۳۸۲) بود (۸) که دلیل آن احتمالاً به نوع سوبسترا و میکروارگانیسم استفاده شده مرتبط باشد.

**جدول ۵**- غلظت اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول در لیتر) و نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و pH سرشاخه نیشکر عمل‌آوری شده با باکتری‌های روده‌ی کرم خراط[1]

**Table 5-** Concentration of volatile fatty acids (VFA; mmol/l) and ammonia-N (mg/dl) and pH of sugarcane tops (ST) treated with Zeuzera pyrina L. gut bacteria[1]

| تیمارها Treatments | کل اسیدهای چرب فرار Total VFA | استات Acetate (A) | پروپیونات Propionate (P) | بوتیرات Butyrate | ایزوبوتیرات Iso-butyrate | والرات Valerate | ایزووالرات Iso-valerate | نسبت استات به پروپیونات A:P | pH | نیتروژن آمونیاکی $NH_3$-N |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| سرشاخه نیشکر (کنترل) ST (control) | 29.9$^{b}$ | 20.6$^{c}$ | 6.63 | 2.87 | 0.28 | 0.30 | 0.52 | 3.11$^{b}$ | 6.28 | 12.4$^{b}$ |
| سرشاخه+انتروباکتر کلواسه ST + *E. cloacae* | 32.1$^{ab}$ | 22.1$^{bc}$ | 7.13 | 3.11 | 0.31 | 0.34 | 0.58 | 3.12$^{b}$ | 6.19 | 13.1$^{ab}$ |
| سرشاخه+استافیلوکوکوس اسکویری ST + *S. sciuri* | 32.7$^{ab}$ | 23.7$^{b}$ | 7.20 | 3.50 | 0.34 | 0.36 | 0.59 | 3.41$^{ab}$ | 6.22 | 13.4$^{ab}$ |
| سرشاخه+بروی‌باکتریوم ST + *Brevibacterium* | 31.7$^{b}$ | 23.3$^{b}$ | 7.37 | 3.51 | 0.32 | 0.33 | 0.56 | 3.26$^{ab}$ | 6.18 | 13.3$^{ab}$ |
| سرشاخه+مخلوط باکتریایی ST + bacterial mixture | 35.1$^{a}$ | 26.1$^{a}$ | 7.30 | 3.97 | 0.33 | 0.35 | 0.58 | 3.53$^{a}$ | 6.13 | 14.5$^{a}$ |
| خطای استاندارد میانگین SEM | 0.91 | 0.69 | 0.64 | 0.46 | 0.022 | 0.041 | 0.045 | 0.102 | 0.069 | 0.438 |
| احتمال معنی‌داری P-value | 0.03 | <0.01 | 0.76 | 0.53 | 0.43 | 0.87 | 0.82 | 0.03 | 0.21 | 0.04 |

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P< 0.05$)

[1]Means in a column with different superscripts differ significantly ($P<0.05$).

افزایش گوارش‌پذیری ماده خشک و به تبع انرژی قابل متابولیسم با تلقیح باکتریایی سوبستراها احتمالاً به دلیل تغییرات ایجاد شده در ترکیب شیمیایی آن‌ها یعنی کاهش میزان لیگنین و افزایش میزان پروتئین خام حین فرآوری بوده است. سست شدن ساختار لیگنوسلولز طی عمل‌آوری و به تبع آزاد شدن میزان بیشتر کربوهیدرات‌ها برای میکروارگانیسم‌های شکمبه احتمالاً از دیگر دلایل افزایش هضم سوبستراهای لیگنوسلولزی بوده است (۲۵ و ۲۹).

افزایش تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون (نمودار ۱ و۲) با فرآوری بیولوژیکی هر دوی کاه گندم و سرشاخه نیشکر توسط ایزوله‌های جدا شده از روده‌ی کرم خراط در وهله اول نشان دهنده رشد مناسب این ایزوله‌ها روی سوبستراها در محیط کشت مایع بوده است و احتمالاً سبب کاهش میزان لیگنین آن‌ها (جدول ۳) و یا سست کردن پیوندهای بین لیگنین با سلولز و همی‌سلولز بوده است که به میزان بیشتری توسط مخلوط میکروبی شکمبه تجزیه و تخمیر شده‌اند (۷). زیرا رابطه معکوس بین محتوای لیگنین مواد خوراکی با گوارش‌پذیری آن‌ها در دستگاه گوارش نشخوارکنندگان ثابت شده است (۳۴). برای بهبود دسترسی آنزیم‌های هیدرولیتیک میکروبی به سلولز و همی‌سلولز برای افزایش ارزش غذایی مواد لیگنوسلولزی، تجزیه پیوندهای بین لیگنین و کربوهیدرات‌های آن ضروری است (۳۱). افزایش غلظت استات و نسبت استات به پروپیونات در تیمارهای فرآوری شده احتمالاً به دلیل دسترسی بیشتر به کربوهیدرات‌های ساختمانی توسط میکروب‌های شکمبه بوده است، زیرا به خوبی نشان داده شده است که تخمیر سوبستراهای فیبری در شکمبه سبب افزایش تولید ترکیبات لیپوژنیک مانند استات می‌شود (۱۹). این افزایش غلظت استات در سوبستراهای فراوری شده مطابق با نتایج تولید گاز آزمایشگاهی است، زیرا مشخص شده است که گاز زمانی تولید می شود که سوبسترای انکوبه شده به استات و بوتیرات تخمیر شود (۱۳). افزایش محتوای پروتئینی سوبستراهای فراوری شده توسط باکتری‌های روده‌ی کرم خراط در مقایسه با تیمار شاهد (جدول ۳) احتمالاً دیگر دلیل بهبود هضم و تخمیر و تولید بیشتر اسیدهای چرب فرار آن‌ها در شکمبه بوده است. زیرا احتمالاً مخلوط توده باکتریایی و آنزیم‌های داخل و خارج سلولی مترشحه توسط باکتری‌های کرم خراط روی سوبستراها باقی مانده و به‌عنوان منبع پروتئین برای میکروب‌های شکمبه استفاده شده‌اند (۷). نتایج پژوهش برجی و همکاران (۱۳۸۲) که فرآوری کاه گندم با باکتری‌های روده موریانه سبب افزایش ۴۲ درصدی پروتئین خام سوبسترا در مقایسه با تیمار شاهد شد (۸)، تایید

کننده نتایج مطالعه حاضر است. افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه (جداول ۴ و ۵) با انکوباسیون سوبستراهای فرآوری شده تأیید کننده نتایج حاضر است. در مطالعه حاضر فرآوری بیولوژیکی هر دو سوبسترای مورد آزمون توسط تیمار حاوی مخلوط هر سه باکتری کرم خراط اثرات مطلوب‌تری در مقایسه با ایزوله‌های مجزا نشان داد. علت آن احتمالاً به خاطر تجزیه بهتر لیگنین و لیگنوسلولز توسط تنوع بیشتری از آنزیم‌های مترشحه از این باکتری‌ها بوده است. در هر اکوسیستم میکروبی، معمولاً تجزیه سوبسترا توسط مجموعه‌ای از آنزیم‌ها و یک کمپلکس آنزیمی صورت می‌گیرد که این نکته در مورد مطالعه حاضر نیز صادق است.

در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، برجی و همکاران (۱۳۸۲) با فرآوری کاه گندم و کاه جو با باکتری‌های جدا شده از دستگاه گوارش موریانه‌های آناکانتوترمس واگانژ (انتروباکتر کلواسه، آکروباکتریوم آنتروپی و باسیلوس اسفریکوس) در محیط کشت مایع به مدت ۳، ۶ و ۹ هفته، گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی آن را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داد (۸). همچنین، در مطالعه دیگری، سه باکتری با قابلیت تجزیه کنندگی لیگنین و لیگنوسلولز شامل باسیلوس لیچنیفورمیس، آکروباکتریوم اینترمدیوم و میکروباکتریوم پالادیکولا از روده موریانه‌های میکروسروترمس دایورسوس جدا شد (۷). پس از فرآوری کاه گندم و سرشاخه خرما با ایزوله‌های مذکور به مدت ۶ هفته، تأثیر اندکی روی ترکیب شیمیایی آن‌ها نشان داد، اما گوارش‌پذیری مواد مغذی در شرایط برون‌تنی افزایش یافت. در مطالعه دیگری توسط عزیزی و همکاران (۱۳۹۶)، انکوباسیون برون‌تنی کاه گندم و سرشاخه خرمای فرآوری شده با ایزوله‌های باکتریایی جدا شده از روده موریانه به مدت ۶ هفته، سبب افزایش تولید گاز آزمایشگاهی و ناپدید شدن شکمبه‌ای مواد مغذی در گاو هلشتاین در شرایط برون‌تنی در مقایسه با تیمار شاهد شد، و ایزوله باسیلوس لیچنیفورمیس نسبت به دیگر ایزوله‌ها ارزش غذایی سوبسترا را به میزان بیشتری افزایش داد (۶). در پژوهش دیگری نیز با فرآوری کاه گندم با قارچ صدفی پلوروتوس فلوریدا نشان داد که ارزش غذایی و قابلیت هضم مواد مغذی آن در مقایسه با تیمار شاهد به طوری معنی‌داری افزایش نشان داد (۱۲). افزایش ۱۱ درصدی گوارش‌پذیری ماده خشک کاه گندم توسط فرآوری با گونه قارچی پلوروتوس اوستراتوس نیز گزارش شده است (۳۸). هرچند، بر خلاف نتایج مطالعه حاضر، در آزمایشاتی عمل‌آوری بیولوژیکی مواد لیگنوسلولزی تأثیری بر ارزش تغذیه‌ای آن‌ها نداشته است. به عنوان مثال، در پژوهشی فرآوری سوبسترا با قارچ‌های پوسانننده تأثیری بر قابلیت هضم مواد مغذی آن نداشته است (۱۰). همچنین، در مورد دیگری فرآوری با قارچ اثر بازدارندگی بر قابلیت هضم مواد مغذی نشان داده است (۲۲). اخیراً در پژوهشی کاهش مدت زمان فرآوری کاه گندم و سرشاخه خرما توسط باکتری‌های جدا شده از روده موریانه به ۳ هفته، تأثیری بر تولید گاز، غلظت اسیدهای چرب فرار، قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاه گندم در مقایسه با تیمار شاهد نداشته، اما صفات مذکور در سرشاخه خرما کاهش یافت (۵). این اختلافات مشاهده شده در مطالعات مختلف در بحث فرآوری بیولوژیکی مواد لیگنوسلولزی احتمالاً به دلیل تفاوت در نوع عامل بیولوژیکی و قابلیت تجزیه‌کنندگی آن‌ها، نوع سوبسترای مورد استفاده، نوع محیط کشت مورد استفاده (جامد یا مایع) و مدت زمان فرآوری سوبسترا باشد که منجر به حصول نتایج مختلفی شده است.

## نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر سه ایزوله باکتریایی با قابلیت تجزیه‌کنندگی لیگنین و لیگنوسلولز شامل انتروباکتر کلواسه، استافیلوکوکوس اسکویری و گونه بروی‌باکتریوم بر اساس تعیین توالی 16S rDNA از روده‌ی کرم خراط جدا سازی و شناسایی شدند. فرآوری کاه گندم و سرشاخه نیشکر به عنوان دو سوبسترای لیگنوسلولزی توسط باکتری‌های مذکور، سبب افزایش ناپدید شدن ماده خشک، افزایش محتوای پروتئین خام و کاهش میزان لیگنین خام شده و به تبع، گوارش‌پذیری ماده خشک و ارزش غذایی آن‌ها در شرایط برون‌تنی افزایش یافت. همچنین، تیمار حاوی مخلوط هر سه ایزوله باکتریایی بهترین عملکرد را بر صفات مذکور نشان داد.

## سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان، در جهت فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام پژوهش حاضر تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

## منابع

1. Abd El-Rahman, H., A. A. Abedo, Y. A. A. El-Nomeary, S. S. Abdel-Magid, and M. I. Mohamed. 2014. Effect of biological treatments of rice straw on growth performance, digestion and economical efficiency for growing calves. Global Veterinary, 13(1):47–54.
2. AOAC. 2002. Official Methods of Analysis of AOAC International (17th Ed., 1th rev.). Gaithersburg (MD): Association of Official Analytical Chemists.
3. Ashtari, M., J. Karimi, M. Z. Rezapanah, and M. Hassani-kakhki. 2011. Biocontrol of leopard moth, *Zeuzera pyrina*

L. (Lep.: Cossidae) using entomopathogenic nematodes in Iran. Insect Pathogens and Entomopathogenic Nematodes, 66: 333-335.
4. Ausubel, F. M., R. Brent, R. E. Kingstone, D. D. Moore, J. G. Seidman, J. A. Smith, and K. Struhl. 1992. Short protocols in molecular biology, Second edition. JohnWiley and Sons, New York, pp. 1–15.
5. Azizi, A., M. R. G. Maia, A. J. M. Fonseca, A. Sharifi, H. Fazaeli, and A. R. J. Cabrita. 2018. Rumen fermentation of lignocellulosic biomass from wheat straw and date leaf inoculated with bacteria isolated from termite gut. Journal of Animal and Feed Sciences, 27: 211-218.
6. Azizi, A., T. Mohammadabadi, H. Motamadi, M. Chaji, and H. Fazaeli. 2017. Determination of optimum temperature and pH for lignocellulosic materials-degrading bacteria isolated from termite gut and their effect on the digestibility and in *vitro* fermentation parameters of some agricultural by-products. Journal of Animal Science Research, 27: 69-85 (In Persian).
7. Azizi-Shotorkhoft, A., T. Mohammadabadi, H. Motamedi, M. Chaji, and H. Fazaeli. 2016. Isolation and identification of termite gut symbiotic bacteria with lignocellulose-degrading potential, and their effects on the nutritive value for ruminants of some by-products. Animal Feed Science and Technology, 221: 234-242.
8. Borji, M. 2003. The Survey Possibility of Straw Polysaccharides and Lignin Degradation by Isolated Microbiota from Termites PhD Thesis. Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (In Persian).
9. Broderick, G. and J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Dairy Science, 63: 64–75.
10. Calzada, J., F. Franco, M. C. Arriola, C. Rolz, and M. A. Ortiz. 1987. Acceptability, body weight changes and digestibility of spent wheat straw after harvesting of *Pleuprotus sajor-caju* fed to lambs. Biological Wastes, 22: 303-309.
11. Cottyn, B. G. and C. V. Boucque. 1968. Rapid method for the gas-chromatographic determination of volatile fatty acids in rumen fluid. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 16: 105–107.
12. Fazaeli, H. 2008. Digestibility and voluntary intake of fungal-treated wheat straw in sheep and cow. Agricultural Science, 12 (43): 523-531.
13. Getachew, G., M. Blummel, H. P. S. Makkar, and K. Becker. 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. Animal Feed Science and Technology, 1998: 72: 261–281.
14. Ghasemi, E., G. R. Ghorbani, M. Khorvash, and K. Karimi. 2014. Adjustment of pH and enzymatic treatment of barley straw by dry processing method. Journal of Applied Animal Research, 42:1-6.
15. Ghasemi, E., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, M. R. Emami, and K. Karimi. 2013. Dry chemical processing and ensiling of rice straw to improve its quality for use as ruminant feed. Tropical Animal Health and Production, 45: 1215–1221.
16. Kato, K., S. Kozaki, and M. Sakuranaga. 1998. Degradation of lignin compounds by bacteria from termite guts. Biotechnology Letters, 20: 459-462.
17. Kerr, T. J. and R. D. Kerr. 1987. Microorganisms having characteristics of an *Arthrobacter* capable of degrading peanut hull lignin. United State Patent, 4, 643,899.
18. Lane, D. J., B. Pace, G. J. Olsen, D. A. Stahl, M. L. Sogin, and N. R. Pace, 1985. Rapid determination of 16s ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 82: 6955-6959
19. Loor, J. J., A. A. Elolimy, and J. C. McCann. 2016. Dietary impacts on rumen microbiota in beef and dairy production Animal Frontiers, 6: 22–29.
20. Marten, G. C. and R. F. Barnes. 1980. Prediction of energy digestibility of forages with *in vitro* rumen fermentation and fungal enzymes systems. In: Pidgen, W. J., C. C. Balch, and M. Graham (Eds), Standardization of analytical methodology for feeds. International Development Research Center, Ottawa, pp. 61-71.
21. Menke, K. H. and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Animal Research and Development, 28: 7–55.
22. Moyson, E. and H. Verachtert. 1991. Growth of higher fungi on wheat straw and their impact on the digestibility of the substrate. Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 36: 421-424.
23. Nasehi, M, N. M. Torbatinejad, S. Zerehdaran, A. R. Safaei. 2014. Effect of (*Pleurotus florida*) fungi on chemical composition and rumen degradability of wheat and barley straw. Iranian Journal of Applied Animal Science, 4(2): 257-261
24. NRC. 2001. Nutrient Requirements for Dairy Cattle (7th rev. Ed.). USA: National Academy Press. Washington, DC.
25. Okano, K., N. Ohkoshi, A. Nishiyama, T. Usagawa, and M. Kitagawa. 2009. Improving the nutritive value of madake bamboo, *Phyllostachys bambusoides*, for ruminants by culturing with the white-rot fungus *Ceriporiopsis subvermispora*. Animal Feed Science and Technology, 152: 278–285.
26. Ørskov, E. R. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. Journal of Agricultural Science, 92: 499–503.
27. Pashaei, S., V. Razmazar, and R. Mirshekar. 2010. Gas production: a proposed *in vitro* method to estimate the extent of digestion of a feedstuff in the tumen. Journal of Biological Sciences, 10: 573-580.
28. Robertson, J. B. and P. J. Van Soest, 1981. The detergent system of analysis and its application to human foods. In:

James W. P. T., O. Theander (Eds.), The Analysis of Dietary Fiber in Food. (pp. 123-158). Marcel Dekker, New York, USA.
29. Salman, F. M., R. I. El-Kadi, H. Abdel-Rahman, S, M. Ahmed, M. I. Mohamed, and M. M. Shoukry. 2008. Biologically treated sugar beet pulp as a supplement ingoat rations. International Journal of Agricultural Biology, 10: 412–416.
30. SAS Institute Inc. 2005. User's Guide: Statistics, Version 9.0 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
31. Shrivastava, B., P. Nandal, A. Sharma, K. K. Jain, Y. P. Khasa, T. P. Das, V. Mani, N. J. Kewalramani, S. S. Kundu, and R. C. Kuhad. 2012. Solid state bioconversionof wheat straw into digestible and nutritive ruminant feed by *Ganoderma* sp rckk02. Bioresource Technology, 107: 347–351.
32. Theodorou, M. K., B. A.Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan, and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 48: 185–197.
33. Ulyshen, M. D. 2016. Wood decomposition as influenced by invertebrates. Biological Reviews, 91: 70-85.
34. VanSoest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant, 2nd ed. Cornell Univ. Press, Itacha, NY, USA, pp. 476.
35. Vercoe, P. E., H. P. S. Makkar, and A. C. Schlink. 2010. *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. Springer Verlag Gmbh.
36. Voirol, L. R. P., E. Frago, M. Kaltenpoth, M. Hilker, and N. E. Fatouros. 2018. Bacterial symbionts in lepidoptera: their diversity, transmission, and impact on the host. Fronteries in Microbiolgy, 27: 549-:556.
37. Weisburg, W. G., S. M. Borns, D. A. Pelltier, and D. J. Lane. 1991. 16s Ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of* Bacteriology, 173(6): 697-703.
38. Yoshida, N., T. Takahashi, T. Nagao, and J. Chen. 1993. Effect of edible mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivation on *in vitro* digestibility of wheat straw and sawdust substrate. Japanese Journal of Grassland Science, 39: 177-182.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 207-220

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۲۰-۲۰۷

# Investigating nutritive value of wheat straw and sugarcane tops treated with bacteria with lignin and lignocellulose-degrading potential isolated from *Zeuzera pyrina* L. larvae gut

**Ayoub Azizi[1*], Jahanshir Shakarami[2], Fahimeh Dehghanikhah[3], Afrooz Sharifi[4]**

Submitted: 02-10-2020
Accepted: 15-09-2020

**Introduction[1]:** There is a shortage of animal feed and water resources in many countries around the world. Numerous agricultural by-products are produced annually in all countries, thus their proper use is often a useful means of overcoming this problem. Large proportions of these materials are important feeds for ruminant animals and can be used as a potentially significant source of energy. However, the use of these materials as ruminant feed is limited because of their complex structure, low protein and high lignin content. Different physical and chemical methods have been used to increase the nutritive value of such by-products. Although these methods have advantages, they are costly, relatively ineffective and environmentally unfriendly and require the application of technology. Recently, biological processing of lignocellulosic biomass has been considered as an alternative approach. Three groups of organisms are able to biodegrade lignin namely, white rot fungi, some soil microbes and termites. In recent years, increased attention has been given to the role of bacteria in lignin degradation in agricultural by-products. Insects that utilize wood as a food source are beetles, cockroaches and termites. Termites are especially well known for their ability to break down the lignin barrier and digest carbohydrate polymers. Researcher has isolated 3 bacterial species from the *Anacanthotermes vagans* termite gut, including *Bacillus* sp., *Enterobacter* sp., and *Ochrobacterium* sp. These bacteria could grow on different media containing lignin and lignocellulosic materials prepared from water extracted wheat straw and sawdust as a sole source of carbon and energy. In another study three bacteria include *Bacillus licheniformis*, *Ochrobactrum intermedium* and *Microbacterium paludicola* were isolated by culturing the gut contents of the termite *Microcerotermes diversus* on different media containing lignin and lignocellulose as a sole source of carbon and energy. Isolates could partially change the chemical composition of the wheat straw and date leaves, while nutrient digestibility increased. However, *Zeuzera pyrina* L. is also another insect which degrade lignocellulose. Larval tunnels in the wood and girdling burrows under the bark are visible at the ends of broken stems. Numerous partly broken branches with dead brown foliage hanging in tree crowns are characteristic of heavy infestations. In our knowledge, little work has been done on the isolation of lignin and lignocellulose-degrading bacteria from gut of *Zeuzera pyrina*. Therefore, the aim of the present study was to isolate and identify symbiotic lignocellulosic degrading bacteria from the *Zeuzera pyrina* L. gut, and to investigate their effects on the nutritive value of wheat straw and sugarcane tops as ruminant feed.

**Material and Methods:** This experiment was conducted in animal house and laboratories of Lorestan University. Two Lori cows (about five years old) with permanent rumen fistula were used as rumen liquor donor in present study. A two-week diet adaptation period was followed by collection of the rumen contents from each cow before the morning feeding. The aim of the present study was investigate nutritive value of wheat straw (WS) and sugarcane tops (ST) treated with bacteria isolated from gut of *Zeuzera pyrina*. For this purpose, first, based on 16S rDNA sequence analysis, 3 bacteria including *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus sciuri* and *Brevibacterium* sp., with lignin and lignocellulose-degrading potential were isolated from gut of this insect. Thereafter, each of WS or ST were processed with these isolated individually or with mix of them (totally 4 treatment group for each substrate) in liquid medium. Chemical composition, *in vitro* gas production (IVGP) and

1- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University
2- Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University
3- Ph.D. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University
4- Assistant Professor, Animal Science Research Department, Khuzestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ahvaz
(*- Corresponding Author Email: azizi.ay@lu.ac.ir )
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.83479

fermentation parameters of these two processed by-product were determined compared to control treatment.

**Results and Discussion:** Results showed that highest amount of dry matter (DM) loss, crude protein, *in vitro* DM digestibility and metabolizable energy was observed in both substrates (i.e., WS and ST) treated with bacterial mixture of *Zeuzera pyrina* compared to control. Highest volume of IVGP and potential of GP (b) were observed after processing by bacterial mixture of *Zeuzera pyrina* compared to control treatment ($P>0.05$). Highest volatile fatty acid (VFA) concentration, acetate, acetate to propionate ratio and ammonia-N concentration were observed in substrates inoculated with bacterial mixture in comparison with control treatment ($P<0.05$).

**Conclusion:** In this experiment, we isolated three bacteria including *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus sciuri* and *Brevibacterium* sp., with lignin and lignocellulose-degrading potential from the gut of *Zeuzera pyrina*. Processing WS and ST with these individual bacteria, especially media containing their mixture improved their nutritive value as ruminant feed via increasing DM digestibility and VFA production.

**Keywords:** Gas production, Lignocellulose, Nutritive value, Ruminants, *Zeuzera pyrina*

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۳۳-۲۲۱

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 221-233

مقاله علمی- پژوهشی

# تأثیر مکمل دانه کتان در جیره بر ترکیب اسیدهای چرب، خصوصیات کیفی اسپرم و برخی پارامترهای خونی در قوچ کردی

سعید فیروزه[۱]، امیر هوشنگ فلاح راد[۲*]، پژمان میر شکرایی[۲]، عباس پرهام[۳]، محسن دانش مسگران[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۸

## چکیده

دانه کتان منبع غنی از اسید آلفا لینولنیک (امگا۳) با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا می‌باشد، که می‌تواند در سنتز هورمون‌های جنسی و بهبود کیفیت اسپرم در گونه‌های مختلف نقش داشته باشد. مطالعه حاضر اثرات دانه کتان بر خصوصیات کمی و کیفی اسپرم و برخی پارامترهای خونی را بررسی می‌کند. در این تحقیق که در مدت ۱۲ هفته اجرا گردید ۱۵ راس قوچ نژاد کردی انتخاب و به صورت تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. گروه شاهد دریافت کننده جیره پایه و گروه دوم که شامل جیره پایه و ۵ درصد دانه کتان و گروه سوم محتوی جیره پایه و ۱۰ درصد دانه بود. نتایج نشان داد که غلظت اسپرم، نسبت اسپرم زنده، تحرک کل و عملکرد غشای پلاسما در تیمار ۱۰ درصد دانه کتان در مقایسه با سایر گروه‌ها بیشتر بود ($P<0.05$). دانه کتان باعث افزایش درصد اسپرم با آکروزوم نرمال شد ($P<0.01$). با این حال، درصد اسپرم‌های غیر طبیعی پس از دریافت ۱۰ درصد دانه کتان و در پایان هفته ۱۲ در مقایسه با سایر گروه‌های مربوطه کاهش یافت ($P<0.05$). نتایج نشان داد که مکمل دانه کتان بر قطر بیضه اثری نداشت اما غلظت تستوسترون پلاسما را در گروه ۱۰ درصد نسبت به گروه شاهد افزایش داد ($P <0.05$). اثر افزودن مکمل دانه کتان، اثر زمان و اثر متقابل آنها بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز معنی دارنبود. جیره ۱۰ درصد کتان موجب افزایش معنی داری اسید چرب DHA (دوکوزاهگزاانوئیک DHA=Docosahexaenoic acid) در چربی اسپرم شد ($P<0.05$). نسبت اسیدهای چرب امگا سه به شش افزایش یافته و نیز نسبت اسیدهای چرب اشباع به اسیدهای چرب با چند باند مضاعف در گروه ۱۰ درصد در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش یافت ($P<0.05$). نتایج نشان داد که افزودن ۱۰ درصد دانه کتان به جیره پایه قوچ‌های کردی در خارج از فصل تولید مثل می‌تواند سبب بهبود کمی و کیفی شاخص‌های ازریابی اسپرم و در نهایت بهبود باروری آنها گردد.

**کلمات کلیدی:** اسپرم، اسید چرب ، امگا ۳ ، دانه کتان، قوچ کردی.

## مقدمه

تحقیقات نشان داده است که چندین عامل مانند نژاد ، سن ، فصل و مدیریت تغذیه ای بر کیفیت اسپرم تولید شده و به تبع آن بر باروری قوچ ها تأثیر می گذارد (۳). اسیدهای چرب بخش عمده سلول‌های جانوری را در بر می‌گیرد و در سلول‌های اسپرماتوزوا نه تنها منبع انرژی می‌با شد بلکه در کلیه رخدادهایی که منجر به باروری می‌شود دخالت دارد (۳۶). یافته ها نشان می‌دهد که چربی‌های اسپرماتوزوا در اعمالی مانند تحرک، قابلیت زنده مانی و بلوغ اهمیت دارند همچنین نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع (UFA) ممکن است در خ صو صیات فیزیکی مانند سیالیت غ شاء نقش دا شته با شد (۲). اسپرم اکثر پستانداران مانند انسان، گاو، میمون و قوچ دارای سهم بالایی از دوکوزاهگزاانوئیک اسید (DHA) می‌باشد. پستانداران قادر به ساخت ا سیدهای چرب n-3 نی ستند لذا این ا سیدهای چرب ضروری باید از طریق جیره تامین گردد (۱۱). پس از تامین اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ALA از طریق جیره غذایی، پستانداران قادر می‌باشند اسیدهای چرب بلند زنجیر DHA و EPA را در بدن خود از ALA طی مراحل دی سچوراز و طویل سازی سنتز کنند (۱۷).

۱- دان شجوی دکترای تخ صـ صی، گروه علوم پایه، دان شکده دامپز شکی، دان شگاه فردوسی مشهد
۲- دانشیار، گروه علوم درمانگاهی،دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳-دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
۴ – استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: umfallah@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/ijasr.v13i3.87332

دانه کتان یا (flax seed)، یکی از مهمترین منابع گیاهی n-3 PUFA اسـت (۳۱). روغن دانه کتان حاوی ۹۰٪ PUFA اسـت که حدود ۵۰٪ آن اسید α- لینولنیک است (۲۶ ). دانه کتان به‌عنوان منبع امگا ۳ می‌تواند کیفیت اسپرم را بهبود بخشد و اسپرم را بر علیه شرایط اســترس با حفظ یکپارچگی غشــاء و قدرت زنده مانی محافظت کند (۱۷) مطالعات ن شان می‌دهد که DHA می‌تواند سبب بهبود تحرک ا سپرم و افزایش سطح تستوسترون در خون گوسفند و بز گردد و دانه کتان یک منبع مناسب از DHA است (۱۰).

با توجه به تاثیرات تغذیه و فصل بر راندمان باروری قوچ‌ها، در این تحقیق اثر دانه کتان به عنوان منبع ا سید چرب غیر ا شباع (امگا ۳) با خاصیت آنتی اکسیدانی بر روی شاخص‌های کمی و کیفی اسپرم قوچ و تغییرات آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به‌عنوان یکی از فاکتورهای آنتی اکسـیدانی در فرایند اسـترس اکسـیداتیو در خارج از فصـل تولید مثل مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه به مدت ۲ ماه در مرکز اصــلاح نژاد گوســفند کردی واقع در شهرستان شیروان استان خراسان شمالی انجام گرفت. در این تحقیق ۱۵ راس قوچ نژاد کردی با میانگین سنی ۳-۵ ساله و میانگین وزن ۲/۵±۶۵ کیلوگرم انتخاب شـده و بصـورت کاملاً تصـادفی در ۳ گروه با جایگاه جداگانه مطابق جیره طرح نگهداری شــدند. گروه‌های آزمایشــی جیره پایه با انرژی و پروتئین یکســان دریافت می‌کردند (انرژی متابولیسمی ۲/۴۵ مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک و پروتئین خام ۱۲/۱ درصد ماده خشک).

**جدول ۱**- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره‌ها

**Table 1**- Ingredient and chemical composition of the experimental diets

| اجزاء<br>Ingredients (%) | جیره پایه<br>Basal diet | جیره پایه + ۵٪ دانه کتان<br>Basal diet + 5% flaxseed | جیره پایه+۱۰٪دامه کتان<br>Basal diet + 10% flaxseed |
|---|---|---|---|
| یونجه<br>Alfalfa | 17.3 | 17.3 | 17.3 |
| سیلاژ ذرت<br>Corn silage | 27.2 | 27.2 | 27.2 |
| کاه گندم<br>Wheat straw | 12.5 | 12.5 | 12.5 |
| جو<br>barley | 23 | 18 | 13 |
| سبوس گندم<br>Wheat bran | 13 | 13 | 13 |
| کنجاله کلزا<br>Canola meal | 5 | 5 | 5 |
| دانه کتان<br>flaxseed | 0 | 5 | 10 |
| مکمل دامی۱<br>Premix | 1 | 1 | 1 |
| نمک<br>salt | 1 | 1 | 1 |
| اجزای شیمیایی جیره‌ها<br>Chemical composition | | | |
| انرژی متابولیسمی( مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک)<br>Metabolizable energy (Mcal/ (Kg DM | 2.36 | 2.36 | 2.36 |
| پروتیئن خام(٪)<br>Crud protein(٪) | 12.2 | 12.2 | 12.2 |

۱ – ترکیب مکل دامی در کیلوگرم: ویتامینA ۵۰۰ هزار واحد بین المللی، ویتامین D3 ، ۱۰۰ هزار واحد بین المللی، ویتامین E ، ۲۵۰ هزار واحد بین المللی، آهن، ۳ هزار میلی گرم، منگنز، ۲ هزار میلی گرم، روی ۳ هزار میلی گرم، کبالت ،۱۰۰ میلی گرم، فسفر، ۹۰ هزار میلی گرم، کلسیم، ۱۸۰ هزار میلی گرم، سدیم، ۶۰ هزار میلی گرم

[1]Composition of animal meat per kilogram: Vitamin A 500 thousand international units, Vitamin D3, 100 thousand international units, Vitamin E, 250 thousand international units, Iron, 3 thousand mg, Manganese, 2 thousand mg, Zinc 3 thousand, Cobalt, 100 Mg, phosphorus, 90 thousand mg, calcium, 180 thousand mg, sodium, 60 thousand mg

**جدول ۲**- ترکیب اسیدهای چرب دانه کتان جیره ( درصدی از چربی در ترکیب چربی کل جیره)

**Table 2**- Fatty acids composition of the flaxseed diet (as the proportion of the total fat in the diet)

| اسید چرب<br>Fatty acids | درصد<br>% |
|---|---|
| اسید میرستیک C14:0<br>Myristic (C14:0) | 0.08 |
| اسید پالمتیک C16:0<br>Palmitic acid (C16:0) | 6.3 |
| اسید استئاریک C18:0<br>Stearic acid (C18:0) | 4.19 |
| اسید اولئیک C18:1<br>Oleic acid( C18:01) | 26.08 |
| اسید لینئولئیک C18:2<br>Linoleic acid (C18:2) | 13.7 |
| اسیدآلفا لینولنیک C18:3<br>α-Linolenic acid (C18:3) | 44.64 |

جیره حیوانات بر اســاس جدول احتیاجات غذایی (NRC 1985) تنظیم شده بود. جیره‌های طرح شامل۱) گروه کنترل جیره پایه بدون دانه کتان ۲) جیره پایه + ۵٪ دانه کتان و گروه سوم جیره پایه +۱۰٪ دانه کتان و همه گروه‌ها بطور آزاد به آب دسترسی داشتند. جیره به صــورت مخلوط کامل و ۲ بار در روز در ســاعات ۸ و ۱۷ در اختیار حیوانات قرار می‌گرفت. جدول (۱) درصــد و ترکیب شــیمیایی اجزای موجود درجیره و جدول (۲) پروفایل ا سیدهای چرب جیره و دانه کتان را نشان می‌دهد.

## جمع آوری منی و ارزیابی آن

نمونه منی بوســیله دســتگاه الکترواجاکولاتوردر ابتدا ، پایان هفته ۱و پایان هفته ۱۲ از تمامی قوچها گرفته شــد. نمونه‌ها بلافاصــله به آزمایشــگاه منتقل و در بن ماری ۳۷ درجه قرارگرفت. همه نمونه‌ها برای غلظت،تحرک،درصــد مرده و زنده بودن و غشــای آکروزوم مورد ارزیابی قرارگرفتند. غلظت اســپرم به کمک لام هموســایتومتر پس از رقیق کردن با ائوزین ۲٪ (۱:۲۰۰) محا سبه شد. برای برر سی تحرک اســپرم از ســیســتم CASA ( test sperm 2.1 videotest st.petersburg Russia) اســتفاده شــد. این ســیســتم شــامل یک میکروســکوپ فازکنتراســت (model LX400. Lambomed inc) و یک دوربین ( SDC-313B, Samsung Techwin co., Gyeong korea) می باشــد. ویژگی های حرکتی شــامل VCL(velocity curvilinear) میانگین ســرعت در مســیر منحنی، VSL(straight-line velocity) میانگین ســرعت حرکتی اسپرم در مسیر مســتقیم، VAP(average path velocity) میانگین سرعت اسپرم در میانگین مســیــر واقــعــی، LIN (linearity ) خــطــی بــودن حــرکــت، STR(straightness) در صد مستقیم بودن، ALH ( amplitude of lateral head displacement) دامنه نوســانات جانبی ســر اســپرم، BCF (beat-cross frequency) فرکانس نو سانات سرا سپرم که با اســتفاده از نرم افزار CASA انجام شــد. قبل از ارزیابی اســپرم‌ها با ن سبت ۲۵ میکرولیتر ا سپرم به ۹۷۵ میکرولیتر مایع رقیق کننده برای بدســت آوردن غلظت حدود $۲۵\times۱۰^{۶}$ اســپرم در هر میلی لیتر رقیق شدند. سپس نمونه‌ها در میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری در بن ماری ۳۷ درجه نگهداری شد. برای هر ارزیابی ۵ میکرولیتر از اسپرم رقیق شده را در اســپرم چمبر لجا با عمق ۲۰ میکرون ( leja products B. V., Nieuw-Vennep) قرار داده و فیلد میکروســکوپی برای حداقل ۱۰۰۰ اســپرم آنالیز شــد. پارامترهای تحرک بوســیله نرم افزار CASA (Computer-assisted sperm analysis) مورد ارزیابی قرار گرفت.

درصــد زنده و مرده بودن اســپرم و مورفولوژی آن به کمک رنگ آمیزی ائوزین- نیگروزین با بررســی حداقل ۲۰۰ اســپرم رقیق شــده بوسیله میکروسکوپ نوری ارزیابی شد. آکروزوم از طریق رنگ آمیزی diffQuik و به کمک میکروســکوپ نوری ســه چشــمی متصــل به دوربین و کامپیوتر انجام شــد. حداقل ۱۰۰ اســپرم برروی هر لام با بزرگنمایی ۱۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند. (۲۷)

برای تعیین یکپارچگی غشــاء اســپرم آزمون تورم هیپواســمزی (HOS test) انجام شــد. ابتدا ۲۰ میکرولیتر منی با ۲۰۰ میکرولیتر محلول هیپواســمزی ۱۰۰ میلی اســمول (۹گرم فروکتوز و ۴۶ گرم سیترات سدیم در یک لیتر آب مقطر) به مدت ۶۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه ســانتی گراد قرار گرفت. ســپس ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط برروی لام گرم قرار داده شد و پس از لامل گذاری در زیر میکروسکوپ مورد ارزیابی قرار گرفتند که حداقل ۲۰۰ اســپرم در ۵ فیلد بررســی گردید. درصد اسپرم‌ها با دم متورم و گرد ثبت شدند (۲۱).

## جداکردن چربی اسپرم و آنالیز آن

نمونه‌های منی ۲ بار با حجم برابر محلول نمکی

دالبکو(DPBS)(sigma.aldrich) شستشو شد. سپس لوله‌های حاوی اسپرم به مدت ۲۰ دقیقه با g×۲۵۰ سانتریفیوژ شدند. ایجاد دو فاز در لوله به ازاء هر نیم گرم فاز پایینی در هر لوله آزمایش ، ۱۰ میکرولیتر محلول کلروفورم:متانول (۱:۲) و ۲ میلی لیتر محلول نمک طعام ۰٫۹٪ اضافه شد (۱۸). سپس هرکدام از لوله ها به مدت ۱۰ دقیقه در ورتکس قرار گرفت. برای ترانس متیله کردن از محلول متانول:هگزان ( نسبت۲:۱) استفاده شد. اسپرم‌های ترانس متیله شده به منظور تعیین ترکیب اسیدهای چرب به آزمایشگاه بخش بیو شیمی دانشکده علوم پزشکی منتقل شد. اسیدهای چرب بوسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل ۱۰۰۰ GC ساخت کمپانی DANI ایتالیا) اندازه گیری شد. دراین تحقیق از ستون کاپیلاری EC-1000 با ماهیت قطبی از جنس شیشه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰٫۳۲ میلی متر که ضخامت فازیالن آن ۰/۲۵ میکرومتر بود استفاده شد. دمای قسمت تزریق ۲۵۰ درجه سانتی گراد ، آشکار ساز یونیزاسیون شعله ای با سوخت هیدروژن و اکسیداسیون هوا بود و برنامه دمایی به ۲۰۰ درجه رسیده و تا پایان باقی می‌ماند. محنی‌های مربوطه رسم شده و زمان بازداری مربوط به هراسید چرب با منحنی مربوط به اسید چرب استاندارد مقایسه گردید و نوع و میزان اسیدهای چرب موجود در نمونه ها مشخص شد.

### بررسی میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و هورمون تستسترون در خون

نمونه‌های خون در همزمان با نمونه گیری اسپرم از طریق ورید گردن گرفته و درون لوله‌های هپارینه ریخته شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه نمونه ها در g×۱۰۹۶ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پلاسمای جداشده تا زمان آنالیز در یخچال ۲۰- نگهداری شد. رسوب گلبول‌های قرمز پس از جداسازی پلاسما ۳ الی ۴ بار با سرم فیزیولوژی شسته و جهت لیزه شدن به آنها آب مقطر سرد اضافه و به مدت ۱۰-۲۰ دقیقه در هوای اتاق نگداری می‌شدند. پس از گذشت زمان مذکور مجدداً ۱۰ دقیقه دیگردر سانتریفیوژ قرارگرفتند. محلول شفاف رویی بدست آمده در حجم‌های نیم میلی لیتر تقسیم شدند. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به روش پالیجا و ولنتین (۲۹) و با کیت‌های تجاری (Ransel,Randox,UK) اندازه گیری شد. فعالیت آنزیمی در واحد گرم در هموگلوبین سنجش شد. هموگلوبین از طریق روش استاندارد سیانوهموگلوبین تعیین گرد ید. میزان هورمون تستسترون خون نیز با استفاده از کیت‌های تجاری RIA (پارس آزمون، تهران) اندازه گیری شد.

### تحلیل آماری

داده ها توسط نرم افزار SAS 9.2 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۳۵). نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk و روش UNIVARIATE انجام شد. داده‌های اندازه گیری شده در طول زمان با استفاده از روش MIXED که در آن زمان نمونه برداری در عبارت REPEATED مورد استفاده قرار گرفت ، تجزیه و تحلیل شد و حیوان در مدل معادله به عنوان یک عامل تصادفی در نظر گرفته شد. مقدار اولیه هر پارامتر اندازه گیری شده در ابتدای آزمایش در این مدل به عنوان متغیرهای متغیر برای پارامتر مربوط به آنها درج شده است. نتایج به عنوان میانگین و خطای استاندارد میانگین (SEM) گزارش شده است. از آزمون توکی برای مقایسه چند متغیره از میانگین استفاده شد و اختلاف آماری در $P<۰/۰۵$ اعلام شد.

## نتایج و بحث

### ویژگی‌های منی

اسیدهای چرب اشباع نشده تأثیر زیادی بر خصوصیات کیفیت اسپرم در گونه‌های مختلف دارند. در تلاش برای بهبود کیفیت اسپرم قوچ ، یک جیره پایه با مقادیر مختلف دانه کتان تهیه شده و طی ۱۲ هفته از دوره آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت.

مکمل دانه کتان بر محیط بیضه ، غلظت پلاسمایی تستوسترون و فعالیت گلوتاتیون پراکسیدها در جدول (۳)نشان داده شده است. ( $P<0.05$). اثر جیره ، طول زمان و و اثر متقابل آنها بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز معنی دار نبود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه قوچها با جیره پایه همراه با دانه کتان تاثیری بر قطر بیضه نداشته است. در مقابل ، در گاوهایی که روغن بذر کتان دریافت کرده اند ، افزایش در قطر اسکروتوم دیده شد (۳۰). این تفاوت را می‌توان به اختلاف بین گونه ها و تولید مثل فصلی در گوسفندان نسبت داد. در این مطالعه استفاده از ۱۰ درصد دانه کتان اثر معنی داری بر افزایش سطح هورمون تستوسترون داشت و این مشابه نظر حسین شاه و همکاران (۲۰) است که اعلام کردند استفاده از روغن این دانه موجب افزایش سطح تستوسترون سرم در بوفالوی نیلی می‌شود

نتایج ما نشان داد که افزودن ۱۰٪ دانه کتان به جیره غذایی ، غلظت اسپرم را بعد از ۱۲ هفته افزایش می‌دهد. این افزایش غلظت اسپرم به مرور زمان با افزایش سطح تستوسترون همسو است. این یافته ها در هماهنگی نزدیکی با مطالعه دیگری است که گزارش کرده، رژیم غذایی N-3 PUFA باعث افزایش اسپرماتوژنز از طریق محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه می‌شود (۳).

اثر افزودن دانه کتان در صفات کیفی اسپرم قوچ در جدول (۴) نشان داده شده است. غلظت اسپرم ، نسبت اسپرم زنده ، تحرک کل، شاخص‌های عملکرد غشای پلاسما در جیره حاوی ۱۰ در صد دانه کتان در مقایسه با گروه‌های ۵ درصد و صفر درصد بالاتر بود ( $P<0.05$). مکمل دانه کتان باعث افزایش درصد اسپرم با آکروزوم نرمال

می شود و همچنین در صد ا سپرم‌های غیر طبیعی در گروه ۱۰ در صد دانه کتان در مقایسه با سایر گروه‌های مربوطه کاهش یافته است ( P <0.05).

حسین شاه و همکاران (۲۰) نیز اعلام کردند استفاده از روغن این دانه موجب افزایش سطح تستوسترون سرم در بوفالوی نیلی می‌شود. علاوه بر این، ارتباط معنی داری بین اضافه کردن ۱۰٪ از دانه کتان و اکثر خ صو صیات ا سپرم که مورد ارزیابی قرار گرفتند از جمله ا سپرم زنده ، تحرک کل ، عملکرد غشای پلاسمایی و وضعیت آکروزوم بعد از ۱۲ هفته تغذیه با آن دیده شد که با یافته‌های قبلی در گاو نر (۳۰)، بز (۲۲) و خرگوش (۲۸) سازگار بود. تحرک و زنده ماندن بالاتر اسپرم که در گروهای ۱۰ در صد دانه کتان م شاهده می شود، که با غلظت بالاتری از PUFA ها از جمله DHA همراه ا ست که می‌تواند موجب انعطاف پذیری و سیالیت غشای پلاسمایی که قبلا توضیح داده شده بود گردد. مشخص شده است که تبدیل اسیدهای چرب n-3 به DHA نقش مهمی در عملکرد فلاژلا و حرکت ا سپرم ها دارد (۱۹). همایون خان و همکاران (۲۴) نیز اعلام کردند که دانه کتان به‌عنوان منبع امگا ۳ می‌تواند سبب اثرات مثبتی در پارامترهای تحرک اسپرم در گاو نر بشود که این درصد تحرک بیشتر شاید ناشی از ترکیب اسید چرب دم اسپرم که تحت تاثیراسید چرب دانه کتان است باشد. مطالعات نشان داد که بیشترین تاثیر PUFAs در ا سیدهای چرب دم اسپرم که عامل اصلی تحرک است می‌باشد (۲۸ ). جعفراوقلی و همکاران (۲۱) اعلام کردند احتمالاً تاثیرات بیشتر منابع امگا۳ برروی اسپرم‌های ضعیف و یا خارج از فصل تولید مثل می‌باشد. مطالعات دیگر همچنین نشان دادند که این افزایش تعداد اسپرم‌های زنده می‌تواند ناشی از مهار اپاپتوز بوسیله فعالیت PUFAs باشد (۱۰و ۲۸) . سایر محققین نیز اعلام کردند DHA می‌تواند سبب افزایش سطح تستوسترون سرم و تحرک اسپرم در انسان، خوک، بز و گوسفند گردد و دانه کتان یک منبع غنی از DHA می‌باشد (۹، ۱۰ و ۲۷).

یکپارچگی غشاء اسپرم یکی از پیش فاکتورهای مهم برای کیفیت ا سپرم و انجام واکنش آکروزومی جهت لقاح و باروری می‌باشد (۷). در این مطالعه مورفولوژی و غ شاء اکروزوم در تیمار ۱۰ در صد دانه کتان به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل بهبود یافته بود که این یافته با تحقیقاتی که جعفراوقلی و همکاران (۲۱) برروی اسپرم قوچ، غلامی و همکاران (۱۶) براسپرم گاوهولشتین و ادل و همکاران (۱) بر روی اسپرم بوفالو که پیشتر از روغن ماهی به‌عنوان منبع امگا۳ استفاده کرده بودند مطابقت دا شت. تست هیپوا سموتیک (HOST) که نشان دهنده یکپارچگی کل غشاء اسپرم می‌باشد انجام شد و نتایج نشان داد دانه کتان در هر دوسطح ۵ و ۱۰ درصد موجب بهبود کیفیت غشاء ا سپرم نسبت به تیمار شاهد می شود که این افزایش کیفیت را شاید بتوان به PUFAs موجود دردانه کتان دانست که با تحقیقات دیگر همخوانی دارد(کارگر و همکاران (۲۲)؛ موریکاوی و همکاران (۲۸)).

تیمار ، طول زمان و اثر متقابل طول زمان و تیمار تأثیری بر LIN، STR، ALH و VCL نداشت (P> 0.05 ؛ جدول ۵). با این حال ، BCF و VSL در گروه ۱۰ درصد دانه کتان در مقایسه با گروه ۵ درصد و شاهد بهبود یافته بود (P <0.05). تأثیر متقابل معنی داری از طول زمان و تیمار برای VAP م شاهده شد ، که مکمل دانه کتان در هفته اول آزمایش بر VAP تأثیر نمی‌گذارد اما VAP بالاتر در ۱۰ درصد در مقایسه با گروه‌های ۵ درصد و شاهد پس از ۱۲ هفته از دانه کتان ثبت شد (P <0.05). تأثیر مکمل دانه کتان در ترکیب اسیدهای چرب اسپرم قوچ در جدول (۶) نشان داده شده است. مکمل دانه کتان بر درصد میریستیک، پالمیتیک، استئاریک، اولئیک، لینولئیک، EPA و DPA تأثیر نگذا شت، اما میزان DHA و نسبت n-3: n-6 PUFA ونسبت SFA: PUFA تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت (P <0.05). گنجاندن جیره حاوی دانه کتان باعث افزایش DHA و نسبت n-3: n-6 PUFA و کاهش نسبت SFA: PUFA در گروه ۱۰ در صد در مقایسه با سایر گروه‌ها شد (P <0.05). اثر متقابل طول زمان و تیمار در DHA، n-3: n-6 و نسبت SFA:PUFA نشان داد که در پایان هفته اول آزماهاش تاث‌هار معن‌ها دارها وجود ندارد. با این حال ، DHA و نسبت n-3: n-6 PUFA بالاتر و نسبت SFA: PUFA در تیمار ۱۰ درصد دانه کتان در مقایسه با سایر تیمارها پایین تر بود ( P <0.05).

برخی از شواهد حاکی از آن ا ست که امگا ۳ دارای خا صیت ضد التهابی و کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشد (۴). گلوتاتیون پر اکسیداز از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مهمی ا ست که هیدروژن پراکسیداز را در حضور گلوتاتیون احیاء شده کاتالیز می‌کند (۳۳). در این تحقیق میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که افزودن دانه کتان نمی‌تواند به طور معنی داری باعث افزایش این آنزیم در خون بشود.در مطالعه حاضر، همانطور که انتظار می‌رفت اسید چرب DHA در گروه تیمار ۱۰ درصد دانه کتان نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی داری نشان داد که م شابه نتیجه ای بود که صمدیان و هم کاران (۳۴) و جعفراوقلی و هم کاران (۲۱) از تاثیر روغن ماهی به‌عنوان منبع امگا۳ بر اسیدهای چرب اسپرم بدست آورده بودند.

**جدول۳**- تأثیر مکمل جیره دانه کتان بر قطر بیضه، غلظت تستوسترون پلاسما و گلوتاتیون پراکسیداز(GPX) در قوچهای کردی در پایان هفته های۱ و ۱۲ [1]

**Table 3**- Effect of dietary flaxseed supplementation on testis circumference and plasma concentrations of testosterone and glutathione peroxides (GPX) in Kurdish rams at the end of 1 and 12 weeks [1]

| متغییرها Variables | هفته اول First week | | | هفته ۱۲ 12 week | | | کل Total | | | SEM[4] | SEM Total | P value | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0% دانه کتان FLS0%[3] | 5% دانه کتان FLS5% | 10% دانه کتان FLS10% | 0% دانه کتان FLS0% | 5% دانه کتان FLS5% | 10%دانه کتان FLS10 % | 0%دانه کتان FLS0% | 5% دانه کتان FLS5% | 10%دانه کتان FLS10 % | | | Treatment | Time | Treatment × Time |
| محیط بیضه Testis circumferenc[2] (cm) | 27.07 | 27.88 | 27.67 | 28.99 | 29.00 | 29.82 | 28.03 | 28.44 | 28.73 | 0.80 | 0.54 | 0.68 | 0.01 | 0.78 |
| تستسترون Testosterone (nM/L) | 4.53$^{b}$ | 4.82$^{b}$ | 4.87$^{b}$ | 5.22$^{ab}$ | 5.52$^{a}$b | 6.54$^{a}$ | 4.87$^{b}$ | 5.17$^{ab}$ | 5.71$^{a}$ | 0.07 | 0.06 | 0.05 | <0.01 | 0.29 |
| گلوتاتیون پراکسیداز GSX (Hb/g) | 385.00$^{ab}$ | 379.20$^{b}$ | 391.60$^{ab}$ | 388.60$^{b}$ | 391.00$^{ab}$ | 446.00$^{a}$ | 386.80 | 385.10 | 418.80 | 20.15 | 14.25 | 0.19 | 0.17 | 0.41 |

[1] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P< 0.05).
[2] محیط هردو بیضه
[3] دانه کتان
[4] خطای استاندارد از میانگین

[1] Means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).
[2] Circumference of both testicles
[3] Flaxseed
[4] SEM, standard error of the mean

**جدول ٤**–تأثیر مکمل جیره دانه کتان در صفات کیفی اسپرم قوچ

**Table 4.** Effect of dietary flaxseed supplementation on quality attributes of ram sperm

| متغییرها | هفته اول First week | | | هفته ۱۲ 12 week | | | کل Total | | | SEM | SEM Total | P value | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0% دانه کتان FLS0% | 5% دانه کتان FLS5% | 10% دانه کتان FLS10% | 0% دانه کتان FLS0% | 5% دانه کتان FLS5% | 10%دانه کتان FLS10% | 0%دانه کتان FLS0% | 5% دانه کتان FLS5% | 10% دانه کتان FLS10 % | | | Treatment | Time | Treatment× Time |
| غلظت اسپرم Semen concentration (×109/ml) | 2.92$^{b}$ | 3.15$^{b}$ | 3.31$^{b}$ | 2.93$^{b}$ | 3.26$^{b}$ | 4.10$^{a}$ | 2.93$^{b}$ | 3.20$^{b}$ | 3.70$^{a}$ | 0.23 | 0.16 | <0.01 | 0.12 | 0.21 |
| اسپرم زنده (٪) Live sperm | 59.00$^{b}$ | 60.60$^{b}$ | 61.84$^{b}$ | 62.60$^{b}$ | 64.80$^{b}$ | 78.47$^{a}$ | 60.80$^{b}$ | 62.70$^{b}$ | 70.16$^{a}$ | 2.90 | 2.05 | <0.01 | <0.01 | 0.06 |
| تحرک کلی Total motility (%) | 53.80$^{b}$ | 54.60$^{b}$ | 55.28$^{b}$ | 55.40$^{b}$ | 57.34$^{b}$ | 78.47$^{a}$ | 54.60 $^{b}$ | 55.97$^{b}$ | 62.24$^{a}$ | 3.01 | 2.13 | 0.04 | 0.02 | 0.09 |
| عملکرد غشای پلاسمایی Plasma membrane functionality (%) | 71.80$^{b}$ | 72.60$^{b}$ | 73.75$^{b}$ | 72.20$^{b}$ | 74.56$^{b}$ | 82.51$^{a}$ | 72.00$^{b}$ | 73.58$^{b}$ | 78.13$^{a}$ | 1.93 | 1.42 | 0.01 | 0.03 | 0.10 |
| اسپرم غیر نرمال Abnormal sperm (%) | 27.20$^{b}$ | 26.72$^{b}$ | 25.86$^{b}$ | 26.70$^{b}$ | 25.00$^{b}$ | 19.00$^{a}$ | 26.95$^{b}$ | 25.86$^{b}$ | 22.43$^{a}$ | 1.70 | 1.20 | 1.20 | 0.04 | 0.16 |
| آکروزوم نرمال Normal acrosome (%) | 84.60$^{b}$ | 85.40$^{b}$ | 85.80$^{b}$ | 86.38$^{b}$ | 87.64$^{b}$ | 91.68$^{a}$ | 85.49$^{b}$ | 86.52$^{b}$ | 88.74$^{a}$ | 1.42 | 1.01 | 0.08 | <0.01 | 0.30 |

میانگینهای هر سطر با حروف غیر مشترک معنی دار می باشند($P<0.05$)

۱ قوچ تغذیه شده با جیره پایه همراه با سطوح مختلف دانه کتان (۰ ، ۵ و ۱۰ درصد) طی ۱۲ هفته

*خطای استاندارد از میانگین

The averages of each line with non-common letters are significant ($P<0.05$

[1] Rams fed with basic diet with different levels of flaxseed (0, 5 and 10%) during 12 weeks

[2] Note: SEM, standard error of the mean

**جدول۵**- تأثیر مکمل جیره دانه کتان بر ویژگیهای حرکتی اسپرم قوچ

**Table 5**. Effect of dietary flaxseed supplementation on motion characteristics of ram sperm

| متغییرها | هفته اول First week | | | هفته ۱۲ 12 week | | | کل Total | | | SEM | SEM Total | P value | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0% دانه کتان FLS0%[1] | 5% دانه کتان FLS5% | 10% دانه کتان FLS10% | 0% دانه کتان FLS0% | 5% دانه کتان FLS5% | 10% دانه کتان FLS10% | 0% دانه کتان FLS0% | 5% دانه کتان FLS5% | 10% دانه کتان FLS10% | | | Treatment | Time | Treatment× Time |
| خطی بودن حرکت LIN(%) | 61.90 | 62.56 | 63.60 | 63.48 | 63.60 | 64.00 | 62.69 | 63.08 | 63.80 | 1.93 | 1.37 | 0.84 | 0.53 | 0.21 |
| درصد مستقیم بودن STR(%) | 87.00 | $87.80^{ab}$ | $88.20^{ab}$ | $89.46^{ab}$ | $90.00^{ab}$ | $93.20^{a}$ | 88.23 | 88.90 | 90.70 | 1.94 | 0.22 | 0.43 | 0.05 | 0.71 |
| دامنه نوسانات جانبی سر اسپرم ALH(µm) | 2.91 | 2.89 | 2.80 | 3.07 | 2.83 | 2.66 | 2.99 | 2.87 | 2.73 | 0.21 | 0.15 | 0.48 | 0.95 | 0.77 |
| فرکانس نوسانات سراسپر BCF (Hz) | $9.30^{c}$ | $9.87^{bc}$ | $10.32^{b}$ | $9.60^{bc}$ | $9.90^{bc}$ | $11.31^{a}$ | $9.45^{b}$ | $9.89^{b}$ | $10.82^{a}$ | 0.31 | 0.22 | <0.01 | 0.09 | 0.29 |
| میانگین سرعت در مسیر منحنی VCL(µm/s) | $149.00^{b}$ | $148.00^{b}$ | $151.20^{b}$ | $149.60^{b}$ | $150.60^{b}$ | $159.20^{a}$ | 149.30 | 149.30 | 155.20 | 3.07 | 2.17 | 0.11 | 0.15 | 0.47 |
| میانگین سرعت حرکتی اسپرم در مسیر مستقیم VSL(µm/s) | $104.20^{b}$ | $105.00^{b}$ | $106.36^{b}$ | $104.30^{b}$ | $105.20^{b}$ | $110.88^{a}$ | $104.25^{b}$ | $105.10^{b}$ | $108.62^{a}$ | 1.16 | 0.82 | <0.01 | 0.10 | 0.12 |
| میانگین سرعت اسپرم در میانگین مسیر VAP(µm/s) | $101.00^{b}$ | $103.00^{b}$ | $101.00^{b}$ | $103.60^{b}$ | $104.20^{b}$ | $119.00^{a}$ | $102.30^{b}$ | $103.60^{b}$ | $110.00^{a}$ | 1.49 | 1.05 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

میانگینهای هر ستون با حروف غیر مشترک معنی دار می باشند($P<0.05$)

دانه کتان[1]

میانگین سرعت در مسیر منحنی، میانگین سرعت حرکتی اسپرم در مسیر مستقیم، میانگین سرعت اسپرم در میانگین مسیر واقعی، خطی بودن حرکت، درصد مستقیم بودن، دامنه نوسانات جانبی سر اسپرم، فرکانس نوسانات سراسپرم

The averages of each line with non-common letters are significant ($P<0.05$)

[1] Flaxseed

(VSL) straight-line velocity, (VAP) average path velocity, (LIN) linearity, (STR) straightness, (ALH) amplitude of lateral head displacement ,( BCF) beat-cross frequency

**جدول ٦**- تأثیر مکمل جیره دانه کتان بر ترکیب اسیدهای چرب (درصد) اسپرم قوچ

**Table 6**. Effect of dietary flaxseed supplementation on fatty acid composition (%) of ram sperm

| متغییرها | هفته اول First week | | | هفته ۱۲ 12 week | | | کل Total | | | SEM | SEM Total | P value | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0% دانه کتان FLS0 %[1] | 5% دانه کتان FLS5% | 10% دانه کتان FLS10% | 0% دانه کتان FLS0% | 5% دانه کتان FLS5% | 10%دانه کتان FLS10% | 0%دانه کتان FLS0% | 5% دانه کتان FLS5% | 10%دانه کتان FLS10 % | | | Treatment | Time | Treatment× Time |
| میرستیک Myristic C14:0 | 7.12 | 7.32 | 7.56 | 7.21 | 7.04 | 6.88 | 7.17 | 7.18 | 7.22 | 0.54 | 0.38 | 0.99 | 0.51 | 0.77 |
| پالمتیک Palmitic C16:0 | $28.13^{bc}$ | $28.93^{abc}$ | $29.19^{ab}$ | $31.64^{a}$ | $21.97^{bc}$ | $25.72^{bc}$ | $29.88^{a}$ | $28.08^{ab}$ | $27.45^{b}$ | 1.22 | 0.87 | 0.14 | 0.57 | 0.02 |
| استئاریک Stearic C18:0 | 19.50 | 18.50 | 17.69 | 19.00 | 17.61 | 16.03 | 19.24 | 18.06 | 16.86 | 1.25 | 0.88 | 0.19 | 0.33 | 0.89 |
| اولئیک Oleic C18:1 | 8.01 | 7.24 | 7.07 | 8.23 | 7.89 | 7.12 | $8.12^{a}$ | $7.56^{ab}$ | $7.09^{b}$ | 0.52 | 0.36 | 0.16 | 0.47 | 0.84 |
| لینئولئیک C18:2 (n − 6) | $5.88^{a}$ | $5.59^{a}$ | $5.39^{a}$ | $5.30^{ab}$ | $4.92^{ab}$ | $4.35^{b}$ | $5.58^{a}$ | $5.25^{ab}$ | $4.87^{b}$ | 0.34 | 0.24 | 0.14 | 0.01 | 0.87 |
| ایکوزاپنتانوئیک اسید EPA[1] C20:4 (n − 6) | 2.52 | 2.81 | 2.96 | 2.44 | 2.89 | 3.11 | $2.48^{b}$ | $2.85^{ab}$ | $3.03^{a}$ | 0.26 | 0.18 | 0.11 | 0.81 | 0.89 |
| دوکوزاپنتانوئیک اسید (DPA20:5 (n − 3 | 0.60 | 0.54 | 0.54 | 0.63 | 0.64 | 0.70 | 0.62 | 0.59 | 0.62 | 0.06 | 0.04 | 0. 90 | 0.07 | 0.54 |
| دوکوزاهگزانوئیک اسید[2] DHA22:6 (n − 3) | $22.18^{b}$ | $22.52^{b}$ | $22.90^{b}$ | $23.08^{b}$ | $24.54^{b}$ | $31.47^{a}$ | $22.63^{b}$ | $23.53^{b}$ | $27.19^{a}$ | 0.84 | 0.60 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| n-3/n-6 | $2.79^{b}$ | $2.73^{b}$ | $2.84^{b}$ | $3.10^{b}$ | $3.21^{b}$ | $4.33^{a}$ | $2.94^{b}$ | $2.97^{b}$ | $3.59^{a}$ | 0.17 | 0.12 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| SFA/PUFA[3] | $1.75a^{b}$ | $1.81^{ab}$ | $1.78^{ab}$ | $1.83^{a}$ | $1.63^{b}$ | $1.27^{c}$ | $1.78^{a}$ | $1.72^{a}$ | $1.52^{a}$ | 0.09 | 0.06 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

خطای استاندارد از میانگین،

[1] ایکوزاپنتانوئیک اسید،

[2] دوکوزاهگزانوئیک اسید،

[3] اسید چرب اشباع، اسید چرب غیر اشباع با باند مضاعف

Note: SEM, standard error of the mean;

[1] EPA, Eicosapentaenoic acid

[2] DHA, Docosahexaenoic acid

[3] SFA, Saturated fatty acid, PUFA, Polyunsaturated fatty acid.

در پژوهش Fair و همکاران (۱۴) که در آن قوچ ها با مکمل روغن ماهی تغذیه شـــده بودند، اختلاف معنی داری در میزان DHA م شاهده ن شد اما بیان کردند که غلظت EPA ا سپرم‌ها افزایش یافته ا ست این اختلاف یافته شاید به دلیل ف صل آزمایش و یا میزان ا سید چرب امگا ۳ جیره باشد. نسبت اسیدهای چرب اشباع به PUFA کمی کاهش یافته بود اما این تفاوت در هر دو سـطح ۵ و ۱۰ درصـد معنی دار نبود.

## نتیجه‌گیری کلی

می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزودن ۱۰ در صد دانه کتان به جیره قوچ کردی در خارج از فصـل تولید مثل می‌تواند سـبب بهبود کیفیت اسـپرم گردد. همچنین ترکیب اسـید چرب اسـپرم می‌تواند تحت تاثیر چربی جیره قرار گیرد. اما تحقیقات بیشـتری نیاز اسـت تا بتوان اثرات دیگر اشـکال دانه کتان مانند روغن و پودر را بررسـی کرد. همچنین پیشـنهاد می‌شـود در فصـل تولید مثل و با مقادیر دیگر نیز مطالعات مشابهی انجام گیرد.

## منابع


1.Adeel, M. I. A. 2009. Improvement of liquid and frozen-thawed semen quality of Nili-Ravi buffalo bulls (Bubalusbubalis) through supplementation of fat. Theriogenology, 71:1220–1225.

2.Aksoy, Y., H. Aksoy, K. Altinkaynak, H. R. Aydin, and A. Ozkan. 2006. Sperm fatty acid composition in subfertile men. Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids. 75(2): 75-79

3.Al-Anazi, Y., M. Al-Mutary, M. Al-Ghadi, M. Alfuraiji, A. Al-Himaidi, and A. Ammari. 2017. Seasonal variations in scrotal circumference and semen characteristics of Naimi and Najdi rams in Saudi Arabia. South African Journal of Animal Science, 47: 454-459.

4.Aliasghari, F., M. H. Eftekhari, M. A. Babaei Beigi, J. Hasanzadeh, and N. Mazooji. 2013. The effect of conjugated linoleic acids and omega-3 fatty acids supplementation on some inflammatory and oxidative stress markers in atherosclerosis. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 4:35-44.

5.Alizadeh, A., V. Esmaeili, A. Shahverdi, and M. Rashidi. 2014. Dietary Fish Oil Can Change Sperm Parameters and Fatty Acid Profiles of Ram Sperm during Oil Consumption Period and after Removal of Oil Source. Cell Journal, 16(3): 289-298.

6. Bouwens, M. V. D. 2009. Fish-oil supplementation induce antiinflammatory gene expression profiles in human blood mononuclear cells. American Journal of Clinical Nutrition, 90:415-424.

7. Brinsko, S. P., D. D. Varner, C. C. Love, T. L Blanchard, and Day. 2005. Effect of feeding a DHA-enriched nutriceutical on the quality of fresh, cooled and frozen stallion semen. Theriogenology, 63: 1519–1527.

8. Cerolini, S., L. Zaniboni, A. Maldjian, and T. Gliozzi. 2006. Effect of docosahexaenoic acid and [alpha]-tocopherol enrichment in chicken sperm on semen quality, sperm lipid composition and susceptibility to peroxidation. Theriogenology, 66: 877–886.

9. Conquer, J. A., J. B. Martin, I. Tummon, L. Watson and Tekp. 1999. Fatty acid analysis of blood serum, seminal plasma, and spermatozoa of normozoospermic vs Asthernozoospermic males. Lipids, 34: 793–799.

10-. Dolatpanah, M. B., A. Towhidi, A. Farshad, Rashidi A, and A. Ezayazdi_. 2008. Effect of fish oil on semenquality of goats. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 21:29–34.

11.Drokin, S. I, T. N. Vaisberg, E. F. Kopeika, K. D. Miteva, and G. L. Pironecheva. 1999. Effect of cryopreservation on lipids and some physiological features of spermatozoa from rams pastured in highlands and in valleys. Cytobioscience, 100(393):27-36

12. Eslamian, G., N. Amirjannati, M. R. Sadeghi, Rashidkhani, B, S. Pahlavan, A. Hooshangi, and A. Hekmatdoost 2013. The effects of combined supplementation of docosahexaenoic acid and vitamin E on fatty acid changes in sperm membrane in asthenozoospermic men. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 8 (1): 125-129.

13-. Esmaeili, V., A. Shahverdi, A. R. Alizadeh, H. Alipour, and A. Towhidi. 2012. Fatty acid profiles of ram's sperm after removing some fatty acid sources from the diets and persistency of fatty acids in sperm. International Journal of Fertility and Sterility, 5(4): 211-216.

14.Fair, S., D. N. Doyle, M. G. Diskin, and A. A. Hennessy. 2014. The effect of dietary n − 3 polyunsaturated fatty acids supplementation of rams on semen quality and subsequent quality of liquid stored semen. Theriogenology, 81: 210–219.

15. Folch, J. L. S. 1957. A simple method for theisolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry, 226: 497–509.

16. Gholami, H., M. Chamani, A, Towhidi, M. H. Fazeli. 2010. Effect of feeding a docosahexaenoic acid-enriched nutriceutical on the quality of fresh and frozen-thawed semen in Holstein bulls. Theriogenology, 74:1548–58.

17. Gulliver, C. E., M. A. Friend, B. J. King, and E. T. Clayton. 2012. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in reproduction of sheep and cattle. Animal Reproduction Science, 131: 9–22.
18. Hamilton, S., R. J. Hamilton, and P. A. Sewell.1992. Extraction of lipids and derivative formation. In: Lipid Analysis—A Practical Approach. University Press, Oxford, UK, pp.13–64.
19. Hedayat-Evrigh, N., F. Moradi,V. Vahedi, B. Navidshad, and A. Seifi-Jamadi.2019. Influence of various dietary fat sources on freezing capacity of Moghani ram semen. South African Journal of Animal Science, 49: 505-512.
20. HussainShah, S. M., A. Shujait, M. Zubair, H. Jamil, and A. Nazir. 2016. Effect of supplementation of feed with Flaxseed (Linumusitatisimum) oil on libido and semen quality of Nilli-Ravi buffalo bulls. Journal of Animal Science and Technology, 58:25.
21. Jafaroghli, M., H. Abdi-Benemar, M. J. Zamiri, B. Khalili, A. Farshad, and A. Shadparvar. 2014. Effects of dietary n− 3 fatty acids and vitamin C on semen characteristics, lipid composition of sperm and blood metabolites in fat-tailed Moghani rams. Animal reproduction science, 147: 17-24.
22. Kargar, R., M. Forouzanfar, G, Ghalamkari, and M. H. Nasr Esfahani. 2017. Dietary flax seed oil and/or Vitamin E improve sperm parameters of cloned goats following freezing-thawing. Cryobiology, 74: 110-114.
23. Kesavulu, M. K. B. 2002. Effect of w-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type2 diabetic patients. Diabetesmetab (paris), 28:20-26.
24. Khan, H., S. M. Qureshi, I. Khan, S. U. Rehman, and U. L. T Mehsud. 2015. Dietary Flaxseed supplementation effect on bovine semen quality parameters. Veterinaria, 3: 9-13.
25. Khosroshahi, H., J. Houshyar, A. Tabrizi, A, Vatankhah, and N. Zonouz. 2010. Effect of omega-3 fatty acid on oxidative stress in patients on hemodialysis. Iranian Journal of Kidney Diseases, 4:322-327.
26. Mania, S., R, Tylingo, and A. Michałowska. 2018. The drop-in-drop encapsulation in chitosan and sodium alginate as a method of prolonging the quality of linseed oil. Polymers, 10:1355.
27. Mehdizadeh haft cheshmeh, K., F. Farokhi Ardebili, and A. Bernoosi. 2011. Effect of staining method on morphometry of Ghezel sperm head with using CASA. First National Congress of Agricultural Science & Technology (MAST). University of Zanjan, 19 to 21 September.
28. Mourvaki, E., R. Cardinali, A.Dal Bosco, L. C. Corazzi, and C. Castellini. 2010.Effects of flaxseed dietary supplementation on sperm quality and on lipid composition of sperm subfractions and prostatic granules in rabbit. Theriogenology, 73: 629-637.
29. Paglia, D. E., and W. N. Valentine.1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. The Journal of laboratory and clinical medicine, 70: 158-169
30. Perumal, P., S. Chang, K. Kobu, K. Vupru, and S. Bag. 2019. Flaxseed oil modulates semen production and its quality profiles, freezability, testicular biometrics and endocrinological profiles in mithun. Theriogenology 136:47-59.
31. Piornos, J. A., C. Burgos-Díaz, E. Morales, M. Rubilar, and F. Acevedo. 2017. Highly efficient encapsulation of linseed oil into alginate/lupin protein beads: Optimization of the emulsion formulation. Food Hydrocolloids, 63: 139-148.
32. Rooke, J. A, C. C Shao, and B. K. Speake. 2001. Effects of feeding tuna oil on the lipid composition of pig spermatozoa and in vitro characteristics of semen. Reproduction, 121: 315–322.
33.Rush, J., and S. H. Sandiford. 2003. Plasma glutathione peroxidase in healthy young adults: influence of gender and physical activity. Clinical Biochemistry, 36:345-351.
34. Samadian, F., A, Towhidi, K. Rezayazdi, and M. Bahreini. 2010. Effects of dietary n-3 fatty acids on characteristics and lipid. Animal, 4 (12), 2017–2022.
35. SAS (2004) 'Statistical Analysis Software.' (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA.
36. Zaniboni, L., R. Rizzi, and S. Cerolini.2006. Combined effect of DHA and -tocopherol enrichment on sperm quality and fertility in the turkey. Theriogenology, 65: 1813–1827.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 221-233

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۳۳-۲۲۱

# The effect of dietary flaxseed supplementation on sperm fatty acid composition, semen quality attributes and some blood parameters in Kurdish ram

**Saeed Firouzeh[1] , Amir Hooshang Fallah rad[2*], Pezhman Mirshokraei[2] , Abbas Parham[3] and Mohsen Danesh mesgaran[4]**

Submitted: 14-06-2020
Accepted: 19-10-2020

**Introduction** Reproductive performance of domestic animals has a great impact on the profitability of the farms. It has been shown that several factors such as breed, age, season and nutritional management affect the quality of the produced semen and consequently fertility of rams. Among various nutritional factors influencing semen quality, fat has a great impact on both quantity and quality of produced spermatozoa so that its value is correlated with cell membrane fluidity, potent intracellular signal transduction molecules, and susceptibility to oxidative damage. It has been postulated that by participating in sperm plasma membrane fatty acids (FA), the ingested fat can change the ratio of polyunsaturated to saturated fatty acids (PUFA: SFA) and thereby improve several aspects of sperm quality. Also, lipids comprise a wide-range class of molecules that not only is served as a source of energy but also play a crucial role in the structure and function of spermatozoa. Dietary n□3 PUFA supplementation has also shown to improve semen quality parameters in rams. Flaxseed oil contains up to 90% PUFAs, of which about 50% is α-linolenic acid. Several studies conducted during past decades indicate that dietary flaxseed supplementation improves sperm parameters of different species such as bovine, goat and rabbit.

**Materials and Methods** Fifteen mature 3-5 years old Kurdish ram weighing 65±2.5 kg (mean ±SE) were randomly allocated into three groups during 12 weeks of the experimental period. Animals were individually fed a standard basal diet supplemented with different levels of flaxseed. Treatment included FLS-0 (basal diet; control), FLS-5 (basal diet containing 5% flaxseed) and FLS-10 (basal diet containing 10% flaxseed. Blood and fresh semen samples were collected at weeks 1 and 12 of the experiment. The collected samples were examined for sperm concentrations, sperm motility, viability, acrosome integrity, host test and fatty acids profiles. The testis circumference was measured with flexible cloth tape. The largest circumference of the testes and both scrotum was measured after pushing the testes firmly into the scrotum. To measure plasma concentrations of glutathione peroxidase and testosterone, blood samples were collected from the jugular vein of all the rams at the beginning and after 1 and 12 weeks of feeding experimental diet.

**Results and Discussion** Flaxseed supplementation did not affect testicles circumference, however, supplementation of flaxseed increased plasma concentrations of testosterone in (10% flaxseed) FLS-10 group compared to (5% flaxseed) FLS-0 ($P<0.05$). Treatment, time and their interaction did not affect glutathione peroxidase (GPX) activity. Semen concentration, proportion of live sperm, total motility and plasma membrane functionality was higher in FLS-10 compared to FLS-5 and FLS-0 groups ($P<0.05$). Flaxseed supplementation tended to increase percentage of sperm with normal acrosome ($P<0. 01$); however, percentage of abnormal was decreased in FLS-10 compared to the other corresponding groups ($P<0.05$). Treatment, time and interaction effect of treatment × time did not affect LIN, STR, ALH and VCL ($P>0.05$). However, BCF and VSL were improved in FLS-10 group as compared to the FLS-5 and FLS-0 group ($P<0.05$). A significant interactive effect of treatment

1-Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine; Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3- Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine; Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
4-Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(*- Corresponding Author Email: umfallah@um.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v13i3.87332

× time was noted for VAP, where flaxseed supplementation did not affect VAP at first week of the experiment but higher VAP was recorded in FLS-10 compared to FLS-0 and FLS-0 groups after 12 weeks of flaxseed feeding ($P<0.05$). Flaxseed supplementation did not affect percentage of myristic, palmitic, stearic, oleic, linoleic, EPA and DPA, but the proportion of DHA, and the ratio of n-3:n-6 PUFA and SFA:PUFA was affected by the treatments ($P<0.05$). Dietary inclusion of flaxseed increased proportion of DHA and n-3: n-6 PUFA ratio and decreased SFA: PUFA ratio in FLS-10 compared to FLS-5 and FLS-0 ($P<0.05$). The interactive effect of treatment × time on DHA, n-3: n-6 and SFA: PUFA ratio revealed that there was no significant effect between treatment after first week of the experiment; however, proportion of DHA and n-3: n-6 PUFA ratio was higher and SFA: PUFA ratio was lower in FLS-10 compared to FLS-5 and FLS-0 ($P<0.05$). the significant correlations between addition of 10% flaxseed and most of the evaluated semen characteristics including live sperm, total motility, plasma membrane functionality, and acrosome status following 12 weeks of treatment feeding was in agreement with previous findings in male goat and rabbit. Other fatty acids concentrations, such as, linoleic acid, and docosahexaenoic acid (DHA) was improved by dietary flaxseed supplementation.

**Conclusion** It can be concluded that adding 10% flaxseed to the Kurdish ram diet out of the breeding season can improve sperm quality. Sperm fatty acid composition can also be affected by dietary fat. But more research is needed to look at the effects of other flaxseed products, such as oil and powder. It is recommended that similar studies be conducted during the breeding season and with other amounts of flaxseed.

**Keywords**: Fatty acid, Flaxseed, Omega-3, Kurdish Ram, Sperm

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۴۸-۲۳۵

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 235-248

مقاله علمی- پژوهشی

# بررسی ترکیبات ضایعات تقطیری گندم و اثر سطوح مختلف آن بر عملکرد و ریخت‌شناسی ژژنوم در جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین و رشد

حشمت سپهری[1*]، زینب نوری[2]، امیر آذرلی[3]، علی رضا حسابی نامقی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۱

## چکیده

به منظور بررسی اثر تغذیه سطوح مختلف ضایعات تقطیری گندم بر عملکرد و ریخت‌شناسی روده جوجه‌های گوشتی، دو آزمایش مجزا انجام شد. در هر آزمایش تعداد ۴۵۰ قطعه جوجه گوشتی مخلوط یک روزه سویه راس- ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ گروه و ۶ تکرار در هر گروه (هر تکرار دارای ۱۵ قطعه جوجه) درطی دوره‌های آغازین و رشد مورد آزمایش قرار گرفتند. جوجه‌های انتخابی برای سن ۲۲ تا ۴۲ روزگی از ابتدای دوره تا ۲۱ روزگی با جیره فاقد ضایعات تقطیری گندم تغذیه شدند. در آزمایش اول که جوجه‌ها از سن ۱ تا ۲۱ روزگی مورد آزمایش قرار گرفتند، سطوح صفر،۳، ۶، ۹ و ۱۲ در صدی و در آزمایش دوم که از ۲۲ تا ۴۲ روزگی ادامه یافت، سطوح صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ در صدی از ضایعات تقطیری گندم استفاده شد. مطابق نتایج حاصل از تجزیه شیمیایی ضایعات تقطیری گندم، مقادیر پروتئین‌خام، چربی‌خام، فیبرخام، لیزین، متیونین، کلسیم و فسفرکل به ترتیب ۳۰/۵، ۸/۵، ۴، ۰/۵۷، ۰/۵۳، ۰/۲۶ و ۰/۹۳ درصد بود. میانگین افزایش وزن روزانه در کل دوره پرورش (۱ تا ۲۱ روزگی) بین گروه‌های مختلف آزمایشی دارای تفاوت معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، به‌طوری که بیشترین میانگین افزایش وزن کل به ترتیب مربوط به گروه‌های حاوی ۳ درصد و شاهد (۸۴۶/۷۴ و ۸۴۷/۳۱ گرم) بود. همچنین جوجه‌های تغذیه شده با سطح ۱۲ در صد ضایعات تقطیری گندم مصرف خوراک کمتری (۱۱۳۶/۵۹گرم) نسبت به سایر گروه‌ها و گروه شاهد داشتند (P<۰/۰۵). در سنین ۳۰ تا ۳۷ روزگی و ۳۸ تا ۴۵ روزگی، با توجه به طی شدن دوره عادت‌پذیری (پرنده ۷ روز ضایعات تقطیری گندم مصرف کرده است)، مصرف سطوح بالاتر ضایعات تقطیری گندم (۱۵ و ۲۰ در صد) باعث وزن بیشتری در جوجه‌های تغذیه شده با این سطوح نمود (P<۰/۰۵). مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف ضایعات تقطیری گندم در بازه‌های زمانی مختلف تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد. افزایش سطح ضایعات تقطیری گندم در هر دو آزمایش، نتایج معنی‌داری بر صفات ریخت‌شناسی ژژنوم نداشت و با افزایش سطح ضایعات تقطیری گندم، ارتفاع پرزها کاهش و طول کریپت‌ها در ژژنوم افزایش یافت. مطابق نتایج حاصل از این آزمایش‌ها، بهترین سطح جایگزینی ضایعات تقطیری گندم بر پایه ذرت-کنجاله سویای جوجه‌های گوشتی در بازه زمانی ۱ تا ۲۱ روزگی، ۳ درصد و در بازه زمانی ۲۲ تا ۴۵ روزگی ۲۰ درصد بود.

**واژگان کلیدی:** جوجه، ریخت‌شناسی ژژنوم، عملکرد، ضایعات تقطیری گندم

## مقدمه

کمبود منابع اصلی جیره غذایی طیور از قبیل ذرت و کنجاله سویا در ایران و افزایش قیمت آنها، ضرورت استفاده از خوراک های جایگزین و ارزان‌تر را نشان می‌دهد. جیره‌های غنی از پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای باعث افزایش گران‌روی محتویات دستگاه گوارش و عدم تعادل جمعیت باکتری‌های آن می‌شوند (۲). تفاله خشک دانه گندم تقطیر شده همراه با مواد حل شده[1] (DDGS) یک محصول فرعی در تولید اتانول می‌باشد. در طی تولید الکل، نشاسته از دانه گرفته شده و به الکل و دی‌اکسید کربن تبدیل می‌شود. با تجزیه نشاسته به الکل، مابقی مواد مغذی در دانه باقی می‌مانند که تحت

۱-استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران
۲-دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه پیام نور، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران.
۳-دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه پیام نور، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران
۴-استادیار پژوهشی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان آموزش تحقیقات و ترویج کشاورزی مشهد، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: h.sepehrimoghadm@pnu.ac.ir)
DOI: 10.22067/ijasr.v13i2.74299

عنوان بقایای تخمیر غلات نام گرفته ا ست. تحقیقات بر ارزش غذایی تفاله خ شک غلات تقطیر شده از ۵۰ سال پیش آغاز شده و همواره ادامه دا شته ا ست (۲۵). محتوی انرژی قابل متابولیسم بالا، پروتئین خام متوسط و فسفر قابل هضم، تفاله خشک گندم تقطیر شده را تبدیل به یک ماده غذایی باارزش و ارزان قیمت نموده است (۱۹و۲۳). فرآیند تولید بر ارزش تغذیه‌ایDDGS تأثیرگذار است (۴) و حرارت می‌تواند به عنوان یک عامل تعیین‌کننده در قابلیت هضم اسیدهای آمینه باشد. استفاده از DDGS در جیره طیور سودمندی‌هایی در عملکرد و ر شد گونه‌های مختلف طیور ن شان داد که مربوط به عوامل محرک ر شد موجود در آن ا ست (۱۱). DDGS می‌تواند در سطح ۱۰ تا ۲۰ در صد در جیره مرغ تخم‌گذار بدون تأثیر منفی بر تولید تخم‌مرغ همراه با مکمل لیزین استفاده شود (۸). همچنین این محققین گزارش کردند که DDGS می‌تواند در حدود ۳۰ درصد جایگزین پروتئین جیره مرغ‌های تخم‌گذار شود. خشک کردن سریع و با درجه حرارت بالا باعث از بین رفتن و آ سیب به ا سیدهای آمینه و پروتئین می شود (۷). به منظور ارزیابی کیفیت پروتئینDDGS به عنوان تنها منبع پروتئینی جیره در تغذیه جوجه‌های در حال رشد، اسیدهای آمینه تریپتوفان و آرژنین، ب عد از لیزین، به عنوان دومین و سومین اسید آمی نه محدودکننده گزارش شدند، اگرچه DDGS دارای محدودیت‌هایی در رابطه با تریپتوفان و آرژنین است، کیفیت پروتئین DDGS بوسیله مکمل لیزین به مقدار زیادی بالا می‌رود (۱۳).

در جریان مطالعه‌ای آنزیم‌های هیدرولیز کننده NSP در جیره‌های حاوی DDGS استفاده شدند و تأثیر مثبتی بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار دا شتند (۲۰). در تحقیقی دیگر ن شان داده شد که از ۵ تا ۸ در صد DDGS در جیره آغازین جوجه‌های گو شتی و بوقلمون، ۱۲ تا ۱۵ در صد در جیره‌های ر شد و پایانی جوجه‌های گو شتی، بوقلمون و مرغ های تخم گذار بدون هیچگو نه تأثیر منفی بر عملکرد می‌توان استفاده نمود (۱۶). هدف از انجام این آ زمایش، بررسی امکان جایگزینی DDGS در جیره‌های جوجه‌های گوشتی در بازه زمانی ۲۱-۱ و ۴۲-۲۲ روزگی و بررسی اثرات سطوح مختلف ضایعات تقطیری گندم بر عملکرد و خصوصیات ریخت‌شناسی ژژنوم در دوره‌های آغازین و پایانی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی ضایعات تقطیری گندم

قبل از شروع آزمایش، به منظور تعیین مقدار مواد مغذی موجود در ضایعات تقطیری گندم، به طور تصادفی از آن نمونه‌گیری به عمل آمد. نمونه‌ها برای آنالیز اسیدهای‌آمینه به آزمایشگاه مؤسسه مطالعاتی پرتو بشاش دانش‌گستر منتقل شدند. همچنین درصد پروتئین‌خام، چربی‌خام، فیبرخام، کلسیم و فسفر اندازه‌گیری شدند (۱).

### حیوانات و جیره‌ها در آزمایش اول و دوم

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی پرورش جوجه گوشتی واقع در مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و منابع طبیعی ا ستان خراسان ر ضوی انجام شد. در آزمایش اول، تعداد ۴۵۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه راس– ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ گروه و۶ تکرار در هر گروه (هر تکرار دارای ۱۵ قطعه جوجه) از سن ۱ تا ۲۱ روزگی استفاده شد. گروه‌های آزمایشی شامل: ۱) شاهد (جیره پایه بدون استفاده از ضایعات تقطیری گندم)، ۲) جیره حاوی ۳٪ ضایعات تقطیری گندم، ۳) جیره حاوی ۶٪ ضایعات تقطیری گندم، ۴) جیره حاوی ۹٪ ضایعات تقطیری گندم و ۵) جیره حاوی ۱۲٪ ضایعات تقطیری گندم بودند. جیره‌های آزمایشی بر اساس ذرت و کنجاله سویا با توجه به نیازمندی‌های توصیه شده توسط NRC (۱۹۹۴)، برای مراحل مختلف پرورش جوجه‌های گو شتی بر ا ساس نتایج حا صله از آنالیز نمونه ضایعات تقطیری گندم با کمک نرم‌افزار جیره‌نویسی WUFFDA تنظیم گردیدند به طوری که جیره‌ها به لحاظ انرژی و پروتئین یکسان بودند (۱۲). مدیریت پرورش بر اساس دستورالعمل موسسه راس اجرا شد (۱۵). اجزای تشکیل‌دهنده جیره‌های غذایی گروه‌های آزمایشی مختلف برای دوره (۱ تا ۲۱ روزگی) در جدول ۱ گزارش شده است.

آزمایش دوم: در این آزمایش، جوجه‌ها از ۱ تا ۲۱ روزگی با جیره فاقد ضایعات تقطیری گندم تغذیه شدند. سپس ۴۵۰ قطعه جوجه ۲۱ روزه سویه راس ۳۰۸ با میانگین وزن مشابه از میان گله تجاری که در مزرعه تحقیقاتی پرورش جوجه گوشتی مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی مشهد پرورش یافته بودند، انتخاب شدند. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ گروه و ۶ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار انجام گرفت. گروه‌های آزمایشی شامل: ۱) شاهد (جیره پایه بدون ا ستفاده از ضایعات تقطیری گندم)، ۲) جیره حاوی ۵٪ ضایعات تقطیری گندم، ۳) جیره حاوی۱۰٪ ضایعات تقطیری گندم، ۴) جیره حاوی ۱۵٪ ضایعات تقطیری گندم و ۵) جیره حاوی ۲۰٪ ضایعات تقطیری گندم بودند. جیره‌های آزمایشی بر اساس ذرت و کنجاله سویا با توجه به نیازمندی‌های توصیه شده توسط NRC (۱۹۹۴)، بر اساس آنالیز بدست آمده و با کمک نرم‌افزار جیره‌نویسی WUFFDA تنظیم گردید. کلیه مراحل مدیریت پرورش مطابق راهنمای مدیریت راس ۲۰۰۷ اجرا شد (۱۵).

## روش‌های آزمایش

### عملکرد

در پایان هر هفته با توزین مقدار خوراک باقیمانده و وزن بدن، مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی محاسبه شد. برای تصحیح شاخص‌ها، ابتدا روز مرغ هر واحد آزمایشی مطابق فرمول زیر محاسبه گردید.

**جدول ۱**- اجزای خوراک و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (۱ تا ۲۱ روزگی)

**Table 1-** Ingredients and chemical composition of experimental diets (1 to 21 days)

| اجزاء متشکله (درصد) Components (%) | گروه ۱ (شاهد) First treatment (control) | گروه۲ Second treatment | گروه۳ Third treatment | گروه۴ fourth treatment | گروه۵ Fifth treatment |
|---|---|---|---|---|---|
| ذرت Corn | 58.5 | 57.6 | 56.7 | 55.2 | 52.8 |
| کنجاله سویا Soybean meal | 35.2 | 33.1 | 31.2 | 29.7 | 29 |
| ضایعات تقطیری گندم DDGS | - | 3 | 6 | 9 | 12 |
| کربنات کلسیم Calcium carbonate | 1.34 | 1.35 | 1.35 | 1.35 | 1.36 |
| روغن سویا Soybean oil | 1.7 | 1.55 | 1.37 | 1.32 | 1.43 |
| دی‌کلسیم فسفات Di-calcium phosphate | 1.8 | 1.81 | 1.8 | 1.81 | 1.81 |
| نمک طعام Salt | 0.35 | 0.35 | 0.35 | 0.35 | 0.35 |
| ال-ترئونین L-Threonine,99 | 0.13 | 0.14 | 0.14 | 0.14 | 0.13 |
| دی ال-متیونین DL-Methionine,98 | 0.21 | 0.21 | 0.24 | 0.21 | 0.2 |
| ال-لیزین هیدروکلراید L-Lysine HCl,78 | 0.22 | 0.26 | 0.29 | 0.31 | 0.3 |
| مکمل مواد معدنی[1] Mineral supplement[1] | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| مکمل ویتامینه[2] Vitamin supplement[2] | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| Calculated analysis ترکیبات محاسبه شده | | | | | |
| انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم) Metabolisable energy (kcal/kg) | 2950 | 2950 | 2950 | 2950 | 2950 |
| پروتئین خام (درصد) Crude protein (%) | 21.2 | 21.2 | 21.2 | 21.2 | 21.2 |
| کلسیم (درصد) Calcium (%) | 0.92 | 0.92 | 0.92 | 0.92 | 0.92 |
| فسفر قابل‌دسترس (درصد) Available P (%) | 0.41 | 0.41 | 0.41 | 0.41 | 0.41 |
| متیونین (درصد) Methionine (%) | 0.46 | 0.46 | 0.46 | 0.46 | 0.46 |
| لیزین (درصد) Lysine (%) | 1.01 | 1.01 | 1.01 | 1.01 | 1.01 |

[1] هر کیلوگرم جیره تأمین می‌کرد: ویتامین آ: ۹۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین ای: ۶۵ واحد بین المللی، ویتامین د: ۵۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین کا: ۸۰ واحد بین المللی، سیانوکوبالامین: ۰/۱۵ میلی‌گرم، ریبوفلاوین: ۶/۶ میلی‌گرم، کلسیم پانتوتنات: ۱۰ میلی‌گرم، نیاسین: ۳۰ میلی‌گرم، کولین: ۵۰۰ میلی‌گرم، بیوتین: ۰/۱ میلی‌گرم، تیامین: ۱/۸ میلی‌گرم، پیریدوکسین: ۳ میلی‌گرم، اسیدفولیک: ۱ میلی‌گرم، ویتامین منادیون: ۲ میلی‌گرم، آنتی‌اکسیدان (اتوکسی کوئین): ۱۰۰ میلی‌گرم بود.

[2] هر کیلوگرم جیره تأمین می‌کرد: منگنز: ۱۰۰ میلی‌گرم، روی: ۵۰ میلی‌گرم، مس: ۱۰ میلی‌گرم، آهن: ۵۰ میلی‌گرم، ید: ۱ میلی‌گرم، سلنیوم: ۰/۲ میلی‌گرم بود

[1] Vitamin premix provided per kg of diet: vitamin A 9000 IU; vitamin E 65 IU; vitamin D 5000 iu; VITAMIN k 80 IU; cyano cobalamin 15 mg; riboflavin 6.6 mg

[2] Mineral premix provided per kg of diet: Mn 100 mg; Zn 50 mg; Cu 10 mg; Fe 50 mg; I 1 mg; Se 2 mg.

روزجوجه = ( تعداد جوجه‌های زنده در پایان دوره × طول دوره ) + ( تعداد روزهایی که جوجه‌های تلف شده زنده بودند × تعداد تلفات)

سپس برای محاسبه شاخص عملکرد، میانگین خوراک مصرفی هر دوره بر تعداد روز جوجه تقسیم شد و همین‌طور برای محاسبه میانگین افزایش وزن، این عمل انجام شد.

### ریخت‌شناسی

قطعات ژژونوم در۲۱ و۴۵ روزگی از دو پرنده در هر تکرار جدا شد و با محلول کلرید سدیم (wt/vol) ۰/۹ درصد شسته شده و بعد از آبکشی، در بافر فرمالدئید ۴ درصد ثابت شدند. از ژژنوم به دلیل اینکه اهمیت بالایی در جذب مواد غذایی دارد، نمونه‌گیری به عمل آمد (۱۷). سپس نمونه های بافتی توسط دستگاه اتومات فرآوری بافت LT201 processor (Tissue)، در طی ۱۸ ساعت آبگیری، شفاف سازی و پارافین‌دهی شد. بعد از خارج کردن نمونه‌های بافتی، قالب‌گیری بو سیله قالب‌های لوکهارت و در پارافین مرک انجام گرفت و از بلوک‌های پارافین منجمد شده حاوی بافت، توسط دستگاه میکروتوم (LEICA RM ۲۱۴۵)، برش‌هایی به ضخامت ۶ میکرومتر تهیه شد. سپس برش‌های ایجاد شده را روی لام قرار داده و به منظور اینکه پارافین به لام نچسبد، آب و الکل بر آن ریخته و سپس لام در حمام بن‌ماری با دمای ۴۹ درجه سانتی‌گراد (دمای ذوب پارافین) قرار گرفت تا ورقه مربوطه صاف شود و چین و چروک‌ها از بین بروند. برای تهیه چسب روی لام، از سفیده تخم‌مرغ و گلیسرین به میزان مساوی استفاده شد. سپس چسب را روی لام ریخته و به این ترتیب باز شدن چین و چروک‌ها تست شد، در صورتی که چین و چروک‌ها باز نشده بودند، لام‌ها دوباره در آب قرار می‌گرفتند. سپس لام‌ها به مدت ۲ تا ۳ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه گذاشته شدند تا خشک شوند. نمونه‌های خشک شده در گزیل یک و دو، هر کدام به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند تا پارافین آنها جذب شده و مجدداً نمونه‌ها در دمای محیط خشک شدند. سپس نمونه‌ها در ظروف حاوی الکل مطلق به ترتیب با درصدهای ۹۹/۸، ۹۶، ۸۰ و ۷۰ درصد به مدت ۲ تا ۳ دقیقه گذاشته شدند تا آبدهی آنها انجام شود و سپس در آب مقطر شستشو داده شدند. آماده شدن نمونه‌ها در رنگ آمیزی‌های مختلف تا این مرحله مشترک است که تحت عنوان دپارافینه شدن و آبدهی با آب مقطر می‌باشد. سپس رنگ‌آمیزی اختصاصی هماتوکسیلین – ائوزین انجام شد. پارامترهای که اندازه‌گیری شد شامل ارتفاع پرز (از نوک پرز تا محل اتصال پرز به کریپت)، عمق کریپت (از محل اتصال کریپت به پرز تا پایه کریپت)، ارتفاع پرز/عمق پرز، عرض ابتدایی پرز، عرض میانی پرز، عرض انتهایی پرز بودند (۱۷).

### آنالیز آماری

آنالیز اطلاعات به صورت یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. میانگین تمام گروه‌ها برای دوره آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS، Version 9.2 تجزیه و تحلیل شدند. در ضمن مقایسات میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

## نتایج و بحث

اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی و میزان اسیدهای آمینه ضایعات تقطیری گندم به ترتیب در جداول ۳ و ۴ گزارش شدند.

کوزانت و همکاران (۳) مقادیر پروتئین‌خام، چربی‌خام و فیبرخام را در ده نمونه از ضایعات تقطیری گندم، به ترتیب در حدود ۳۶/۱، ۴/۶ و ۸/۳٪ گزارش کردند.

همچنین محتوای $TME_n$ را برای ضایعات تقطیری گندم با دامنه‌ای بین ۲۴۹۰ تا ۳۱۹۰ با میانگین ۲۸۲۰Kcal/kg گزارش کردند. مطابق مطالعه‌ای دیگر، محتوای $TME_n$ برای ضایعات تقطیری گندم معادل۲۸۷۱ Kcal/kg می‌باشد (۶). تفاوت‌هایی که بین ترکیبات شیمیایی ضایعات تقطیری گندم استفاده شده در این تحقیق با ترکیبات شیمیایی گندم‌های تقطیری در سایر مطالعات وجود دارد، ناشی از ژنوتیپ، شرایط آب و هوایی، مرحله رشد در زمان برداشت، حاصلخیزی و خصوصیات خاک، تغییر در طی نگهداری و فرآیند انبار کردن می‌باشد که این عوامل را تحت تأثیر قرار می‌دهند

مقدار ماده خشک در نمونه تازه DDGS در مقایسه با نمونه‌ای که در ۲۰- و ۴+ درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند، به ترتیب کاهش می‌یابد ولی میزان ویتامین E، ویتامین A و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت (۲۳).

### عملکرد

### آزمایش اول

میانگین صفات عملکردی در آزمایش اول به تفکیک در گروه‌های مختلف در ۱ تا ۱۰ روزگی، ۱۱ تا ۲۱ روزگی، و ۱ تا ۲۱ روزگی در جدول ۵ گزارش شده است.

**جدول ۲**- اجزای خوراک و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (۲۲ تا ۴۲ روزگی)

**Table 2-** Ingredients and chemical composition of experimental diets (22 to 42 days)

| اجزاء متشکله (درصد) Components (٪) | گروه آزمایشی اول (شاهد) First experimental (group control) | گروه آزمایشی دوم Second experimental group | گروه آزمایشی سوم Third experimental group | گروه آزمایشی چهارم The fourth experimental group | گروه آزمایشی پنجم Fifth experimental Group |
|---|---|---|---|---|---|
| ذرت corn | 63.6 | 62.1 | 60.5 | 57 | 57.4 |
| کنجاله سویا Soybean meal | 30.6 | 27.3 | 24 | 20.8 | 17.5 |
| ضایعات تقطیری گندم DDGS | - | 5 | 10 | 15 | 20 |
| کربنات کلسیم Calcium carbonate | 1.08 | 1.1 | 1.11 | 1.12 | 1.13 |
| روغن سویا Soybean oil | 1.59 | 1.33 | 1.1 | 0.84 | 0.6 |
| دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate | 1.84 | 1.85 | 1.86 | 1.87 | 1.87 |
| نمک طعام Salt | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| ال-ترئونین %L-Threonine,99 | 0.07 | 0.07 | 0.08 | 0.09 | 0.09 |
| دی ال-متیونین %DL-Methionine,98 | 0.14 | 0.15 | 0.15 | 0.16 | 0.16 |
| ال-لیزین %L-Lysine HCl,78 | 0.11 | 0.16 | 0.21 | 0.27 | 0.32 |
| مکمل معدنی Mineral supplement | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| مکمل ویتامینه Vitamin supplement | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| کولین Choline | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| Calculated analysis ترکیبات محاسبه شده | | | | | |
| انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم) Metabolisable energy (kcal /kg) | 2950 | 2950 | 2950 | 2950 | 2950 |
| پروتئین خام (درصد) Crude protein (%) | 18.5 | 18.5 | 18.5 | 18.5 | 18.5 |
| کلسیم (درصد) Calcium (%) | 0.83 | 0.83 | 0.83 | 0.83 | 0.83 |
| فسفر قابل‌دسترس (درصد) Available phosphorous (%) | 0.32 | 0.32 | 0.32 | 0.32 | 0.32 |
| متیونین (درصد) Methionine (%) | 0.35 | 0.35 | 0.35 | 0.35 | 0.35 |
| لیزین (درصد) Lysine(%) | 0.92 | 0.92 | 0.92 | 0.92 | 0.92 |

[1]هر کیلوگرم جیره حاوی: ویتامین آ: ۹۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین ای: ۶۵ واحد بین المللی، ویتامین د: ۵۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین کا: ۸۰ واحد بین المللی، سیانوکوبالامین: ۰/۱۵ میلی‌گرم، ریبوفلاوین: ۶/۶ میلی‌گرم، کلسیم پانتونات: ۱۰ میلی‌گرم، نیاسین: ۳۰ میلی‌گرم، کولین: ۵۰۰ میلی_گرم، بیوتین: ۰/۱ میلی‌گرم، تیامین: ۱/۸ میلی_گرم، پیریدوکسین: ۳ میلی‌گرم، اسیدفولیک:۱ میلی‌گرم، ویتامین منادیون: ۲ میلی‌گرم، آنتی‌اکسیدان (اتوکسی کوئین): ۱۰۰ میلی‌گرم بود.

[2]هر کیلوگرم جیره حاوی: منگنز: ۱۰۰ میلی‌گرم، روی: ۵۰ میلی‌گرم، مس: ۱۰ میلی‌گرم، آهن: ۵۰ میلی‌گرم، ید: ۱ میلی‌گرم، سلنیوم: ۰/۲ میلی‌گرم بود.

[1]Vitamin premix per kg of diet: vitamin A 9000 IU; vitamin E 65 IU; vitamin D 5000 iu; VITAMIN k 80 IU; cyano cobalamin 15 mg; riboflavin 6.6 mg

[2]Mineral premix per kg of diet: mn 100 mg; zn 50 mg; cu 10 mg; fe 50 mg; I 1 mg; se 2 mg.

**جدول ۳**- ترکیبات شیمیایی ضایعات تقطیری گندم خشک

**Table 3-** Chemical compounds of distillation of dry wheat

| ترکیبات شیمیایی<br>Chemical compounds | مقادیر<br>amounts |
|---|---|
| رطوبت (٪)<br>Humidity (%) | 7.00 |
| خاکستر (٪)<br>Ash (%) | 4.76 |
| چربی (٪)<br>Fat (%) | 8.40 |
| پروتئین خام (٪)<br>Crud Protein (%) | 30.52 |
| فیبر (٪)<br>Fiber (%) | 4.00 |
| کلسیم (٪)<br>Calcium (%) | 0.26 |
| فسفر (٪)<br>Phosphorus (%) | 0.93 |
| سدیم (ppm)<br>Sodium (ppm) | 395 |

**جدول ٤**- پروفایل اسیدهای آمینه ضایعات تقطیری گندم

**Table 4-** Distillation wheat amino acid profiles

| اسیدهای آمینه<br>Amino acids | مقادیر<br>amounts |
|---|---|
| دی ال- متیونین (٪)<br>DL-Methionine (%) | 0.53 |
| تریپتوفان (٪)<br>Tryptophan (%) | 0.245 |
| اسید آسپارتیک (٪)<br>Aspartic Acid (%) | 2.14 |
| اسید گلوتامیک (٪)<br>Glutamic Acid (%) | 12.83 |
| سرین (٪)<br>Serine (%) | 1.79 |
| هیستیدین (٪)<br>Histidine (%) | 0.69 |
| آلانین (٪)<br>Alanine (%) | 1.97 |
| تایروزین (٪)<br>Tyrosine (%) | 0.87 |
| والین (٪)<br>Valine (%) | 2.36 |
| فنیل آلانین (٪)<br>Phenylalanine (%) | 1.62 |
| ایزولوسین (٪)<br>Isoleucine (%) | 1.08 |
| لوسین (٪)<br>Leucine (%) | 2.37 |
| لیزین (٪)<br>Lysine (%) | 0.57 |

افزایش وزن در ۱ تا ۱۰ روزگی بین گروه های مختلف تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد، اگرچه جوجه های تغذیه شده با ۳ درصد ضایعات تقطیری گندم افزایش وزن بیشتری (۲۳۱/۱۱ گرم) نسبت به گروه شاهد و سایر گروه‌ها و گروه شاهد نشان دادند. همین روند در بازه سنی ۱۱ تا ۲۱ روزگی نیز مشاهده شد و اختلاف ایجاد شده معنی‌دار گردید (P<۰/۰۵)، به طوری که گروه شاهد و سایر گروه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشته ولی با گروه حاوی ۳ درصد گندم اختلاف معنی‌داری ایجاد کرد (P<۰/۰۵). نتایج، حاکی از آن است که میانگین افزایش وزن بدن در کل دوره پرورش (۱ تا ۲۱ روزگی) بین گروه‌های مختلف آزمایشی دارای تفاوت معنی‌داری بود (P<۰/۰۵). به‌طوری که بیشترین میانگین افزایش وزن مربوط به گروه حاوی ۳ درصد و گروه شاهد (۸۴۶/۷۴ و ۸۴۷/۳۱ گرم) به ترتیب بود.

**جدول ۵**- تأثیر سطوح مختلف ضایعات ضایعات تقطیری گندم بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در سن ۱ تا ۲۱روزگی[1]

**Table 5-** Effect of DDGS on performance of broiler chickens at 1- 21 days of age[1]

| گروه‌ها Treatments | افزایش وزن بدن (گرم/پرنده/دوره) Body weight gain (g/b/period) | | | مصرف خوراک (گرم/پرنده/دوره) Feed intake (g/b/period) | | | ضریب تبدیل غذایی Feed conversion (g/g) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ۱ تا ۱۰ روزگی 1 to 10 days | ۱۱ تا ۲۱ روزگی 11 to 21 days | ۱ تا ۲۱ روزگی 1 to 21 days | ۱ تا ۱۰ روزگی 1 to 10 days | ۱۱ تا ۲۱ روزگی 11 to 21 days | ۱ تا ۲۱ روزگی 1 to 21 days | ۱ تا ۱۰ روزگی 1 to 10 days | ۱۱ تا ۲۱ روزگی 11 to 21 days | ۱ تا ۲۱ روزگی 1 to 21 days |
| شاهد control | 229.52 | 617.22[b] | 846.74[a] | 288.13 | 870.47 | 1158.6[a] | 1.2553 | 1.4103 | 1.3683 |
| 3% | 231.11 | 627.84[a] | 847.31[a] | 290.04 | 873.14 | 1163.18[a] | 1.2549 | 1.3996 | 1.3727 |
| 6% | 228.72 | 623.61[b] | 841.69[ab] | 283.23 | 871.11 | 1154.34[a] | 1.2383 | 1.3879 | 1.3714 |
| 9% | 224.19 | 622.90[b] | 837.51[b] | 281.99 | 869.87 | 1151.86[a] | 1.2578 | 1.3964 | 1.3753 |
| 12% | 223.05 | 620.48b | 837.11[b] | 277.12 | 859.47 | 1136.59[b] | 1.2424 | 1.3851 | 1.3577 |
| SEM | 6.37 | 7.19 | 19.65 | 7.12 | 18.39 | 4.11 | 0.032 | 0.048 | 0.039 |
| P-value | 0.33 | 0.048 | 0.047 | 0.39 | 0.41 | 0.05 | 0.42 | 0.31 | 0.52 |

[1]در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک با هم اختلاف معنی‌داری دارند (P<0.05).

[1]Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

افزایش سطح DDGS به ۹ تا ۱۲٪ موجب کاهش معنی‌داری در وزن بدن جوجه‌های گوشتی می‌شود. این محققین اشاره کردند که انرژی پایین DDGS جیره احتمالاً فاکتوری محدود کننده در نیازهای جوجه‌ها است (۱۶).

مصرف خوراک در پرندگان تحت آزمایش در بازه سنی ۱ تا ۱۰ روزگی و ۱۱ تا ۲۱ روزگی تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد،

ولی در سن ۱ تا ۲۱ روزگی تفاوت معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، به طوری که جوجه‌های تغذیه شده با سطح ۱۲ درصد ضایعات تقطیری گندم مصرف خوراک کمتری (۱۱۳۶/۵۹ گرم) نسبت به سایر گروه‌ها و گروه شاهد داشتند. افزودن ۱۰ درصد DDGS اثر منفی بر مصرف خوراک نداشت (۵). مصرف غلاتی مثل گندم به دلیل وجود پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای و استفاده از آنها در جیره غذایی بدون عمل‌آوری، سبب افزایش ویسکوزیته دستگاه گوارش شده و از طریق پوشش سطح مواد غذایی، دسترسی آنزیم‌ها به مواد مغذی و قابلیت هضم را کاهش می‌دهد. ضریب تبدیل غذایی تفاوت معنی‌داری بین سنین مختلف ایجاد نکرد و بدترین ضریب تبدیل خوراک متعلق به گروه حاوی ۱۲ درصد ضایعات تقطیری گندم در بازه سنی ۱ تا ۲۱ روزگی بود. جیره حاوی ۳ درصد ضایعات تقطیری گندم در بازه زمانی ۱ تا ۲۱ روزگی بهترین نتیجه را ایجاد کرد که می‌توان به تنوع مواد خوراکی موجود در جیره خوراکی نسبت داده و از طرفی در این سطح میزان فیبر جیره افزایش چندانی نداشته که باعث کاهش مصرف خوراک و کاهش عملکرد حیوان شود ولی سطح ۱۲ در صد ضایعات تقطیری گندم باعث افزایش میزان پلی‌ساکاریدهای غیرقابل هضم شده و مصرف خوراک را کاهش داد، لذا وزن حیوان کاهش یافت. استفاده از DDGS به علت محتوی فیبر بالا بر مصرف خوراک، برداشت مواد مغذی و سلامت متابولیک تأثیرگذار است (۲۵). فرآوری گندم در جهت تولید ضایعات تقطیری گندم باعث افزایش قابل ملاحظه‌ای در درصد پروتئین‌خام (۳۰/۵ درصد) نسبت به گندم خواهد شد، همچنین میزان فیبرخام (۳ درصد) نیز کاهش می‌یابد و جایگزینی چنین مواد خوراکی با پروتئینی بیشتر از ذرت و فیبرخام کمتر از سویا

(۳ در صد در مقایسه با ۷ در صد) در جیره‌هایی بر پایه ذرت – کنجاله سویا منجر به تنوع مواد خوراکی شده و بعد از طی نمودن دوره عادت‌پذیری و تکامل دستگاه گوارش نتایج بهتری به همراه خواهد داشت.

**عملکرد در آزمایش دوم**

همان طور که در پیشتر نیز ذکر شد، در آزمایش دوم، جوجه‌ها از سن ۱ تا ۲۱ روزگی مطابق احتیاجات با جیره‌ای بر پایه ذرت و کنجاله سویا تغذیه شدند؛ گروه‌های آزمایشی از سن ۲۲ روزگی به مصرف پرندگان رسید. تأثیر سطوح مختلف ضایعات تقطیری گندم بر افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی در آزمایش دوم در جدول ۶ نمایش داده شده است. همان طور که از این جدول استنتاج می‌شود، میانگین افزایش وزن بدن در بازه سنی ۲۲ تا ۲۹ روزگی، در گروه حاوی ۵ (۵۸۱/۲۲ گرم) و۱۰ در صد (۵۸۰/۷۱ گرم) ضایعات تقطیری گندم نسبت به گروه شاهد (۵۷۶/۳۷ گرم) و گروه حاوی ۱۵ و ۲۰ درصد به ترتیب (۵۷۹/۸۱ و ۵۷۵/۲۷ گرم) ضایعات تقطیری گندم بیشتر است، اگرچه این تفاوت‌ها معنی‌دار نبود. مصرف ضایعات تقطیری گندم در سطوح ۵ و ۱۰ درصد باعث ایجاد اثرات متقابل و تنوع مواد خوراکی در جیره غذایی شده و با توجه به تکامل دستگاه گوارش در این سن، آنزیم‌های لازم برای هضم و جذب این سطوح از ضایعات تقطیری گندم وجود دارد و با افزایش سطح مصرف، به دلیل بالا رفتن سطح فیبر در جیره خوراکی، افزایش وزن کاهش می‌یابد. در سنین ۳۰ تا ۳۷ روزگی و ۳۸ تا ۴۵ روزگی، با توجه به طی شدن دوره عادت‌پذیری (پرنده ۷ روز ضایعات تقطیری گندم مصرف کرده است) مصرف سطوح بالاتر ضایعات تقطیری گندم (۱۵ و ۲۰ در صد) باعث وزن بیشتری در جوجه‌های تغذیه شده با این سطوح نمود($P<0/05$) ؛ به طوری که افزایش وزن در جوجه‌های تغذیه شده با ۲۰ درصد ضایعات تقطیری گندم در این فواصل زمانی نسبت به گروه شاهد و سایر گروه‌ها از مقادیر بیشتری برخوردار شد.

مصرف خوراک در جوجه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف ضایعات تقطیری گندم در بازه زمانی‌های مختلف تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد اگرچه با طی شدن دوره عادت‌پذیری، در سنین بالاتر، مصرف خوراک نسبت به هفته اول، افزایش یافت.

افزودن DDGS تا سطح ۲۵ درصد برای مرغ‌های لگهورن (۲۴ هفته) اثر منفی بر مصرف خوراک ندارد(۵). همچنین افزودن۱۰ درصد DDGS اثر منفی بر مصرف خوراک نداشت. مصرف غلاتی مثل گندم به دلیل وجود پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای موجود در آنها و استفاده از آنها در جیره غذایی بدون عمل‌آوری، سبب افزایش ویسکوزیته دستگاه گوارش شده و از طریق پوشش سطح مواد غذایی، دسترسی آنزیم‌ها به مواد مغذی و قابلیت هضم را کاهش می‌دهد. افزایش سن باعث تکامل دستگاه گوارش و آنزیم‌های مربوطه می‌شود و تا حدودی اثرات منفی ناشی از افزایش سطح فیبر در جیره خوراکی کاهش می‌یابد (۹). کاهش قابلیت هضم مواد مغذی منجر به کاهش وزن خواهد شد.

**جدول ٦**– تأثیر مقادیر مختلف ضایعات تقطیری گندم بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در سن ۲۲ تا ۴۵ روزگی[1]

**Table 6-** Effect of DDGS on performance of broiler chickens at 22- 45 days of age[1]

| گروه‌ها treatments | افزایش وزن (گرم) Body weight gain (gr) | | | مصرف خوراک (گرم) Feed intake (gr) | | | ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم) Feed conversion (gr/gr) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ۲۲ تا ۲۹ روزگی 22 to 29 days | ۳۰ تا ۳۷ روزگی 30 to 37 days | ۳۸ تا ۴۵ روزگی 38 to 45 days | ۲۲ تا ۲۹ روزگی 22 to 29 days | ۳۰ تا ۳۷ روزگی 30 to 37 days | ۳۸ تا ۴۵ روزگی 38 to 45 days | ۲۲ تا ۲۹ روزگی 22 to 29 days | ۳۰ تا ۳۷ روزگی 30 to 37 days | ۳۸ تا ۴۵ روزگی 38 to 45 days |
| شاهد control | 576.37 | 643.76$^{c}$ | 652.99$^{b}$ | 955.23 | 1240.64 | 1460.79 | 1.6573 | 1.9271 | 2.2370 |
| 5% | 581.22 | 645.84$^{bc}$ | 656.73$^{b}$ | 956.41 | 1240.93 | 1461.59 | 1.6455 | 1.9214 | 2.2255 |
| 10% | 580.71 | 650.92$^{b}$ | 658.90$^{b}$ | 955.41 | 1241.66 | 1462.30 | 1.6452 | 1.9075 | 2.2193 |
| 15% | 579.81 | 652.31$^{ab}$ | 669.73$^{a}$ | 954.94 | 1242.87 | 1465.21 | 1.6469 | 1.9053 | 2.1877 |
| 20% | 575.27 | 657.39$^{a}$ | 676.59$^{a}$ | 950.77 | 1245.23 | 1466.38 | 1.6527 | 1.8942 | 2.1673 |
| SEM | 30.94 | 34.69 | 36.21 | 39.27 | 52.48 | 64.32 | 0.076 | 0.098 | 0.312 |
| P value | 0.0912 | 0.0482 | 0.0463 | 0.179 | 0.183 | 0.0937 | 0.421 | 0.532 | 0.389 |

[1]در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک با هم اختلاف معنی‌داری دارند ($P<0.05$).

[1]Means within same column with different superscripts differ ($P<0.05$).

در بازه سنی ۲۲ تا ۲۹ روزگی ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های تغذیه شده با ۲۰ درصد ضایعات تقطیری گندم به لحاظ عددی مساوی

ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های تغذیه شده با گروه شاهد شد و سایر گروه‌ها به لحاظ عددی ضریب تبدیل غذایی کمتری داشتند؛ اگرچه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و همچنین در بازه سنی ۳۰ تا ۳۷ روزگی و ۳۸ تا ۴۵ روزگی نیز اختلاف معنی‌داری بین مقادیر ضریب تبدیل غذایی مشاهده نشد.

بهبود ضریب تبدیل خوراک در گروه حاوی ۲۰ درصد ضایعات تقطیری گندم نسبت به سایر گروه‌ها و گروه شاهد ملاحظه می‌شود. با افزایش سن، به دلیل تکامل دستگاه گوارش و آنزیم‌های مربوطه، مصرف سطوح بیشتر ضایعات تقطیری گندم باعث بروز عملکرد بهتری شده است. در طول فرآیند خشک کردن DDGS، مواد در معرض حرارت ۲۶۰ تا ۱۱۵۰ درجه فارنهایت وابسته به کارخانه اتانول‌گیری قرار می‌گیرند. این افزایش حرارت تا حدودی بر قابلیت هضم فیبر تأثیرگذار است و باعث بهبود آن می شود (۲۲). در بازه سنی ۷ تا ۲۱ روزگی سطح ۲۰ در صد DDGS را در جیره غذایی به منظور تخمین ارزش غذایی این ماده خوراکی در شرایط دمایی مختلف استفاده کردند (۲۳).

## ریخت‌شناسی روده

بررسی نتایج مربوط به ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت (جدول۷) در بازه زمانی ۱ تا ۲۱ روزگی نشان می‌دهد که گروه دریافت کننده سطح ۱۲ درصد ضایعات تقطیری گندم نسبت به گروه شاهد و نیز سایر گروه‌ها به لحاظ عددی موجب کاهش ارتفاع پرز شده و گروه‌های دریافت کننده سطوح ۶، ۹ و ۱۲ در صد ضایعات تقطیری گندم نسبت به دو گروه دیگر به لحاظ عددی موجب کاهش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت شده‌اند. با افزایش سطح ضایعات تقطیری گندم در جیره خوراکی پرندگان تحت مطالعه، عمق کریپت افزایش یافت، اگرچه این افزایش معنی‌دار نبود. مطابق نتایج جدول ۷، مقادیر عددی عرض ابتدایی، میانی و انتهایی پرز به ترتیب افزایش پیدا کرد، همچنین افزایش سطح ضایعات تقطیری گندم در جوجه‌های این آزمایش منجر به کاهش صفات مربوطه شد. هیچ اختلاف معنی‌داری در این صفات مشاهده نشد.

کاهش ارتفاع پرز و افزایش عمق کریپت در نتیجه استفاده از دانه گندم در مقایسه با ذرت گزارش شده است (۱۸). ویسکوزیته بالای محتویات گوارشی سبب کاهش ارتفاع پرز می‌شود. دلیل این موضوع را می‌توان به تخریب و تحلیل سلول‌های پوششی نوک پرز توسط فیبر نسبت داد، با افزایش آتروفی این سلول‌ها، فعالیت سلول‌های زاینده موجود در عمق کریپت برای ساخت سلول‌های پوششی و جایگزین نمودن آنها با سلول‌های آتروفی شده افزایش می‌یابد. با افزایش ترن‌آور سلولی[1] ارتفاع پرز کاهش و عمق کریپت افزایش می‌یابد. گزارش شده است که به پرزهای روده و غشاء مخاطی روده کوچک جوجه‌های گوشتی که با جیره حاوی ۸۰ درصد چاودار تغذیه شدند آسیب زیادی وارد شد (۱۴).

کوتاه‌تر شدن و ضخیم‌تر شدن پرزهای روده کوچک و افزایش تعداد سلول‌های گابلت در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با دانه جو نیز گزارش شده است (۲۱).

افزودن آنزیم زایلاناز به جیره‌های حاوی گندم باعث افزایش ارتفاع پرز شده ولی تأثیری بر عمق کریپت نداشت (۲۴). استفاده از پس‌ماند ضایعات تقطیری گندم در جیره، تأثیر منفی بر مورفولوژی روده و میزان مرگ و میر ندارد (۹). تغییرات در مورفولوژی سلول‌های روده به علل متفاوتی از قبیل ساختار فیزیکی مواد غذایی و فرم خوراک و ماهیت شیمیایی مواد آزمایشی می‌تواند باشد (۱۰).

نتایج مندرج در جدول ۸ نشان می‌دهد که هیچ یک از صفات مربوط به ریخت شناسی روده به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی مختلف قرار نگرفته‌اند. بررسی نتایج مربوط به ارتفاع پرز نشان می‌دهد که گروه‌های دریافت کننده سطوح ۱۵ و ۲۰ درصد ضایعات تقطیری گندم نسبت به گروه شاهد به لحاظ عددی موجب کاهش این صفت مهم روده شده‌اند. همچنین بررسی نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت نشانگر آن است که به لحاظ عددی گروه‌های دریافت کننده سطوح ۱۵ و ۲۰ درصد ضایعات تقطیری گندم نسبت به گروه شاهد موجب کاهش این نسبت شده‌اند. از طرفی، عرض پرز در بررسی هر سه شاخص آن (ابتدایی، میانی و انتهایی) نشان می‌دهد که با افزایش سطح ضایعات تقطیری گندم این صفت روده نیز به لحاظ عددی کاهش یافته است.

بررسی نتایج این پژوهش حاکی از آن است که افزایش سطح ضایعات تقطیری گندم در گروه‌های آزمایش، منجر به کاهش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت شده است، که با کاهش عددی در گروه‌های دریافت کننده ضایعات تقطیری گندم همراه می‌باشند. همچنین افزایش عددی اندکی در عمق کریپت گروه‌های دریافت کننده ضایعات تقطیری گندم مشاهده می شود، لذا نقش همپوشانی بین این یافته‌ها و هم راستا بودن با نتایج سایر محققین وجود داشته و تأثیر سوء استفاده از غلات حاوی پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای بر ریخت شناسی روده باریک را تأیید می‌کند. این تأثیر منفی در مورد غلات مختلف متفاوت بوده و هر غله‌ای بازه‌ای از سطوح برای استفاده در جیره را دارا می‌باشد. بررسی نتایج اولین پژوهش، استفاده از سطح ۳ در صد ضایعات تقطیری گندم را برای بدست آوردن بهترین نتیجه در جیره آغازین جوجه‌های گوشتی تأیید می‌نماید.

1- Turn over

**جدول ۷**- تأثیر مقادیر مختلف ضایعات تقطیری گندم بر ریخت‌شناسی ژژنوم جوجه‌های گوشتی در ۲۱ روزگی (میکرومتر)[1]

**Table 7-** Effect of DDGS on the histology of jejunum broiler chickens in 21 days[1]

| گروه‌ها Treatments | ضایعات تقطیری گندم Distillation wheat (DDGS) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| صفات روده Intestinal traits | شاهد Control | 3% | 6% | 9% | 12% | خطای استاندارد SEM | سطح احتمال P-value |
| ارتفاع پرز (میکرومتر) Height of villi (µm) | 890.14 | 889.54 | 885.66 | 885.83 | 881.01 | 24.96 | 0.71 |
| عمق کریپت (میکرومتر) Crypt depth (µm) | 156.79 | 156.99 | 159.11 | 160.34 | 161.82 | 15.8 | 0.77 |
| ارتفاع پرز / عمق کریپت Height of villi / depth of crypt | 5.67 | 5.66 | 5.56 | 5.52 | 5.44 | 0.6 | 0.85 |
| عرض ابتدایی پرز (میکرومتر) Villi top width (µm) | 64.31 | 64.01 | 60.11 | 59.37 | 59.84 | 12.48 | 0.79 |
| عرض میانی پرز (میکرومتر) Villus middle width (µm) | 106.12 | 104.02 | 103.44 | 103.00 | 102.79 | 14.28 | 0.92 |
| عرض انتهایی پرز (میکرومتر) Villi end width (µm) | 108.33 | 105.79 | 103.95 | 99.73 | 91.51 | 14.01 | 0. 61 |

[1]در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک با هم اختلاف معنی‌داری دارند ($P<0.05$).

[1]Means within same column with different superscripts differ ($P<0.05$).

**جدول ۸**- تأثیر مقادیر مختلف ضایعات تقطیری گندم بر ریخت شناسی ژژنوم جوجه‌های گوشتی در سن ۴۵ روزگی[1]

**Table 8-** Effect of DDGS on the histology of jejunum broiler chickens in 45 days[1]

| گروه‌ها Treatments | ضایعات تقطیری گندم Distillation wheat (DDGS) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| صفات روده Intestinal tract | شاهد Control | 5% | 10% | 15% | 20% | خطای استاندارد SEM | سطح احتمال P-value |
| ارتفاع پرز (میکرومتر) Height of villi (µm) | 1326.1 | 1326.4 | 1324.71 | 1321.5 | 1321.1 | 91.95 | 0.51 |
| عمق کریپت (میکرومتر) Crypt depth (µm) | 220.75 | 222.75 | 223 | 223.11 | 223.75 | 17.8 | 0.87 |
| ارتفاع پرز / عمق کریپت Height of villi / depth of crypt | 6.007 | 5.95 | 5.86 | 5.81 | 5.75 | 0.64 | 0.61 |
| عرض ابتدایی پرز (میکرومتر) Villi top width (µm) | 145 | 144.5 | 143.65 | 142.75 | 140.00 | 15.99 | 0.99 |
| عرض میانی پرز (میکرومتر) Middle villi Length (µm) | 200.12 | 200.01 | 196.87 | 195.11 | 191.99 | 16.21 | 0.92 |
| عرض انتهایی پرز (میکرومتر) Villi end width (µm) | 208.25 | 207.25 | 203.67 | 203.75 | 199.01 | 17.27 | 0.065 |

[1]در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک با هم اختلاف معنی‌داری دارند ($P<0.05$).

[1]Means within same column with different superscripts differ ($P<0.05$).

مطابق نتایج حا صل از آزمایش دوم، تأثیر سوء ا ستفاده از غلات حاوی پلی‌ســاکاریدهای غیر نشــاســته‌ای بر مورفولوژی روده تأیید می‌شود. بررسی نتایج پژوهش دوم، استفاده از سطح ۲۰ درصد ضایعات تقطیری گندم برای بدست آوردن بهترین عملکرد را تأیید می‌کند.

## نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی با توجه به نتایج این آزمایش می‌توان اظهار داشــت که ا ستفاده از ضایعات تقطیری گندم در بازه سنی ۱ تا ۲۱ روزگی، با توجه به عدم تکامل د ستگاه گوارش در اوایل دوره پرورش، در سطوح

بالا، نتایج مطلوبی ایجاد نخواهد کرد و سطح ۳ درصد ضایعات تقطیری گندم باعث ایجاد تنوع در جیره خوراکی شده و بهترین نتیجه را به همراه خواهد داشت.

در بازه سنی ۲۲ تا ۴۵ روزگی سطح ۲۰ در صد ضایعات تقطیری گندم توصیه می‌شود. با افزایش سن، به دلیل تکامل دستگاه گوارش و طی شدن دوره عادت‌پذیری به ضایعات تقطیری گندم، به خصوص از سن ۳۸ روزگی به بعد، جایگزینی ضایعات تقطیری گندم با ذرت و کنجاله سویا نتایج مناسبی ایجاد خواهد کرد.

## منابع


1.AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19 th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.

Ceerqin, C., N. K. Morgan, S. B. Wu, R. A. Swick, and M. Choct. 2017. Dietary inclusion of arabinoxylo-oligosaccharides in response to broilers challenges with subclinical necrotic enteritis. British Poultry Science, 58 (4): 418-424.

2.Cozannet, P., M. Lessire, C. Gady, J. P. Metayer, Y. Primot, F. Skiba, and J. Noblet. 2010. Energy value of wheat dried distillers grains with solubles in roosters, broilers, layers, and turkeys. Poultry Science, 89(10): 2230-2241.

3.Cromwell, G.L., Herkelman, K.L. and T. S. Stahly. 1993. Physical, chemical, and nutritional characteristics of distillers dried grains with solubles for chicks and pigs. Journal Animal of Science, 71: 679-686.

4.Falahnomeli, A. 2012. Effect of wheat distillers dried grains with or without enzyme on egg quality, blood composition and performance of laying hens. Animal Science Department of Agriculture Faculty of Ferdowsi University. MSC project. (In persian)

5.Fastinger, N.D., J. D. Latshaw, and D. C. Mahan. 2006. Amino acid availability and true metabolizable energy content of corn distillers dried grains with solubles in adult cecectomized roosters. Poultry Science, 85: 1212-1216.

6.Lumpkins, B.S., A. B. Batal, and N. M. Dale. 2003. The effects of distiller's dried grains plus soluble fed to laying hens. Poultry Science, 82 (Suppl 1): 104. (Abstract).

7.Matterson, L.D., J. Tlostuhowicz, and E. P. Singsen. 1966. Corn distillers dried grains with solubles in rations for high-producing hens. Poultry Science, 45: 147-151.

8.Min, Y. N., H. L. Li, L. Li, Z. Y. Niu, L. J. Wang, S. L. Liu, J. Zhang, and F. Z. Liu. 2013. Effects of dietary distillers dried grains soluble concentrations on intestinal morphology of broiler chicken. Journal of Animal and Veterinary Advances, 12 (1): 6-9.

9.Nemati, M. H., N. Osanloo, and N. Nobakht. 2015. Effect of feeding raw and processed triticale grain on performance and morphology of small intestinal mucosa in broilers. Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 109:83-94. (In persian)

11.Noll, S.L., J. Brannon, and C. Parsons. 2007. Nutritional value of corn distiller dried grains with solubles (DDGs): Influence of solubles addition. Poultry Science, 86 (Suppl. 1): 68.

12.NRC. 1994. Nutrient Requirement of Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.

13.Parsons, C.M., D. H. Baker, and J. M. Harter. 1983. Distillers dried grains with solubles as a proteinsource for the chick. Poultry Science, 62: 2445-2451.

14.Rakowska, M., B. Rek-Cieply, E. Lipinska, T. Kubinski, I. Barcz, and B. Afanasjistoew. 1993. The effect of rye, probiotics and niasin on fecal flora and histology of the small intestine of chicks. Journal of Animal Science, 2: 73-81.

15.Ross Broiler Nutrition Specification. 2017. Home page address: http://www.aviagen.com

16.Scheideler, S. E., M. Masadah, and K. Roberson. 2008. Dried distillers grains with solubles in laying hens ration and notes about mycotoxins in DDGS. In Pre-Show Nutrition Symposium, Midwest Poultry Federation Convention, March 18-20St. Paul, MN.

17.Sepehri Moghadam, H., H. Nasiri Moghadam, H. Kermanshahi, A. Heravi, and A. Raji. 2011. The effect of threonine on mucin2 gene expression, intestinal histology and performance of broiler chickens. Italian Journal of Animal Science, 10(2): 64-71.

18.Shahir, M., S. Moradi, A. Afsariyan, and A. Heydarinia. 2011. Effect of enzyme and organic acid in corn-wheat basal diet on performance and small intestine morphology of broiler. Iranian Journal of Animal Science Research, 3(4):351-362. (In persian).

19.Spiehs, M.J., M. H. Whitney, and G. C. Shorson. 2002. Nutrient database for distiller's dried grains with solubles produced from new ethanol plants in Minnesota and South Dakota. Journal of Animal Science, 80: 2639-2645.

20.Swiatkiewicz, S., and J. Koreleski. 2006. Effect of maize distillers dried grains with soluble and dietary enzyme supplementation on the performance of laying hens. Journal of Animal and Feed Science, 5: 253-260.

21.Viveros, A., A. Brenes, M. Pizarro, and M. Castanb. 1994. Effect of enzyme supplementation of a diet based on barely, on apparent digestibility, growth performance and gut morphology of broilers. Animal Feed Science and Technology, 48: 237-251.

22.Warnick, R.E., and J. O. Anderson. 1968. Limiting essential amino acids in soybean meal for growing chickens and effects of heat upon availability of essential amino acids. Poultry Science, 47: 281-28.

23.Whiting, I., V. Pirgozliev, S. P. Rose, F. Karadas, M. W. Mirza, and A. Sharpe. 2018. The temperature of storage of a

batch of wheat distillers dried grains eith solubles sampeles on their nutritive value for broilers. British Poultry Science, 59 (1): 76-80.

24.2Wu, Y. B., V. Ravindran, D.G. Thomas, M. J. Birties, and W. H. Hendriks. 2004. Influence of method of whole wheat inclusion and xylanase supplementation on the performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology of broilers. British Poultry Science, 45: 385- 394.

25.Youngji, R., E. Kiarie, and F. M. Lange. 2018. Nutritive value of corn distillers dried grains with solubles steeped without or with exogenous feed enzyme for 24h and fed to growing pigs. Journal of Animal Science, 96 (4): 2352-2360.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 235-248

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۴۸-۲۳۵

# Determination of wheat distillers dried grains Analysis and effect DDGS on performance and histological characteristics of jejunum in broiler chickens in starter and finisher

**Heshmat Sepehri Moghadam[1]*, Zainab Noori[2], Amir Azarli[3] and Alireza Hesabi Nameghi[4]**

Submitted: 22-07-2018
Accepted: 10-02-2020

**Introduction** Emerging low cost animal feed stock, originating from bioprocessing and food production is increasing on a global scale. In particular, dried distillers' grains soluble (DDGS) is a by-product of the ethanol industry created in the fermentation process of cereal grains starch in dry mill ethanol plants. DDGS is defined as the product obtained after removal of ethyl alcohol by distillation from the yeast fermentation of a grain or a grain mixture by condensing and drying at least 75% of the resultant whole stillage by methods employed in the grain distilling industry. DDGS present a high concentration of energy, protein. Especially with respect to the original grains. DDGS are mainly obtained from corn, wheat, barley, sorghum and rice, as well as from grain blends. DDGS could be considered a poultry feed stuff as an alternative source of protein in poultry ration with other protein source or after dietary supplementation with lysine. The aim of this study is to investigate the effect of different levels of DDDS on performance and histology of jejunum in broiler chicken in starter, grower and finisher and analyzed DDGS.

**Materials and Methods** This experiment was done in 2 periods (first experiment was 1-21 days and second was 22-42 days). In first experiment 450 multiple Ross 308 broiler chicks were divided randomly into 5 experimental treatments and 6 replicates and second experiment had 5 treatment and 6 replicates and each replicate was assigned to a pen with 15 birds. Birds had given ad-libitum access to water drinking and diet. The experimental treatments received a basal diet that was supplemented as follows: control (without DDGS), 3%, 6%, 9% and 12% DDGS at first experiment and control (without DDGS), 5%, 10%, 15% and 20% DDGS at the second experiment. Prior to formulating the experimental diets, it was analyzed for dry matter, protein, amino acids, fat, crude fiber, ash. The amount of feed intake and body weight gain were measured weekly. At 21 and 45 days, 2 birds of each replicate were killed and intestinal segments removed. Samples (approximately 4 cm) were taken from the midpoint between the point of entry of the bile duct and Meckel's diverticulum (jejunum) for histology characteristics. Data were analyzed using GLM procedures of SAS software (SAS, 2006) in a completely randomized design. Differences between means were tested using Duncan's test (1995). Differences were considered significant at $P<0.05$

**Results and Discussion** The chemical composition of the DDGS samples was determined at the beginning period. Crude protein, crude fat crude fiber, lysine and methionine were 30.5, 2.5, 3, 0.31 and 0.15% respectively. The differences between DDGS in this experiment with the others are depended upon plant species, genotype, climate, and stage of growth, the kind of soil and storage conditions. The results of the first experiment have shown that body weight gain increased in broiler fed 3% DDGS and control (847.31, 846.74). Results showed that 3% levels of DDGS fed to broilers increased body weight gain significantly from 11-21 d ($P<0.05$). The least body weight gain and feed intake was belonged to 12% DDGS vs. broilers fed 0, 3 and 6% DDGS from 1-21d. The feed intake decreased in broilers fed to 12% of DDGS in comparison to control groups and the other treatments. Feed conversion ratio was not significantly affected by treatments from 1-21 d. There was not any significant difference between feed conversion ratios in 1-21 day between treatments. There was significant difference ($P<0.05$) between

1-Assistant Professor. Agriculture Department, Payam-e-Noor University, I. R. Iran.
2-Graduate Master in poultry nutrition in Payam-e-noor University, Agriculture Department, Payam-e-Noor University. I. R. Iran
3-Graduate Master in poultry nutrition in Payam-e-noor University, Agriculture Department, Payam-e-Noor University. I. R. Iran
4-Assistant Professor, Department of Animal Science, Agricultural and Natural Resources Research Center of Khorasan, Mashhad, Iran
(*- Corresponding Author Email: h.sepehrimoghadm@pnu.ac.ir)
DOI: 10.22067/ijasr.v13i2.74299

body weight gain in 30-37 days old. The lowest and highest body weight gain observed in birds fed 20% and 5% DDGS, respectively. There was not any significant difference between feed intake and feed conversion in 22-45 days. Villus height decreased to 881.01 μm in 12% containing diets in comparison to the other treatments. Crypt depth was lowest in control (156.79 μm). Effect of DDGS on the histology of jejunum broiler chickens in 21 and 42 days was not significant. There was a tendency for an increased in crypt depth and decreased in villi height as dietary DDGS increased from 0 to 20%, however it was not significant.

**Conclusion** It can be concluded from this study, in first experiment (1-21 d) the dietary treatments containing 3% DDGS shows better performance in comparison to the other treatment. In second experiment (22-45%), 20% of DDGS was the best treatments for performance.

**Key words:** Broiler chickens, DDGS, Histology, Performance

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۶۲-۲۴۹

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 249-262

مقاله علمی- پژوهشی

# تأثیر گیاه زوفا (*Hyssopus Officinalis*)، آسپرین و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خونی، خصوصیات لاشه و جمعیت میکروبی ایلئوم در جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی القایی

نظر اکبری‌زاده [۱]، علی خطیب جو [۲*]، صیفعلی ورمقانی [۳]، هوشنگ جعفری [۴]، علی‌نقی شکری [۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۰۳

## چکیده

در این آزمایش، تاثیر پودر گیاه دارویی زوفا، آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین و آسپرین بر عملکرد رشد، متابولیت‌های خونی، خصوصیات لاشه و جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی بررسی شد. تعداد ۵۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس۳۰۸، در قالب طرح کاملاً تصادفی به پنج تیمار، پنج تکرار و ۲۰ جوجه در هر تکرار اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱) جیره پایه، ۲ و ۳) به‌ترتیب جیره پایه + ۳۰۰ گرم در تن ویرجینیامایسین یا آسپیرین و ۴ و ۵) به ترتیب جیره پایه دارای ۰/۵ و یک درصد زوفا بودند. نتایج نشان داد که مصرف خوراک با افزودن یک درصد پودر گیاه زوفا به طور معنی داری افزایش یافت. آنتی بیوتیک و هر دو سطح زوفا در مقایسه با شاهد و آسپرین منجر به افزایش وزن، افزایش شاخص کارایی اروپایی و کاهش ضریب تبدیل خوراک شدند. آسپرین و یک درصد زوفا تلفات آسیتی را در مقایسه با سایر تیمارها کاهش دادند. افزودن یک درصد پودر زوفا نسبت به جیره شاهد منجر به کاهش تعداد کل گلبول قرمز، شاخص شکنندگی اسمزی گلبول قرمز و درصد هتروفیل نسبت به گروه شاهد در ۲۱ و ۴۲ روزگی شد. در مقایسه با تیمار شاهد، تیمارهای افزودنی بر تعداد کل گلبول‌های سفید، درصد لنفوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت، غلظت کلسترول کل، HDL- و LDL-کلسترول و اوره سرم خون در ۲۱ و ۴۲ روزگی، درصد لاشه، ران و چربی محوطه شکمی تأثیر معنی‌داری نداشتند؛ اما پودر زوفا منجر به افزایش وزن نسبی سینه گردید. افزودن یک در صد پودر زوفا و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین منجر به کاهش جمعیت اشریشیاکلی ایلئومی جوجه‌های گوشتی شد. به طور کلی، افزودن یک درصد گیاه زوفا موجب بهبود عملکرد و کاهش تلفات جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی شد. افزودن آسپرین موجب کاهش درصد تلفات آسیتی شد. به نظر می‌رسد که افزودن آسپرین و یک درصد پودر زوفا به جیره می‌تواند تا حدی اثرات منفی استرس سرمائی در جوجه‌های گوشتی را کاهش دهد.

**واژه‌های کلیدی:** آسیت، تنش سرمایی، جوجه گوشتی، متابولیت خونی، صفات لاشه.

## مقدمه

طی چند دهه گذشته سرعت رشد جوجه‌های گوشتی تقریباً چهار برابر افزایش یافته است درحالیکه رشد اندام‌های تأمین‌کننده اکسیژن به ویژه قلب و ریه‌ها به موازات رشد ماهیچه‌ها توسعه نیافته است. بر هم خوردن تعادل بین رشد اندام‌های مصرف‌کننده و تأمین کننده اکسیژن (قلب و ریه‌ها) منجر به افزایش بروز ناهنجاری متابولیکی از جمله آسیت در جوجه‌های گوشتی شده است (۱۳ و ۳۷). عامل اصلی به وجود آورنده آسیت کمبود اکسیژن است. هر عاملی (سرما، ارتفاع

۱- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد علوم دامی دانشگاه ایلام
۲ - دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه ایلام
۳- دانشیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایران
۴- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایران
۵- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه ایلام
(*- نویسنده مسئول: Email: a.khatibjoo@ilam.ac.ir )
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.84861

بالا یا خوراک پلت) که باعث عدم تعادل بین اکسیژن مورد نیاز پرنده با اکسیژن تأمین شده در بدن شود، منجر به افت اکسیژن می شود. کاهش دمای محیط موجب کاهش فشار جزئی گاز اکسیژن در محیط می‌شود. به دنبال کاهش فشار اکسیژن محیط یکسری تغییرات پی‌درپی در سیستم قلبی-عروقی رخ می‌دهد که منجر به هایپرتروفی بطن راست و نشت مایعات از پلاسما به محوطه شکمی و بروز آسیت می‌شود که در نهایت سبب مرگ پرندگان می‌شود. تلفات ناشی از آسیت در جوجه‌های گوشتی، نتیجه نهایی افزایش بالای فشار خون در گردش خون ریوی است، لذا از اصطلاح سندرم افزایش فشار خون ریوی برای این عارضه استفاده می‌شود. از آنجائیکه افزایش فشار خون ریوی منجر به بروز آسیت می شود، هر عاملی که باعث کاهش فشار خون مخصوصاً فشار خون در عروق ریوی گردد، ممکن است به کنترل آسیت از طریق بهبود جریان خون بین قلب و شش‌ها و افزایش خون‌رسانی به بافت‌ها کمک کند (۳۷).

آسپرین (استیل سالیسیلیک اسید) اولین عضو از خانواده داروهای ضدالتهاب غیر استروئیدی (در بیماری‌های مفصلی)، ضدتجمع پلاکتی (در بیماری‌های قلبی-عروقی)، ضدتب و ضددرد است که با مهار سنتز واسطه‌های التهابی (پروستاگلاندین‌ها و ترومبوکسان‌ها) سبب کاهش التهاب و پایین آمدن درجه حرارت بدن شده و در نتیجه وضعیت عمومی گله را در زمان ابتلا به بیماری‌های عفونی ویروسی و میکروبی بهبود می‌بخشد (۹). پروستاگلاندین‌ها و ایکوزانوئیدها در تنظیم انقباض و انبساط عروق ریوی نقش دارند. آسپیرین با مهار مسیر آنزیمی سیکلواکسیژناز سبب کاهش سنتز ایکوزانوئیدها می شود. از آنجا که مهار نشدن ترشح پروستاگلاندین‌ها و افزایش انقباض عروق ریوی، می‌تواند سبب افزایش بروز عارضه آسیت در جوجه‌های گوشتی شود (۱۶). بنابراین استفاده از یک مهارکننده سنتز پروستاگلاندین مانند آسپرین ممکن است عارضه آسیت را کاهش دهد.

تنش سرمایی منجر به افزایش ضریب تبدیل خوراک و کاهش رشد پرنده می‌شود. تنش سرمائی سبب کاهش آنزیمهای آنتی اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز و افزایش مالون دآلدهید پلاسما می شود. کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز وسوپر اکسیددیسموتاز خون و بافت کبد در جوجه‌های درگیر با آسیت مشاهده می شود که باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای پلاسما و کبد می‌گردد. همچنین تنش سرمائی موجب تغییر نامطلوب فلور میکروبی دستگاه گوارش می‌شود که در این زمینه یکی از راه‌کارها استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها است. گزارش شده است که تنش سرمائی منجر به افزایش حساسیت طیور به عوامل عفونی و غیرعفونی از قبیل کلی‌باسیلوز در بوقلمون‌ها می‌شود (۱۵). همچنین پرورش طیور در محیط سرد منجر به آسیب به دیواره روده کوچک در اثر افزایش جمعیت باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس و بروز بیماری نکروتیک انتریت می شود و استفاده از آنتی‌بیوتیک در شرایط استرس سرمائی می‌تواند باعث کاهش بروز بیماری انتریت در طیور شود (۳۵). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد به دلیل مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ماندن بقایای آنتی‌بیوتیک در تولیدات طیور در سال ۲۰۰۶ توسط اتحادیه اروپا ممنوع اعلام شد و استفاده از گیاهان داروئی به صورت پودر گیاه، اسانس یا عصاره به عنوان یکی از جایگزین‌های مناسب آنتی‌بیوتیک‌ها مورد توجه قرار گرفته است.

گیاه زوفا با نام علمی Hyssopus Officinalis از تیره نعنائیان و سرشار از رزین‌ها، تانن، هیسوپین و فلاوونوئیدها است. گیاه زوفا حاوی مواد ضد التهابی و ضداسپاسم نیز می‌باشد که در درمان بیماری‌های دستگاه تنفسی و کاهش فشار خون نیز موثر است (۲۳). نتایج کروماتوگرافی نشان داده‌اند که روغن ضروری گیاه زوفا دارای ۷ مونوترپن هیدروکربن (۲۳/۳ درصد)، ۵ مونوترپن اکسیژنه (۶۰/۵ درصد)، یک ترکیب فنولی (۰/۲) درصد و ۶ ترکیب سسکوئی‌ترپن هیدروکربن (۰/۳۵ درصد) می‌باشد. اصلی‌ترین جزء مونوترپن های کامفور در روغن‌های ضروری زوفا شامل پینوکامفون (۴۹/۱ درصد) و بتاپینن (۱۸/۴ در صد) می‌با شد (۱۲). با توجه به مطالب بیان شده هر عاملی که سبب کاهش فشار خون شود یا منجر به کاهش مصرف اکسیژن توسط دستگاه گوارش شود، می‌تواند بروز عارضه آسیت را در طیور کاهش دهد. ما فرض کردیم که گیاه زوفا علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی فراوانی که دارد، ممکن است سبب کاهش عارضه آسیت در جوجه‌های گوشتی شود. لذا آزمایش حاضر با هدف بررسی تأثیر پودر گیاه دارویی زوفا، آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین و آسپرین بر عملکرد، پاسخ سیستم ایمنی و شاخص‌های آسیت در جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در سالن مرغداری تحقیقاتی جهاد کشاورزی ایلام در بهمن ماه انجام شد. تعداد ۵۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس۳۰۸، در قالب طرح کاملاً تصادفی به پنج تیمار، پنج تکرار و ۲۰ جوجه در هر تکرار اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) جیره پایه بدون افزودنی، ۲) جیره پایه بعلاوه ۳۰۰ گرم در تن، آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین ۱۰ درصد (شرکت تولید دارو)، ۳) جیره پایه بعلاوه ۳۰۰ گرم در تن، قرص آسپیرین (شرکت داروک) و ۴ و ۵) به ترتیب جیره پایه دارای ۰/۵ و یک درصد پودر برگ گیاه زوفا. از آنجا که خصوصیات ضد میکروبی و کاهش دهنده فشار خون و ممانعت از بروز آسیت زوفا مشخص شده است لذا از آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین برای مقایسه خاصیت ضد میکروبی گیاه زوفا و از آسپرین برای مقایسه خاصیت کاهنده فشار خون گیاه زوفا استفاده شده است. جوجه های هر تکرار در پن‌هائی به ابعاد ۱۳۰×۱۵۰ سانتی‌متر قرار گرفتند. دمای سالن در روز اول پرورش، ۳۳ درجه و تا

انتهای هفته اول در محدوده ۲۹ درجه سلسیوس حفظ شد.

**جدول ۱**- مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

**Table 1-** Ingredient and nutrient composition of experimental diets

| ماده خوراکی (درصد) Ingredient (g/100g) | جیره آغازین (۱۰-۱ روزگی) (Starter, 1-10 d) | | | جیره رشد (۲۵-۱۱ روزگی) (Grower, 11-25 d) | | | جیره پایانی (۴۲-۲۶ روزگی) (Finisher, 26-42 d) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Control | HOP[1] 0.5 % | HOP 1 % | Control | HOP 0.5 % | HOP 1 % | Control | HOP 0.5 % | HOP 1 % |
| ذرت Corn | 53.09 | 52.3 | 51.41 | 60.48 | 59.40 | 58.65 | 66.76 | 65.71 | 65.46 |
| کنجاله سویا (۴۴٪ پروتئین) Soybean meal (44 % CP) | 35.01 | 35.00 | 35.00 | 29.63 | 30.00 | 30.10 | 28.10 | 28.65 | 28.80 |
| روغن گیاهی Vegetable oil | 1.00 | 1.10 | 1.20 | 1.00 | 1.10 | 1.20 | 1.60 | 1.60 | 1.70 |
| گلوتن ذرت (۶۰ درصد پروتئین) Corn gluten meal (60% CP) | 6.50 | 6.60 | 6.72 | 4.60 | 4.80 | 4.90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| پودر گیاه زوفا *Hyssopus officinalis* powder | 0.00 | 0.50 | 1.00 | 0.00 | 0.50 | 1.00 | 0.00 | 0.50 | 1.00 |
| دی ال-متیونین DL- methionine | 0.24 | 0.25 | 0.27 | 0.20 | 0.23 | 0.21 | 0.19 | 0.20 | 0.22 |
| ال-لیزین هیدروکلراید L-Lysine HCL | 028 | 0.29 | 0.30 | 0.26 | 0.27 | 0.26 | 0.16 | 0.17 | 0.18 |
| ال-ترئونین L-Threonine | 0.05 | 0.05 | 0.06 | 0.04 | 0.05 | 0.04 | 0.01 | 0.02 | 0.03 |
| دی کلسیم فسفات Di-Calcium Phosphate | 1.52 | 1.53 | 1.55 | 1.45 | 1.46 | 1.46 | 1.20 | 1.21 | 1.21 |
| کربنات کلسیم Calcium Carbonate | 1.32 | 1.32 | 1.32 | 1.14 | 1.15 | 1.14 | 1.10 | 1.12 | 1.11 |
| نمک Salt | 0.24 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.26 | 0.24 | 0.28 | 0.29 | 0.29 |
| جوش شیرین $NaHCO_3$ | 0.20 | 0.21 | 0.21 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.15 | 0.15 | 0.15 |
| مکمل ویتامینه و معدنی[۲] Vitamin and mineral premix[2] | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 |
| ترکیب شیمیایی محاسبه شده Calculated analysis | | | | | | | | | |
| انرژی قابل سوخت و ساز(کیلو کالری بر کیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg) | 2990 | 2980 | 2980 | 3055 | 3050 | 3050 | 3120 | 3110 | 3100 |
| فیبر خام (درصد) Fiber (%) | 4.15 | 4.48 | 5.10 | 4.35 | 4.65 | 5.15 | 4.20 | 4.75 | 5.10 |
| پروتئین خام (درصد) Crude protein (%) | 23.70 | 23.60 | 23.40 | 20.90 | 20.80 | 20.80 | 18.10 | 18.00 | 18.00 |
| لیزین قابل هضم (درصد) Digestible Lysine[4] (%) | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.10 | 1.10 | 1.10 | 0.96 | 0.96 | 0.96 |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| متیونین قابل هضم (درصد) Digestible Methionine (%) | 0.58 | 0.58 | 0.58 | 0.52 | 0.52 | 0.52 | 0.43 | 0.43 | 0.43 |
| متیونین+ سیستین (درصد) Methionine + Cystine | 0.90 | 0.90 | 0.90 | 0.80 | 0.80 | 0.80 | 0.69 | 0.69 | 0.69 |
| ترئونین قابل هضم (درصد) Digestible Threonine (%) | 0.79 | 0.79 | 0.79 | 0.69 | 0.69 | 0.69 | 0.60 | 0.60 | 0.60 |
| کلسیم (درصد) Calcium (%) | 1.05 | 1.05 | 1.05 | 0.95 | 0.95 | 0.95 | 0.86 | 0.86 | 0.86 |
| فسفر قابل دسترس (درصد) Available P (%) | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.48 | 0.48 | 0.48 | 0.43 | 0.43 | 0.43 |
| تعادل آنیون-کاتیون[۲](میلی اکی‌والان بر کیلوگرم) DCAB[3] (mEq/Kg) | 239 | 237 | 241 | 216 | 214 | 218 | 207 | 212 | 210 |

[۱]هر کیلوگرم مکمل ویتامینه به ازای هر کیلوگرم جیره مواد مغذی جاری را تأمین کرد: ۱۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین-$D_3$، ۱۲۱ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲ میلی‌گرم ویتامین $K_3$، ۴ میلی‌گرم ویتامین $B_1$، ۴۰ میلی‌گرم ویتامین $B_2$، ۰/۷۵ میلی‌گرم اسید فولیک، ۰/۷۵ میلی‌گرم D-بیوتین، ۴ میلی‌گرم پیرودوکسین، ۸۴۰ میلی‌گرم کولین‌کلراید، ۰/۱۲۵ میلی‌گرم اتوکسی کوئین و هر کیلوگرم مکمل معدنی به ازای هر کیلوگرم جیره مواد مغذی جاری را تأمین کرد: ۱۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۸۰ میلی‌گرم آهن، ۶۰ میلی‌گرم روی، ۸ میلی‌گرم مس، ۰/۵ میلی‌گرم ید، ۰/۵ میلی‌گرم ید و ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم

[۲] تعادل آنیون-کاتیون

[1]Each kg of vitamin and trace mineral premix provided: vitamin A, 12000 I.U. trans retinol; vitamin $D_3$, 5000 I.U.; vitamin E 121 I.U.; vitamin $K_3$ 2 mg; vitamin $B_1$ 4 mg; vitamin $B_2$ 40 mg; ; folic acid 0.75 mg; vitamin $B_6$ 4 mg; vitamin $B_{12}$ 0.02 mg; D-biotin 0.75 mg; choline chloride 840 mg; ethoxyquin 0.125 mg and each kg of mineral premix provided: Fe 80 mg; Cu 8 mg; Mn 80 mg; Zn 60 mg; I 0.5 mg; Se 0.3 mg.

[2]DCAB= Dietary Cation-Anion Balance.

با افزایش سن جوجه‌ها، برنامه دمایی برای القاء آسیت در پایان ۷، ۱۴ و ۲۱ روزگی به ترتیب ۲۵ (۸۳ درصد دمای طبیعی یعنی ۳۰ درجه سلسیوس)، ۲۱ (۷۵ درصد دمای طبیعی یعنی ۲۷ درجه سلسیوس) و ۱۷ درجه سلسیوس (۷۵ درصد دمای طبیعی یعنی ۲۴ درجه سلسیوس) به ترتیب بود و تا هفته آخر دوره پرورشی (هفته ششم) دمای سالن سرد حدود ۱۵ درجه سلسیوس (۷۱ درصد دمای طبیعی یعنی ۲۱ درجه سلسیوس) بود (۳۶). بروز و القای آسیت با بررسی میزان آب آوردگی شکمی جوجه‌های گوشتی زنده و بررسی آب آوردگی شکم و نسبت بین وزن بطن راست به وزن کل قلب در جوجه‌های تلف شده انجام شد. میزان رطوبت سالن در ابتدای دوره پرورش حدود ۶۰-۵۰ درصد و در انتهای دوره حدود ۶۵-۶۰ درصد بود. روشنایی سالن در روز اول ۲۴ ساعت و سپس در کل دوره ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی اعمال شد.

جیره‌های آزمایشی بر اساس کاتالوگ سویه راس شرکت آویاژن (۴) در دوره‌های مختلف پرورش و بر پایه ذرت-کنجاله سویا در سه دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲- ۲۵ روزگی) تنظیم شدند (۱۴). مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱، آورده شده است. نیاز اسید آمینه‌ای طیور و همچنین اجزاء مختلف جیره‌ها بر اساس اسید آمینه قابل هضم استاندارد شده ایلئومی برآورد گردید (۴، ۱۴) و به وسیله نرم افزار جیره‌نویسی UFFDA تنظیم شدند. میزان روشنائی در سه روز ابتدائی دوره پرورش ۲۴ ساعت و پس از آن تا انتهای دوره پرورش ۲۳ ساعت بود و میزان رطوبت سالن در محدوده ۵۵-۵۰ درصد حفظ شد. وزن بدن، افزایش وزن بدن و خوراک مصرفی و درصد تلفات آسیتی و تلفات کل جوجه‌ها اندازه‌گیری شد و ضریب تبدیل خوراک تصحیح شده بر اساس تلفات محاسبه شد. در پایان آزمایش نیز، فاکتور تولید بازده اروپائی با استفاده از رابطه ۱، محاسبه شد.

(۱)

شاخص بازده تولید اروپائی = {(ضریب تبدیل خوراک × سن فروش (روز))/(وزن زنده (کیلوگرم) × درصد ماندگاری)} ×۱۰۰

در هفته سوم و ششم، دو جوجه از هر تکرار انتخاب و از سیاهرگ زیر بال آن‌ها خونگیری شد. یک نمونه خون به منظور اندازه‌گیری غلظت گلوکز، کلسترول کل، HDL-کلسترول، LDL-کلسترول، پروتئین کل و اوره سرمی با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون استفاده شد. از نمونه خون دیگر به منظور اندازه‌گیری غلظت هموگلوبین خون و شمارش تفریقی کل گلبول قرمز و سفید، شاخص شکنندگی اسمزی گلبول قرمز (اندازه‌گیری به روش شمارش تفریقی و بر اساس درصدی از کل گلبول‌های قرمز) و درصد هتروفیل،

لنفوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت استفاده شد (۳۲).

در ۴۲ روزگی، دو پرنده از هر تکرار با وزن نزدیک به میانگین گروه، برای بررسی خصوصیات لاشه کشتار شدند. بلافاصله پس از کشتار، ایلئوم جوجه‌های گوشتی از زائده مکل تا محل اتصال به سکوم جدا شده و بعد از انتقال به آزمایشگاه، محتویات حد فاصل بین زائده مکل تا ۵ سانتیمتری محل اتصال به سکوم جدا شد. یک گرم از محتویات جدا شده و با سرم فیزیولوژیک به میزان $10^{-7}$ رقیق شد و بعد از کشت در محیط کشت، جمعیت باکتری‌های اشیریشیاکلی و لاکتوباسیلوس شمارش شد. وزن نسبی لاشه و چربی محوطه شکمی بر اساس درصدی وزن بدن و درصد ران و سینه بر اساس درصدی از لاشه گرم اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل توسط نرم افزار SAS (نسخه ۹/۴) سال ۲۰۰۴ رویه GLM (تعداد متفاوت جوجه در هر تکرار به دلیل بروز تلفات) برای مدل ۲ تجزیه و میانگین تیمارها در سطح معنی‌داری پنج درصد و با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با هم مقایسه شدند (۲۹).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad (۲)$$

در این رابطه، $Y_{ij}$، مشاهدات؛ $\mu$، میانگین مشاهدات؛ $T_i$، اثر تیمار i و $e_{ij}$، اثر خطای تصادفی مربوط به هر مشاهده است.

## نتایج و بحث

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در جدول ۲، نشان داده شده است. نتایج نشان داد که مصرف خوراک با افزودن یک درصد پودر گیاه زوفا به طور معنی داری افزایش یافت. آنتی بیوتیک و هر دو سطح زوفا در مقایسه با شاهد و آسپرین منجر به افزایش وزن، افزایش شاخص کارایی اروپایی و کاهش ضریب تبدیل خوراک شدند. آسپرین و یک درصد زوفا تلفات آسیتی را در مقایسه با سایر تیمارها کاهش دادند.

**جدول ۲**- تاثیر جیره‌های آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در کل دوره پرورش

**Table 2-** Effect of experimental diets on broiler chickens performance in the total rearing period

| جیره‌های آزمایشی[1] Experimental Diets[1] | مصرف خوراک (گرم) Feed intake (g) | وزن بدن (گرم) Body weight (g) | ضریب تبدیل خوراک FCR[2] | شاخص کارآیی اروپایی EPEF[3] | کل تلفات Mortality | تلفات آسیتی Mortality due to Ascites |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $T_1$ | 4372[b] | 2069[b] | 2.11[a] | 202[c] | 15.00 | 13.75[a] |
| $T_2$ | 4337[b] | 2130[a] | 2.03[b] | 215[b] | 13.80 | 13.76[a] |
| $T_3$ | 4270[b] | 2024[b] | 2.11[a] | 198[c] | 13.70 | 7.50[b] |
| $T_4$ | 4278[b] | 2171[a] | 1.97[b] | 229[a] | 12.50 | 10.00[ab] |
| $T_5$ | 4542[a] | 2183[a] | 1.99[b] | 240[a] | 12.50 | 6.25[b] |
| *SEM* | 46.50 | 23.80 | 0.01 | 5.30 | 1.38 | 1.79 |
| *P-Value* | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.23 | 0.01 |

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

[۱] ۱) جیره پایه بدون افزودنی، ۲) جیره پایه بعلاوه آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین (۳۰۰ گرم در تن)، ۳) جیره پایه بعلاوه آسپرین (۳۰۰ گرم در تن) و ۴ و ۵) به ترتیب جیره پایه دارای ۰/۵ و ۱ درصد پودر گیاه زوفا.

[۲] FCR= ضریب تبدیل خوراک

[۳] EPEF= شاخص کارائی اروپائی

[abc]Means within the column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

[1] $T_1$) basal diet without feed additive; $T_2$) basal diet plus 300 g/ton Virginiamycin; $T_3$) basal diet plus 300 g/ton Aspirin; $T_4$ and $T_5$) basal diet containing 0.5 or 1 percent *Hyssopus officinalis*, respectively.

[2] FCR=Feed conversion ratio.

[3] EPEF= European production efficiency factor.

افزودن آسپرین به جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش تلفات آسیتی جوجه‌های گوشتی شد اما منجر به بهبود عملکرد آن‌ها طی تنش سرمایی نشد و تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد با جوجه‌های دریافت کننده آسپرین از لحاظ خوراک مصرفی، افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل خوراک و شاخص کارائی اروپائی وجود نداشت ($P > ۰/۰۵$). جوجه‌های دریافت کننده جیره‌های حاوی ۰/۵ و یک درصد پودر گیاه زوفا و جیره دارای آسپرین درصد تلفات آسیتی کمتری نسبت به گروه شاهد در شش هفتگی داشتند ($P < ۰/۰۵$) درحالی‌که بین تلفات آسیتی جوجه‌های گروه شاهد و گروه دریافت کننده آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > ۰/۰۵$).

مشابه آزمایش حاضر، محققین با افزودن یک و دو درصد پودر گیاهان داروئی بهلیمو، مریم‌گلی و کنگر فرنگی به جیره جوجه های گوشتی در شرایط تنش سرمایی گزارش کردند که جیره‌های آزمایشی حاوی گیاهان داروئی منجر به افزایش خوراک مصرفی و وزن بدن و

کاهش ضریب تبدیل جوجه‌های گوشتی نسبت به گروه شاهد شدند در حالیکه افزودن آسپرین یا آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر فراسنجه‌های عملکردی مذکور تاثیر نداشتند (۳۱). در شرایطی تقریبا مشابه آزمایش حاضر (تنش)، محققین با افزودن یک درصد پودر زوفا به جیره جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمائی گزارش کردند که جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی گیاه زوفا نسبت به گیاهان داروئی مرزنجوش، مرزه خوزستانی، سرخ ولیک و نسترن کوهی وزن بدن کمتر و ضریب تبدیل بالاتری داشتند (۲). ترکیبات موثره اصلی موجود در اسانس و عصاره گیاه زوفا عبارتند از: سیس و ترانس-پینوکامفون (۴۹ درصد) و بتاپینن (۲۰/۴ درصد) که ترکیبات موثره اصلی موجود در اسانس زوفا دارای فعالیت ضد میکروبی هستند (۱۲). افزودن گیاه داروئی زوفا به جیره جوجه‌های گوشتی با توجه به مقادیر بالای بتاپینن و پینوکامفون که می‌توانند با نفوذ به دیواره سلولی باکتری‌ها و تخریب دیواره سلولی، منجر به کاهش باکتری‌های بیماری‌زا و انگل های موجود در روده می‌شود و متعاقباً جمعیت میکروب‌های روده متعادل می‌شود. کاهش باکتری‌های بیماری‌زا منجر به کاهش رقابت جمعیت میکروبی با میزبان برای مواد مغذی می شود که می‌تواند قابلیت دسترسی مواد مغذی را افزایش دهد و از این طریق سبب بهبود عملکرد جوجه‌ها می‌شود.

مشابه آزمایش حاضر، افزودن یک و دو درصد پودر گیاهان داروئی به‌لیمو، مریم‌گلی و کنگر فرنگی به جیره جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی گزارش کردند که تلفات آسیتی در ۴۲ روزگی در تیمارهای دارای مریم گلی، کنگر فرنگی و به‌لیمو (مجموع میانگین دو سطح) برابر ۶/۲۵ درصد در مقابل گروه شاهد (۱۳/۲۵) و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین ۱۱/۲۵ درصد بود که حدود دو برابر، درصد تلفات ناشی از آسیت را کاهش داده است (۳۱). همچنین، آزمایشات دیگر میزان تلفات ناشی از آسیت را در شرایط دمای طبیعی و القای آسیت به‌ترتیب ۵ و ۲۳ درصد (۲۴) و ۷/۵ و ۳۸ درصد گزارش کرده‌اند (۱۰). گزارش شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه زوفا بالا است و توانائی کاهش رادیکال‌های آزاد را دارد (۱۲). در شرایطی مانند تنش سرمایی، میزان رادیکال‌های آزاد افزایش پیدا می‌کند و می‌تواند منجر به افزایش تلفات شود. همچنین گزارش شده است که عصاره گیاه زوفا توانائی بالائی در کاهش فعالیت آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین و ممانعت از تجمع پلاکت ها دارد (۱۲). از طرف دیگر، آسپرین نیز توانائی رقیق‌سازی خون و کاهش ویسکوزیته خون را دارد. با توجه به اینکه در تنش سرمایی، پرنده با افزایش فشار خون ریوی و افزایش تعداد سلول‌های خونی مواجه می‌شود که هر دو در نهایت منجر به بروز آسیت و مرگ پرنده می‌شوند. در آزمایش حاضر، گیاه زوفا و آسپرین احتمالا با کاهش فشار خون ریوی و کاهش رقیق‌سازی خون تلفات آسیتی را در جوجه‌های گوشتی تحت تنش حرارتی کاهش داده‌اند. دلایل احتمالی کاهش تلفات آسیتی جوجه‌های گوشتی در اثر گیاهان داروئی یا آسپرین، تعدیل سطح کورتیزول خون و کاهش تنش ناشی از سرما، تسهیل جریان خون به قلب از طریق کاهش هماتوکریت، کاهش فشار خون و ممانعت از هایپرتروفی و هایپرپلازیی قلب به‌واسطه‌ی کاهش حجم کاری، خواص آنتی‌اکسیدانی و یا ضدالتهابی گیاهان داروئی یا آسپرین ذکر شده است (۱۱).

گزارش‌هایی مبنی بر افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میکروب‌های دستگاه گوارش تحت شرایط تنش سرمایی وجود دارد. افزایش در مقاومت باکتری اشریشیاکولای جدا شده از روده خوک‌های در معرض تنش سرمایی به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، تتراسایکلین و نیز آپرامایسین بوجود آمده است (۲۲). تنش‌های محیطی یا تغذیه‌ای سبب افزایش تعداد کلی‌فرم‌های ژئوژنوم، ایلئوم و سکوم و کاهش شمار لاکتوباسیلوس‌ها می‌شوند (۲۲، ۳۱). دماهای محیطی سرد احتمالاً از طریق تغییراتی در خوراک مصرفی یا نرخ عبور مواد هضمی، می‌توانند فعالیت جمعیت میکروبی روده را به صورت مضر تحت تأثیر قرار دهند. بنابراین هنگامی که گله تحت تنش سرمایی قرار گیرد، ممکن است استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها چندان سودمند نباشد (۱۸). با توجه به اینکه در آزمایش حاضر، آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر تلفات آسیتی موثر نبوده چنین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تلفات آسیتی زیاد در جوجه‌های تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک احتمالا به دلیل افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی یا تغییر نامناسب فلور میکروبی می‌باشد.

نتایج جداول ۳ و ۴ نشان داد که جیره‌های آزمایشی در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی بر گلبول سفید و درصد لنفوسیت خون و نسبت هتروفیل به لنفوسیت جوجه‌های گوشتی تاثیر نداشتند ($P>0/05$). جوجه‌های دریافت کننده جیره حاوی یک درصد پودر گیاه زوفا دارای هموگلوبین و گلبول قرمز کمتر و درصد هتروفیل و شاخص شکنندگی اسمزی گلبول قرمز پائینتری نسبت به سایر جیره‌های آزمایشی بودند. درحالیکه در سن ۴۲ روزگی افزودن نیم یا یک درصد پودر گیاه زوفا یا آسپرین به جیره جوجه‌های گوشتی منجر به کاهش شاخص شکنندگی اسمزی گلبول قرمز، میزان هموگلوبین خون، تعداد گلبول قرمز و درصد هتروفیل خون نسبت به تیمارهای شاهد و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین شد ($P<0/05$).

مشابه آزمایش حاضر، در یک آزمایش محققین با افزودن یک و دو درصد پودر گیاهان داروئی به‌لیمو، مریم‌گلی و کنگر فرنگی به جیره جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی، گزارش کردند که کنگرفرنگی موجب کاهش میزان گلبول قرمز خون، به‌لیمو و مریم‌گلی سبب افزایش درصد لنفوسیت، مریم‌گلی سبب کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت و همه گیاهان داروئی موجب کاهش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز خون شدند، درحالیکه بر درصد هتروفیل تاثیر نداشتند (۳۱).

**جدول ۳**- تأثیر جیره‌های آزمایشی بر تعداد سلول‌های خونی جوجه‌های گوشتی (۲۱ روزگی)

**Table 3-** Effect of experimental diets on blood cell counts of broiler chicks (21 day)

| جیره‌های آزمایشی[1] Experimental Diets[1] | هموگلوبین Hemoglobin (g/dL) | گلبول قرمز RBC | گلبول سفید WBC | شکنندگی گلبول‌قرمز EOF (%) | لنفوسیت Lymphocyte (%) | هتروفیل Heterophil (%) | نسبت هتروفیل به لنفوسیت H/L |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $T_1$ | $14.30^{ab}$ | $2.87^{a}$ | 29.02 | $15.25^{a}$ | 63.12 | $37.82^{b}$ | 0.60 |
| $T_2$ | $14.22^{ab}$ | $2.85^{a}$ | 29.62 | $15.75^{a}$ | 64.25 | $37.26^{b}$ | 0.58 |
| $T_3$ | $14.45^{a}$ | $2.88^{a}$ | 29.90 | $14.50^{ab}$ | 56.87 | $43.22^{a}$ | 0.75 |
| $T_4$ | $14.06^{ab}$ | $2.85^{a}$ | 22.15 | $14.25^{ab}$ | 65.25 | $34.58^{bc}$ | 0.53 |
| $T_5$ | $12.27^{c}$ | $2.50^{b}$ | 22.95 | $13.72^{b}$ | 70.50 | $29.61^{c}$ | 0.42 |
| *SEM* | 0.21 | 0.06 | 2.82 | 0.48 | 4.66 | 2.16 | 0.11 |
| *P-Value* | 0.01 | 0.001 | 0.78 | 0.01 | 0.51 | 0.04 | 0.48 |

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

[1] ۱) جیره پایه بدون افزودنی، ۲) جیره پایه بعلاوه آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین (۳۰۰ گرم در تن)، ۳) جیره پایه بعلاوه آسپیرین (۳۰۰ گرم در تن) و ۴ و ۵) به ترتیب جیره پایه دارای ۰/۵ و ۱ درصد پودر گیاه زوفا.

[2]- EOF= تست شکنندگی گلبول قرمز

۳- H/L= نسبت هتروفیل به لنفوسیت

$^{abc}$Means within the column same with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

[1] $T_1$) basal diet without feed additive; $T_2$) basal diet plus 300 g/ton Virginiamycin; $T_3$) basal diet plus 300 g/ton Aspirin; $T_4$ and $T_5$) basal diet containing 0.5 or 1 percent *Hyssopus officinalis*, respectively.

[2] EOF= Erythrocyte osmotic fragility.

[3] H/L= Heterophil to lymphocyte ratio.

**جدول ٤**- تأثیر جیره‌های آزمایشی بر تعداد سلول‌های خونی جوجه‌های گوشتی (۴۲ روزگی)

**Table 4-** Effect of experimental diets on blood cell counts of broiler chicks (42 day)

| جیره‌های آزمایشی[1] Experimental Diets[1] | هموگلوبین Hemoglobin (g/dL) | گلبول قرمز RBC | گلبول سفید WBC | شکنندگی گلبول‌قرمز EOF (%) | لنفوسیت Lymphocyte (%) | هتروفیل Heterophil (%) | نسبت هتروفیل به لنفوسیت H/L |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $T_1$ | 15.15 | $3.32^{a}$ | 31.72 | $23.50^{a}$ | 73.75 | $23.60^{a}$ | 0.32 |
| $T_2$ | 15.12 | $3.30^{a}$ | 28.87 | $22.75^{a}$ | 73.25 | $25.11^{a}$ | 0.34 |
| $T_3$ | 16.55 | $3.12^{c}$ | 26.65 | $20.75^{b}$ | 69.50 | $22.80^{b}$ | 0.40 |
| $T_4$ | 16.85 | $3.20^{bc}$ | 31.35 | $40.74^{b}$ | 76.75 | $21.52^{c}$ | 0.28 |
| $T_5$ | 14.22 | $3.17^{c}$ | 26.77 | $20.25^{b}$ | 73.00 | $21.33^{c}$ | 0.32 |
| *SEM* | 0.97 | 0.06 | 2.41 | 0.48 | 1.59 | 0.61 | 0.04 |
| *P-Value* | 0.26 | 0.01 | 0.54 | 0.01 | 0.09 | 0.03 | 0.20 |

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

[1] ۱) جیره پایه بدون افزودنی، ۲) جیره پایه بعلاوه آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین (۳۰۰ گرم در تن)، ۳) جیره پایه بعلاوه آسپیرین (۳۰۰ گرم در تن) و ۴ و ۵) به ترتیب جیره پایه دارای ۰/۵ و ۱ درصد پودر گیاه زوفا.

[2]- EOF= تست شکنندگی گلبول قرمز

۳- H/L= نسبت هتروفیل به لنفوسیت

$^{abc}$Means within the column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

[1] $T_1$) basal diet without feed additive; $T_2$) basal diet plus 300 g/ton Virginiamycin; $T_3$) basal diet plus 300 g/ton Aspirin; $T_4$ and $T_5$) basal diet containing 0.5 or 1 percent *Hyssopus officinalis*, respectively.

[2] EOF= Erythrocyte osmotic fragility.

[3] H/L= Heterophil to lymphocyte ratio.

در مطالعات مشـــابهی، عدم تأثیر گیاهان داروئی مختلف از قبیل مریم‌گلی و آویشن (۸)، به‌لیمو (۲۵) و عصاره جغجغه و سماق (۳۰) بر گلبول های ســـفید خون، گلبول های قرمزخون و هموگلوبین خون جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی گزارش شده است. در مقابل، استفاده از یک در صد پودر آلوئه‌ورا در جیره جوجه‌های گوشتی باعث افزایش مقدار هموگلوبین و هماتوکریت شـد (۱۹، ۲۰). موافق با نتایج

آزمایش حاضر، افزودن پودر گیاهان دارویی زردچوبه، آویشن و دارچین (۵ گرم بر کیلوگرم) به جیره جوجه‌های گوشتی سویه آرین سبب کاهش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز شد (۲۱). افزایش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز می‌تواند قابلیت تغییر شکل پذیری گلبول‌های قرمز را کاهش دهد که این عامل نیز می‌تواند سبب کاهش انتقال اکسیژن، افزایش هماتوکریت خون، افزایش ویسکوزیته خون (۲۷) و نهایتاً سبب شروع سندرم آسیت شود. علت کاهش حساسیت اسمزی گلبول‌های قرمز را تغییر الگوی لیپیدهای غشاء سلولی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اثر گیاهان داروئی (۳۱) و آسپرین (۱۱) ذکر کرده‌اند. غشاهای سلول، غنی از اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشند، بنابراین در غیاب مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی قوی، اهداف حساسی برای حملات اکسیداتیو می‌باشند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه زوفا بالا است و توانائی کاهش رادیکال‌های آزاد را دارد (۱۲). که احتمالاً از این طریق سبب کاهش شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز شده است.

نسبت هتروفیل به لنفوسیت یک شاخص خوب برای تعیین تنش در گونه‌های طیور می‌باشد و گزارش شده است که تنش سرمایی سبب افزایش غلظت هموگلوبین، شمار گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید خون، درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت و کاهش درصد لنفوسیت می‌شود و افزایش شمار لوکوسیت‌ها احتمالا به علت افزایش غلظت هتروفیل در طول تنش سرمایی است (۱). افزودن پودر به لیمو به میزان ۰/۵ و ۱ درصد به جیره جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی از طریق کاهش هتروفیل و افزایش لنفوسیت، سبب کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت در مقایسه با گروه شاهد شد (۲۵).

اثر جیره‌های آزمایشی بر غلظت متابولیت‌های خون جوجه‌های گوشتی در جداول ۵ و ۶ آمده است.

**جدول ۵**- تأثیر جیره‌های آزمایشی بر متابولیت‌های خونی (mg/dL) و پروتئین کل (g/dL) جوجه‌های گوشتی (۲۱ روزگی)

**Table 5-** Effect of experimental diets on blood metabolites of broiler chicks (21 day)

| جیره‌های آزمایشی[1] Experimental Diets[1] | گلوکز Glucose | کلسترول کل Total cholesterol | تری‌گلیسرید Triglyceride | HDL-کلسترول HDL-cholesterol | LDL-کلسترول LDL-cholesterol | پروتئین کل Total protein | اوره Urea |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $T_1$ | 212.50 | 125.00 | 50.75 | 74.25 | 40.60 | 2.77[b] | 1.85 |
| $T_2$ | 216.25 | 125.26 | 64.50 | 73.50 | 38.85 | 3.18[ab] | 2.00 |
| $T_3$ | 224.75 | 140.25 | 70.50 | 79.25 | 46.90 | 3.09[ab] | 1.53 |
| $T_4$ | 238.50 | 126.02 | 82.50 | 88.75 | 20.75 | 2.91[ab] | 1.30 |
| $T_5$ | 239.51 | 135.50 | 81.25 | 85.25 | 34.00 | 3.45[a] | 1.32 |
| *SEM* | 8.87 | 7.01 | 8.81 | 5.51 | 5.57 | 0.18 | 0.33 |
| *P-Value* | 0.17 | 0.28 | 0.16 | 0.10 | 0.07 | 0.04 | 0.46 |

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

[1] ۱) جیره پایه بدون افزودنی، ۲) جیره پایه بعلاوه آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین (۳۰۰ گرم در تن)، ۳) جیره پایه بعلاوه آسپیرین (۳۰۰ گرم در تن) و ۴و ۵) به ترتیب جیره پایه دارای ۰/۵ و ۱ درصد پودر گیاه زوفا.

[ab]Means within the column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

[1]$T_1$) basal diet without feed additive; $T_2$) basal diet plus 300 g/ton Virginiamycin; $T_3$) basal diet plus 300 g/ton Aspirin; $T_4$ and $T_5$) basal diet containing 0.5 or 1 percent *Hyssopus officinalis*, respectively.

تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر غلظت گلوکز، کلسترول کل، HDL- و LDL-کلسترول، تری‌گلیسرید و اوره سرمی در ۲۱ روزگی نداشتند ($P < ۰/۰۵$) درحالیکه افزودن یک درصد پودر گیاه زوفا نسبت به جیره شاهد منجر به افزایش غلظت پروتئین کل شد ($P < ۰/۰۵$). تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر غلظت کلسترول کل، HDL- و LDL-کلسترول و اوره سرمی در ۴۲ روزگی نداشتند ($P < ۰/۰۵$) درحالیکه افزودن نیم و یک درصد پودر گیاه زوفا نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی منجر به کاهش غلظت تری‌گلیسرید سرمی جوجه‌های گوشتی شد ($P < ۰/۰۵$). گزارش شده است که گیاهان داروئی موجب کاهش میزان گلوکز خون و افزایش برداشت گلوکز توسط سلول‌های بدن می‌شوند (۳۴) درحالیکه مشابه آزمایش حاضر محققین گزارش کردند که افزودن زنجبیل (۱۷) یا پونه کوهی بر غلظت گلوکز خون تاثیر معنی‌داری نداشتند (۷) و دلیل آن برای نویسندگان مقاله مشخص نبود. گزارش شده است که روغن‌های ضروری گیاهان داروئی با تاثیر بر آنزیم‌های گوارشی سوکراز، لیپاز و پروتئازها سبب بهبود قابلیت استفاده از خوراک در طیور شده‌اند (۶). در آزمایش حاضر، دلیل احتمالی افزایش پروتئین کل سرم جوجه‌های گوشتی دریافت کننده جیره‌های حاوی پودر گیاه زوفا، تاثیر این گیاه داروئی بر ترشح آنزیم‌های پروتئولیتیک باشد. تاثیر مثبت گیاهان داروئی بر کاهش کلسترول سرمی از طریق تاثیر بر فعالیت آنزیم ۳

هیدروکسی ۳ متیل گلوتاریل کوانزیم آ (HMG-CoA) رودوکتاز کبدی (آنزیم تنظیمی کلیدی در سنتز کلسترول) در شرایط تنش سرمایی گزارش شده است (۳۰) و در تحقیقی عدم تاثیر پودر گیاهان داروئی بر میزان تری‌گلیسرید خون و متابولیسم اسیدهای چرب گزارش شده است (۱۹).

با این حال در آزمایش حاضر عدم تاثیر گیاه داروئی زوفا بر کلسترول و کاهش تری‌گلیسرید سرمی مشاهده شد. کاهش تری‌گلیسرید خون جوجه های گوشتی در اثر افزودن روغن های ضروری می‌تواند به دلیل افزایش سطح باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک در روده جوجه‌های گوشتی باشد (۳۱) که در آزمایش حاضر نیز گیاه داروئی زوفا موجب افزایش میزان لاکتوباسیل‌ها در ایلئوم شد.

**جدول ٦**- تأثیر جیره‌های آزمایشی بر متابولیت‌های خونی (mg/dL) و پروتئین کل (g/dL) جوجه‌های گوشتی (۴۲ روزگی)

**Table 5-** Effect of experimental diets on blood metabolites of broiler chicks (42 day)

| جیره‌های آزمایشی[1] Experimental Diets[1] | گلوکز Glucose | کلسترول کل Total cholesterol | تری‌گلیسرید Triglyceride | HDL-کلسترول HDL-cholesterol | LDL-کلسترول LDL-cholesterol | پروتئین کل Total protein | اوره Urea |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $T_1$ | 240.25[ab] | 179.50 | 86.50[a] | 41.78 | 120.45 | 3.55 | 1.35 |
| $T_2$ | 210.50[c] | 181.75 | 84.25[a] | 40.75 | 120.10 | 3.82 | 1.36 |
| $T_3$ | 222.50[bc] | 180.00 | 86.00[a] | 45.25 | 124.15 | 3.63 | 0.89 |
| $T_4$ | 232.75[bc] | 178.00 | 73.25[c] | 46.75 | 116.35 | 3.62 | 1.27 |
| $T_5$ | 264.50[a] | 189.50 | 74.50[bc] | 46.50 | 123.80 | 3.67 | 1.40 |
| *SEM* | 8.27 | 7.17 | 3.21 | 2.79 | 8.39 | 0.15 | 0.19 |
| *P-Value* | 0.01 | 0.33 | 0.02 | 0.55 | 0.55 | 0.64 | 0.47 |

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

[1] ۱) جیره پایه بدون افزودنی، ۲) جیره پایه بعلاوه آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین (۳۰۰ گرم در تن)، ۳) جیره پایه بعلاوه آسپیرین (۳۰۰ گرم در تن) و ۴و ۵) به ترتیب جیره پایه دارای ۰/۵ و ۱ درصد پودر گیاه زوفا.

[ab]Means within the column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

[1]$T_1$) basal diet without feed additive; $T_2$) basal diet plus 300 g/ton Virginiamycin; $T_3$) basal diet plus 300 g/ton Aspirin; $T_4$ and $T_5$) basal diet containing 0.5 or 1 percent *Hyssopus officinalis*, respectively.

**جدول ۷**- تأثیر جیره‌های آزمایشی بر صفات لاشه و جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌های گوشتی (۴۲ روزگی)

**Table 7-** Effect of experimental diets on carcass components and ileum microbial population of broiler chicks (42 day)

| جیره‌های آزمایشی[1] Experimental Diets[1] | لاشه Carcass (%) | چربی بطنی Abdominal fat (%)[2] | سینه Breast (%)[3] | ران Thigh (%)[3] | اشریشیاکلای Escherichia coli ($log_{10}$cfu/g) | لاکتوباسیلوس Lactobacillus ($log_{10}$cfu/g) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $T_1$ | 63.17 | 1.52 | 34.11[ab] | 28.94 | 7.78[a] | 9.24[ab] |
| $T_2$ | 65.76 | 1.45 | 34.85[ab] | 28.40 | 7.27[b] | 8.41[b] |
| $T_3$ | 64.50 | 2.23 | 32.75[b] | 28.28 | - | - |
| $T_4$ | 69.23 | 1.19 | 38.11[a] | 26.91 | 7.69[a] | 8.79[b] |
| $T_5$ | 66.27 | 1.36 | 37.46[a] | 27.44 | 7.21[b] | 9.54[a] |
| *SEM* | 1.61 | 0.24 | 1.28 | 0.62 | 0.15 | 0.13 |
| *P-Value* | 0.16 | 0.08 | 0.05 | 0.04 | 0.01 | 0.02 |

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

[1] ۱) جیره پایه بدون افزودنی، ۲) جیره پایه بعلاوه آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین (۳۰۰ گرم در تن)، ۳) جیره پایه بعلاوه آسپیرین (۳۰۰ گرم در تن) و ۴ و ۵) به ترتیب جیره پایه دارای ۰/۵ و ۱ درصد پودر گیاه زوفا.

۲- درصد از وزن بدن

۳- درصد از وزن لاشه

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

[1]$T_1$) basal diet without feed additive; $T_2$) basal diet plus 300 g/ton Virginiamycin; $T_3$) basal diet plus 300 g/ton Aspirin; $T_4$ and $T_5$) basal diet containing 0.5 or 1 percent *Hyssopus officinalis*, respectively.

[2]% of live body weight.

[3]% of carcass weight.

اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات لاشه و جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌های گوشتی در جدول ۷ نشان داده شده است. در مقایسه با تیمار شاهد، افزودن آنتی‌بیوتیک، آسپرین یا پودر گیاه زوفا نسبت به جیره شاهد تأثیر معنی‌داری بر درصد لاشه، ران و چربی محوطه شکمی در ۴۲ روزگی نداشتند ($P > ۰/۰۵$) ولی جوجه‌های دریافت کننده پودر گیاه زوفا (۰/۵ و یک در صد) دارای بیشترین در صد وزن سینه بودند ($P < ۰/۰۵$).

آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین و یک درصد پودر گیاه زوفا موجب کاهش تعداد باکتری اشیرشیاکلی شدند و یک در صد پودر زوفا منجر به افزایش باکتری لاکتوباسیلوس ایلئوم جوجه‌های گوشتی نسبت به گروه آنتی بیوتیک و ۰/۵ درصد پودر زوفا شد ($P < ۰/۰۵$). موافق نتایج آزمایش حاضر، افزودن یک و دو درصد پودر گیاهان داروئی به‌لیمو، مریم‌گلی و کنگر فرنگی به جیره جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی بر تعداد لاکتوباسیل تاثیر نداشت، در حالیکه آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین سبب افزایش تعداد لاکتوباسیل‌ها در مقایسه با گروه شاهد شد و در مقابل گیاهان داروئی جمعیت باکتری‌های اشرشیاکلای را کاهش دادند که در بین آن‌ها اثر کنگرفرنگی در سطح دو در صد بر کاهش جمعیت اشر شیاکلی بیشتر بود (۳۱). مخالف با نتایج آزمایش حاضر، محققین با افزودن پودر مریم‌گلی (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱) به جیره جوجه‌های گوشتی نشان دادند که جمعیت لاکتوباسیل‌ها در روده‌های کور جوجه‌هائی که جیره حاوی ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد مریم گلی مصرف کرده بودند، در مقایسه با پرندگان شاهد افزایش یافت (۵).

سیس و ترانس-پینوکامفون و بتاپینن موجود در اسانس و عصاره گیاه زوفا دارای فعالیت ضد میکروبی بالائی هستند (۱۲) و دلیل کاهش جمعیت باکتری اشریشیاکلی احتمالا به دلیل مقادیر بالای این ترکیبات در گیاه زوفا می باشد. همچنین تیمول و کارواکرول ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قوی دارند و می‌توانند به گروه‌های آمین پروتئین‌های غشای باکتری‌های بیماری‌زا متصل و منجر به مرگ آن‌ها شوند (۲۶). با وجود اینکه تیمول و کارواکرول در گیاه زوفا در مقادیر کمی وجود دارند، ولیکن ممکن است بخشی از اثرات ضدمیکروبی این گیاه به این ترکیبات مرتبط باشد.

مشابه آزمایش حاضر محققین عدم تاثیر پودر گیاهان داروئی پونه کوهی، مریم گلی، به‌لیمو و کنگر فرنگی بر صفات لاشه جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی را گزارش کرده‌اند (۲۸ و ۳۱) درحالی‌که سایرین با افزودن پودر به‌لیمو گزارش کردند که درصد سینه جوجه‌های گوشتی بهبود یافت (۲۵) ولی افزودن پودر کنگر فرنگی موجب کاهش وزن سینه و ران جوجه‌های گوشتی شد (۳۳). استفاده از گیاهان دارویی عمدتاً به علت اثرات ضد میکروبی مواد موثره موجود در آن‌ها احتمالاً باعث بهبود بازده هضم و جذب مواد مغذی مختلف می شود و در نهایت منجر به بهبود صفات لاشه جوجه‌های گوشتی می‌شوند.

## نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی، افزودن آسپرین و پودر گیاه داروئی زوفا موجب بهبود عملکرد، کاهش تلفات و کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی شد. افزودن آنتی‌بیوتیک سبب افزایش وزن بدن، افزایش شاخص کارائی اروپائی و کاهش ضریب تبدیل جوجه‌های گوشتی نسبت به گروه شاهد شد. اما با توجه به ممانعت مصرف آنتی بیوتیک استفاده از پودر گیاه زوفا با توجه به کاهش اثرات منفی تنش سرمائی و بهبود عملکرد می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک در جیره جوجه های گوشتی در شرایط تنش سرمایی باشد.

## منابع


1. Aarif, O., and P. S. Mahapatra. 2013. The effect of cold stress on biochemical and hematological parameters in broad breasted white turkeys. Wyno Journal of Biological Sciences, 1(4):20-23.
2. Abbasi, O., and Sh. Rahimi. 2016. Effect of Medieinal Herbs on Poultry under Heat stress. MSc Thesis, Tarbiat Modarred University.
3. Ao, X., J .S. Yoo, T. X. Zhou, J. P. Wang, Q.W. Meng, L. Yan, J. H. Cho, and I.H. Kim. 2011. Effects of fermented garlic powder supplementation on growth performance, blood profiles and breast meat quality in broilers. Livestock Science, 141(1):85-89.
4. Aviagen. 2014. Ross 308 Broiler Nutrition Specification Managementguide.
5. Bagherzadeh, K. F., S. Omidikia, H. R. Mirzaei, and M. Mehri. 2015. Effects of Salvia mirzayanii leaf powder on performance and cecal microbial population of broilers. Journal of Animal Production (Journal of Agriculture), 2(16):103-111. (In Persian)
6. Brenes, A., and E. Roura. 2010. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. Animal Feed Science and Technology, 158(1-2): 1-14.
7. Chowdhury, S., G. P. Mandal, A.K. Patra, P. Kumar, I. Samanta, S. Pradhan, and A.K. Samanta. 2018. Different essential oils in diets of broiler chickens: 2. Gut microbes and morphology, immune response, and some blood profile and antioxidant enzymes. Animal Feed Science and Technology, 236: 39-47.

8. Demir, E., K. Kilinc, Y. Yildirim, F. Dincer, and H. Eseceli. 2008. Comparative effects of mint, sage, thyme and flavomycin in wheat-based broiler diets. Archiva Zootechnica, 11(3):54-63.
9. Dovizio, M., S. Tacconelli, C. Sostres, E. Ricciotti, and P. Patrignani. 2012. Mechanistic and pharmacological issues of aspirin as an anticancer agent. Pharmaceuticals, 5(12):1346-1371.
10. Fathi, M., K. Nazeradl, Y. E. Nezhad, H. A. Shahryar, M. Daneshyar, and T. Tanha. 2011. Antioxidant enzyme activities characterization in pulmonary hypertension syndrome (PHS) in broilers. Research Journal of Biological Sciences, 6(3):118-123.
11. Fathi, M., M. Haydari, and T. Tanha. 2016. Influence of dietary aspirin on growth performance, antioxidant status, and mortality due to ascites in broiler chickens. Poultry Science Journal, 4(2):139-146.
12. Fathiazad, F., and S. Hamedeyazdan. 2011. A review on *Hyssopus officinalis* L. Composition and biological activities. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5(17):1959-1966.
13. Havenstein, G.B., P.R. Ferket, and M.A. Qureshi. 2003. Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. Poultry Science, 82(10):1500-1508.
14. Hoehler, D., A. Lemme, V. Ravindran, W. L. Bryden, and H. S. Rostagno. 2006. Feed formulation in broiler chickens based on standardized ileal amino acid digestibility. Avances en Nutrición Acuicola, 1:78-91.
15. Huff, G. R., W. E. Huff, N. C. Rath, F. Solis De Los Santos, M. B. Farnell, and A. M. Donoghue. 2007. Influence of hen age on the response of turkey poults to cold stress, Escherichia coli challenge, and treatment with a yeast extract antibiotic alternative. Poultry science, 86(4): 636-642.
16. Kadowitz, P.J., H.L. Lippton, D.B. McNamara, E.W. Spannhake, and A.L. Hyman. 1982. Action and metabolism of prostaglandins in the pulmonary circulation. Advances in prostaglandin, thromboxane, and leukotriene research, 10:333.
17. Koochaksaraie, R. R., M. Irani, and S. Gharavysi. 2011. The effects of cinnamon powder feeding on some blood metabolites in broiler chicks. Brazilian journal of poultry science, 13(3): 197-202.
18. Luger, D., D. Shinder, D. Wolfenson, and S. Yahav. 2003. Erythropoiesis regulation during the development of ascites syndrome in broiler chickens: A possible role of corticosterone. Journal of Animal Science, 81(3):784-790.
19. Mehala, C., and M. Moorthy. 2008. Production performance of broilers fed with Aloe vera and Curcuma longa (Turmeric). International Journal Poultry Science, 7(9):852-856.
20. Mmereole, F. U. C. 2011. Evaluation of the dietary inclusion of aloe vera as an alternative to antibiotic growth promoter in broiler production. Pakistan Journal of Nutrition, 10(1):1-5.
21. Mohamadamini, M., F. Shariatmadari, and S.A. Hosseini. 2015. The effects of turmeric, thyme and cinnamon on parameters related to ascites syndrome in Arian broilers. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 31(3):436-445.
22. Moro, M. H., G. W. Beran, L. J. Hoffman, and R.W. Griffith. 1998. Effects of cold stress on the antimicrobial drug resistance of Escherichia coli of the intestinal flora of swine. Letters in applied microbiology, 27(5):251-254.
23. Ogunwande, I. A., G. Flamini, P. L. Cioni, O. Omikorede, R. A. Azeez, A. A. Ayodele, and Y. O. Kamil. 2010. Aromatic plants growing in Nigeria: essential oil constituents of Cassia alata (Linn.) Roxb. and Helianthus annuus L. Records of Natural Products, 4(4):211-217.
24. Pakdel, A., J. A. Van Arendonk, A. L. Vereijken, and H. Bovenhuis. 2002. Direct and maternal genetic effects for ascites-related traits in broilers. Poultry science, 81(9):1273-1279.
25. Rafiee, F., M. Mazhari, M. Ghoreishi, and O. Esmaeilipour. 2016. Effect of lemon verbena powder and vitamin C on performance and immunity of heat-stressed broilers. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 100(5):807-812.
26. Rahimi, S., Z. Z. Teymouri, T. M. Karimi, R. Omidbaigi, and H. Rokni. 2011. Effect of the three herbal extracts on growth performance, immune system, blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. Journal of Agricultural Science and Technology, 13:527-539.
27. Rajani, J., M. K. Torshizi, and S. Rahimi. 2011. Control of ascites mortality and improved performance and meat shelf-life in broilers using feed adjuncts with presumed antioxidant activity. Animal Feed Science and Technology, 170(3-4):239-245.
28. Rotolo, L., F. Gai, S. Nicola, I. Zoccarato, A. Brugiapaglia, and L. Gasco. 2013. Dietary supplementation of oregano and sage dried leaves on performances and meat quality of rabbits. Journal of Integrative Agriculture, 12(11):1937-1945.
29. SAS Institute. 2004. SAS User's Guide. Version 8 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
30. Shirzadi, H., F. Shariatmadari, and M.A. Karimi-torshizi. 2014. Effect of *Rhuscoriaria* L. and *Prosopis farcta* on microbial population and ascytes control in broiler chickens reared under cold stress. PhD Thesis, Tarbiat Modares University.
31. Shokri, A. N., M. Akbari-Gharaei, S. Varmaghani, K. Taherpour, A. Khatibjoo, and M. Soltani. 2018. Effect of Lemon verbena, Artichoke and Common sage on response of broilers chickens under cold stress. PhD Thesis, Ilam University.
32. Swayne, D. E., 1998. Laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. American Association of Avian Pathologists, University of Pennsylvania.

33. Tajodini, M., F. Samadi, S. R. Hashemi, S. Hassani, and M. Shams-Shargh. 2014. Effect of different levels of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) powder on the performance and immune response of broiler chickens. International Journal of Agri Science, 4(1):66-73.
34. Talpur, N., B. Echard, C. Ingram, D. Bagchi, and H. Preuss. 2005. Effects of a novel formulation of essential oils on glucose–insulin metabolism in diabetic and hypertensive rats: a pilot study. Diabetes, Obesity and Metabolism, 7(2): 193-199.
35. Tsiouris, V., I. Georgopoulou, C. Batzios, N. Pappaioannou, R. Ducatelle, and P. Fortomaris. 2015. The effect of cold stress on the pathogenesis of necrotic enteritis in broiler chicks. Avian Pathology, 44(6): 430-435.
36. Varmaghany, S., M. A. K. Torshizi, S. Rahimi, H. Lotfollahian, and M. Hassanzadeh. 2015. The effects of increasing levels of dietary garlic bulb on growth performance, systolic blood pressure, hematology, and ascites syndrome in broiler chickens. Poultry Science, 94:1812-1820.
37. Wideman, R. F., D. D. Rhoads, G. F. Erf, and N. B. Anthony. 2013. Pulmonary arterial hypertension (ascites syndrome) in broilers: a review. Poultry Science, 92(1):64-83.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 249-262

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۶۲-۲۴۹

# Effect of *Hyssopus Officinalis*, Aspirin and Virginiamycin on Performance, Blood Metabolites, Carcass Parameters and Ileum Microbial Population of Broiler Chickens under Cold Stress

**Nazar Akbarizadeh[1], Ali Khatibjoo[2*], Seifali Varmaghany[3], Hooshang Jafari[4] and Ali Naghi Shokri[5]**
Submitted: 30-12-2019
Accepted: 23-06-2020

**Introduction** During decades, growth rate of broiler chickens was increased more than 4 times whereas growth rate of cardiovascular and respiratory tracts did not increase as muscle growth rate. Imbalance between oxygen consuming orangs and oxygen supplying organs led to increase metabolic disorders like ascites in broiler chickens. Low oxygen supplementation is the important factor in ascites syndrome by reducing arterial oxygen pressure and increasing pulmonary artery pressure. Increased pulmonary artery pressure led to hypertrophy of cardiac right ventricle and finally ascites incidence in broiler chickens during cold environment condition.

Antibiotics as growth promoters in poultry feed are posing serious health risks to human health, because of their residual effects in poultry meat and eggs, as well as result pathogens develop resistance to antibiotics. Currently, poultry scientists are challenged to find out alternatives to antibiotic growth promoters with no side effects for poultry that could be more or as effective against harmful microorganisms in the gastrointestinal tract and to stimulate the growth by increasing the efficiency of feed utilization and to enhance the immunity. Regarding to this subject, supplementing the dietary herbs or plant extracts would stimulate the productive performance of poultry. One of the most frequently consumed herbal remedies available today is the hyssop preparations prepared from *Hyssopus officinalis* (L) which is gaining increased importance as a minty flavor, condiment and spices in food industries as well. The GC and GC-MS analysis of the essential oil led to the identification of 21 compounds representing 95.6% of the oil, comprising seven monoterpene hydrocarbons (32.3%), five oxygenated monoterpenes (60.5%), one phenol (0.2%) and six sesquiterpene hydrocarbons (0.35%). The major constituents of the camphorous predominant monoterpenes of the oil were pinocamphone (49.1%) >β-pinene (18.4%). According to the results of the studies, hyssop extract showed much weaker antioxidant activity as compared to the rosemary, sage, and thyme extracts in different methods of antioxidant evaluations. The aim of this study was comparing the effects of *Hyssopus Officinalis* powder, Virginiamycin antibiotic and Aspirin on performance, blood metabolites, carcass parameters and ileum microbial population of broiler chickens which subjected to cold stress were studied.

**Materials and Methods** In a completely randomized design, a total of 500 male Ross-308 broiler chickens were allocated to 5 treatments with 5 replicates and 20 birds in each. Dietary treatment consisted of: 1) control, 2 and 3) basal diet plus 300 g/ton Virginiamycin or Aspirin respectively and 4 and 5) basal diet containing 0.5 or one percent *Hyssopus*, respectively. The diets were formulated to meet the requirements of broilers as established by the Ross 308 broilers feeding guide in starter (1-11 d), grower (12-25 d) and finisher (26-42 d). The birds were kept under conventional conditions for vaccination, temperature, ventilation, and lighting based on Ross catalogue recommendations. Standard management practices of commercial broiler production were applied. The broiler diets were formulated based on standardized ileal digestible amino acids and other requirements were obtained from Ross catalogue recommendations. Broiler chicken performance (feed intake, body weight gain, feed

1-MSc student, Department of Animal Science, Ilam University, Ilam, Iran.
2-Associate Professor of Department of Animal Science, Ilam University, Ilam, Iran.
3- Associate Professor Animal Science Research Department, Ilam Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ilam, Iran.
4-Assistant Professor Animal Science Research Department, Ilam Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ilam, Iran.
5-Assistant Professor of Department of Animal Science, Ilam University, Ilam, Iran.
(*- Corresponding Author Email: a.khatibjoo@ilam.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.84861

conversion efficiency, total and ascytic mortality and European production efficiency factor), erythrocyte osmotic fragility (EOF), blood cell count and blood metabolites including triglyceride, total cholesterol, HDL and LDL Cholesterol were measured at the 21 and 42 d of age. Carcass and abdominal fat percentage were calculated. Finally population of *Lactobacillus* and Escherichia coli of ileum were detected.

**Results and Discussion** As compared to control, inclusion of 1 percent *Hyssopus* increased feed intake ($P < 0.05$). Addition of *Hyssopus* and antibiotic increased weight gain, EPEF and decreased FCR compared to control and aspirin groups. Addition of one percent *Hyssopus* decreased red blood cell count, erythrocyte osmotic fragility (EOF) and heterophil percentage at 21 and 42 d of age as compared to control ($P < 0.05$). Escherichia coli population was reduced by antibiotic and one percent *Hyssopus* inclusion into broiler' diet. Dietary treatments had no effect on WBC count, lymphocyte percentage, heterophil to lymphocyte ratio, serum total cholesterol, HDL- and LDL-cholesterol and urea concentration of broiler chickens at 21 and 42 d of age, carcass, and thigh meat and abdominal fat percentages at 42 d of age ($P > 0.05$) whereas broiler chickens fed diet containing 0.5 and 1 % hyssopus powder had higher breast meat percentage.

**Conclusion** In conclusion addition of aspirin or *Hyssopus powder* improved broiler chicken's performance and decreased mortality due to ascites and heterophile to lymphocyte ratio in cold condition. Virginiamycin improved broiler chickens body weight gain in cold condition but due to probable drug resistance, it may suggest that *Hyssopus* supplementation in broiler diet as a good replacement for antibiotic in cold stress.

**Keywords:** Ascites, Blood metabolites, Broiler chicken, Carcass parameters, Cold stress.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۷۳-۲۶۳

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 263-273

مقاله علمی- پژوهشی

# تأثیر سطوح مختلف کنجاله سیاه دانه بر عملکرد مرغان تخم‌گذار در سیکل دوم تولید

محمدرضا قربانی[۱،۳*]، احمد طاطار[۲]، سمیه سالاری[۳]، محمد هادی سلیمانی[۴]، سولماز خلیلی سامانی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۲۹

## چکیده

به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف کنجاله سیاه‌دانه در جیره بر عملکرد مرغان تخم‌گذار در سیکل دوم تولید، آزمایشی با استفاده از ۱۲۰ قطعه مرغ تخم‌گذار لگهورن، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۶ قطعه مرغ در هر تکرار به انجام رسید. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از سطوح صفر (شاهد)، پنج، ده، پانزده و بیست درصد کنجاله سیاه‌دانه که جایگزین کنجاله سویا در جیره پایه شدند. طول دوره آزمایش هشت هفته بود و نتایج صفات عملکردی و کیفیت تخم‌مرغ بصورت چهار هفته اول، چهار هفته دوم و کل دوره گزارش شدند. نتایج آزمایش نشان داد که در چهار هفته اول، دوم و کل دوره آزمایش مصرف خوراک به هنگام استفاده از کنجاله سیاه‌دانه بصورت معنی‌داری کاهش یافت و کمترین مصرف خوراک در گروه ۲۰ درصد کنجاله سیاه‌دانه مشاهده گردید. در کل دوره آزمایش، توده تخم‌مرغ به هنگام استفاده از سطوح ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد کنجاله سیاه‌دانه کاهش یافت. غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون مرغان تخم‌گذار در سطح ۵ درصد استفاده از کنجاله سیاه‌دانه بصورت قابل‌ملاحظه‌ای پایین‌تر از گروه شاهد و سایر گروه‌های استفاده کننده از کنجاله سیاه‌دانه بود. نتایج آزمایش نشان داد که استفاده از کنجاله سیاه‌دانه تا سطح ۵ درصد بدون تغییر در صفات عملکردی باعث کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید خون مرغان تخم‌گذار شد.

**واژه‌های کلیدی**: عملکرد، کنجاله سیاه‌دانه، کیفیت تخم‌مرغ، مرغان تخم‌گذار.

## مقدمه

تامین مواد خوراکی بیش از ۷۰ درصد هزینه صنعت طیور را بخود اختصاص می‌دهد و منابع پروتئینی، بعد از منابع انرژی‌زا، بیشترین بخش جیره‌های غذایی را تشکیل می‌دهند. کنجاله سویا متداولترین و مهمترین مکمل پروتئینی گیاهی در تغذیه طیور بوده و از توزان اسید آمینه‌ای نسبتا خوبی برخوردار است. با این وجود در اکثر کشورهای جهان به دلیل شرایط خاص اقلیمی، تولید این محصول با مشکل مواجه بوده و با هزینه‌های بالا وارد می‌گردد. در کشور ایران نیز تامین این ماده خوراکی یکی از مهمترین چالش‌هایی است که صنعت طیور با آن مواجه بوده و همین امر باعث توجه متخصصین تغذیه به منابع غیر متداول و بومی از جمله بقایای زراعی و پس ماند کارخانجات صنایع غذایی شده است تا ماده خوراکی ارزان قیمتی در دسترس قرار گیرد (۲۲).

سیاه دانه محصول گیاه گلدار یکساله از خانواده آلاله است که به طور فراوان در کشورهای مدیترانه‌ای و مناطق با آب و هوای مشابه می‌روید (۲۴). نام علمی سیاه دانه *Nigell sativa* می‌باشد. سیاه دانه در ایران در اراک به صورت طبیعی می‌روید و در اصفهان و خراسان به صورت پرورشی کشت می‌شود و به دلیل خواص دارویی بسیار معروف است (۲۲). دانه این گیاه منبع غنی از اسیدهای چرب ضروری و غیر اشباع است. اصلی‌ترین اسید چرب غیر اشباع آن اسید لینولئیک و

۱-دانشیار، گروه مرتع و آبخیزداری، مجتمع آموزش عالی شیروان، شیروان، ایران.
۲-استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران.
۳-دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران.
۴-مدیر عامل شرکت گیاه اسانس، گرگان، ایران.
۵-دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: ghorbani@cheshirvan.ac.ir)
DOI: 10.22067/ijasr.2022.37122

سپس ا سید اولئیک ا ست (۲۱). ا سید لینولئیک در افزایش وزن بدن نقش دارد (۲۵). مشخص شده است که روغن سیاه دانه حاوی تیموکوئینون و سایر اجزا ( مثل نیجلن) است که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و می‌تواند باعث افزایش نرخ رشد شود (۸). نشان داده شده است که سیاه دانه دارای فعالیت ضد میکروبی بوده و با کنترل جمعیت میکروبی روده باعث بهبود عملکرد می‌شود (۲۲).

ضایعات باقی مانده حاصل از روغن کشی سیاه دانه را کنجاله سیاه دانه گویند. کنجاله سیاه‌دانه حاوی ۳۱/۷۵ در صد پروتئین خام، ۱۹/۳۷ در صد چربی خام و ۴/۸ در صد رطوبت، ۹/۱۵ در صد فیبر خام و ۶/۴۸ درصد خاکستر بوده (۲۲) و نیز مقادیر قابل‌ملاحظه‌ای مواد معدنی نظیر منیزیم، فسفر و آهن دارد (۱۶). تحقیقات نشان داده‌اند که کنجاله سیاه دانه حاوی مواد سمی همانند گلیکو سیدها و آلکالوئیدها نیز می‌باشد (۱۸). الدیک و همکاران (۱۶) نشان دادند که پروتئین کنجاله سیاه‌دانه ازنظر محتوای ا سیدهای آمینه ضروری قابل‌ملاحظه بوده و قابل‌مقایسه با کنجاله سویا و کنجاله گلوتن است. شیرزادگان و همکاران (۲۷) از سیاه‌دانه در سطوح ۵ و ۱۰ و ۱۵ گرم در کیلوگرم به‌عنوان مکمل در جیره جوجه‌های گوشتی استفاده کردند. این محققین خاطرنشان کردند که استفاده از سیاه‌دانه اثر منفی بر عملکرد جوجه‌ها ندارد. در مطالعه‌ای دیگر عبدالهادی و همکاران (۳) سطوح ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ درصد کنجاله سیاه دانه را جایگزین کنجاله سویا در جیره بلدرچین ژاپنی کرده و نشان دادند که بلدرچین‌های تغذیه شده با سطوح ۴ و ۸ درصد کنجاله سیاه‌دانه بیشترین افزایش وزن و مصرف خوراک را دا شته و در سطوح بالاتر این شاخص‌ها کاهش یافتند (۳). موسی‌پور و سالارمعینی سطوح ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ در صد کنجاله سیاه دانه را در تغذیه بلدرچین ژاپنی ا ستفاده کردند و نشان دادند به هنگام ا ستفاده از کنجاله سیاه دانه تا سطح ۱۵ در صد، ا ضافه وزن و ضریب تبدیل غذایی بهبود و هزینه خوراک و تولید گوشت کاهش می‌یابد (۲۲). جهان و همکاران (۲۰) سطوح صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد از کنجاله سیاه دانه را به عنوان یک محرک رشد گیاهی در تغذیه جوجه‌های گوشتی ا ستفاده کردند و نشان دادند که ا ستفاده از کنجاله سیاه دانه در سطح ۱/۵ درصد نسبت به سایر سطوح از نظر اقتصادی بهتر بوده و بازده تولید را افزایش می‌دهد. این محققین بهبود در افزایش وزن جوجه‌های گوشتی را بوا سطه افزودن کنجاله سیاه دانه، نا شی از خواص آنتی اکسیدانی کنجاله دانستند که توانسته به عنوان یک محرک رشد طبیعی عمل کند. با توجه به ارزش غذایی بالای این کنجاله که در مطالعات مختلف به آن ا شاره شده و تولید آن به عنوان یک فرآورده فرعی کارخانه‌جات روغن‌کشی و نتایج متفاوتی که در مطالعات مختلف به دست آمده به نظر می‌رسد که بتوان مقداری از این کنجاله را در جیره طیور استفاده کرد. لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف آن در جیره بر عملکرد مرغان تخم‌گذار طراحی گردید.

## مواد و روش‌ها

کنجاله سیاه دانه مورد نیاز این آزمایش از شرکت گیاه ا سانس از ا ستان گلستان تهیه گردید. در ابتدا ترکیب شیمیایی آن با روش‌های معمول آزمایشگاهی (۶) اندازه‌گیری و مشخص شد که این کنجاله حاوی ۲۷/۸۳ در صد پروتئین‌خام، ۱۵/۶ در صد چربی‌خام، ۹/۷۷ در صد فیبرخام، ۶/۱۷ در صد خاکستر و ۳۵/۷۳ در صد ع صاره عاری از ازت است. همچنین انرژی متابولیسمی آن با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۲۳).

$$ME = 4095.41 + 56.84EE - 225.26ASH - 22.24\ NDF$$

برای ا ندازه‌گیری مقدار و نوع اسیدهای چرب موجود در آن از دستگاه گاز کروماتوگراف (GC, Unicam 4600) استفاده گردید.

رابطه ۱) درصد تولید تخم مرغ

$$Pd = \frac{Te}{\mathrm{n}} \times 100$$

Pd درصد تولید تخم‌مرغ به ازای مرغ‌های زنده:

Te تعداد تخم‌مرغ‌های تولید شده:

n تعداد مرغ‌های زنده موجود:

رابطه ۲) توده تخم مرغ

$$Em = Pd \times Ew$$

Em توده تخم‌مرغ هر واحد آزمایشی (گرم):

Ew میانگین وزن تخم‌مرغ:

Pd درصد تولید تخم‌مرغ به ازای مرغ‌های زنده:

رابطه ۳) ضریب تبدیل خوراک

$$FCR = \frac{Fi}{Em}$$

FCR ضریب تبدیل خوراک:

FI مصرف خوراک هر واحد آزمایشی:

Em توده تخم‌مرغ هر واحد آزمایشی:

**جدول ۱**- مواد تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

**Table 1-** Composition and calculated analyses of the experimental diets

| Ingredients | Control | 5 BSM | 10 BSM | 15 BSM | 20 BSM |
|---|---|---|---|---|---|
| ذرت<br>Corn | 62.77 | 60.87 | 59.02 | 57.10 | 55.20 |
| کنجاله سویا (پروتئین خام ۴۴٪)<br>Soybean meal (44%CP) | 21.15 | 17.06 | 14.07 | 10.55 | 7.02 |
| کنجاله سیاه دانه<br>Black seed meal | 0 | 5.00 | 10.00 | 15.00 | 20.00 |
| روغن گیاهی<br>Vegetable Oil | 2.50 | 2.80 | 3.07 | 3.37 | 3.66 |
| دی کلسیم فسفات<br>Di-calcium phosphate | 1.65 | 1.70 | 1.70 | 1.75 | 1.75 |
| پوسته‌ی صدف<br>Oyster shell | 5.77 | 5.75 | 5.75 | 5.73 | 5.73 |
| سنگ‌آهک<br>Limestone | 5.00 | 5.00 | 5.00 | 5.00 | 5.00 |
| نمک<br>Salt | 0.21 | 0.21 | 0.21 | 0.21 | 0.21 |
| جوش‌شیرین<br>Sodium bicarbonate | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 |
| ال-لیزین هیدرو کلراید<br>L-Lysine- HCl | 0.05 | 0.15 | 0.24 | 0.34 | 0.43 |
| دی-المتیونین<br>DL-Methionine | 0.17 | 0.19 | 0.21 | 0.21 | 0.21 |
| مکمل ویتامینی [۲]<br>Vitamin premix[2] | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| مکمل معدنی<br>Mineral premix[2] | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| Calculated analysis<br>ترکیبات محاسبه شده | | | | | |
| انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)<br>Metabolisable energy (kcal /kg) | 2813.00 | 2813.57 | 2813.04 | 2813.24 | 2813.00 |
| پروتئین خام (درصد)<br>Crude protein (%) | 14.80 | 14.80 | 14.80 | 14.80 | 14.80 |
| کلسیم (درصد)<br>Calcium (%) | 4.52 | 4.52 | 4.52 | 4.52 | 4.52 |
| فسفر قابل‌دسترس (درصد)<br>Available phosphorous (%) | 0.42 | 0.42 | 0.42 | 0.42 | 0.42 |
| متیونین + سیستین (٪)<br>Methionine + Cystine (%) | 0.67 | 0.67 | 0.67 | 0.67 | 0.67 |
| فیبر خام (درصد)<br>Crude fiber (%) | 2.84 | 3.06 | 3.26 | 3.46 | 3.66 |

[۱] مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر را تامین می‌کرد: ویتامین A، ۲/۴ میلی‌گرم؛ ویتامین D3 ، ۷۵ میکروگرم؛ ویتامین E، ۲۰ میلی‌گرم؛ ویتامین K، ۲/۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B1، ۱/۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B2، ۴ میلی‌گرم؛ ویتامین B3، ۸ میلی‌گرم؛ ویتامین B5، ۳۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B6 ، ۲/۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B9، ۰/۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B12، ۱۰ میکرو گرم و کولین کلراید، ۴۶۸ میلی‌گرم.

[۲] مکمل مواد معدنی در هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر را تامین می‌کرد: منگنز، ۸۰ میلی‌گرم؛ آهن ۷۵ میلی گرم؛ روی، ۶۴ میلی‌گرم؛ مس، ۶ میلی‌گرم و سلنیم ، ۰/۳ میلی‌گرم.

[1]Vitamin premix provided per kilogram of diet: vitamin A 2.4 mg; vitamin D3 75 µg; vitamin E 20 mg, vitamin K 2.2 mg, vitamin B1 1.5 mg, vitamin B2 4.0 mg, vitamin B3 8.0 mg, vitamin B5 35.0 mg, vitamin B6 2.5 mg, vitamin B9 0.5 mg, vitamin B12 10 µg, and choline, 468 mg.

2- Mineral premix provided per kilogram of diet: Mn 80.0 mg; Fe 75.0 mg; Zn 64.0 mg; Cu 6.0 mg and Se 0.3 mg.

به‌منظور تعیین اثر سطوح مختلف کنجاله سیاه‌دانه بر عملکرد مرغان تخم‌گذار در سیکل دوم تخم‌گذاری (از هفته ۹۲ تا ۱۰۰) آزمایشی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام گردید. در این آزمایش از ۱۲۰ قطعه مرغ تخم‌گذار لگهورن در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۶ قطعه مرغ در هر تکرار و به مدت ۸ هفته استفاده شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱- تیمار شاهد (جیره استاندارد بر پایه ذرت و کنجاله سویا) و ۲ تا ۵ به ترتیب سطوح ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد کنجاله سیاه‌دانه که جایگزین کنجاله سویا در جیره پایه شدند. جیره‌های آزمایشی برطبق احتیاجات مواد مغذی مرغ تخم‌گذار لگهورن توصیه شده سویه تجاری های‌لاین W-36 (۱۹) و برای بعد از پیک تولید سیکل دوم تولید تنظیم شدند (جدول ۱). مرغ‌ها از نظر وزنی نزدیک به هم انتخاب شدند (میانگین وزن ۵۰ ± ۱۶۰۰ گرم) و طی دوره آزمایش به‌طور آزاد به آب و خوراک دسترسی داشتند و تا حد امکان شرایط محیطی برای همه گروه‌های آزمایشی یکسان و برنامه نوردهی به‌صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. مرغ‌های تخم‌گذار به مدت یک هفته قبل از شروع آزمایش جهت عادت دهی در شرایط آزمایش قرار گرفتند. مصرف خوراک، تعداد تخم‌مرغ تولیدی و وزن تخم‌مرغ، به صورت هفتگی اندازه‌گیری شد و در صد تولید تخم‌مرغ و توده تخم‌مرغ (گرم) بر اساس رابطه‌های زیر محاسبه گردید. با توجه به مصرف خوراک (گرم/ مرغ/ روز) و توده تخم‌مرغ (گرم/ مرغ/ روز) ضریب تبدیل خوراک نیز به صورت هفتگی محاسبه شد. کلیه صفات عملکردی مرغ‌ها بصورت دو دوره ۴ هفته‌ای (چهار هفته اول، چهار هفته دوم) و کل دوره گزارش شدند.

به منظور اندازه گیری خصوصیات کیفی تخم مرغ، در پایان هفته‌های دوم، چهارم، ششم و هشتم از دوره آزمایش، دو عدد تخم‌مرغ از هر تکرار به‌صورت تصادفی انتخاب و به آزمایشگاه ارسال شدند. در آزمایشگاه با تقسیم قطر کوچک تخم‌مرغ بر قطر بزرگ شاخص شکل تخم‌مرغ محاسبه شد. سپس تخم‌مرغ‌ها شکسته و وزن پوسته، زرده و سفیده آن‌ها با دقت اندازه‌گیری شدند. ضخامت پوسته تخم‌مرغ با دستگاه ضخامت سنج عقربه‌ای (Karl Kolb, FE20، آلمان) با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر در سه‌نقطه از پوسته تخم‌مرغ (انتهای باریک، انتهای پهن و وسط) اندازه گیری و میانگین آن ها به‌عنوان ضخامت نهایی پوسته در نظر گرفته شد. استحکام پوسته با استفاده از دستگاه مقاومت سنج مکانیکی (Karl Kolb، آلمان) تعیین شد. ارتفاع سفیده، واحد هاو و رنگ زرده توسط دستگاه اتوماتیک آنالیز تخم‌مرغ (EMT-5200, Robotmation Co. Ltd., Tokyo, Japan) اندازه‌گیری شد. کلیه صفات کیفی تخم‌مرغ‌ها همانند صفات عملکردی، بصورت دو دوره ۴ هفته‌ای (چهار هفته اول، چهار هفته دوم) و کل دوره گزارش شدند. در آخر دوره به منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های بیوشیمیایی خون از سیاه‌رگ دو قطعه مرغ از هر تکرار خونگیری به عمل آمد و سرم حاصله به آزمایشگاه ارسال گردید. محتوای گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید سرم‌ها بصورت رنگ سنجی و طبق دستورالعمل کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون (پارس آزمون، ایران) تعیین شدند. نتایج حاصل از این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار با رویه GLM با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) تجزیه آماری گردید (۲۶). مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح معنی‌داری پنج درصد صورت گرفت.

## نتایج و بحث

پروفایل اسیدهای چرب کنجاله سیاه‌دانه در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج نشان دادند که بیش از ۹۹/۸۶ در صد از اسیدهای چرب موجود در کنجاله سیاه دانه را اسید پالمتیک، اسید استئاریک، اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسیدلینولنیک تشکیل می‌دهد که از این بین، اسید لینولئیک و اسید اولئیک به ترتیب با ۴۱/۵۱ و ۳۴/۶۷ درصد بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد.

**جدول ۲**- پروفایل اسیدهای چرب موجود در کنجاله سیاه دانه (درصد)

**Table 2**-Fatty acid profile of black seed meal (%)

| Fatty acid common name | Value |
|---|---|
| Palmitic acid (C16:0) | 16.12 |
| Stearic acid (C18:0) | 5.59 |
| Oleic acid (C18:1(n-9)) | 34.67 |
| Linoleic acid (C18:2(n-6)) | 41.51 |
| Linolenic acid (C18:3(n-3)) | 1.97 |
| Total | 99.87 |

نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف کنجاله سیاه‌دانه بر عملکرد مرغان تخم‌گذار در دوره‌های مختلف آزمایش در جدول ۳ آمده است. خوراک مصرفی (گرم در روز) به ازای هر پرنده در ۴ هفته اول، ۴ هفته دوم و کل آزمایش به هنگام استفاده از کنجاله سیاه‌دانه به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/05$). در چهار هفته اول آزمایش گروه‌های استفاده کننده از ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد کنجاله سیاه‌دانه درصد تولید پایین‌تری نسبت به گروه شاهد داشتند ($P<0/05$). در ارتباط با توده تخم‌مرغ در ۴ هفته اول و کل دوره، گروه‌های استفاده کننده از ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد کنجاله سیاه‌دانه توده تخم پایین‌تری نسبت به گروه شاهد داشتند. درصد تولید و توده تخم‌مرغ در گروه استفاده کننده از ۵ درصد کنجاله سیاه‌دانه تفاوت چندانی با شاهد نداشت. وزن تخم‌مرغ و ضریب تبدیل خوراک تحت تاثیر گروه های مختلف

آزمایشی قرار نگرفت.

**جدول ۳**- تاثیر کنجاله سیاه دانه بر صفات عملکردی مرغان تخم‌گذار

**Table 3-** Effect of black seed meal on productive traits of laying hens

| تیمارها Treatments[1] | خوراک مصرفی (گرم) Feed intake (g) | وزن تخم‌مرغ (گرم) Egg weight (g) | توده تخم‌مرغ (گرم) Egg mass (g) | درصد تولید تخم‌مرغ Egg production (%) | ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم) Feed conversion ratio (g/g) |
|---|---|---|---|---|---|
| First 4 weeks | | | | | |
| Control | 105.09[a] | 59.25 | 40.85[a] | 68.45[a] | 2.58 |
| 5 BSM | 90.13[b] | 58.17 | 38.17[ab] | 64.76[ab] | 2.36 |
| 10 BSM | 92.32[b] | 57.63 | 33.88[b] | 59.05[b] | 2.75 |
| 15 BSM | 89.04[b] | 58.56 | 35.43[b] | 59.99[b] | 2.52 |
| 20 BSM | 87.06[b] | 57.82 | 33.86[b] | 58.57[b] | 2.57 |
| SEM | 2.06 | 0.42 | 0.86 | 1.29 | 0.05 |
| P-value | 0.03 | 0.79 | 0.03 | 0.05 | 0.11 |
| Second 4 weeks | | | | | |
| Control | 101.70[a] | 56.94 | 34.06 | 58.73 | 3.04 |
| 5 BSM | 90.36[b] | 56.17 | 30.20 | 53.30 | 3.02 |
| 10 BSM | 83.91[b] | 55.00 | 27.26 | 48.85 | 3.14 |
| 15 BSM | 87.44[b] | 55.91 | 28.65 | 50.99 | 3.07 |
| 20 BSM | 81.06[b] | 55.13 | 26.97 | 49.04 | 3.03 |
| SEM | 2.11 | 0.45 | 0.90 | 1.46 | 0.08 |
| P-value | 0.01 | 0.67 | 0.07 | 0.18 | 0.99 |
| Total | | | | | |
| Control | 103.40[a] | 58.10 | 37.45[a] | 63.59 | 2.78 |
| 5 BSM | 90.24[b] | 57.17 | 34.18[ab] | 59.03 | 2.64 |
| 10 BSM | 88.12[b] | 56.31 | 30.57[b] | 53.95 | 2.91 |
| 15 BSM | 88.26[b] | 57.22 | 32.04[b] | 55.49 | 2.76 |
| 20 BSM | 84.06[b] | 56.47 | 30.42[b] | 53.81 | 2.77 |
| SEM | 1.97 | 0.37 | 0.83 | 1.31 | 0.05 |
| P-value | 0.01 | 0.61 | 0.02 | 0.07 | 0.56 |

[1] BSM : کنجاله سیاه دانه

[2] خطای معیار میانگین‌ها.

[a,b] میانگین‌های هر ستون، با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P\leq 0.05$).

[1] BSM: Black seed meal

[2] Standard errors of means

[a,b] Means within same column with different superscripts differ significantly ($P \leq 0.05$).

همان‌طور که داده‌های مربوط به عملکرد مرغان تخم‌گذار نشان می‌دهند در تمام مراحل (۴ هفته اول، ۴ هفته دوم و کل دوره آزمایش) مصرف خوراک تحت تأثیر قرار گرفت و به هنگام استفاده از کنجاله سیاه‌دانه کاهش یافت. در کل دوره آزمایش بیشترین مصرف خوراک در گروه کنترل و کمترین مصرف خوراک در گروه استفاده‌کننده از ۲۰ درصد کنجاله سیاه‌دانه مشاهده گردید (۱۰۳/۴ گرم در مقابل ۸۴/۰۶ گرم). به نظر می‌رسد یکی از دلایل کاهش مصرف خوراک مزه تلخ کنجاله سیاه‌دانه باشد. محققین نشان داده‌اند که عملکرد پایین با مصرف سطوح بالای کنجاله سیاه‌دانه را می‌توان به وجود ترکیباتی همانند آلکالوئید ساپونین و مواد ضد تغذیه‌ای ربط داد (۲۲). ساپونین‌ها به دلیل مزه تلخ و صدمه زدن به دهان و دستگاه گوارش باعث کاهش مصرف خوراک و کاهش رشد می‌شوند. مهمترین ساپونین در سیاه‌دانه ترکیبی به نام ملانتین است (۱۵). تحقیقات نشان داده‌اند که کنجاله سیاه دانه حاوی مواد سمی همانند گلیکوسیدها و آلکالوئیدها نیز می‌باشد (۱۸). موافق با نتایج آزمایش حاضر در مطالعه‌ای نشان داده شده است که جیره های حاوی ۴ درصد پودر سیاه دانه در مقایسه با گروه کنترل باعث کاهش مصرف خوراک و بهبود بازده غذایی شد (۱۳). عباس و احمد (۱) گزارش کردند که مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی به هنگام استفاده از ۱ و ۲ درصد سیاه دانه کاهش یافت. مغایر با نتایج آزمایش حاضر موسی پور و سالار معینی (۲۲) نشان دادند که به هنگام استفاده از کنجاله سیاه دانه در تغذیه بلدرچین ژاپنی مصرف خوراک کل دوره در سطوح ۵ و ۱۵ درصد جایگزینی بیشتر از گروه شاهد بود. این محققین اظهار کردند مزه بسیار تلخ کنجاله سیاه دانه تا سطح ۲۰ درصد جایگزینی در جیره بلدرچین ژاپنی تاثیر سویی بر مصرف خوراک ندارد. این محققین علت افزایش مصرف خوراک را به وجود مواد فعال در اسانس باقی مانده در کنجاله سیاه دانه همانند

نیجلن ارتباط داد ند که احتمالا این ترکیب باعث افزایش ترشح آنزیم‌های گوار شی و افزایش هضم و در نتیجه بهبود مصرف خوراک شده است (۲۲). در این ارتباط مشخص شده است که اسانس سیاه دانه باعث تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی در روده کوچک و پانکراس و در نتیجه بهبود هضم، افزایش مصرف خوراک و بهبود بازده خوراکی شده است (۲۸). ال دیک و همکاران (۱۶) گزارش کردند که جایگزینی ۵۰ درصد از کنجاله سویا با سیاه دانه باعث افزایش مصرف خوراک، کاهش وزن بدن و افزایش ضریب تبدیل جوجه‌های گوشتی شد. آیدین و همکاران (۷) نشان دادند که مصرف خوراک به هنگام استفاده از ۱ ، ۲ و ۳ درصد سیاه دانه در تغذیه مرغان تخم‌گذار تغییر پیدا نکرد.

نتایج نشان می‌دهند که درصد تولید تخم با افزایش سطح کنجاله و در روندی مشابه با مصرف خوراک فقط در چهار هفته اول کاهش یافت و افت درصد تولید در چهار هفته دوم و کل دوره آزمایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. به نظر می‌رسد یکی از دلایل کاهش درصد تولید، کاهش مصرف خوراک و به‌تبع آن کاهش فراهمی مواد مغذی جهت تولید تخم‌مرغ باشد. توده تخم‌مرغ حاصل‌ضرب درصد تولید در وزن تخم‌مرغ است. با توجه به کاهش در صد تولید (معنی‌دار در چهار هفته اول و عددی در چهار هفته دوم و کل) و عدم تغییر در وزن تخم‌مرغ، کاهش توده تخم‌مرغ به هنگام استفاده از ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد از کنجاله سیاه‌دانه قابل انتظار بود و این در حالی است که این فاکتور به هنگام استفاده از ۵ در صد کنجاله سیاه‌دانه تحت تأثیر قرار نگرفت و تفاوت چندانی با گروه شاهد نداشت. از انجاییکه ضریب تبدیل خوراک از مصرف خوراک و توده تخم تاثیر می پذیرد؛ لذا، کاهش همزمان مصرف خوراک و توده تخم‌مرغ باعث عدم تغییر معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک با افزایش سطح کنجاله سیاه دانه در جیره شده است. مغایر با نتایج آزمایش حاضر موسی پور و سالار معینی (۲۲) معتقد بودند به هنگام استفاده از کنجاله سیاه دانه در جیره بلدرچین ژاپنی ضریب تبدیل خوراک افزایش می‌یابد. عبدالمجید و همکاران (۴) نشان دادند که جایگزینی سویا با ۳۰ درصد کنجاله سیاه دانه باعث افزایش مصرف خوراک و وزن جوجه های گوشتی شد و این در حالی بود که ضریب تبدیل غذایی تحت تاثیر قرار نگرفت. عبدالهادی و همکاران (۳) سطوح ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ درصد از کنجاله سویا را با کنجاله سیاه دانه در جیره بلدرچین ژاپنی جایگزین کردند. نتایج این محققین نشان داد که جایگزینی ۴ و ۸ درصد در کل دوره پرورش (۳۵ روز) به علت بهبود اشتها باعث افزایش مصرف خوراک و اضافه وزن و بهبود ضریب تبدیل شد. این در حالی است که جایگزینی ۱۶ درصد باعث افت مصرف خوراک و کاهش افزایش وزن شد.

موافق با نتایج آزمایش حاضر الباقر و همکاران (۱۴) گزارش کردند که استفاده از ۱ و۳ درصد سیاه دانه در تغذیه مرغان تخم‌گذار اثر منفی بر تولید تخم‌مرغ داشته و درصد تولید به ترتیب ۹ و ۱۶ درصد کاهش یافت. این محققین کاهش درصد تولید را افزایش ۱۰ درصدی وزن بدن این مرغان ارتباط دادند و نتیجه گرفتند که سیاه دانه باعث افزایش وزن بدن شده تا تولید تخم‌مرغ.

نتایج حاصل از بررسی تأثیر استفاده از کنجاله سیاه‌دانه بر صفات کیفی تخم، مرغان تخم‌گذار به‌صورت دوره‌ای برای چهار هفته اول، چهار هفته دوم و کل دوره در جدول ۴ آمده است. در ۴ هفته اول آزمایش صفاتی نظیر واحد هاو، استحکام پوسته، ضخامت پوسته، درصد زرده و شاخص شکل تخم‌مرغ تحت تأثیر تیمارهای مختلف غذایی قرار نگرفتند. درصد سفیده و شاخص رنگ زرده تخم‌مرغ به هنگام استفاده از ۱۵ درصد کنجاله سیاه‌دانه، به‌صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافتند. در صفات قید شده تفاوت قابل ملاحظه‌ای در بین سطوح ۵ و ۱۰ در صد جایگزینی کنجاله سیاه دانه با شاهد وجود نداشت. در ۴ هفته دوم از آزمایش و نیز در کل دوره آزمایش هیچ کدام از صفات کیفی تحت تاثیر سطوح مختلف کنجاله سیاه دانه قرار نگرفتند.

ارزش یا درجه تخم‌مرغ‌ها تا حدود زیادی به قوام یا ساختار ژله مانند سفیده بستگی دارد. اوموسین در ایجاد این حالت بیشترین نقش را دارد و یک همبستگی مثبتی بین واحد هاو و میزان اوموسین در تخم‌مرغ‌ها وجود دارد. تخم‌مرغ‌های با قوام آلبومین بالا که اوموسین بیشتری دارند واحد هاو بالاتری خواهند داشت. واحد هاو بین ۱۰۰ برای تخم‌مرغ‌های باکیفیت عالی و ۲۰ برای تخم‌مرغ‌های باکیفیت بد متغیر است. این ضریب هر چه بالاتر باشد نشان‌دهنده بالاتر بودن کیفیت سفیده و به‌تبع آن بازارپسندی بهتر تخم‌مرغ‌ها است. با دقت در نتایج مطالعه حاضر مشخص می‌گردد که واحد هاو تحت تاثیر سطوح مختلف کنجاله سیاه‌دانه قرار نگرفت. استفاده از کنجاله سیاه دانه تا ۱۰ درصد تاثیر منفی بر صفات کیفی تخم‌مرغ نداشت و صفاتی هم که بصورت منفی تحت تاثیر استفاده از سطوح بالای کنجاله سیاه دانه قرار گرفته بودند با گذشت زمان بهتر شدند بطوری که در دوره دوم یا کل آزمایش هیچ یک از صفات کیفی بصورت منفی تحت تاثیر قرار نگرفتند.

محققین نشان دادند که به هنگام استفاده از ۱ درصد عصاره سیاه‌دانه وزن تخم‌مرغ و وزن پوسته تخم‌مرغ و ضخامت آن در بلدرچین افزایش یافت (۱۱). ضخامت پوسته و مقاومت آن به هنگام استفاده از ۲ و ۳ درصد دانه سیاه‌دانه در مقایسه با سطوح پایین‌تر (۱ درصد و صفر ( شاهد)) افزایش یافت (۷). بلوکبا شی و همکاران (۹) گزارش کردند که استفاده از روغن سیاه‌دانه تأثیر معنی‌داری بر وزن تخم‌مرغ، درصد تولید، نسبت زرده، سفیده و پوسته نداشت.

**جدول ٤**- تأثیر کنجاله سیاه دانه بر فراسنجه‌های کیفی تخم‌مرغ مرغان تخم‌گذار

**Table 4**- Effect of black seed meal on egg quality traits of laying hens

| تیمارها Treatments[1] | واحد هاو Haugh unit | استحکام پوسته (کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) Eggshell strength ($kg/cm^2$) | ضخامت پوسته (میلی‌متر) Eggshell (mm) thickness | زرده (درصد) Egg yolk (%) | سفیده (درصد) Albumin (%) | رنگ زرده Yolk color | شاخص شکل تخم‌مرغ Egg shape index |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| First 4 weeks | | | | | | | |
| Control | 91.26 | 2.50 | 0.35 | 24.71 | 58.85$^{a}$ | 5.30$^{a}$ | 68.84 |
| 5 BSM | 96.10 | 2.04 | 0.37 | 25.37 | 58.96$^{a}$ | 4.90$^{ab}$ | 64.95 |
| 10 BSM | 92.70 | 2.14 | 0.39 | 27.27 | 56.54$^{a}$ | 4.15$^{abc}$ | 72.52 |
| 15 BSM | 92.00 | 2.09 | 0.33 | 21.69 | 46.28$^{b}$ | 3.90$^{bc}$ | 61.81 |
| 20 BSM | 90.62 | 2.34 | 0.38 | 24.31 | 50.44$^{ab}$ | 3.45$^{c}$ | 67.42 |
| SEM | 0.84 | 0.01 | 0.01 | 0.75 | 1.47 | 0.20 | 2.49 |
| P-value | 0.24 | 0.28 | 0.35 | 0.23 | 0.01 | 0.02 | 0.72 |
| Second 4 weeks | | | | | | | |
| Control | 82.03 | 2.52 | 0.46 | 26.42 | 54.01 | 4.70 | 73.66 |
| 5 BSM | 85.12 | 2.37 | 0.19 | 22.29 | 45.06 | 4.25 | 64.64 |
| 10 BSM | 83.87 | 2.48 | 0.19 | 24.50 | 47.21 | 4.40 | 65.36 |
| 15 BSM | 83.58 | 2.56 | 0.22 | 25.41 | 55.55 | 4.55 | 73.49 |
| 20 BSM | 84.75 | 2.17 | 0.19 | 22.37 | 54.02 | 4.45 | 68.39 |
| SEM | 0.59 | 0.09 | 0.05 | 0.93 | 1.82 | 0.15 | 2.22 |
| P-value | 0.53 | 0.71 | 0.34 | 0.56 | 0.26 | 0.92 | 0.57 |
| Total | | | | | | | |
| Control | 86.64 | 2.51 | 0.38 | 25.57 | 56.43 | 5.00 | 71.25 |
| 5 BSM | 90.61 | 2.18 | 0.20 | 23.83 | 52.01 | 4.58 | 64.80 |
| 10 BSM | 88.29 | 2.22 | 0.20 | 24.52 | 49.05 | 4.28 | 65.31 |
| 15 BSM | 88.56 | 2.34 | 0.19 | 23.55 | 50.91 | 4.23 | 67.65 |
| 20 BSM | 88.22 | 2.25 | 0.20 | 22.12 | 49.71 | 3.95 | 61.17 |
| SEM | 0.53 | 0.07 | 0.03 | 0.72 | 1.47 | 0.13 | 2.31 |
| P-value | 0.17 | 0.61 | 0.34 | 0.66 | 0.55 | 0.12 | 0.74 |

[1] BSM : کنجاله سیاه دانه

[2] خطای معیار میانگین‌ها.

[a-c] میانگین‌های هر ستون، با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P\leq$۰/۰۵).

[1]BSM: Black seed meal

[2]Standard errors of means

[a-c]Means within same column with different superscripts differ significantly ($P \leq 0.05$).

اثرات سطوح مختلف کنجاله سیاه‌دانه بر فراسنجه های خونی مرغان تخم‌گذار در جدول ۵ نشان داده شده است. غلظت کلسترول سرم خون مرغان تحت تأثیر سطوح مختلف استفاده از کنجاله سیاه‌دانه قرار گرفت و در سطح ۵ درصد استفاده از کنجاله سیاه‌دانه به‌صورت قابل‌ملاحظه‌ای پایین‌تر از گروه شاهد و سایر گروه‌های استفاده‌کننده از کنجاله سیاه‌دانه بود ($P<$۰/۰۱). غلظت تری‌گلیسیرید پلاسما نیز همانند کلسترول تحت تأثیر قرار گرفت و روندی مشابه کلسترول داشت، به‌گونه‌ای که این فاکتور در سطح ۵ درصد کنجاله به‌صورت قابل‌ملاحظه‌ای پایین‌تر از سایر گروه‌ها بود ($P<$۰/۰۱). غلظت تری‌گلیسیرید در گروه استفاده‌کننده از ۵ درصد کنجاله سیاه‌دانه حدود ۴۲ در صد نسبت به گروه شاهد کمتر بود. استفاده از سطوح مختلف کنجاله سیاه‌دانه تأثیر معنی‌داری بر غلظت گلوکز سرم خون مرغان تخم‌گذار نداشت ($P =$۰/۱۲).

نتایج عبدو (۵) تا اندازه‌ای با نتایج آزمایش حاضر در یک راستا است. این محقق گزارش کرد که با افزایش جایگزینی کنجاله سویا با ۲۵ تا ۵۰ درصد کنجاله سیاه‌دانه در جیره جوجه‌های گوشتی چربی کل پلاسما و کلسترول خون کاهش پیدا می‌کند که این می‌تواند به علت ماده فعال نیجلن موجود در سیاه‌دانه باشد. کاهش سطوح کلسترول و تری‌گلیسیریدها ممکن است درنتیجه ترکیبات فعال سیاه‌دانه همانند تیموکوینون و اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه باشد که باعث کاهش سنتز کلسترول به‌وسیله سلول‌های کبدی و کاهش جذب از روده کوچک می‌شوند.

**جدول۵**- تأثیر کنجاله سیاه دانه بر فراسنجه های خونی مرغان تخم‌گذار (میلی‌گرم بر دسی لیتر)

**Table 5**- Effect of black seed meal on blood parameters of laying hens (mg/dl)

| تیمارها Treatments[1] | تری گلیسرید Triglyceride | کلسترول Cholesterol | گلوکز Glucose |
|---|---|---|---|
| Control | 1502.9[b] | 143.8[b] | 247.0 |
| 5 BSM | 875.4[c] | 101.4[c] | 157.8 |
| 10 BSM | 1591.7[b] | 156.6[b] | 269.4 |
| 15 BSM | 2004.7[a] | 175.6[a] | 275.8 |
| 20 BSM | 1740.1[b] | 153.8[b] | 277.5 |
| SEM[2] | 66.39 | 4.13 | 4.20 |
| P-value | 0.001 | 0.001 | 0.12 |

BSM[۱] : کنجاله سیاه دانه

[۲] خطای معیار میانگین‌ها.

[a-c]میانگین‌های هر ستون، با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P≤۰/۰۵).

[1]BSM: Black seed meal

[2]Standard errors of means

[a-c]Means within same column with different superscripts differ significantly ($P \leq 0.05$).

همچنین گزارش‌شده است روغن‌های ضروری موجود در سیاه‌دانه با عث کاهش فعالیت کوآنزیم آنزیم ۳- هیدرو کسی ۳- متیل گلوتاریل کوآنزیم آ می‌شود که این آنزیم نقش کلیدی در سنتز کلسترول دارد (۱۰). محققین نشان دادند که محتوای چربی خون بجز لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا به هنگام استفاده از کنجاله سیاه دانه کاهش یافت (۲). ال باقر و همکاران (۱۴) مشاهده کردند که سطوح ۱۰ و ۳۰ گرم در کیلوگرم دانه سیاه‌دانه به‌طور معنی‌داری کلسترول، تری گلیسرید و فسفولیپید زرده تخم‌مرغ را کاهش داد. مکانیسم اینکه چگونه سیاه‌دانه باعث کاهش کلسترول زرده تخم‌مرغ می شود کاملاً شناخته‌نشده است. اما تصور می‌شود کاهش کلسترول زرده در ارتباط با کاهش کلسترول سرم باشد. نشان داده شده است استفاده از ۱ و ۳ در صد سیاه‌دانه در جیره مرغان ۶۸ هفته به صورت وابسته به غلظت باعث کاهش ۳۰ در صدی فسفولیپید و ۲۳ در صدی کلسترول سرم می‌گردد (۸). در آزمایش حاضر گلوکز پلاسما تحت تاثیر قرار نگرفت. مطابق با نتایج این آزمایش موسی پور و سالار معینی (۲۲)، تفاوت معنی‌داری در غلظت گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL و HDL خون بلدرچین‌های ژاپنی استفاده‌کننده از سطوح مختلف کنجاله سیاه‌دانه مشاهده نکردند. طغیانی و همکاران (۲۶) به‌منظور بررسی اثر سیاه‌دانه بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌ها گوشتی، سطوح ۲ و ۴ گرم بر کیلوگرم سیاه‌دانه را به جیره پایه اضافه کردند و نتایج این محققین نشان داد که هیچ‌یک از پارامترهای بیو شیمیایی سرم خون ازجمله آلبومین، تری‌گلیسرید، HDL، LDL و کلسترول تحت تأثیر تیمارهای غذایی قرار نگرفت.

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که کنجاله سیاه‌دانه دارای مقادیر بالایی از اسیدهای چرب ضروری می‌باشد. همچنین استفاده از کنجاله سیاه‌دانه تا سطح ۵ در صد بدون تغییر در صفات عملکردی باعث کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید خون مرغان تخم‌گذار شد.

## منابع


1. Abbas, T. E. E., and M. E. Ahmed. 2010. Effect of supplementation of *Nigella sativa* seeds to the broiler chicks' diet on the performance and carcass quality. International Journal of Agriculture Science, 2 (2): 9–13.
2. Abd El-Hack, M. E., M. Alagawany, M. Saeed, M. Arif, M. A. Arain, Z. A. Bhutto, and S. A. Fazlani. 2016. Effect of gradual substitution of soybean meal by *Nigella sativa* meal on growth performance, carcass traits and blood lipid profile of growing Japanese quail. Journal of Animal and Feed Sciences, 25: 244–249.
3. Abdel-Hady, A. A., F. A. Abdel-Azeem, A. A. Abdel-Rafea, and A. G. Gamal. 2009. Effect of replacement of soybean meal protein by *Nigella sativa* meal protein on performance of growing Japanese quail. Egyptian Poultry Science, 29: 407-422.
4. Abdel-magid, S. S., R. I. EL- Kady, S. M. Gad, and I. M. Awadalla. 2007. Using cheap and local non-conventional protein meal (*Nigella sativa*) as least cost rations formula on performance of crossbreed calves. International Journal of Agriculture and Biology, 9(6): 877-880.
5. Abdo, Z. M. A. 2004. Effect of phytase supplementation on the utilization of *Nigella sativa* seed meal in broiler diets. Egyptian Poultry Science, 24: 143-162.

6. AOAC International. 1995. Official Methods of Analyses. 16 th ed. AOAC International. Virginia, USA.
7. Aydin, R., M. Karaman, T. Cicek, and H. Yardibi. 2008. Black cumin (*Nigella sativa* L.) supplementation into the diet of the laying hen positively influences egg yield parameters, shell quality, and decreases egg cholesterol. Poultry Science, 86: 2590-2595.
8. Badari, O. A., R. A.Taha, A. M. Gamal, and A. C. Abdel-Wahab. 2003. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. Drug and Chemical Toxicology, 26: 87–98.
9. Bolukbasi, S.C., O. Kaynar, M. K. Erhan, and H. Uruthan. 2009. Effect of feeding *Nigella Sativa* oil on laying hen performance, cholesterol and some proteins ratio of egg yolk and Escherichia coli count in faeces. Archiv fur Geflugelkunde, 73: 167-172.
10. Crowell, P. L. 1999. Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. Journal of Nutrition, 129: 775-778.
11. Denli, M., F. Okan, and A. N. Uluocak. 2004. Effect of dietary black seed (*Nigella sativa* L.) extract supplementation on laying performance and egg quality of quail (*Coturnix coturnix japonica*). Journal of Applied Animal Research, 26: 73-76.
12. Duncan, D. B. 1955. Multiple range test and multiple F test. Biometrics 11:1-42.
13. Durrani, F. R., N. Chand, K. Zaka, A. Sultan, F. M. Khattak, and Z. Durrani. 2007. Effect of different levels of feed added black seed (*Nigella sativa* L.) on the performance of broiler chicks. Pakistan Journal of Biological Science, 10: 4164-4167.
14. El-Bagir, N. Y., R. M. Hama, E. L. Hamed, and A. C. Beynen. 2006. Lipid composition of egg yolk and serum in laying hens fed diets containing black cumin (*Nigella Sativa*). International Journal of Poultry Science, 5: 574–578.
15. El-Dakhakhny, M. 1996. Studies on the Egyptian Nigella sativa L: IV. Some pharmacological properties of the seeds' active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer. Journal De Pharmacie De Belgique, 15: 1227 –1229.
16. El-Deek, A., A. Saffa, M. Hamdy, and M. M. Khalifah. 1999. Effects of Nigella seed oil meal in broiler diets on performance and physical and sensory characteristics of meat. Egyptian Poultry Science, 22: 207-225.
17. El-Nattat, W.S., and R. I. El-Kady. 2007. Effect of different medicinal plant seeds residues on the nutritional and reproductive performance of adult male rabbits. International Journal of Agriculture and Biology, 9: 479–485.
18. Falahhoseini, H., R. Mohtashami, Z. Sadeghi, Y. Saeidi,and A. Falahhoseini. 2011. Pharmacological effects of black seed (*Nigella sativa* L.): A review. Journal of Medical Plants, 38 (2): 1-18. (In Persian).
19. Farahani, J., and A. Ghanbari. 2015. Hy-line W-36 commercial layers management guide. Morghak Co. (In Persian).
20. Jahan, M. S., M. Khairunnesa, S. Afrin, and M. S. Ali, 2015. Dietary black cumin (*Nigella sativa*) seed meal on growth and meat yield performance of broilers. SAARC Journal of Agriculture, 13(2): 151-160.
21. Matthaus, B., and M. M. Ozcan. 2011. Fatty acids, tocopherol, and sterol contents of some *Nigella* species seed oil. Czech Journal of Food Science, 29(2): 145-150.
22. Musapur, T., and M. Salarmoeini. 2014. Effect of using different levels of black seed meals on performance and meat quality of Japanese quail. Iranian Journal of Animal Science Research, 6 (1): 17-24. (In Persian).
23. Nascimento, G. A. J., P. B. Rodrigues, R. T. F. Freitas, A. G. Bertechini, R. R. Lima, and L. E. A. Pucci. 2009. Prediction equations to estimate the energy values of plant origin concentrate feeds for poultry utilizing the metaanalysis. Brazilian Journal of Animal Science, 38: 1265–1271.
24. Padmaa, M. P. 2010. *Nigella sativa* linn A- comprehensive review. Indian Journal of Nutrition, 14: 409- 429.
25. Saeedi, P., S. Tabatabaei, S. Sallary, K. Mirzadeh, and M. Zarei. 2014. Evaluation the effect of black cumin (*Nigella Sativa* L.) supplementation in diet on performance and some blood parameters in broiler chickens. Journal of Animal Production, 16 (2): 157-166. (In Persian).
26. SAS Institute INC. 2004. SAS STATs users Guide. Version 9.1, SAS Institute Inc. cary, N.C.
27. Shirzadegan, K., P. Fallahpour, I. Nickkhah, and H. R. Taheri. 2014. Black cumin (*Nigella sativa*) supplementation in the diet of broilers influences liver weight and its enzymes. Iranian Journal of Applied Animal Science. 5(1): 173-178.
28. Talha, E., E. Abbas, and E. Mohamed. 2010. Effect of supplementation of *Nigella sativa* seeds to the broiler chick's diet on the performance and carcass quality. International Journal of Agriculture Science, 2(2): 9-13.
29. Toghyani, M. M., A. Toghyani, G. Gheisari, M. Ghalamkari, and A. Mohammadrezaei. 2010. Growth performance, serum biochemistry and blood hematology of broiler chicks fed different levels of black seed (*Nigella sativa*) and peppermint (*Mentha piperita*). Live Science, 129: 173–178.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 263-273

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۷۳-۲۶۳

# Effects of Different Levels of Black Seed Meal on Laying Hens Performance in Second Production Cycle

**Mohammad Reza Ghorbani[1,3*], Ahmad Tatar [2], Somayyeh Salari [3], Mohammad Hadi Soleimani [4] and Solmaz Khalili Samani [5]**

Submitted: 18-12-2019
Accepted: 19-08-2020

**Introduction** It has been estimated that feed is the major cost associated with commercial poultry production. Conventional plant proteins, such as soybean meal tend to increase the poultry production costs due to limitation in cultivation in some region and therefore, their being transported from other countries. Hence, inclusion of non-conventional feed resource becomes of primary importance in poultry production to maintain the productivity at a lower cost. Black seed (*Nigella sativa*) referred to an important medical crop in many countries and is primarily consumed as medical oil. Black seed meal (BSM) is by-product after oil removal and can be used as a protein-rich meal (21). Black seed meal contains about 31.75 % crude protein and 19.37 % ether extract and it can be used as good sources of protein and energy (21) and substitution of soybean meal in laying hens practical diets. However, reports on the use of BSM in laying hens diets in second cycle of production are not enough, therefore, in this study, we considered the effect of different levels of black seed meal on laying hens performance in second production cycle.

**Materials and Methods** This experiment was conducted to determine the fatty acids composition of black seed meal and its effects on performance and egg qualitative traits of laying hens in second production cycle. In the first step, Gas-chromatography was used for determination the fatty acids composition of BSM. In the second step, a total of One hundred and twenty Hy-Line W-36 leghorn hens were housed in cages and randomly allocated to 5 treatment groups for 8 weeks. Each group was divided in to 4 replicates. Feed and water were provided ad libitum. The hens received basal diet (corn and soybean meal based diet with 14.80 % crude protein and 2813 kcal/ kg metabolizable energy) that was formulated to meet the Hy-line W-36 requirements recommended for nutrients. The diet did not have any antibiotics and coccidiostats. Dietary treatments were included 0, 5, 10, 15, and 20 percentage of BSM by expense of Soybean meal in basal diet and clarified as BSM0 (control), BSM5, BSM10, BSM15 and BSM20 respectively. Experiment was designed in a completely randomized design. Egg weight (gr), egg production (%) and egg mass (gr/hen/day) were recorded daily. Feed consumption was measured weekly and feed conversion ratio (FCR) (grams of feed: grams of egg mass) was calculated weekly too. At the end of 2, 4, 6 and 8 weeks of the experiment, two eggs from each replicate were randomly selected for measurement the egg qualitative traits. In this paper laying hens performance factors and egg quality parameters were calculated in three phase, the first 4 weeks, second 4 weeks and total period. Blood serum characteristics were evaluated in the end of experiment by bleeding from laying hens wings.

**Results and Discussion** The results of this experiment showed that linoleic acid (41.51), oleic acid (34.67 %), palmetic acid (16.12 %), stearic acid (5.59), and linolenic acid (1.97) were the major BSM fatty acids. As it clear, the linoleic acid and oleic acid are most abundant fatty acid (unsaturated) in BSM. Feed intake was decreased by

1-Associate Professor, Department of Range and watershed Management, Higher Education Complex of Shirvan, Shirvan, Iran.
2- Assistant Professor, Animal Science Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Gorgan, Iran.
3- Associate Professor , Department of Animal Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.
4- Giah essence company, Gorgan, Iran.
5- Graduated Student, Department of Animal Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.
(*- Corresponding Author Email: ghorbani@cheshirvan.ac.ir)
DOI: 10.22067/ijasr.2022.37122

inclusion of BSM in laying hens diet and minimum feed intake was observed in BSM20. It seems to be the bitter taste of black seed meal is responsible for the decline of feed intake. It was reported that BSM has anti-nutritional substance and alkaloids (saponins), that these factors can reduce feed intake when used in high amount in poultry diets (21 and El-Dakhakhny, 1996). Laying hens egg mass was decreased in BSM10, BSM15 and BSM20 groups when compared with control group. Egg mass was calculated by multiplying egg weight in egg production. Reduced of feed intake can affect availability of nutrient for egg production and egg weight, and, therefore, egg mass will be decrease. Scientists reported that BSM can increase laying hens' body weight and increasing body weight can decrease egg production. Laying hens' serum cholesterol and triglyceride content were decreased significantly in BSM5 when compared with other groups. It was reported that essential oils in BSM can reduce activity of HMG-CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A) reductase that has vital role in cholesterol synthesis (Crowell, 1999).

**Conclusion** According to the results of this experiment, using BSM in 5 percent can reduce blood cholesterol and triglyceride without adverse effect on performance parameters.

**Keywords:** Black seed meal, Egg quality, Laying hen, Performance.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۹۰-۲۷۵

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 275-290

مقاله علمی- پژوهشی

# تعیین انرژی قابل متابولیسم گندم فرآوری شده در دماهای مختلف و اثر آن در جیره با و بدون مکمل آنـزیمی بر مورفولوژی روده کوچک و عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در دوره ۲۴ – ۱۱ روزگی

سیدمحمدرضا صلواتی[۱]، ابوالقاسم گلیان[۲*]، احمد حسن آبادی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۱۴

## چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر فرآوری حرارتی بر انرژی قابل متابولیسم، قابلیت هضم ظاهری پروتئین و ماده خشک گنـدم به روش جمع‌آوری کـل فضـولات با استفاده از ۹۶ قطعه جوجه گوشتی مخلـوط دو جنـس سـویـه راس-۳۰۸ در سـن۲۱- ۱۸ روزگی با جیره حاوی ۷۰/۱۱ درصد گندم به نحوی که تنها منبع انرژی و پروتئین جیره‌ها یکی از چهار گندم فرآوری شده و یا نشده بود، انجام شد؛ همچنین آزمایشی به منظـور بررسـی عملکرد ۵۷۶ قطعه جوجه گوشتی سویه راس-۳۰۸ از سـن ۲۴-۱۱روزگی در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل ۲ × ۴ شامل ۸ تیمار با ۶ تکرار و ۱۲ قطعه پرنده در هر تکرار طراحی شد. گندم‌های مورد استفاده فرآوری نشده و یا فرآوری شده در کاندیشنر با دمـاهـای $^{o}C$ (۵۵، ۷۰ و ۸۵) به مدت ۲/۵ دقیقه با و بدون مکمل آنزیمی بودند. فـرآوری حرارتی در دمای $^{o}C$ ۸۵ منجر به افزایش انرژی قابل متابولیسم ظاهری و قابلیت هضم ماده خشک بترتیب به میزان ۵/۳۲ و ۵/۶۱ در صد و افزایش وزن بدن، وزن روزانه و مصرف خوراک نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین منجر به افزایش ارتفاع ویلی‌های ناحیه ژژنوم نسبت به تیمار شاهد شد. مکمل آنزیمی باعث افزایش وزن بدن، وزن روزانه، ضریب تبدیل غذایی، کاهش وزن ایلئوم و پهنای ویلی شد. با توجه به نتایج حاصل، فرآوری حرارتی گندم باعث بهبود انرژی قابل متابولیسم ظاهری، قابلیت هضم ماده خشک، مـورفولوژی روده کوچک و فعالیت میکروبی ناحیه ایلئوم جوجـه‌های گوشتـی سـن ۲۴- ۱۱ روزگی شد.

**واژه‌های کلیدی:** آنزیم، جوجه گوشتی، عملکرد، فرآوری حرارتی.

## مقدمه

در سال‌های اخیر با توجه به رشد جمعیت در دنیا، دستیابی به منابع غذایی و تأمین غذا در اولویت فعالیت‌های گوناگون جوامع بشری قرار گرفته اسـت. در این میان، تولید فرآورده‌های غذایی با منشـاء پروتئین حیوانی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار بوده و پرورش طیور از شـناخته شـده‌ترین روش‌ها جهت تولید پروتئین حیوانی به حسـاب می‌آید (۲۴). آنچه امروزه صنعت پرورش طیور را تحت تاثیر قرار داده، مساله، بالا بردن بهره وری مواد خوراکی مورد استفاده در تغذیه طیور می‌باشـد. حدود هفتاد درصـد از هزینه‌های جاری واحدهای پرورش طیور را تغذیه تشـکیل می‌دهد (۵). کمبود مواد اولیه و محدود بودن تولید آن‌ها در کشور سبب گردیده است که هر سالـه مقدار زیادی مواد اولیه با پرداخت مقادیـر قابل توجهـی ارز از خارج کشور وارد نمائیم (۴۱). گندم یک غله مهم است که اغلب به علت نشاسته بالا، انرژی قابل دسـترس و پروتئین موجود در آن در تغذیه طیور مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۶و۲۷). نشاسته منبع مهم انرژی در غلات

۱. دانشجوی دکتری تغذیه طیور، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۲. استاد، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
(*- نویسنده مسئول: (Email: golian-a@um.ac.ir
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.81464

است و توجه به هضم آن حائز اهمیت می‌باشد (۲۸). در دیواره سلولی آندوسپرم دانه‌های غلات بخشی از کربوهیدرات‌های ساختمانی وجود دارند (اغلب آرابینوزایلان‌ها در گندم) که در روده کوچک طیور محلولند و وزن مولکولی بالایی دارند (۳۸). از جمله تغییرات فیزیکی و شیمیایی مثبت فرآوری با حرارت بخار، ژلاتینه شدن نشاسته ، دناتوره شدن پروتئین‌های مهار کننده آنزیم‌های د ستگاه گوارش و شکسته شدن دیواره سلولی گزارش شده است (۲۵). برخی از تحقیقات نشان داده اند که ارزش غذایی گندم به عوامل داخلی (واریته، مواد مغذی و ترکیبات آن) و عوامل خارجی از جمله (شرایط کاشت، داشت، برداشت و غیره) بستگی دارد (۹و۲۹). کیم و همکاران (۲۰) نشاسته موجود در ارقام زراعی گندم را بین ۵۸/۵ تا ۷۳/۷ درصد، پروتئین موجود را بین ۹/۷ تا ۱۹/۱ درصد و پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای را بین ۷/۸ تا ۱۱ در صد بر ا ساس ماده خ شک گزارش نمودند. چندین عامل فیزیکی و شیمیایی گندم بر انرژی قابل متابولیسم و عملکرد حیوان موثرند که شامل وی سکوزیته و سختی دانه (۱۱)، نشاسته، پروتئین، پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای و چربی موجود در آن می باشند (۱۰و۲۶). با این وجود، ارتباط بین خواص فیزیکی و شیمیایی گندم و میزان انرژی قابل متابولیسم آن به طور کامل مشخص نشده است (۳۲). انرژی قابل متابولیسم همواره با میزان نشاسته قابل هضم آن همبستگی ندارد و به سایر عوامل فیزیکی وشیمیایی از جمله سختی، و یسکوزیته و اندازه ذرات بستگی دارد (۳۸). فرآوری دانه غلات به عنوان یکی از راه‌های عمده جهت تغییر و بهبود ارزش غذایی مواد مغذی، بویژه انرژی قابل متابولیسم، نشاسته و پروتئین برای طیور مطرح است (۲۲). فرآوری گندم مانند آسیاب کردن و پلت کردن نشان داده است که باعث افزایش هضم مواد مغذی و انرژی قابل متابولیسم و در نتیجه موجب بهبود عملکرد حیوان می‌شود (۳۵). فرآوری حرارتی یکی از روش‌های متداول جهت افزایش قابلیت هضم خوراک در حیوانات است (۲۳). این فرآیند با دناتوره کردن عوامل ضد تغذیه‌ای موجود در خوراک‌هایی که منشاء گیاهی دارند، ارزش غذایی انرژی و پروتئین آن‌ها را بالا می‌برند (۳۳). در این پژوهش تلاش گردید مزایا و معایب فرآوری حرارتی به منظور بهینه سازی استفاده از گندم در تغذیه طیور با تعیین دمای مناسب در محدوده دماهای رایج در صنایع تهیه خوراک طیور گزارش شود؛ بنابراین، هدف از انجام پژوهش حاضر مطالعه اثر دمای فرآوری گندم و مکمل آنزیمی بر انرژی قابل متابولیسم گندم و اثر استفاده از آن در خوراک آردی بر مورفولوژی ژژنوم، جمعیت میکروبی ایلئوم و عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره رشد بود.

## مواد و روش‌ها

### تهیه گندم و مکمل آنزیمی و جوجه های مورد استفاده در آزمایش

برای تأمین گندم مورد نیاز این طرح چهار تن گندم واریته میهن کشت زمستانه از یک مزرعه محلی در منطقه درگز خریداری و در کارخانه تولید خوراک طیور شرکت دردانه در شهرک صنعتی چناران با آسیابی به قدرت ۱۴۸۰ دور در دقیقه ( ساخت شرکت آسیاب ایران با ۳۲ چکش) آسیاب گردید و از توری ۳ میلی متری عبور داده شد. گندم آسیاب شده به چهار قسمت مساوی تقسیم شد: یک قسمت فرآوری نشده و سه قسمت دیگر پس از عبور از کاندیشنر ( ساخت شرکت آسیاب ایران با ظرفیت ۸۰۰ کیلوگرم، با ۳۳ پدال با زاویه ۴۵ درجه و فشار بخار ۲ بار) به تفکیک در معرض دماهای ۵۵، ۷۰ و ۸۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲/۵ دقیقه قرار گرفته و پس از کیسه‌گیری جهت استفاده در طرح پژوهشی، به مزرعه منتقل شدند. مکمل آنزیمی مورد استفاده روابیو[1] ( ساخت شرکت آدیسو فرانسه) حاوی ۶۴۰۰ واحد سلولاز، ۲۰۰۰ واحد بتاگلوکاناز و ۲۲۰۰۰ واحد زایلاناز در هر گرم مکمل بود[2]. سپس چهار نمونه گندم اشاره شده هر یک به دو قسمت تقسیم و به یک قسمت از هر نمونه، مکمل آنزیمی به نسبت ۵۰ گرم در صد کیلوگرم جیره افزوده شد و در نهایت ۸ گندم مورد استفاده طرح حاصل گردید. جوجه‌های یک روزه مورد نیاز این طرح از سویه راس- ۳۰۸ بود که از ایستگاه جوجه کشی ثامن شهر ستان چناران متعلق به شرکت مرغ مادر دیزباد خریداری گردید. این طرح پژوهشی در قالب دو آزمایش در مرکز تحقیقات دام و طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد.

### آزمایش اول

به منظور تعیین انرژی قابل متابولیسم ظاهری و قابلیت هضم پروتئین خام برای یک نمونه گندم شاهد و سه نمونه گندم فرآوری شده با و بدون مکمل آنزیمی در ابتدا، ۱۲۰ قطعه جوجه یک روزه مخلوط دو جنس سویه راس ۳۰۸ تا ۱۵روزگی با جیره‌های آغازین و رشد تجاری تغذیه شدند. آنگاه ۹۶ قطعه از آنها به ۴۸ گروه دوتایی (یک نر و یک ماده) تقسیم و در روز ۱۵ پرورش به طور تصادفی به ۴۸ قفس متابولیکی منتقل شدند. هشت جیره آزمایشی که تنها منبع انرژی و پروتئین موجود در آنها گندم بود تهیه (جدول ۱) و هر جیره به طور تصادفی به ۶ قفس اختصاص یافت (۲۸). در سن ۱۸ روزگی ۱۲ ساعت گرسنگی به جوجه‌ها داده شد و سپس سینی‌های مخصوص

1-Rovabio, Adisseo ®A Bluestar Company, France

۲ – هر واحد فعالیت آنزیمی معادل میزان آنزیم مورد نیاز برای تولید یک میلی مول قند احیا در هر دقیقه در pH=4.8 و دمای $50\ ^{\circ}C$ است.

جمع‌آوری کود در زیر قفس‌ها تعبیه گردید. خوراک باقی مانده پس از ۷۲ ساعت تغذیه از جلوی قفس‌ها جمع‌آوری و به جوجه‌ها ۱۲ ساعت گرسنگی داده شده، سپس فضولات جوجه‌ها تا پایان گرسنگی دوم جمع‌آوری گردید. مقدار خوراک مصرفی جوجه‌های هر قفس در ۳ روز آزمایش با کسر خوراک باقی مانده از خوراک داده شده تعیین شد (۲۸). فضولات دفعی به مدت ۴۸ ساعت در جریان هوای ملایم اتاق قرار گرفته و سپس در آون با دمای $^{o}C$ ۶۰ به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد تا کاملاً خشک شوند. فضولات خشک شده به مدت ۲ ساعت در شرایط آزمایشگاهی قرار داده شد تا با شرایط محیط به تعادل برسند. پر و ضایعات احتمالی جدا شده و کل فضولات دفع شده هر قفس توزین شدند (۳۶ و ۳۷). کل فضولات مربوط به هر قفس آسیاب و همگن شدند؛ سپس نمونه‌های خوراک و فضولات برای تعیین میزان ماده خشک، پروتئین خام و انرژی خام بر اساس روش‌های پیشنهادی AOAC (۲۰۰۰) استفاده گردید. برای تعیین انرژی خام نمونه‌های جیره و فضولات جمع‌آوری شده از بمب کالری متر (مدل PARR 1261) استفاده شد.

**آزمایش دوم**

در این آزمایش ابتدا تعداد ۷۰۰ قطعه جوجه یک روزه تهیه گردید؛ سپس جوجه‌ها تا سن ۱۰ روزگی با یک جیره آغازین تجاری بر اساس توصیه راس – ۳۰۸ تغذیه شدند (۶)؛ آنگاه در سن ۱۱ روزگی ۵۷۶ قطعه از جوجه‌ها انتخاب شده و به طور تصادفی ۶ قطعه نر و ۶ قطعه ماده به هر پن با ابعاد ۸۰ ×۱۲۰ ×۱۲۰ سانتی متر که مجهز به یک دان خوری آویزان دستی و دو آبخوری نیپل بود منتقل شدند. دمای جایگاه پرورش در زمان ورود جوجه‌ها در دامنه ۳۰ تا ۳۲ درجه سانتیگراد تنظیم شد و پس از ۷۲ ساعت هر روز دمای سالن $^{o}C$ ۰/۵ تا رسیدن به دمای $^{o}C$ (۲۲ – ۲۰) کاهش یافت؛ همچنین در سه روز نخست ورود جوجه‌ها به سالن، برنامه نوری ۲۴ ساعت روشنایی و پس از آن ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی تا پایان دوره آزمایش اعمال شد. برای تهیه ۸ جیره آزمایشی تنها یک جیره میان دان (۲۴ – ۱۱روزگی) حاوی ۷۰/۱۱ در صد گندم بر اساس احتیاجات مواد مغذی توصیه شده شرکت راس (۶) فرموله گردید و یک نمونه گندم فرآوری نشده و سه نمونه گندم فرآوری شده در دماهای مختلف با و بدون مکمل آنزیمی (روابیو) در فرمول جیره میان دان شاهد جایگزین شد (جدول ۱). این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل (۲×۴) با ۶ تکرار و ۱۲ پرنده در هر تکرار انجام شد. هشت جیره به طور تصادفی به ۴۸ پن اختصاص یافت. به منظور اندازه‌گیری فراسنجه‌های عملکردی، در روز پایانی آزمایش (۲۴ روزگی) از هر واحد آزمایشی یک قطعه پرنده نر که وزن آن به میانگین وزنی پن نزدیک بود، انتخاب، توزین و کشتار شد. پس از انجام عملیات پوست کنی، وزن لاشه، سینه، ران‌ها، مجموعه پشت، بال و گردن پوست کنده و همچنین وزن اندام‌های داخلی شامل قلب، طحال، پیش معده، سنگدان، کبد، لوزالمعده، بورس فابریسیوس، چربی محوطه شکمی، دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم اندازه‌گیری شد. همچنین طول دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم نیز اندازه‌گیری شد. علاوه براین جهت بررسی وضعیت میکروبی در روز کشتار حدود ۳ گرم از محتویات ناحیه ایلئوم روده کوچک از هر قطعه جوجه کشتار شده به لوله‌های استریل حاوی ۹ میلی لیتر بافر فسفات منتقل و لوله‌ها داخل فلاسک حاوی یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند. ترکیبات تشکیل دهنده بافر شامل کلرید سدیم (NaCl) به مقدار ۸/۵ گرم در لیتر، فسفات هیدروژن سدیم ($NaH_2PO_4$) به مقدار ۰/۶۸ گرم در لیتر و سود (NaOH) به مقدار ۰/۱۵ گرم در لیتر بودند (۳۹). برای این کار لاکتوباسیل در روگوسا آگار و در شرایط بی هوازی و سالمونلا در محیط کشت سلینت اف قرارداده شده، سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد و آنگاه پرگنه‌های تشکیل شده مورد شمارش قرار گرفتند. جهت بررسی بافت شناسی ناحیه ژژنوم بافت روده کوچک جوجه‌های مورد آزمایش و تعیین ابعاد پرزهای این ناحیه از هر قطعه جوجه ذبح شده حدود ۱ تا ۲ سانتی متر از قسمت میانی ژژنوم جدا و پس از شستشو با محلول سرم فیزیولوژیک بافر خنثی (با pH حدود ۷/۲) جهت تثبیت، بافت‌ها به ظروف استریل در دار که حاوی بافر فرمالین با همان اسیدیته و غلظت ۱۵ درصد بود انتقال و تا زمان اندازه‌گیری بافت شناسی روده در یخچال نگهداری شدند. جهت اندازه‌گیری ابعاد پرز و عمق کریپت از روش آیجی و همکاران (۲۰۰۱) استفاده شد (۱۸).

**آنالیز آماری**

نتایج بدست آمده از این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با روش فاکتوریل، با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 (۲۰۰۳)، رویه مدل عمومی خطی (GLM) مورد تجزیه آماری قرار گرفتند (۳۰). داده‌ها برای اثرات اصلی گندم‌های مختلف مورد استفاده و مکمل آنزیمی و اثرات متقابل فرآوری گندم × مکمل آنزیمی آنالیز شدند. کلیه میانگین‌های مربوط به اثرات اصلی و اثرات متقابل توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ($P<0/05$) مقایسه گردیدند. مدل آماری طرح به شرح رابطه ۱ می‌باشد.

$$Y_{ijk} = \alpha i+\beta j+\alpha\beta ij+\varepsilon_{ijk}\mu \qquad (۱)$$

در این رابطه: $Y_{ijk}$= مقدار هر مشاهده، $\mu$= میانگین جامعه، $\alpha_i$= اثر گندم فرآوری شده، $\beta_j$= اثر مکمل آنزیمی (استفاده یا عدم استفاده از آنزیم)، $(\alpha\beta)_{ij}$= اثر متقابل گندم‌های فرآوری شده× مکمل آنزیمی، $\varepsilon_{ijk}$= خطای آزمایش در هر مشاهده می‌باشند.

**جدول ۱** – ترکیب جیره‌های شاهد برای تعیین انرژی قابل متابولیسم گندم و دوره رشد

**Table 1 -** Composition of the diet to determine metabolizable energy of wheat and diet of growing period

| اجزای خوراک (درصد)<br>Ingredients | جیره تعیین انرژی قابل متابولیسم گندم<br>Diet for determination of wheat metabolizable energy | جیره دوره رشد(۲۴-۱۱ روزگی)<br>Grower (11-24 d) |
|---|---|---|
| گندم<br>Wheat | 96.9[1] | 70.11[2] |
| کنجاله سویا (۴۴٪)<br>Soybean meal (44 %CP) | - | 21.55 |
| روغن دانه سویا<br>Soybean oil | - | 4.01 |
| سنگ آهک<br>Limestone | 0.94 | 1.01 |
| دی کلسیم فسفات<br>Dicalcium phosphate | 1.30 | 1.52 |
| مکمل ویتامینی و معدنی[3]<br>Vitamin&Mineral premix | 0.5 | 0.5 |
| ال-لیزین هیدروکلراید<br>L-Lysine Hydrochloride | - | 0.48 |
| دی ال – متیونین<br>DL-Methionine | - | 0.30 |
| ال – ترئونین<br>L-Threonine | - | 0.18 |
| نمک طعام<br>Salt | 0.27 | 0.22 |
| سدیم بی‌کربنات<br>Sodium Bicarbonate | - | 0.12 |
| کولین کلراید<br>Choline Chloride | 0.09 | 0 |
| جمع<br>Total | 100 | 100 |
| مواد مغذی محاسبه شده<br>Calculated nutrients | | |
| انرژی قابل سوخت و ساز(کیلو کالری بر کیلوگرم)<br>Metabolizable energy (kcal/kg) | 2810 | 3100 |
| پروتئین خام(٪)<br>Crude protein (%) | 13.66 | 21.5 |
| فسفر قابل دسترس (٪)<br>Available phosphorus (%) | 0.346 | 0.435 |
| متیونین (٪)<br>Methionine (%) | 0.20 | 0.64 |
| لیزین (٪)<br>Lysine (%) | 0.35 | 1.29 |
| میتونین+ سیستین (٪)<br>Methionine+Cystine (%) | 0.49 | 0.99 |
| ترئونین (٪)<br>Threonine (%) | 0.37 | 0.88 |
| سدیم (٪)<br>Sodium (%) | 0.14 | 0.16 |
| کلر (٪)<br>Cholorine (%) | 0.22 | 0.24 |
| تعادل آنیون-کاتیون (میلی اکی والان در کیلوگرم)<br>Anione-Cation Balance (meq/kg) | 111.94 | 233.67 |

۱ – هر یک از سه گندم فرآوری شده در دماهای $^{\circ}C$ (۵۵، ۷۰، ۸۵) به‌مدت ۲/۵ دقیقه و یک گندم فرآوری نشده با و بدون مکمل آنزیمی روابیو برای تهیه ۸ جیره برای تعیین اثر فرآوری حرارتی و آنزیم در انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم پروتئین خام و ماده خشک گندم جایگزین گردیدند.

۲– هر یک از سه گندم فرآوری شده در دماهای $^{\circ}C$ (۵۵، ۷۰، ۸۵) به‌مدت ۲/۵ دقیقه و یک گندم فرآوری نشده با و بدون مکمل آنزیمی روابیو برای تهیه ۸ جیره مورد استفاده در دوره رشد جایگزین گردیدند.

۳– مکمل ویتامینه و مواد معدنی در هر کیلوگرم جیره مواد مغذی زیر را تأمین می‌کرد: ویتأمین A، ۸۸۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله کلسیفرول، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتأمین E، ۱۱ واحد بین‌المللی؛ ویتأمین K3، ۲/۲ میلی‌گرم؛ ویتأمین B12، ۰/۰۱ میلی‌گرم؛ تیامین، ۱/۵ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین؛ ۴ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۳۵ میلی گرم؛ اسید فولیک، ۰/۵ میلی‌گرم؛بیوتین، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛پریدوکسین، ۲/۵ میلی‌گرم؛اسید پنتوتنیک، ۸ میلی گرم؛ کولین کلراید، ۵۰ میلی‌گرم؛ بتائین، ۱۹۰ میلی‌گرم؛ روی، ۶۵ میلی‌گرم؛ منگنز، ۷۵ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۲ میلی‌گرم؛ ید، ۰/۹ میلی‌گرم؛ مس، ۶ میلی‌گرم؛ آهن، ۷۵ میلی‌گرم.

1- Each of the three processed wheat and the untreated wheat with and without Rovabio enzyme supplementation was replaced to prepare 8 diets to determine the effect of processing and enzyme on metabolizable energy and digestibility of crude protein and dry matter in wheat.

2- Each of the three processed wheat and one untreated wheat with and without Rovabio enzyme supplementation was replaced to prepare 8 diets to determine the effect of processing and enzyme on grower period.

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

## نتایج و بحث

در آزمایش حاضر اثر متقابل فرآوری حرارتی گندم و مکمل آنزیمی برانرژی قابل متابولیسم ظاهری، قابلیت هضم پروتئین خام و قابلیت هضم ماده خشک گندم معنی‌دار نبود ($P\geq ۰/۰۵$). تأثیر دمای فرآوری گندم و مکمل آنزیمی بر انرژی قابل متابولیسم ظاهری و قابلیت هضم پروتئین خام و ماده خشک گندم در جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ نشان داده شده است. فرآوری حرارتی منجر به تفاوت معنی‌دار انرژی قابل متابولیسم ظاهری، قابلیت هضم پروتئین خام و ماده خشک گندم تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد گردید($P< ۰/۰۵$). بالاترین انرژی قابل متابولیسم ظاهری گندم در اثر فرآوری حرارتی در دمای $^{o}C$ ۸۵ مشاهده شد، در حالی‌که بیشترین هضم پروتئین خام گندم در اثر فرآوری حرارتی در دمای $^{o}C$ ۷۰ حاصل گردید؛ فرآوری حرارتی گندم در دمای $^{o}C$ ۸۵ در مقایسه با شاهد نیز بیشترین قابلیت هضم ماده خشک را نشان داد ($P<۰/۰۵$).

گنزالز- آلوارادو و همکاران (۱۶) نیز طی آزمایشی بر روی ذرت و برنج بصورت مصرف خوراک خام در مقایسه با خوراک پخته در جوجه‌های گوشتی مشاهده نمودند که پختن خوراک قابلیت هضم مواد مغذی را بهبود می‌دهد. در آزمایش حاضر اثر آنزیم بر انرژی قابل متابولیسم ظاهری، قابلیت هضم ظاهری پروتئین خام و ماده خشک گندم معنی‌دار نبود. یعقوبفر و همکاران (۴۰) نشان دادند که استفاده از مولتی آنزیم ناتوزیم پلاس یکی از مکمل‌های آنزیمی که حاوی فیتاز، بتاگلوکاناز، آلفا آمیلاز، سلولاز، همی سلولاز، پکتیناز، آمیلوگلیکوزیداز، لیپاز، زایلاناز، پروتئاز، اسیدفسفاتاز و پنتوزاناز است بر میزان انرژی قابل متابولیسم گندم تأثیر معنی‌داری نداشته است. ابراهیم نیا (۱۲) نشان داد که استفاده از آنزیم بر مقدار انرژی قابل متابولیسم جیره‌های حاوی ۴۰ در صد گندم با و بدون مکمل آنزیمی در سن ۱۴ تا ۲۰ روزگی معنی‌دار بوده به گونه‌ای که جیره‌های حاوی آنزیم انرژی قابل متابولیسم بیشتری نسبت به جیره‌های بدون آنزیم دارا بودند. زرقی و همکاران (۴۳) نشان دادند که افزودن مکمل آنزیمی درجیره جوجه‌های گوشتی نر مقدار انرژی قابل متابولیسم ظاهری ارقام تریتیکاله را بطور معنی‌داری افزایش می‌دهد.

اثر دمای فرآوری گندم و مکمل آنزیمی برصفات مربوط به شاخص‌های عملکردی جوجه‌های گوشتی در سن ۱۱ تا ۲۴ روزگی در جدول ۳ نشان داده شده است. ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی گندم فرآوری شده در دمای $^{o}C$ ۷۰ مشابه تیمار شاهد بوده و به طور معنی‌داری بهتر از دو تیمار دیگر بود. در پژوهشی که کوایسون و همکاران (۱۱)، جیره‌های بر پایه گندم- سویا را با دماهای ۸۰، ۸۵ و ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه با فشار ۲/۵ بار با و بدون مکمل آنزیمی زایلاناز فرآوری نمودند و در سن ۱ تا ۲۱ روزگی مورد استفاده جوجه‌های گوشتی قراردادند، مشاهده کردند که دما بر مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک تأثیری نداشته است ولی مصرف آنزیم بر افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک موثر بوده است. در پژوهشی دیگر بنت و همکاران (۷) اثر خوراک آردی و پلت را بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در سنین صفر تا ۶ و۶ تا ۱۳و ۱۳ تا ۲۷ روزگی مورد بررسی قرار دادند که یافته‌های آنان نشان داد که فرآوری خوراک تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک داشته به طوریکه بیشترین افزایش وزن روزانه و کمترین ضریب تبدیل در جوجه های مصرف کننده پلت مشاهده گردید. در پژوهشی دیگر سیلورسایدس و بدفورد (۳۴) اثر مصرف جیره‌های گندم – سویا را که در دماهای ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵۵ و ۱۴۰ ثانیه با و بدون مکمل آنزیمی فرآوری شده بودند بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در سن صفر تا ۲۱ روزگی بررسی نمودند؛ یافته‌های آنان نشان داد اثر دما و مدت زمان کاندیشنینگ بر افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک معنی‌دار نبود؛ تفاوت این گزارش با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر می‌تواند احتمالا مربوط به دوره پرورش در دو آزمایش باشد.

در پژوهشی عبدالهی (۱)، اثرات شکل خوراک و دمای کاندیشنینگ $^{o}C$ (۲۰، ۶۰، ۷۵ و ۹۰) جیره‌های بر پایه گندم در سن ۱ تا ۲۱ روزگی جوجه‌های گوشتی را بر عملکرد آنان مورد بررسی قرار داد؛ نتایج نشان داد که فرآوری حرارتی گندم بر افزایش وزن و مصرف خوراک تأثیر گذار بوده است. همچنین مقایسه جیره‌های بر پایه گندم با جیره‌های بر پایه ذرت نشان داد که همواره ضریب تبدیل خوراک در جیره‌های بر پایه گندم بالاتر از ضریب تبدیل در جیره‌های بر پایه ذرت است. وو و همکاران (۳۸) نیز در آزمایشی با استفاده از جیره‌های گندم – سویا به سه شکل آردی، افزودن دانه گندم قبل و بعد از کاندیشنر مشاهده کردند که فرآوری حرارتی تاثیر قابل توجهی بر مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل داشته است.

در پژوهشی جیره‌های غذایی ذرت – سویا را در دماهای ۶۵ ، ۷۵، ۸۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه و فشار بخار ۳ بار فرآوری کردند و از سن ۱ تا ۳ هفتگی مورد استفاده قرار دادند که فرآوری خوراک در دمای $^{o}C$ ۶۵ منجر به بیشترین افزایش وزن بدن و افزایش وزن روزانه شد (۲۱).

**جدول ۲** – اثر دمای فرآوری گندم (°C) و مکمل آنزیمی بر انرژی قابل متابولیسم ظاهری، قابلیت هضم ظاهری پروتئین خام و ماده خشک گندم در جوجه‌های گوشتی

**Table 2** - Effect of wheat processing temperature and the enzyme supplementation on the apparent metabolisable energy and apparent digestibility of protein and dry matter of wheat in broiler chickens

| اثرات Effects | | انرژی قابل متابولیسم ظاهری Apparent metabolisable energy (Kcal/kg) | قابلیت هضم ظاهری پروتئین خام Apparent digestibility of crude protein (%) | قابلیت هضم ماده خشک Dry matter digestibility(%) |
|---|---|---|---|---|
| دمای فرآوری گندم[1] Wheat processing temperature[1] | | | | |
| بدون فرآوری Not processed | | 2998.7[b] | 49.8[ab] | 73.22[b] |
| 55°C | | 2974.8[b] | 45.2[b] | 74.49[b] |
| 70°C | | 2884.5[c] | 56.8[a] | 74.17[b] |
| 85°C | | 3158.1[a] | 49.0[b] | 77.33[a] |
| SEM[2] | | 24.20 | 2.49 | 0.82 |
| بدون آنزیم Without Enzyme | | 3014.6 | 49.8 | 74.61 |
| با آنزیم[3] With enzyme | | 3006.5 | 50.5 | 74.98 |
| SEM | | 17.12 | 1.76 | 0.59 |
| اثرات متقابل Interactions | | | | |
| گندم × آنزیم Enzyme× processing | | | | |
| بدون without | بدون فرآوری Not processed | 2967.4 | 52.8 | 73.08 |
| | 55°C | 2934.1 | 46.2 | 74.16 |
| | 70°C | 2916.4 | 54.3 | 74.31 |
| | 85°C | 3197.3 | 45.9 | 76.91 |
| با With | بدون فرآوری Not processed | 2957.0 | 46.7 | 73.36 |
| | 55°C | 3015.5 | 44.2 | 74.82 |
| | 70°C | 2770.4 | 59.2 | 74.03 |
| | 85°C | 3119.0 | 52.0 | 77.75 |
| SEM | | 34.23 | 3.53 | 1.01 |
| سطح احتمال P-value | | | | |
| فرآوری Processing | | <0.0001 | 0.02 | 0.02 |
| آنزیم Enzyme | | 0.63 | 0.76 | 0.68 |
| فرآوری × آنزیم Enzyme ×Processing | | 0.01 | 0.27 | 0.97 |

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

۱– گندم‌های مورد استفاده در جیره‌ها شامل چهار نمونه گندم می‌باشند که عبارتند از گندم فرآوری نشده و گندم‌های فرآوری شده در دماهای °C ۵۵، ۷۰ و ۸۵ به‌مدت ۲/۵ دقیقه در کاندیشنری به ظرفیت ۸۰۰ کیلوگرم دارای ۳۳ پدال با زاویه ۴۵ درجه.

۲ – خطای معیار میانگین‌ها

۳– آنزیم مورد استفاده در جیره‌های آزمایشی آنزیم روابیو (Rovabio) ساخت شرکت Adisseo فرانسه بوده که به میزان ۵۰۰ گرم در هر تن مورد استفاده قرار گرفت.

[abc] Means within same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

1- Wheat used in the diets consisted of four samples of wheats as: untreated wheat and wheat tolerated the temperatures of 55, 70 and 85°C for 2.5 minute in a conditioner with 800 kg capacity with 33 paddle mixer of 45degree angle.

2 - SEM=Standard error of the means

3 – The enzyme used in the experimental diets was Rovabio and used at a rate of 500 (g) per ton (Adisseo France).

**جدول ۳**– اثر دمای فرآوری گندم (°C) و مکمل آنزیمی بر شاخص‌های عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره رشد (۲۴ – ۱۱ روزگی)

**Table 3 -** Effect of wheat processing temperature (°C) and enzyme supplementation on thegrowth performance during growing period (11 – 24 d) in broiler chickens

| اثرات Effects | | وزن بدن Body weight (g/b) | افزایش وزن روزانه Daily weight gain (g/b/d) | مصرف خوراک روزانه Daily feed intake (g/b/d) | ضریب تبدیل خوراک FCR (g/g) |
|---|---|---|---|---|---|
| دمای فرآوری گندم[1] Wheat processing temperature[1] | | | | | |
| بدون فرآوری Not processed | | 553.34[b] | 39.52[b] | 68.121[b] | 1.724[b] |
| 55°C | | 586.94[a] | 41.92[a] | 74.662[a] | 1.786[a] |
| 70°C | | 606.21[a] | 43.30[a] | 73.916[a] | 1.700[b] |
| 85°C | | 595.97[a] | 42.56[a] | 73.915[a] | 1.738[ab] |
| SEM[2] | | 9.03 | 0.64 | 0.94 | 0.017 |
| بدون آنزیم Without Enzyme | | 569.191[b] | 40.65[b] | 72.07 | 1.774[a] |
| با آنزیم[3] With enzyme[3] | | 602.038[a] | 43.00[a] | 73.23 | 1.699[b] |
| SEM | | 6.39 | 0.64 | 0.66 | 0.012 |
| اثرات متقابل Interactions | | | | | |
| فرآوری × آنزیم Enzyme× Processing | | | | | |
| بدون Without | بدون فرآوری Not processed | 542.12 | 38.72 | 68.55 | 1.771 |
| | 55° C | 556.40 | 39.74 | 73.13 | 1.842 |
| | 70° C | 599.94 | 42.85 | 73.59 | 1.717 |
| | 85° C | 578.29 | 41.30 | 73.00 | 1.768 |
| با With | بدون فرآوری Not processed | 564.55 | 40.32 | 67.68 | 1.678 |
| | 55° C | 617.47 | 44.10 | 76.19 | 1.730 |
| | 70° C | 612.46 | 43.74 | 74.23 | 1.679 |
| | 85° C | 613.65 | 43.83 | 74.82 | 1.708 |
| SEM | | 12.77 | 0.91 | 1.33 | 0.024 |
| سطح احتمال P-value | | | | | |
| فرآوری Processing | | 0.0012 | 0.0012 | 0.0001 | 0.009 |
| آنزیم Enzyme | | 0.0008 | 0.0008 | 0.2225 | 0.0001 |
| فرآوری × آنزیم Enzyme ×Processing | | 0.2707 | 0.2707 | 0.5019 | 0.459 |

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

۱– گندم‌های مورد استفاده در جیره‌ها شامل چهار نمونه گندم می‌باشند که عبارتند از گندم فرآوری نشده و گندم‌های فرآوری شده در دماهای °C ۵۵، ۷۰ و ۸۵ به‌مدت ۲/۵ دقیقه در کاندیشنری به ظرفیت ۸۰۰ کیلوگرم دارای ۳۳ پدال با زاویه ۴۵ درجه.

۲ – خطای معیار میانگین‌ها

۳– آنزیم مورد استفاده در جیره‌های آزمایشی آنزیم روابیو (Rovabio) ساخت شرکت Adisseo فرانسه بوده که به میزان ۵۰۰ گرم در هر تن مورد استفاده قرار گرفت.

[ab] Means within same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

1- Wheat used in the diets consisted of four samples of wheats as: untreated wheat and wheat tolerated the temperatures of 55, 70 and 85°C for 2.5 minute in a conditioner with 800 kg capacity with 33 paddle mixer of 45degree angle.

2 - SEM=Standard error of the means

3 – The enzyme used in the experimental diets was Rovabio and used at a rate of 500 (g) per ton (Adisseo France).

افزایش وزن روزانه جوجه‌های تغذیه شـده با جیره حاوی آنزیم ۵/۴ درصد افزایش و ضریب تبدیل نیز به میزان ۵/۳۱ درصد نسبت به

جیره‌های بدون آنزیم بهبود نشـــان داد (جدول ۳؛ P<۰/۰۵). نتایج پژوهش حاضـر نشـان داد که اثرات متقابل فرآوری حرارتی گندم و مکمل آنزیمی بر وزن بدن، افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک روزانه و ضـریب تبدیل غذایی معنی‌دار نبوده اسـت (P≥۰/۰۵). یافته‌های کیاری و همکاران (۱۹) نیز نشـان داد که مکمل آنزیمی زایلاناز در جیره های بر پا یه گ ندم تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن روزا نه جوجه‌های گوشتی و ضریب تبدیل غذایی آنان داشته است به طوریکه مکمل آنزیمی، وزن روزانه جوجه‌ها را ۷/۴ درصـد افزایش و ضـریب تبدیل را ۴/۸ در صد بهبود داد. نتایج پژوهشی که توسط کویسون و همکاران (۱۱) انجام شد نشان داد که مصرف مکمل آنزیمی زایلاناز به مقدار ۲۰۰۰ واحد در کیلوگرم جیره از ســن ۱ تا ۲۱ روزگی جوجه‌های گوشتی بر مصرف خوراک تأثیری نداشته اما بر افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل آنها تأثیر گذار بوده است؛ ضریب تبدیل خوراک جوجه‌هایی که مکمل آنزیمی در جیره آنها وجود داشت کاهش یافته بود. تفاوت نتایج کوویســون و همکاران در ارتباط با مصــرف مکمل آنزیمی با عنایت به تشـابه بسـیاری از اجزاء مواد و روشـهای پژوهش با یافته‌های آزمایش حاضـر می‌تواند بدلیل تفاوت در سـن جوجه‌ها و نوع آنزیم مصـرفی در دو آزمایش باشـد. یافته‌های سـیفی (۳۳) نیز نشان داد که استفاده از آنزیم در جیره‌های حاوی گندم تأثیر معنی دار مثبت بر افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی در سن ۱۰ تا ۲۸ روزگی و ضـریب تبدیل خوراک در سـن ۱ تا ۴۷ روزگی دارد. یافته‌های قبادی و کریمی (۱۵) مبنی بر اینکه مصرف مکمل آنزیمی در دوره صفر تا ۲۰ روزگی تأثیر معنی داری بر وزن بدن، افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک دارد کاملاً با نتایج حاصل از آزمایش حاضر مطابقت داشته به گونه‌ای که مصرف مکمل آنزیمی سبب افزایش وزن بدن، افزایش وزن روزانه و افزایش خوراک مصرفی گردید.

اثر دمای فرآوری گندم و مکمل آنزیمی جیره بر وزن نســبی اندامها و اجزای لاشه جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی در جدول ۴ نشان داده شده است. فــرآوری حرارتی گندم بر درصد وزن نسبی ران‌ها و سینه جوجه‌های گوشتی در ســـــن ۲۴ روزگـــی تأثیر معنی‌داری داشته، به گونه‌ای که مطلوبترین درصد وزن ران‌ها و سینه مربوط به جوجه‌هایی بود که با جیره حاوی گندم فرآوری شــده در دمای ۷۰°C تغذیه شدند. از سوی دیگر فرآوری حرارتی گندم منجر به تأثیر معنی‌دار بر درصد وزن نسبی چربی محوط شکمی گردیده که در مقایسه با تیماری که از گندم فرآوری نشده استفاده کرده بودند (تیمار شاهد) افزایش نشان داد (P< ۰/۰۵). همچنین پژوهش حاضر نشان داد که گندم فرآوری شده تأثیر معنی‌داری بر درصد وزن نسبی لاشه قابل مصــرف، پشــت، بال و گردن، کبد، لوزالمعده، قلب، طحال و بورس فابریســیوس ندارد. یافته‌های عبدالهی (۲) نیز مشــابه نتایج آزمایش حاضر نشان داد که فرآوری حرارتی گندم در دماهای ۶۰، ۷۵ و ۹۰ درجه ســانتی گراد در مدت ۳۰ ثانیه تأثیر معنی‌داری بر درصـد وزن کبد، طحال و لوزالمعده ندارد. همچنین یافته‌های فرهادی و همکاران (۱۳) نیز نشان داد که درصد وزن نسبی سینه، ران‌ها، کبد، لوزالمعده، سنگدان و چربی محوطه شکمی تحت تأثیر افزودن آنزیم به جیره‌های بر پایه گندم قرار نگرفته اند. از سوی دیگر نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از مکمل آنزیمی تأثیر معنی‌داری بر وزن نسبی لاشه، قطعات آن و اندامهای داخلی نداشته است. اثر متقابل فرآوری حرارتی گندم و مکمل آنزیمی بر وزن نسبی لاشه، قطعات آن و اندامهای داخلی معنی‌دار نبود. قبادی و کریمی (۱۵) نشان دادند که فرآوری حرارتی جیره‌های بر پایه گندم بر درصد وزن لوزالمعده، کبد، لاشه زنده، سینه، ران‌ها و چربی محوطه شکمی اثر معنی‌داری ندارد. مکمل آنزیمی بر درصد وزن لاشه، سینه، ران‌ها، کبد، لوزالمعده و چربی محوطه شکمی نیز تأثیر معنی‌داری نداشت.

اثر دمای فرآوری گندم و مکمل آنزیمی بر درصد وزن نسبی پیش معده، وزن نســبی ســنگدان، طول روده کوچک، طول بخش‌های مختلف روده کوچک و درصد وزن نسبی آنها در جدول ۵ نشان داده شده است. فرآوری حرارتی گندم تأثیر معنی داری بر درصد وزن نسبی پیش معده، سنگدان، طول روده کوچک و طـول بخش‌های مختلف روده کوچـــک نداشته ولی بر درصد وزن نسبی ژژنوم و ایلئوم تأثیر معنی‌داری داشــت. یافته‌های قبادی و کریمی (۱۵) مشــابه نتایج آزمایش حاضر نشــان داد. فرآوری حرارتی گندم بر درصد وزن نسبی پیش معده، سـنگدان و درصـد وزن نسـبی بخش‌های مختلف روده کوچک تأثیر معنی‌داری ندارد. به طور مشابه عبدالهی (۳) نشان داد که فرآوری حرارتی جیره‌های بر پایه گندم در دماهای۶۰، ۷۵، ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه بر درصد وزن نسبی وزن پیش معده، سنگدان و روده کوچک تأثیر معنی‌داری نـــــدارد. در پژوهشی دیگر عبدالهی (۲) نشـان داد که اثر فرآوری حرارتی گندم بر درصـد وزن نسبی پیش معده معنی‌دار نشده اما بر درصد وزن نسبی سنگدان معنی‌دار گردیده است؛ به‌گونه‌ای که بیشترین وزن سنگدان مربوط به جوجه‌هایی بود که گندم آنها در دماهای ۷۵ و ۹۰ درجه سـانتی گراد فرآوری شده بودند، در حالی که فرآوری حرارتی گندم تأثیر معنی‌داری بر طول ژژنوم، ایلئوم و روده کوچک نداشت اما بر طول دئودنوم اثر معنی‌داری داشت.

**جدول ٤** – اثر دمای فرآوری گندم (°C) و مکمل آنزیمی بر وزن نسبی لاشه، اجزای لاشه[1] و اندام‌های داخلی (٪ وزن زنده ) جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی

**Table 4** - Effect of wheat processing temperature and the enzyme supplementation on relative weight of carcass[1], carcass parts and internal organs of broilers at 24 d of age

| اثرات Effects | | لاشه قابل مصرف Edible Carcass | رانها Thighs | سینه Breast | پشت و گردن Neck& Back | کبد Liver | لوزالمعده Pancreas | قلب Heart | طحال Spleen | بورس فابریسیوس Bursa of Fabricius | چربی حفره شکمی Abdominal fat |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| دمای فرآوری گندم[2] Wheat processing temperature[2] | | | | | | | | | | | |
| بدون فرآوری Not processed | | 59.51 | 18.08[a] | 21.69[b] | 19.73 | 2.81 | 0.40 | 0.56 | 0.11 | 0.16 | 0.60[b] |
| 55°C | | 59.13 | 17.21[b] | 22.00[ab] | 19.91 | 3.10 | 0.40 | 0.57 | 0.12 | 0.16 | 0.93[a] |
| 70°C | | 60.59 | 17.63[ab] | 23.45[a] | 19.50 | 3.01 | 0.38 | 0.59 | 0.11 | 0.15 | 0.91[a] |
| 85°C | | 60.19 | 18.16[a] | 22.78[ab] | 19.24 | 2.78 | 0.36 | 0.57 | 0.14 | 0.19 | 0.94[a] |
| SEM[3] | | 0.63 | 0.02 | 0.477 | 0.29 | 0.135 | 0.022 | 0.023 | 0.039 | 0.016 | 0.089 |
| بدون آنزیم Without Enzyme | | 59.42 | 17.57 | 22.37 | 19.47 | 2.92 | 0.4 | 0.57 | 0.12 | 0.17 | 0.84 |
| با آنزیم[4] With enzyme | | 60.29 | 17.97 | 22.59 | 19.72 | 2.93 | 0.3 | 0.58 | 0.11 | 0.16 | 0.85 |
| SEM | | 0.44 | 0.14 | 0.34 | 0.20 | 0.095 | 0.015 | 0.016 | 0.0087 | 0.011 | 0.06 |
| اثرات متقابل Interactions | | | | | | | | | | | |
| فرآوری × آنزیم Enzyme×processing | | | | | | | | | | | |
| بدون without | بدون فرآوری Not processed | 17.69 | 21.85 | 19.47 | 59.01 | 2.94 | 0.39 | 0.55 | 0.120 | 0.152 | 0.65 |
| | 55° C | 16.63 | 21.72 | 20.00 | 58.35 | 3.14 | 0.43 | 0.54 | 0.127 | 0.180 | 0.90 |
| | 70° C | 17.80 | 24.05 | 19.60 | 61.46 | 2.78 | 0.35 | 0.59 | 0.122 | 0.172 | 0.81 |
| | 85° C | 18.17 | 21.87 | 18.81 | 58.86 | 2.83 | 0.42 | 0.57 | 0.140 | 0.197 | 1.00 |
| با With | بدون فرآوری Not processed | 18.48 | 21.53 | 19.99 | 60.00 | 2.69 | 0.41 | 0.56 | 0.115 | 0.182 | 0.55 |
| | 55° C | 17.79 | 22.28 | 19.83 | 59.91 | 3.06 | 0.37 | 0.60 | 0.115 | 0.152 | 0.97 |
| | 70° C | 17.47 | 22.85 | 19.41 | 59.73 | 3.25 | 0,40 | 0.59 | 0.100 | 0.145 | 1.00 |
| | 85° C | 18.16 | 23.69 | 19.67 | 61.52 | 2.73 | 0.31 | 0.57 | 0.140 | 0.197 | 0.88 |
| SEM | | 0.89 | 0.29 | 0.67 | 0.41 | 0.19 | 0.03 | 0.032 | 0.017 | 0.022 | 0.13 |
| سطح احتمال P-value | | | | | | | | | | | |
| فرآوری Processing | | 0.009 | 0.064 | 0.406 | 0.365 | 0.285 | 0.470 | 0.834 | 0.507 | 0.333 | 0.030 |
| آنزیم Enzyme | | 0.058 | 0.656 | 0.385 | 0.175 | 0.942 | 0.277 | 0.557 | 0.398 | 0.608 | 0.917 |
| فرآوری × آنزیم Enzyme ×Processing | | 0.055 | 0.170 | 0.498 | 0.111 | 0.267 | 0.046 | 0.737 | 0.956 | 0.500 | 0.534 |

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

۱ – لاشه پوست کنده شده

۲– گندم‌های مورد استفاده در جیره‌ها شامل چهار نمونه گندم می‌باشند که عبارتند از گندم فرآوری نشده و گندم‌های فرآوری شده در دماهای °C ۵۵، ۷۰ و ۸۵ به‌مدت ۲/۵ دقیقه در کاندیشنری به ظرفیت ۸۰۰ کیلوگرم دارای ۳۳ پدال با زاویه ۴۵ درجه.

۳ – خطای معیار میانگین‌ها

۴– آنزیم مورد استفاده در جیره‌های آزمایشی آنزیم روابیو (Rovabio) ساخت شرکت Adisseo فرانسه بوده که به میزان ۵۰۰ گرم در هرتن مورد استفاده قرار گرفت.

[ab] Means within same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

1- Peeled

2- Wheat used in the diets consisted of four samples of wheats as: untreated wheat and wheat tolerated the temperatures of 55, 70 and 85°C for 2.5 minute in a conditioner with 800 kg capacity with 33 paddle mixer of 45degree angle.

3 - SEM=Standard error of the means

4 – The enzyme used in the experimental diets was Rovabio and used at a rate of 500 (g) per ton (Adisseo France).

نتایج آزمایش حا ضر ن شان داد که مکمل آنزیمی بر در صد وزن نسبی پیش معده، سنگدان و طول و وزن بخش‌های مختلف روده کوچک به غیر از وزن ایلئوم اثر معنی‌داری ندارد. قبادی و کریمی (۱۵) نیز نشان دادند که مکمل آنزیمی تأثیر معنی داری بر درصد وزن ن سبی پیش معده، سنگدان، طول بخش‌های مختلف روده کوچک و چربی محوطه شکمی ندارد. احتمالا علت معنی‌دار نبودن چربی محوطه شکمی در نتایج آنان و تفاوت یافته‌هایشان با نتایج آزمایش حاضر مربوط به دوره سنی جوجه‌های آنان باشد که از سن صفر تا ۲۰ روزگی مورد استفاده قرار گرفته بودند. همچنانکه مصرف مکمل آنزیمی نیز در میان صفات فوق تنها بر وزن ایلئوم اثر معنی‌داری داشت (P< ۰/۰۵). غیور و همکاران (۱۴) نشان دادند که استفاده از گندم همراه با مکمل آنزیمی در دوره پرورش صفر تا ۳ هفتگی تأثیر معنی‌داری بر وزن سنگدان، لوزالمعده، دئودنوم و ژژنوم ندارد. اثر متقابل فرآوری حرارتی گندم و مکمل آنزیمی بر درصد وزن نسبی پیش معده، سنگدان، طول روده کوچک و طول بخش‌های مختلف آن و در صد وزن ن سبی بخش‌های مختلف روده کوچک معنی‌دار نیست (P ≥ ۰/۰۵).

اثر دمای فرآوری گندم و مکمل آنزیمی جیره بر مشخصات ظاهری پرزهای ناحیه ژژنوم و جمعیت میکروبی لاکتوباسیل و آلودگی به سالمونلا در ناحیه ایلئوم روده کوچک در سن ۲۴ روزگی در جدول ۶ نشان داده شده است. اثر فرآوری حرارتی گندم در دماهای مختلف بر ارتفاع و پهنای ویلی‌ها در ناحیه ژژنوم اثر معنی داری داشته و منجر به افزایش ارتفاع ویلی‌ها و پهنای آنان در مقایسه با تیمار شاهد شد اما بر عمق کریپت و نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت در این ناحیه اثر معنی داری در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نشد. رضایی پور و همکاران (۲۹) نشان دادند که فرآوری حرارتی گندم در دمای $^{o}C$ ۱۱۰ به مدت ۱۰ دقیقه بر ارتفاع ویلی، عمق کریپت و نسبت ارتفاع به عمق کریپت تأثیر معنی‌داری ندارد. یافته‌های وو و همکاران (۳۸) نیز بی اثر بودن فرآوری حرارتی گندم بهمراه مکمل آنزیمی را بر عمق کریپت و ارتفاع ویلی‌ها تایید کرده است. در پژوهش حاضر جمعیت لاکتوباسیل‌ها در مایع هضمی ناحیه ایلئوم تحت تأثیر فرآوری حرارتی گندم قرار نگرفته و از سوی دیگر آلودگی به سالمونلا نیز در مایع هضمی فوق مشاهده نگردید (P< ۰/۰۵). مکمل آنزیمی نیز بر ارتفاع ویلی، عمق کریپت و نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت اثر معنی‌داری نداشت اما بر پهنای ویلی اثر معنی‌داری داشت (P< ۰/۰۵).

یعقوبفر و همکاران (۴۰) نیز گزارش نمودند که استفاده از گندم به همراه آنزیم بر ارتفاع و پهنای ویلی، عمق کریپت ونسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت تأثیرمعنی‌داری داشته است. برخلاف نتایج پژوهش حاضر یافته‌های آنان نشان داد که استفاده از گندم به همراه آنزیم بر جمعیت میکروبی لاکتوباسیل‌ها تأثیر معنی‌داری داشته است. این تفاوت نتایج احتمالا بدلیل اختلاف فرآوری حرارتی گندم در آزمایش ما بوده است که میزان مواد غیر نشاسته‌ای محلول در جیره حاوی گندم فرآوری حرارتی شده را کاهش و سبب عدم تغییر در جمعیت میکروبی در مقایسه با آزمایش یعقوبفر و همکاران (۳۹) گردیده است. در آزمایش حاضر اثر متقابل فرآوری حرارتی گندم و مکمل آنزیمی بر ارتفاع و پهنای ویلی‌ها، عمق کریپت و نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت و جمعیت لاکتوباسیل‌ها نیز معنی‌دار نبود.

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج آزمایش حاضر نشان داد اگرچه فرآوری حرارتی گندم در دمای $^{o}C$ ۸۵ میزان انرژی قابل متابولیسم ظاهری گندم را به میزان ۵/۳۲ در صد و قابلیت هضم ماده خشک آن را به میزان ۵/۶۱ در صد افزایش داد اما بالاترین قابلیت هضم ظاهری پروتئین خام مربوط به فرآوری حرارتی در دمای $^{o}C$ ۷۰ بود؛ این نتایج بیانگر این نکته است که فرآوری حرارتی در دامنه ۸۵ – ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲/۵ دقیقه سبب بهبود انرژی قابل متابولیسم، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام در گندم می‌شود. به علاوه فرآوری حرارتی گندم تأثیر مثبتی بر ارتفاع و پهنای ویلی‌ها در ناحیه ژژنوم داشته و منجر به افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در ۲۴-۱۱روزگی شده است.

**جدول ۵**– اثر دمای فرآوری گندم (°C) و مکمل آنزیمی جیره بر وزن نسبی اندام‌ها و بخش‌های مختلف روده کوچک (٪ وزن زنده ) و طول آنها (سانتی متر) در جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی

**Table 5** - Effect of wheat processing temperature and the enzyme supplementation on relative weights of internal organs and small intestine segments and length (cm) in broilers at 24 d of age

| اثرات Effects | | Relative weight وزن نسبی (٪ وزن زنده) | | | | | Length (cm) طول | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | پیش معده Proventriculus | سنگدان Gizzard | دئودنوم Deodenum | ژژنوم Jejnum | ایلئوم Ileum | روده کوچک Small intestine | دئودنوم Deodenum | ژژنوم Jejnum | ایلئوم Ileum |
| دمای فرآوری گندم[1] Wheat processing temperature[1] | | | | | | | | | | |
| بدون فرآوری Not processed | | 0.54 | 2.02 | 0.92 | 1.79[a] | 1.38[ab] | 167.56 | 30.06 | 68.87 | 68.62 |
| 55°C | | 0.57 | 2.21 | 0.99 | 1.74[ab] | 1.44[a] | 175.50 | 28.81 | 71.12 | 75.56 |
| 70°C | | 0.54 | 2.18 | 0.97 | 1.77[a] | 1.27[ab] | 179.37 | 34.93 | 73.87 | 70.56 |
| 85°C | | 0.57 | 2.03 | 0.90 | 1.57[b] | 1.22[b] | 172.18 | 29.00 | 69.62 | 73.56 |
| SEM[2] | | 0.034 | 0.092 | 0.043 | 0.064 | 0.60 | 6.77 | 2.59 | 2.18 | 3.84 |
| بدون آنزیم Without Enzyme | | o.58 | 2.19 | 0.98 | 1.73 | 1.40[a] | 175.90 | 31.5 | 71.12 | 73.28 |
| با آنزیم[3] With enzyme[3] | | 0.53 | 2.03 | 0.91 | 1.71 | 1.25[b] | 171.40 | 29.9 | 70.62 | 70.87 |
| SEM | | 0.024 | 0.065 | 0.031 | 0.045 | 0.043 | 4.78 | 1.83 | 1.54 | 2.72 |
| اثرات متقابل Interactions | | | | | | | | | | |
| فرآوری × آنزیم Enzyme× Processing | | | | | | | | | | |
| بدون Without | بدون فرآوری Not processed | 0.55 | 2.06 | 0.97 | 1.71 | 1.42 | 161.87 | 29.37 | 66.00 | 66.50 |
| | 55° C | 0.56 | 2.27 | 1.01 | 1.72 | 1.54 | 171.00 | 27.75 | 70.00 | 73.25 |
| | 70° C | 0.56 | 2.26 | 1.00 | 1.77 | 1.34 | 195.5 | 39.37 | 77.00 | 79.12 |
| | 85° C | 0.65 | 2.17 | 0.955 | 1.72 | 1.31 | 175.25 | 29.5 | 71.50 | 74.25 |
| با With | بدون فرآوری Not processed | 0.53 | 1.97 | 0.887 | 1.88 | 1.34 | 173.25 | 30.75 | 71.75 | 70.75 |
| | 55° C | 0.59 | 2.15 | 0.98 | 1.76 | 1.34 | 180.00 | 29.87 | 72.25 | 77.87 |
| | 70° C | 0.53 | 2.11 | 0.94 | 1.77 | 1.20 | 163.25 | 30.50 | 70.75 | 62.00 |
| | 85° C | 0.50 | 1.89 | 0.86 | 1.41 | 1.14 | 169.12 | 28.50 | 67.75 | 72.87 |
| SEM | | 0.048 | 0.13 | 0.061 | 0.091 | 0.085 | 9.57 | 3.67 | 1.54 | 5.43 |
| سطح احتمال P-value | | | | | | | | | | |
| فرآوری Processing | | 0.813 | 0.314 | 0.473 | 0.077 | 0.060 | 0.653 | 0.320 | 0.400 | 0.593 |
| آنزیم Enzyme | | 0.194 | 0.091 | 0.136 | 0.725 | 0.022 | 0.512 | 0.544 | 0.820 | 0.537 |
| فرآوری × آنزیم Enzyme ×Processing | | 0.272 | 0.895 | 0.959 | 0.094 | 0.915 | 0.114 | 0.436 | 0.221 | 0.182 |

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

۱– گندم‌های مورد استفاده در جیره‌ها شامل چهار نمونه گندم می‌باشند که عبارتند از گندم فرآوری نشده و گندم‌های فرآوری شده در دماهای °C ۵۵، ۷۰ و ۸۵ به‌مدت ۲/۵ دقیقه در کاندیشنری به ظرفیت ۸۰۰ کیلوگرم دارای ۳۳ پدال با زاویه ۴۵ درجه.

۲ – خطای معیار میانگین‌ها

۳– آنزیم مورد استفاده در جیره‌های آزمایشی آنزیم روابیو (Rovabio) ساخت شرکت Adisseo فرانسه بوده که به میزان ۵۰۰ گرم در هر تن مورد استفاده قرار گرفت.

[ab] Means within same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

1- Wheat used in the diets consisted of four samples of wheats as: untreated wheat and wheat tolerated the temperatures of 55, 70 and 85°C for 2.5 minute in a conditioner with 800 kg capacity with 33 paddle mixer of 45degree angle.

2 - SEM=Standard error of the means

3 – The enzyme used in the experimental diets was Rovabio and used at a rate of 500 (g) per ton (Adisseo France).

**جدول ٦**– اثر دمای فرآوری گندم ($^{oC}$) و مکمل آنزیمی بر بافت شناسی ژژنوم و جمعیت میکروبی لاکتوباسیل و آلودگی به سالمونلا در ناحیه ایلئوم روده کوچک جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی

**Table 6** - Effect of wheat processing temperature and the enzyme supplementation on histomorphology of the Jejnum and the microbial population of salmonella and lactobacilli in the Ileum of broilers at 24 d of age

| اثرات Effects | | ارتفاع ویلی (میکرومتر) Villi height (µm) | پهنای ویلی (میکرومتر) Villi width (µm) | عمق کریپت (میکرومتر) Crypt depth (µm) | نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت Villi Height to Crypt depth | لاکتوباسیل Lactobacillus ($Log_{10}$CFU/g) | سالمونلا Salmonella ($Log_{10}$CFU/g) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| دمای فرآوری گندم[1] Wheat processing temperature[1] | | | | | | | |
| بدون فرآوری Not processed | | 689.33$^{c}$ | 166.38$^{b}$ | 171.00 | 4.09 | 7.16 | منفی Negative |
| 55$^{oC}$ | | 728.33$^{b}$ | 186.55$^{a}$ | 175.00 | 4.21 | 6.94 | منفی Negative |
| 70$^{oC}$ | | 776.00$^{a}$ | 171.94$^{ab}$ | 173.66 | 4.48 | 7.5 | منفی Negative |
| 85$^{oC}$ | | 786.00$^{a}$ | 180.30$^{ab}$ | 175.33 | 4.49 | 7.33 | منفی Negative |
| SEM[2] | | 10.29 | 4.91 | 6.39 | 0.17 | 0.19 | |
| بدون آنزیم Without Enzyme | | 748.00 | 164.65$^{b}$ | 168.66 | 4.47 | 7.157 | منفی Negative |
| با آنزیم[3] With enzyme | | 741.83 | 187.94$^{a}$ | 178.83 | 4.17 | 7.315 | منفی Negative |
| SEM | | 7.28 | 3.48 | 4.52 | 0.122 | 0.138 | |
| اثرات متقابل Interactions | | | | | | | |
| گندم × آنزیم Enzyme× processing | | | | | | | |
| بدون without | بدون فرآوری Not processed | 680.0 | 166.94 | 159.33 | 4.357 | 7.26 | منفی Negative |
| | 55$^{oC}$ | 728.66 | 176.38 | 162.0 | 4.526 | 6.82 | منفی Negative |
| | 70$^{oC}$ | 788.66 | 150.0 | 173.3 | 4.580 | 7.38 | منفی Negative |
| | 85$^{oC}$ | 794.66 | 165.27 | 180.0 | 4.422 | 7.16 | منفی Negative |
| با With | بدون فرآوری Not processed | 698.66 | 165.83 | 182.6 | 3.825 | 7.06 | منفی Negative |
| | 55$^{oC}$ | 728.0 | 196.72 | 188.0 | 3.896 | 7.07 | منفی Negative |
| | 70$^{oC}$ | 763.3 | 193.88 | 174.0 | 4.393 | 7.61 | منفی Negative |
| | 85$^{oC}$ | 777.3 | 195.33 | 170.6 | 4.568 | 7.51 | منفی Negative |
| SEM | | 14.55 | 6.95 | 9.04 | 0.244 | 0.276 | |
| سطح احتمال P-value | | | | | | | |
| فرآوری Processing | | <0.0001 | 0.0479 | 0.9618 | 0.2883 | 0.2587 | منفی Negative |
| آنزیم Enzyme | | 0.5574 | 0.0002 | 0.1317 | 0.1012 | 0.4328 | منفی Negative |
| فرآوری × آنزیم Enzyme ×Processing | | 0.4646 | 0.337 | 0.1840 | 0.4005 | 0.7629 | منفی Negative |

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

۱– گندم‌های مورد استفاده در جیره‌ها شامل چهار نمونه گندم می‌باشند که عبارتند از گندم فرآوری نشده و گندم‌های فرآوری شده در دماهای $^{o}C$ ۵۵، ۷۰ و ۸۵ به‌مدت ۲/۵ دقیقه در کاندیشنری به ظرفیت ۸۰۰ کیلوگرم دارای ۳۳ پدال با زاویه ۴۵ درجه.

۲ – خطای معیار میانگین‌ها

۳– آنزیم مورد استفاده در جیره‌های آزمایشی آنزیم روابیو(Rovabio) ساخت شرکت Adisseo فرانسه بوده که به میزان ۵۰۰ گرم در هر تن مورد استفاده قرار گرفت.

$^{ab}$Means within same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

1- Wheat used in the diets consisted of four samples of wheats as: untreated wheat and wheat tolerated the temperatures of 55, 70 and 85$^{oC}$ for 2.5 minute in a conditioner with 800 kg capacity with 33 paddle mixer of 45degree angle.

2 - SEM=Standard error of the means

3 -The enzyme used in the experimental diets was Rovabio and used at a rate of 500 (g) per ton (Adisseo France).

## منابع


1. Abdollahi, M. 2011. Influence of feed processing on the performance, nutrient utilization and gut development of poultry and feed quality. A thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Poultry Nutrition.
2. Abdollahi, M. R. 2010. Influence of conditioning temperature on the performance, nutrient utilization and digestive tract development of broiler starters fed maize and wheat-based diets. British Poultry science, 51:648-657.
3. Abdollahi, M. R., V. Ravindran, T. J. Wester, G. Ravindran, and D. V. Thomas. 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, 168:88-99.
4. Amerah, A. M., C. Gilbert, P. H. Simmins, and V. Ravindran. 2010. Influence of feed processing on the efficacy of exogenous enzymes in broiler diets. World's Poultry Science Journal, 67:29- 46.
5. Amuzmehr, A. 2007. Effect of different levels of raw and processing rice bran on performance of broiler chicks. Master's Degree in Animal Sciences and natural Resources of Gorgan, 1 (2):85-98. (In Persian)
6. Aviagen. 2014. Nutrition Specifications Manual: Ross 308. Aviagen Ltd., Scotland, UK.
7. Bennett, C. D., H. L. Classen, and C. Riddell. 2002. Feeding broiler chickens wheat and barley diets containing whole, ground and pelleted grain. Poultry Science, 81: 995–1003.
8. Carre, B., A. Idi, S. Maisonnier, J. P. Melcion, F. X. Oury, J. Gomez, and P. Pluchard. 2002. Relationships between digestibilities of food components and characteristics of wheats (Triticum- Astivum) introduced as the only cereal source in a broiler chicken diet. British Poultry Science, 43: 404-415.
9. Choct, M. 1997. Feed non-starch polysaccharides chemical structures and nutritional significance. Feed Milling International, June Issue Pp.13-26.
10. Choct, M. 1999. Soluble non-starch polysaccharides affect net utilization of energy by chickens. Recent Advances in Animal Nutrition. University of Armdale, Nsw. 31-35.
11. Cowieson, A. J., M. Hruby, and M. F. Isaksen. 2005. The effect of conditioning temperature and exogenous xylanase addition on the viscosity of wheat-based diets and the performance of broiler chickens. British Poultry Science, 46: 717-724.
12. Ebrahimnia, S. M. 2013. Estimated metabolizable energy and digestibility of Gascogen and Azar 2 wheat with and without enzyme for broiler chickens. Master's Thesis Animal science. College of Agriculture, Kurdistan University, P: 54-57. (In Persian).
13. Farhadi, A., H. Sayyahzadeh, and A. Jafarbavari. 2008. Effect of Enzyme on diet and Corn, Wheat and Barley on yield and carcass traits of broiler chickens. Journal of Agriculture Science and Natural Resources, 16:153-167. (In Persian)
14. Ghayour Najafabadi, P., H. Khosravinia, A. Gheisari, A. Azarfar, and M. Khanahmadi. 2018. Productive performance, nutrient digestibility and intestinal morphometry in broiler chickens fed corn or wheat-based diets supplemented with bacterial or fungal-originated xylanase. Italian Journal of Animal Science, 17:165-174.
15. Ghobadi, Z., and A. Karimi. 2012. Effect of feed processing and enzyme supplementation of wheat-based diets on performance of broiler chicks. Journal of Applied Animal Research, 40: 260-266.
16. Gonza´lez-Alvarado, J. M., E. Jime´nez-Moreno, R. La´zaro, and G. G. Mateos. 2007. Effect of type of cereal, heat processing of the cereal and inclusion of fiber in the diet on productive performance and digestive traits of broilers. Poultry Science, 86:1705–1715.
17. Gutierrez-Alamo, A., P. Perez de Ayala, M. W. A. Verstegen, L. A. Den Hartog, and M. J. Villamide. 2008. Variability in wheat: factors affecting its nutritional value. World's Poultry Science Journal, 64:20-39.
18. Iji, P. A., R. J. Hughes, M. Choct, and D. R. Tivey. 2001. Intestinal structure and function of broiler chickens on wheat-based diets supplemented with a microbial enzyme. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 14: 54-60.
19. Kiarie, E., L. F. Romero, and V. Ravindran. 2014. Growth performance, nutrient utilization, and digesta characteristics in broiler chickens fed corn or wheat diets without or with supplemental xylanase. Poultry Science, 93:1186–1196.
20. Kim, J. C., B. P. Mullan, P. H. Simmins, and J. R. Pluske. 2003. Variation in the chemical composition of wheats grown in Western Australia as influenced by variety, growing region, season and post-harvest storage. Australian Journal of Agricultural Research, 54:541-550.
21. Kirkpinar, F., and H. Basmacioglu. 2006. Effects of pelleting temperature of phytase supplemented broiler feed on tibia mineralization, calcium and phosphorus content of serum and performance. Animal Science, 51:78–84.
22. Mathison, G. W. 1996. Effects of processing on the utilization of grain by Cattle. Animal Feed Sceince and Technology, 58:113-125.
23. Medel, P., M. A., Latorre, C. De Blas, R. Lazaro, and G. G. Mateos. 2004. Heat processing of cereals in mash or pellet diets for young pigs. Animal Feed Science and Technology, 113: 127-140.

24. Moslehi, H. R. 2006. Principles of parent stock breeding. Publications of higher education institution.Applied Agricultural Jahad, 1:1-6. (In Persian)
25. Pickford, J. R. 1992. Effect of processing on the stability of heat labile nutrients in animal feeds. Intern ational Information System for the Agriculyure Science and Technology, 177-192.
26. Pirgozliev, V. R., C. L., Birch, S. P., Rose, P. S., Kettlewell, and M. R. Bedford. 2003. Chemical composition and the nutritive quality of different wheat cultivars for broiler chickens. British Poultry Science, 44:464–475.
27. Pirgozliev, V. R., P. Rose, P. Kettlewell, and M. Bedford. 2000. Relationship between chemical composition of wheat and broiler chicken growth performance. British Poultry Science, 41:697-698.
28. Ravindran, V., Z. V. Tilman, P. C. H. Morel, G. Ravindran, and G. D. Coles. 2007. Influence of β-glucanase supplementation on the metabolisable energy and ileal nutrient digestibility of normal starch and waxy barleys for broiler chickens. Animal Feed Science and Technology, 134:45-55.
29. Rezaeipour, V., M. Hasanpour, M. Janitabar, and R. Abdullahpour. 2017. Effects of two native Iranian wheat cultivars, processing method, and enzyme supplementation on performance, carcass, intestinal morphology and microbiota activity in broiler chickens. Journal of Applied Animal Research, 45:517-523.
30. SAS Institute Inc. 2004. User's guide, version 9.1. Cary, NC: SAS Institute Inc
31. Scott, T. A. 2002. Impact of wet feeding wheat based diets with or without enzyme on broiler chick Performance. Canadian Journal Animal Science, 82: 409-417.
32. Seena, S., K. R., Sridhar, A. B., Arunb, and C. C. Young. 2006. Effect of roasting and pressure-cooking on nutritional and protein quality of seeds of mangrove legume Canavalia Cathartica from southwest coast of India. Journal of Food Comparative Analysis, 19:284-293.
33. Seifi, S. 2013. An investigation of the effects of using an enzyme-probiotic combination on broilers performance. Iranian Journal of veterinary Medicine, 7:299-304.
34. Silversides, F.G., and M. R. Bedford. 1999. Effect of pelleting temperature on the recovery and efficacy of a xylanase enzyme in wheat-based diets. Poultry Science, 78:1184 –1190.
35. Svihus, B., A. K., Uhlen, and O. M., Harstad. 2005. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch. Animal Feed Science Technology, 122 (3-4):303-320.
36. Tiemouri, H., H. Zarghi, and A. Golian. 2017. Effect of enzyme supplementation on metabolic energy, digestibility of dry matter and crude protein in barley in broiler chickens. Iranian Journal of Animal Science Research, 10:513-523. (In Persian).
37. Wiseman, J. 2000. Correlation between physical measurements and dietary energy values of wheat for poultry and pigs. Animal Feed Science Technology, 84:1-11.
38. Wu, Y. B., V. Ravindran, D. G. Thomas, M. J. Birtles, and W. H. Hendriks. 2004. Influence of method of whole wheat inclusion and Xylanase supplementation on the performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology of broilers. British Poultry Science, 45: 385–394.
39. Yaghobfar, A., S. D., Sharifi, and G., Golestani. 2014. Effects Natozym enzyme plus on metabolizable energy and protein digestibility of diets containing wheat and rapseed meal in broiler chickens. Animal production research, 5 (10). (In Persian).
40. Yaghobfar, A. N. Ila, M. Deghan, and A. Kucheki. 2014. The effect of cell wall cell carbohydrates in wheat and bran in diets with and without Enzyme activity on serum and intestinal enzymes, volatile fatty acids, morphology and bacterial population of broiler chickens. Animal Science Journal, 107:253-268.
41. Yaghobfar, A. 2013. Carbohydrates in feeding poultry. No. 978-964-04-7983-4, parts11-12 (In Persian).
42. Zarghi, H., A. Golian, H. Kermanshahi, and H. Aghel. 2011. Effect of enzyme supplementation on metabolic energy of corn, wheat and triticale grains in broiler chickens using total excreta collection or marker methods. Iranian Journal of Animal Science Research, 2:105-112. (In Persian).
43. Zarghi, H., A. Golian, and H. Kermanshahi. 2016. The effect of triticale and enzyme cocktail (Xylanase & β-Glucanase) replacement in grower diet on performance, digestive organ relative weight, gut viscosity and gut morphology of broiler chickens. Iranian Journal of Animal Science Research, 8:298-312. (In Persian).
44. Zohari, M. 1996. New phenomena in poultry nutrition. Alishah Publishers, p: 7-8.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 275-290

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۹۰-۲۷۵

# Determination of Metabolisable Energy of Wheat Processed at Different Temperatures and Effect of their Inclusion in Mash Diets with and without Enzyme Supplementation on Small Intestine Morphology and Growth Performance of Broiler Chickens During 11-24 days

**Mohammad Reza Salavati[1], Abolghasem Golian[*2] and Ahmad Hassanabadi[2]**
Submitted: 22-06-2019
Accepted: 06-10-2019

**Introduction** Wheat is an important cereal due to high starch, available energy and protein contents and is used in poultry diets. Thermal processing is one of the common ways to increase the digestibility of feed, nutritional value of protein through denaturing the anti-nutritional compounds.

**Materials and Methods** This project was conducted in two experiments at the Poultry Research Center of Ferdowsi University of Mashhad.

First experiment: This trial was designed to determine the apparent metabolizable energy and the digestibility of crude protein and dry matter in four heat treated wheat with and without enzyme supplementation. One hundred twenty mixed sex day-old broiler chicks were fed standard starter (0-10d) and grower (11-15d) diets, 96 of them were divided into 48 groups of two each and randomly assigned to 48 metabolic cages on day 15. Eight diets in which the sole source of energy and protein was wheat, were prepared and each was randomly fed to six replicates of two chicks each from 15-21d. At 18th day of age, 12 hours of starvation were imposed on all chicks; then trays were placed under each cage and feeds were supplied to all cages for 72 hours when the 2nd 12 hours of starvation was imposed and the collection of excreta continued until the end of the second starvation period. The amount of feed consumed by chicks in each cage in three days was determined by the differences of feed supplied and remained. Excreta collected from each cage was placed in a room air flow for 48 hours and then placed in an oven at 60°C for 72 hours to dry completely.

Second experiment: in this trial, 576 birds (11d) were divided into two groups, (male and female) from which six males and six females were randomly assigned to one of the 48 pens. To prepare 8 experimental diets, only one grower diet (11-24days) containing 70.11% wheat was formulated based on Ross 308 nutrients recommendation and an untreated and three heat treated wheat with and without enzyme supplementation (Rovabio) were replaced to prepare the 8 diets. The experiment was conducted in a completely randomized design with factorial (2×4) arrangement with 6 replicates of 12 birds each. Diets were randomly assigned to 48 pens in a way that each diet fed 6 replicate birds. On the final day of the trial (24d), one male bird from each replicate group was weighed and slaughtered. The carcass, breast, thighs, back, wings and neck, as well as the weight of internal organs including the heart, spleen, proventriculus, gizzard, liver, pancreas, bursa fabrisius, abdominal fat, duodenum, jejunum and ileum were measured. Duodenum, jejunum and ileum length were also measured. To evaluate the effect of different untreated and heat treated wheat at different temperatures with and without enzyme supplementation on the microbial condition of the digestive contents of the ileum digesta on 24d, about 3 grams of the contents of the ileum region from each slaughtered chicken transferred to the sterile tube containing 9 ml of buffer phosphate and placed in an ice flask and transferred to laboratory.

**Results and Discussion** Thermal treatment significantly improved the apparent metabolizable energy, digestibility of crude protein and dry matter of wheat, so that the highest apparent metabolizable energy and dry matter of wheat was obtained when wheat was processed at 85°C. Whereas the highest digestibility of crude protein in wheat was obtained at 70°C thermal processing. The effect of enzyme on apparent metabolizable energy, apparent digestibility of crude protein and dry matter of wheat was not significant. The results of this study showed that thermal processing of wheat has a significant effect on feed consumption, daily gain, body weight gain and feed conversion ratio. Whereas the feed conversion ratio in chicks fed with diet containing wheat processed at 70°C was similar to those fed other

1- Ph.D. student of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
(*Corresponding author Email: golian-a@um.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.81464

diets contained heat treated wheat and was significantly better than those fed control diet. Dietary enzyme supplementation had a significant effect on body weight, daily gain and conversion coefficient, so that the daily gain of chicks fed diet containing enzyme was increased by 4.5% and the conversion factor was improved by 4.2% compared to those fednon-enzyme diet. Thermal treatment of wheat significantly affect relative percentage of thigh weight and relative weight of broiler chickens at 24 day age, so that the highest relative percentage weight of thigh and breast was in chicks fed diet contained wheat processed at a temperature of 70°C. On the other hand, thermal treatment of wheat significantly affect the relative percentage of abdominal fat, which increased compared to untreated wheat. Also, the present study showed that processed wheat did not have a significant effect on the percentage of carcass weight, back, wings and neck, liver, pancreas, heart, spleen and bursa. Also, the interaction effect of thermal processing of wheat and enzyme supplementation on the relative weight of carcass, its parts and internal organs was not significant. The supplementation of enzyme had only a significant effect on ileum weight. Thermal processing of wheat at different temperatures had a significant effect on the height and width of villi in jejunum, but did not have a significant effect on the depth of the crypt and villi height to crypt depth. The lactobacillus population in the ileum region has not been affected by the heat treatment of wheat and a negative response to Salmonella infection was observed in all chickens. On the other hand, the use of enzyme supplementation did not have a significant effect on villi height and depth of crypt and villi height to crypt depth. The interaction effect of heat treated wheat and enzyme supplementation was not significant for neither of the measurements.

**Conclusion** The results of this experiment showed that although thermal processing of wheat at 85°C increased the apparent metabolizable energy by 5.32% and dry matter digestibility by 5.61%. In addition, the inclusion of heat treated wheat in diet led to an increase in height and width of jejunal villi and improvement of feed intake weight gain and feed conversation ratio in broiler chickens.

**Key words:** Broiler chicken, Enzyme, Heat processing, Performance

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۳۰۲-۲۹۱

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 291-302

مقاله علمی- پژوهشی

# اثر نانو ذرات نقره و پری‌بیوتیک بر عملکرد رشد، جمعیت میکروبی روده کور و برخی از شاخص‌های خونی در جوجه‌های گوشتی

رضا وکیلی[۱]، قاسم رمضانی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۰۴

## چکیده

هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر سطوح مختلف نانو ذرات نقره و پری‌بیوتیک بر عملکرد رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی خون، جمعیت میکروبی روده کور و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل ۳×۳ با ۹ تیمار و ۴ تکرار و ۱۲ مشاهده در هر تکرار و در مجموع با ۴۳۲ قطعه جوجه گوشتی انجام شد. عوامل مورد بررسی شامل سه سطح نانوذرات نقره (۴۰۰،۸۰۰ و۰ میلی لیتر در مترمکعب آب آشامیدنی) و سه سطح پری‌بیوتیک (۰/۵ و ۰/۲۵ ،۰درصد در جیره غذایی) از ۱ تا ۴۲ روزگی بود. جیره‌های آزمایشی برا ساس احتیاجات غذایی سویه راس ۳۰۸ تنظیم گردید. بیشترین افزایش وزن و کمترین ضریب تبدیل در تیمارهای حاوی نانوذرات نقره (۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌لیتر) بدون و با ۰/۵درصد پری‌بیوتیک مشاهده شد. ۰/۵ درصد پری بیوتیک در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی و ۸۰۰ میلی لیتر سبب کاهش تعداد باکتری‌های کلی با سیل، سالمونلا و افزایش باکتری‌های لاکتوبا سیل در روده کور جوجه‌های گوشتی شد. پری‌بیوتیک سبب افزایش HDL و کاهش معنی‌دار پروتئین تام سرم خون بین سطح صفر و ۰/۵ درصد شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از سطح ۰/۵ درصد پری بیوتیک در جیره غذایی سبب افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل جوجه‌های گوشتی شد. همچنین استفاده از ۸۰۰ میلی لیتر نانوذرات نقره درآب آشامیدنی سبب کاهش تعداد باکتری‌های کلی باسیل و سالمونلا در روده کور جوجه‌های گوشتی شد.

**کلمات کلیدی:** باکتری‌های روده کور، پری‌بیوتیک، جوجه گوشتی، شاخص‌های بیوشیمیایی خون، نانو نقره.

## مقدمه

صنعت طیور کشور به علت واردات ذرت بعضاً با تنگناهایی مواجه می‌شود، لذا نیاز به منابع غذایی جایگزین در جیره‌های طیور به ویژه جوجه‌های گوشتی کاملاً احساس می‌گردد. گندم از جمله غلاتی است که به مقدار زیادی در کشور تولید و در دسترس بوده و در اغلب موارد در مقایسه با ذرت دارای قیمت کمتری می‌باشد و می‌تواند به عنوان جایگزین ذرت در جیره طیور مورد استفاده قرار گیرد. در سطح جهانی گندم بعد از ذرت دومین جایگاه را در بین دانه‌های خوراکی جهت تغذیه طیور به خود اختصاص داده است (۳۶). گندم حاوی برخی از عوامل ضدتغذیه‌ای شناخته شده‌ای مانند پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای (گزیلان‌ها و بتاگلوکان‌ها) می‌باشد و در زمانی که سطوح بالایی از آن در جیره استفاده شود، می‌تواند منشا اثرات ضدتغذیه‌ای با شد (۳۴). بنابراین استفاده از سطوح کمتر آن در جیره می‌تواند هزینه تمام شده را کاهش دهد.

امروزه استفاده از افزودنی‌ها جهت تولید مطلوب، بهبود پاسخ سیستم ایمنی و افزایش بهره وری خوراک، بسیار متداول می‌با شد. پری‌بیوتیک‌ها و نانوذرات نقره، هردو از افزودنی‌هایی هستند که با ایجاد تغییر در فلور میکروبی دستگاه گوارش و کاهش باکتری‌های بیماری‌زا در دیواره روده طیور، تولید ترکیبات سمی توسط آن‌ها را کاهش داده و موجب تغییر در ریخت شناسی دیواره روده و بهبود گوارش و جذب و در نهایت افزایش عملکرد می‌شوند (۷ و۳۱).

نقره فلزی است که از گذشته‌های دور خواص ضدمیکروبی آن

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، واحد کاشمر، دانشگاه آزاد اسلامی، کاشمر، ایران
۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد تغذیه طیور، گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کاشمر، کاشمر، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: rezavakili2010@yahoo.com
DOI:10.22067/ijasr.2021.38272.0

شناخته شده است. با کاهش اندازه ذرات این فلز به مقیاس نانو خواص آن به شدت افزایش می‌یابد.

نانوذرات نقره یون‌ها $Ag^{+}$ ساطع می‌کنند که با پیوندهای $HS^{-}$[1] (الکترواستاتیک) دیواره میکروارگانیسم‌ها وارد واکنش شده و تولید AgS کرده و از این طریق می‌توانند در فعالیت آنزیم‌های تنفسی و سیستم انتقال الکترون اختلال ایجاد نمایند. به علاوه می‌توانند با اتصال به سطح باکتری‌ها و ایجاد تغییر در ساختمان غشاء موجب مرگ باکتری‌ها شوند (۲۹ و۳۳). نانو ذرات نقره در محیط آزمایشگاهی اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی دارند و می‌توانند از طریق سازوکارهای یونی و کاتالیستی گونه‌های مختلف میکروبی را از بین ببرند (۱۴). با این وجود، پیوند نانو ذرات نقره با اجزای جیره منجر به القاء یا ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژنی و التهاب در دستگاه گوارش و در نتیجه سبب اختلال در هضم و جذب مواد مغذی در دستگاه گوارش پرنده می‌شود (۱۷و۴۰) و لذا استفاده از نانوذرات نقره به مطالعات بیشتری نیاز دارد. پری‌بیوتیک‌ها، افزودنی‌های غیر قابل گوارشی هستند که با تحریک رشد و یا فعالیت یک یا چند باکتری محدود در روده، اثری سودمند در میزبان ایجاد کرده و بدین طریق سلامتی حیوان میزبان را بهبود می‌بخشند (۱۰و ۱۵). جمعیت میکروبی دستگاه گوارش طیور نقش مهمی در پیشگیری از استقرار عوامل بیماری‌زا و عمدتاً عوامل بیماری‌زای روده‌ای دارد. چینه‌دان، که نخستین محل استقرار پس از بلع میکروارگانیسم‌ها ست و روده کور محل اصلی استقرار برای تعدادی از عوامل بیماری‌زا شامل سالمونلا و کمپیلوباکترها است (۱۰). تغییر جمعیت میکروبی مجرای روده ممکن است گوارش و یا قابلیت دسترسی مواد مغذی مانند کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها را بهبود داده و از این طریق بر صفات بیوشیمیایی خون تاثیرگذارند (۱۰و۳۲). تحقیقات نشان داد که پری‌بیوتیک‌ها سبب ایجاد تغییراتی در شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون و پاسخ سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌شوند (۹). افزودن ترکیبات پری‌بیوتیکی به خصوص فروکتان‌ها به جیره جوجه‌های گوشتی، منجر به بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک و وزن لاشه می‌شود که دلیل این امر به خاطر افزایش طول و تراکم پرزهای روده می‌باشد (۳). باتوجه به این بررسی‌ها جمعیت میکروبی دستگاه گوارش طیور نقش مهمی در پیشگیری از استقرار عوامل بیماری‌زا دارد و تغییر جمعیت میکروبی مجرای روده ممکن است هضم و یا قابلیت دسترسی مواد مغذی مانند کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پاسخ سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی را بهبود دهد و از آنجایی که پری‌بیوتیک‌ها و نانوذرات نقره، هردو از افزودنی‌هایی هستند که با ایجاد تغییر در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و کاهش باکتری‌های بیماری‌زا موجب بهبود گوارش، جذب و افزایش عملکرد و بهبود سلامتی می شوند در نهایت به دلیل اینکه اثر استفاده توام این دو افزودن در جوجه‌های گوشتی کمتر بررسی شده است علاوه براین اثر نانو ذرات نقره به مراتب از نقره بیشتر است، در سال‌های اخیر علاقه بسیاری به افزایش جذب مواد معدنی از راه مصرف الیگو ساکاریدها به وجود آمده است. گزارش شده که الیگوساکاریدها از راه کاهش pH، جذب روده‌ای مواد معدنی را افزایش می‌دهند (۲۸،۲۶،۲۵،۲۴) پری‌بیوتیکی‌ها همانند الیگوساکارید مانان که از دیواره سلولی مخمر به دست می‌آید، می‌تواند از راه افزایش ارتفاع، یکنواختی و یکپارچگی پرزهای روده، جذب مواد مغذی و عملکرد رشد. جوجه‌های گوشتی را بهبود دهد (۳۸،۵). استفاده همزمان از ذرت نقره و پری‌بیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی انتظار میرود که با جذب بیشتر مکمل نقره و سایر مواد مغذی، عملکرد رشد پرنده بهبود یابد.، این آزمایش به منظور بررسی اثر سطوح مختلف نانو ذرات نقره و پری‌بیوتیک بر عملکرد رشد ، شاخص‌های بیو شیمیایی خونی، جمعیت میکروبی روده و سامانه ایمنی جوجه‌های گوشتی انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

در این آزمایش تعداد ۴۳۲ قطعه جوجه خروس یک‌روزه گوشتی سویه تجاری راس ۳۰۸ در قالب یک آزمایش به روش فاکتوریل ۳×۳ با پایه طرح کاملاً تصادفی با ۹ تیمار و ۴ تکرار و ۱۲ مشاهده در هر تکرار استفاده شد. جیره‌ها برای دوره‌های آغازین (۱-۱۰ روزگی) رشد (۱۱-۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) و براساس جداول راهنمای پرورش سویه تجاری راس و با استفاده از نرم افزار جیره‌نویسی UFFDA بر پایه ذرت و کنجاله سویا تنظیم گردید (جدول ۱).

نانوذرات نقره ساخت از شرکت نانوثانی (Nanosany) ایران، با اندازه ۲۰ نانومتر و درجه خلوص ۹۹/۹۹ در صد تهیه گردید. از محلول نانو نقره به عنوان منبع نانوذرات در آب آشامیدنی استفاده شد. پری‌بیوتیک مورد استفاده، آمکس( A-MAX ) ساخت شرکت ARM & HAMMER,™ کانادا بود. این پری بیوتیک حاصل از ساکارومایسس سرویزیه رشد یافته در محیط کشت حاوی سوکروز، ملاس نیشکر و عصاره ذرت است. (این فرآورده حاوی موادی مانند ویتامین‌های گروه ب، آنزیم‌ها، انواع اسیدهای آمینه، مواد معدنی و عوامل رشد است . میکروارگانیسم‌های مفید روده به طور انتخابی اجزای پری بیوتیک را برای متابولیسم خود تخمیر می‌کنند. این میکروارگانیسم‌ها با ترشح متابولیت‌های محدود کننده‌ای هم چون اسیدهای ارگانیک، لاکتات و باکتریوسین‌ها نقش مهمی در جلوگیری از افزایش جمعیت میکروب های بیماری زای روده‌ای مانند ای-

1- Hydrogen sulfide

کولای، کلستریدیوم و سالمونلا و جلوگیری از اتصال آنها به دیواره روده ایفا می‌نمایند).

**جدول ۱** – مواد خوراکی و ترکیبات مواد مغذی جیره پایه

**Table 1**- Ingredients and main nutrients composition of basal diets

| مواد خوراکی (٪)<br>Ingredients (%) | سن (روز)<br>Age (day) | | |
|---|---|---|---|
| | 1-10 Day | 11-24 Day | 24-42 Day |
| ذرت<br>Corn | 47.72 | 51.37 | 48.64 |
| کنجاله سویا (۴۴٪)<br>Soybean Meal (CP 44%) | 32.5 | 27.73 | 24.98 |
| گندم<br>Wheat | 15.00 | 15.00 | 20.00 |
| روغن سویا<br>Soybean Oil | 0.00 | 1.63 | 2.31 |
| دی کلسیم فسفات<br>DCP | 1.80 | 1.62 | 1.52 |
| پودرصدف<br>Oyster powder | 1.44 | 1.34 | 1.28 |
| مکمل ویتامینی[۱]<br>Vitamin supplements[1] | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| مکمل معدنی[۱]<br>Mineral supplements[1] | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| نمک یددار<br>Iodized salt | 0.40 | 0.40 | 0.40 |
| دی ال- متیونین<br>DL-methionine | 0.48 | 0.31 | 0.27 |
| ال-لیزین هیدرو کلراید<br>L-lysine hydrochloride | 0.16 | 0.10 | 0.10 |
| ترکیبات جیره محاسبه شده<br>Calculated composition | | | |
| انرژی متابولیسمی (کیلوکالری/ کیلوگرم)<br>$AME_n$ (kcal / kg) | 2950 | 3004 | 3080 |
| پروتئین خام (٪)<br>Crude protein (%) | 22.00 | 20.00 | 19.00 |
| کلسیم(٪)<br>Ca (%) | 1.05 | 0.84 | 0.79 |
| فسفر قابل دسترس (٪)<br>(%) Available phosphorus | 0.50 | 0.48 | 0.42 |
| لیزین(٪)<br>Lysine (%) | 1.15 | 1.10 | 1.00 |
| متیونین+سیستین (٪)<br>Methionine + Cystine (%) | 0.9 | 0.82 | 0.77 |

[۱]هر کیلوگرم از مکمل ویتامینی معدنی حاوی مواد ذیل بود: ۴۴۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۸۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامینD 3، ۳۰۰۰ میلی گرمE ، ۹۶۰میلی گرم ویتامینB2 ، ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین K3 ، ۶۱۲۰ میلی گرم تیامین، ۱۲۱۶۰ میلی گرم نیاسین، ۸۸۰۰ کلسیم پنتوتنات ،۶۴۰ میلی گرم سیانو کوبالامین، ۶۱۲ میلی گرم پریدوکسین، ۲ گرم بیوتین، ۴۴۰ گرم کولین کلراید، ۴۰ گرم آنتی اکسیدان، ۵۲.۶۴ گرم منگنز، ۱۰۰ گرم آهن، ۳۳/۸ گرم روی، ۸ گرم مس، ۰/۶۴ گرم ید، ۸ میلی گرم سلنیم.

[1]Vitamin and mineral premix provided the followings per kg of diet:440000 international units of vitamin A, 80000 international units of vitamin 3D, 3000 mg B2, 960 mg of vitamin E, 2000 mg vitamin K3, 6120 mg thiamine, 12160 ml g niacin, calcium Pantotenat 8800, 640 mg Cyanocobalamin, 612 mg Pyridoxine, 2 g biotin, 440 g Choline chloride, 40 g of antioxidant, 64.52 g of Mg, 100 g of Fe, 8/33 g zinc, 8 g Cu, 0.64 g I, 8 mg selenium

سطوح توصیه شده شرکت‌های سازنده، به همراه یک سطح بالاتر و پایین تر در نظر گرفته شد.بدین صورت که تیمارهای آزمایشی شامل سطوح نانو نقره صفر، ۴۰۰و۸۰۰ میلی لیتر در هر مترمکعب آب آشامیدنی و سطوح صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ گرم درتن خوراک پری بیوتیک از ۱ تا ۴۲ روزگی به صورت سرک به جیره اضافه گردید. در این آزمایش میانگین افزایش وزن بدن، خوراک مصرفی، ضریب تبدیل غذایی ۱ تا ۴۲ روزگی در هر یک از تیمارها به طور جداگانه اندازه‌گیری و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. از هر تکرار دو نمونه در پایان آزمایش تهیه وآنالیز نمونه‌های سرم خون توسط دستگاه اتوآنالایزر (A15Biosystems,Spain) با استفاده از کیت های اختصاصی (پارس آزمون) برای هر کدام از شاخص های خونی (تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL-کلسترول، LDL- کلسترول، گلوکز، پروتئین تام سرم) در پایان دوره انجام شد. هم‌چنین به منظور اندازه‌گیری عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل، گامبورو، آنفولانزا پس از واکسیناسیون در روزهای ۱۰، ۲۴ و ۴۲ آزمایش، دو نمونه از هر واحدآزمایشی خون‌گیری به عمل آمد. نمونه خونی به آهستگی درون لوله های استریل درب‌دار ریخته شد و در مخزن حاوی یخ به آزمایشگاه انتقال یافت. در آزمایشگاه با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور در دقیق به مدت ۱۰ دقیقه سرم خون جدا شده و سپس عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل به روش HI (Hemagglutination inhibition) و عیار پادتن علیه واکسن گامبورو به روش الایزا ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent assay) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و عیار پادتن علیه واکسن آنفولانزا عفونی نیز به روش الایزا (ELISA) انجام گردید (۱۹). در پایان آزمایش پس از کشتار به روش قطع گردن و تجزیه لاشه، محتویات روده کور ( دو نمونه از هر واحدآزمایشی با وزن نزدیک میانگین واحد آزمایشی) توسط یک عدد سرنگ (۳ میلی لیتر) استخراج شد و به طور جداگانه جمع آوری شده ، خنک شده و برای تجزیه و تحلیل میکروبی استفاده شد.

کلی باسیل‌ها (E.coli) ، باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) و سالمونلا به عنوان شاخص‌های جمعیت میکروبی اندازه گیری شدند. جمعیت E.coli و LAB با استفاده از روش رقت‌های مختلف به صورت CFU g-1 تخمین زده شد ،کلی باسیل ها درمحیط MacConkey آگار (مرک ،آلمان) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد. LAB پس از انکوباسیون تحت شرایط بی هوازی به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد ، در MRS (DeMan-Rogosa-Sharpemedia) آگار (مرک ، آلمان) کشت داده شد. سالمونلا در محیط مشخص شده BGA (Brilliant Green Agar) (مرک ، آلمان) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد.شمارش پرگنه‌های تشکیل شده با استفاده از دستگاه پرگنه شمار انجام گردید (۲۰). آنالیز نهایی داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

$$Yijk = \mu + A_i + B_i + (AB)_{ij} + L_{ijk}$$

$\mu$ = میانگین جامعه $L_{ijk}$ = اثر خطای آزمایش $A_i$ =اثر سطوح پری‌بیوتیک $B_i$ =اثر سطوح نانوذرات نقره

$(AB)_{ij}$ = اثر متقابل پری‌بیوتیک و نانو ذرات نقره

## نتایج و بحث

### عملکرد رشد

نتایج عملکرد رشد در جدول ۲حاکی از اینست که اثر متقابل پری‌بیوتیک و نانوذرات نقره بر افزایش وزن و ضریب تبدیل در کل دوره آزمایش معنی‌دار است (P<۰/۰۵). بیشترین افزایش وزن و کمترین ضریب تبدیل در تیمارهای حاوی نانوذرات نقره (۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌لیتر) بدون و با ۰/۵درصد پری‌بیوتیک مشاهده شد. با درنظر گرفتن نتایج اثر پری‌بیوتیک و نانوذرات نقره بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش (جدول ۴)، به نظر می‌رسد که نانوذرات نقره و پری‌بیوتیک با کاهش باکتری‌های مضر (کلی باسیلوزهاو سالمونلا) و جایگزینی باکترهای مفید (لاکتوباسیل‌ها)، سبب بهبود گوارش و جذب مواد مغذی در روده و در نهایت بهبود شاخص‌های رشد جوجه‌ها شده اند. سطح پری‌بیوتیک برمصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل کل دوره در گروه‌های آزمایشی اثر داشت (P<۰/۰۵). این نتایج نشان داد که سطح ۰/۵ در صد پری‌بیوتیک دارای بیشترین میزان مصرف خوراک، افزایش وزن و سطح فاقد پری‌بیوتیک دارای کم‌ترین میزان مصرف خوراک و افزایش وزن بود. در آزمایش‌های دیگر نیز مکمل پری‌بیوتیک تأثیر مشابهی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی مورد مطالعه داشت (۱۵و ۲۵).

همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، افزایش پری‌بیوتیک سبب کاهش ضریب تبدیل گروه‌های حاوی پری‌بیوتیک نسبت به سطح فاقد پری‌بیوتیک شد (P<۰/۰۵). با افزایش پری‌بیوتیک از سطح ۰/۲۵ درصد به ۰/۵ درصد ضریب تبدیل خوراک کاهش پیدا کرد. محققین گزارش کرده‌اند که پری‌بیوتیک سبب تحریک فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید هم چون لاکتوباسیل‌ها در روده و کاهش pH دستگاه گوارش می شود که این امر سبب کاهش رشد باکتری‌های بیماری‌زا و در نتیجه بهبود عملکرد رشد جوجه‌ها می‌گردد (۱۱و ۱۲). از طرف دیگر دیواره روده در برابر باکتری های مضر گلیکوپروتئینی ترشح می‌کند که دیواره روده را احاطه نموده و در نتیجه جذب مواد مغذی تا حدودی کم می‌شود (۸). اگر pH دستگاه گوارش تا حدی کاهش یابد که جمعیت باکتری‌های مضر کم شود، این گلیکوپروتئین ترشح نشده و جذب مواد مغذی بیشتر می شود؛ در نتیجه رشد جوجه‌ها بهتر و مناسب‌تر می‌شود (۱۲). در آزمایش دیگری

نیز ا ستفاده از سطوح ۰/۲۵ و ۰/۵ در صد پری‌بیوتیک در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی راس ۳۰۸ باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک نسبت به تیمار شاهد شد (۲۷).

**جدول ۲** – تأثیر سطوح مختلف پری‌بیوتیک و نانوذرات نقره بر شاخص‌های عملکرد رشد جوجه گوشتی از ۱ تا ۴۲ روزگی[۱]

**Table 2**- The Effect of different levels prebiotic and silver nano particles on growth indices of broiler from 1-42 day of age[1]

| پری‌بیوتیک (٪) Prebiotic (%) | نانوذرات نقره (میلی لیتر در متر مکعب آب آشامیدنی) Silver nano particles (ml/m$^3$ drinking water) | خوراک مصرفی(گرم) Feed intake (g) | افزایش وزن(گرم) Weight gain (g) | ضریب تبدیل Feed conversion ratio |
|---|---|---|---|---|
| 0.00 | 0 | 3322 | 1752.2$^{b}$ | 1.90$^{b}$ |
| 0.25 | 0 | 3308 | 1854.9$^{a}$ | 1.78$^{a}$ |
| 0.50 | 0 | 3201 | 1890.1$^{a}$ | 1.70$^{a}$ |
| 0.00 | 400 | 3319 | 1870.7$^{a}$ | 1.77$^{a}$ |
| 0.25 | 400 | 3476 | 1862.6$^{ab}$ | 1.87$^{b}$ |
| 0.50 | 400 | 3567 | 1935.2$^{a}$ | 1.84$^{ab}$ |
| 0.00 | 800 | 3311 | 1869.7$^{ab}$ | 1.77$^{a}$ |
| 0.25 | 800 | 3462 | 1934.9$^{a}$ | 1.79$^{a}$ |
| 0.50 | 800 | 3559 | 1936.2$^{a}$ | 1.84$^{ab}$ |
| SEM[2] | | 916.19 | 314.2 | 0.05 |
| پری‌بیوتیک(٪) Prebiotic (%) | | | | |
| 0 | | 3317.3$^{b}$ | 1830.8$^{b}$ | 1.81$^{b}$ |
| 0.25 | | 3415.3$^{a}$ | 1880.5$^{a}$ | 1.82$^{ab}$ |
| 0.5 | | 3442.3$^{a}$ | 1920.5$^{a}$ | 1.79$^{a}$ |
| SEM | | 236.69 | 270.65 | 0.03 |
| نانوذرات نقره (میلی لیتر) (ml) Nano silver | | | | |
| 0 | | 3277 | 1832.4 | 1.79 |
| 400 | | 3454 | 1889.5 | 1.83 |
| 800 | | 3444 | 1913.6 | 1.80 |
| SEM | | 217.92 | 375.43 | 0.05 |

[۱] میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p<۰/۰۵$).

[۲] SEM= خطای استاندارد میانگین‌ها

[1] The means in each column with non-common letters have a significant difference ($P<0.05$).

[2]SEM standard error of means

## شاخص‌های بیوشیمیایی خون

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان شاخص بیوشیمیایی سرم خون در پایان آزمایش در جدول ۳ نشان داد فقط اثر سطح پری‌بیوتیک بر HDL، LDL و پروتئین تام سرم خون اختلاف آماری معنی‌داری است ($P<۰/۰۵$).

در این آزمایش ا ستفاده از سطح ۰/۵ در صد پری‌بیوتیک در جیره سبب کاهش LDL شد که با سایر گزارشات هم خوانی دارد (۳۰ و۲۲). پری‌بیوتیک (الیگو ساکارید)، در اثر افزایش میکروارگانیسم‌های دستگاه گوارش، تجزیه‌پذیری نمک‌های صفراوی را افزایش می‌دهد (۱۸ و ۱۹). ترکیباتی پری‌بیوتیکی می‌توانند از طریق تبدیل کردن اسیدهای صفراوی اولیه به ثانویه و نیز جلوگیری از تأثیر فیدبک منفی اسیدهای صفراوی بر فعالیت آنزیم ۷– آلفا هیدروکسیلاز و افزایش تبدیل شدن کلسترول به اسیدهای صفراوی باعث کاهش کلسترول خون شوند. فلورمیکروبی موجب تبدیل بیولوژیکی اسیدهای صفراوی شده و با دکونژوگه کردن و دهیدروکسیله کردن صفرا در جذب چربی توسط حیوان اختلال ایجاد می‌کند (۳۷).

## جمعیت میکروبی روده کور

نتایج حاصل از اندازه‌گیری جمعیت میکروبی در پایان آزمایش در جدول ۴ نشان داد، کم‌ترین تعداد کلی باسیل و سالمونلا در تیمار حاوی ۰/۵ درصد پری‌بیوتیک مشاهده شد. بیشترین تعداد لاکتوباسیل در تیمار حاوی ۰/۲۵و ۰/۵ درصد پری‌بیوتیک مشاهده شد.

**جدول ۳-** تاثیر سطوح مختلف پری‌بیوتیک و نانوذرات نقره بر شاخص‌های خونی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی[۱]

**Table 3**- The Effect of deferens levels prebiotic and silver nano particles on blood parameters of broilers at 42 days of age[1]

| پری‌بیوتیک (٪) Prebiotic (%) | نانو ذرات نقره (میلی لیتردر متر مکعب آب آشامیدنی) Silver nano particles (ml/m$^3$ drinking water) | تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Triglyceride (mg/dl) | HDL-کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) HDLCholesterol (Mg/dl) | LDL-کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) LDL Cholesterol (Mg/dl) | پروتئین تام (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Total Protein (Mg/dl) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0.00 | 0 | 78.33 | 36.66 | 26.00 | 3.20 |
| 0.25 | 0 | 117.66 | 35.66 | 26.66 | 3.43 |
| 0.50 | 0 | 89.33 | 37.00 | 28.00 | 3.76 |
| 0.00 | 400 | 117 | 31.66 | 20.00 | 3.03 |
| 0.25 | 400 | 111.66 | 31.00 | 25.66 | 3.53 |
| 0.50 | 400 | 112.00 | 33.66 | 21.66 | 3.10 |
| 0.00 | 800 | 100.66 | 33.33 | 26.33 | 3.10 |
| 0.25 | 800 | 83.66 | 34.66 | 19.66 | 3.06 |
| 0.50 | 800 | 122.66 | 33.00 | 17.66 | 3.10 |
| SEM[2] | | 4.80 | 0.65 | 1.04 | 0.05 |
| پری‌بیوتیک(٪) Prebiotic (%) | | | | | |
| 0 | | 98.66 | 33.88$^a$ | 24.11$^b$ | 3.11$^a$ |
| 0.25 | | 104.32 | 33.77$^b$ | 23.99$^{ab}$ | 3.34$^{ab}$ |
| 0.5 | | 107.99 | 34.55$^{ab}$ | 22.44$^a$ | 3.32$^b$ |
| SEM | | 3.90 | 0.04 | 0.94 | 0.02 |
| نانوذرات نقره (میلی لیتر) Nano silver (ml) | | | | | |
| 0 | | 95.11 | 36.44 | 26.89 | 3.46 |
| 400 | | 113.55 | 32.11 | 22.44 | 3.22 |
| 800 | | 102.33 | 33.66 | 21.22 | 3.09 |
| SEM | | 4.10 | 0.69 | 1.06 | 0.07 |

[۱] میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p<۰/۰۵$).

[۲] SEM= خطای استاندارد میانگین‌ها

[1] The means in each column with non-common letters have a significant difference ($P<0.05$).

[2] SEM standard error of means

بیشترین تعداد کلی‌باسیل‌ها، سالمونلا در تیمار فاقد نانوذرات نقره و کم‌ترین تعداد در تیمار حاوی ۸۰۰ میلی لیتر مشاهده شد. همچنین بیشترین تعداد لاکتوباسیل‌ها در تیمار حاوی ۸۰۰ میلی لیتر بود ($P<۰/۰۵$). استفاده از پری‌بیوتیک در جیره غذایی جوجه گوشتی باعث افزایش تعداد باکتری‌های گرم مثبت لاکتوباسیلوس در ایلئوم شده است که این افزایش باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک و افزایش وزن پایان دوره شد (۳). سطح ۰/۳ فرمکتو سبب افزایش لاکتوباسیلوس و باکتری‌های هوازی در سکوم و بهبود عملکرد و تغییر جزیی در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی شد (۱). افزودن ترکیبات پری‌بیوتیکی به خصوص فروکتان ها به جیره جوجه‌های گوشتی، می‌تواند باعث افزایش تعداد لاکتوباسیل‌های دستگاه گوارش طیور شود که منجر بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک و وزن لاشه می شود که دلیل این امر به خاطر افزایش طول و تراکم پرزهای روده می‌باشد (۴۱). تأثیر نانو ذرات نقره بر روی باکتری‌های گرم منفی مانند اشرشیاکلی و سالمونلا بسیار موثر است. نانو ذرات به سطح غشای باکتری اتصال می‌یابد و سپس وارد سلول باکتری می‌گردد. علت اتصال نیز وجود پروتئین‌های حاوی گوگرد بوده که این امر سبب تغییر در مورفولوژی و نفوذپذیری غشاء و تأثیر در زنجیره تنفسی و تقسیم سلولی و نهایتاً مرگ سلول می‌گردد. همچنین نانو ذرات نقره با باند شدن روی گیرنده‌های آنتی‌ژن و شکستن پوشش ویروس موجب نابودی ویروس می‌گردد (۴۱).

حساسیت و عدم پایداری با کتری‌های *E. Coli*, *Staphylococcus cereus* و *Bacillus subtilis* به نانو نقره نشان داده شده است (۲). این ذرات به عنوان حامل اکسیژن عمل می‌نمایند

و از این راه باعث کاهش میکروارگانیسم‌های بی هوازی و هم‌چنین موجب افزایش در جمعیت میکروارگانیسم‌هایی که توانایی زندگی در حضور فشار اکسیژن تقلیل یافته را دارند و مخصوصا لاکتوباسیل‌ها می‌گردند (۱۳و۳۱).

**جدول ٤** – تاثیر سطوح مختلف پری‌بیوتیک و نانوذرات نقره بر جمعیت میکربی سکوم جوجه‌های گوشتی ($cfu/g, ۱\times۱۰^{۷}$)[۱]

**Table 4**- The Effect of different levels prebiotic and silver nano particles on cecal microbial populations in broilers ($cfu/g, 1\times10^{7}$)[1]

| پری‌بیوتیک (٪) Prebiotic (%) | نانو ذرات نقره (میلی لیتردر متر مکعب آب آشامیدنی) Silver nano particles ($ml/m^3$ drinking water) | کلی باسیل‌ها Colibacilus | سالمونلاها Salmonella | لاکتوباسیل‌ها Lactobacilusia |
|---|---|---|---|---|
| 0.00 | 0 | 86.66 | 10.66 | 45.00 |
| 0.25 | 0 | 46.66 | 6.33 | 35.33 |
| 0.50 | 0 | 28.33 | 10.00 | 88.33 |
| 0.00 | 400 | 53.33 | 25.00 | 85.00 |
| 0.25 | 400 | 38.33 | 8.66 | 71.66 |
| 0.50 | 400 | 20.00 | 15.00 | 73.33 |
| 0.00 | 800 | 23.33 | 8.33 | 65.00 |
| 0.25 | 800 | 25.00 | 3.33 | 71.66 |
| 0.50 | 800 | 16.66 | 2.33 | 91.66 |
| SEM | | 4.14 | 1.28 | 0.88 |
| پری‌بیوتیک(٪) Prebiotic (%) | | | | |
| 0.00 | | 54.44[a] | 14.66[b] | 65.00 [b] |
| 0.25 | | 36.66[ab] | 6.11[a] | 57.33[ab] |
| 0.50 | | 21.66[b] | 9.11[a] | 84.44[a] |
| SEM | | 3.16 | 1.14 | 0.07 |
| نانوذرات نقره (میلی لیتر) Nano silver (ml) | | | | |
| 0 | | 53.88[a] | 9·00[a] | 56.22[c] |
| 400 | | 37.22[ab] | 16.22[b] | 76.66[b] |
| 800 | | 21.66[b] | 4.66[a] | 76.11[a] |
| SEM | | 3.84 | 1.21 | 0.09 |

[۱] میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p<۰/۰۵$).

[۲] SEM= خطای استاندارد میانگین‌ها

[1] The means in each column with non-common letters have a significant difference ($P<0.05$).
[2]SEM standard error of means

## عیار پادتن علیه نیوکاسل وگامبورو

نتایج حاصل از اندازه‌گیری عیار پادتن علیه نیوکاسل وگامبورو در روزهای ۱۰، ۲۴ و ۴۲ آزمایش در جدول۵ نشان داد. تیمارها و فاکتورهای آزمایشی تاثیری بر عیار پادتن علیه آنفولانزا در هیچ یک از دفعات اندازه‌گیری شده نداشت. تغذیه سطوح مختلف پری‌بیوتیک سبب افزایش معنی‌داری میزان عیار پادتن گامبورو در ۲۴ روزگی گردید و همچنین استفاده از سطح ۴۰۰ میلی‌لیتر نانوذرات نقره باعث افزایش میزان عیار پادتن گامبورو در ۲۴ روزگی و عیار پادتن نیوکاسل در۴۲ روزگی شد ($P<۰/۰۵$). پری‌بیوتیک‌ها سبب تحریک سلول‌های ایمنی ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها (خصوصاً لنفوسیتT) شده و از این طریق مقاومت موجود زنده را نسبت به عوامل عفونی افزایش می‌دهد (۶ و۲۳). تیمار حاوی پری‌بیوتیک باعث افزایش معنی‌دار تیتر آنتی‌بادی ۴۲ روزگی در جوجه‌های گوشتی شد (۱۸). ترکیبات پری‌بیوتیکی دارای اثرات تنظیمی بر سیستم ایمنی می‌باشند که این اثر بیشتر از ویژگی‌های زنجیره‌های مانان می‌باشد. نتایج محققین نشان داد نانو ذرات نقره موجب کاهش تعداد لنفوسیت‌های B و فولیکول‌های لنفوئیدی و کاهش مقدار کلسترول سرم خون در جوجه‌های گوشتی گردید (۳۹).

**جدول ۵**- تاثیر سطوح مختلف پری‌بیوتیک و نانو ذرات نقره بر عیار آنتی بادی علیه واکسن‌ها در جوجه‌های گوشتی

**Table 5**- The effect of different prebiotic levels and silver nano particles on antibody titer against vaccines in broilers

| پری‌بیوتیک (٪) Prebiotic (%) | نانو ذرات نقره (میلی لیتردر متر مکعب آب آشامیدنی) Silver nano particles ($ml/m^3$ drinking water) | 10 days | | 24days | | 42days | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | نیوکاسل NDHI | گامبورو IBV | نیوکاسل NDHI | گامبورو IBV | نیوکاسل NDHI | گامبورو IBV |
| 0.00 | 0 | 3.66 | 4.66 | 4.33 | 4.00 | 3.00 | 4.33 |
| 25.0 | 0 | 3.33 | 5.33 | 4.00 | 4.00 | 6.00 | 4.66 |
| 0.50 | 0 | 3.33 | 4.66 | 4.33 | 3.66 | 5.00 | 3.66 |
| 0.00 | 400 | 3.33 | 4.00 | 4.66 | 4.33 | 4.33 | 5.00 |
| 0.25 | 400 | 2.33 | 6.66 | 5.00 | 5.66 | 4.00 | 5.00 |
| 0.50 | 400 | 3.33 | 4.00 | 5.00 | 4.33 | 4.66 | 4.00 |
| 0.00 | 800 | 3.33 | 4.00 | 4.66 | 4.00 | 3.66 | 2.33 |
| 0.25 | 800 | 3.00 | 4.33 | 4.33 | 5.00 | 5.00 | 3.66 |
| 0.50 | 800 | 2.66 | 4.00 | 4.33 | 3.66 | 4.33 | 5.00 |
| SEM | | 0.19 | 0.23 | 0.12 | 0.15 | 0.21 | 0.20 |
| پری‌بیوتیک (٪) Prebiotic (%) | | | | | | | |
| 0.00 | | 3.44 | 4.88 | 4.22 | 3.88[b] | 4.66 | 4.22 |
| 0.25 | | 3.00 | 4.88 | 4.88 | 4.77[a] | 4.33 | 4.66 |
| 0.50 | | 3.00 | 4.11 | 4.44 | 4.22[a] | 4.33 | 3.66 |
| SEM | | 0.17 | 0.21 | 0.11 | 0.13 | 0.19 | 0.19 |
| نانوذرات نقره (میلی لیتر) (ml) Nano silver | | | | | | | |
| 0 | | 3.44 | 4.22 | 4.55 | 4.11[ab] | 3.66[b] | 3.88 |
| 400 | | 2.88 | 5.44 | 4.44 | 4.88[a] | 5.00[a] | 4.44 |
| 800 | | 3.11 | 4.22 | 4.55 | 3.88[b] | 4.66[b] | 4.22 |
| SEM | | 0.18 | 0.22 | 0.10 | 0.12 | 0.23 | 0.2 |

[1] میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p<0.05$).

[2] SEM= خطای استاندارد میانگین‌ها

[1] The means in each column with non-common letters have a significant difference ($P<0.05$).

[2] SEM standard error of means

## نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق استفاده از پری بیوتیک و نانوذرات نقره در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی باعث بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل ۱ تا ۴۲ روزگی شد. بهترین افزایش وزن و ضریب تبدیل در تیمارهای حاوی نانوذرات نقره (۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌لیتر) بدون و با ۰/۵در صد پری‌بیوتیک م شاهده شد. ۰/۵ درصد پری‌بیوتیک در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی و ۸۰۰ میلی لیتر سبب کاهش تعداد باکتری‌های مضر و افزایش باکتری‌های مفید در سکوم جوجه‌های گوشتی شد.

## منابع


1.Abrishami, H., M. Zarea, H. Kermanshahi, and H. Pelevar. 2010. Investigating the effect of various levels of perbiotomic formectomy and probiotic (contents of cocumber cultured) on yield and microbial population of the digestive tract.Page 23 in Proc. Fourth Congress of Animal Sciences, Agricultural and Natural Resources Campus of Tehran University (Karaj). (In Persian).

2.Atiyeh, B. S., M. Costagliola, S. N. Hayek, and S. A. Dibo. 2007. Effect of silver on burn wound infection control and healing. Review of the Literature Burns 33: 139–148.

3.Bailey, J. S., L. C, Blankenship, L. C., and N. A. Cox. 1991. Effect of fructooligosaccharides on salmonella colonization

of the chicken intestine. Poultry Science, 70:2433-2438.
4.Ballou, C. E. 1970. A study of the immunochemistry of three yeast mannans. Journal Biology Chemisty. 245:1197-1203.
5.Benites, V., R. Gilharry, A.G.Gernat, and I. G. Murillo. 2008. Effect of dietary mannan oligosaccharide from Bio-Mos or SAFmannan on live performance of broiler chickens. Journal Apply Poultry Research. 17: 471-475.
6.Borne, F., and F. Brouns. 2002. Immune-stimulating and gut-health-promoting properties of short-chain fructo-oligosaccharides. Nutrition Review, 60: 326-334.
7.Collins, M. D., and G. R. Gibson.1999. Probiotics, prebiotics, and synbiotics:approaches for modulating the microbial ecology of the gut. American Journal of Clinical Nutrition 69, 1052S–1057S.
8.Crittenden, R. G., and M. J. Playne. 1996. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. Trends Food Science Technology, 7: 353-361.
9.Cross, M. L. 2002. Microbes versus microbes:immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. FEMS Immunological Medicene Microbiology, 34: 245-253.
10.Fuller, R. 1997. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. Scandinavin Journal Gast, 32:28-31.
11.Ghorbanpour, k., M. Khosravi, R.Vakili, and A. Jamshidi. 2010. Study of the effect of prebiotic (Fermetto) on small intestine pH, number of beneficial bacterial population of Lactobacillus cecum in broiler chicks.Page 39 in Proc.First national probiotic conference and ultrasound products, Islamic Azad University, Science and Research Center. (In Persian).
12.Glusen, N., B. Coskun, H. D. Umucalilar, F. Boydak, and M. Ina. 2002. Effect of lactose and dried whey supplementation on growth performance and histology of the immune system in broilers. Archive Animal Nutrition. 56: 131-139.
13.Grudzien, M., and E. Sawosz. 2006. The influence of silver nanoparticles on chick embryo development and bursa Fabricius morphology. Journal of Animal Feed and Science 15: 111 – 115.
14.Hoet, P. H., I. Bruske-Hohlfeld, and O. V. Salata. 2004. Nanoparticles-known and unknown health risks. Journal of Nanobiotechnology 2: 12-14.
15.Jafari A., M. Karimzadeh, and P. Mohammadzadeh. 2010. Determination of the effect of probiotic supplement on growth performance, carcass characteristics, blood factors and mortality rates of broiler chicks. Page48 in proc. Fourth of Animal Science Congress, Agricultural and Natural Sciences Campus, University of Tehran (Karaj). (In Persian).
16.Jin, L. Z., Y. Abdullah, W. Ho., and S. Jalaludin. 2000. Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplemented with Lactobacillus cultures. Poultry Science, 79: 886-891.
17.Karimi, M. A., A. N. D Jeddi, and F. Ahmadi. 2008. Evaluation of the effectivencess of different levels of silver nano particles on bursa of fabricius development and on hitshistopathological lesions in broiler chicks. Acta Agraria Kaposvariensis, 3(2): 353-360.
18.Khalaji, S., M. Zaghari, and S. Nezafati. 2011. The effects of mannanoligosaccharides on cecal microbial populations, blood parameters, immune response and performance of broiler chicks under controlled condition. African Journal of Biology Research, 5(5): 160-164.
19.Khalaji, S., M. Zaghari, and Q. Cleaning. 2010. Effect of probiotic probiotic on gastrointestinal system health, immunity and performance of broiler chicks.Page96 in Proc. Fourth volume of animal science, agricultural and natural sciences campus, University of Tehran (Karaj). (In Persian).
20.Leshchinsky, T. V. and K. C. Klasing. 2001. Relationship between the level of dietary vitamin E and immune response of broiler chickens. Poultry Science, 80: 1590-1599.
Lilly, D. M., and R. H. Stillwell. 1965. Probiotics: Growth-promoting factors produced by microorganisms. Science, 147: 747-748.
21.Liong, M. T., and N. P. Shah. 2006. Effects of Lactobacillus Casei symbiotic on serum lipoprotein intestinal microflora and organic acids in rates. Journal of Dairy Science, 89: 1390-1399.
22.MacDonald, F. 1995. Use of immunostimulants in agricultural applications. Pages 97–103 in Biotechnology in the Feed Industry. T. P. Lyons and K.A. Jacques, ed. Nottingham University Press, Nottingham.
23.Manning, S.T., and R. G. Gibson. 2004 .Prebiotics. Best Pract Res Gastroenterol Clin 18: 287-298.
24.Monchois, V., R. M. Willemot, and P. Monsan. 1999. Glucansucrases: Mechanism of action and structure-function relationships. FEMS Microbiology Reviews. 23: 131-151.
25.Ngo, D. N., M. M. Kim, and S. K. Kim. 2008. Chitin oligosaccharides inhibit oxidative stress in live cells. Carbohydr Polym. 74: 228-234.
26.Nikpiran, H., and P. BiJanzad. 2012. Investigation the effects of dietary probiotic, *PREBIOTIC* on performance in broiler chickens.Page 129 in Proc.3rd International Veterinary Poultry congress, Tehran Iran. (In Persian).
27.Ortiz, L. T., M. L. Rodriguez, C. Alzueta, A. Rebole, and J. Trevıno. 2009. Effect of inulin on growth performance, intestinal tract sizes, mineral retention and tibial bone mineralisation in broiler chickens. British Poultry Science, 50: 325-332.
28.Percival, S. L, P. G. Bowler, and D. Russell. 2005. Bacterial resistance to silver in wound care. Journal of Hospital

Infection 60: 1–7.
29. Rahimi Rattaki, M., B. Dastar, S. Mohseni, and M. Khamiri. 2012. Performance Evaluation of Broiler Chickens with and without Probiotic Supplementation. Iranian Journal of Animal Science, 4(2):91-99. (In Persian).
30. Sawosz, E., M. Binek, M. Grodzik, S. P. Ziellin, M. Szmidt,T. Niemiec, and A. Chwaiibog. 2007. Influence of hydrocolloidal silver nanoparticles on gastrointestinal microflora and morphology of enterocytes of quails. Archives of Animal Nutrition 61: 444 – 451.
31. Sharifi, S. D, and H. Zargaran Esfahani. 2020. A study on the effects of silver nanoparticles as additive on immune system, blood biochemical properties and intestinal microflora of broiler chicks. Veterinary Researches and Biological Products, 125: 85-92. (In Persian).
32. Sondi, I., and S. B. Sondi. 2004. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for gram-negative bacteria. Journal of Colloid and Interface Science 275: 77–182.
33. Svihus, B., O. Herstad, C. W. Newman, and R. K. Newman. 1997. Comparison of performance and intestinal characteristics of broiler chickens fed on diets containing whole, rolled or ground barley. British Poultry Science. 38: 524-529.
34. Taherpour, K., H. Moravej, M. Shivazad, M. Adibmoradi, and B. Yakhchali. 2009. Effects of dietary probiotic,probiotic and butyric acid glycerides on performance and serum.composition in broiler chickens. African Journal of biotechnology, 8(10): 3229-2334.
35. Ullison, E. A. 1987. Air-dry Energy Feeds. Feeds and Feeding, 2nd Edition. Reston Publishing Company Inc, pp. 161 – 163.
36. Wakeman, G. W. 2005. AGP alternatives- part II. Dietary strategies to influence bacterial microflora. World Poultry 21: 28-29.
37. Yang, Y., Iji, P. A., and M. Choct. 2007. Effects of different dietary levels of mannan oligosaccharide on growth performance and gut development of broiler chickens. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 20: 1084-1091.
38. Yusrizal, and T. C. Chen. 2003. Effect of adding chicory fructans in feed on broiler growth performance serum cholesterol and intestinal length. Poultry Science Journal, 2(3)214-219.
39. Zahraei, M. G., M. D Shakouri, F. Mirzaei, A. Gheshlagh, and F. Dastmalchi. 2013. Effect of nano silver zeolite, zeolite and flavomycine on performance and ileal nutrients digestibility of broiler chickens during the starter period. Journal of Animal Science Research, 23: 57-68.
40. Zargaran, A. H., S. D. Sharifi, A. S. Brin, and A. Afzalzadeh. 2010. Effects of silver nanoparticles on carcass performance and characteristics of broiler chickens, Iranian Journal of Animal Science, 41(2): 137-143. (In Persian).

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 291-302

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۳۰۲-۲۹۱

# Effect of silver nanoparticles and ,rebiotic on growth performance, microbial population of ceca and blood indices inbroiler chicken

**Reza Vakili[1*] and Qasem Ramazani[2]**

Submitted: 29-02-2020
Accepted: 22-02-2021

**Introduction** Prebiotics are non-digestible additives that stimulate the growth or activity of one or more bacteria in the gut, which can have a beneficial effect on the host and thus improve the health of the host animal. Prebiotics increase feed intake, final weight and improve feed conversion when fed to broilers. Prebiotics cause changes in the blood parameters and immune response in broilers. Numerous studies have shown the antibacterial properties of silver nano-particles and their useful applications in the poultry industry. These include increasing feed intake and decreasing the number of pathogen microbes in the gastrointestinal tract that cause bacterial cell death by binding nano-silver to the surface of gram-negative bacterial membranes through sulfur-containing proteins and by altering the membrane permeability and respiratory chain. Inflammation is the result of induction of oxygen-free radicals by silver nanoparticles, which leads to impaired digestion and absorption of nutrients in the bird's gastrointestinal tract. Many studies have shown the importance of natural flora in maintaining bird health and found that the flora in these sites had a profound effect on the process of making prebiotic consumables in poultry. Adding prebiotic compounds, especially fructans to broilers, improves weight gain and feed conversion ratio and carcass weight due to increased length and density villi distribution. The aim of this experiment was to investigate the effect of combined prebiotics and nano-silver on growth performance, blood indices, immune response and microbial population of ceca in broiler.

**Materials and Methods** In this experiment, 432 one-day-old male Ross 308 broiler chicks were used in a 3 × 3 factorial arrangement with completely randomized design with 9 treatments, 4 replications and 12 observations per replicate. The composition of the experimental diets was determined using the Ross 308 strain rearing guide. The basal diets were identical in energy and other nutrients. In this experiment silver nanoparticles were added 0, 400, 800 ml in drinking water and prebiotic added 0.025 and 0.5 % to the basal diets. The mean body weight gain, feed intake, feed conversion ratio were determined at the 1 to 42 days. Blood samples were taken from all experimental units for 10, 24 and 42 days to measure the titers of Newcastle, Infectious Bursal, and influenza antibodies. The blood sample was slowly poured into sterile lid tubes and transferred to the laboratory in an ice tank. In the laboratory, blood samples were centrifuged at 10,000 RPM for 10 minutes, followed by Newcastle antibody titers (Hemagglutination inhibition) and Infectious Bursal antibody titers by ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). The infectious influenza antibody titers were determined by ELISA .At the end of the experiment, after slaughter and carcass analysis, Cecal contents were extracted with a syringe (3 ml). And they were transferred to the lab to count the number of bacteria. Mac County medium was used for counting Coli bacillus, MRS agar for lactobacillus count. Salmonella was cultured on BGA (Brilliant Green Agar) specified media (Merck, Germany) at 37°C for 24 hrs. Data analysis was performed using SAS software and mean comparison with Duncan test at 5% level.

**Results and Discussion** There was a statistically significant difference in feed intake, weight gain and feed conversion ratio using silver nano-particles and prebiotics different levels between in total period of experiment ($P<0.05$). There was a statistically significant difference in the level of serum HDL, LDL, and TP in different levels of prebiotic ($P<0.05$). The lowest total number of bacilli and Salmonella was observed in 0.5% prebiotic treatment. The highest number of lactobacilli was observed in the treatments containing 0.25% and 0.5% prebiotics. The highest number of Coli bacilli and Salmonella was observed in the treatment without silver nanoparticles and the lowest in the treatment containing 800 ml. Also, the highest number of lactobacilli in treatment was 800 ml ($P<0.05$).The results of this study showed that using 0.5% prebiotic level in the diet of broiler chickens improved the growth performance and immune system. Also, the use of 800 ml levels reduced the number

1- Associate Professor, Department of Animal Science, Kashmar Branch, Islamic Azad University, Kashmar, Iran.
2- Graduate of Master science ,Animal Science, Department of Animal Science, Kashmar Branch, Islamic Azad University, Kashmar, Iran.
(*- Corresponding Author Email: rezavakili2010@yahoo.com )
DOI:10.22067/ijasr.2021.38272.0

of harmful bacteria in the ceca of broiler chickens

**Conclusion** According to the results of this experiment, the use of prebiotics and silver nano-particles in the diet and water can improve the performance of the chicks during rearing period. 0.5% of prebiotics in broiler diets and 800 ml of silver nanoparticles decreased the number of harmful bacteria and increased the beneficial bacteria in broiler ceca.

**Key words:** Biochemical Parameters of Blood, Broilers, Cecum Bacteria, Prebiotics, Nano-silver.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۳۱۲-۳۰۳

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 303-312

مقاله علمی- پژوهشی

# برآورد پارامترهای ژنتیکی زنده‌مانی در بره‌های گوسفند عربی با استفاده از دو مدل خطی و ویبال

نصیر کریمی[۱]، محمد تقی بیگی نصیری[۲*]، ارسلان برازنده[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۲۲

## چکیده

بهره‌وری اقتصادی پرورش گوسفند تا حد زیادی تحت تاثیر میزان زنده‌مانی آن است. هدف این مطالعه بررسی پارامترهای ژنتیکی صفات زنده‌مانی گوسفند عربی از تولد تا یک سالگی بود. بدین‌منظور از تعداد ۵۴۵۲ رکورد زنده‌مانی بره‌های نژاد عربی که طی سال‌های ۱۳۷۱ تا ۱۳۸۳ توسط سازمان جهاد کشاورزی شهرستان اهواز جمع‌آوری شده بود استفاده گردید. داده‌ها با مدل‌های خطی و نسبت خطر با تابع ویبال تجزیه شدند. این مدل‌ها شامل اثر عوامل ثابت سال و ماه تولد بره، نوع تولد، سن مادر و متغیر کمکی وزن تولد بره‌ها به صورت درجه دوم و اثرات تصادفی ژنتیکی افزایشی مستقیم، ژنتیکی افزایشی مادری، محیط دائمی مادری و باقی‌مانده بودند. وراثت‌پذیری مستقیم میزان زنده‌مانی بره‌ها با مدل‌های مختلف خطی، در بازه ۰/۰۲۵ تا ۰/۰۶۱ برآورد گردید. وراثت‌پذیری‌های مستقیم در مقیاس لگاریتمی، مقیاس اولیه و وراثت‌پذیری موثر نسبت خطر به‌دست آمده از مدل پدری دارای تابع ویبال دامنه ۰/۱۳ تا ۰/۷۵ را نشان داد. نتایج بیانگر وراثت‌پذیری کم برای مدل‌های خطی و متوسط تا بالا برای تابع ویبال بود. تخمین‌های متوسط تا بالای وراثت‌پذیری صفات بقا، با استفاده از مدل‌های نسبت خطر با تابع ویبال، می‌تواند ایده بهبود بقای بره از طریق انتخاب درون‌نژادی و گنجاندن آن در شاخص انتخاب نژاد گوسفند عربی را مورد توجه قرار دهد.

**واژه‌های کلیدی:** زنده‌مانی، گوسفند عربی، وراثت‌پذیری.

## مقدمه

نژاد گوسفند عربی بومی حاشیه غربی و جنوبی استان خوزستان است. جمعیت گوسفند عربی تقریبا ۵۵ در صد از جمعیت گوسفندان بومی را در استان خوزستان تشکیل می‌دهد و یکی از نژادهای گوشتی گوسفند محسوب می شود. این گوسفندها به خوبی با خصوصیات گرمسیری این منطقه از جمله، کمبود باران، تغییرات شدید درجه حرارت بین شب و روز و تنوع کم در گونه‌های علوفه سازگار هستند (۱۳). برآورد پارامترهای ژنتیکی و اجزای واریانس-کواریانس برای طراحی برنامه‌های اصلاح نژادی، پیش‌بینی ارزش اصلاحی، پیش‌بینی پاسخ مورد انتظار از برنامه‌های انتخاب و به‌کارگیری روش مناسب انتخاب برای صفات مهم اقتصادی ضروری است (۳). مرگ‌ومیر بره یک مشکل جهانی در پرورش گوسفند است که ممکن است به ۴۰-۲۰ درصد از کل بره‌های متولد شده برسد و می‌تواند بر بهبود ژنتیکی، رفاه حیوانات و مسائل اقتصادی دام‌پروری تاثیر منفی بگذارد (۱، ۱۵، ۱۹). بهبود بقای بره‌ها سودآوری بیشتری نسبت به بهبود تعداد بره‌ها دارد (۳۲). بقای بره‌ها یک ویژگی ترکیبی است که تحت تأثیر بسیاری از اثرات مختلف مرتبط با شرایط آب‌وهوایی، مدیریت، رفتار بره و میش و سایر عوامل محیطی قرار دارد؛ بنابراین، شناسایی عوامل محیطی و برآورد دقیق پارامترهای ژنتیکی برای سناریوهای پرورش ضروری است (۲، ۱۱، ۲۰، ۲۵). در بررسی سه صفت روی گوسفند دجالونک در کشور غنا، مشخص شد که این صفات با توجه به بیشینه

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه جیرفت
(*- نویسنده مسئول: Email: mt_nassiri@yahoo.com)
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.86819

سود و ارزش اقتصادی در هدف‌های اصلاح‌نژادی به ترتیب اهمیت عبارت بودند از زنده‌مانی (بقا)، تولیدمثل و رشد، همچنین میزان بقا از تولد تا شیرگیری در این گوسفند ۰/۸۸ بود (۴). در مطالعه‌ای که بر روی گوسفندان بلوچی، ایرانبلک و زندی انجام شد، مشخص شد که برخی سازه‌های محیطی اثرات معنی‌داری بر صفت زنده‌مانی دارند (۳). بنابراین در نظر گرفتن این سازه‌ها در مدل‌های آماری برای برآورد پارامترهای ژنتیکی نااریب ضرورت دارد (۳). وراثت‌پذیری مستقیم بقا برای نژادهای مختلف گوسفند از ۰/۰۰ تا ۰/۱۳ گزارش شده است (۶، ۱۱، ۱۵، ۳۲، ۳۴). در برخی تحقیقات، وراثت‌پذیری صفت بقا بالاتر از ۰/۱۳ بوده است (۵، ۱۱، ۳۰، ۳۲). دامنه وراثت‌پذیری بقا برای گوسفند لری‌بختیاری، دامغانی و بلوچی به ترتیب ۰/۲۲-۰/۰۱، ۰/۰۶۹-۰/۰۰۴ و ۰/۱۶۸-۰/۰۸۵ گزارش گردیده است (۱۱، ۱۵، ۲۹). استفاده از متغیر وابسته به زمان و داده‌های سانسور شده در تجزیه‌وتحلیل زنده‌مانی ممکن است بهتر از سایر مدل‌های رایج مورد استفاده برای ارزیابی زنده‌مانی باشد (۱۹)؛ سوابق سانسور شده مربوط به حیواناتی است که بر اساس برخی معیارها حذف و یا اینکه در طول مطالعه مرده‌اند (۱۹). در میان پژوهشگران در خصوص استفاده از مدل مناسب جهت آنالیز صفت زنده‌مانی اختلاف نظرهایی وجود دارد و هر یک از پژوهشگران، استفاده از مدل‌های خاصی را پیشنهاد داده‌اند. به‌طور کلی برای آنالیز صفت زنده‌مانی استفاده از مدل‌های خطی و آستانه‌ای پیشنهاد شده است (۲۴). در برخی از مطالعات قبلی، تجزیه و تحلیل زنده‌مانی به عنوان یک صفت باینری بدون اینکه توزیع احتمال زمان به عنوان مهم‌ترین نیاز برای آنالیز زنده‌مانی در نظر گرفته شود، در دوره‌های زمانی مختلف انجام شده است و از آنجایی که مرگ‌ومیر برهها یک صفت آستانه است؛ از این رو، مدل ژنتیکی که بتواند چنین ویژگی‌های طبقه‌ای را در خود جای دهد، برای تخمین پارامترهای ژنتیکی احتمالا کارایی بیشتری خواهد داشت (۱۲). نظر به اهمیت صفات بقا و عدم مطالعه این صفات و مدل‌های مربوطه در گوسفند عربی، برآورد پارامترهای ژنتیکی زنده‌مانی بره‌های گوسفند عربی از تولد تا یک‌سالگی با استفاده از مدل‌های خطی و تابع ویبال هدف این پژوهش قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش از تعداد ۵۴۵۲ رکورد زنده‌مانی بره‌های نژاد عربی که طی سال‌های ۱۳۷۱ تا ۱۳۸۳ توسط سازمان جهاد کشاورزی شهرستان اهواز جمع‌آوری شده بود استفاده گردید (جدول ۱).

**جدول ۱-** اطلاعات شجره

**Table 1-** pedigree data

| جمعیت غیر پایه‌گذار N. of non-founders | جمعیت پایه گذار N. of founders | مادر N. of dam | پدر N. of sire | تعداد رکورد N. of records | تعداد کل حیوانات در شجره T. N. of animal in the pedigree |
|---|---|---|---|---|---|
| 4913 | 2446 | 2357 | 154 | 5452 | 7359 |

اطلاعات مورد استفاده شامل اطلاعات کامل شجره، جنس بره، سال، ماه و روز حذف، سن میش در زمان زایش، سال، ماه و روز تولد، نوع تولد بره و وزن تولد بودند. کلیه اطلاعات در قالب فایل داده‌ها در نرم‌افزار excel ذخیره شد و در چند نوبت با استفاده از بخش‌های گوناگون این برنامه و برنامه Visual Fox pro 8.0 مورد بازنگری و تصحیح قرار گرفت. جهت تشکیل فایل شجره، از نرم‌افزار Excel و CFC استفاده شد. برای صفت زنده‌مانی فایل مشاهدات به ترتیب، شامل شماره ثبت بره، شماره ثبت پدر، شماره ثبت مادر و عوامل ثابت شامل، گله، جنس، ماه تولد بره، سال تولد بره، نوع تولد بره، سن مادر و رکورد صفت بود. صفات مورد بررسی در این پژوهش شامل میزان زنده‌مانی تجمعی بره‌ها از تولد تا پایان یک سالگی و به صورت ماهیانه بود. در این بررسی افزون بر سن بره برای زنده‌مانی در هر دوره‌ی ماهیانه، یک کد به نام کد سانسور ( صفر یا یک) به هر بره داده شد (یعنی هر رکورد زنده‌مانی برای هر بره شامل دو ستون، سن در حین حذف و کد سانسور بود). سن بره (طول عمر) در زمان حذف با کم کردن تاریخ تولد از تاریخ حذف محاسبه شد (۲۳). به‌منظور برآورد پارامتر های ژنتیکی با استفاده از مدل خطی، از روش حداکثر درست‌نمایی محدودشده در نرم‌افزار Wombat (۲۲) و به‌صورت تجزیه تک‌صفتی استفاده گردید که با افزودن و حذف آثار مادری شش مدل حیوانی مختلف برای هر صفت برازش شد؛ مدل‌های حیوانی مورد استفاده برای تجزیه‌وتحلیل ژنتیکی صفات زنده‌مانی به شرح زیر است.

$$y=Xb+Za_a+e \quad (۱)$$

$$y=Xb+Za_a+Wpe+e \qquad Cov(a,m)=0 \quad (۲)$$

$$y=Xb+Z_a a+Z_m m+e \qquad Cov(a,m)\neq A\sigma_{am} \quad (۳)$$

$$y=Xb+Z_a a+Z_m m+e \qquad Cov(a,m)=0 \quad (۴)$$

$$y=Xb+Z_a a+Z_m m+Wpe+e \qquad Cov(a,m)=0 \quad (۵)$$

$$y=Xb+Z_a a+Z_m m+Wpe+e \qquad Cov(a,m)\neq A\sigma_{am} \quad (۶)$$

در مدل های فوق، y بردار مشاهدات، b بردار اثرات عوامل ثابت، a بردار اثرات ژنتیک افزایشی مستقیم، m بردار اثرات ژنتیک

افزایش مادری، pe بردار اثرات محیطی دائمی مادری، e بردار اثرات باقی‌مانده، A ماتریس روابط خویشاوندی، $\sigma_{am}$ کوواریانس بین اثرات ژنتیکی مستقیم حیوان و مادر است، همچنین X، $Z_a$، Wpe و $Z_m$ ماتریس‌های طرح هستند، که ارتباط به ترتیب عوامل ثابت، ژنتیک افزایشی مستقیم، اثرات محیطی دائمی مادری و اثرات ژنتیک افزایشی مادری را با بردار مشاهدات برقرار می‌کنند. با استفاده از آزمون نسبت درست‌نمایی (فرمول مقابل) مدل‌ها مقایسه شدند و مناسب‌ترین مدل برای برآورد مؤلفه های (کو)واریانس تعیین شد. $LRT = 2 \times (logr - logf)$ در این فرمول logr لگاریتم درست‌نمایی مدل با حداقل پارامتر و logf لگاریتم درست‌نمایی مدل با حداکثر پارامتر است. برای برآورد پارامترهای ژنتیکی میزان زنده‌مانی با استفاده از مدل وایبال از مدل پدری زیر (۸) با نرم افزار Matvec (۳۵) استفاده شد.

$$h(t;X, Z)=h_o(t)\times\exp(X'\beta+Zs) \quad (۷)$$

که درآن $h(t;X, Z)$ تابع خطر هر دام در زمان t، $h_o(t)$ تابع خطر پایه، S بردار اثرات ژنتیکی افزایشی بین پدران با توزیع نرمال چندمتغیره، $s \approx N(0,A\sigma_s^2)$ که A ماتریس روابط ژنتیکی افزایشی بین پدران؛ $\sigma_s^2$ وار یانس ژنتیکی افزایشی بین پدران و X و Z ماتریس طرح هستند. میزان وراثت‌پذیری بر پایه‌ی مقیاس لگاریتم ($h_{log}^2$) برای مدل پدری وایبال به صورت زیر برآورد شد (۳۶).

$$h_{log}^2=\frac{4\sigma_s^2}{\left[\sigma_s^2+\frac{\pi^2}{6}\right]} \quad (۸)$$

برای تبدیل وراثت‌پذیری از مقیاس لگاریتمی به مقیاس پایه‌ی اولیه نیز از رابطه‌ی زیر استفاده شد (۳۶).

$$h_{ori}^2=(\exp(V/\rho)^{-2})h_{log}^2 \quad (۹)$$

که V مقدار ثابت 0.5772- =V و نیز پارامتر شکل توزیع وایبال پایه می‌باشد.

روش دیگری که برای برآورد وراثت‌پذیری بر پایه مقیاس اولیه پیشنهاد شد و به پارامترهای تابع وایبال نیز وابسته نمی‌باشد، استفاده از فرمول زیر است که به‌عنوان وراثت‌پذیری موثر نامیده شده است (۳۶). با توجه به این‌که مقدار پارامتر شکل تابع بین ۱ و ۲ می‌باشد، اگر به ۲ نزدیک باشد، برآورد وراثت‌پذیری از هر دو فرمول تقریباً یکسان خواهد شد.

$$h_{eff}^2=\frac{4\sigma_s^2}{\left[\sigma_s^2+1\right]} \quad (۱۰)$$

## نتایج و بحث

مولفه واریانس فنوتیپی و پارامترهای ژنتیکی صفات زنده‌مانی از یک ماهگی تا دوازده ماهگی براساس تجزیه‌وتحلیل یک‌متغیره در جدول ۲ نشان داده شده است. با مقایسه‌ای که با استفاده از آزمون نسبت درست‌نمایی بین مدل‌ها انجام گرفت، برای صفت زنده‌مانی یک‌ماهگی، چهارماهگی، پنج‌ماهگی و ده‌ماهگی مدل ۴ که شامل اثر ژنتیکی افزایشی مستقیم، اثر ژنتیکی افزایشی مادری و کوواریانس بین اثر ژنتیکی افزایشی مستقیم و مادری ($P<۰/۰۵$)، برای دوماهگی مدل ۳ که شامل اثر ژنتیکی افزایشی مستقیم و اثر ژنتیکی افزایشی مادری ($P<۰/۰۵$)، برای سه ماهگی، هشت ماهگی، نه ماهگی و دوازده‌ماهگی مدل ۱ که شامل اثر ژنتیکی افزایشی مستقیم و برای شش‌ماهگی، هفت‌ماهگی و یازده‌ماهگی مدل ۵ که شامل اثر ژنتیکی افزایشی مستقیم، اثر ژنتیکی افزایشی مادری و محیط دائمی مادری ($P<۰/۰۵$) بود، به‌عنوان مدل مناسب انتخاب گردیدند. مدل مناسب در مطالعات سایر محققین برای صفات زنده مانی متغییر بود. در مطالعه ساقی (۱۳۹۵) بر روی بره‌های نژاد کردی و الماسی و همکاران (۱۳۹۵) در نژاد زندی برای صفات زنده‌مانی بره‌ها از تولد تا یک‌سالگی مدل ۱ مناسب ترین مدل بود (۳، ۲۸). در مطالعه‌ای که محمدی‌نژاد و همکاران (۱۳۹۶) بر روی بزغاله‌های راینی برای صفت زنده‌مانی تا نه، ده، یازده و دوازده‌ماهگی مدل ۳ به عنوان مناسب‌ترین مدل انتخاب گردید (۲۳). افزون بر اثرات ژنتیکی افزایشی مستقیم و مادری، اثر محیطی دائمی مادری نیز بر صفت زنده‌مانی تاثیر داشت. که با نتایج جیهان و همکاران (۲۰۰۹) در گوسفند سیکز و محمدی‌نژاد و همکاران (۱۳۹۶) بر روی بزغاله‌های راینی مطابقت دارد (۷، ۲۳). دامنه برآورد وراثت‌پذیری مستقیم میزان زنده‌مانی بره‌ها با مدل‌های مختلف خطی، در بازه ۰/۰۲۵ تا ۰/۰۶۱ است. در مطالعه‌ای با بررسی ۱۶ نژاد گوسفند، دامنه برآورد وراثت‌پذیری مستقیم میزان زنده‌مانی در بره‌ها از ۰ تا ۰/۱۱ گزارش شد (۲۷) که نتایج این مطالعه در تطابق با آن است. در گوسفند کرمانی وراثت‌پذیری صفات زنده‌مانی قبل از شیرگیری در دامنه ۰/۰۴ تا ۰/۰۹ برآورد شد (۵). وراثت‌پذیری مستقیم برآورد شده برای بقا از بدو تولد تا آخرین تاریخ ضبط شده در گوسفند سنگسری توسط مدل‌های خطی مختلف، محدوده ۰/۰۹۷ تا ۰/۱۵۷ را نشان داد (۱۹) که کمی بالاتر از نتایج به‌دست آمده در این مطالعه است و درگوسفند لری‌بختیاری وراثت پذیری در دامنه ۰/۰۴ تا ۰/۰۸ برآوردشده (۳۲) که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. پایین بودن برآوردهای وراثت پذیری صفات مرتبط با زنده مانی را می‌توان به کوچک بودن واریانس ژنتیکی افزایشی، تاثیر عمده عوامل غیر ژنتیکی و همچنین ماهیت آستانه‌ای این صفات نسبت داد. در اغلب مطالعات، مولفه‌های واریانس برآورد شده برای میزان زنده‌مانی با استفاده از مدل‌های خطی کوچک‌تر از مقادیر برآورد شده با استفاده از مدل‌های آستانه‌ای، لجستیک یا تجزیه زنده‌مانی می‌باشد (۲۱، ۳۰، ۳۱). به‌طورکلی به‌رغم اهمیت اقتصادی بالای میزان زنده‌مانی در بره‌های این نژاد تا سن یک‌سالگی از آنجایی که برآورد های میزان وراثت‌پذیری این صفات در بره‌ها با استفاده از مدل‌های خطی پایین

اســت، نمی‌توان انتظار داشــت که با انتخاب ژنتیکی به تنهایی بتوان پیشــرفت ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در این صــفات مشــاهده کرد. برآوردهای متفاوت و پایین برای وراثت‌پذیری صــفات مورد مطالعه بیانگر آن اســت که احتمالا زنده‌مانی در ســنین مختلف تحت تاثیر ژن‌های متفاوتی بوده و همچنین میزان پاسخ به انتخاب مستقیم برای صفات مذکور پایین است.

**جدول ۲**- واریانس فنوتیپی و پارامترهای ژنتیکی صفات زنده‌مانی از یک‌ماهگی تا دوازده‌ماهگی براساس تجزیه‌وتحلیل یک متغیره

**Table 2-** phenotypic variance and genetic parameters of survival traits from 1 to 12 months of age based on a univariate analysis

| زنده‌مانی تا Survival to | بهترین مدل best model | واریانس فنوتیپی $\sigma_p^2$ | وراثت‌پذیری مستقیم $h_a^2 \pm s.e$ | وراثت‌پذیری ژنتیکی مادری $h_m^2 \pm s.e$ | نسبت واریانس محیطی دائمی مادری به واریانس فنوتیپی $Pe^2 \pm s.e$ |
|---|---|---|---|---|---|
| ۱ ماهگی 1 month | 4 | 0.596 | 0.034±0.055 | 0.059±0.028 | - |
| ۲ ماهگی 2 month | 3 | 0.712 | 0.056±0.017 | 0.062±0.046 | - |
| ۳ ماهگی 3 month | 1 | 0.786 | 0.044±0.022 | - | - |
| ۴ ماهگی 4 month | 4 | 0.982 | 0.061±0.010 | 0.054±0.018 | - |
| ۵ ماهگی 5 month | 4 | 0.913 | 0.058±0.011 | 0.048±0.022 | - |
| ۶ ماهگی 6 month | 5 | 0.913 | 0.053±0.009 | 0.045±0.015 | 0.011±0.013 |
| ۷ ماهگی 7 month | 5 | 0.109 | 0.053±0.010 | 0.049±0.013 | 0.008±0.010 |
| ۸ ماهگی 8 month | 1 | 0.933 | 0.026±0.010 | - | - |
| ۹ ماهگی 9 month | 1 | 0.976 | 0.053±0.012 | - | - |
| ۱۰ ماهگی 10 month | 4 | 0.991 | 0.032±0.010 | 0.016±0.010 | - |
| ۱۱ ماهگی 11 month | 5 | 0.996 | 0.032±0.010 | 0.016±0.011 | 0.010±0.012 |
| ۱۲ ماهگی 12 month | 1 | 0.101 | 0.025±0.021 | - | - |

برآورد مولفه‌های واریانس و پارامترهای ژنتیکی میزان زنده‌مانی حاصل از تجزیه با مدل پدری دارای تابع ویبال در جدول ۳ نشان داده شده ا ست. مولفه واریانس ژنتیکی بین پدرها، وراثت‌پذیری در مقیاس لگاریتمی، وراثت‌پذیری در مقیاس اولیه و وراثت‌پذیری موثر حا صل از تجزیه با مدل پدری با افزایش ســن بره‌ها افزایش یافته در ســن ۴ ماهگی به حداکثر مقدار خود ر سیده، در سن ۵ ماهگی کاهش یافته تا سن ۹ ماهگی دارای نوسانات جزیی و تقریباً ثابت بوده و در سنین ۱۱ و ۱۲ ماهگی دوباره اندکی افزایش یافته‌اند. شاید بتوان علت کم شدن واریانس ژنتیکی بین پدرها و میزان وراثت‌پذیری بعد از سن ۶ ماهگی را به حذف تعدادی از بره‌ها بعد از سن ۶ ماهگی به لحاظ مازاد پرواری و داشــتی و همچنین کشــتار آزمایشــی که عمدتاً هم از بره‌های نر بوده‌اند، ن سبت داد. میزان وراثت‌پذیری حا صل شده از مدل پدری، در مقیاس لگاریتمی از کم تا متوسـط (۰/۱۳ تا ۰/۲۵)، در مقیاس اولیه از متو سط تا بالا (۰/۳۹ تا ۰/۷۵) و وراثت‌پذیری موثر نیز در حد متو سط برآورد شــده اســت. اغلب پژوهشــگران در تجزیه زنده‌مانی بره‌های نژادهای مختلف از مدل پدری اســتفاده نموده و میزان وراثت‌پذیری زنده‌مانی در دوره‌های مختلف در مقیاس لگاریتمی را گزارش نموده‌اند که با برآوردهای این پژوهش مطابقت دارند. برای مثال در یک تحقیق مولفه واریانس پدری برای دوره‌های مختلف را با اســتفاده از مدل ویبال از ۰/۰۶۹ تا ۰/۱۳۰ برآورد کردند و مقدار ضــریب وراثت‌پذیری

در مقیاس لگاریتمی را از ۰/۱۵ تا ۰/۲۱ گزارش نمودند (۳۰) که در این تحقیق میزان آن کمی بالاتر است. با توجه به اینکه برآورد وراثت‌پذیری در مقیاس لگاریتمی بایستی به مقیاس اولیه برگردانده شود و در این تبدیل نیاز به پارامتر شکل تابع ویبال است، در نتایج بررسی‌های برخی از پژوهشگران گزارش شده است که برآورد وراثت‌پذیری مؤثر زنده‌مانی به لحاظ وابسته نبودن به فراسنجه‌ی شکل تابع ویبال بهتر از برآورد در مقیاس لگاریتمی و سپس تبدیل آن است و با توجه به این که میزان فراسنجه‌ی شکل تابع ویبال به‌طور معمول ۱ تا ۲ است، هر چه میزان این فراسنجه به ۲ نزدیک‌تر باشد، برآوردهای وراثت‌پذیری درمقیاس لگاریتمی بیش‌تر با وراثت‌پذیری مؤثر هماهنگی خواهد داشت (۳۶). وراثت‌پذیری در مقیاس لگاریتمی زنده‌مانی از تولد تا ۱۲۰ روزگی در بره‌های کرمانی حد متوسط از ۰/۲۳ تا ۰/۳۶ برآورد شد (۵). مطالعه‌ای دیگردر نژاد لری‌بختیاری با استفاده از مدل پدری نشان داد، وراثت‌پذیری در مقیاس لگاریتمی در حد پایین تا متوسط از ۰/۱۷ تا ۰/۲۵ و وراثت‌پذیری مؤثر در حد متوسط از ۰/۲۷ تا ۰/۳۹ است (۳۳). محققین دیگری نیز وراثت‌پذیری زنده‌مانی بره‌ها در دوره‌های مختلف حاصل از تجزیه زنده‌مانی را ۰/۰۵، ۰/۲۰، ۰/۱۸ و ۰/۳۳ به ترتیب برای زنده‌مانی در تولد، ۱ تا ۱۴ روزگی، ۱۵ تا ۲۰ روزگی و ۱۲۱ تا ۳۶۵ روزگی گزارش کردند (۳۱). همچنین میزان وراثت‌پذیری زنده‌مانی در بره‌های سیه‌چهره با استفاده از مدل پدری و تابع پروبیت، ۰/۳۳ برای پیش از تولد و ۰/۲۲، ۰/۱۷، ۰/۱۴ و ۰/۰۸ به ترتیب برای زنده‌مانی در سن ۱، ۴، ۸ و ۱۲ هفتگی برآورد شد (۲۶). به‌عنوان یک مقایسه بسیاری از پژوهشگران نشان دادند، وراثت‌پذیری مؤثر از وراثت‌پذیری در مقیاس لگاریتمی بیش‌تر بوده و برآورد وراثت‌پذیری زنده‌مانی با استفاده از مدل ویبال نشان داد که وراثت‌پذیری به‌دست‌آمده از مدل ویبال بیش‌تر از مقدار به‌دست آمده آن از مدل خطی حیوانی است (۱۷، ۱۸).

**جدول ۳-** برآورد مولفه‌های واریانس و پارامترهای ژنتیکی زنده‌مانی تجمعی حاصل از تجزیه با مدل پدری ویبال

**Table 3-** Estimation of variance components and genetic parameters of cumulative survival obtained from Weibull sire model

| | مدل پدری Sire model | | | |
|---|---|---|---|---|
| زنده‌مانی تا Survival to | واریانس ژنتیکی افزایشی پدری $\sigma_s^2$ | وراثت‌پذیری در مقیاس لگاریتمی $h_{log}^2$ | وراثت‌پذیری در مقیاس اولیه $h_{ori}^2$ | وراثت‌پذیری موثر $h_{eff}^2$ |
| ۱ ماهگی 1 month | 0.070 | 0.16 | 0.48 | 0.26 |
| ۲ ماهگی 2 month | 0.094 | 0.21 | 0.63 | 0.34 |
| ۳ ماهگی 3 month | 0.085 | 0.20 | 0.60 | 0.31 |
| ۴ ماهگی 4 month | 0.110 | 0.25 | 0.75 | 0.39 |
| ۵ ماهگی 5 month | 0.062 | 0.14 | 0.42 | 0.23 |
| ۶ ماهگی 6 month | 0.069 | 0.16 | 0.48 | 0.25 |
| ۷ ماهگی 7 month | 0.066 | 0.15 | 0.45 | 0.24 |
| ۸ ماهگی 8 month | 0.060 | 0.14 | 0.42 | 0.22 |
| ۹ ماهگی 9 month | 0.059 | 0.13 | 0.39 | 0.22 |
| ۱۰ ماهگی 10 month | 0.075 | 0.17 | 0.51 | 0.27 |
| ۱۱ ماهگی 11 month | 0.077 | 0.16 | 0.51 | 0.28 |
| ۱۲ ماهگی 12 month | 0.080 | 0.18 | 0.54 | 0.29 |

در مطالعه‌ای که روی بزغاله های کرکی راینی انجام شد، وراثت‌پذیری مستقیم میزان زنده‌مانی ناشی از مدل‌های مختلف خطی در حد پایین (۰/۰۱ تا ۰/۰۶) برآورد شد؛ وراثت‌پذیری‌های به‌دست آمده از مدل پدری و تابع ویبال در مقایسه با مدل خطی بیش تر و در حد متوسط تا بالا (۰/۱۷ تا ۰/۷۰) را نشان داد (۲۳). هر چند برآورد وراثت‌پذیری برای صفت بقا و مرگ‌ومیر کم است، با این حال ممکن است بتوان پیشرفت ژنتیکی را با انتخاب بره‌هایی دارای ارزش اصلاحی بالاتر برای زنده‌مانی افزایش داد (۹)؛ گواه این ادعا وراثت پذیری مستقیم به‌دست آمده ۰/۰۲±۰/۱۷ بود که طی تجزیه‌وتحلیل ژنتیکی بر روی گوسفندان آویکالین حاصل شد، که نشان دهنده دامنه بهبود ژنتیک از طریق انتخاب است (۱۲).

## نتیجه‌گیری کلی

برآورد پارامترهای ژنتیکی برای میزان زنده‌مانی بره‌ها از تولد تا سن یک سالگی، برآورد شده با مدل‌های خطی و تابع ویبال به ترتیب کم و متوسط تا بالا بود؛ بنابراین بر اساس نتایج حاصل از مدل‌های خطی ، سرعت پاسخ به انتخاب ژنتیکی برای بهبود زنده‌مانی بره‌ها در این نژاد بسیار آهسته خواهد بود و بیشتر بایستی به بهبود عوامل غیرژنتیکی و انتخاب غیرمستقیم و تنوع بین نژادی توجه کرد، ولی براساس نتایج تجزیهٔ زنده‌مانی با استفاده از مدل‌های دارای تابع ویبال به نظر می رسد سرعت پاسخ به انتخاب ژنتیکی برای بهبود صفت زنده‌مانی نسبت به مدل‌های خطی سریع‌تر باشد که این عامل نشان می‌دهد بقای بره می‌تواند از طریق انتخاب مستقیم در گله بهبود یابد و در شاخص انتخاب نژاد گوسفند عربی گنجانده شود. به عنوان پیشنهاد مطالعات آینده، به منظور حصول اطمینان از برتری استفاده از مدل‌های تجزیه زنده‌مانی در مقایسه با مدل‌های خطی رایج، یک پروژه تحقیقاتی با استفاده از شبیه سازی داده‌ها تدوین و اجرا گردد تا صحت ارزیابی و همچنین رتبه‌بندی حیوانات با استفاده از مدل‌های ویبال و خطی برای زنده‌مانی مشخص گردد.

## سپاسگزاری

از مسئولان سازمان جهاد کشاورزی اهواز برای تامین داده‌های این تحقیق و دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان بابت حمایت و پشتیبانی‌های لازم تشکر و قدردانی می گردد.

## منابع

1. Abdelqader, A., R. Irshaid, M. J. Tabbaa, M. Abuajamieh, H. Titi and, A. R. Al-Fataftah. 2017. Factors influencing Awassi lambs survivorship under fields conditions. Livestock Science, 199: 1-6.
2. Aktas, A., H. S. Dursun, S. Dogan, Z. Kiyma, and U. Demirci. 2015. Effects of ewe live weight and age on reproductive performance, lamb growth, and survival in Central Anatolian Merino sheep. Archiv fuer Tierzucht, 58 (2): 451-459.
3. Almasi, M., A. Rashidi, M. Razmkabir, and M. M. Gholambabaeian. 2015. Effect of some of genetic and non-genetic parameters on lamb survival in Baluchi, Iranblack and Zandi breed sheep. Iranian Journal of Animal Science Research, 26 (1): 157-166. (In Persian)
4. Annor, S., K. Djang-Fordjour, and K. Gyamfi. 2007. Is growth rate more important than survival and reproduction in sheep farming in Ghana?. Journal of Science and Technology (Ghana), 27: 23-38.
5. Barazandeh, A., S. M. Moghbeli, M. Vatankhah, and N. G. Hossein-Zadeh. 2012. Lamb survival analysis from birth to weaningin Iranian Kermani sheep. Tropical animal health and production, 44: 929-934.
6. Brien, F., M. Hebart, D. Smith, J. H. Edwards, J. Greeff, K. Hart, G. Refshauge, T. Bird-Gardiner, G. Gaunt, and R. Behrendt. 2010. Opportunities for genetic improvement of lamb survival. Animal Production Science, 50: 1017-1025.
7. Ceyhan, A., T. Sezenler, and I. Erdogan. 2009. The estimation of variance components for prolificacy and growth traits of Sakiz sheep. livestock Science. 122:68-72.
8. Ducrocq, V., and G. Casella. 1996. A Bayesian analysis of mixed survival models. Genet. Sel. Evol, 28: 505-529.
Everett-Hincks, J., H. Mathias-Davis, G. Greer, B. Auvray, and K. Dodds. 2014. Genetic parameters for lamb birth weight, survival and death risk traits. Journal of Animal Science, 92: 2885-2895.
9. Fogarty, N. M. 1995. Genetic parameters for live weight, fat and muscle measurements, wool production and reproduction in sheep, a review. Anim. Breed. Abstr, 63 (3): 101-143.
10. GhaviHossein-Zadeh, N., R. Noori, and A. A. Shadparvar. 2018. Genetic analysis of longevity and lamb survival from birth to yearling in Moghani sheep. Journal of Applied Animal Research, 46: 1363-1369.
11. Gowane, G., C. Swarnkar, L. Prince, and A. Kumar. 2018. Geneticparameters for neonatal mortality in lambs at semi-arid region of Rajasthan India. Livestock science, 210: 85-92.

12. Haghdoost, A., A. A. Shadparvar, M. T. B. Nasiri, and J. Fayazi. 2008. Estimates of economic values for traits of Arabisheep in village system .Small Ruminant Research, 80: 91-94.
13. Hassan Kiyadeh, A. V., M. Rokouei, G. R. Dashab, A. R. Seyedalian, and H. Faraji-Arough. 2019. Estimation of non-genetic and genetic effects for survival trait in Zandi sheep. Animal Production, 21: 182-191. (In Persian)
14. Hassan Kiyadeh, A. V., M. Rokouei, G. R. Dashab, A. R. Seyedalian, and H. Faraji-Arough. 2016. Genetic evaluation of survival trait in Baluchi sheep using Gibbs sampling method. Iranian Journal of Animal Science, 47 (3): 453-461. (In Persian)
15. Hatcher, S., K. Atkins, and E. Safari. 2010. Lamb survival in Australian Merino sheep: a genetic analysis. Journal of Animal Science, 88: 3198-3205.
16. Kalbfleisch, J. D., and R. L. Prentice. 1980. The Statistical Analysis of Failure Time Data. John Wiley and Sons. New York.
17. Klein, J. P., and M. L. Moeschberger. 1997. Survival Analysis: Techniques for Censored and Truncated Data. Springer-Verlag. New York.
18. Lima, M. J., M. Rokouei, G. R. Dashab, A. R. Seyedalian, and H. Faraji-Arough. 2019. Genetic and non-genetic analysis of lamb survival in Sangsari sheep by gibbs sampling method. Small Ruminant Research, 177: 56-60.
19. Mandal, A., K. Pant, P. Rout, and R. Roy. 2004. Effects of inbreeding on lamb survival in a flock of Muzaffarnagari sheep. Asian-australasian journal of animal sciences, 17: 594-597
20. Matos, C., D. Thomas, L. Young, and D. Gianola. 2000. Genetic analyses of lamb survival in Rambouillet and Finnsheep flocks by linear and threshold models. Animal Science, 71: 227-234.
21. Meyer, K. 2007. WOMBAT—A tool for mixed model analyses inquantitative genetics by restricted maximum likelihood (REML). Journal of Zhejiang University Science B, 8: 815-821.
22. Mohammadinejad, F., M. R. Mohammadabadi, A. Barazandeh. 2017. Estimating genetic parameters of kid survival in Raini Cashmere goat using linear and Weibul models. Iranian Journal of Animal Science, 48 (2): 297-304. (In Persian)
23. Mola-Abdol-Karimi, M., A. Rashidi, and G. Asgari-Jafar-Abadi. 2014. Estimation of genetic parameters for lamb survival in Zandi sheep breeds using animal, sire and threshold models. Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 105: 27-34. (In Persian)
24. Moraes, A. B. D., C. H. E. C. Poli, V. Fischer, N. M. Fajardo, M. F. Aita, and G. C. D. Porciuncula. 2016. Ewe maternal behavior score to estimate lamb survival and performance during lactation. Acta Scientiarum. Animal Sciences, 38 (3): 327-332.
25. Riggio, V., R. Finocchiaro, S. Bishop. 2008. Genetic parameters for early lamb survival and growth in Scottish Blackface sheep. Journal of Animal Science, 86: 1758-1764.
26. Safari, E., N. M. Fogrty, and A. R. Gilmour. 2005. A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproduction traits in sheep. Livestock Production Science, 92: 271-289.
27. Saghi, D. A. 2015. The effects of genetic and non genetic factors on survival and longevity of Kourdi lambs from birth to yearling. Animal science Journal (pajouhesh & Sazandegi), 112: 68-75. (In Persian)
28. Seasakhti, D., M. Vatankhah, H. R. Merzaei, and M. Yousef Ellahi. 2010. Estimates of some environmental factors and genetic parameters on Lori-Bakhtiari lambs survival. Animal Sciences (pajouhesh & Sazandegi), 84: 66-70. (In Persian)
29. Southey, B., S. L. Rodriguez-Zas, and K. Leymaster. 2001. Survival analysis of lambmortality in a terminal sire composite population. Journal of Animal Science, 79: 2298-2306.
30. Sawalha, R., J. Conington, S. Brotherstone, and B. Villanueva. 2007. Analyses of lamb survival of Scottish Blackface sheep. Animal, 1: 151-157.
31. Vatankhah, M., M. A. Talebi, and H. Blair. 2016. Genetic analysis of Lori-Bakhtiari lamb survivalrate up to yearling age for autosomal and sex-linked. Small Ruminant Research, 136: 121-126.
32. Vatankhah, M. 2013. Estimation of the genetic parameters for survival rate in Lori-Bakhtiari lambs using linear and Weibull proportional hazard models. Journal of Agricultural Science and Technology (JAST), 15(6):1133-1143.33. Vatankhah, M., and M. A. Talebi. 2009. Genetic and non-genetic factors affecting mortality in Lori-Bakhtiari lambs. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 22: 459-464.
34. Wang, T., R. L. Fernando, and S. D. Kachman. 2002. Matvec User's Guide. Version 1.03. Available: http://statistics.unl.edu/faculty/steve/software/matvec/.

35. Yazdi, M. H., P. M. Visscher, V. Ducrocq, and R. Thompson. 2002. Heritability, reliability of genetic evaluations and response to selection in proportional hazard models. Journal of Dairy Science, 85: 1563-1577.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 303-312

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۳۱۲-۳۰۳

# Estimation of Genetic Parameters for Lamb Survival Traits of Arabi sheep using Linear and Weibull Models

**Nasir Karimi [1], Mohammad Taghi Beigi Nasiri [2*] and Arsalan Barazandeh [3]**

Submitted: 10-05-2020
Accepted: 12-09-2020

**Introduction** Arabi sheep population includes almost 55% of the local sheep population in Khuzestan province. Lamb mortality is a universal problem in sheep breeding that may be reached to 20-40% of total lambs born and could impact the genetic improvement, animal welfare and economic viability of sheep breeding, adversely. Research on improving survival of lambs is likely to have a higher pay-off than research on improving the number of lambs conceived. Lamb survival is a compound trait affected by many various factors related to climate, management, lamb and ewe behavior and genetic effects. Lamb survivability is controlled by genetics of the animal, contributed by direct genetic and maternal effects and also by environmental effects. There are disagreements among researchers about using a suitable model to analyze the survival traits, and each researcher has suggested the use of specific models. In general, the use of linear and threshold models has been suggested for survival trait analysis. Although survival has great economic importance, in the studies conducted on Iranian livestock, less attention has been paid to it. The aim of this study was to analyze the genetic parameters for the survival of Arabi lambs from birth to one year of age using linear and Weibull models.

**Materials and Methods** in this study, 5452 lamb survival records collected by the Jahad Agricultural Organization of Ahvaz from 1993 to 2005 were used. Traits included were cumulative survival from birth to the end of one year and on a monthly basis. In order to estimate genetic parameters using linear models, the Restricted Maximum Likelihood (REML) method was used in Wombat software based on a univariate analysis. The Weibull model and Matvec software were also used for estimating variance component and genetic parameters of Survival rate.

**Results and Discussion** Different models compared using the likelihood ratio test. For survival traits until 1, 4, 5, and 10 months, the model 4 was suitable, which include the direct additive genetic effect, maternal additive genetic effect and their covariance. In the case of until 2 months, the best model was the model 3, which include the direct and maternal additive genetic effects. For until 3, 8, 9, and 12 months, model 1 including direct additive genetic effect was selected. And for other traits Model 5 (direct additive genetic, maternal additive genetic, and maternal permanent environmental effects) was chosen as the best model. The direct heritability of survival rate estimated from different linear models was in the range of 0.025 to 0.061. In general, despite the high economic importance of survival in the breeds until one year of age, due to low estimates of the inheritance of these traits using linear models, it cannot be expected that genetic selection alone can make significant genetic progress. The genetic variance component among sires, heritability on the logarithmic scale, heritability on the original scale, and effective heritability obtained from Weibull sire model were increased to a peak point at 4 months. After that, a decline occurred until 5 months, and then a fluctuation was observed until 9 months. A limited increase was found in the 11 and 12 months. The heritability of sire model, in the logarithmic scale, had a low to medium range (0.13-0.25), and in the original scale had a medium to high range (0.39-0.75). The effective heritability was estimated in the medium range. Estimated values of the survival heritability using the Weibull model was greater than the value obtained from the linear animal model. Although heritability estimations for survival and mortality is low, it is possible that genetic progress may be enhanced by selecting lambs with higher breeding value for survival.

**Conclusion** Estimation of the genetic parameters for survival lambs from birth to one year of age using linear and Weibull models were low vs medium to high, respectively. Therefore, based on the results of linear models,

۱-MSC graduated of Animal Science Department, Ramin Agriculture and Natural Resources University, Khuzestan.
2-professor, Department of Animal Sciences, Ramin Agriculture and Natural Resources University, Khuzestan.
3-Assistant Professor of Animal Science Department, University of Jiroft.
(*- Corresponding Author Email: Mt_nassiri@yahoo.com)
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.86819

response to direct selection to improve the survival of lambs in this breed will be very slow, and more attention should be paid to improving non-genetic factors and indirect selection and outbreeding, but based on The results of Weibull models, it seems that the rate of response to genetic selection to improve survival trait is faster using these models compared to the linear models, suggest that lamb survival could be improved through direct selection and could be included in the Arabi sheep selection index.

**Key words:** Arabi Sheep, Heritability, Survival

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۳۱۹-۳۱۳

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 313-319

مقاله علمی- پژوهشی

# شناسایی چند شکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) بر روی ترانسکریپتوم گاوهای هلشتاین آمریکا و کلیستانی پاکستان

مژگان قاسمی سیاب[۱]، شیدا ورکوهی[۲*]، محمدحسین بنابازی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۱۳

## چکیده

مطالعه در سطح ترانسکریپتوم می‌تواند فاصله بین ژنوتیپ و فنوتیپ را پر نموده و به درک ساز وکارهای تبدیل توالی به عملکرد کمک نمایند. در این مطالعه به منظور کشف چند شکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) از داده‌های RNA-Seq دو جمعیت گاوهای هلشتاین آمریکا (*Bos taurus*) و کلیستانی پاکستان (*Bos indicus*) استفاده شد. کنترل کیفیت و ویرایش داده‌ها توسط نرم افزارهای FASTQC و Trimmomatic انجام شد. با همردیفی و مکان‌یابی خوانش‌های RNA-Seq بر روی ژنوم مرجع گاو با استفاده از نرم افزار TopHat2، ترانسکریپتوم تشکیل شد، سپس با استفاده از بسته نرم‌افزاری Samtools، آنالیز کشف SNP بر روی ترانسکریپتوم صورت گرفت که منجر به شناسایی ۵۰۱۸۳ و ۱۳۷۹۵۴ جایگاه SNP به ترتیب در گاوهای هلشتاین و کلیستانی شد، که ۱۵۳۰۸ جایگاه مشترک بود. ارتباط مستقیمی بین تعداد SNPهای یافت شده و طول کروموزوم‌ها مشاهده نشد. همچنین ۱۲ نوع SNP شناسایی شد که چهار نوع جایگزینی نوکلئوتیدی عامل و هشت نوع جایگزینی نوکلئوتیدی غیر عامل بودند. شایعترین SNPهای شناخته شده، از نوع جایگزینی نوکلئوتیدی عامل بودند، که ۷۰/۶٪ در نژاد کلیستانی و ۶۹/۶٪ در نژاد هلشتاین وجود داشت. درمطالعه حاضر ۱۲ نوع SNP شناسایی شد. چهار نوع از SNPها، از نوع جایگزینی نوکلئوتیدی عامل وهشت نوع جایگزینی نوکلئوتیدی غیر عامل بودند. شایعترین SNPهای شناخته شده، SNPهای از نوع جایگزینی نوکلئوتیدی عامل بودند، که به ترتیب ۷۰/۶٪ SNPها در نژاد کلیستانی و ۶۹/۶٪ SNPها در نژاد هلشتاین را شامل شد. نسبت جایگزینی نوکلئوتیدی عامل به غیر عامل (Ts/Tv) SNPها در نژاد کلیستانی برابر با ۲/۴ و در نژاد هلشتاین برابر با ۲/۳ بود.

**واژه‌های کلیدی:** ترانسکریپتوم، جایگزینی نوکلئوتیدی، چند شکلی تک نوکلئوتیدی، داده‌های RNA-Seq

## مقدمه

چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی[۵] (SNP) امروزه به مهمترین و کارامدترین ابزار به‌نژادی تبدیل شده‌اند. مطالعات پویش کل ژنوم روش مهمی در اصلاح نژاد دام است که مبتنی بر تعیین ژنوتیپ تعداد بسیار زیادی از این جایگاه‌ها است. بدین منظور آرایه‌های با تراکم بالا از این نشانگر در صنعت گاو شیری ارائه شده‌اند. از آنجایی که ترانسکریپتوم تنها حاصل رونویسی بخش‌هایی از ژنوم است که رمزگر بوده و در نهایت به یک فراورده پروتئینی ترجمه و بیان می‌شود، احتمالا SNPهای موجود در این مناطق بهتر می‌توانند ارزش اصلاحی ژنومی را برآورد کنند (۹). ترانسکریپتوم می‌تواند به درک بهتر ساز و کارهای حد واسط میان ژنوتیپ و فنوتیپ کمک نماید و صحت و دقت پیش‌بینی های ژنومی را که امروزه مهمترین ابزار ارز یابی و انتخاب برای به نژادگران دامی می‌باشد، بهبود بخشیده و پیشرفت ژنتیکی را سریعتر نماید (۷). جامعیت ترانسکریپتوم به حدی است که محققین معتقدند می‌توان به جای ژن، ترانسکریپت (رونوشت)، یعنی قطعه ای از RNA که از روی DNA کد می‌شود را به عنوان واحد

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.
۲- استادیار، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.
۳- استادیار، بخش پژوهشهای بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: S.varkoohi@gmail.com)
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.82194
۵- *SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM*

بنیادی ژنوم و واحد اساسی توارث پیشنهاد کرد (۳). داده‌های ترانسکریپتومی به اشکال مختلف تولید می‌گردند که آخرین نسل آنها حاصل توالی‌یابی RNA (RNA-Seq) می‌باشند. داده‌های RNA-Seq نوعی از داده‌های ترانسکریپتومی پربروندا و بسیار دقیق و کمی هستند. این داده‌ها علاوه بر توالی نوکلئوتیدی کل ترانسکریپتوم، همزمان میزان رونویسی در هر یک از نواحی آن را به صورت بسیار کمی و دقیق بدست می‌آورند (۳ و ۱۰).

طی پژوهشی با استفاده از داده‌های RNA-Seq بیش از ۳۳۰۰۰ نشانگر SNP در ترانسکریپتوم شیر گاو شناسایی شد (۲). همچنین طی پژوهش دیگری در دو بافت کبد و کلیه در ۵ نژاد بز به ترتیب ۶۸۵۹۷ و ۷۲۰۴۷ نشانگر SNP شناسایی شد (۷). طی تحقیقی روی دو بافت عضله و خون در شش اسب مسابقه نژاد تروبرد پیش و پس از مسابقه، تعداد ۱۸۳۹۷۳ جایگاه SNP کشف شد (۶). همچنین تعداد ۵۶۲۳۱ نشانگر SNP در پوست بز کشمیری چینی مشاهده شد (۱۱).

جایگزینی نوکلئوتیدی عامل یک جهش نقطه‌ای است که یک نوکلئوتید پورین به پورین دیگر (A ↔ G) یا یک نوکلئوتید پریمیدین به پریمیدین دیگر (T ↔ C) تبدیل می‌شود، در حالی که جایگزینی نوکلئوتیدی غیر عامل باعث تغییر از نوکلئوتید پورین به پریمیدین یا برعکس (C ↔ G، T ↔ A، C ↔ A، T↔A) می‌شود. اگر جهش‌ها روند تصادفی داشته باشند، بایستی نسبت جایگزینی نوکلئوتیدی عامل و غیر عامل یک به دو باشد. طی تحقیقی بر روی اسب کاسپین، شمار جایگزینی نوکلئوتیدی عامل برابر ۱۱۵۵۴۱۷ و شمار جایگزینی نوکلئوتیدی غیر عامل برابر ۵۱۲۹۸۶ بود که نسبت (Ts/Tv) ۲/۲۵ برآورد شد (۱). هدف از مطالعه اخیر کشف و شناسایی SNP های موجود بر روی توالی ترانسکریپتوم نمونه‌ای از جمعیت گاوهای هلشتاین آمریکا و گاوهای کلیستانی پاکستان می‌باشد.

## مواد و روشها

در این مطالعه از داده‌های RNA-Seq مربوط به ادغام ۴۰ نمونه خون گاو هلشتاین در دانشگاه ویسکانسین آمریکا (*Bos taurus*) و ۴۵ گاو ماده کلیستانی (*Bos indicus*) در ایالت پنجاب پاکستان استفاده شد. این داده‌ها در مطالعه هوانگ و همکاران (۴) تولید شد.

داده‌های مربوطه برای نژاد کلیستانی[1] و نژاد هلشتاین[2] از بخش آرشیو خوانش‌های کوتاه[3] (SRA) بانک اطلاعاتی مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی[4] (NCBI) دریافت شد. داده‌های مورد آنالیز شامل ۲۱۰۷۸۴۷۷ و ۲۰۹۴۰۰۶۳ خوانش کوتاه جفتی به طول ۷۵ جفت باز به ترتیب برای نژادهای هلشتاین و کلیستانی بود. تمام آنالیزها در محیط سیستم عامل لینوکس اوبونتو (Ubuntu) نسخه ۱۶,۰۴ انجام شدند. فرمت sra به خاطر حجم کم صرفا برای بارگذاری بر روی بانکهای اطلاعاتی مناسب است و برای آنالیز ابتدا باید به فرمتهای دیگر تبدیل گردد که یکی از مرسومترین آنها فرمت fastq است که این تبدیل با دستور fastq-dump از مجموع نرم افزار sratoolkit نسخه Ubuntu64 2.5.2 انجام شد. کنترل کیفیت و ویرایش داده‌ها توسط نرم افزارهای FASTQC و Trimmomatic انجام شد که بر اساس حذف آداپتور و نیز حذف و یا ویرایش نوکلئوتیدهای بی‌کیفیت از خوانش ها با آستانه حداقل طول نهایی ۵۰ جفت باز برای خوانش های ویرایش شده تنظیم شد. با همردیفی و مکان‌یابی خوانش‌های RNA-Seq بر روی ژنوم مرجع گاو با استفاده از نرم افزار TopHat2، ترانسکریپتوم تشکیل شد، سپس با استفاده از بسته نرم‌افزاری Samtools، آنالیز کشف SNP بر روی ترانسکریپتوم صورت گرفت.

## نتیجه و بحث

**ویرایش داده‌ها:** با توجه به کیفیت نسبتا مطلوب داده‌ها، تعداد خوانش‌های بی‌کیفیت کنار گذاشته شده برای دو نژاد، تقریبا برابر و نسبت به تعداد کل خوانش‌ها کم بود. برای مثال، در نژاد کلیستانی از مجموع ۲۰۹۴۰۰۶۳ خوانش اولیه بعد از ویرایش تعداد ۱۹۳۷۹۴۸۷ خوانش، کیفیت مناسب داشته و باقی ماندند. به عبارت دیگر ۱۵۶۰۵۷۶ خوانش (حدود ۷/۵ درصد از کل خوانش‌ها) از آنالیز کنار گذاشته شد.

از ۱۹۳۷۹۴۸۷ خوانش پیشرو و پسرو ویرایش شده برای نژاد کلیستانی به ترتیب ۱۵۷۵۴۵۹۳ (۸۱/۳٪) و ۱۵۴۸۴۸۵۵ (۷۹/۹٪) خوانش به درستی مکان‌یابی شدند. بیش از نه درصد یعنی معادل بیش از یک و نیم میلیون خوانش با چند مکان همردیف شدند و به عبارت دیگر همردیفی چندگانه (Multiple alignments) داشتند. از این میان بیش از ۶۶۰۰۰ خوانش با بیش از ۲۰ مکان ژنومی همردیف شدند. نرخ مکان‌یابی کل (Overall read mapping rate) برای نژاد کلیستانی ۸۰/۶٪ بدست آمد. علاوه بر این، تعداد ۱۴۰۱۰۰۳۱ جفت خوانش دو سویه همردیف گردیدند که از این تعداد ۹/۴٪ (معادل ۱۳۱۵۱۰۴ جفت خوانش) همردیفی چندگانه و ۳٪ (معادل ۴۲۰۹۷۳ جفت خوانش) همردیفی ناجور (Discordant alignments) داشتند. به عبارت دیگر، نرخ همردیفی جفتی جور شده (Concordant pair alignment rate) ۷۰٪ بدست آمد.

نرخ مکان یابی برای خوانش های پیش رو و پس رو در نژاد

1- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRS454433
2- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRS454432
3- *SEQUENCE READ ARCHIVE*
4- *NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION*

هلشتاین بترتیب ۶۶/۳ و ۵۵/۴٪ به دست آمد. همچنین نرخ همردیفی چندگانه به ترتیب ۷/۳ و ۷/۱٪ و تعداد خوانش‌های با همردیفی بر روی بیش از بیست موقعیت ژنومی در حدود شصت هزار بود. نرخ همردیفی کل ۶۰/۸٪ و نرخ همردیفی جور شده ۵۱/۳٪ بدست آمد. در مجموع نرخ همردیفی در حد مطلوب ارزیابی شد.

**کشف SNPها:** با همردیفی خوانش‌های کوتاه بر روی ژنوم مرجع RNA-Seq و سپس همگذاری آنها، بر روی ترانسکریپتوم نمونه جمعیت گاو هلشتاین آمریکا و کلیستانی پاکستان به ترتیب ۵۰۱۸۳ و ۱۳۷۹۵۴ نشانگر SNP شناسایی شد. این دو فهرست ۱۵۳۰۸ جایگاه SNP مشترک با هم داشتند. تعداد SNP کشف شده برای نژاد کلیستانی تقریبا سه برابر نژاد هلشتاین بود. این امر احتمالا بواسطه این است که برای همردیفی هر دو نژاد، که یکی از آنها یعنی هلشتاین متعلق به گونه گاوهای *Bos taurus* و دیگری یعنی کلیستانی یک گاو زبو (*Zebu*) و متعلق به گونه *Bos indicus* است، از یک ژنوم مرجع یکسان با منشاء گاو هرفورد (که آن هم از دسته گاوهای *Bos taurus* است) استفاده شد. علاوه بر این در همردیفی از تنظیمات سخت گیرانه (Stringent) برنامه tophat2 استفاده نشد به گونه‌ای که ممکن است با وجود تعداد زیادی عدم انطباق (Mismatch) بین نوکلئوتیدهای واقع بر ترانسکریپتوم گاو کلیستانی و ژنوم مرجع، باز هم همردیفی بطور موفق انجام شود. از اینرو، بعدا در آنالیز کشف SNP، همه این عدم انطباق‌ها به عنوان SNP در نظر گرفته می‌شوند. علاوه بر این، تنظیمات گفته شده منجر به بالاتر رفتن نسبی نرخ همردیفی و مکان یابی نیز می‌شود. بخشی از SNPهای اضافی کشف شده بر روی توالی ترانسکریپتوم گاو کلیستانی نیز ممکن است ناشی از حدود ۲۰٪ نرخ بالاتر همردیفی و مکان یابی در کلیستانی نسبت به هلشتاین (۷۰/۱ در مقابل ۵۱/۳ درصد) باشد (جدول ۱).

**جدول ۱**- تعداد SNP کشف شده در هر یک از دو نژاد هلشتاین و کلیستانی به تفکیک هر کروموزوم

**Table 1-** The number of discovered SNP in two Holstein and Cholistani breed based on chromosome

| کروموزوم<br>Chromosome | طول کروموزوم<br>Chromosome length (bp) | SNPهای کشف شده در گاوهای کلیستانی<br>discovered SNP in Cholistani cows | SNPهای کشف شده در گاوهای هلشتاین<br>discovered SNP in Holstein cows |
|---|---|---|---|
| 1 | 158337067 | 5590 | 2079 |
| 2 | 137060424 | 5764 | 2277 |
| 3 | 121430405 | 6865 | 2741 |
| 4 | 120829699 | 4356 | 1837 |
| 5 | 121191424 | 7854 | 2872 |
| 6 | 119458736 | 3743 | 1572 |
| 7 | 112638659 | 7287 | 2423 |
| 8 | 113384836 | 3883 | 1550 |
| 9 | 105708250 | 2798 | 1075 |
| 10 | 104305016 | 5264 | 2110 |
| 11 | 107310763 | 7191 | 2511 |
| 12 | 91163125 | 3057 | 1228 |
| 13 | 84240350 | 5388 | 2035 |
| 14 | 84648390 | 2962 | 974 |
| 15 | 85296676 | 4164 | 1583 |
| 16 | 81724687 | 4474 | 1501 |
| 17 | 75158596 | 4804 | 1586 |
| 18 | 66004023 | 7879 | 2750 |
| 19 | 64057457 | 8426 | 2914 |
| 20 | 72042655 | 2085 | 760 |
| 21 | 71599096 | 3684 | 1279 |
| 22 | 61435874 | 4052 | 1257 |
| 23 | 52530062 | 5263 | 2457 |
| 24 | 62714930 | 2225 | 782 |
| 25 | 42904170 | 5694 | 1798 |
| 26 | 51681464 | 2735 | 887 |
| 27 | 45407902 | 1473 | 524 |
| 28 | 46312546 | 1982 | 720 |
| 29 | 51505224 | 3809 | 1120 |
| X | 148823899 | 2783 | 836 |
| ژنوم میتوکندریایی<br>mitochondrial genome | 16338 | 37 | 0 |
| توالی‌های غیر کروموزومی<br>Non-chromosomal sequences | 9499556 | 383 | 145 |
| کل<br>total | 2670422299 | 137954 | 50183 |

نسبت تعداد SNP به طول کروموزوم‌های مختلف نشان می‌دهد که ارتباط مستقیمی بین تعداد SNP های یافت شده و طول

کروموزوم‌ها وجود ندارد (جدول ۱). می‌توان نتیجه گرفت که رونویسی در تمام طول ژنوم با یک توزیع همگن و با پوشش یکسان صورت نمی‌گیرد. به عبارت دیگر، احتمالا برخی نواحی حامل ژن های کاندیدای بیشتر و یا ژن‌هایی هستند که برای جمعیت فوق اهمیت بیشتری داشته و رونویسی (بیان) در آن مناطق شدیدتر و با عمق بیشتری صورت گرفته است و در نتیجه این نواحی سهم بیشتری از کل ترانسکریپتوم اسمبل شده دارند. بالطبع SNPهای موجود در این نواحی نیز فراوانی بالاتر داشته و بعد از فیلتر همچنان در لیست باقی مانده‌اند.

**انواع SNP:** در مطالعه حاضر ۱۲ نوع SNP شناسایی شد. چهار نوع از SNP ها، از نوع جایگزینی نوکلئوتیدی عامل (transition) وهشت نوع از SNP ها، از نوع جایگزینی نوکلئوتیدی غیر عامل (transversion) بودند. شایعترین SNPهای شناخته شده، SNPهای از نوع جایگزینی نوکلئوتیدی عامل بودند، که به ترتیب ۷۰/۶٪ SNPها در نژاد کلیستانی و ۶۹/۶٪ SNPها در نژاد هلشتاین را شامل شد. نسبت جایگزینی نوکلئوتیدی عامل به جایگزینی غیر عامل (Ts/Tv) برای SNP ها در نژاد کلیستانی برابر با ۲/۴ و در نژاد هلشتاین برابر با ۲/۳ بود (جدول ۲)، که این نتایج با نتایج مطالعه عارف نژاد و همکاران (۱) بر روی اسب کاسپین و Jiang و همکاران (۵) روی ژنوم گاو مطابقت دارد. احتمال اینکه جایگزینی نوکلئوتیدی غیرعامل نسبت به جایگزینی نوکلئوتیدی عامل توالی اسیدآمینه پروتئین را تغییر دهد، بیشتر است. هر دو نوع جایگزینی می‌توانند منجر به جایگزینی اسیدآمینه شوند، اما تفاوت‌های بیوشیمیایی محصولات پروتئینی مرتبط با آن ها برای جایگزینی نوکلئوتیدی غیرعامل بیشتر است. از آنجا که جایگزینی نوکلئوتیدی غیرعامل علت تغییرات بزرگ در شکل رشته DNA است، تاثیر بیشتری بر روی اتصال فاکتورهای رونویسی و بنابراین بیان ژن دارد. اگر چه تفاوت‌های مشاهده شده کوچک هستند، اما این یافته‌ها یک ویژگی جدید و اساسی تغییرات تنظیمی را نشان می‌دهند. انحرافات ایجاد شده در نسبت (Ts/Tv) نشان دهنده انتخاب تکاملی ژن است (۱).

**جدول ۲- انواع SNP در هر یک از دو نژاد هلشتاین و کلیستانی**

**Table 2- SNP types in two Holstein and Cholistani breed**

| | کلیستانی Cholistani | | هلشتاین Holstein | |
|---|---|---|---|---|
| انواع SNP SNP types | 1 | 2 | 1 | 2 |
| A/C | 5564 | 4 | 1867 | 3/7 |
| C/A | 5105 | 3/7 | 2399 | 4/8 |
| A/T | 3385 | 2/5 | 1342 | 2/7 |
| T/A | 3328 | 2/4 | 1344 | 2/7 |
| C/G | 6131 | 4/5 | 1996 | 4 |
| G/C | 6227 | 4/5 | 2085 | 4/1 |
| G/T | 5249 | 3/8 | 2301 | 4/6 |
| T/G | 5584 | 4 | 1893 | 3/8 |
| C/T | 23602 | 17/1 | 8795 | 17/5 |
| T/C | 24954 | 18/1 | 8722 | 17/4 |
| A/G | 24862 | 18 | 8788 | 17/5 |
| G/A | 23963 | 17/4 | 8651 | 17/2 |
| کل Total | 37954 | 100 | 50183 | 100 |

[1] Number of SNP type
[2] Percent of SNP type

## نتیجه‌گیری کلی

در مجموع نتایج مطالعه حاضر دقت و صحت بالای شناسایی SNP های بدست آمده و نیز کارایی داده‌های RNA-Seq را در کشف SNP تایید می‌کند و علت تفاوت تعداد SNP کشف شده در مطالعه حاضر و مطالعات ذکر شده احتمالا ناشی از عوامل تاثیرگذار متعددی از جمله تفاوت گونه، نژاد، بافت، تعداد نمونه مورد مطالعه، عمق توالی‌یابی و ... است. تفاوت بیان بین دو آلل در یک موقعیت تک نوکلئوتیدی، زمینه ساز تنوع فنوتیپی شده و احتمالا بخش زیادی از واریانس بین این دو زیر گونه گاو به ویژه از نظر تنوع، حساسیت به بیماری، تحمل تنش های محیطی اعم از تنش های زیستی و غیر زیستی، صفات تولیدی و عملکردی نژاد در مقابله با انگل‌ها و شرایط محیطی مختلف را توجیه می‌کند. انتخاب نژاد کلیستانی به عنوان یک نژاد گاو گوشتی و زبو در کنار هلشتاین به عنوان یک نژاد شیری و متمایز برای آن است که دریابیم فهرست‌های SNP آنها چقدر متفاوت هستند. به این ترتیب وابستگی فهرستهای مستقل آنها به نوع نژاد

مشخص می‌گردد. در نهایت می‌توان در کنار فهرستهای مجزا، یک فهرست مشترک ارائه داد که در هر دو نژاد کارایی داشته باشد.

این مطالعه فهرستی از تعداد قابل ملاحظه ای SNP بر ترانسکریپتوم جمعیتی از گاوهای هلشتاین و کلیستانی ارایه می‌دهد که بسیاری از آنها در مقایسه با SNP های موجود در آرایه‌های مرسوم، جدید هستند. مطالعه حاضر سرآغازی بر ورود بر عصر جدیدی از ارزیابی و انتخاب در حیوانات اهلی است که می‌تواند با بهره گیری از سطوح مختلف داده‌های اومیکس ادامه یابد و روند پیشرفت ژنتیکی را در جمعیتهای دامی بهبود بخشد.

## منابع


1. Arefnezhad, B., H. Kohram, M. Moradi Shahre Babak, M. Shakeri, Y. Dong, X. Zhang, W. Wang, and G. H. Hosseini Salekdeh. 2015. Genetic Variant Detection of Caspian Horse Using High-throughput Sequecing Technology (in Persian). Journal of Agriculture Biotechnology, 4:101-116. (In Persian).
2. Cánovas, A., G. Rincon, A. Islas-Trejo, S. Wickramasinghe, and J. F. Medrano. 2010. SNP discovery in the bovine milk transcriptome using RNA-Seq technology. Mammalian genome, 21:592-598.
3. Flintoft, L. 2008. Transcriptomics: Digging deep with RNA-Seq. Nature Reviews Genetics, 9(8):568- 568.
4. Huang, W., A. Nadeem, B. Zhang, M. Babar, M. Soller, and H. Khatib. 2012. Characterization and Comparison of the Leukocyte Transcriptomes of Three Cattle Breeds. Plos one, 7(1):e30244.
5. Jiang, Z., X. L. Wu, M. Zhang, L. M. Jennifer, and R. W. Wright. 2008. Thw complementary neighborhood patterns and methylation to mutation Likelihood structure of 15, 110 Single Nucleotide Polymorphisms in the bovine genome. Genetics, 180 (1): 639-647.
6. Park, K. D., J. Park, J. Ko, B. C. Kim, H. S. Kim, K. Ahn, K. T. Do, H. Choi, H. M. Kim, S. Song, S. Lee, S. Jho, , H. S. Kong, Y. M. Yang, B. H. Jhun, C. Kim, T. H. Kim, S. Hwang, J. Bhak, H. K. Lee, and B. W. Cho. 2012. Whole transcriptome analyses of six thoroughbred horses before and after exercise using RNA-Seq. BMC Genomics, 13:473.
7. Pennisi, E. 2012. ENCODE Project Writes Eulogy for Junk DNA. Science, 337(6099):1159 - 1161.
8. Sharma, U., P. Banerjee, J. Joshi, and R. K. Vijh. 2012. Ubiquitous Expression of Genes in tissues of Goat (*Capra hircus*) Using RNA-seq. International Journal of Animal and Veterinary Advances, 4(4):292 - 302.
9. Meuwissen, T, and M. Goddard. 2010. Accurate prediction of genetic values for complex traits by whole-genome resequencing. Genetics, 185:623 - 631.
10. Wang, Z., M. Gerstein, and M. Snyder. 2009. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. Nature Reviews Genetics, 10:57 - 63.
11. Wang, L., Y. Zhang, M. Zhao, R. Wang, R. Su, and J. Li. 2015. SNP Discovery from Transcriptome of Cashmere goat skin. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 28(9):1235 - 1243.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2021, p. 313-319

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۳۱۹-۳۱۳

# Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Discovery on Transcriptomes of American Holstein and Pakistanian Cholistani Cows

**Mojgan Ghasemi-Siab[1], Sheida Varkoohi*[2] and Mohammad Hossein Banabazi[3]**

Submitted: 29-07-2019
Accepted: 02-06-2020

**Introduction** (SNPs) are single nucleotide base variations, caused by transitions (C/T or G/A) or transversions (C/G, C/A, or T/A, T/G), in the same position between individual genomic DNA sequences. Single nucleotide polymorphisms have been applied as important molecular markers in genetics and breeding studies. About 40% of the Single nucleotide polymorphisms in the genes cause a change in an amino acid. The rapid advance of next generation sequencing provides a high-throughput means of SNP discovery. Transcriptome study can fill the gap between genotype and phenotype and help understanding the mechanisms from sequence to function. RNA sequencing (RNA-Seq) is a next generating sequencing based technology for studying of whole transcriptome and gene expression. It simultaneously enables study of transcriptomics sequences and very accurate quantitative gene expression (digital expression). Hence, these data are very suitable for high-throughput study of expression level of all transcribed genes and their SNPs (Single Nucleotide Polymorphism. Recently, RNA-Seq has also been used as an efficient and cost-effective method to systematically identify SNPs in transcribed regions in different species. A transcriptomics-based sequencing approach offers a cheaper alternative to identify a large number of polymorphisms and possibly to discover causative variants.

**Materials and Methods** In this study, RNA-Seq data were used to SNP discovery in American Holstein (*Bos taurus*) and Pakistanian Cholistani (*Bos indicus*) cows. RNA-Seq data of 21,078,477 and 20940063 paired end reads with 75 bp length resulted from pooling of whole blood samples of 40 Holstein cows at the University of Wisconsin, Dairy Cattle Center, USA, and 45 Cholistani cows at Gujait Peer Farm, Bahawalpur, Punjab, Pakistan, respectively, obtained from SRA database in NCBI for Holstein cows (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRX317197) and Cholistani cows http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRS454433). MRNA sequencing was run on Illumina Genome Analyzer IIx (Illumina Inc., San Diego, CA). Data were converted from Sra format to Fastq format by fastq-dump command from Ubuntu linux version of Sratoolkit 2.5.4-1. Data quality control was checked by FastQC (v0.11.3) likewise trimmed for linked adaptors and bad quality reads by Trimmomatic 0.33 Adaptors were considered according to sequencing instrument as default (TruSeq2-PE.fa) and the minimum read length was set at 50 bp. Trimmed reads were aligned on UMD3.1 reference genome (release 81) based on annotation data by Tophat2, which applies Bowtie2 as the aligner. The transcriptome was assembled by TopHat2 software in two cow's population by aligning and mapping the RNA-Seq reads on bovine reference genome. The SNPs were discovered by Samtools software.

**Results and Discussion** After data editing, the removed and low quality reads in both breeds were almost equal and relatively low. The length of whole transcriptome assembled, for example 52798651 bases in Holstein, indicates around 2% of the whole genome (around 2.6 Mbp) expressed as mRNA. In Cholistani cows, read mapping rate for forward and reverse reads were 81.3 and 79.9%, respectively, and multiple alignments rate was about 9.4%. Overall read mapping was 80.6% and concordant pair alignment was 70.1%. In Holstein cows, read mapping rate for forward and reverse reads were 66.3 and 55.4%, respectively, and multiple alignments rate was about 7.2%,. Overall read mapping was 60.8% and concordant pair alignment was 51.3%. Results show that 50183 and 137954 SNPs were discovered on the assembled transcriptome of Holstein and Cholistani cow's samples, respectively, and 15308 SNPs were common in both breeds. No direct relation was found between the number of discovered SNPs and the chromosome length. Also 12 SNP types were identified including 4 transition and 8 transversion. The most commonly discovered SNP were transition, which were 70.6% in Cholistani and 69.6% in Holstein cows. The ratio of transition to transversion SNP (Ts / Tv) was 2.4 and 2.3 in Cholistani and Holstein cows, respectively. The number of discovered SNPs in Cholistani cows were approximately three times higher than Holstein cows. Because, for the alignment of both species used a same reference

1. Master Graduated, Department of Animal Science, College of Agriculture & Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture & Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Biotechnology, Animal Science Research Institute of IRAN (ASRI), Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
(*- Corresponding Author Email: s.varkoohi@gmail.com)
DOI:10.22067/ijasr.v13i2.82194

genome with Herford origin.

**Conclusion** the expression difference between two alleles in a single-nucleotide position causes phenotype diversity and probably explains the large part of variances between these two bovine subspecies, especially in diversity, susceptibility to disease and parasites, tolerating environmental stress such as biological and non-biological stresses in different environmental conditions. While, differential gene expression analysis or even allelic specific expression in gene level may not be able to explain phenotype diversity.

**Key words:** Chromosome length, Nucleotide replacement, RNA-Seq data.

**Contents**

**Ruminant Nutrition**

**Effects of some plant essential oils and probiotic (Protexin) on performance, nutrient digestibility and blood metabolites of Holstein dairy calves** **172**
Farshid Sarraf, Alireza Vakili and Mohsen Danesh Mesgaran

**Effect of Calcium Salts of Fatty Acids on Performance and Milk Fatty Acids Profile in Holstein Cows** **191**
Javad nasiri, Hassan aliarabi and Pouya zamani

**The effect of Slow-Release Bolus of Copper on Performance and Some Blood Metabolites of Lori-Bakhtiari Pregnant Ewes and Their Lambs** **204**
Parvin Nasr Chaleshtori, Amir Fadayifar, Ayob Azizi and Arash Azarfar

**Investigationg nutritive value of wheat straw and sugarcane tops treated with bacteria with lignin and lignocellulose-degrading potential isolated from *Zeuzera pyrina* L. larvae gut** **219**
Ayoub Azizi, Jahanshir Shakarami, Fahimeh Dehghanikhah and Afrooz Sharifi

**The effect of dietary flaxseed supplementation on sperm fatty acid composition, semen quality attributes and some blood parameters in Kurdish ram** **232**
Saeed Firouzeh, Amir Hooshang Fallah rad, Pezhman Mirshokraei , Abbas Parham and Mohsen Daneshmesgaran

**Poultry Nutrition**

**Determination of wheat distillers dried grains Analysis and effect DDGS on performance and histological characteristics of jejunum in broiler chickens in starter and finisher** **247**
Heshmat Sepehri Moghadam, Zainab Noori, Amir Azarli and Alireza Hesabi Nameghi

**Effect of *Hyssopus Officinalis*, Aspirin and Virginiamycine on Performance, Blood Metabolites, Carcass Parameters and Ileum Microbial Population of Broiler Chicken under Cold Stress** **261**
Nazar Akbarizadeh, Ali Khatibjoo, Seifali Varmaghany, Hooshang Jafari and Alinaghi Shokri

**Effects of Different Levels of Black Seed Meal on Laying Hens Performance in Second Production Cycle** **272**
Mohammad Reza Ghorbani, Ahmad Tatar, Somayyeh Salari, Mohammad Hadi Soleimani and Solmaz Khalili Samani

**Determination of Metabolisable Energy of Wheat Processed at Different Temperatures and Effect of their Inclusion in Mash Diets with and without Enzyme Supplementation on Small Intestine Morphology and Growth Performance of Broiler Chickens During 11-24 days** **289**
Mohammad Reza Salavati, Abolghasem Golian, Ahmad Hassanabadi

**Effect of silver nanoparticles and ,rebiotic on growth performance, microbial population of ceca and blood indices inbroiler chicken** **301**
Reza Vakili and Qasem Ramazani

**Genetic and Breeding**

**Estimation of Genetic Parameters for Lamb Survival Traits of Arabi sheep using Linear and Weibull Models** **311**
Nasir Karimi, Mohammad Taghi Beigi Nasiri and Arsalan Barazandeh

**Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Discovery on Transcriptomes of American Holstein and Pakistanian Cholistani Cows** **318**
Mojgan Ghasemi-Siab, Sheida Varkoohi and Mohammad Hossein Banabazi

« Scientific Journal»
# Iranian Journal of Animal Science Research

**Vol. 13** **No. 2** **Summer 2021**

**Publisher:** Ferdowsi University of Mashhad (F.U.M.)
**Responsible Manager:** H. Nassiri Moghaddam (Prof.)
**Editor-in-Chief:** R. Valizadeh (Prof.)

**Editorial Board:**

| | | | |
|---|---|---|---|
| R. Valizadeh | Ruminant Nutrition | (Prof.) | (F.U.M.) |
| M. Danesh Mesgaran | Ruminant Nutrition | (Prof.) | (F.U.M) |
| G.R. Ghorbani | Ruminant Nutrition | (Prof.) | Esfahan Technology University |
| S.M. Tabatabaee | Ruminant Nutrition | (Prof.) | Bo Ali-Sina University of Hamedan |
| M. Chaji | Ruminant Nutrition | (Asso. Prof.) | Agricultural Science and Natural Resourses University Of Khuzestan |
| H. Nassiri-Moghaddam | Poultry Nutrition | (Prof.) | (F.U.M.) |
| A. Golian | Poultry Nutrition | (Prof.) | (F.U.M.) |
| J. Pour-Reza | Poultry Nutrition | (Prof.) | Esfahan Technology University |
| F. Boldaji | Poultry Nutrition | (Prof.) | Gorgan Agricultural and Natural Resources University |
| A. Hassanabadi | Poultry Nutrition | (Prof.) | (F.U.M.) |
| B. Dastar | Poultry Nutrition | (Prof.) | Gorgan Agricultural and Natural Resources University |
| J. Zamiri | Animal Physiology | (Prof.) | Shiraz University |
| N. Pirani | Genetics & breeding | (Asso. Prof.) | Shahre kord University |
| M.R. Nassiri | Genetics & breeding | (Prof.) | (F.U.M.) |
| M.Tahmoores pour | Genetics & breeding | (Prof.) | (F.U.M.) |
| S. Zerehdaran | Genetics & breeding | (Prof.) | (F.U.M.) |
| M. Sargolzaei | Genetics | (Asso. Prof.) | University of Guelph, Canada |

**Printed by:** Ferdowsi University of Mashhad, Press.

**Address:** P.O. Box 91775-1163, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

**Phone:** +98-51-38804656

**Fax:** +98-51-38787430

**E-Mail:** ijasr@ferdowsi.um.ac.ir

**Web Site:** https://ijasr.um.ac.ir