



وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

پژوهشهای تولیدات دامی (علمی)

ISSN 2251-8622

سال یازدهم، شماره ۳۰، زمستان ۱۳۹۹

مندرجات:

- ۱ اثر مکمل سازی جیره با منابع آلی و معدنی سلنیوم بر کیفیت منی منجمد یخ گشایی شده در خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو با دگرآمتازون
نامدار کامرانی، امیرکریمی، ذبیح‌اله نعمتی و مقصود بشارتی
- ۱۱ تأثیر اورسولیک اسید بر بیان ژن‌های MyoD، Pax-7 و میوزین و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای در جوجه‌های بومی هنگامه مرادی، عبدالله محمدی سنگ چشمه، سید داوود شریفی، سیم زر حسین‌زاده، احسان سید جعفری و عبدالرضا صالحی
- ۲۰ اثر توازن الکترولیتی جیره و پروبیوتیک بر عملکرد و خصوصیات لاشه‌های بلدرچین‌های ژاپنی در شرایط تنش حرارتی محمدرضا مفیدی، مصطفی یوسف الهی، هوشنگ لطف الهیان، فرزاد باقرزاده کاسمانی و محمدرضا دهقانی
- ۳۱ اثرات دانه کتان اکستروود شده و اسید لینولنیک مزدوج بر عملکرد رشد گوساله‌های شیرخوار هلشتاین محسن رضانی، فرزاد میرزائی آقچه قشلاق و بهمن نوید شاد
- ۳۹ اثر دانه کلزا (خام و برشته) و سطوح کنساتره جیره بر عملکرد و صفات کمی و کیفی لاشه بره‌های نر لری بهروز یاراحمدی، محسن محمدی ساعی، علیرضا چکنی، نادر بایی و علیرضا آقاشاهی
- ۴۹ اثر سطوح مختلف سیب‌زمینی بر قابلیت هضم مواد مغذی، آنزیم‌های فیبرولیتیک و فراسنجه‌های شکمبه‌ای در میش‌های دالاق کتایون مهرانی، تقی قورچی، عبدالحکیم توغدری و راحله رجایی علی‌آبادی
- ۵۷ بررسی تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم روده‌های کنجاله سویا و کنجاله کلزا پوشش دار شده با منابع مختلف چربی محسن ابراهیمی، مهدی گنج‌خانلو، مهدی دهقان بنادکی، ابوالفضل زالی و کامران رضایزدی
- ۶۶ بررسی نقش گیرنده‌های کورتیکوتروپینی بر مصرف غذا با استفاده از آگونیست گیرنده‌های M3 و M4 ملانوکورتینی در جوجه‌های گوشتی فریبا احمدی دشتیانی، مورخه ژنده دل، وهاب باباپور و دکار پناهی
- ۷۴ تأثیر پودر بهار نارنج بر عملکرد رشد، اجزای لاشه و برخی فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی میکائیل قلی‌پور، وحید واحدی، شاهین حاجی قهرمانی و زریخت انصاری پیرسرای
- ۸۳ تأثیر مصرف سطوح مختلف پیتیده‌های زیست‌فعال کنجاله پنبه‌دانه بر راندمان تولید و فعالیت آنژی اکسیداتیو سرمی جوجه‌های گوشتی محمد محمدرضائی، بهمن نویدشاد و عباسعلی قیصری
- ۹۲ اثر پودر میوه گیاه پنج‌انگشت بر بیان ژن GnRH هیپوتالاموس مرغان تخمگذار راضیه صباچی، محمود نظری، محمدتقی بیگی‌نصیری و محمدرضا قربانی
- ۱۰۱ تغییرات صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی تحت تاثیر روش‌های آماری برآورد اثر نشانگری، خصوصیات جمعیت و معماری ژنتیکی صفت عباس عاطفی، عبدالاحد شادپور و نوید قوی حسین‌زاده
- ۱۰۹ اثر اندازه جمعیت مرجع و روش‌های استنباط ژنوتیپ بر صحت استنباط در جمعیت‌های خالص و آمیخته یحیی محمدی و جواد احمدپناه
- ۱۱۵ برآورد فراسنجه‌های فتوتیپی و ژنتیکی صفات کیفیت تخم در مرغان بومی آذربایجان افسانه جاهدی، جلیل شجاع، صادق علیجانی و مجید علیایی
- ۱۲۶ ارتباط چندشکلی اگزون یک ژن Kiss با صفت چندقلوایی در گوسفندان نژاد ستجایی و قزل‌بهروش PCR-SSCP نیمه پاک طیبت، علی هاشمی، مختار غفاری، حسن خمیس آبادی و روناک صالحی
- ۱۳۴ مدل‌سازی معادلات ساختاری سازه‌های ژنتیکی پنهان تولیدی، تولید مثلی و ماندگاری در گاوهای هلشتاین ایران مصطفی قادری‌زفرمای، فرشاد گرانود، آزاده ترابی و سیدصمد بهشتی

«فراخوان»

نظر به اخذ اعتبار علمی- پژوهشی "پژوهشهای تولیدات دامی" از متخصصان و محققان ارجمند دعوت به عمل می‌آید، مقالات مرتبط با عنوان مجله را جهت انتشار به آدرس پایگاه مجلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری (<http://rap.sanru.ac.ir>) ارسال نمایند.

با تشکر
مدیر مسوول

«بسمه تعالی»

براساس مصوبه کمیسیون بررسی نشریات علمی کشور در جلسه مورخه ۱۳۹۰/۸/۲۵ که طی نامه شماره ۱۷۹۸۶۷ مورخه ۱۳۹۰/۹/۱۲ ابلاغ شد، با اعطای اعتبار علمی- پژوهشی به نشریه پژوهشهای تولیدات دامی (از سال اول شماره ۲ پاییز و زمستان ۱۳۸۹) موافقت به عمل آمد.



سال یازدهم، شماره ۳۰، زمستان ۱۳۹۹

مندرجات:

- ۱ اثر مکمل سازی جیره با منابع آلی و معدنی سلنیوم بر کیفیت منی منجمد یخ گشایی شده در خروس های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو با دگزامتازون
نامدار کامرانی، امیر کریمی، ذبیح اله نعمتی و مقصود بشارتی
- ۱۱ تأثیر اورسولیک اسید بر بیان ژن های MyoD، PAX-7 و میوزین و تکثیر سلول های ماهواره ای در جوجه های بومی
هنگامه مرادی، عبدالله محمدی سنگ چشمه، سید داوود شریفی، سیم زر حسین زاده، احسان سید جعفری و عبدالرضا صالحی
- ۲۰ اثر توازن الکترولیتی جیره و پروبیوتیک بر عملکرد و خصوصیات لاشه ای بلدرچین های ژاپنی در شرایط تنش حرارتی
محمد رضا مفیدی، مصطفی یوسف الهی، هوشنگ لطف الهیان، فرزاد باقرزاده کاسمانی و محمدرضا دهقانی
- ۳۱ اثرات دانه کتان اکسترورد شده و اسید لینولئیک مزدوج بر عملکرد رشد گوساله های شیرخوار هلشتاین
محسن رضائی، فرزاد میرزائی آقچه قشلاق و بهمن نوید شاد
- ۳۹ اثر دانه کلزا (خام و برشته) و سطوح کنسانتره جیره بر عملکرد و صفات کمی و کیفی لاشه بره های نر لری
بهرروز یاراحمدی، محسن محمدی ساعی، علیرضا چگنی، نادر پای و علیرضا آقا شاهی
- ۴۹ اثر سطوح مختلف سیب زمینی بر قابلیت هضم مواد مغذی، آنزیم های فیبرولیتیک و فراسنجه های شکمبه ای در میش های دالاق
کنایون مهرانی، تقی قورچی، عبدالحکیم توغدری و راحله رجبی علی آبادی
- ۵۷ بررسی تجزیه پذیری شکمبه ای و قابلیت هضم روده ای کنجاله سویا و کنجاله کلزا پوشش دار شده با منابع مختلف چربی
محسن ابراهیمی، مهدی گنج خانلو، مهدی دهقان بنادکی، ابوالفضل زالی و کامران رضایزدی
- ۶۶ بررسی نقش گیرنده های کورتیکوتروپینی بر مصرف غذا با استفاده از آگونیست گیرنده های M3 و M4 ملانوکورتینی در جوجه های گوشتی
فریبا احمدی دشتیانی، مرتضی زنده دل، وهاب باباپور و نگار پناهی
- ۷۴ تأثیر پودر بهار نارنج بر عملکرد رشد، اجزای لاشه و برخی فراسنجه های خونی در جوجه های گوشتی تحت تنش گرمایی
میکائیل قلی پور، وحید واحدی، شاهین حاجی قهرمانی و زریخت انصاری پیرسرای
- ۸۳ تأثیر مصرف سطوح مختلف پپتیدهای زیست فعال کنجاله پنبه دانه بر راندمان تولید و فعالیت آنتی اکسیدانی سرمی جوجه های گوشتی
محمد محمدرضائی، بهمن نویدشاد و عباسعلی قیصری
- ۹۲ اثر پودر میوه گیاه پنج انگشت بر بیان ژن GnRH هیپوتالاموس مرغان تخمگذار
راضیه صباحی، محمود نظری، محمدتقی بیگی نصیری و محمدرضا قربانی
- ۱۰۱ تغییرات صحت ارزش های اصلاحی ژنومی تحت تاثیر روش های آماری برآورد اثر نشانگری، خصوصیات جمعیت و معماری ژنتیکی صفت
عباس عاطفی، عبدالاحد شادپرور و نوید قوی حسین زاده
- ۱۰۹ اثر اندازه جمعیت مرجع و روش های استنباط ژنوتیپ بر صحت استنباط در جمعیت های خالص و آمیخته
یحیی محمدی و جواد احمدپناه
- ۱۱۵ برآورد فراسنجه های فنوتیپی و ژنتیکی صفات کیفیت تخم در مرغان بومی آذربایجان
افسانه جاهدی، جلیل شجاع، صادق علیجانی و مجید علیایی
- ۱۲۶ ارتباط چندشکلی اگزون یک ژن Kiss1 با صفت چندقلو زایی در گوسفندان نژاد سنجابی و قزل به روش PCR-SSCP
نعیمه پاک طینت، علی هاشمی، مختار غفاری، حسن خمیس آبادی و روناک صالحی
- ۱۳۴ مدل سازی معادلات ساختاری سازه های ژنتیکی پنهان تولیدی، تولید مثل و ماندگاری در گاوهای هلشتاین ایران
مصطفی قادری زفرهای، فرشاد گراوند، آزاده ترابی و سیدصمد بهشتی

دکتر مرضیه ابراهیمی

استادیار، دانشگاه تبریز

دکتر محمدعلی بهروزی لک

دکتری، دانشگاه ارومیه

دکتر رضا بهرام

استادیار، دانشگاه محقق اردبیلی

دکتر آزاده ترابی

استادیار، دانشگاه پیام نور

دکتر حسنا حاجاتی

مدرس دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر مهدی خدایی مطلق

دانشیار، دانشگاه اراک

دکتر غلامرضا دانشاب

دانشیار، دانشگاه زابل

دکتر حمید دلدار

دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دکتر عیسی دیرنده

دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دکتر فرجاد رفیعی

استادیار، دانشگاه گیلان

دکتر رضا سیدشریفی

دانشیار، دانشگاه محقق اردبیلی

دکتر بهاره طاهری دزفولی

استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

دکتر امید عشایری زاده

استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دکتر فرها غفوری کسبی

استادیار، دانشگاه بوعلی سینا همدان

دکتر ابوب فرهادی

دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دکتر ابراهیم قاسمی

استادیار، دانشگاه صنعتی اصفهان

دکتر محسن قلی زاده

دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دکتر تقی قورچی

استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دکتر فرزاد قنبری

استادیار دانشگاه گنبد کاووس

دکتر محمد کاظمی فرد

دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دکتر بهرام محتشمی

دکتری، دانشگاه ارومیه

دکتر محمدرضا محمدآبادی

استاد، دانشگاه شهید باهنر کرمان

دکتر شهریار مقصودلو

استادیار، دانشگاه گنبد کاووس

دکتر سیدرضا هاشمی

استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دکتر سارا یوسفیان

دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مدیر مسوول: منصور رضایی

سر دبیر: قدرت رحیمی میانجی

مدیر اجرایی مجلات علمی - پژوهشی دانشگاه: رحمت عباسی

هیئت تحریریه:

انصاری پیرسرای، زربخت

بلداجی، فتح الله

تربتی نژاد، نورمحمد

تیموری، اسدالله

جعفری آهنگری، یوسف

حافظیان، سیدحسین

رحیمی میانجی، قدرت

رضائی، منصور

شیوازاد، محمود

مرادی شهر بابک، محمد

نصیری مقدم، حسن

دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

استاد، دانشگاه تهران

استاد، دانشگاه تهران

استاد، دانشگاه فردوسی مشهد

ویراستار علمی: قدرت رحیمی میانجی

صفحه آرایی: دفتر پژوهشنامه - فاطمه اسماعیلی

تیراژ: ۱۰۰ نسخه

قیمت: ۱۰۰۰۰۰ ریال

نشانی: ساری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ص- پ ۵۷۸

تلفن و دورنگار: ۰۱۱-۳۳۶۸۷۴۳۷

پست الکترونیکی: journal@sanru.ac.ir

آدرس پایگاه: http://rap.sanru.ac.ir

این نشریه دارای مجوز انتشار از وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی به شماره ۸۶۰۱۶ تاریخ ۱۳۹۸/۱۰/۲ است.

این پژوهشنامه مسوول آرا و نظریات مندرج در مقالات نیست.

مقالات دریافت شده برگردانده نمی شود.

پژوهشنامه در ویرایش مطالب آزاد است.

به نام خدا

راهنمای نگارش و تدوین مقالات در پژوهشهای تولیدات دامی

۱- اهداف

(۱) اشاعه و نشر نتایج تحقیقات و پژوهش‌های انجام شده در زمینه علوم دام، (۲) کمک به توسعه و اعتلای دانش در زمینه علوم دام و (۳) فراهم نمودن زمینه مناسب تبادل افکار و اطلاعات بین مراکز دانشگاهی و تحقیقاتی کشور در زمینه علوم دام.

۲- موضوع مقالات

تغذیه دام‌های بزرگ و کوچک، تغذیه طیور، ژنتیک و اصلاح نژاد طیور، ژنتیک و اصلاح نژاد گاوهای شیری، ژنتیک و اصلاح نژاد گاوهای گوشتی، ژنتیک و اصلاح نژاد گوسفند و بز، تولیدات دامی، بیماری‌های دام و طیور

۳- شرایط بررسی مقالات

این نشریه مقالات دریافتی با ویژگی‌های زیر را برای چاپ مورد بررسی قرار می‌دهد:

- در راستای موضوعات تعیین شده بالا باشد.
- حاصل مطالعات، تجربه‌ها و پژوهش‌های نویسنده (گان) باشد.
- نتیجه مرور گسترده و تحلیل یافته‌های پیشین باشد.
- مقاله قبلاً در نشریه دیگری چاپ نشده و یا زیر چاپ نباشد. حق چاپ پس از پذیرش مقاله برای نشریه محفوظ است و نویسنده (گان) نباید مقالات خود را به مجلات علمی-پژوهشی یا ترویجی دیگری (چه به زبان فارسی یا سایر زبان‌ها) ارسال نمایند.
- مقاله‌های ارسالی مطابق با راهنمای نگارش مجله آماده شده باشد. در صورت عدم رعایت راهنمای نگارش مقاله به داوران جهت ارزیابی علمی ارسال نخواهد شد.

۴- راهنمای نگارشی

هیأت تحریریه پژوهشهای تولیدات دامی، رعایت دقیق دستورالعمل زیر را به عنوان شرایط پذیرش مقاله ضروری می‌داند:

بخش‌های مختلف مقاله به ترتیب شامل ۱- عنوان، ۲- چکیده فارسی، ۳- واژه‌های کلیدی، ۴- مقدمه، ۵- مواد و روش‌ها، ۶- نتایج و بحث، ۷- تشکر و قدردانی، ۸- منابع و ۹- چکیده به زبان انگلیسی می‌باشد.

۴-۱- عنوان

عنوان مقاله باید خلاصه و گویا بوده و از ۲۵ کلمه تجاوز نکند.

۴-۲- چکیده

چکیده فارسی و انگلیسی مجموعه فشرده و گویایی از مقاله با تأکید بر هدف، روش تحقیق و نتایج بوده و در یک پاراگراف پیوسته و حداکثر ۳۰۰ کلمه باشد. چکیده انگلیسی برگردان جامعی از چکیده فارسی باشد.

۴-۳- واژه‌های کلیدی

واژه‌های کلیدی شامل حداقل پنج و حداکثر هشت کلمه مجزا درباره موضوع پژوهش بوده که در صورت امکان شامل کلمات موجود در عنوان نباشد. واژه‌های کلیدی انگلیسی در زیر چکیده انگلیسی و به ترتیب الفبایی معادل واژه‌های کلیدی فارسی آورده شود.

۴-۴- مقدمه

مقدمه در برگزیده بیان مسأله، معرفی و ضرورت تحقیق و اشاره به پژوهش‌های پیشین باشد و در آخر آن در یک جمله یا پاراگراف به هدف یا اهداف پژوهش انجام شده، اشاره شود.

۴-۵- مواد و روش‌ها

به شرح کامل منطقه، محل و زمان اجراء، روش‌های نمونه‌گیری، مواد و وسایل بکار رفته، طرح آزمایش و روش‌های اندازه‌گیری و تجزیه و تحلیل آماری پرداخته شود.

۴-۶- نتایج و بحث

تمام نتایج کمی و کیفی تحقیق با استناد به جدول و شکل (منحنی، نمودار، تصویر یا عکس، نقشه) در این بخش ارائه شود. در همین قسمت نتایج به دست آمده با توجه به اهداف تحقیق و یافته‌های دیگران مورد بحث قرار گیرد. توصیه و پیشنهادها، تحقیقاتی نیز در این بخش گنجانده شود.

۴-۷- تشکر و قدردانی

نویسنده (گان) مقاله می‌توانند در این بخش از تأمین‌کنندگان بودجه و کمک‌کنندگان به انجام تحقیق سپاسگزاری نمایند (این بخش اختیاری است).

۴-۸- منابع

– منابع مورد استفاده به صورت لاتین و به ترتیب حروف الفبای نام خانوادگی اولین نویسنده شماره‌گذاری شده و در انتهای مقاله آورده شود.

– در صورت وجود چند نویسنده، پس از نوشتن نام خانوادگی و حرف اول نام نویسنده اول، برای سایر نویسندگان ابتدا حرف اول نام و سپس نام خانوادگی هر یک از آنان آورده شود.

– به نام کامل مجلات اشاره شود. همچنین حرف اول هر کلمه در نام مجله به صورت بزرگ (Capital) باشد.

– مکان مناسب نقطه، ویرگول، دو نقطه و فاصله مانند مثال‌های زیر مورد توجه قرار گیرد.

– تنها حرف اول نخستین کلمه در عنوان منابع به صورت حرف بزرگ (Capital) باشد.

– در متن مقاله، منابع مورد استفاده با ذکر شماره در داخل پرانتز معرفی شوند. بین شماره‌های منابع فاصله نباشد و فقط از ویرگول استفاده شود (۴،۲،۱۸).

– به هنگام استناد به نام نویسنده (گان) در متن مقاله، شماره منبع در داخل پرانتز جلو نام نویسنده (گان) آورده شود و از اشاره به سال خودداری شود (ابراهیمی و همکاران (۴) در تحقیقی دریافتند که ...)

– اگر نویسندگان منابع مورد استناد بیش از دو نفر باشند، در متن نام خانوادگی نویسنده اول را آورده و از کلمه " و همکاران" استفاده شود.

– برای کتاب‌های ترجمه شده، نوشتن منبع بر اساس نام خانوادگی و نام مترجمین باشد.

– در مورد کتاب به ترتیب: مؤلفین (مترجمین)، سال انتشار، عنوان کامل کتاب، شماره جلد، شماره ویرایش، ناشر، شهر و کشور ناشر و تعداد صفحات کتاب.

Leeson, S. and J.D. Summers. 2005. Commercial poultry nutrition. 3rd edn., Nottingham University Press, Nottingham, UK, 398 pp.

– اگر فصلی از کتاب ویراستاری شده مورد استفاده قرار گرفت به ترتیب: نویسنده (گان) فصل، سال انتشار کتاب، عنوان فصل، رجوع به کتاب اصلی با

کلمه In: ویراستار (ویراستاران) کتاب با ed. یا eds. داخل پرانتز، عنوان کتاب، شماره صفحات فصل، ناشر، شهر و کشور ناشر.

Ammerman, C.B., P.R. Henry and R.D. Miles. 1998. bound mineral compounds in Supplemental organically P.C. and J. Wiseman livestock nutrition. In: Garnsworthy, 67-91 pp., (eds.) Recent advances in animal nutrition. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

– در مورد مقاله به ترتیب: نویسنده (گان)، سال انتشار مقاله، عنوان مقاله، عنوان مجله، شماره جلد، شماره مجله در داخل پرانتز و اولین و آخرین صفحات مقاله در مجله.

Ceyhan, A., T. Sezenler and S. Erdogan. 2009. The estimation of variance components for prolificacy and growth traits of Sakiz sheep. *Livestock Science*, 122: 68-72.

- در مورد مقالات کنفرانسی به ترتیب: نویسنده(گان)، سال انتشار، عنوان مقاله، عنوان کنفرانس، شماره صفحات، محل (شهر و کشور) برگزاری.

Alders, R.G., P.B. Spradbrow, M.P. Young, B.V. Mata, J. Meers, Q.J.P. Lobo and J.W. Copland. 2001. Improving rural livelihoods through sustainable Newcastle disease control in village chickens. *Proceedings of the 10th international conference of the association of institutions for tropical veterinary medicine*, 199-205 pp., Copenhagen, Denmark.

- در مورد پایان نامه به ترتیب: نویسنده، سال، عنوان، مقطع پایان نامه (B.Sc., M.Sc., Ph.D.)، دانشگاه، شهر، کشور، تعداد صفحات.

Alijani, S. 2010. Major genes detection in farm animals using statistical bayesian and molecular methods. PhD Thesis, Tehran University, Karadj, Iran. 142 pp (In Persian).

- تمام منابعی که به فارسی چاپ شده‌اند با نوشتن (In Persian) در انتها از منابع غیر فارسی متمایز شوند.

Rajabzadeh Nosvan, M. and M. Rezaei. 2012. Effect of L-Carnitine supplementation to diets with different sources of fat on performance, body composition and blood parameters in broiler chickens. *Research on Animal Production*, 3: 40-52 (In Persian).

- برای منابعی که توسط مؤسسه یا سازمان بدون ذکر نام افراد به چاپ رسیده می‌توان نام مؤسسه یا سازمان در ابتدا آورده شود یا این که از کلمه بی‌نام (Anonymous) استفاده شود.

- برای منابع اینترنتی آدرس کامل اینترنتی آن در انتهای منبع آورده شود.

- در صورت استفاده از منابعی که زیر چاپ هستند پس از نام نویسنده(گان) در داخل پرانتز (in press) استفاده شود.

۴-۹- شیوه نگارش

- مقاله حداکثر در ۱۲ صفحه با یک خط فاصله (یک سانتی‌متر) به صورت دو ستونه (روزنامه‌ای با پهنای هر ستون هفت سانتی‌متر) و حاشیه سه سانتی‌متر در نرم افزار Word 2007 آماده شود. قلم 2 Mitra 12 برای متن فارسی و برای کلمات انگلیسی داخل متن از قلم Times New Roman 10 استفاده گردد.

- برای سایر بخش‌های مقاله نوع و اندازه قلم‌های زیر استفاده شود: (۱) عنوان فارسی 2 Mitra 14 و برجسته (Bold)، (۲) نام نویسنده(گان) 2 Mitra 11 و برجسته (Bold)، (۳) وابستگی سازمانی نویسنده(گان) 2 Mitra 9، (۴) متن چکیده فارسی 2 Mitra 10 و برجسته (Bold) و کلمات انگلیسی داخل متن چکیده Times New Roman 8 و برجسته (Bold)، (۵) سرتیتر بخش‌ها 2 Mitra 12 و برجسته (Bold) و زیر تیتر هر بخش 2 Mitra 11 و برجسته (Bold) که شماره‌گذاری نشده باشد، (۶) در بخش چکیده انگلیسی عنوان مقاله Times New Roman 12 و برجسته (Bold)، اسامی نویسنده(گان) Times New Roman 11 و برجسته (Bold)، وابستگی سازمانی افراد Times New Roman 10، متن چکیده انگلیسی Times New Roman 11، تیتر چکیده و واژه‌های کلیدی Times New Roman 11 و برجسته (Bold).

- جداول و شکل‌ها بعد از توضیحات مربوطه بصورت **غیرستونی** در متن آورده شود و عناوین فارسی جداول با اندازه قلم 2 Mitra 11 در بالای آنها و عناوین انگلیسی جداول با اندازه قلم 2 Mitra 11 و عناوین انگلیسی شکل‌ها با اندازه قلم 9 Times New Roman در پائین آنها ذکر شود. ذکر واحد (در سیستم متریک) و مقیاس برای جداول و شکل‌ها به زبان فارسی و انگلیسی ضروری است. جداول به صورت باز (تنها خطوط بالا و پایین آشکار باشند) طراحی شده و برای شکل‌ها کادر اطراف آن آورده نشود. تأکید می‌شود که مقیاس‌های عددی در محور افقی و عمودی شکل‌ها انگلیسی باشند.

- نام علمی گیاهان یا جانوران هم در متن و هم در منابع به صورت مورب (ایتالیک) باشد.

- معادل انگلیسی کلمات تخصصی به صورت زیرنویس در هر صفحه آورده شود.

۵- ارسال مقاله

- مقاله باید در دو نسخه مجزا یکی با نام نویسنده(گان) و دیگری بدون نام نویسنده(گان) از طریق پایگاه اینترنتی نشریه (<http://rap.sanru.ac.ir>) ارسال شود. برای ارسال مقاله نخست فرم ثبت‌نام پایگاه تکمیل و سپس به بخش ارسال مقاله مراجعه گردد. همچنین فرم **تعمه‌نامه** را از سایت مجله دریافت و نسبت به تکمیل و ارسال آن اقدام فرمایید.

- ثبت نام و ارسال مقاله باید توسط مسوول مکاتبه مقاله انجام شود. مجله فقط به مسوول مکاتبه پاسخ‌گو خواهد بود.

- مشخصات مقاله شامل عنوان مقاله، نام نویسنده(گان)، مرتبه علمی و وابستگی سازمانی آنها به همراه پست الکترونیکی و شماره تماس نویسنده مسوول باشد.

- پس از ارسال مقاله به مجله هر گونه تغییر در تعداد نویسندگان آن باید توسط نویسنده مسوول کتباً به مجله اعلام شود.

- مقالات دریافت شده ابتدا توسط هیأت تحریریه مورد بررسی کمی و کیفی قرار می‌گیرد و در صورتی که مناسب تشخیص داده شود (به شرط رعایت نکاتی که در این راهنمای نگارش آمده است)، برای ارزیابی به حداقل سه نفر از داوران صاحب‌نظر و ناشناس برای نویسنده(گان) در رشته مربوطه ارسال می‌شود.

- پذیرش و چاپ مقاله منوط به انجام تمام ویرایش‌های خواسته شده از طرف دفتر مجله می‌باشد.

۶- هزینه چاپ

- صدور نامه پذیرش نهایی مقاله و چاپ آن منوط به واریز مبلغ یک میلیون ریال (۱۰۰۰۰۰۰ ریال) از طریق سامانه پرداخت الکترونیکی مجله به شماره حساب ۸۳۲۸۷ نزد بانک تجارت شعبه بلوار خزر ساری (کد شعبه ۹۶۸۰) بنام حساب درآمد پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و ارسال کد رهگیری دریافتی از سامانه به آدرس ایمیل مجله (journal_sanru@yahoo.com) می‌باشد.

۷- اشتراک مجله

بهای اشتراک یک ساله جهت دو شماره از مجله با احتساب هزینه پستی ۲۰۰۰۰۰ ریال می‌باشد. وجه اشتراک را به شماره حساب اشاره شده در بالا واریز و فیش واریزی را به آدرس ایمیل مجله که در بند شش ذکر شده است، ارسال نمایید.



"مقاله پژوهشی"

اثر مکمل سازی جیره با منابع آلی و معدنی سلنیوم بر کیفیت منی منجمد
یخ گشایی شده در خروس های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو با دگزامتازون

نامدار کامرانی^۱، امیر کریمی^۲، ذبیح اله نعمتی^۳ و مقصود بشارتی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، فیزیولوژی دام، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز
۲- هیئت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، (نویسنده مسوول: pekarimi@tabrizu.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۴

صفحه: ۱ تا ۱۰

چکیده

مطالعه حاضر به منظور مقایسه منابع آلی و معدنی سلنیوم در خوراک بر کیفیت اسپرم های منجمد یخ گشایی شده خروس های گله مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو انجام شد. در این تحقیق، ۲۴ قطعه خروس سویه راس ۳۰۸ با سن ۲۸ هفتگی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۶ پرنده در هر تیمار نگهداری شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: (۱) گروه شاهد: جیره پایه بدون مکمل سازی با منابع سلنیوم و یا تزریق دگزامتازون (CON)، (۲) گروه DEX: جیره پایه همراه با تزریق دگزامتازون (به مقدار ۴ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن طی ۳ مرحله و به صورت یک روز در میان) (۳) گروه DEX_(Se): گروه دریافت کننده دگزامتازون همانند گروه ۲، همراه با جیره مکمل سازی شده با ۳/۰ میلی گرم سلنیوم بر کیلوگرم خوراک از سلنومیتوین به عنوان منبع سلنیوم آلی و ۴) گروه DEX_(Se): مانند گروه ۳، اما جیره با ۳/۰ میلی گرم سلنیوم بر کیلوگرم خوراک از سلنیت سدیم به عنوان منبع سلنیوم معدنی مکمل سازی شد. پس از اسپرم گیری فرآیند انجماد اسپرم با کمک رقیق کننده بتلسویل مدیفای شده انجام گرفت. پس از یخ گشایی اسپرم ها، فرآیندهای حرکتی با کمک سیستم آنالیز کامپیوتری انجام شد. نتایج نشان داد که مکمل سازی جیره با سلنیوم آلی در پرندگان تحت تنش با دگزامتازون (DEX_(Se))، سبب بهبود تحرک کل و تحرک پیش رونده اسپرم نسبت به سایر گروه های آزمایشی شد ($p < 0.05$) اگرچه DEX_(Se) تفاوت معنی داری با گروه شاهد در حرکت پیش رونده اسپرم، نداشت ($p > 0.05$). همچنین مصرف سلنیوم معدنی (DEX_(Se)) تاثیر معنی داری بر بهبود تحرک کل و تحرک پیش رونده اسپرم، نسبت به گروه DEX نداشت ($p > 0.05$). از طرف دیگر، نه تنها زنده ماننی و یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم، بلکه پارامترهای بیوشیمیایی (گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) نیز در گروه DEX_(Se) نسبت به سایر گروه های آزمایشی بالاتر بود ($p < 0.05$). به طور کلی به نظر می رسد، مکمل سازی جیره خروس های مادر با سلنیوم آلی که تحت شرایط تنش با تزریق دگزامتازون قرار گرفته باشند، می تواند موجب بهبود کیفیت اسپرم نسبت به سلنیوم معدنی شود.

واژه های کلیدی: اسپرم یخ گشایی شده، تنش اکسیداتیو، سلنیوم آلی، سلنیوم معدنی

مقدمه

عملکرد اسپرم است (۵). در شرایط فیزیولوژیکی، گونه های فعال اکسیژن برای عملکرد اسپرم مهم است (۲۶). در مقادیر اندک، آنها برای لقاح واکنش آکروزومی، تحرک و ظرفیت پذیری، لازم هستند (۱). با این حال، در شرایط پاتولوژیک، سطح بیش از حد ROS ممکن است بر کیفیت آنها تاثیر منفی بگذارد (۲۶). اسپرم ها به عنوان سلول هایی که در شرایط هواری زندگی می کنند، با یک تناقض اکسیژن روبرو هستند: O₂ برای آنها بسیار مهم است، اما متابولیت های آن مانند ROS می توانند عملکرد اسپرم را تغییر داده و بقای آنها را به خطر بیندازند (۱۱). ROS با دو مکانیسم اصلی باعث ناباروری می شود. این مواد با آسیب بر غشای اسپرم، نه تنها موجب کاهش تحرک اسپرم و توانایی لقاح آنها با تخمک ها می شوند، بلکه می توانند به DNA اسپرم آسیب رسانده و منجر به انتقال DNA معیوب پدری به جنین شوند (۱۱). محافظت آنتی اکسیدانی نقش اساسی در حفظ یکپارچگی غشای اسپرم و توانایی لقاح آنها دارد (۴۴). سلنیوم درگیر در دفاع آنتی اکسیدانی ارگانیک، به طور قابل توجهی کیفیت انزال در جنس نر را تعدیل می کند (۴۵). سلنیوم را می توان در بدن به عنوان بخشی از حداقل ۲۵ سلنوپروتئین مشاهده کرد

مناسب ترین ابزار جهت به دست آوردن بازده ژنتیکی بالا و کاهش بیماری های تولید مثلی، تلقیح مصنوعی است که تحت تاثیر فاکتورهای متعددی قرار دارد، یکی از فاکتورهای اصلی و مهم در تلقیح مصنوعی موفق، داشتن اسپرم های بارور می باشد که از طریق فرآیند انجماد موفق به دست می آیند (۴۹). شواهد قابل توجهی وجود دارد که فریز کردن، باعث افزایش آسیب DNA، آناپلوئیدی (تخریب کروموزومی) و خرد شدن کروموزوم می شود (۲۹،۶). غشای پلاسمایی اسپرم به دلیل وجود غلظت بالای اسیدهای چرب غیر اشباع (PUFAs) به پراکسیداسیون لیپید بسیار مستعد است (۱۶،۱۰،۷). این اسیدهای چرب غیر اشباع، سطح بالایی از سیالیت و خاصیت ارتجاعی لازم برای تحرک اسپرم و لقاح آن ها با تخمک را به غشا می دهند. پراکسیداسیون لیپید می تواند منجر به از بین رفتن سیالیت و یک پارچگی غشاها و در نتیجه کاهش توانایی لقاح اسپرم-تخمک شود (۱۶). استرس اکسیداتیو، عامل مهمی است که با پراکسیداسیون لیپیدها بر پتانسیل باروری اسپرماتوزوآها تاثیر منفی می گذارد (۵). تعداد اسپرم و تحرک آن ها شاخص های اساسی توانایی

دسترس آلوده به آب داشتند. خروس‌ها با جیره پایه یکسان، تغذیه شدند (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) گروه شاهد: مصرف‌کننده جیره پایه بدون مکمل سازی با منابع سلیوم و یا تزریق دگزامتازون (CON، 2)، گروه DEX: مصرف‌کننده جیره پایه همراه با تزریق دگزامتازون (به مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن طی ۳ مرحله و به صورت یک روز در میان) (۳) گروه DEX_(OSe): گروه دریافت‌کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره مکمل سازی شده با سلنومین به عنوان منبع سلیوم آلی به مقدار ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک و (۴) گروه DEX_(ISe): گروه دریافت‌کننده دگزامتازون همراه با جیره مکمل سازی شده با ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک سلنیت سدیم به عنوان منبع سلیوم معدنی.

تزریق دگزامتازون و اسپرم‌گیری

در آزمایش حاضر، القاء تنش اکسیداتیو، از طریق تزریق دگزامتازون که از شرکت دارویی ابوریحان (ابوریحان-ایران) تهیه شده بود، به مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن طی ۳ مرحله و به صورت یک روز در میان، انجام شد (۳۱). پس از دو هفته عادت‌پذیری، اسپرم‌گیری از ۲۴ قطعه خروس به مدت ۲ هفته و هفته‌ای ۲ بار به روش مالش پشتی-شکمی، انجام گرفت (۸). نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار داده شدند تا ارزیابی اولیه از نظر تحرک، غلظت و رنگ اسپرم انجام شود. اسپرم‌های با تحرک ۷۵٪ و غلظت مناسب به عنوان اسپرم‌های طبیعی در نظر گرفته شده و برای مراحل بعدی آزمایش، جهت از بین بردن اثرات فردی، نمونه‌ها با هم مخلوط شدند. محیط رقیق‌کننده مورد استفاده در این آزمایش، رقیق‌کننده بلتسویل بهبود یافته بود (۳۲) که تمامی ترکیبات آن از شرکت مرک (مرک، آلمان) تهیه شده بود (جدول ۲).

انجماد و یخ‌گشایی اسپرم

نمونه‌های منی که به منظور حذف اثرات فردی مخلوط شده بودند، به نسبت ۱ به ۲۰ به محیط رقیق‌کننده افزوده و درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، انتقال داده شدند. پس از ۲ ساعت و رسیدن دمای نمونه‌ها به ۴ درجه سانتی‌گراد، اسپرم‌ها به صورت دستی داخل پایوت‌ها کشیده و با خمیر هماتوکریت مهر و موم شدند. پایوت‌های دارای اسپرم، در ارتفاع ۴ سانتی‌متر بالای بخار ازت به مدت ۷ دقیقه قرار داده شدند و سپس برای ذخیره‌سازی به داخل تانک ازت (۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) انتقال داده شدند تا پروسه انجماد اسپرم‌ها تکمیل شود (۳). برای بررسی فرآیندهای کیفی اسپرم تیمارهای مختلف آزمایشی، پایوت‌های حاوی اسپرم منجمد، از ازت مایع خارج شدند و پس از قراردادن در حمام آب گرم دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، یخ‌گشایی شده و به داخل میکروتیوپ تخلیه شدند تا ارزیابی‌های مورد نظر انجام شود (۳).

(۲۸،۴۸). این سلنوپروتئین‌ها در تنظیم عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی از جمله محافظت از آنتی‌اکسیدان‌ها، تنظیم ردوکس بیان ژن، متابولیسم تیروئید و حفظ یکپارچگی ساختار اسپرم درگیر هستند (۴۳). نشان داده شده است که سلیوم یک عنصر تشکیل‌دهنده اسپرم و از عناصر اساسی برای اسپرماتوژنز است (۵۰). در بیضه‌ها، چندین سلنوپروتئین مانند سلنوسفات سنتاز (SPS-2) و سلنوپروتئین میتوکندریایی وجود دارند (۲۱،۱۴). عمل بیولوژیکی سلیوم در پستانداران از طریق ترکیبات فعال زیستی شامل آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و سایر سلنوپروتئین‌های سرم و بافت بیان می‌شود (۲۴). سلیوم از طریق مشارکت در محل فعال آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز، که هم در پلاسما منی و هم در اسپرم وجود دارد، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. این عنصر، در باروری جنس نر ضروری و نقش بسیار مهمی را می‌تواند برعهده داشته باشد (۲۳). استفاده از منابع سلیومی مانند سلنومین، باعث افزایش کمی و کیفیت مایع منی می‌شود (۱۸). عنصر سلیوم می‌تواند در حالت اکسیداسیون یا احیاء به شکل سلنیت سدیم، سلنات سدیم و سلنید سدیم وجود داشته باشد. بنابراین سلیوم معدنی را می‌توان در اشکال مختلف نظیر سلنیت سدیم، سلنات سدیم و سلنید سدیم دید که رایج‌ترین نوع معدنی آن سلنیت سدیم است (۹). امروزه برای جلوگیری از بیماری‌ها، بیشتر از فرم آلی استفاده می‌شود، چون مشخص شده است که سلنیت سدیم سمیت بیشتری نسبت به این مکمل‌ها (سلیوم آلی) دارد (۴۶). در مطالعه‌ای، نشان داده شد که مکمل سازی جیره خروس با سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک سلیوم آلی (سلپلکس) هیچ تأثیری بر غلظت، حجم و pH اسپرم نداشت ولی مکمل سازی جیره خروس با ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک سلیوم آلی (سلپلکس) می‌تواند سبب بهبود کیفیت اسپرم خروس گردد (۲).

هدف از مطالعه حاضر مقایسه منابع مختلف سلیومی با منشاء معدنی و آلی بر فرآیندهای کیفی اسپرم منجمد یخ‌گشایی شده خروس‌های گله مادر گوشتی تحت القاء تنش اکسیداتیو با استفاده از تزریق دگزامتازون، می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مکان انجام آزمایش و تیمارهای آزمایشی

این تحقیق، در واحد مرغداری دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز انجام شد. به منظور انجام این آزمایش، از ۲۴ خروس سویه راس ۳۰۸ با سن ۲۸ هفته در ۴ تیمار و ۶ پرنده در هر تیمار استفاده شد. خروس‌ها در قفس‌های انفرادی و تحت شرایط، ۱۵ ساعت روشنایی و ۹ ساعت تاریکی قرار گرفته و تغذیه آنها به صورت دستی و در دو نوبت صبح و عصر انجام گرفت و از طریق آبجوری نیپلی،

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی

Table 1. Feed ingredients and composition of experimental diet

ترکیب جیره	درصد	اقلام خوراکی
انرژی (۳۷۵۰) کیلوکالری در کیلوگرم	۵۷	ذرت
پروتئین (۱۲ درصد)	۱۰	سویا
متیونین (۰/۳۲ درصد)	۱۱	جو
لازین (۰/۵ درصد)	۱۸	سوس
ترئونین (۰/۳۸ درصد)	۱/۳	دی کلسیم فسفات
کلسیم (۰/۷ درصد)	۱/۶	صدف
فسفر (۰/۳۵ درصد)	۰/۵	مکمل معدنی ویتامینه
سدیم (۰/۱۸ درصد)	۰/۳	نمک
کلر (۰/۱۶ درصد)	۰/۰۵	جوش شیرین
اسیدلینولیک ۱	۰/۱۱	متیونین
	۰/۰۱	ویتامین B
	۰/۰۱	ویتامین E
	۰/۰۱	کولین کلراید

۱- هر کیلوگرم مکمل ویتامینی شامل: ویتامین A ۳۶۰۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین D3 ۸۰۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین E ۷۲۰۰ واحد بین المللی، ویتامین B1 ۷۲۰ میلی گرم، ویتامین B2 ۲۶۴۰ میلی گرم، اسید پانتوتنیک ۴۰۰۰ میلی گرم، اسید نیکوتینیک ۱۲۰۰۰ میلی گرم، ویتامین B6 ۱۲۰۰ میلی گرم، اسید فولیک ۴۰۰ میلی گرم، ویتامین B12 ۶ میلی گرم، ویتامین K3 ۸۰۰ میلی گرم، بیوتین ۴۰ میلی گرم، کولین کلراید ۱۰۰۰۰۰ میلی گرم و آنتی اکسیدان ۴۰۰۰۰ میلی گرم، ۴۰ گرم منگنز به شکل سولفات منگنز، ۸۰ میلی گرم سلنیوم، ۵۰ گرم آهن به شکل سولفات آهن، ۱۰ گرم مس به شکل سولفات مس، ۴۰۰ میلی گرم ید

جدول ۲- اجزای تشکیل دهنده رقیق کننده بلتسویل بهبود یافته

Table 2. Composition of modified Beltsville extender

مقدار	ترکیبات شیمیایی
۷/۵۹ گرم در لیتر	دی پتاسیم فسفات
۸/۶۷ گرم در لیتر	سدیم گلوتامات
۵ گرم در لیتر	فروکتوز
۳/۲ گرم در لیتر	سدیم استات
۳/۲ گرم در لیتر	تریس
۰/۶۴ گرم در لیتر	پتاسیم سیترات
۰/۷ گرم در لیتر	مونو پتاسیم فسفات
۰/۳۴ گرم در لیتر	کلراید منیزیم
۳ درصد	کلیسرول
۰/۵ درصد	لسیتین

ارزیابی تحرک اسپرم با دستگاه کاسا

جهت ارزیابی فرآیندهای حرکتی اسپرم از قبیل تحرک کل، تحرک پیش‌رونده، میانگین سرعت در مسیر، سرعت در مسیر مستقیم، سرعت در مسیر منحنی، خطی بودن تحرک، درصد مستقیم‌الخط بودن حرکت اسپرم‌ها، تحرک عرضی سر، فرکانس حرکات جانبی از سیستم آنالیز رایانه‌ای مجهز به میکروسکوپ فاز کنتراست با بزرگنمایی ۱۰۰ استفاده شد. بدین منظور سه پایوت از هر گروه تیماری با روشی که در بالا توضیح داده شد، یخ‌گشایی شده و به داخل میکروتیوب‌ها انتقال داده شدند، سپس ۱۰ میکرولیتر از نمونه منی رقیق‌شده را روی لام ریخته و یک لامل تمیز روی آن قرار داده شد و فرآیندهای جنبایی اسپرم با استفاده از کامپیوتر ارزیابی شد (۱۳).

وضعیت زنده‌مانی اسپرم

وضعیت زنده‌مانی اسپرم‌ها به وسیله رنگ‌آمیزی ائوزین-نگروزین حاوی رنگ ائوزین (۱/۶۷ گرم)، رنگ نیکروزین (۱۰ گرم) و سیترات سدیم (۲/۹ گرم) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، بررسی شد. برای این منظور، ۱۰ میکرولیتر منی رقیق‌شده را با ۲۰ میکرولیتر رنگ روی لام تمیز به آرامی مخلوط کرده و پس از تهیه گسترش و خشک شدن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، زنده‌مانی تعداد ۲۰۰

اسپرم به وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰× مورد بررسی قرار گرفت. اسپرم‌هایی که رنگ نگرفته بودند، زنده و اسپرم‌هایی که رنگ گرفته بودند، مرده تلقی شدند (۲۰).

ارزیابی یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم

در این آزمایش، از تست هایپواسموتیک (HOST) به منظور بررسی یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم استفاده شد. برای این منظور ۱۰ میکرولیتر از مایع منی به ۱۰۰ میکرولیتر از محیط هایپواسموتیک هاست که حاوی ۹ گرم فروکتوز، ۴/۹ گرم سیترات سدیم، ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با اسمولاریته ۱۰۰ میلی‌اسمول است، اضافه شد و سپس ۶۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از انکوباسیون و تهیه حداقل ۳ قطره از نمونه انکوبه شده، وضعیت اسپرم‌های با دم صاف و دم پیچیده زیر میکروسکوپ با عدسی ۴۰× مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. با توجه به اینکه اسمولاریته مورد نیاز برای اسپرم ۳۲۰-۳۷۵ میلی‌اسمول است، اسپرم با قرار گرفتن در این محیط به سرعت واکنش داده و انتهای دم آن‌ها گره می‌خورد. در واقع پس از انجام این آزمایش، اسپرم‌های با دم گره خورده به‌عنوان اسپرم‌های دارای غشاء یکپارچه و اسپرم‌های که دم آن‌ها صاف است به‌عنوان اسپرم داری غشاء غیر یکپارچه تلقی شدند (۳۸).

معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). تحرک پیش‌رونده اسپرم در تیمار سلیوم آلی در مقایسه با تیمار شاهد، اختلاف معنی‌داری ندارد ($p > 0.05$) ولی در مقایسه با شاهد همراه با دگزامتازون و سلیوم معدنی همراه با دگزامتازون، تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). در آزمایشی که بر روی خروس انجام شد، نشان داده شد که استفاده از دگزامتازون به مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، سبب کاهش در تحرک اسپرم در مقایسه با تیمار شاهد شد (۱۹). مکمل سلیوم باعث افزایش فعالیت آنزیمی با استفاده از ATP و مسیره‌های احیا کننده ATP در اسپرم می‌شود که با تحرک و مصرف اکسیژن اسپرم ارزیابی می‌شوند (۳۷، ۳۰). تغییرات در وضعیت سیستم آنتی‌اکسیدانی اسپرم خروس و پلاسمای منی اطراف آن در حین انجماد ممکن است بر کیفیت منی و توانایی لقاح اسپرم تأثیر بگذارد (۳۴). همچنین در مطالعه‌ای دیگر نیز افزایش تحرک اسپرماتوزوئیدها در خروس‌ها، پس از مکمل‌سازی با سلیوم آلی ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک (سلپلکس)، نشان داده شده است (۱۷). در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند هنگامی که ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک، سلیوم آلی به رژیم غذایی خروس اضافه شود، درصد اسپرم‌های نرمال تا ۹۸/۷ درصد، افزایش می‌یابد (۱۸). به‌طور مشابه، در مطالعه انجام شده بر روی خوک، نشان داده شد، کمترین کاهش در تحرک پیش‌رونده در طول ۷ روز ذخیره‌سازی، در تیمار سلیوم آلی (سلپلکس) ۰/۳ ppm، در مقایسه با تیمارهای سلیوم معدنی (سدیم سلیت) ۰/۳ ppm و شاهد مشاهده شد (۳۶). به‌جز دو پارامتر سرعت در مسیر مستقیم و خطی بودن تحرک، که در تمامی تیمارها غیرمعنی‌دار هستند، سایر پارامترهای حرکتی اسپرم از قبیل، میانگین سرعت در مسیر، درصد مستقیم‌الخط بودن حرکت اسپرم‌ها، تحرک عرضی سر، نیز در تیمار سلیوم آلی که دگزامتازون نیز دریافت کرده بود، دارای بیشترین مقدار بوده در حالی که گروه آزمایشی شاهد دریافت‌کننده دگزامتازون، کمترین مقادیر را نشان داد ($p < 0.05$). سرعت در مسیر منحنی، در تیمار شاهد بیشترین مقدار بود ولی اختلاف معنی‌داری با تیمار سلیوم آلی نداشت. در مورد فرکانس حرکات جانبی تیمارهای شاهد و سلیوم آلی مقادیر کمتری نسبت به تیمارهای شاهد همراه با دگزامتازون و سلیوم معدنی نشان دادند. این فرآیندها نیز موید اثر مثبت سلیوم بر پارامترهای اسپرم می‌باشد، زیرا در پژوهش‌های دیگر نشان داده شده است که پارامترهای حرکتی ارتباط توأم و نزدیکی با تحرک اسپرم دارند (۲۷).

شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی

برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید، مقدار یک میلی‌لیتر از منی رقیق شده با یک میلی‌لیتر کلرید سدیم ۰/۹ درصد مخلوط شده و سپس نمونه‌ها با دور ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و به‌تعداد سه بار با بافر سیترات شستشو و مجدداً سانتریفیوژ شدند. در نهایت محلول رویی دور ریخته شده و رسوب باقیمانده اسپرم‌ها در یک میلی‌لیتر آب دیونیزه حل شده و تا زمان انجام تست، نمونه‌ها در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدئید مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از هر نمونه را برداشته و با یک میلی‌لیتر محلول اسید تری‌کلریدریک ۲۰ درصد و تیوباربیتوریک اسید ۰/۵ درصد مخلوط شده و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس نمونه‌ها بعد از سرد شدن در داخل یخ، به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در پایان عدد جذب مالون دی‌آلدئید محلول بالایی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۸۶ نانومتر خوانده شده و غلظت مالون دی‌آلدئید ثبت شد (۳۵).

اندازه‌گیری فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و اندازه‌گیری ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گلوکوتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز موجود در پلاسمای منی و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی پلاسمای منی توسط کیت‌های تجاری شرکت طب پژوهان (ایران-تهران) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد.

آنالیز آماری

به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌های جمع‌آوری شده، از نرم‌افزار SAS، در قالب طرح کاملاً تصادفی تحت رویه GLM و براساس مدل آماری زیر با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده شد.

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

که در این مدل، Y_{ij} = مقدار عملکرد صفت وابسته‌ی نمونه‌ی j ام در تیمار i ام، μ = میانگین کل تیمار، T_i = اثر تیمار و e_{ij} = اثرات باقیمانده، هستند.

نتایج و بحث

داده‌های مربوط به فرآیندهای حرکتی اسپرم، در (جدول ۳) ارائه شده است. با توجه به این جدول، مشاهده می‌شود که سلیوم آلی دارای بهترین عملکرد بوده و تحرک کل اسپرم در این تیمار در مقایسه با تیمار شاهد، همراه با دگزامتازون و سلیوم معدنی همراه با دگزامتازون، تفاوت

جدول ۳- اثرات منابع آلی و معدنی سلینیوم بر تحرک و فرآیندهای حرکتی اسپرم منجمد یخ گشایی شده خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو

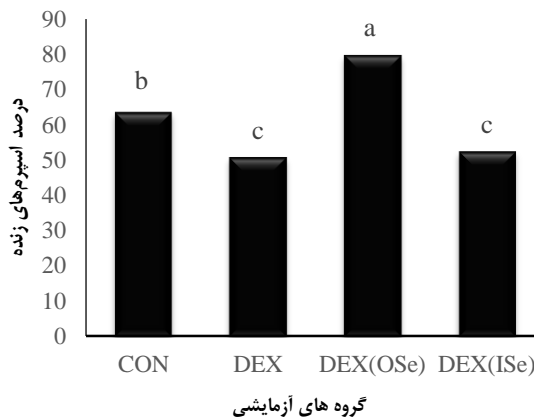
Table 3. Effects of organic and inorganic forms of selenium on motility and motility parameters of frozen-thawed sperm in broiler breeder roosters under oxidative stress

تیمارهای آزمایشی ^۱						پارامترها
سطح معنی‌داری	خطای استاندارد	DEX _(ISe)	DEX _(OSe)	DEX	CON	
<./۰۰۰۱	۱	۵۴/۵ ^c	۷۹/۹ ^a	۴۹/۱۶ ^c	۶۸/۸۶ ^d	تحرک کل اسپرم (%)
./۰۰۶۶	۱/۳۵	۱۵/۶۳ ^b	۳۲/۸۶ ^a	۱۲/۴۶ ^b	۲۶/۳۳ ^a	تحرک پیش‌رونده اسپرم (%)
./۰۳۱۴	۱	۱۵/۰۳ ^{ab}	۲۰/۶۳ ^a	۱۱/۹۹ ^b	۱۹/۰۸ ^a	میانگین سرعت در مسیر (میکرومتر بر ثانیه)
./۰۶۲۴	۰/۹۹	۱۲/۱۱	۱۷/۰۹	۹/۴۸	۱۴/۸۳	سرعت در مسیر مستقیم (میکرومتر بر ثانیه)
./۰۰۴۷	۱/۱۹	۴۲/۰۳ ^{bc}	۴۷/۳۰ ^{ab}	۳۴/۹۲ ^c	۵۳/۲۸ ^a	سرعت در مسیر منحنی (میکرومتر بر ثانیه)
./۰۰۶۱۲	۱/۴۱	۲۷/۸۳	۳۷/۷۳	۲۲/۲۵	۲۵/۶۶	خطی بودن تحرک (%)
./۰۰۲۸۲	۱/۱۴	۷۳/۶۷ ^a	۷۵/۶۰ ^a	۶۴/۴۵ ^d	۷۰/۸۵ ^{ab}	درصد مستقیم‌الخط بودن حرکت اسپرم‌ها (%)
./۰۰۲۱	۰/۱۹	۱/۰۹ ^d	۱/۳۳ ^a	۰/۹۰ ^d	۱/۴۸ ^a	تحرک عرضی (سر میکرومتر)
./۰۱۳۸	۰/۵۳	۱۶/۶۹ ^a	۱۴/۲۱ ^d	۱۶/۰۸ ^a	۱۴/۱۹ ^d	فرکانس حرکات جانبی (هرتز)

۱- تیمارها با حروف متفاوت از نظر آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار دارند.
 ۲- CON: گروه شاهد (مصرف کننده جیره پایه بدون مکمل سلینیوم و یا تجویز دگزاتازون)، DEX: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با تجویز دگزاتازون، DEX(OSe): گروه دریافت کننده دگزاتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلینیوم آلی و DEX(ISe): گروه دریافت کننده دگزاتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلینیوم معدنی.

گلوکاتینون ترکیب شده و منجر به تولید سوپراکسیدها و نیز دیگر مشتقات اکسیژنی فعال در بافت‌ها و سلول‌های مربوطه که سلنیت سدیم در آنها تجمع دارد، شده و باعث تاثیرات منفی مانند آسیب دیدگی غشای سلولی و کاهش زنده‌مانی سلول شود؛ زیرا گلوکاتینون پروکسیداز بخش بسیار مهمی از سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول در محافظت از غشای سلولی در برابر عوامل اکسید کننده می‌باشد (۴۰). خروس‌هایی که دگزاتازون به آنها تزریق شده بود نیز دارای درصد زنده‌مانی پایین بودند؛ نتایج پژوهش حاضر، با نتایج آزمایش عید و همکاران (۱۹) مطابقت دارد که در آن نشان دادند، استفاده از دگزاتازون به مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن سبب افزایش درصد اسپرم‌های مرده می‌شود.

با توجه به داده‌های موجود در (شکل ۱) مشاهده می‌شود که سلینیوم آلی (۷۹/۸۴ درصد)، زنده‌مانی اسپرم‌ها در برابر شوک سرمایی وارد شده موقع انجماد را توانسته به خوبی کنترل کند و این تیمار دارای بیشترین مقدار زنده‌مانی بوده و از نظر آماری نیز اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان می‌دهد ($p < 0.05$). افزایش زنده‌مانی اسپرم پس از دوره انجماد-یخ‌گشایی، با مکمل‌سازی سلینیوم در جیره گاو‌میش نیز نشان داده شده است (۲۵). برخلاف سلینیوم آلی، مکمل‌سازی جیره مصرفی با سلینیوم معدنی نتوانسته به خوبی اثرات منفی تنش ایجاد شده توسط دگزاتازون بر زنده‌مانی اسپرم را کاهش دهد. دلیل این امر شاید مربوط به تبدیل شدن سلنیت سدیم به مشتقات دیگری مانند سلنیدها و یا دی‌اکسید سلینیوم باشد که می‌تواند با ملکول‌های زیستی مانند



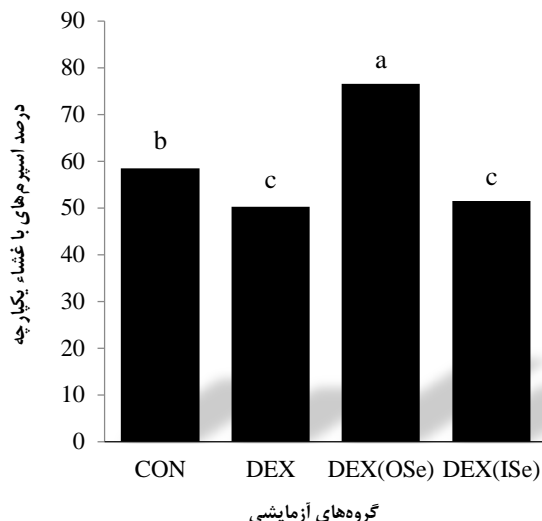
شکل ۱- اثرات منابع آلی و معدنی سلینیوم بر زنده‌مانی اسپرم منجمد یخ‌گشایی شده خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو.
 Figure 1. Effects of organic and inorganic forms of selenium on sperm viability of frozen-thawed sperm in broiler breeder roosters under oxidative stress.

شکل ۲، نشان‌دهنده مطالعه یک پارچگی غشای پلاسمایی اسپرم می‌باشد. با توجه به این شکل، مشاهده می‌شود، یک پارچگی غشای پلاسمایی در گروه آزمایشی مصرف‌کننده سلینیوم آلی در حداکثر مقدار نسبت به گروه‌های آزمایشی دیگر بوده و با آنها اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد

شکل ۲، نشان‌دهنده مطالعه یک پارچگی غشای پلاسمایی اسپرم می‌باشد. با توجه به این شکل، مشاهده می‌شود، یک پارچگی غشای پلاسمایی در گروه آزمایشی مصرف‌کننده سلینیوم آلی در حداکثر مقدار نسبت به گروه‌های آزمایشی دیگر بوده و با آنها اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد

مذکور را کاهش دهد. همین نتیجه یاد شده نیز در مورد فراسنجه یک پارچگی غشای پلاسمایی (نمودار ۲) مشاهده می شود.

تیمارهای مصرف کننده مکمل سلنیوم چه بصورت آلی و چه به صورت معدنی، تزریق دگزامتازون نیز انجام شده است. و در این رابطه گویا به نظر می رسد مصرف کننده تیمار معدنی نسبت به تیمار آلی، نتوانسته اثرات منفی دگزامتازون در گروه



شکل ۲- اثرات منابع آلی و معدنی سلنیوم بر یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم منجمد یخ گشایی شده خروس های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو

Figure 2. Effects of organic and inorganic forms of selenium on plasma membrane integrity of frozen-thawed sperm in broiler breeder roosters under Oxidative stress

ولی در مقایسه با تیمار شاهد و شاهد همراه با دگزامتازون به طور معنی داری بالاتر بودند ($p < 0.05$). حداقل ۵۰ درصد از مواد کپسولی را پروتئین گلوپروتئین پراکسیداز شامل می شود که ماریپیچ میتوکندری را در خود جای داده است (۴۷). با توجه به فعالیت گلوپروتئین پراکسیداز در پلاسمای منی، آنزیم حاوی سلنیوم، گلوپروتئین پراکسیداز، نقش مهمی را در سم زدایی از هر پراکسید لیپیدی که در اسپرم خروس ظاهر می شود، دارد (۲۲). در طیور، حدود ۶۰ درصد از شکل وابسته به سلنیوم از گلوپروتئین پراکسیداز در اسپرماتوزوآ در پلاسمای منی و ۴۰ درصد در اسپرماتوزوآ مشاهده می شود (۴۱) در حالی که در مطالعه سوریا و همکاران (۴۲) که مصرف سلنیوم (۰/۳ میلی گرم در کیلوگرم) در رژیم غذایی جنس نر باعث افزایش فعالیت وابسته به گلوپروتئین پراکسیداز می شود که با محافظت بیشتر در برابر پراکسیداسیون لیپیدها در مایع منی مرتبط است. در مطالعه ای دیگر، نشان داده شد خروس های تغذیه شده با سلنیوم آلی (سلپلکس) به مقدار ۰/۳ میلی گرم در کیلوگرم خوراک، میزان فعالیت گلوپروتئین پراکسیداز منی افزایش یافت (۱۷). گلوپروتئین پراکسیداز آنزیم آنتی اکسیدانی است که همانند سوپراکسید دیسموتاز با مانع از پراکسیداسیون لیپید موجود در غشای اسپرم و در نهایت از طریق بهبود حرکت اسپرم، بر عملکرد اسپرم تأثیر می گذارد (۳۳). گلوپروتئین پراکسیداز، نقش مهمی در تولید اسپرم، بلوغ و باروری آن داشته و عدم وجود این آنزیم منجر به کاهش ظرفیت بارورسازی اسپرم می گردد (۳۳). در تحقیقی، اثرات سطوح مختلف سلنیوم معدنی جیره (سدیم سولفات ۰/۵، ۱ و ۲

داده های مربوط به پارامترهای بیوشیمیایی در جدول (۴) نشان شده است. با نگاه به این جدول مشاهده می شود که مالون دی آلدئید در تیمارهای سلنیوم آلی و معدنی به همراه دگزامتازون در مقایسه با سایر تیمارها اختلاف معنی داری نشان داده ($p < 0.05$). به گونه ای که مالون دی آلدئید تولید شده در این ۲ تیمار در مقایسه با سایر تیمارها کمترین مقدار می باشد و در تیمار شاهد همراه با دگزامتازون بیشترین مقدار می باشد. نشان داده شده است که در اسپرم خروس، کیفیت ضعیف مایع منی مانند تحرک اسپرم با مقادیر بیشتری از مالون دی آلدئید همراه است (۳). پراکسیداسیون باعث ایجاد تغییرات نامطلوب در ساختار بخش آکروزومی اسپرم می شود و در نتیجه تحرک و زنده ماندن اسپرم ها را کاهش می دهد (۱۵). عید و همکاران (۱۹) نشان دادند که تنش ممکن است پراکسیداسیون لیپیدها را در پلاسمای منی و همچنین در غشای اسپرماتوزوای بالغ، در خروس افزایش دهد. ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نیز تأیید کننده داده های مالون دی آلدئید بوده و نشان می دهد که مکمل سازی سلنیوم آلی و معدنی در گروه های دریافت کننده دگزامتازون توانسته است به خوبی اثرات سرکوب کنندگی دگزامتازون را از بین ببرد. با نگاه به جدول (۴) مشاهده می شود که ظرفیت کل آنتی اکسیدانی در تیمارهای شاهد و شاهد همراه با دگزامتازون نسبت به دو تیمار قبلی کاهش یافته به گونه ای که از نظر عددی به ترتیب برابر با ۱/۱۶ و ۱/۰۱ می باشند. فعالیت آنزیمی گلوپروتئین پراکسیداز تولید شده در تیمارهای مصرف کننده سلنیوم آلی و معدنی به همراه دگزامتازون اختلاف معنی داری نشان ندادند؛

دیسموتاز، شرایط خوبی را دارد ولی در تیمار شاهد و شاهد همراه با دگزامتازون کاهش یافته و کمترین مقدار برای تیمار کنترل به‌همراه دگزامتازون می‌باشد. سوپراکسید دیسموتاز، مهم‌ترین و اولین آنزیم آنتی‌اکسیدانی در تمام ارگان‌سیم‌های هوازی می‌باشد که در کاهش مستقیم مشتقات اکسیژنی فعال، نقش دارد (۱۲). سوپراکسید دیسموتاز ثابت شده است که به ایفای نقش کلیدی در دفاع سلولی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو می‌پردازد. آنزیم SOD دیسموتاسیون O₂ را به H₂O₂ کاتالیز می‌کند (۴).

میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) بر شرایط آنتی‌اکسیدانی در بیضه خروس‌ها مورد مطالعه قرار گرفت و مشاهده شد که فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک، سدیم سلنیت، حداکثر بوده و میزان مالون دی‌آلدید در کمترین مقدار خود می‌باشد (۳۹). داده‌های مربوط به پارامتر سوپراکسید دیسموتاز موجود در جدول (۴) نشان می‌دهند که تیمار سلنیوم آلی به مراتب بهتر از سایر گروه‌های آزمایشی بوده و اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با تیمارهای دیگر نشان می‌دهد (p<۰/۰۵). سلنیوم معدنی نیز نسبت به تیمار شاهد از نظر تولید سوپراکسید

جدول ۴- اثرات منابع آلی و معدنی سلنیوم بر پارامترهای بیوشیمیایی اسپرم منجمد یخ‌گشایی شده خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو

Table 4. Effects of organic and inorganic forms of selenium on biochemical parameters of frozen-thawed sperm in broiler breeder roosters under oxidative stress

پارامترها	تیمارهای آزمایشی			
	CON ^۱	DEX	DEX _(OSe)	DEX _(ISe)
مالون دی‌آلدید (nmol/ml)	۶/۹۳ ^{ab}	۹/۱۱ ^d	۵/۷۱ ^c	۵/۳۹ ^c
ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (U/ml)	۱/۱۶ ^{ab}	۱/۰۱ ^b	۱/۲۸ ^a	۱/۱۹ ^{ab}
گلوتاتیون پراکسیداز (U/ml)	۵۵/۶۹ ^d	۴۶/۱۶ ^c	۷۱/۱۳ ^a	۶۹/۳ ^a
سوپر اکسید دیسموتاز (U/ml)	۱۱۱/۷۳ ^{bc}	۱۰۳/۴۵ ^c	۱۳۴/۲ ^a	۱۱۶/۵ ^d

۱- تیمارها با حروف متفاوت از نظر آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار دارند.
 ۲- CON: گروه شاهد (مصرف کننده جیره پایه بدون مکمل سلنیوم و با تجویز دگزامتازون)، DEX: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با تجویز دگزامتازون، DEX_(OSe): گروه دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم معدنی.
 دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم معدنی.

بر بهبود فرآیندهای حرکتی از قبیل تحرک کل، تحرک پیش‌رونده، میانگین سرعت در مسیر، سرعت در مسیر مستقیم، سرعت در مسیر منحنی، خطی بودن تحرک، درصد مستقیم‌الخط بودن حرکت اسپرم‌ها، تحرک عرضی سر، فرکانس حرکات جانبی و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی اسپرم دارد.

تزریق دگزامتازون سبب ایجاد تنش اکسیداتیو شده که منجر به کاهش تحرک اسپرم و فرآیندهای حرکتی و همچنین افزایش پراکسیداسیون اسیدهای چرب، کاهش ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی، می‌گردد. به نظر می‌رسد، مکمل سازی جیره مصرفی با سلنیوم بتواند از اثرات منفی تنش بکاهد و نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که سلنیوم آلی نسبت به فرم معدنی، موثرتر بوده و تأثیر بسزایی

منابع

- Agarwal, A., K.P. Nallella, S.S. Allamaneni and T.M. Said. 2004. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reproductive Biomedicine Online*, 8: 616-627.
- Ahangari, Y., B. Parizadian and M. Zamani. 2013. The impact of organic selenium supplementation on rooster semen quality in liquid condition. *Poultry Science Journal*, 1: 23-31.
- Amini, M.R., H. Kohram, A. Zare-Shahaneh, M. Zhandi, H. Sharideh and M.M. Nabi. 2015. The effects of different levels of catalase and superoxide dismutase in modified Beltsville extender on rooster post thawed sperm quality. *Cryobiology*, 70: 226-232.
- Avunduk, A.M., S. Yardımcı, M.C. Avunduk, L. Kurnaz and M. Cengiz. 2000. A Possible Mechanism of X-Ray-Induced Injury in Rat Lens. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 44: 88-91.
- Badade, Z., K. More and J. Narshetty. 2011. Oxidative stress adversely affects spermatogenesis in male infertility. *Biomedical Research*, 22(3): 319-322.
- Baumber, J., B.A. Ball, J.J. Linfor and S.A. Meyers. 2003. Reactive oxygen species and cryopreservation promote DNA fragmentation in equine spermatozoa. *Journal of Andrology*, 24: 621-628.
- Brouwers, J.F and B.M. Gadella. 2003. In situ detection and localization of lipid peroxidation in individual bovine sperm cells. *Free Radical Biology Medicine*, 35: 1382-1391.
- Burrows, W. and J. Quinn. 1937. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science*, 16: 19-24.
- Carvalho, F., J. Stringhini, N. Leandro, R. Jardim, W. Cunha and M. Café. 2003. Influência das linhagens e idades de poedeiras comerciais na qualidade interna e da casca para ovos armazenados sobre diferentes temperaturas. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 101: 101.
- Cerolini, S., A. Maldjian, P. Surai and R. Noble. 2000. Viability, susceptibility to peroxidation and fatty acid composition of boar semen during liquid storage. *Animal Reproduction Science*, 58: 99-111.
- Chandra, G., A. Aggarwal, A. Singh, A. Singh, M. Kumar, R. Kushwaha and Y. Singh. 2012. Oxidative stress in sperm biology-a review. *Agricultural Reviews*, 33: 54-61.

12. Cunningham, M.L., P.S. Ringrose and B.R. Lokesh. 1984. Inhibition of the genotoxicity of bleomycin by superoxide dismutase. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 135: 199-202.
13. Da Silva Maia, M., S.D. Bicudo, H.C. Azevedo, C.C. Sicherle, D.B. Sousa and L. Rodello. 2009. Motility and viability of ram sperm cryopreserved in a Tris-egg yolk extender supplemented with anti oxidants. *Small Ruminant Research*, 85: 85-90.
14. Davis, C.D., P.A. Tsuji and J.A. Milner. 2012. Selenoproteins and cancer prevention. *Annual Review of Nutrition*, 32: 73-95.
15. Dimitrov, S., V. Atanasov, P. Surai and S. Denev. 2007. Effect of organic selenium on turkey semen quality during liquid storage. *Animal Reproduction Science*, 100: 311-317.
16. Duru, N.K., M. Morshedi and S. Oehninger. 2000. Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. *Fertility Sterility*, 74: 1200-1207.
17. Ebeid, T. 2009. Organic selenium enhances the antioxidative status and quality of cockerel semen under high ambient temperature. *British Poultry Science*, 50: 641-647.
18. Edens, F. 2002. Practical applications for selenomethionine: broiler breeder reproduction. In: *Proceeding of the 18th annual symposium: nutritional biotechnology in the feed and food industry*. Nottingham University Press, Nottingham, 29-42.
19. Eid, Y., T. Ebeid and H. Younis. 2006. Vitamin E supplementation reduces dexamethasone-induced oxidative stress in chicken semen. *British Poultry Science*, 47: 350-356.
20. Evans, G. and W.C. Maxwell. 1987. Salamons' artificial insemination of sheep and goats. Butterworths.
21. Fairweather-Tait, S.J., R. Collings and R. Hurst. 2010. Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91: 1484S-1491S.
22. Froman, D. and R. Thurston. 1981. Chicken and turkey spermatozoal superoxide dismutase: a comparative study. *Biology of Reproduction*, 24: 193-200.
23. Hansen, J. and Y. Deguchi. 1996. Selenium and fertility in animals and man--a review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 37: 19-30.
24. Hill, K.E., Y. Xia, B. Åkesson, M.E. Boeglin and R.F. Burk. 1996. Selenoprotein P concentration in plasma is an index of selenium status in selenium-deficient and selenium-supplemented Chinese subjects. *The Journal of Nutrition*, 126: 138-145.
25. Jamali, N.U., A. Kaka, P. Khatri, M. Malhi, M. Naeem, A.A. Memon, R.R. Kaleri, H. Janyaro and D.H. Kalhoro. 2019. Effect of in vitro selenium addition to the semen extender on the spermatozoa characteristics before and after freezing in Kundhi Buffalo bull and in vivo fertility rate. *Pakistan Journal of Zoology*, 51: 317-323.
26. Kefer, J.C., A. Agarwal and E. Sabanegh. 2009. Role of antioxidants in the treatment of male infertility. *International Journal of Urology*, 16: 449-457.
27. King, L. M., D.R. Holsberger and A.M. Donnoghue. 2000. Correlation of CASA velocity and linearity parameters with sperm motility phenotype in turkeys. *Journal of Andrology*, 21: 65-71.
28. Kryukov, G.V., S. Castellano, S.V. Novoselov, A.V. Lobanov, O. Zehtab, R. Guigó and V.N. Gladyshev. 2003. Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science*, 300: 1439-1443.
29. Li, M.W., S. Meyers, T.L. Tollner and J.W. Overstreet. 2007. Damage to chromosomes and DNA of rhesus monkey sperm following cryopreservation. *Journal of Andrology*, 28: 493-501.
30. Marin-Guzman, J., D. Mahan and R. Whitmoyer. 2000. Effect of dietary selenium and vitamin E on the ultrastructure and ATP concentration of boar spermatozoa, and the efficacy of added sodium selenite in extended semen on sperm motility. *Journal of Animal Science*, 78: 1544-1550.
31. Min, Y., Z. Niu, T. Sun, Z. Wang, P. Jiao, B. Zi, P. Chen, D. Tian and F. Liu. 2018. Vitamin E and vitamin C supplementation improves antioxidant status and immune function in oxidative-stressed breeder roosters by up-regulating expression of GSH-Px gene. *Poultry Science*, 97: 1238-1244.
32. Nabi, M.M., H. Kohram, M. Zhandi, H. Mehrabani-Yeganeh, H. Sharideh, A. Zare-Shahaneh and V. Esmaili. 2016. Comparative evaluation of Nabi and Beltsville extenders for cryopreservation of rooster semen. *Cryobiology*, 72: 47-52.
33. Olson, G.E., V.P. Winfrey, K.E. Hill and R.F. Burk. 2004. Sequential development of flagellar defects in spermatids and epididymal spermatozoa of selenium-deficient rats. *Reproduction*, 127: 335-342.
34. Partyka, A., E. Łukaszewicz and W. Niżański. 2012. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in avian semen. *Animal Reproduction Science*, 134: 184-190.
35. Peris, S.I., J.F. Bilodeau, M. Dufour and J.L. Bailey. 2007. Impact of cryopreservation and reactive oxygen species on DNA integrity, lipid peroxidation, and functional parameters in ram sperm. *Molecular Reproduction Development*, 74: 878-892.
36. Petrujkić, B., D. Šefer, I. Jovanović, M. Jovičin, S. Janković, G. Jakovljević, R. Beier and R. Anderson. 2014. Effects of commercial selenium products on glutathione peroxidase activity and semen quality in stud boars. *Animal Feed Science Technology*, 197: 194-205.
37. Pratt, W.D., F.A. Murray, H. Conrad, A. Moxon and J.E. Kinder. 1980. Effects of selenium supplementation on bull sperm metabolism in vitro. *Theriogenology*, 13: 369-379.
38. Revell, S., and R. Mrode. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproduction Science*, 36: 77-86.

39. Shi, L., H. Zhao, Y. Ren, X. Yao, R. Song and W. Yue. 2014. Effects of different levels of dietary selenium on the proliferation of spermatogonial stem cells and antioxidant status in testis of roosters. *Animal Reproduction Science*, 149: 266-272.
40. Spallholz, J.E. 1997. Free radical generation by selenium compounds and their prooxidant toxicity. *Biomedical and Environmental Sciences*, 10: 260-270.
41. Surai, P., E. Blesbois, I. Grasseau, T. Chalah, J.P. Brillard, G. Wishart, S. Cerolini and N. Sparks. 1998. Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen. *Comparative Biochemistry Physiology Part B: Biochemistry Molecular Biology*, 120: 527-533.
42. Surai, P., I. Kostjuk, G. Wishart, A. Macpherson, B. Speake, R. Noble, I. Ionov and E. Kutz. 1998. Effect of vitamin E and selenium supplementation of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes, and liver. *Biological Trace Element Research*, 64: 119-132.
43. Surai, P.F. 2002. *Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction*. Nottingham University Press Nottingham.
44. Surai, P.F. 2006. *Selenium in nutrition and health*. Nottingham university press Nottingham.
45. Surai, P.F. and V.I. Fisinin. 2015. Selenium in pig nutrition and reproduction: Boars and semen quality. A Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28: 730.
46. Underwood, E.J. 1999. *The Mineral Nutrition of Livestock*. Cabi.
47. Ursini, F., S. Heim, M. Kiess, M. Maiorino, A. Roveri, J. Wissing and L. Flohé. 1999. Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science*, 285: 1393-1396.
48. Ursini, F., M. Maiorino and A. Roveri. 1997. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx): more than an antioxidant enzyme? *Biomedical environmental sciences: BES*, 10: 327-332.
49. Watson, P.F. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*, 60: 481-492.
50. Wu, S., J. Oldfield, P. Whanger and P. Weswig. 1973. Effect of selenium, vitamin E, and antioxidants on testicular function in rats. *Biology of Reproduction*, 8: 625-629.

The Effect of Dietary Supplementation with Organic and Inorganic Selenium on Quality of Frozen-Thawed Semen in Broiler Breeder Cockerel under Oxidative Stress with Dexamethasone

Namdar Kamrani¹, Amir Karimi², Zabihullah Nemati³ and Maghsoud Besharati³

1- M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Ahar Agriculture & Natural Resources, University of Tabriz

2- Department of Animal Science, Faculty of Ahar Agriculture & Natural Resources, University of Tabriz
(Corresponding author: pekarimi@tabrizu.ac.ir)

3- Associate Professor, Faculty of Ahar Agriculture & Natural Resources, University of Tabriz

Received: April 5, 2020

Accepted: May 13, 2020

Abstract

The present study was performed to investigate the effects of dietary organic and inorganic selenium on the quality of frozen-thawed semen of broiler breeder cockerel under oxidative stress. In this experiment, a total of 24, 28-week-old Ross 308 cockerels were allocated into 4 treatments each of which had 6 birds, in a completely randomized design. Experimental groups were: 1) control group (CON): basal diet without selenium supplementation or dexamethasone administration, 2) DEX group: birds consumed the basal diet with dexamethasone injection (4 mg/Kg body weight, three times, every other day for 1 week), 3) DEX_(OSe) group: addition of 0.3 mg selenium per kilogram of diet from selenomethionine as organic selenium to the basal diet of birds administrated dexamethasone like group 2 and 4) DEX_(ISe) group: similar to group 3 but selenite sodium as an inorganic source was added to the diet. After semen collection, the semen was frozen by modified Beltsville extender. Sperm evaluation was carried out by the Computer-Assisted Sperm Analysis system (CASA) in thawed semen. Results showed that the addition of organic selenium to the diet of stressed birds (DEX_(OSe)) improved total and progressive motility versus other experimental groups ($P < 0.05$); although, DEX_(OSe) was not statistically different with CON in progressive motility ($P > 0.05$). Also, the addition of inorganic selenium in the diet of stressed birds (DEX_(ISe)) did not improve the mentioned parameters versus DEX ($P > 0.05$). On the other hand, not only the viability and membrane integrity of sperm but also biochemical parameters (glutathione peroxidase and superoxide dismutase) of DEX_(OSe) were higher than other experimental groups ($P < 0.05$). It seems, the addition of organic selenium in the diet of cockerel under physiologic stress results in higher sperm quality than inorganic selenium.

Keywords: Frozen-thawed semen, Inorganic Selenium, Organic Selenium, physiological Stress



"مقاله پژوهشی"

تأثیر اورسولیک اسید بر بیان ژن های MyoD، PAX-7 و میوژنین و تکثیر سلول های ماهواره های در جوجه های بومی

هنگامه مرادی^۱، عبدالله محمدی سنگ چشمه^۲، سید داوود شریفی^۳، سیم زر حسین زاده^۴، احسان سید جعفری^۵ و عبدالرضا صالحی^۳

۱- دانشجوی دکترا تخصصی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، گروه علوم دام و طیور
۲- استادیار، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، گروه علوم دام و طیور، (نویسنده مسؤل: amohammadis@ut.ac.ir)
۳- دانشیار، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، گروه علوم دام و طیور
۴- استادیار، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده فناوری های نوین پزشکی
۵- دانشیار، پردیس علوم دانشگاه تهران، گروه بیوتکنولوژی
تاریخ ارسال: ۱۳۹۹/۰۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۷
صفحه: ۱۱ تا ۱۹

چکیده

اورسولیک اسید (UA) به عنوان یک تری ترپن پنج حلقه ای شناخته می شود که در بعضی از گیاهان دارویی همچون مرزه و آویشن کوهی وجود دارد و روی توسعه عضلات اثر می گذارد. در مطالعه اخیر، تأثیر اورسولیک اسید بر روی سلول های C2C12 و همچنین سلول های ماهواره ای (SCs) جدا شده از جوجه های گوشتی بومی مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا در آزمایش *In vitro*، سلول های C2C12 از مرکز تحقیقات بنیادته تهیه شدند و سلول های ماهواره ای از جوجه های یک روزه جداسازی و خالص سازی شدند، در نهایت تحت تأثیر اورسولیک اسید قرار گرفتند. در آزمایش *In vivo*، اورسولیک اسید بر اساس وزن بدن به صورت داخل عضلانی در شش روز اول در دو نوبت به جوجه ها تزریق شد، بطوریکه دوزهای مورد استفاده بر اساس دوزهای بدست آمده از آزمایش *In vitro* بود. سلول های ماهواره ای در روز هفتم از عضله پکتورال جوجه های تیمار شده جداسازی شدند. تشخیص SCs از طریق بیان ژن PAX-7 در آزمایشات *In vitro* و *In vivo* تأیید شد. در واقع، سلول های ماهواره ای و C2C12 در محیط کشت با اورسولیک اسید (۰/۰۰۰۲۵، ۰/۰۰۰۰۵، ۰/۰۰۰۰۱، ۰/۰۰۰۱۵، ۰/۰۰۰۲) میلی گرم در میلی لیتر) همراه با ۱ سی سی DMSO کشت شدند. نتایج بدست آمده از هر دو آزمایشات *In vitro* و *In vivo* نشان داد که اورسولیک در غلظت ۰/۰۰۰۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر بطور معنی داری بیان ژن های درگیر در تکثیر و تمایز سلول های ماهواره ای یعنی MyoD، PAX-7 و میوژنین را افزایش داد و همچنین هایپر تروفی عضله را بهبود بخشید. در نتیجه، اورسولیک اسید می تواند به عنوان یک ماده مؤثر در کاهش دوره پرورش و افزایش سرعت رشد عضله اسکلتی در جوجه های گوشتی بومی پیشنهاد شود.

واژه های کلیدی: اورسولیک اسید، توسعه عضله، فلوسیتومتری، PAX-7

مقدمه

که با محدودیت خوراک در این زمان آسیب می بیند (۲۸). مستندات علمی موجود پیشنهاد می کنند که سلول های ماهواره ای به شدت توسط عوامل خارجی مثل فاکتور رشد تغییر شکل دهنده بتا ($TGF-\beta$)، فاکتور رشد فیبروبلاست (FGF) و چندین عامل رونویسی از قبیل PAX-7، عامل تنظیمی میوژنیک (MRF)، عامل تمایز میوژنیک (MyoD) و میوژنین کنترل می شوند (۱۸۶). لذا، شناسایی این عوامل و فهم اینکه آنها چگونه عمل می نمایند مسیر جدیدی در بهبود عملکرد رشد جوجه های گوشتی باز خواهد نمود.

تلاش های زیادی در جهت فهم سازوکارهای مولکولی و سلولی درگیر در هایپر تروفی و آتروفی عضلات در سال های اخیر انجام شده است (۲۵). یکی از راهبردهای موجود در تحریک هایپر تروفی عضلات بهره گیری از مواد طبیعی گیاهی مثل اورسولیک اسید است (۱۹). اورسولیک اسید یک ترکیب لیپوفیلیک می باشد که در پوست سیب، نعنای رزماری، آویشن، آلو و مرزه حضور دارد (۱۰). تا کنون اثرات بیولوژیکی متعددی برای این ترکیب تعیین شده است که شامل اثرات ضد توموری از طریق مهار مسیر STAT، ضد اکسیداتیو، ضد التهابی، ضد دیابت، ضد ایدز، ضد باکتری و محافظت از کبد است

صنعت طیور همراه با رشد فزاینده جمعیت رشد چشمگیری داشته است (۲۲). فشار بر صنایع طیور منجر به فزونی سرعت رشد پرندگان، بازدهی خوراک و توده عضلانی بدن آنها گردیده است (۲۲). در این خصوص، مهمترین عامل در دستیابی به حداکثر پتانسیل رشد جوجه ها و تبدیل مواد مغذی به گوشت و عضله، اندازه گیری احتیاجات مواد مغذی جوجه ها در هفته های اول پس از هچ است که پتانسیل رشد عضله تا زمان کشتار را تعیین می نماید (۱۱). از آنجایی که رشد عضله در جوجه ها با هایپر تروفی عضله اسکلتی اتفاق می افتد، بهبود چنین فرایندی توجه وافر را در پژوهش ها به خود جلب کرده است.

هایپر تروفی عضله اسکلتی از طریق جمعیت میوبلاست های بالغ کنترل می شود که بعنوان سلول های ماهواره ای معروف هستند. این سلول ها، سلول های بنیادی اصلی عضله اسکلتی محسوب می شوند (۱۳). سلول های ماهواره ای توسط اهدای هسته به فیبرهای عضله ای، هایپر تروفی عضله را تسریع می نمایند و ظرفیت فیبرها برای سنتز پروتئین را افزایش می دهند (۲۱). این سلول ها در هفته اول پس از هچ فعال اند

روز سوم جوجه‌ها با محلول کتامین/زالین بی‌هوش شده و در ادامه، ماهیچه اسکلتی به قطر ۱ میلی‌متر از سینه طیور گوشتی جدا شده و درون فالدکون حاوی محلول آنزیمی (۱/۰ درصد کلاژناز نوع ۱، ۱/۰ درصد کلاژناز نوع ۴ و ۱/۷۵ u/mg دیازپاز) به مدت ۱ شب در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد تا هضم انجام شود. بعد از ۲۴ ساعت، نمونه‌ها به مدت سه و نیم ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. نمونه‌ها از یک صافی با منافذهای ۷۰ میلی‌متری عبور داده شدند و به مدت ۲ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۱۲۵۰ قرار گرفتند. در ادامه، با افزودن به محیط کشت حاوی D-MEM و FBS ۱۰٪، سوسپانسیون تک سلولی کشت شده و بمدت یک و نیم ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. اولین مرحله از pre-plating با ذخیره سلول‌های غیرقطبی و سلول‌های جدا شده توسط بافر فسفات سالین-EDTA انجام گرفت. این مرحله هر روز تکرار شد و سلول‌ها در یک فلاسک حاوی محیط کشت داده شدند. در نهایت، برای تشخیص سلول‌های کشت داده شده از فلوسیتومتری آنتی‌بادی PAX-7 استفاده شد.

فلوسیتومتری

در این مرحله، شناسایی سلول‌های ماهواره‌ای با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی اولیه PAX-7 صورت گرفت. سلول‌ها پس از شستشو با محلول شستشوی مخصوص فلوسیتومتری (شامل PBS و سرم ۱٪) بمدت ۳۰ دقیقه با پارافرمالدئید ۴٪ فیکس شدند. در مرحله بعدی با آنتی‌بادی PAX7 و بصورت مستقیم به یک آنتی بادی ثانویه فلورسانس متصل بودند بمدت ۱ ساعت انکوبه شدند. بعد از تثبیت مجدد سلول‌ها با پارافرمالدئید یک درصد، نمونه‌ها برای بررسی بیان نشانگر سطحی توسط دستگاه فلوسیتومتری مدل Dekenson Bectin و نرم‌افزار Win 8/MDI2 در آزمایشگاه هیستونونک مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تیمار با اورسولیک اسید

سلول‌های ماهواره‌ای به همراه C₂C₁₂ در محیط کشت فیروبلاست (DMEM با ۴/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گلوکز) شامل ۱ درصد پنی سیلین/استرپتومایسین، ۱ درصد کلوتامین و ۱۰ درصد FBS همراه با ۹۵ درصد رطوبت هوای انکوباتور و ۵ درصد CO₂ و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت شدند. سلول‌های ماهواره‌ای با چگالی ۱۰^۳*۲ سلول/چاهک در یک پلیت ۹۶ چاهکی بمدت ۲ روز کشت شدند. این سلول‌ها بمدت ۷ روز در محیط کشت سرم ۱۰ درصد به‌تنهایی (DMSO ۰/۱ درصد) یا با اسید اورسولیک (۰/۰۰۰۲۵، ۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر همراه با DMSO (۱ سی‌سی) کشت شدند. تمام داده‌های ارائه شده در این مطالعه از سه آزمایش مستقل به دست آمده است.

آزمون MTT

سمیت سلولی اورسولیک اسید (۰/۰۰۰۲۵، ۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۰۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) از طریق آزمون MTT آزمایش شد. مکانیسم آن شامل شکستن نمک MTT به بلورهای نامحلول فورمازان از طریق آنزیم دهیدروژناز میتوکندریایی در سلول‌های زنده است. خروجی

(۷،۲۴). محققان مختلف نشان داده‌اند که اورسولیک اسید تخریب عضله اسکلتی را مهار می‌کند و در نهایت حجم و قدرت این بافت را در حیوانات آزمایشگاهی افزایش می‌دهد (۱۶). همچنین، نشان داده شده است اورسولیک اسید حجم عضله اسکلتی را با افزایش بیان ژن‌های مسیر هوایی (پروتئین کیناز B) و کاهش بیان ژن‌های مسوول در تخریب عضله (MURF-1 و آتروژنین-۱) افزایش می‌دهد (۱۶). گیاهان دارویی همچون مرزه بعنوان یک جایگزین آنتی‌بیوتیک مناسب در جیره طیور استفاده می‌شوند. منطبق بر مدارک علمی، استفاده از مرزه در جیره جوجه‌ها مصرف خوراک و افزایش وزن را به مقدار قابل توجهی افزایش می‌دهد (۳۰).

در کل، به نظر می‌رسد اورسولیک اسید سلول‌های ماهواره‌ای را جهت بهبود عملکرد و افزایش سرعت رشد در هفته اول پس از هچ فعال می‌نماید. تأثیر اورسولیک اسید در جوجه‌های گوشتی بومی به‌ندرت مورد مطالعه قرار گرفته است. لذا، فرضیه ما این بود که افزایش حجم عضله می‌تواند بطور مثبتی بوسیله اسید اورسولیک تحت تأثیر قرار گیرد. در مطالعه حاضر، پاسخ القاشده در جوجه‌های گوشتی بومی با افزودن اورسولیک اسید به سلول‌های ماهواره‌ای جدا شده از عضله اسکلتی بصورت In vitro و تزریق اورسولیک اسید به عضله جوجه‌ها به صورت In vivo بررسی شد.

مواد و روش‌ها

اسید اورسولیک از شرکت Enzo Life Sciences با خلوص ۹۰ درصد خریداری شد. FBS، DMEM، پنی‌سیلین-استرپتومایسین، آنزیم‌های گوارشی مانند کلاژناز نوع اول و چهارم و همچنین دیسپاز از شرکت GIBCO (گراند آیلند، نیویورک) خریداری شدند. آنتی‌بادی‌های اختصاصی برای MyoD، Myogenin، PAX7، β-actin و MyoD از شرکت بیوتکنولوژی سانتا کروز (سانتا کروز) و آباکام خریداری شدند. فسفات بافر نمکی-EDTA، ژلاتین، کیت سنتز DNA، PCR Master Mix، از شرکت سیگما-آلدریج و سایر مواد شیمیایی از شرکت Merck خریداری شدند.

این پژوهش در دو مرحله In vitro و In vivo صورت گرفت که در هر مرحله تعدادی جوجه بومی گلپایگانی یک روزه تهیه و از آنها نمونه گرفته شد و مراحل جداسازی سلول، شناسایی سلول با فلوسیتومتری، تیمار با اورسولیک اسید، تشخیص سمیت سلول، استخراج RNA و cDNA و در نهایت اندازه‌گیری میزان بیان ژن بطور جداگانه در هر مرحله انجام گرفت.

In vitro مطالعه

جداسازی سلول‌های ماهواره‌ای عضله اسکلتی

ابتدا، جداسازی سلول‌های ماهواره‌ای ماهیچه اسکلتی با استفاده از روش pre-plating صورت گرفت (۲۹). از آنجایی که سلول‌های ماهواره‌ای در ماهیچه طیور جوان‌تر بیشتر یافت می‌شوند، بنابراین برای دستیابی به جمعیت خالص‌تری از این سلول‌ها از جوجه‌های گوشتی در سنین ابتدایی استفاده شد. ابتدا چند جوجه بومی گلپایگانی یک روزه تهیه شد و در

(جدول ۱) مخلوط شدند و سپس حجم مخلوط واکنش به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. تکثیر طبق مراحل زیر انجام شد: مرحله ۱) واسرشته کردن در ۹۵ درجه سانتی گراد بمدت ۵ ثانیه؛ مرحله ۲) واسرشته کردن در ۹۵ درجه سانتی گراد بمدت ۱۵ ثانیه؛ مرحله ۳) اتصال در ۵۹ درجه سانتی گراد بمدت ۱۵ ثانیه؛ مرحله ۴) گسترش در ۷۲ درجه سانتی گراد بمدت ۲۰ ثانیه؛ مرحله ۵) تجزیه منحنی ذوب. مراحل ۱ تا ۴ برای ۴۰ چرخه تکرار شدند و تکثیر برای هر ژن در سه تکرار انجام شد. اختصاصی بودن آمپلیکون توسط تجزیه منحنی ذوب تأیید شد و برای محاسبه تغییر بیان ژن‌ها توسط نرم افزار REST-384 (نسخه ۲) (بیکن) از استانداردهای چرخه آستانه استفاده شد (۵). بیان ژن‌ها در برابر ژن خانه دار (β -actin) نرمال شد و بعنوان تغییر نسبی در بیان با توجه به کنترل ترسیم شد. این پرایمرها اختصاصی بوده و برای مطالعه عملکرد ژن طراحی شدند.

مطالعه In vivo

در این مطالعه از ۴۰ قطعه جوجه بومی نژاد گلپایگانی با میانگین وزنی ۴۰ گرم استفاده شد. سپس، اورهولیک اسید در غلظت ۰/۰۰۰۲۵ میلی گرم/میلی لیتر بصورت داخل عضلانی بر اساس کیلوگرم وزن بدن در طول شش روز اول بصورت دوبار در روز به جوجه‌های گوشتی بدون ایجاد ترس و تنش در جوجه‌ها تزریق شد. ۲۰ قطعه جوجه بصورت تصادفی انتخاب و سلول‌های ماهواره‌ای از عضله سینه آنها در روز آخر جدا شد. مشابه آزمایش *In vitro*، شناسایی سلول‌های ماهواره‌ای از طریق آزمون بیان PAX-7 تأیید شد. در ادامه، بیان ژن‌های درگیر در تکثیر و تمایز سلول‌های ماهواره‌ای شامل PAX-7، MyoD و میوژنین اندازه‌گیری شدند.

تجزیه آماری

داده‌ها با استفاده از آزمون t-student در نرم افزار SPSS تجزیه شدند و نمودارها در نرم افزار اکسل ترسیم شدند. هر آزمایش حداقل سه بار انجام شد و داده‌ها بصورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند.

این واکنش، تولید کریستال‌های محلول بنفش رنگ فورمازان در دی متیل سولفوکساید (DMSO) است. برای بهینه‌سازی غلظت اورهولیک اسید در محیط کشت، سلول‌های ماهواره‌ای به همراه $C_{2}C_{12}$ با رقت‌های مختلف اورهولیک اسید تیمار شدند. پس از گذشت ۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۱۰۰ سی‌سی DMSO اضافه شد و سپس OD هر چاهک از طریق میکروپلیت ریدر (نوبین گستر-ایران) ثبت شد. در پایان، درصد سلول‌های زنده در هر گروه محاسبه شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA

ابتدا، استخراج RNA بر اساس کیت تجاری سیناژن از نمونه‌ها انجام شد. کمیت و کیفیت RNA استخراجی با استفاده از نانودراپ و ژل آگارز تعیین شد. برای تعیین خلوص، پس از تیمار نمونه‌ها با IDNase، میزان جذب در ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و با استفاده از نانودراپ اندازه‌گیری شد. برای تعیین کیفیت، تفکیک RNA استخراجی روی ژل آگارز ۱/۵ درصد اجرا شد و باندهای مربوط به RNAهای ۲۸ و ۱۸ S ارزیابی شدند. بعد از اطمینان از خلوص و کیفیت نمونه‌ها، از RNA خالص بمنظور سنتز cDNA استفاده شد. برای سنتز cDNA از کیت تجاری شرکت Genet Bio استفاده شد. نمونه‌ها نخست یک ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و سپس ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه قرار گرفتند.

اجرای qRT-PCR

سطح mRNA در نمونه‌ها با استفاده از تکنیک QRT-PCR تعیین شد (۱۷). بطور خلاصه، با استفاده از معرف Trizol، RNA کل از نمونه‌ها استخراج شده و در آب حاوی دی اتیل پیرو کربنات (DEPC) طبق دستورالعمل شرکت سازنده حل شد. در ادامه، از cDNA ۳ میکروگرم RNA سنتز شده و QRT-PCR با استفاده از دستگاه Rotor Gene 3000 (Corbett Research) انجام شد. جهت اجرای QRT-PCR، مسترمیکس ۱۰ ایکس SYBR green PCR با ۱۰ میکرولیتر cDNA برای جوجه‌های تحت تیمار با اسید اورهولیک و ۸ میکرولیتر برای جوجه‌های کنترل و همچنین ۱۰ پیکومول از هر یک از آغازگرهای رو به جلو و عقب

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق

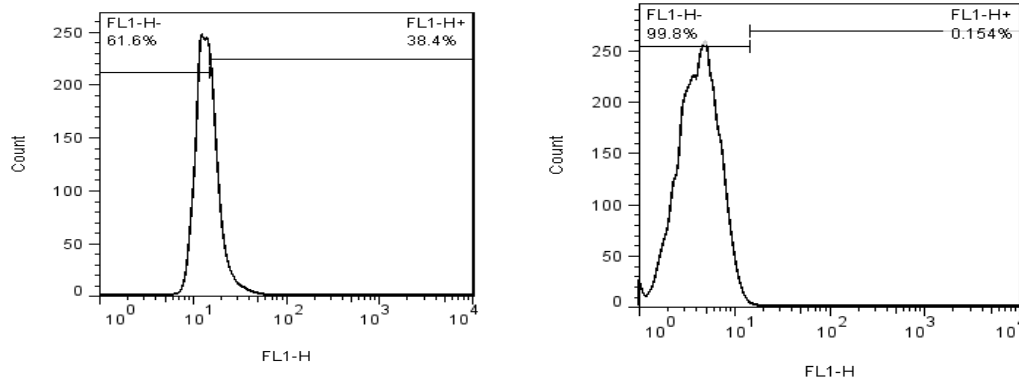
توالی (۵'-۳')	توالی (۵'-۳')	پرایمرها
CTGCTTGAAGTTCCTGCTC	AAGAGGAAAGCCACATTGC	PAX7
CITATGTGAATGGGGAGTG	GTGGAGGATATGCTGTTG	Myogenin
GAAGAGGGGTGCAGTTGGTG	GTTCTGTTGTTCCAGCCTCG	MyoD
AGGATGGCGTGAGGGAGAGC	ATATCGCTGCGCTGGTCGTC	β -actin

تأیید کرد. تجزیه فلوسیتومتری آنتی‌بادی PAX-7 نشان داد که این عامل در حدود ۳۸/۴ درصد سلول‌ها بیان شدند. لذا معلوم شد که حدود نصف سلول‌ها از نوع ماهواره‌ای هستند (شکل ۱).

نتایج و بحث

شناسایی سلول‌های ماهواره‌ای

به منظور مطالعه فاکتورهای اولیه متأثر از اورهولیک اسید، تجزیه نتایج حاصل از فلوسیتومتری ماهیت این سلول‌ها را

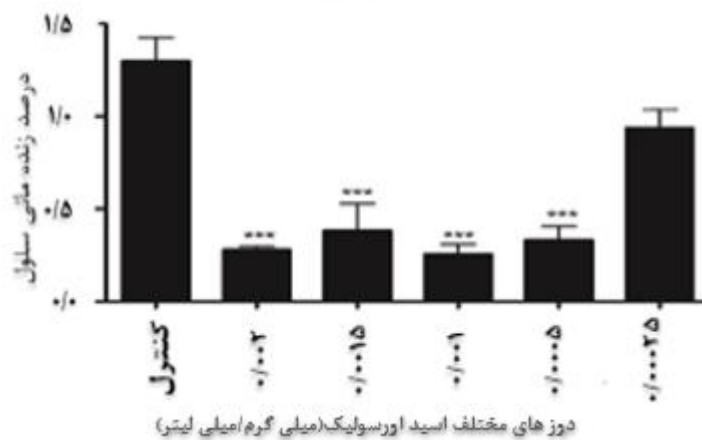


شکل ۱- نتایج فلوسیتومتری آنتی‌بادی PAX-7. چپ: نمونه بافت حاوی سلول ماهواره‌ای، راست: کنترل منفی
Figure 1. Flow cytometric results of PAX-7 antibody. Left: Muscle tissue sample containing satellite cells and right: Negative control

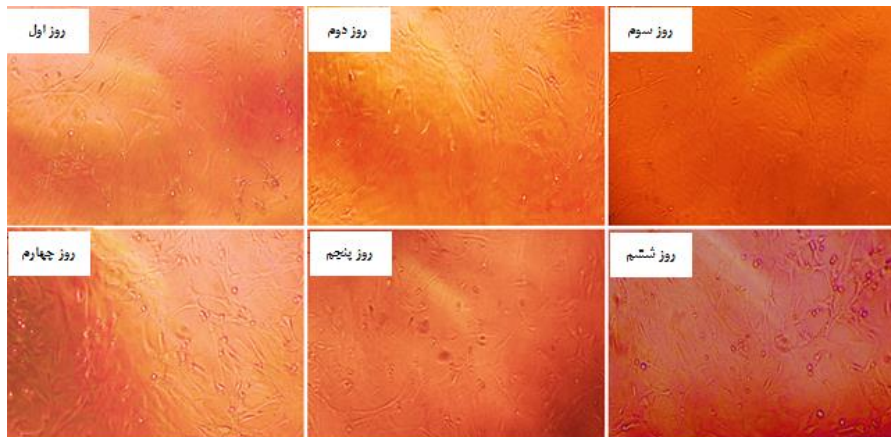
همانطور که در شکل ۳ دیده می‌شود تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای در طول زمان افزایش یافت. به طوریکه تفاوت در روز اول و ششم مشهود بود. این موضوع آشکار می‌سازد که اورسولیک اسید توانایی بهبود هایپرتروفی عضلات اسکلتی را دارد.

بررسی اثر سمیت اسید اورسولیک

نتایج MTT برای تعیین درصد زنده مانی سلولی برای دوزهای مختلف اورسولیک اسید نشان داد که بیشترین زنده مانی سلول‌های $C_{2C_{12}}$ و سلول‌های ماهواره‌ای در دوز 0.00025 بود (شکل ۲). از این رو، اولین دوز برای سلول‌های ماهواره‌ای بکار رفت و سپس در طول زمان دنبال شد.



شکل ۲- نتایج آزمون MTT برای تعیین درصد زنده مانی سلول برای دوزهای مختلف اسید اورسولیک
Figure 2. MTT test results for determining the percentage of metabolic activity for different doses of ursolic acid

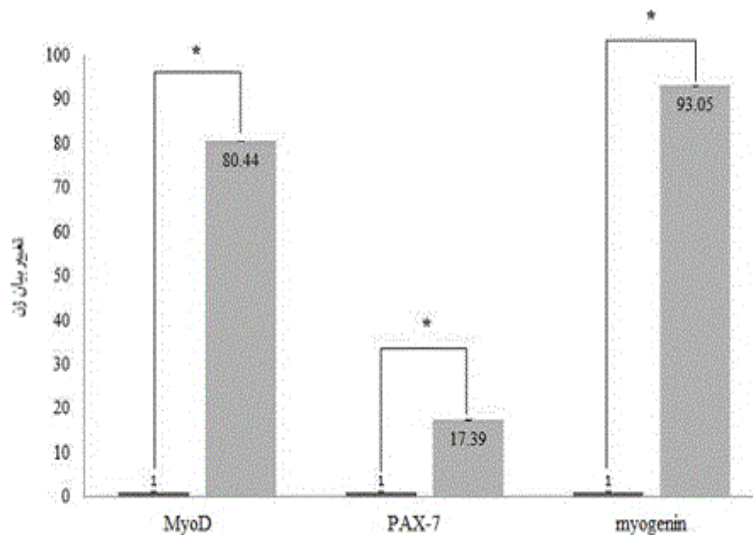


شکل ۳- تصویر سلول‌های ماهواره‌ای جدا شده از بافت سینه جوجه‌های گوشتی تیمار شده با اسید اورسولیک برای شش روز متوالی
 Figure 3. Satellite cell images isolated from breast tissue of native broiler chickens treated with ursolic acid for seven days

که شاخص کیفیت RNA استخراج شده است، نشان داد که خلص سازی مولکول RNA کیفیت مناسبی برای ادامه داشته است. پس از اینکه PCR انجام شد، در هر دو آزمایشات *In vivo* و *In vitro* به نظر می‌رسد که سطوح بیان ژن‌های PAX7، میوژنین و MyoD زمانیکه که با کنترل مقایسه شد افزایش یافت. بنابراین سطوح بیان این ژن‌ها بترتیب حدود ۹۳، ۸۰ و ۱۷ برابر افزایش یافت. پس می‌توان نتیجه گرفت که تیمار اورسولیک اسید به طور معنی‌داری سطح MyoD و میوژنین را در سلول‌های ماهواره‌ای بطور معنی‌داری افزایش می‌دهد (شکل ۴ و ۵).

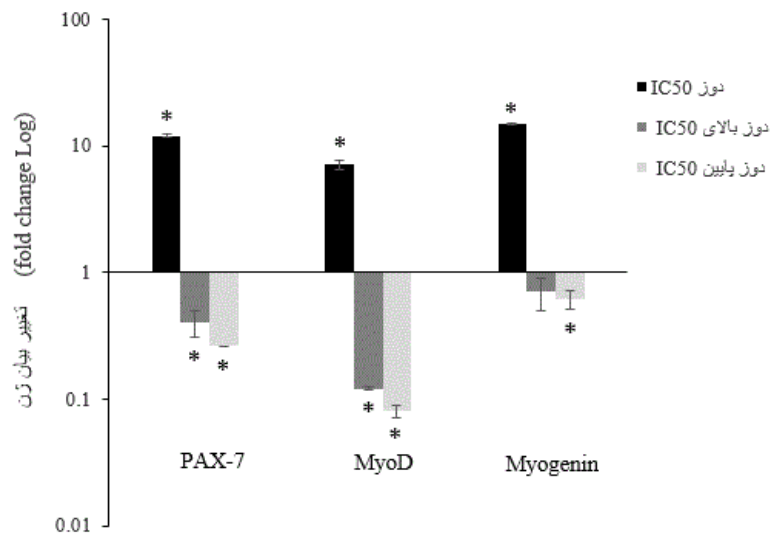
بررسی اثر اسید اورسولیک بر بیان ژن‌های درگیر در تکثیر و تمایز سلول‌های ماهواره‌ای

در این مرحله، درجه تأثیر این ترکیب طبیعی پنج حلقه‌ای روی بیان ژن‌های MyoD، PAX-7 و میوژنین جهت آشکار کردن مکانیسم‌های پیرتروفی عضلات که ناشی از اسید اورسولیک است بررسی شد. آزمایش خلص سازی RNA استخراج شده بوسیله اسپکتروفوتومتر نشان داد که نسبت OD ۲۶۰/۲۸۰ در تمام نمونه‌های استخراج شده در ۱/۹۷ تا ۱/۹۲ ظاهر شد که نشان‌دهنده کیفیت مناسب استخراج است. آزمایش کیفیت RNA استخراج شده از طریق ژل الکتروفورز و مشاهده باندهای ۱۸s و ۲۸s در ارتباط با RNA ریبوزومی



شکل ۴- بیان ژن‌های PAX-7، MyoD و میوژنین در سلول‌های ماهواره‌ای بعد از تیمار اسید اورسولیک در مقایسه با کنترل تحت شرایط آزمایشگاهی. علامت ستاره گویای سطح معنی‌داری ۵ درصد مابین تیمار و شاهد است.

Figure 4. Expression of PAX-7, Myogenin and MyoD genes in satellite cells after ursolic acid treatment when compared to control under *in vitro* conditions. Star marks indicate a significant difference at the 5% level between the sample treated with ursolic acid and the control.



شکل ۵- بیان ژن‌های PAX-7، MyoD و میوژنین در سلول‌های ماهواره‌ای بعد از تیمار اسید ارسولیک در مقایسه با کنترل تحت شرایط درون پیکری. علامت ستاره گویای سطح معنی‌داری ۵ درصد مابین تیمار و شاهد است.

Figure 5. Expression of PAX-7, Myogenin and MyoD genes in satellite cells after ursolic acid treatment when compared to control under in vivo conditions. Star marks indicate a significant difference at the 5% level between the sample treated with ursolic acid and the control.

MRFs در سلول‌های ماهواره‌ای خاموش بیان نمی‌شوند، اما بمحض فعال شدن و تکثیر، MyoD و Myf5 بیان می‌شوند (۱). اگرچه رابطه عملکردی بین MyoD و Myf5 وجود دارد، MyoD عامل اصلی رونویسی میوژنیک است و نشان داده شده است که برای تمایز سلول‌های ماهواره‌ای ضروری است (۲۷). در واقع، MyoD یکی از اولین شاخص‌های شناخته شده در فرایند ساخت عضله می‌باشد و نقش مهمی در تنظیم تمایز عضله دارد (۲۲). در این راستا بیان MyoD فعالیت سلول‌های ماهواره‌ای را بهبود می‌بخشد. مطالعات قبلی نشان داده اند که بیان MyoD بیان ژن myogenin را بهبود داده و تمایز نهایی سلول‌های عضله اسکلتی را تحریک می‌کند (۲۰). میوژنین همچنین در تمایز سلول‌های ماهواره‌ای درگیر است و بعنوان شاخص در توسعه داخل سلولی عضله مفید می‌باشد. بیان میوژنین همچنین برای تنظیم میوژنیک حیاتی است بطوریکه برای تشکیل طبیعی و تمایز multinucleated myotubes ضروری است (۲۶). نقش خاص mrf4 در این فرایند بسیار پیچیده است. این قادر است تمایز میوژنیک در رویان فاقد میوژنین و رویان‌های myogenin null را تسهیل کند (۲۲). تمام این مطالعات پیشنهاد می‌کنند که MyoD برای فعال‌سازی میوژنیک و تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای مورد نیاز است. در نهایت، میوژنین نقش مهمی در تمایز نهایی آنها دارد و mrf4 تا حدودی هر دو نقش را ایفا می‌کند.

مکانیسم احتمالی اثر ارسولیک اسید روی سلول‌های ماهواره‌ای را می‌توان به فعال‌سازی ژن MyoD و توسعه داخل سلولی عضله نسبت داد. افزایش بیان میوژنین و MyoD در سلول‌های بنیادی تیمار شده با ارسولیک اسید در توانایی تکثیر سلول‌های بنیادیمکس می‌شود. توانایی ارسولیک اسید به تحریک تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای بوسیله جونگ و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش شده است (۱۴). آنها

جمعیت سلول‌های ماهواره‌ای به وسیله برنامه‌ریزی منظم داخل سلولی کنترل می‌شود که نقش مهمی در تنظیم فعالیت سلول‌های ماهواره‌ای، تمایز و تکثیر میوژنیک و نقش احتمالی در هایپرتروفی میوفیبر دارد. در این برنامه، مولکول‌های تنظیمی کلیدی شامل MRFs، PAX-7 می‌باشند. MRF شامل MyoD، میوژنین، MYF5 و MRF4 هستند که هر کدام نقش‌های خاصی در کنترل فرایند میوژنیک دارند (۱۳). در این مطالعه، بیان ژن PAX-7 پس از تیمار با ارسولیک اسید افزایش پیدا کرد. افزایش بیان PAX-7 بنظر می‌رسد مرتبط با اثر ارسولیک اسید بر روی فعالیت SIRT 1 است (۹) که نقش حیاتی در افزایش وزن دارد.

القای بیان PAX-7 در سلول‌های ماهواره‌ای موش توسط بختیاری و همکاران (۲) گزارش شده است. آنها پیشنهاد کردند که این ژن نقش مهمی در تغییر بیان ژن‌های درگیر در تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای دارد. نشان داده شده است که PAX-7 قادر به تحریک سلول‌های ماهواره‌ای بوده و تولید میوبلاست‌های مشتق شده از سلول‌های ماهواره‌ای را محدود می‌کند. نقش حیاتی PAX-7 در شناسایی سلول‌های ماهواره‌ای آن را به یک شاخص مفید در تعیین کینتیک جمعیت آن‌ها تبدیل کرده است. این امر از طریق تنظیم کاهشی PAX-7 در سلول‌های ماهواره‌ای جوجه‌های گوشتی محروم از خوراک ۴۸ ساعت پس از هیچ مشخص می‌شود، بطوریکه شاخص کاهش تعداد سلول‌های ماهواره‌ای در عضله سینه پرندگان محروم از خوراک است (۳).

علاوه بر PAX-7، بیان ژن‌های MyoD و میوژنین پس از تیمار با ارسولیک اسید افزایش یافت این عوامل عضو خانواده عامل تمایز میوژنین (MRF1) می‌باشند که در فرایند تکثیر سلول‌های ماهواره‌ای درگیر هستند. این عوامل در سلول‌های ماهواره‌ای فعال بیان می‌شوند در حالیکه بیان آن‌ها در سلول‌های ماهواره‌ای غیرفعال اتفاق نمی‌افتد. به عبارت دیگر،

ارسولیک اسید بر روی فیتنس فیزیکی، از دست‌دادن توده عضله اسکلتی هزینه انرژی و چاقی نقش دارند. این سازوکارها شامل: (۱) بهبود فیتنس فیزیکی از طریق SIRT1 و بیان SMPGC- α (۲) بهبود توده عضله اسکلتی از طریق مهار MURF1، فعال‌سازی MTOR، ترشح IGF-1، فعال‌سازی هورمون رشد (۳) توسعه ترموژنیزس از طریق بیان زیاد UCP1، فعال‌سازی AMPK، و تنظیم فاکتور رونویسی آدیپوسیت. در نتیجه، مکمل‌سازی با ارسولیک اسید می‌تواند یک درمان جنینی برای پیشگیری و درمان پیامدهای متابولیسمی مرتبط با توده عضله در انسان باشد و همچنین می‌تواند دوره رشد را کوتاه کرده و رشد عضله اسکلتی در جوجه‌های گوشتی را افزایش دهد.

بطور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد ارسولیک در غلظت ۰/۰۰۰۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بطور معنی‌داری بیان ژن‌های درگیر در تکثیر و تمایز سلول‌های ماهواره‌ای یعنی PAX-7، MyoD و میوژنین را افزایش داد و همچنین هاپیروتروفی عضله را بهبود بخشید. در نتیجه، ارسولیک اسید می‌تواند بعنوان یک ماده مؤثر در کاهش دوره پرورش و افزایش سرعت رشد عضله اسکلتی در جوجه‌های گوشتی بومی پیشنهاد شود.

نشان دادند که تیمار سلول‌های ماهواره‌ای با ارسولیک اسید استخراج‌شده از پوست سیب منجر به افزایش پاسخ به دوز در بیان AMPK، SIRT1، و PGC1 α در سلول‌های عضله شد. همچنین محققان مشاهده کردند که ارسولیک اسید بیان پروتئین‌های IGF1، AKT و Mtor را که باعث القای هاپیروتروفی عضله می‌شوند و همچنین پروتئین‌های درگیر در آتروفی عضلات را کاهش می‌دهد (۱۴). بنابراین محققان پیشنهاد کردند که ارسولیک اسید قادر به تنظیم پروتئین‌های درگیر در بیوژنیزس میتوکندریایی، افزایش هاپیروتروفی و آتروفی عضله است. بختیاری و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که ارسولیک اسید بطور مستقیم SIRT را فعال می‌کند (۴). آنها گزارش کردند که ارسولیک اسید به سطح خارجی SIRT متصل می‌شود و منجر به اتصال محکم سوپسترا به آنزیم می‌شود. آنها همچنین نشان دادند که ارسولیک اسید، SIRT را به سمت شکل فعال آنزیم انتقال می‌دهد. لذا محققان پیشنهاد کردند که ارسولیک اسید فعالیت SIRT در سلول‌ها را تقویت می‌کند. بختیاری (۲) همچنین نشان داد که ارسولیک اسید، نئومیوژنیزس را از طریق هاپیروپلازیا و توسعه تعداد سلول‌های ماهواره‌ای در عضله اسکلتی القا می‌کند. کاتاشیما و همکاران (۱۵) در یک مرور سیستماتیک نشان دادند که برخی از مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و مولکولی در اثر بخشی

منابع

1. Alison, D., B. Jason, C. Foster and R. McGuigan. 2006. Using session RPE to monitor different methods of resistance exercise. *Sports Science and Medicine*, 5(2): 289-295.
2. Bakhtiari, N. 2016. Ursolic acid induces neomyogenesis through hyperplasia and increasing of satellite cells number in mice skeletal muscle. *Journal of Stem Cell and Regenerative Biology*, <https://doi.org/10.15436/2471-0598.16.015>.
3. Bakhtiari, N., M. Soulemani, M. Javan, R. Hemmati and S. Hosseinkhani. 2015. Ursolic acid induces myoglobin expression and skeletal muscle remodeling in mice. *Physiology and Pharmacology*, 18(4): 373-382.
4. Bakhtiari, N., S. Mirzaie, R. Hemmati, E. Moslemee-Jalalvand, A.R. Noori and J. Kazemi. 2018. Mounting evidence validates Ursolic Acid directly activates SIRT1: A powerful STAC which mimic endogenous activator of SIRT1. *Arch Biochem Biophys*, 650: 39-48.
5. Beekman, L., T. Tohver and R. Leguillette. 2012. Comparison of cytokine mRNA expression in the bronchoalveolar lavage fluid of horses with inflammatory airway disease and bronchoalveolar lavage mastocytosis or neutrophilia using REST software analysis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(1): 153-161.
6. Cameron-Smith, D. 2002. Exercise and skeletal muscle gene expression. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 29(3): 209-13.
7. Chu, X., X. He, Z. Shi, C. Li, F. Guo, S. Li, Y. Li, L. Na and C. Sun. 2015. Ursolic acid increases energy expenditure through enhancing free fatty acid uptake and β -oxidation via an UCP3/AMPK-dependent pathway in skeletal muscle. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(8): 1491-503.
8. Dhawan, J. and T.A. Rando 2005. Stem cells in postnatal myogenesis: molecular mechanisms of satellite cell quiescence, activation and replenishment. *Trends Cell Biol*, 15(12): 666-73.
9. Fulco, M., R.L. Schiltz, S. Iezzi, M.T. King, P. Zhao, Y. Kashiwaya, E. Hoffman, R.L. Veech and V. Sartorelli. 2003. Sir2 regulates skeletal muscle differentiation as a potential sensor of the redox state. *Molecular Cell*, 12(1): 51-62.
10. Garcia, V.P., F. Catala-Gregori, M.D. Hernandez, A. Megras and J. Madrid. 2006. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 16: 555-562.
11. Halevy, O.A., M. Geyram, Z. Barakm and D. Sklan. 2000. Early post hatch starvation decreases satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in chicks, *Journal of Nutrition*, 130: 858-864.
12. Hall, I.R., A. Tomann and U. Bauermann. 2008. Effect of a graded supplementation of savory in broiler feed on growth and carcass traits. *Archive for Geflugelk*, 72(3): 129-135.
13. Hawke, T.J. and D.J. Garry. 2001. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *Journal of Applied Physiology*, 91(2): 534-551.

14. Jeong, J.W., J.J. Shim and I.D. Choi. 2015. Apple pomace extract improves endurance in exercise performance by increasing strength and weight of skeletal muscle. *Journal of Medicinal Food*, 18: 1380-1386.
15. Katashima, C.K., V.R. Silva, T.L. Gomes, C. Pichard and G.D. Pimentel. 2017. Ursolic acid and mechanisms of actions on adipose and muscle tissue: a systematic review. *Obesity Reviews*, 18(6): 700-711.
16. Kunkel, S.D., M. Suneja and S.M. Ebert. 2011. mRNA expression signatures of human skeletal muscle atrophy identifies a natural compound that increases muscle mass. *Cell Metab*, 13: 627-638.
17. Kunwar, A., S. Jayakumar, H.N. Bhilwade, P.P. Bag, H. Bhatt, R.C. Chaubey, K.I. Priyadarsini. 2016. Protective effects of selenocystine against gamma-radiation-induced genotoxicity in Swiss albino mice, *Radiat. Environ. Biophys*, 50(2): 271-280.
18. Lepper, C. and C.M. Fan. 2010. Inducible lineage tracing of Pax7-descendant cells reveals embryonic origin of adult satellite cells. *Genesis*, 48: 424-436
19. Li, S., X. Liao, F. Meng, Y. Wang, Z. Sun, F. Guo, X. Li, M. Meng, Y. Li and C. Sun. 2014. Therapeutic role of ursolic acid on ameliorating hepatic steatosis and improving metabolic disorders in high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease rats. *PLoS One*, 9: e86724.
20. Meadows, E., J. Cho, J.M. Flynn and W.H. Klein. 2008. Myogenin regulates a distinct genetic program in adult muscle stem cells. *Developmental Biology*, 322: 406-414.
21. Moss, F.P. and C.P. Leblond. 1971. Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats, *Anatomical Record*, 170: 421-435.
22. Nakatsuka, R., T. Nozaki, Y. Uemura, Y. Matsuoka, Y. Sasaki, M. Shinohara, K. Ohura and Y. Sonoda. 2010. 5-Aza-2'-deoxycytidine treatment induces skeletal myogenic differentiation of mouse dental pulp stem cells. *Archives of Oral Biology*, 55: 350-357.
23. Nkukwana, T.T. 2018. Global poultry production: Current impact and future outlook on the South African poultry industry. *South African Journal of Animal Science*, <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v48i5.7>.
24. Nuredin, B. 2015. Ursolic acid induces myoglobin expression and skeletal muscle remodeling in mice. *Physiology and Pharmacology*, 18(4): 373-382.
25. Rahimi, S.Z., M.A. Teymouri-Zadeh, R. Karimi-Torshizi, A. 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 Agriculture Science Technology*, 13: 527-539.
26. Sumariwalla, V.M. and W.H. Klein. 2001. Similar myogenic functions for myogenin and MRF4 but not MyoD in differentiated murine embryonic stem cells. *Genesis*, 30: 239-249.
27. Tapscott, S.J. 2005. The circuitry of a master switch: MyoD and the regulation of skeletal muscle gene transcription. *Development*, 132: 2685-2695.
28. Velleman, S.G., K.E. Nestor, C.S. Coy and N.B. Anthony. 2010. Effect of posthatch feed restriction on broiler breast muscle development and muscle transcriptional regulatory factor gene and heparan sulfate proteoglycan expression, *Int. Journal of Poultry Science*, 9: 417-425.
29. Wu, H., R. Yu, L. Shuo, W. Wei, Y. Jianlong, G. Xudong, L. Dongjun and C. Ming. 2012. In vitro culture and induced differentiation of sheep skeletal muscle satellite cells. *Cell Biology International*, 36: 579-587.
30. Zamani, A.K., A.R. Ghannadi, A. Gafarian and B. Shojadoost. 2010. The effect of *Satureja hortensis* on performance of broiler chickens and NDHI titers, 16th European Symposium on Poultry Nutrition, 87-89.

Ursolic Acid Improve Skeletal Muscle Hypertrophy by Increasing of PAX7, Myod and Myogenin Expression and Satellite Cells Proliferation in Native Broiler Chickens

Hengameh Moradi¹, Abdullah Mohammadi Sang Cheshmeh², Seyed Davood Sharifi³, Sim Zar Hosseinzadeh⁴, Ehsan Seyed Jafari⁵ and Abdolreza Salehi³

-
- 1- PhD Student, Abu Reihan Campus, University of Tehran, Department of Animal and Poultry Sciences
2- Assistant Professor, Abu Reihan Campus, University of Tehran, Department of Animal and Poultry Sciences, (Corresponding author: amohammadis@ut.ac.ir)
3- Associate Professor, Abu Reihan Campus, University of Tehran, Department of Animal and Poultry Sciences
4- Assistant Professor, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Faculty of New Medical Technologies
5- Associate Professor, University of Tehran Science Campus, Department of Biotechnology
- Received: 13 April, 2020 Accepted: 16 June, 2020
-

Abstract

Ursolic acid (UA) is known as a naturally occurring triterpene pentacyclic compound in some medicinal herbs including savory that affects the skeletal muscle. In the current study, the effect of UA was evaluated on C₂C₁₂ cells and satellite cells (SCs) isolated from native broiler chicks. First in the in vitro experiment, the C₂C₁₂ cell line obtained from the Stem Cell Technology Research Center and the SCs were isolated and purified from one-day chickens and then treated with UA. In the in vivo experiment, UA was injected intramuscularly based on the body weight to chicks during the first seven days, two times a day, from day one to day seven by the appropriate dose obtained in the in vitro experiment, and then SCs were isolated from pectoralis muscle at the last day. The purification was confirmed by assessment of PAX-7 expression in both in vitro and in vivo experiments. In fact, SCs and C₂C₁₂ cells were cultured for seven days in 10% serum medium with vehicle alone (0.1% DMSO) or UA (0.00025, 0.0005, 0.001, 0.0015 and 0.002 mg/mL) along with DMSO (1 mL). The findings from the in vitro and in vivo experiments revealed that UA at 0.00025 mg/mL significantly increased the expression of genes involved in the SCs proliferation and differentiation including PAX-7, MyoD and Myogenin, and improve the muscle hypertrophy. As a result, UA can be suggested as a suitable material to reduce the breeding period and faster growth of skeletal muscle in broiler chickens.

Keywords: Flow-cytometry, Muscle development, Paired box protein Pax-7, Poultry, Ursolic Acid



"مقاله پژوهشی"

اثر توازن الکترولیتی جیره و پروبیوتیک بر عملکرد و خصوصیات لاشه‌ی بلدرچین‌های ژاپنی در شرایط تنش حرارتی

محمد رضا مفیدی^۱، مصطفی یوسف الهی^۲، هوشنگ لطف الهیان^۳، فرزاد باقرزاده کاسمانی^۴ و محمدرضا دهقانی^۴

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی زابل

۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی زابل، (نویسنده مسول: m_yousefelahi@uoz.ac.ir)

۳- دانشیار پژوهشی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

۴- دانشیار، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی زابل

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۳۱

صفحه: ۲۰ تا ۳۰

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات توازن الکترولیتی جیره و پروبیوتیک بر عملکرد و خصوصیات لاشه بلدرچین‌های ژاپنی در شرایط تنش حرارتی اجرا شد. تعداد ۶۷۲ قطعه بلدرچین ۲۰ روزه در قالب آزمایش فاکتوریل سه عامله در چهار تکرار و در هر تکرار ۱۴ پرنده در سنین ۲۰ تا ۳۷ و ۲۰ تا ۴۱ مورد بررسی قرار گرفتند. عوامل شامل سه سطح توازن الکترولیتی جیره (DEB)، (۱۷۰، ۲۲۰ و ۲۷۰ میلی اکی‌والان بر کیلوگرم)، دو سطح پروبیوتیک پروتکسین (۰ و ۱۰۰ گرم در تن) و دو سطح دمایی (دمای معمول پرورش و دمای ۳۴ درجه سانتیگراد) بودند. در ارزیابی صفات مرتبط با لاشه، جنسیت نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، پرنده‌گان تغذیه شده با پروبیوتیک در سن ۲۰ تا ۳۷ روزه بیشترین مصرف خوراک را داشتند، در حالی که در همین دوره‌ی زمانی بهترین ضریب تبدیل خوراک بدون استفاده از پروبیوتیک به دست آمد ($p < 0.05$). در دوره‌های پرورش ۲۰ تا ۳۷ و ۲۰ تا ۴۱ روزه در شرایط تنش حرارتی، بهترین ضریب تبدیل خوراک و افزایش وزن مربوط به ۲۷۰ DEB میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم و تیمار فاقد پروبیوتیک بود. در شرایط متعارف دمایی بهترین ضریب تبدیل و افزایش وزن در هر دوره‌ی زمانی مربوط به جیره‌ی بدون پروبیوتیک و ۱۷۰ DEB میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم بود ($p > 0.05$). استفاده از پروبیوتیک اثر معنی‌داری بر وزن نسبی لاشه و وزن نسبی قلب داشت ($p < 0.05$). همچنین، در درون هر جنس بیشترین وزن و درصد لاشه به تیمارهای پروبیوتیک تعلق داشت ($p < 0.05$). در اثر متقابل پروبیوتیک، دما و جنس، صفات مربوط اندام‌های داخلی لاشه، جنس نر بطور معنی‌داری وزن نسبی بالاتری داشت. در مجموع استفاده از سطح ۱۷۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم برای توازن الکترولیتی در شرایط معمول دمایی توصیه می‌شود. از پروبیوتیک می‌توان برای حصول به بهترین راندمان لاشه استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: بلدرچین ژاپنی، پروبیوتیک، تنش حرارتی، تعادل آنیون-کاتیون، عملکرد

مقدمه

اثرات محیطی از عوامل مهم و موثر در تولیدات طیور در مناطق گرمسیر است (۲۲). دمای بالای محیط یکی از علل اصلی تنش حرارتی می‌باشد که اثر منفی روی تولید خصوصاً در ارتباط با تشعشع، رطوبت نسبی و سرعت جریان هوا دارد (۴). درجه حرارت بالا در محیط و کل حرارت دریافتی بالاتر از آستانه بحرانی، منجر به کاهش مصرف خوراک، کاهش وزن و افت بازده تبدیل غذایی شده و اثر منفی در بالانس انرژی بدن دارد (۸، ۲۳). دما با ایجاد عدم تعادل الکترولیتی، سبب ایجاد تنش اکسیداتیو شده و در ضمن تعادل آنتی‌اکسیدانی را نیز مختل می‌کند. این عدم تعادل آنتی‌اکسیدانی می‌تواند باعث آسیب سلولی و بافتی و غشای لوله گوارشی گردد (۱۹). تعادل الکترولیتی مطلوب در طیور با توجه به گونه، نوع تولید، سن، شدت و طول مدت گرما متغیر است، لذا تعیین سطح مناسب الکترولیت‌ها و در نتیجه تعادل مناسب آنیون-کاتیون جیره در دوره رشد می‌تواند برای دستیابی به عملکرد بهینه پرنده، کمک شایانی نماید (۲۶). آزمایش‌های انجام شده بر روی مرغ گوشتی، مرغان صنعتی تخمگذار و مرغ مادر تفاوت در توازن الکترولیتی بین آنها و نیز دماهای مختلف محیطی را نشان داده است (۶). از راه‌های کاهش اثر تنش حرارتی و افزایش راندمان تولید در شرایط گرم می‌توان به افزایش سطح

الکترولیت‌های جیره اشاره نمود (۱۹). در یک بررسی، اثر معنی‌دار توازن الکترولیتی خوراک بر خصوصیات مربوط به لاشه به غیر از وزن نسبی سنگدان نشان داده شده است، همچنین، در بررسی رابطه متقابل توازن الکترولیتی آب و افزایش دما، افزایش وزن روزانه و وزن کبد تحت تاثیر قرار گرفت (۴). پروبیوتیک‌ها با تولید مواد ضدباکتریایی و ایجاد شرایط مطلوب در دستگاه گوارش پرنده (تولید آنزیم، کاهش pH، کاهش پتانسیل احیا، رقابت در چسبیدن گیرنده‌ها در روده، رقابت برای مواد غذایی و تحریک ایمنی پروبیوتیک‌ها) هزینه‌های تولید را کاهش داده و سبب افزایش سلامت حیوان شده (۲) و با کنترل میکروارگانیسم‌های روده می‌توانند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند (۱۴). پروبیوتیک‌ها به صورت پیش‌مخلوط یا مصرف در آب می‌توانند سبب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی شوند (۲۷، ۱۸، ۱۰)، هر چند مصرف پروبیوتیک در جوجه‌های گوشتی و بلدرچین نتیجه‌ای در سودآوری ندارد (۲۶، ۱۰، ۵، ۱). ولی می‌تواند سبب بهبود وزن زنده، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک گردد (۱۷). در یک بررسی استفاده از مکمل پروبیوتیک، سبب افزایش وزن ماهیچه، پروتئین بیشتر و چربی کمتر در ماهیچه تا سن ۸ هفته‌گی در بلدرچین ژاپنی شد (۹). با توجه به این که در اکثر مطالعات، اثر پروبیوتیک و الکترولیت در جیره‌ی غذایی

$[\%Na^+ \times 1.04/23] + [\%K^+ \times 1.04/39] - [\%Cl^- \times 1.04/35.5]$
 با استفاده از کلرید آمونیوم با نرم‌افزار UFFDA متوازن شد (جدول ۱).

صفات مورد بررسی شامل وزن انفرادی جوجه‌ها در شروع آزمایش، افزایش وزن به‌صورت روز مرغ، خوراک مصرفی، و محاسبه ضریب تبدیل خوراک به‌صورت تقسیم مصرف خوراک به افزایش وزن روزانه بود. به غیر از اندازه‌گیری‌های هفتگی در سن ۳۷ روزگی نیز این اندازه‌گیری‌ها انجام شد تا الگوی بهتری از ضریب تبدیل خوراک در سنین نزدیک به کشتار (با توجه به رشد اندام‌های تولیدمثلی و تاثیر بر راندمان لاشه) به‌دست آید (مدل آماری ۱). در پایان آزمایش از هر تکرار ۲ پرنده (یک قطعه نر و یک قطعه ماده) انتخاب و عملیات تجزیه لاشه بر روی آنها اجرا شد (۴). از آزمایش فاکتوریل سه‌عامله برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده گردید. به‌طوری که برای ارزیابی تاثیر عوامل آزمایش روی صفات عملکردی شامل مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک از مدل آماری ۱ استفاده شد. سپس به‌منظور ارزیابی صفات مرتبط با لاشه، وزن نسبی لاشه‌ی آماده طبخ و اندام‌های داخلی شامل: قلب، کبد، طحال، سنگدان و روده، به‌صورت درصدی از وزن زنده، محاسبه و از مدل آماری ۲ استفاده گردید. همچنین، برای مقایسه میانگین عوامل و اثرات متقابل از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. از رویه GLM نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ برای آنالیز داده‌ها استفاده گردید.

به‌صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفته است، در این مطالعه امکان استفاده‌ی همزمان پروبیوتیک و سطوح مختلف توازن الکترولیتی جیره و تاثیر متقابل احتمالی این دو در پرورش بلدرچین ژاپنی تحت شرایط تنش حرارتی، بر عملکرد، صفات لاشه در هر دو جنس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تعداد ۶۷۲ قطعه بلدرچین یک‌روزه در دو گروه ۳۳۶ قطعه‌ای شامل، تغذیه‌شده با پروبیوتیک در سطح ۰/۰۱ درصد به‌منظور جایگزینی باکتری در دستگاه گوارش و یک گروه بدون تغذیه‌ی پروبیوتیک بر اساس فرمول غذایی پیشنهادی NRC (۱۵)، با ۲۹۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی متابولیسمی و ۲۴ درصد پروتئین خام پرورش یافتند (جدول ۱) و در سن ۲۰ روزگی با متوسط وزن $84/88 \pm 0/1$ گرم به سالن رکوردبرداری منتقل شدند. از سن ۲۰ روزگی دو سالن جهت اجرای دو سطح دمایی شامل تنش حرارتی به‌مدت ۶ ساعت در شبانه روز از ساعت ۱۱ تا ۱۷ و از سن ۲۰ تا ۴۱ روزگی و سطح معمول اعمال شد. سه سطح توازن الکترولیتی جیره (DEB)^۱ شامل ۱۷۰، ۲۲۰ و ۲۷۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم و دو سطح پروبیوتیک صفر و ۱۰۰ گرم در تن خوراک در نظر گرفته شد. این طرح در چهار تکرار و هر تکرار شامل ۱۴ قطعه بلدرچین اجرا شد. جیره‌ها برای سدیم، پتاسیم و کلر (الکترولیت‌های خوراک) بر اساس فرمول مونجین $[(Na^+ + K^+) - Cl^-]$ به‌صورت:

جدول ۱- ترکیب آزمایشی جیره‌های مورد استفاده برای دوره‌های آغازین (۲۰- روزگی) و رشد (۴۱-۲۱ روزگی)

۲۰- روزگی		۲۱-۴۱ روزگی	
۲۷۰	۲۲۰	۱۷۰	-
DEB (میلی اکی‌والان بر کیلوگرم)			
۴۷/۴۹	۴۷/۴۹	۴۷/۴۹	۵۵
۴۵/۱۳	۴۵/۱۳	۴۵/۱۳	۴۰
۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰
۲/۹۳	۲/۹۳	۲/۹۳	۱
۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۱۶
.	.	.	۰/۱۴
.	.	.	۰/۱۹
۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۱/۴
۱/۳۱	۱/۳۱	۱/۳۱	۱/۲
۰/۳۱	۰/۳۱	۰/۳۱	۰/۳۰
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۳۰
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۳۰
.	۰/۲۳	۰/۲۳	.
۰/۶	۰/۲۳	۰/۰۷	.
۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
جمع			
۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰
۲۴	۲۴	۲۴	۲۴
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳
۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸
۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۵
۰/۷۳	۰/۹۴	۰/۳۳	۰/۱۴
۱/۶۲	۱/۶۲	۱/۶۲	۰/۴
ترکیبات شیمیایی (محاسبه‌شده)			
انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)			
پروتئین خام (%)			
دی ال-متیونین (%)			
ال-لایزین (%)			
کلسیم (%)			
فسفر (دسترس) (%)			
سدیم (%)			
کلر (%)			
پتاسیم (%)			

۱- هر کیلوگرم مکمل ویتامینه حاوی ۱۱۰۰۰ واحد میلی ویتامین A، ۵۰۰۰ واحد ویتامین بین‌الملی D3، ۴۰ واحد ویتامین E، ۴ میلی‌گرم ویتامین K، ۵ میلی‌گرم ویتامین B2، ۴ میلی‌گرم ویتامین B6، ۰/۱۱ میلی‌گرم ویتامین B12، ۵۰ میلی‌گرم ویتامین اسید نیکوتینیک، ۰/۰۱ میلی‌گرم ویتامین بیوتین، ۳ میلی‌گرم ویتامین تیامین بود.
 ۲- هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی ۸۰ میلی‌گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم منیزیم، ۸۰ میلی‌گرم آهن و ۱۰ میلی‌گرم سلنیوم بود.
 ۳- مقادیر توازن الکترولیتی با افزودن کلرید آمونیوم (NH4Cl) به جیره پایه تنظیم شد. تغذیه پرندگان در مدت اجرای پروژه به‌صورت آزاد انجام شد.

سنین مختلف نشان نداد. نتایج در رابطه با ضریب تبدیل خوراک علیرغم معنی‌دار نشدن در دو سن مورد بررسی، حاکی از این است که در صورتیکه فقط سه روز بلدرچین بیشتر نگه‌داری شود (از سن ۳۷ تا ۴۱ روزگی) حدود ۰/۸ بر ضریب تبدیل افزوده می‌شود که این موضوع از نظر اقتصادی در تولید صنعتی بلدرچین گوشتی می‌تواند بسیار تاثیرگذار باشد. به‌نظر می‌رسد علت حصول به چنین نتیجه‌ای را می‌توان در افت راندمان غذایی به واسطه‌ی رشد اندام‌های تولیدمثلی در این فاصله‌ی زمانی دانست (۲۰). استفاده از پروبیوتیک در جیره اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک از سن ۲۰ تا ۳۷ روزگی داشت که این نتیجه با نتایج سیفی و همکاران مشابهت داشت (۲۱) ($p < 0/01$). اما به واسطه‌ی عدم تاثیر معنی‌دار در افزایش وزن پرنده در این دوره‌ی زمانی، سبب بدتر شدن ضریب تبدیل خوراک شد ($p < 0/01$). لذا به‌نظر می‌رسد که استفاده از پروبیوتیک طی دوره پرورش ۳۷ روزه بلدرچین‌های ژاپنی مطلوب نیست. استفاده از پروبیوتیک اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک از سن ۲۰ تا ۴۱ روزگی نداشت، که با نتیجه وحدت‌پور در استفاده از پروبیوتیک پروتکسین مشابهت داشت (۲۴). دمای بالای محیط سبب کاهش مصرف خوراک و افزایش وزن می‌شود (۲۳). پرندگان در تلاش برای کاهش حرارت تولیدشده در هضم و متابولیسم مواد مغذی، مصرف خوراک را کاهش می‌دهند (۱۲). در این بررسی نیز بلدرچین‌هایی که تحت ۶ ساعت تنش حرارتی از سن ۲۰ تا ۳۷ و ۲۰ تا ۴۱ روزگی بودند، خوراک مصرفی و سرعت رشد کمتری داشتند ($p < 0/01$)، که با گزارشات دیگری همخوانی داشت (۴، ۱۷). در این مطالعه ضریب تبدیل خوراک تحت تاثیر تنش حرارتی قرار نگرفت. با وجود معنی‌دار نشدن، ضریب تبدیل خوراک در شرایط تنش حرارتی در دوره‌ی ۲۰ تا ۳۷ روزه (۲/۹۰) کمتر از شرایط معمول پرورش (۲/۹۳) بود که با نتایج مطالعه‌ای دیگر مشابهت داشت (۴). به‌نظر می‌رسد حرارت بیشتر در سن کمتر (هفته اول آغاز پروژه)، به‌دلیل تامین انرژی مورد نیاز جهت تنظیم حرارتی بدن سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک شده است.

مدل آماری ۱: معادله مدل آماری ارزیابی صفات مرتبط با عملکرد به‌ترتیب زیر است:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + E_k + TPE_{ijk} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} : صفات مرتبط با عملکرد شامل: مصرف خوراک،

افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک

μ : اثر میانگین

T_i : اثر دما

P_j : اثر پروبیوتیک

E_k : اثر توازن الکترولیتی

TPE_{ijk} : اثر متقابل دما، پروبیوتیک و توازن الکترولیتی

e_{ijk} : اثر باقیمانده مدل

مدل آماری ۲: معادله مدل آماری ارزیابی صفات مرتبط با لاشه به‌ترتیب زیر است:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + P_j + S_k + E_l + TPS_{ijkl} + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} : صفات مرتبط با لاشه شامل: وزن نسبی لاشه و

اندام‌های داخلی مثل قلب، کبد، طحال، سنگدان و روده

μ : اثر میانگین

T_i : اثر دما

P_j : اثر پروبیوتیک

S_k : اثر جنس

E_l : اثر توازن الکترولیتی

TPS_{ijkl} : اثر متقابل دما، پروبیوتیک و جنس

e_{ijkl} : اثر باقیمانده مدل

نتایج و بحث

اثر استفاده از توازن الکترولیتی و پروبیوتیک بر مصرف خوراک در شرایط تنش حرارتی و بدون تنش حرارتی در سنین ۲۰ تا ۳۷ روزگی و ۲۰ تا ۴۱ روزگی بر عملکرد بلدرچین‌های ژاپنی در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان داد که افزایش سطح توازن الکترولیتی جیره، تاثیری بر مصرف خوراک در سن ۲۰ تا ۳۷ و ۲۰ تا ۴۱ روزگی نداشت. هر چند صرف‌نظر از دمای پرورش افزایش مصرف خوراک می‌تواند به‌دلیل افزایش سطح نسبی سدیم به کلر در جیره باشد. این نتایج با گزارش بورگر و همکاران مشابهت دارد (۷). استفاده از سطوح مختلف توازن الکترولیتی جیره اثر معنی‌داری را در افزایش وزن در

جدول ۲- اثر توازن الکترولیتی جیره، پروبیوتیک و دمای محیط بر روی مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل بلدرچین‌های ژاپنی طی ۲۰ تا ۳۷ و ۲۰ تا ۴۱ روزگی

Table 2. Effect of dietary electrolyte balance, probiotic and ambient temperature on feed intake, weight gain and feed conversion ratio of Japanese quails during 20 to 37 and 20 to 41 days

ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم)		افزایش وزن (گرم)		مصرف خوراک (گرم) *		سن (روز)
۲۰-۴۱	۲۰-۳۷	۲۰-۴۱	۲۰-۳۷	۲۰-۴۱	۲۰-۳۷	
توازن الکترولیتی جیره						
۳/۷۰±۰/۱۹	۲/۹۳±۰/۱۱	۱۴۰/۱۱±۶/۶۲	۱۲۱/۴۶±۵/۷۳	۵۵۶/۷±۲۸/۱۰	۳۵۶/۵±۱۱/۰۶	۱۷۰
۳/۷۴±۰/۱۲	۲/۹۲±۰/۰۶	۱۳۹/۲۵±۵/۵۷	۱۲۱/۳۰±۴/۵۶	۵۵۷/۶±۱۴/۴۹	۳۵۴/۵±۱۴/۸۲	۲۲۰
۳/۷۳±۰/۱۶	۲/۹۱±۰/۰۸	۱۳۹/۸۲±۷/۰۲	۱۲۱/۳۸±۴/۸۰	۵۵۸/۲±۱۷/۳۷	۳۵۳/۲±۱۰/۹۱	۲۷۰
۰/۰۴	۰/۰۲	۱/۲۸	۱/۱۵	۴/۵۵	۲/۴۳	SEM
پروبیوتیک (گرم بر کیلوگرم)						
۳/۷۱±۰/۲۰	۲/۸۹±۰/۰۷ ^b	۱۳۹/۷۰±۷/۵۱	۱۲۱/۴۱±۵/۳۰	۵۵۶/۶±۲۶/۰۵	۳۵۱/۸±۱۲/۲۹ ^b	۰
۳/۷۳±۰/۱۰	۲/۹۴±۰/۰۹ ^a	۱۳۹/۷۰±۴/۹۸	۱۲۱/۳۵±۴/۶۸	۵۵۸/۴±۱۲/۹۱	۳۵۷/۷±۱۱/۶۵ ^a	۰/۱
۰/۰۳	۰/۰۲	۱/۱۲	۰/۹۴	۳/۷۱	۱/۹۸	SEM
دما (درجه سانتی‌گراد)						
۳/۷۱±۰/۱۶	۲/۹۴±۰/۰۹	۱۴۲/۳۲±۵/۹۳ ^a	۱۲۳/۱۸±۴/۶۳ ^a	۵۶۸/۷±۱۸/۵ ^a	۳۶۲/۵±۱۰/۲۴ ^a	۲۵-۲۷
۳/۷۳±۰/۱۷	۲/۹۰±۰/۰۸	۱۳۷/۱۳±۵/۶۶ ^b	۱۱۹/۵۸±۴/۶۱ ^b	۵۵۶/۲±۱۵/۴۹ ^b	۳۴۷/۰±۸/۶۹ ^b	۳۴
۰/۰۳	۰/۰۲	۱/۱۳	۰/۹۴	۳/۷۱	۱/۹۸	SEM

میانگین هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).

از پروبیوتیک و با توازن الکترولیتی ۲۷۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم را برای هر دو بازه‌ی زمانی پرورش را می‌توان داشت، که با نتایج سایرین مشابهنه دارد (۱۶). در شرایط بدون تنش حرارتی بهترین ضریب تبدیل خوراک و افزایش وزن در تیمارهای بدون پروبیوتیک و با توازن الکترولیتی ۱۷۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم در هر دو دوره‌ی زمانی پرورش به‌دست آمد. تاثیر استفاده از تیمارهای مختلف توازن الکترولیتی و پروبیوتیک در شرایط تنش حرارتی و بدون تنش و جنس و اثر متقابل دما، جنس و پروبیوتیک بر صفات مرتبط با لاشه در جدول‌های ۴ و ۵ آمده است. بررسی اثرات اصلی توازن الکترولیتی و دما بر روی صفات مرتبط با لاشه معنی‌دار نشد ($p > 0.05$)، اما در بین جنس نر و ماده، صفات مربوط به وزن زنده، وزن لاشه، درصد لاشه، نسبت قلب و نسبت کبد تفاوت مشاهده شد ($p < 0.05$). بالاترین وزن زنده در رابطه با تیمار DEB مربوط به ۱۷۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم بود (۲۲۶/۲۵ گرم) که نسبت به دو تیمار دیگر ۲۲۰ و ۲۷۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم (۲۲۰/۹۷ و ۲۱۵/۲۸ گرم) بیشتر بود. همچنین، وزن نسبی لاشه در تیمارهای حاوی پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری از تیمارهای بدون پروبیوتیک بیشتر بود که با نتایج ارسال و همکاران متفاوت بود (۲). نتایج نشان داد که هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وزن نسبی لاشه و اندام‌های داخلی بدن شامل قلب، کبد، سنگدان، طحال و وزن روده در استفاده از سطوح مختلف DEB وجود ندارد. با استفاده از تیمار حاوی پروبیوتیک در جیره بلدرچین‌ها، تنها وزن نسبی لاشه و کبد به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$)، که با نتایج محققین دیگر (۱۸، ۱۱، ۱۰) مشابهنه داشت. در توجیه این وضعیت در مورد کبد، شاید بتوان گفت که کبد در بدن به‌عنوان عضو سم‌زدا بخش قابل توجهی از سموم تولیدی توسط میکروب‌های مضر را خنثی می‌کند، لذا کبد متحمل فعالیت‌های سم‌زدایی کمتری شده و به‌همین جهت از نظر وزنی زیاد رشد نکرده است (۲۵). در خصوص اثر تنش حرارتی بر وزن نسبی اندام‌های داخلی، تنها وزن نسبی روده اثر معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.01$). به‌طوری‌که بیشترین وزن نسبی روده مربوط به تیمار دمایی در شرایط معمول بود. همچنین، افزایش وزن نسبی لاشه در شرایط دمایی ناشی از تنش حرارتی از این وزن در شرایط معمول بیشتر بود، هر چند معنی‌دار نشد.

اثر متقابل تیمارهای توازن الکترولیتی، پروبیوتیک و دما بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل در سن ۲۰ تا ۳۷ روزگی و ۲۰ تا ۴۱ روزگی، در جدول ۳ آمده است. همانگونه که انتظار می‌رفت تنش حرارتی سبب کاهش مصرف خوراک در بین پرندگان در هر دو دوره‌ی زمانی پرورش گردید، اما بین تیمارهای مختلف در شرایط تنش اختلاف معنی‌داری دیده نشد. مصرف خوراک در جیره‌ی حاوی توازن الکترولیتی ۲۲۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم و بدون پروبیوتیک در شرایط تنش حرارتی، با جیره‌های با سطح ۲۲۰، ۱۷۰ و ۲۷۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم در دمای معمولی کاهش محسوسی داشت ($p < 0.05$). همچنین، در شرایط معمول دمایی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای حاوی و یا فاقد پروبیوتیک مشاهده نشد. این نکته قابل توجه است که در تمام تیمارهای دمایی و توازن الکترولیتی جیره، مصرف خوراک در جیره‌های حاوی پروبیوتیک از جیره‌های فاقد آن بیشتر بود، یافته‌های قبلی نشان داده‌اند که سطوح بالای تعادل الکترولیتی، تاثیر معنی‌داری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی و وزن نهایی در دوران رشد دارد (۱۶). اثر متقابل بین تیمارهای مختلف در دو بازه‌ی زمانی پرورش مرتبط با افزایش وزن، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای درون هر گروه دمایی مشاهده نشد. اختلاف معنی‌دار بین دو تیمار ۱۷۰ و ۲۲۰ بدون پروبیوتیک و تیمار ۲۷۰ حاوی پروبیوتیک در شرایط تنش، با تیمار ۲۲۰ و بدون استفاده پروبیوتیک در دمای معمول پرورش وجود داشت ($p < 0.05$)، که نشان‌دهنده‌ی اثر منفی تنش بر افزایش وزن است. کمترین افزایش وزن در دوره‌ی ۳۷ روزه‌ی پرورش در شرایط تنش دمایی (۱۱۷/۰۸ گرم) و بیشترین آن در شرایط معمول دما (۱۲۶/۹۱ گرم) بود ($p < 0.05$). کمترین ضریب تبدیل خوراک در شرایط تنش حرارتی در بازه زمانی ۲۰ تا ۳۷ روزه، در جیره با توازن ۲۷۰ و بدون استفاده از پروبیوتیک به‌دست آمد (۲/۸۲)، که اختلاف معنی‌داری با اکثر سطوح مربوط به پروبیوتیک و توازن الکترولیتی در دمای متعارف داشت ($p < 0.05$). بالاترین ضریب تبدیل مربوط به شرایط معمول دمایی با استفاده از پروبیوتیک و توازن ۱۷۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم بود ($p < 0.05$). این نتایج با تحقیقی دیگر همخوانی دارد (۴). بررسی ضریب تبدیل خوراک در پرورش ۴۱ روزه اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد، اما بهترین ضریب تبدیل خوراک و بالاترین وزن در شرایط تنش حرارتی، بدون استفاده

جدول ۳- اثر متقابل دما، توازن الکترولیتی جیره و پروبیوتیک بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی در سن ۲۰ تا ۳۷ و ۲۰ تا ۴۱ روزگی

Table 3. Interaction between temperature, dietary electrolyte balance and probiotic on feed intake, weight gain, feed conversion ratio at 20 to 37 and 20 to 41 days of age

اثر متقابل	مصرف خوراک (گرم)	مصرف خوراک (گرم)*	افزایش وزن (گرم)	افزایش وزن (گرم)	ضریب تبدیل خوراک	ضریب تبدیل خوراک	توازن الکترولیتی	پروبیوتیک	دما
	۲۰-۳۷ روزگی	۲۰-۴۱ روزگی	۲۰-۳۷ روزگی	۲۰-۴۱ روزگی	۲۰-۳۷ روزگی	۲۰-۴۱ روزگی			
	۳۴۵/۵۳±۴/۹۷ ^{ab}	۵۳۲/۲۳±۳۶/۲۵ ^a	۱۱۸/۵۴±۲/۹۹ ^{ab}	۱۳۵/۳۸±۴/۸۱ ^a	۲/۶۷±۰/۳۱	۲/۹۲±۰/۰۷۵ ^{ab}			۳۴
	۳۵۱/۵۷±۷/۲۶ ^{abcd}	۵۴۷/۵۹±۴/۳۴ ^{ab}	۱۲۰/۱۶±۳/۸۷ ^{abc}	۱۳۵/۰۴±۲/۵۳ ^a	۲/۷۹±۰/۰۷	۲/۹۳±۰/۱۱۴ ^{abc}			۳۴
	۳۳۹/۳۰±۶/۳۳ ^a	۵۴۶/۴۷±۴/۳۷ ^{ab}	۱۱۷/۰۸±۴/۴۳ ^a	۱۳۷/۲۰±۲/۲۷ ^{ab}	۲/۷۴±۰/۰۴	۲/۹۰±۰/۰۸۱ ^{ab}			۳۴
	۳۵۰/۶۶±۳/۶۹ ^{abcd}	۵۵۱/۳۲±۵/۳۱ ^{abc}	۱۲۱/۲۲±۲/۶۸ ^{abc}	۱۳۷/۸۹±۲/۸۳ ^{ab}	۲/۷۳±۰/۰۶	۲/۸۹±۰/۰۴۰ ^{ab}			۳۴
	۳۴۵/۹۴±۱۵/۷۳ ^{ab}	۵۴۹/۶۶±۱۲/۳۳ ^{abc}	۱۲۲/۶۴±۸/۱۲ ^{abc}	۱۴۱/۸۱±۱۱/۹۳ ^{ab}	۲/۶۳±۰/۲۵	۲/۸۲±۰/۰۶۹ ^a			۳۴
	۳۴۹/۳۵±۸/۰۱ ^{abc}	۵۴۹/۲۳±۴/۳۴ ^{abc}	۱۱۷/۸۴±۴/۰۱ ^a	۱۳۵/۴۶±۴/۱۹ ^a	۲/۸۰±۰/۱۱	۲/۹۷±۰/۰۷۸ ^{bc}			۳۴
	۳۶۳/۵۸±۸/۷۶ ^{cde}	۵۷۸/۹۴±۲۷/۷۰ ^c	۱۲۶/۹۱±۴/۸۱ ^c	۱۴۷/۹۲±۲/۶۰ ^c	۲/۶۳±۰/۲۱	۲/۸۶±۰/۰۶۰ ^{ab}			۲۵
	۳۶۵/۵۱±۹/۴۴ ^{de}	۵۶۷/۰۱±۱۴/۱۷ ^{bc}	۱۲۰/۲۴±۷/۸۷ ^{abc}	۱۴۲/۰۸±۴/۲۳ ^{ab}	۲/۷۱±۰/۱۴	۲/۰۴±۰/۱۲۸ ^d			۲۵
	۳۶۰/۸۵±۸/۵۰ ^{bcd}	۵۶۳/۰۵±۱۹/۹۷ ^{bc}	۱۲۱/۰۳±۳/۰۵ ^{abc}	۱۳۶/۶۳±۷/۷۰ ^{ab}	۲/۸۲±۰/۱۹	۲/۹۶±۰/۰۵۶ ^{bc}			۲۵
	۳۶۷/۵۰±۱۹/۱۴ ^e	۵۶۹/۶۲±۱۲/۴۲ ^{bc}	۱۲۵/۸۵±۴/۱۰ ^{bc}	۱۴۵/۲۵±۴/۲۱ ^{bc}	۲/۶۵±۰/۱۰	۲/۹۲±۰/۰۶۴ ^{ab}			۲۵
	۳۵۵/۹۱±۸/۶۱ ^{bcd}	۵۶۷/۹۸±۲۶/۹۹ ^{bc}	۱۲۲/۲۲±۳/۰۹ ^{abc}	۱۳۹/۶۰±۶/۳۵ ^{ab}	۲/۷۷±۰/۱۵	۲/۹۱±۰/۰۶۵ ^{ab}			۲۵
	۳۶۱/۶۲±۳/۹۲ ^{bcde}	۵۶۶/۱۰±۱۳/۳۳ ^{bc}	۱۲۲/۷۹±۲/۹۹ ^{abc}	۱۴۲/۴۳±۱/۰۳ ^{ab}	۲/۶۹±۰/۰۹	۲/۹۵±۰/۰۳۸ ^{abc}			۲۵
	۱/۷۷	۲/۹۴	۰/۷۱	۰/۹۱	۰/۰۲	۰/۰۱			SEM

میانگین هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشد (p<۰/۰۵).

به‌نظر می‌رسد پرورش بلدرچین‌ها در شرایط تنش حرارتی سبب کاهش رشد امعا و احشا شده که بالارفتن راندمان لاشه را باعث شده است که این نتیجه با نتایج باربوسا و همکاران (۴) مشابه بود. بررسی اثر جنس در تیمارهای مختلف حاکی از معنی‌داری اکثر تیمارها به غیر از وزن نسبی طحال و سنگدان بود. به‌نظر می‌رسد بالاتر بودن راندمان لاشه در پرندگان نر به‌دلیل وزن ناشی از اندام‌های تولید مثلی پرندگان ماده قبل از سن کشتار است که اثر معنی‌داری را نشان داده است. نتایج مربوط به اثر متقابل تیمارهای مختلف شامل پروبیوتیک و دما بر وزن زنده، وزن لاشه و وزن نسبی اندام‌های داخلی در جدول ۵ آمده است. با توجه به این که اثر DEB معنی‌دار نشد، تیمارهای پروبیوتیک، دما و جنس در مقایسه میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در بررسی وزن زنده، وزن لاشه و نسبت لاشه اختلاف معنی‌دار بین دو جنس مشاهده شد ($p < 0.05$). اما بین تیمارهای مختلف درون یک جنس اختلافی مشاهده نشد. همچنین، بین تیمارهای مختلف در شرایط دمایی یکسان، بیشترین وزن زنده متعلق به تیمارهای حاوی پروبیوتیک بود. بیشترین میانگین وزن زنده مربوط به جنس ماده در شرایط معمول دمایی و استفاده از پروبیوتیک بود (۲۵۵/۸۳ گرم). درون هر جنس بیشترین وزن لاشه مربوط به تیمارهایی بود که از پروبیوتیک استفاده شده بود ($p < 0.05$). بیشترین وزن لاشه متعلق به جنس ماده، در شرایط معمول دمایی و با جیره‌ی حاوی پروبیوتیک بود و کمترین وزن متعلق به جنس نر در شرایط تنش حرارتی و بدون استفاده از پروبیوتیک بود (به‌ترتیب ۱۶۹/۳۸ و ۱۳۶/۳۲ گرم). بیشترین بازده لاشه متعلق به بلدرچین‌های نر در شرایط تنش و جیره‌ی حاوی پروبیوتیک و کمترین راندمان لاشه به جنس ماده در شرایط تنش و جیره‌ی فاقد پروبیوتیک بود. به‌نظر می‌رسد جثه‌ی کوچک‌تر بلدرچین‌های نر در مقایسه با ماده‌ها و نیز مصرف انرژی بیشتر در ماده‌ها به‌خصوص در هفته آخر به‌دلیل رشد فیزیکی و فیزیولوژیکی اندام‌های تولیدمثلی از دلایل کاهش راندمان لاشه در جنس ماده است، که این نتایج با نتایج ولی و همکاران مشابهت داشت (۲۵). اثر متقابل بین تیمارهای دما، پروبیوتیک و جنس در خصوص وزن نسبی قلب نشان می‌دهد که فقط در پرندگان نر در دمای معمول پرورش و جیره‌ی فاقد پروبیوتیک وزن نسبی بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$)، و اختلاف بین سایر تیمارها در دو جنس معنی‌دار نبود. پروبیوتیک باعث کاهش وزن نسبی سنگدان در درون هر

تیمار دمایی شد هر چند این اختلاف معنی‌دار نشد ($p > 0.05$). این کاهش را می‌توان به‌علت افزایش وزن زنده به‌واسطه‌ی مصرف پروبیوتیک و اثر مطلوب آن در دستگاه گوارش پرنده (بهبود فلور میکروبی دستگاه گوارش، تولید آنزیم، کاهش pH، کاهش پتانسیل احیا، رقابت در چسبیدن گیرنده‌ها در روده، رقابت برای مواد غذایی و تحریک ایمنی پروبیوتیک‌ها) مربوط دانست (۲،۱۴). تفاوت معنی‌داری در رابطه با وزن نسبی سنگدان در درون هر جنس مشاهده نشد ($p > 0.05$). کمترین وزن نسبی سنگدان در دو جنس متعلق به دمای معمولی بود. در بررسی رابطه متقابل تیمارها در کبد اختلاف معنی‌داری بین جنس نر و ماده مشاهده شد ولی اختلاف معنی‌داری درون جنس‌ها مشاهده نشد. در همه‌ی تیمارها، وزن نسبی کبد در تیمار حاوی پروبیوتیک، از جیره‌ی فاقد پروبیوتیک، بیشتر بود. بیشترین وزن نسبی کبد مربوط به تیمار تنش حرارتی در جنس ماده و فاقد پروبیوتیک بود و کمترین وزن نسبی کبد مربوط به جنس نر در شرایط معمول دمایی و حاوی پروبیوتیک بود (به‌ترتیب ۴/۴۰ و ۲/۵۱ درصد). به‌نظر می‌رسد کاهش مصرف خوراک و در نتیجه پروتئین خام و همچنین کاهش مصرف آب در شرایط استرس حرارتی سبب تاثیر بر روی وزن نسبی اندام‌های داخلی و بروز الگوهای متفاوت در وزن نسبی آنها (بسته به فعالیت‌های هضمی و هموستازی مانند دفعی، تنفسی و جریان مواد در بدن) شده است (۴). نتایج در ارتباط با روابط متقابل بین تیمارهای دما، پروبیوتیک و جنس اختلاف معنی‌داری رابطه با وزن نسبی روده نشان نداد. در همه‌ی تیمارها وزن نسبی روده در جیره‌های حاوی پروبیوتیک از تیمارهای فاقد پروبیوتیک کمتر بود، هرچند اختلافات معنی‌دار نبود. این تحقیق نشان داد که تیمارهای توازن الکترولیتی تأثیری بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک در دوره‌ی پرورش ۲۰ تا ۳۷ روزه و ۲۰ تا ۴۱ روزه ندارد. پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری باعث بدتر شدن ضریب تبدیل خوراک در سن ۲۰ تا ۳۷ روزه می‌گردد. بهترین وزن زنده و لاشه در تیمار ۱۷۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم به‌دست‌آمده و استفاده از پروبیوتیک در بازده لاشه موثر است. در مجموع استفاده از سطح ۱۷۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم برای توازن الکترولیتی در شرایط معمول دمایی توصیه می‌شود. از پروبیوتیک می‌توان برای حصول به بهترین راندمان لاشه، استفاده نمود.

جدول ۴- اثر توازن الکترولیتی جیره (میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم)، پروبیوتیک، دمای محیط (درجه سانتی‌گراد) و جنس بر روی وزن زنده، وزن لاشه و وزن نسبی اندام‌های داخلی لاشه بلدرچین‌های ژاپنی
 Table 4. Effect of dietary electrolyte balance (milliequivalents per kilogram), probiotic, ambient temperature (degrees Celsius) and sex on live weight, carcass weight and relative weights of internal organs in Japanese quails

وزن روده	طحال	وزن نسبی (درصد)**				وزن (گرم)		SEM
		سنگدان	کبد	قلب	بازده لاشه	وزن لاشه	وزن زنده	
۴/۵۹±۱/۲۸	۰/۰۷±۰/۰۵	۲/۱۴±۰/۳۹	۲/۳۳±۰/۵۲	۰/۸۴±۰/۱۰	۶۸/۲۰±۴/۲۳	۱۵۳/۴۹±۲۱/۰۹	۲۲۶/۲۵±۳۶/۳۰	۱۷۰
۴/۳۲±۱/۱۳	۰/۰۷±۰/۰۴	۲/۱۲±۰/۳۲	۲/۳۳±۰/۵۲	۰/۸۳±۰/۱۲	۶۸/۵۹±۳/۷۱	۱۵۱/۰۴±۲۱/۸۵	۲۲۱/۲۷±۳۶/۸۷	۲۲۰
۴/۵۱±۱/۴۴	۰/۰۶±۰/۰۲	۲/۰۹±۰/۶۴	۲/۲۹±۰/۴۷	۰/۷۹±۰/۱۸	۶۸/۵۶±۳/۸۲	۱۴۴/۹۶±۱۷/۹۲	۲۱۲/۴۴±۲۲/۲۷	۲۷۰
۰/۲۱۱	۰/۰۰۸	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۲	۰/۵۲	۳/۰۳	۴/۵۶	
پروبیوتیک (گرم بر کیلو گرم)								
۴/۵۲±۱/۳۵	۰/۰۷±۰/۰۵	۲/۲۱±۰/۴۹	۲/۴۲±۰/۵۳ ^a	۰/۸۳±۰/۱۲	۶۷/۶۰±۴/۰۶ ^b	۱۴۷/۰۵±۱۵/۹۰	۲۱۸/۸۴±۳۲/۳۳	.
۴/۴۲±۱/۱۷	۰/۰۶±۰/۰۴	۲/۰۴±۰/۳۳	۲/۲۳±۰/۴۷ ^b	۰/۸۲±۰/۱۰	۶۹/۱۸±۳/۶۵ ^a	۱۵۴/۳۶±۲۴/۱۷	۲۲۴/۰۲±۳۸/۸۱	۰/۱
۰/۰۱۷	۰/۰۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۴۳	۲/۴۷	۳/۷۲	SEM
دما (درجه سانتی‌گراد) TOC								
۴/۲۷±۱/۲۳ ^b	۰/۰۶±۰/۰۲	۲/۱۲±۰/۴۶	۲/۳۵±۰/۵۵	۰/۸۱±۰/۱۱	۶۸/۴۲±۳/۷۹	۱۴۸/۶۹±۲۰/۴۵	۲۱۸/۱۷±۳۳/۷۹	۳۴
۴/۷۹±۱/۲۵ ^a	۰/۰۸±۰/۰۶	۲/۱۳±۰/۳۷	۲/۲۷±۰/۴۲	۰/۸۵±۰/۰۹	۶۸/۴۱±۴/۱۷	۱۵۴/۱۸±۲۱/۱۹	۲۲۶/۸۳±۳۸/۴۴	۲۵-۲۷
۰/۰۱۷	۰/۰۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۴۳	۲/۴۷	۳/۷۲	SEM
جنس								
۴/۳۱±۱/۲۴	۰/۰۷±۰/۰۴	۲/۰۹±۰/۴۵	۱/۹۸±۰/۲۵ ^b	۰/۸۷±۰/۰۹ ^a	۷۰/۸۴±۲/۰۸ ^a	۱۴۱/۳۲±۱۶/۷۶ ^b	۱۹۹/۴۹±۲۲/۸۳ ^b	نر
۴/۶۴±۱/۲۵	۰/۰۵±۰/۰۰	۲/۱۶±۰/۳۹	۲/۶۶±۰/۴۷ ^a	۰/۷۸±۰/۱۱ ^b	۶۶/۰۰±۳/۸۳ ^b	۱۶۰/۲۸±۲۰/۳۳ ^a	۲۴۳/۵۱±۳۳/۵۸ ^a	ماده
۰/۰۱۷	۰/۰۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۴۳	۲/۴۷	۳/۷۲	SEM

میانگین هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).
 **: وزن نسبی درصدی از وزن زنده می‌باشد.

جدول ۵- اثر متقابل دما، پروبیوتیک و جنس بر خصوصیات لاشه و وزن نسبی اندام‌های داخلی (وزن قطعه به وزن لاشه) بلدرچین‌های ژاپنی
 Table 5. Interaction between temperature, probiotics and sex on carcass characteristics and relative weights of internal organs (piece weight to carcass weight) of Japanese quails

روده	وزن نسبی (درصد)**				وزن (گرم)		اثر متقابل		
	سنگدان	کبد	قلب	بازده لاشه	وزن لاشه	وزن زنده	دما*	پروبیوتیک	جنس*
۴/۰۹±۱/۵۴ ^d	۲/۱۲±۰/۶۳ ^{abc}	۲/۰۴±۰/۲۸ ^d	۰/۸۷±۰/۰۹ ^{bd}	۷۰/۶۳±۲/۰۱ ^c	۱۳۶/۳۲±۱۰/۳۱ ^a	۱۹۲/۹۱±۱۳/۰۰ ^d	۳۴	.	نر
۴/۲۳±۱/۲۳ ^d	۲/۱۴±۰/۶۶ ^c	۲/۸۴±۰/۶۳ ^d	۰/۷۳±۰/۱۱ ^d	۶۴/۵۹±۳/۰۰ ^d	۱۵۳/۶۹±۱۴/۳۰ ^{bc}	۲۳۸/۵۵±۲۵/۳۳ ^d	۳۴	.	ماده
۴/۰۸±۰/۵۹ ^d	۱/۹۸±۰/۲۳ ^{abd}	۱/۸۸±۰/۲۰ ^d	۰/۸۷±۰/۱۱ ^{abd}	۷۱/۳۴±۱/۲۹ ^c	۱۴۵/۷۶±۲۱/۲۹ ^{abd}	۲۰۴/۱۷±۲۸/۳۹ ^{bd}	۳۴	۰/۱	نر
۴/۳۵±۱/۲۴ ^d	۲/۰۶±۰/۳۱ ^{abc}	۲/۶۱±۰/۳۵ ^d	۰/۷۶±۰/۰۹ ^d	۶۷/۴۵±۳/۷۲ ^d	۱۵۸/۵۴±۲۴/۵۵ ^{cd}	۲۳۵/۵۸±۳۷/۱۹ ^d	۳۴	۰/۱	ماده
۴/۴۵±۰/۶۷ ^d	۲/۱۶±۰/۳۲ ^{abc}	۲/۰۴±۰/۲۵ ^d	۰/۹۱±۰/۰۶ ^c	۷۰/۱۹±۰/۰۹ ^c	۱۳۷/۶۶±۱۰/۶۳ ^a	۱۹۶/۱۷±۱۵/۴۴ ^b	۲۵	.	نر
۵/۲۴±۱/۲۱ ^a	۲/۰۱±۰/۳۸ ^{abc}	۲/۷۹±۰/۲۸ ^a	۰/۷۲±۰/۱۳ ^{abd}	۶۴/۷۴±۴/۱۰ ^a	۱۵۷/۳۶±۱۲/۸۳ ^{bcd}	۲۴۳/۸۳±۲۵/۱۸ ^a	۲۵	.	ماده
۴/۴۹±۱/۵۳ ^d	۱/۹۲±۰/۲۰ ^a	۱/۷۸±۰/۱۵ ^d	۰/۸۴±۰/۰۷ ^{bd}	۷۱/۲۳±۳/۰۴ ^c	۱۴۰/۹۶±۱۴/۷۱ ^{ab}	۱۹۸/۱۷±۲۱/۴۳ ^b	۲۵	۰/۱	نر
۴/۷۶±۰/۷۰ ^{ab}	۲/۱۵±۰/۴۰ ^{bc}	۲/۵۸±۰/۰۵ ^d	۰/۷۹±۰/۱۵ ^{bd}	۶۶/۲۴±۳/۴۴ ^{abd}	۱۶۹/۲۸±۱۷/۰۶ ^d	۲۵۵/۸۳±۲۳/۶۸ ^d	۲۵	۰/۱	ماده

*: میانگین هر ستون یا حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).
 **: وزن نسبی درصدی از وزن زنده می‌باشد.

منابع

1. Alp, M., R. Kahraman, N. Kocabağlı, M. Eren and H.S. Şenel. 1993. Lactiferm-L% ve bazı antibiyotiklerin broyler performansı, abdominal yağ ve incebağırsak ağırlığı ile kan kolesterolüne etkileri. İstanbul Univ. Vet. Fak. Derg, 19: 145-157.
2. Arslan, C. and M. Saatci. 2004. Effects of probiotic administration either as feed additive or by drinking water on performance and blood parameters of Japanese quail. Archiv Fur Geflugelkunde, 68(4): 160-163.
3. Association of Official Analytical Chemists. 2006. 18th ed, Washington, D.C., USA.
4. Barbosa Lima, R., J.H.V. da Silva, P.E.N. Givisiez, T.D.D. Martins, E.P. Saraiva, F.G.P. Costa and M. Macari. 2014. Influence of environmental temperature and electrolyte balance on the performance of quails (*Coturnix Coturnix Coturnix*). Brazilian Journal of Poultry Science, 16(3): 249-256.
5. Bilal, T., C. Kutay and I. Abos. 2000. The effects of broiler act on performance and feed digestibility of broilers t.Archiv Für GeAügelkunde. 364 (3): 134-138.
6. Borgatti, L.M.O., R.D. Albuquerque, N.C. Meister, L.W.O. Souza, F.R.D. Lima and T. Neto. 2004. Performance of broilers fed diets with different dietary electrolyte balance under summer conditions. Brazilian Journal of Poultry Science, 6(3):153-157.
7. Borges, S.A., A.V. Fischer da Silva, J. Ariki, D.M. Hooge and K.R. Cummings. 2003. Dietary electrolyte balance for broiler chickens under moderately high ambient temperatures and relative humidities. Poultry Science, 82(2): 301-308.
8. De Rensis, F. and R.J. Scaramuzzi. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow-a review. Theriogenology, 60: 1139-51.
9. Homma, H. and T. Shinohara. 2004. Effects of probiotic bacillus cereus toyoi on abdominal fat accumulation in the Japanese quail (*Coturnix japonica*).Animal Science Journal, 75: 37-41.
10. Jin, L.Z., Y.W. Ho, N. Abdullah and S. Jalaludin. 1998. Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing lactobacillus cultures. Poultry Science, 77(9):1259-1265.
11. Kahraman, R., H. Özpınar, I. Abaş, H. Eseceli, T. Bilal and H.C. Kutay. 2000. Effects of probiotic and antibiotic on performance of broilers. Archiv für Geflügelkunde, 64(2): 70-74.
12. Lesson, S. and J.D. Summers. 2001. Scott's nutrition of the chicken. University Book. Guelph, Canada, 396 pp.
13. Mongin, P. 1981. Recent advances in dietary anion-cation balance: applications in poultry. Proceedings of the Nutrition Society, 40(3): 285-294.
14. Nasehi, B., M. Chaji, M. Ghodsi and M. Puranian. 2015. Effect of diet containing probiotic on the properties of Japanese quail meat during the storage time. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 9(4): 77-86 (In Persian).
15. National Research Council. 1994. Nutrient requirements of poultry: 1994. National Academies Press, 978 pp
16. Ravindran, V., A.J. Cowieson and P.H. Selle. 2008. Influence of dietary electrolyte balance and microbial phytase on growth performance, nutrient utilization, and excreta quality of broiler chickens. Poultry Science, 87: 677-688.
17. Sadeghi A.R. 2015. Effects of dietary threonine and a multi strains probiotic (Primalac) supplementation on growth performance, blood metabolites and carcass characteristics in Japanese quails. Poultry Science Journal, 3(2): 135-141.
18. Roth, F.X. and M. Kirchgessner. 1986. Nutritive effects of streptococcus faecium (strain M 74) in broiler chicks. Archiv fuer Gefluegelkunde, Germany, FR.
19. Sandikci, M., U. Eren, A.G. Onol and S. Kum. 2004. The effect of heat stress and the use of *Saccharomyces cerevisiae* or (and) bacitracin zinc against heat stress on the intestinal mucosa in quails. Revue De Médecine Vétérinaire, 155: 552-556.
20. Kul, S., I. Seker and O. Yildirim. 2006. Effect of separate and mixed rearing according to sex on fattening performance and carcass characteristics in Japanese quails (*Coturnix Coturnix Japonica*). Archiv Fur Tierzucht, 49(6): 607-614.
21. Seifi, K., M.A. Karimi torshizi, S. Rahimi and A. Teimouri Yansari. 2015. The comparison of probiotics intake via oral and enema (Cloaca) routes on intestinal morphology and performance of Japanese quails. Research on Animal Production, 6(12).
22. Sinha, R., S.A. Lone, A. Ranjan, A. Rahim, I. Devi and S. Tiwari. 2017. The impact of climate change on livestock production and reproduction: ameliorative management. International Journal of Livestock Research, 7(6): 18.
23. Sohail, M.U., M.E. Hume, J.A. Byrd, D.J. Nisbet, A. Ijaz, A. Sohail, M.Z. Shabbir and H. Rehman. 2012. Effect of supplementation of prebiotic mannan oligosaccharides and probiotic mixture on growth performance of broilers subjected to chronic heat stress. Poultry Science, 91: 2235-2240.
24. Vahdatpour, T. 2019. Effects of feed additives on biochemical and immunological indices of blood and performance of Japanese quails (*Coturnix coturnix Japonica*). Research on Animal Production, 9(22).

25. Vali, N. and M.R. Kalantari. 2017. Effect of different levels of sumac powder (*Rhus coriaria* L.) and probiotic protexin on performance, carcass characteristics and length of intestines of Japanese quail (*Coturnix japonica*) in growth period. *Livestock Research (Quarterly)*, 5(2): 63-71.
26. Vieira, D.V., T.P. Bonaparte, J.G. DeVargas Junior, A. Walter, D. Soares and S. Vieites. 2015. Electrolyte balance and crude protein requirement of laying Japanese quail. *Semina Ciências Agrárias*, 36(6): 3965-3976.
27. Yeo, J. and K.I. Kim. 1997. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. *Poultry Science*, 76(2): 381-385.

Effect of Dietary Electrolyte Balance and Probiotic on Performance and Carcass Characteristics of Japanese Quails Under Heat Stress Conditions

Mohammad Reza Mofidi¹, Mostafa Yousef Elahi², Houshang Lotf Elahyan³,
Farzad Bagherzadeh Kasmani⁴ and Mohammad Reza Dehghani⁴

1- PhD Student, Department of Animal Sciences, Zabol University of Agriculture
2- Associate Professor, Department of Animal Sciences, Zabol University of Agriculture,
(Corresponding author: iranmanesh1824@yahoo.com)
3- Research Associate of Iranian Animal Sciences Research Institute
4- Associate Professor, Department of Animal Sciences, Zabol University of Agriculture
Received: 13 April, 2020 Accepted: 21 September, 2020

Abstract

The present study was performed to investigate the effects of dietary electrolyte balance and probiotic on the performance and carcass characteristics in Japanese quail under heat stress conditions. A total of 672 quail chicks (20-day old) were studied in a three-factor, factorial experiment with 4 replicates and in each replication of 14 birds during 20 to 37 and 20 to 41 days. Factors included three levels of dietary electrolyte balance (DEB) (170, 220 and 270 mEq / kg), two levels of probiotic protexin (0 and 100 g / t) and two temperature levels (normal rearing temperature and 34 ° C). The effect of sex was also considered as one of the factors for carcass evaluation. Results showed that probiotic-fed birds at age 20 to 37 had the highest feed intake, while the best feed conversion ratio was obtained without probiotic ($P < 0.05$). During 20 to 37 and 20 to 41 days under heat stress conditions, the best feed conversion ratio and weight gain were related to DEB 270 mEq / kg and no probiotic treatment. Under normal temperature conditions, the best conversion ratio and weight gain coefficients in each time period were related to the diet without probiotics and DEB 170 mEq / kg ($P < 0.05$). The use of probiotic had a significant effect on the relative weight of the carcass and the relative weight of the heart ($P < 0.05$). Also, within each genus, the highest carcass weight and percentage belonged to probiotic treatments ($P < 0.05$). Interactions between probiotics, temperature and sex in males showed significantly ($P < 0.05$) higher relative weight in carcass traits. In general, the use of 170 mEq / kg is recommended for electrolyte balance under normal temperature conditions. Probiotics can be used to achieve the best carcass efficiency.

Keywords: DEB, Heat stress, Japanese quails, Performance, Probiotic



"مقاله پژوهشی"

اثرات دانه کتان اکستروود شده و اسید لینولئیک مزدوج بر عملکرد رشد گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

محسن رضانی^۱، فرزاد میرزائی آقچه قشلاق^۲ و بهمن نوید شاد^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی
(نویسنده مسوول: ramezanimohsen57@gmail.com)

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۲
صفحه: ۳۱ تا ۳۸

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات دانه کتان اکستروود شده و مکمل اسید لینولئیک مزدوج بر عملکرد، غلظت برخی متابولیت‌ها و پارامترهای سلامتی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بود. این تحقیق با ۳۰ راس گوساله هلشتاین تازه متولد شده با میانگین سنی ۸-۱ روز و میانگین وزنی 39 ± 2 کیلوگرم با ۶ تیمار و ۵ تکرار به صورت یک آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) جیره پایه بدون افزودنی (شاهد)، (۲) جیره پایه به همراه ۳ درصد دانه کتان اکستروود شده و بدون مکمل اسید لینولئیک مزدوج، (۳) جیره پایه به همراه ۳ درصد دانه کتان اکستروود شده و ۱۰ گرم مکمل اسید لینولئیک مزدوج، (۴) جیره پایه به همراه ۶ درصد دانه کتان اکستروود شده و بدون مکمل اسید لینولئیک مزدوج، (۵) جیره پایه به همراه ۶ درصد دانه کتان اکستروود شده و ۱۰ گرم مکمل اسید لینولئیک مزدوج و (۶) جیره پایه به همراه ۱۰ گرم مکمل اسید لینولئیک مزدوج و بدون دانه کتان اکستروود شده بودند. گوساله‌ها به محل باکس‌های انفرادی انتقال و خوراک آغازین و آب در حد اشتها در اختیارشان قرار داده شد. به منظور اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی در روزهای ۳۰ و ۷۵ خونگیری از سپاهرگ و داج گوساله‌ها خونگیری انجام گرفت و همچنین عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک نیز محاسبه گردید. نتایج نشان داد که عامل کتان اکستروود شده اثر معنی‌داری بر وزن نهایی گوساله‌ها داشت ($p=0.054$). در حالی که عامل اسید لینولئیک مزدوج و اثر متقابل آن‌ها وزن نهایی را تحت تاثیر قرار نداد. نتایج نشان داد که افزودن مکمل اسید لینولئیک مزدوج، کتان اکستروود شده در جیره گوساله‌های شیرخوار، اثر معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه در ماه‌های اول و دوم و کل دوره پرورشی نداشتند. عامل اسید لینولئیک مزدوج، کتان اکستروود شده و اثر متقابل آن‌ها نتوانست مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی در ماه‌های اول، دوم و کل دوره پرورشی را بهبود دهد. همچنین فراسنجه‌های خونی (گلوکز خون، کلسترول، پروتئین کل، آلبومین و تری‌گلیسرید) و پارامترهای رشد اسکلتی (طول بدن، دور سینه، ارتفاع از جدوگاه، عرض استخوان هیپ و فاصله استخوان هیپ تا پین) با افزودن اسید لینولئیک مزدوج و دانه کتان اکستروود شده در جیره گوساله‌های شیرخوار تحت تاثیر قرار نگرفت. به‌طور کلی نتیجه‌گیری می‌شود که افزودن اسید لینولئیک مزدوج و دانه کتان اکستروود شده با این سطوح استفاده شده نتوانست عملکرد رشد، و فراسنجه‌های خونی را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: اسید لینولئیک مزدوج، دانه کتان، گوساله هلشتاین، عملکرد

مقدمه

در سال‌های اخیر محققین به دنبال یافتن بهترین الگوی تغذیه شیر و بهترین ترکیب جیره آغازین بوده‌اند تا بتوانند بیشترین عملکرد رشد و سلامتی را برای حیوان فراهم کنند (۷). بنابراین مهیا کردن شرایط تغذیه‌ای که بتواند سبب بهبود عملکرد رشد گوساله‌ها به خصوص افزایش وزن نهایی شود می‌تواند تأثیرات مثبتی در صنعت دامپروری داشته باشد (۲۸). گزارش‌ها در خصوص استفاده از اسیدهای چرب جیره برای تغییر در عملکرد رشد و نیز پاسخ ایمنی در گوساله‌های شیرخوار وجود دارد (۱۴). اسیدهای چرب ضروری می‌توانند با طول شدن، به اسیدهای چربی همچون آراشیدونیک اسید، ایکوزاپنتانویئیک اسید و دکوزا هگزانویئیک اسید تبدیل شوند که نقش مهمی در توسعه و تولید هورمون‌ها دارند (۱۹). این اسیدهای چرب برای عملکرد فیزیولوژیکی غشای سلولی، سیالیت غشایی و انتقال سیگنال‌های سلولی ضروری می‌باشند (۴). دانه کتان یکی از منابع اسیدهای چرب غیراشباع بوده که نزدیک به ۵۰ درصد از پروفایل اسیدهای چرب آن، اسید چرب امگا ۳ (اسید آلفا لینولئیک، ایکوزاپنتانویئیک اسید و

دکوزاهگزانویئیک اسید) است (۲۲). در تحقیقی هیل و همکاران (۱۳) گزارش کردند افزودن سطوح متفاوت روغن کتان به خوراک آغازین گوساله سبب افزایش وزن روزانه و بهبود بازده خوراک شده است. اثرات تغذیه‌ای یک اسید چرب خاص نیز مورد توجه محققین قرار گرفته که نام عمومی آن اسید لینولئیک مزدوج است (۲۰). اسید لینولئیک مزدوج نام عمومی برای گروهی از اسیدهای چرب دارای ۱۸ کربن و پیوند دوگانه مزدوج است. اسید لینولئیک مزدوج ایزومرهای موضعی و هندسی اسید لینولئیک ($C_{18:2}$ cis-9, cis12) بوده که ۲۴ نوع ایزومر مختلف آن شناسایی شده است (۱۷). سنتز اسید لینولئیک مزدوج در نشخوارکنندگان بر اثر عمل آنزیم Δ^9 -سچوراز بر اسید واکسنیک و همچنین در شکمبه نشخوارکنندگان در اثر بیهیدروژناسیون ناقص اسید لینولئیک و اسید لینولئیک انجام می‌گیرد (۱۰). اسید لینولئیک مزدوج در فرایندهای فیزیولوژیک متعددی دخالت دارد از جمله این فرایندها می‌توان به تحریک سیستم ایمنی، جلوگیری از گرفتگی رگ‌ها و پیشگیری از دیابت اشاره کرد (۸). یکی از اثرات بارز و منحصر به فرد اسید لینولئیک مزدوج در سیستم

در اختیار گوساله قرار گرفت تا بر اساس اشتها مصرف نمایند. آب آشامیدنی نیز همراه با استارتر از روز ۵ تولد به صورت مصرف آزاد در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت و تنها یک ساعت قبل تا یک ساعت پس از شیردهی از دسترسی گوساله‌ها به آب جلوگیری شد. مقدار ۱۰ درصد یونجه خشک از روز ۲۰ پس از تولد به صورت خرد شده در اندازه‌ی قطعات ۱-۲ سانتی متر به جیره‌ی استارتر گوساله‌ها اضافه شد. جیره‌های مورد استفاده در این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار *Amino Cow* ver. 3.5.2 تنظیم شد (جدول ۱).

نحوه جمع‌آوری داده‌ها

در طول دوره آزمایشی، جیره‌های غذایی پس از توزین روزانه در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. برای تعیین میزان مصرف خوراک، قبل از ریختن خوراک وعده صبح، باقی‌مانده خوراک روز قبل جمع‌آوری و ثبت شدند. گوساله‌ها هر ماه یکبار با اعمال محرومیت قبلی ۱۴-۱۲ ساعت از آب و خوراک برای جلوگیری از تغییرات وزن، وزن‌کشی شدند.

برای تعیین فراسنجه‌های خونی (گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، آلبومین و پروتئین کل خون) در روزهای ۳۰ و ۷۵ دوره آزمایشی، ۴ ساعت بعد از خوراک‌دهی وعده صبح از سیاهرگ و داج خونگیری انجام شد. نمونه‌های خون پس از انتقال به آزمایشگاه، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده (با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه) و پس از جداسازی سرم، نمونه‌های سرم تا زمان اندازه‌گیری، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس‌آزمون، ایران) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Shimadzu) صورت پذیرفت.

فاکتورهای طول بدن، قد از جدوگاه، فاصله‌ی دو سر استخوان هیپ، فاصله‌ی استخوان هیپ تا پین، محیط قفسه‌ی سینه (به وسیله متر استاندارد) در روزهای اول و انتهای دوره اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری

داده‌ها عملکرد رشدی با استفاده از رویه MIXED و با استفاده از نرم‌افزار SAS (۳۷) و داده‌های مربوط به فراسنجه‌های خونی و رشد اسکلتی با رویه GLM آنالیز شدند. معادله مورد استفاده $Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ij}$ بود که در آن اثر A_i = فاکتور اول (دانه کتان اکستروود شده)، B_j = اثر فاکتور دوم (اسید لینولئیک مزدوج) و AB_{ij} = اثر متقابل بین فاکتورهای اول و دوم و e_{ij} = اثر اشتباه آزمایش بودند.

ایمنی این است که به‌عنوان مواد پیش‌ساز و محرک ساخت پروستگلان‌دین‌ها بوده که در پاسخ به بروز آلرژی و التهاب، ساخته و ترشح می‌شوند. از طرفی اسید لینولئیک مزدوج به‌عنوان مواد آنتی‌اکسیدانت، از تخریب غشاهای زیستی و سلول‌های بدن و تولید مواد مخرب مانند پراکسیدها جلوگیری می‌کند. با توجه به موارد ذکر شده افزودن اسید لینولئیک مزدوج و روغن دانه کتان می‌توانند بر سلامت و عملکرد دام موثر واقع شوند. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثرات دانه کتان اکستروود شده و اسید لینولئیک مزدوج محافظت شده بر عملکرد، رشد اسکلتی و غلظت برخی متابولیت‌ها در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین است.

مواد و روش‌ها

حیوانات و جیره آزمایشی

پژوهش حاضر در مجتمع دامپروری شرکت کشت و صنعت و دامپروری مغان واقع در استان اردبیل، شهرستان پارس‌آباد طی ماه‌های آذر تا بهمن ماه انجام شد. بدین منظور از ۳۰ راس گوساله هلشتاین تازه متولد شده با میانگین سنی ۸-۱ روز و میانگین وزنی 39 ± 2 کیلوگرم با ۶ تیمار و ۵ تکرار در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به صورت آزمایش فاکتوریل (3×2) استفاده گردید. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) جیره پایه بدون افزودنی (شاهد)، ۲) جیره پایه به‌همراه ۳ درصد دانه کتان اکستروود شده و بدون مکمل اسید لینولئیک مزدوج، ۳) جیره پایه به‌همراه ۳ درصد دانه کتان اکستروود شده و ۱۰ گرم مکمل اسید لینولئیک مزدوج، ۴) جیره پایه به‌همراه ۶ درصد دانه کتان اکستروود شده و بدون مکمل اسید لینولئیک مزدوج، ۵) جیره پایه به‌همراه ۶ درصد دانه کتان اکستروود شده و ۱۰ گرم مکمل اسید لینولئیک مزدوج و ۶) جیره پایه به‌همراه ۱۰ گرم مکمل اسید لینولئیک مزدوج و بدون دانه کتان اکستروود شده بودند.

گوساله‌ها در ۲۴ ساعت اولیه پس از تولد، از مادران خود جدا شده و ضدعفونی ناف با محلول تئترید انجام گرفت و پس از وزن‌کشی به باکس‌های انفرادی منتقل شدند. سپس ۴ لیتر آغوز در دو نوبت و در ۸ ساعت اولیه‌ی تولد تغذیه شدند و دادن آغوز برای ۲ روز دیگر بر مبنای ۱۰ درصد وزن بدن ادامه یافت. شیردهی گوساله‌ها روزانه در دو نوبت (ساعت ۸/۳۰ صبح و ساعت ۱۸/۳۰) انجام می‌شد. در روز ۴ تولد گوساله‌ها به محل باکس‌های انفرادی بتونی در محل گوساله‌دانی انتقال داده شدند. تغذیه گوساله‌ها از شیر در طی ۱۴ روز اول به مقدار ۴ لیتر، از ۱۵ الی ۶۷ روزگی به مقدار ۶ لیتر و از ۶۸ الی ۷۴ روزگی به مقدار ۳ لیتر بود و در روز ۷۵ قطع شیر گردیدند. استارتر از روز ۵ پس از تولد به صورت آزاد

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های استارتر

Table 1. Feed ingredients and chemical composition of starter diets

اقلام خوراکی	جیره ۱	جیره ۲	جیره ۳
ذرت	۳۴/۵	۳۳	۳۲
جو	۱۱/۵	۹	۸
سبوس گندم	۱۸/۵	۱۹/۵	۱۹
کنجاله سویا	۳۱/۵	۳۱	۳۰
کتان اکستروود شده	۰	۳/۰	۶
کربنات کلسیم	۱	۱/۰	۱
نمک	۰/۵	۰/۵	۰/۵
مکمل ویتامینه	۱	۱/۰	۱
مکمل معدنی	۰/۵	۰/۵	۰/۵
جوش شیرین	۱	۱	۱
ماده خشک (درصد)	۸۹/۵۰	۹۰/۰۰	۸۹/۰۰
پروتئین خام (درصد)	۱۹/۲۱	۱۹/۳۶	۱۹/۲۶
انرژی خالص نگهداری (مگا کالری بر کیلوگرم)	۱/۹۰	۱/۹۹	۲/۰۱
انرژی خالص رشد (مگا کالری بر کیلوگرم)	۱/۲۸	۱/۳۱	۱/۳۷
کلسیم	۰/۶۲	۰/۶۲	۰/۶۲
فسفر	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰

ترکیب مکمل ویتامینه: ویتامین A، ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم؛ ویتامین E، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ ویتامین D₃ ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم؛ ترکیب مکمل معدنی: کلسیم ۱۹۵۰۰۰ میلی‌گرم؛ فسفر ۹۰۰۰۰ میلی‌گرم؛ منیزیم ۹۰۰۰۰ میلی‌گرم؛ سدیم ۵۵۰۰۰ میلی‌گرم؛ روی ۳۰۰۰ میلی‌گرم؛ آهن ۳۰۰ میلی‌گرم؛ منگنز ۲۰۰۰ میلی‌گرم؛ مس ۲۸۰ میلی‌گرم؛ کبالت ۱۰۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم ۱ میلی‌گرم؛ آنتی‌اکسیدانت ۴۰۰ میلی‌گرم.

جیره ۱: جیره پایه؛ جیره ۲: جیره پایه به همراه ۳ درصد کتان اکستروود شده؛ جیره ۳: جیره پایه به همراه ۶ درصد چربی. *کتان اکستروود شده با جیره مخلوط و آنالیز گردیدند با توجه به اینکه اسید لینولئیک مزدوج به صورت سرک (Top dress) به جیره اضافه شد به همین منظور تیمارهای حاوی اسید لینولئیک مزدوج به صورت جداگانه آنالیز شیمیایی نشدند.

نتایج و بحث

مصرف خوراک و وزن نهایی

نتایج مربوط به اثرات استفاده از کتان اکستروود شده و اسید لینولئیک مزدوج بر مصرف خوراک، وزن نهایی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود تغذیه عامل کتان اکستروود شده در جیره آغازین گوساله‌ها سبب بهبود وزن نهایی گوساله‌ها گردید. در حالی که افزایش وزن روزانه گوساله‌ها در ماه اول و دوم و کل دوره پرورشی تحت تأثیر عامل اسید لینولئیک مزدوج و کتان اکستروود شده و اثر متقابل اسید لینولئیک مزدوج و کتان اکستروود شده قرار نگرفت. نتایج مربوط به مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی گوساله‌ها در ماه اول و دوم و کل دوره پرورشی نشان از عدم معنی‌داری عامل اسید لینولئیک مزدوج، کتان اکستروود شده و اثر متقابل آنها داشت. اسپچگل و همکاران (۲۷) گزارش کردند که استفاده از اسید لینولئیک مزدوج در تلیسه‌ها نتوانست ضریب تبدیل غذایی را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین این محققین بیان کردند که مکمل کردن اسید لینولئیک مزدوج اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک و وزن نهایی تلیسه‌های جوان ندارد. رضانی و همکاران (۲۵) گزارش کردند که استفاده از ۱۰ گرم اسید لینولئیک مزدوج در جیره آغازین نتوانست اثر معنی‌داری را بر مصرف خوراک و وزن بدن داشته باشد، در همین راستا ساکسومبات و همکاران (۳۰) گزارش کردند که افزودن اسید لینولئیک مزدوج، مصرف خوراک گوساله‌های پروراری را در مقایسه با گروه شاهد افزایش نداد. در مقابل تحقیقات نشان داده‌است که مکمل کردن جیره‌ها با اسید لینولئیک مزدوج سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی، افزایش پروتئین‌های بدنی و کاهش چربی‌های بدنی می‌شود (۳۳). فلوردیاز و همکاران (۱۱) گزارش کردند که استفاده از

نمک‌های کلسیمی اسید لینولئیک مزدوج در جیره گوساله‌های پروراری سبب بهبود افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در روزهای ۲۹ تا ۵۶ روزگی شد.

جوآرز و همکاران (۱۸) مشاهده کردند که دانه کتان باعث افزایش وزن و مصرف خوراک در گوساله‌های پروراری می‌گردد. هیل و همکاران (۱۳) گزارش کردند که افزودن ۲ درصد روغن کتان به جایگزین شیر در مقایسه با ۲ درصد روغن کانولا افزایش وزن بیشتری در پی خواهد داشت. اسید چرب با چند پیوند دوگانه با تأثیر بر جمعیت میکروبی شکمبه باعث کاهش هضم لیاف و در نتیجه باعث کاهش مصرف خوراک می‌شوند. اسید چرب با طول زنجیره‌ی بزرگتر و پیوند دوگانه بیشتر، راحت‌تر می‌تواند به باکتری‌ها متصل شده و باعث تخریب غشای باکتری می‌شود (۳۳). هریستو و همکاران (۱۵) گزارش کردند که با کاهش درجه اشباعیت و افزایش تعداد باند دوگانه در اسیدهای چرب، میزان هضم لیاف و انرژی دریافتی برای میکروارگانیسم‌های شکمبه کاسته شده و کاهش مصرف خوراک و کمتر شدن افزایش وزن را به دنبال دارد. هیل و همکاران (۱۲) اثبات کردند که مکمل کردن چربی بر مصرف خوراک می‌تواند تحت تأثیر سن، مقدار چربی، پروفایل اسید چرب و نسبت اسید چرب پیوند دوگانه به اسید چرب پیوند سه‌گانه باشد. موافق با نتایج این مطالعه، کوینن و همکاران (۲۴) گزارش کردند که با افزایش سطوح کتان میزان وزن نهایی بدن افزایش می‌یابد. الکساندر و همکاران (۱) بیان کرد که منابع امگا ۳ از جمله کتان به‌خاطر چندین تأثیر مثبت بر روی حیوان می‌تواند سبب بهبود وزن نهایی دام شود. از جمله این عوامل می‌توان به کاهش سیتوکین‌های تولیدی، کاهش پاسخ‌های التهابی و کاهش عفونت‌ها اشاره کرد.

پیشنهادی برای کاهش توده چربی در هنگام استفاده از اسید لینولئیک مزدوج شامل افزایش متابولیسم پایه و مصرف انرژی، تحریک متابولیسم چربی و افزایش بتاکسیداسیون اسید چرب، کاهش اندازه بافت چربی به‌واسطه تمایز سلول‌های چربی و تحریک مکانیسم آپوپتوز می‌باشد (۲۲).

در رابطه با اثرات اسید لینولئیک مزدوج بر کاهش وزن بدن گزارشاتی وجود دارد بر پایه این مطالب می‌توان به مطالعه پیشین محققین از جمله پارک و همکاران (۲۲) اشاره کرد که اسیدلینولئیک مزدوج سبب کاهش وزن بدن، کاهش توده چربی و از طرفی افزایش توده ماهیچه می‌شود. مکانیسم

جدول ۲- اثر استفاده از دانه کتان اکستروود شده و اسید لینولئیک مزدوج بر عملکرد رشد گوساله‌های شیر خوار هلشتاین

Table 2. Effect of extruded flaxseed and conjugated linoleic acid on growth performance in Holstein milk-fed calves

احتمال معنی‌داری			SEM	۶		۳		۰		FS (درصد)
F.S*CLA	F.S	CLA		۱۰	۰	۱۰	۰	۱۰	۰	CLA (گرم)
				وزن بدن (کیلوگرم)						
-/۰۹۶۲۱	-/۰۹۰۱۲	-/۰۹۶۱	۲/۱۱۱	۳۹/۴۷	۳۹/۵۸	۳۹/۱۲	۳۸/۴۵	۳۸/۷۸	۳۹/۱۲	تولد
-/۰۶۰۰۱	-/۰۰۵۱۴	-/۰۷۱۳	۳/۷۴۱	۸۸/۴۶ ^b	۹۵/۶۵ ^a	۸۸/۷۴ ^b	۹۲/۵۶ ^{ab}	۸۸/۸۷ ^b	۸۸/۵۴ ^b	نهایی
				افزایش وزن روزانه (گرم)						
-/۰۸۶۷۸	-/۰۶۶۱۴	-/۰۸۷۲	۵۹/۷۰۱	۵۴۰/۵۴	۵۵۲/۴۵	۵۴۶/۱۲	۵۶۷/۶۹	۵۴۶/۴۷	۵۳۳/۱۲	ماه اول
-/۰۷۳۲۵	-/۰۸۹۷۴	-/۰۶۵۷	۳۸/۸۰۲	۹۲۰/۱۲	۹۴۷/۱۲	۹۷۲/۱۴	۹۶۷/۵۸	۹۶۲/۱۴	۹۲۵/۱۲	ماه دوم
-/۰۹۰۳۶	-/۰۶۶۲۵	-/۰۱۱۶	۳۶/۰۹۴	۶۱۴/۸۹	۶۵۴/۷۸	۶۷۳/۲۳	۶۹۴/۱۲	۶۸۳/۱۴	۶۱۷/۸۵	کل دوره
				مصرف خوراک (گرم در روز)						
-/۰۱۵۱۸	-/۰۴۷۴۷	-/۰۴۶۴۴	۵۹/۶۶۹	۳۴۰/۶۵	۲۳۸/۸۷	۴۴۶/۸۵	۴۴۱/۱۴	۳۵۸/۸۷	۳۴۰/۶۵	ماه اول
-/۰۷۴۹۶	-/۰۷۹۲۵	-/۰۴۷۷۲	۱۵۲/۸۳۶	۱۲۰۳/۰۸	۱۲۵۷/۵۸	۱۰۷۲/۴۷	۱۲۱۳/۶۹	۱۰۸۷/۸۷	۹۹۳/۶۵	ماه دوم
-/۰۴۵۷۴	-/۰۸۶۱۲	-/۰۸۱۶۷	۸۷/۲۴۵	۶۸۹/۶۵	۶۴۸/۷۸	۶۶۱/۱۸	۶۵۰/۳۶	۷۲۳/۱۲	۶۷۰/۲۵	کل دوره
				ضریب تبدیل غذایی						
-/۰۴۰۱۴	-/۰۴۲۱۴	-/۰۵۲۶۵	۰/۱۱۳	-/۰۹۹	-/۰۶۴	-/۰۶۹	-/۰۷۶	-/۰۶۷	-/۰۷۰	ماه اول
-/۰۸۵۶۵	-/۰۶۷۶۵	-/۰۳۸۷۸	۰/۱۶۴	۱/۳۰	۱/۳۲	۱/۱۰	۱/۲۶	۱/۰۹	۱/۰۸	ماه دوم
-/۰۳۳۹۶	۱/۰۳۶۸	-/۰۸۲۳۶	۰/۱۱۲	۱/۱۱	۱/۱۰	۰/۹۷	۱/۱۶	۱/۱۲	۱/۲۵	کل دوره

SEM= انحراف استاندارد میانگین، FS= دانه کتان، CLA= اسید لینولئیک مزدوج
اعدادی که در هر ردیف با حروف غیرمشابه نشان داده شد از نظر آماری معنی‌دار هستند.

سطح چربی جیره سبب کاهش در میزان گلوکز خون می‌شود. رضانی و همکاران (۲۵) گزارش کردند فراسنجه‌های خونی (گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و آلبومین) گوساله‌های شیرخوار تحت تاثیر مکمل اسید لینولئیک مزدوج قرار نگرفت. همچنین اثر چربی بر دوره قبل از شیرگیری نشان داد که تغذیه اسید چرب تاثیر بر غلظت گلوکز و انسولین ترشح شده نداشته است (۶).

پروتئین کل خون شاخص مهمی برای بررسی وضعیت پروتئین است (۳۵). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از کتان اکستروود شده و اسید لینولئیک مزدوج نتوانست پروتئین کل خون را تحت تاثیر معناداری خود قرار دهد.

کلسترول و تری‌گلیسرید، پس از پروتئین و اسید آمینه به‌عنوان منابع ثانویه انرژی محسوب شده که در زمان کمبود گلوکز مصرف می‌شوند (۲). پاشایی و همکاران (۲۳) گزارش کردند که استفاده از دانه روغنی در جیره موجب کاهش غلظت آلبومین، تری‌گلیسرید و لیپوپروتئین با دانسیته کم در خون شد در حالی که اثری بر غلظت کلسترول نداشت. دانه‌های روغنی دارای سطوح قابل توجهی از اسیدهای چرب غیراشباع هستند. اسیدهای چرب غیراشباع ممکن است از تجمع تری‌گلیسریدها به‌وسیله تغییر متابولیسم چربی در کبد ممانعت کند (۳۴).

فراسنجه‌های خونی

نتایج مربوط به اثر استفاده از کتان اکستروود شده و اسید لینولئیک مزدوج بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین در جدول ۳ نشان داده شده است همان‌طور که مشاهده می‌شود عامل اسید لینولئیک مزدوج و کتان اکستروود شده در روزهای ۳۰ام و ۱۷۵ام پرورش نتوانست اثر معنی‌داری بر غلظت فراسنجه‌های خونی (گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، آلبومین و پروتئین کل) داشته باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود افزودن ۳ درصد کتان اکستروود شده به‌همراه اسید لینولئیک مزدوج سبب افزایش عددی در میزان گلوکز می‌شود. جهانی مقدم و همکاران (۱۶) نشان دادند که استفاده از دانه کتان سبب افزایش میزان گلوکز می‌شود. مطالعات نشان داده است که اسیدهای چرب در شکمبه بیوهیدروژنه شده و با تغییر الگوی تخمیر سبب افزایش میزان پروپیونات نسبت به استات می‌شوند (۳). پروپیونات پیش‌ساز ماده اصلی گلوکونئوزن بوده و موجب سنتز گلوکز می‌شود همچنین گلیسرول حاصل از هیدرولیز چربی در دانه‌های روغنی به پروپیونات تبدیل می‌شود که از طریق گلوکونئوزن سبب افزایش میزان سطح گلوکز خون می‌شود. اودنز و همکاران (۲۱) گزارش کردند افزودن اسید لینولئیک مزدوج به جیره گاوهای دوره انتقال سبب افزایش غلظت گلوکز پلاسما شد. از طرفی کانت و همکاران (۵) نشان دادند که افزایش در

جدول ۳- اثر استفاده از دانه کتان اکستروود شده و اسید لینولئیک مزدوج بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین
Table 3. Effect of extruded flaxseed and conjugated linoleic acid on blood metabolites in Holstein milk-fed calves

اثرات اصلی و متقابل				دانه کتان (درصد)						
FS*CLA	FS	CLA	SEM	۶		۳		۰		
				۱۰	۰	۱۰	۰	۱۰	۰	
										اسید لینولئیک مزدوج (گرم)
										گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۹۰۴۵	۰/۹۱۱۴	-/۲۷۱۴	۴/۸۰۲	۱۰۲/۱۰	۹۹/۳۲	۱۰۷/۴۰	۹۹/۱۵	۱۰۶/۸۷	۹۹/۱۷	روز ۳۰ ام پرورش
۰/۹۱۳۶	۰/۹۸۷۴	-/۷۸۱۲	۵/۶۷۷	۸۱/۳۷	۸۱/۹۰	۸۴/۳۲	۷۸/۵۷	۸۰/۵۲	۸۰/۳۲	روز ۷۵ ام پرورش
										کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۸۷۲۴	۰/۹۹۵۴	-/۹۹۱۲	۶/۹۱۲	۱۳۰/۵۸	۱۲۵/۱۵	۱۲۶/۳۴	۱۲۹/۷	۱۲۷/۲۸	۱۳۲/۲۲	روز ۳۰ ام پرورش
۰/۶۱۲۵	۰/۴۷۷۴	-/۴۵۴۷	۸/۹۱۳	۱۲۴/۶۵	۱۱۸/۴۲	۱۳۷/۲۴	۱۱۶/۳۲	۱۳۴/۱۰	۱۳۸/۰۹	روز ۷۵ ام پرورش
										تری گلیسیرید (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۷۵۴۱	۰/۲۹۵۶	-/۵۵۴۵	۲/۳۸۲	۳۴/۶۷	۳۴/۷۵	۳۵/۹۷	۳۶/۲۷	۳۴/۴۵	۳۹/۰۲	روز ۳۰ ام پرورش
۰/۳۶۳۲	۰/۹۷۳۶	-/۳۴۵۵	۴/۰۱۴	۳۱/۳۲	۳۲/۵۰	۳۰/۱۷	۳۱/۳۵	۳۳/۰۰	۳۳/۳۵	روز ۷۵ ام پرورش
										آلبومین (گرم در دسی لیتر)
۰/۶۴۷۴	۰/۹۲۷۴	-/۴۸۵۶	-/۲۱۷	۳/۴	۲/۷۵	۳/۱۵	۳/۱۷	۳/۲۵	۳/۲۰	روز ۳۰ ام پرورش
۰/۷۹۶۵	۰/۸۱۲۵	-/۶۸۷۸	-/۲۲۲	۳/۲۷	۳/۴۰	۳/۳۲	۳/۰۲	۳/۴۰	۳/۲۵	روز ۷۵ ام پرورش
										پروتئین کل (گرم در دسی لیتر)
۰/۲۲۱۴	۰/۷۷۷۴	-/۶۵۵۸	-/۲۱۰	۵/۳۵	۴/۸۵	۵/۰۵	۵/۵۰	۵/۱۰	۵/۴۷	روز ۳۰ ام پرورش
۰/۳۲۱۲	۰/۴۶۵۸	-/۱۳۴۵	-/۱۱۶	۵/۶۰	۴/۹۲	۵/۴۲	۵/۱۲	۵/۵۰	۵/۵۵	روز ۷۵ ام پرورش

SEM= انحراف استاندارد میانگین، FS= دانه کتان، CLA= اسید لینولئیک مزدوج

عملکرد رشد اسکلتی

افزودن منابع چربی امگا ۳ و امگا ۶ به همراه ویتامین E اثری بر پارامترهای بیومتریکی (دوره سینه، ارتفاع از جدوگاه، طول بدن، عرض هیپ) در گوساله‌های شیرخوار نداشت هر چند بیان کردند که اثر منبع روغن بر دور شکم در هنگام از شیرگیری و پایان دوره آزمایشی تمایل به معنی دار شدن داشت. این محققین بیان کردند که گوساله‌های مصرف کننده سویای اکستروود شده عمق بدن بالاتری نسبت به گوساله‌های مصرف کننده کتان اکستروود شده داشتند اما در رابطه با دیگر صفات فیزیکی تفاوت معنی داری بین گروه‌های دریافت کننده منابع چربی مشاهده نشده بود. همچنین هیل و همکاران (۱۳)، نشان دادند که مصرف نمک‌های کلسیمی روغن کتان در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تأثیری در رشد استخوانی ناحیه‌ی هیپ نداشته و عرض استخوان هیپ تحت‌تأثیر تیمارهای آزمایشی (صفر، ۰/۰۸۳، ۰/۱۶۷ و ۰/۲۵۰ درصد در خوراک مصرفی) قرار نگرفت.

نتایج مربوط به اثر استفاده از اسید لینولئیک مزدوج و کتان اکستروود شده بر رشد اسکلتی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۴ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود طول بدن در آخر دوره پرورشی نتوانست تحت‌تأثیر عامل اسید لینولئیک مزدوج و کتان اکستروود شده قرار بگیرد. اما به لحاظ عددی گروه‌های دریافت کننده اسید لینولئیک مزدوج و کتان اکستروود شده افزایش غیرمعنی دار از خود نشان دادند. نتایج مربوط به اثر اسید لینولئیک مزدوج و کتان اکستروود شده بر دور سینه و ارتفاع از جدوگاه گوساله‌ها نیز نشان از عدم تأثیر معنی داری هر سه عامل اسید لینولئیک مزدوج، کتان اکستروود شده، و اثر متقابل اسید لینولئیک مزدوج و کتان اکستروود شده داشت. عرض استخوان هیپ و فاصله استخوان هیپ تا پین نیز تحت‌تأثیر افزودن اسید لینولئیک مزدوج و کتان اکستروود شده قرار نگرفتند. فصیحی و همکاران (۹) گزارش کردند که

جدول ۴- اثر استفاده از دانه کتان اکستروود شده و اسید لینولئیک مزدوج بر رشد اسکلتی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین
Table 4. Effect of extruded flaxseed and conjugated linoleic acid on skeletal growth in Holstein milk-fed calves

احتمال معنی داری				دانه کتان (درصد)						
FS*CLA	F.S	CLA	SEM	۶		۳		۰		
				۱۰	۰	۱۰	۰	۱۰	۰	
										اسید لینولئیک مزدوج (گرم)
										طول بدن (سانتی متر)
۰/۸۴۱۲	۰/۳۱۲۱	-/۶۵	۱/۷۷۱	۶۵/۴۰	۶۵/۶۰	۶۵/۲۰	۶۴/۸۰	۶۳/۲۰	۶۰/۶۰	اول دوره
۰/۶۰۱۲	۰/۵۴۱۲	-/۳۹	۱/۵۹۲	۷۹/۲۰	۷۶/۶۰	۷۶/۲۰	۷۷/۲۰	۷۷/۰۰	۷۳/۸۰	آخر دوره
										دور سینه (سانتی متر)
۰/۸۸۳۲	۰/۹۴۱۴	-/۴۱	۲/۰۱۲	۸۷/۶۰	۸۷/۲۰	۸۷/۶۰	۸۵/۴۰	۸۸/۲۰	۸۵/۰۰	اول دوره
۰/۶۹۴۵	۰/۹۴۴۵	-/۴۸	۱/۷۰۱	۱۰۶/۴۰	۱۰۶/۲۰	۱۰۶/۲۰	۱۰۶/۰۰	۱۰۷/۴۰	۱۰۳/۶۰	آخر دوره
										ارتفاع از جدوگاه (سانتی متر)
۰/۷۱۴۵	۰/۶۵۶۵	-/۷۸	۱/۸۸۲	۸۰/۴۰	۸۲/۰۰	۸۰/۲۰	۷۷/۴۰	۷۹/۸۰	۷۹/۲۰	اول دوره
۰/۸۲۲۶	۰/۵۳۴۵	-/۶۰	۱/۵۶۷	۹۷/۶۰	۹۹/۶۰	۹۶/۶۰	۹۸/۰۰	۹۶/۴۰	۹۵/۸۰	آخر دوره
										عرض استخوان هیپ (سانتی متر)
۰/۰۸۱۲	۰/۷۱۱۲	-/۴۸۲	-/۴۵۸	۱۷/۸۰	۱۸/۲۰	۱۷/۴۰	۱۹/۴۰	۱۸/۴۰	۱۷/۴۰	اول دوره
۰/۴۱۱۷	۰/۵۷۷۸	-/۷۳۷	-/۴۸۱	۲۱/۶۰	۲۲/۰۰	۲۱/۸۰	۲۲/۸۰	۲۲/۰۰	۲۱/۲۰	آخر دوره
										فاصله استخوان هیپ تا پین (سانتی متر)
۰/۳۵۸۹	۰/۵۶۷۸	-/۷۷۸	-/۳۹۷	۲۴/۶۰	۲۵/۰۰	۲۳/۸۰	۲۴/۶۰	۲۴/۸۰	۲۴/۰۰	اول دوره
۰/۴۵۷۴	۰/۶۵۶۳	-/۴۸۹	-/۴۸۶	۲۸/۶۰	۲۹/۶۰	۲۸/۲۰	۲۹/۰۰	۲۸/۸۰	۲۸/۲۰	آخر دوره

SEM= انحراف استاندارد میانگین، FS= دانه کتان، CLA= اسید لینولئیک مزدوج، FS*CLA= اثرات متقابل

لینوئائیک مزدوج و کتان اکستروود شده نتوانست اثر معنی‌داری بر غلظت گلوکز خون، پروتئین کل، آلبومین، کلسترول و تری‌گلیسرید داشته باشد. طول بدن، دور سینه، ارتفاع از جدوگاه، عرض استخوان هیپ و فاصله استخوان هیپ تا پین تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند.

نتایج مربوط به اثرات استفاده از کتان اکستروود شده و مکمل اسید لینوئائیک مزدوج بر مصرف خوراک، وزن نهایی و افزایش وزن روزانه نشان داد که عامل کتان اکستروود شده نتوانست وزن نهایی گوساله‌ها را تحت تاثیر خود دهد، در حالی که عامل مکمل اسید لینوئائیک مزدوج و اثر متقابل آنها نتوانست وزن نهایی را بهبود بخشد. عامل مکمل اسید

منابع

- Alexander, J.W. 1998. Immunonutrition: The role of ω -3 fatty acids. *Nutrition*, 14: 627-633.
- Baliki, E.A. and Y.F. Gurdonan. 2007. Blood metabolite concentration during pregnancy and postpartum in Akharaman ewes. *Journal of small ruminant research*, 67: 247-251.
- Byers, F.M., D.C. Schelling and E.D. Church. 1993. The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition, 298-310.
- Calder, P.C. 1996. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated Fatty acids. *Proceedings of the Nutrition Society*, 55: 737-774.
- Cant, J.P., E.J. DePeters and R.L. Baldwin. 1991. Mammary uptake of energy metabolites in dairy cows fed fat and its relationship to milk protein depression. *Journal of Dairy Science*, 76: 224-2265.
- Delbecchi, F., C. Ahnadi, J. Kennelly and P. facasse. 2001. Milk Fatty acid composition and mammary lipid metabofism in Holstein cows fed protected or unprotected Canola seeds. *Journal of Dairy Science*, 84: 1375-1381.
- DePassillé, A.M.B. and J. Rushen. 2006. Calve's behaviour during nursing is affected by feeding motivation and milk availability. *Applied Animal Behavior Science*, 101: 264-275.
- Eftekhari M.H., F. Aliasghari, M.A. Babaei-Beigi and J. Hasanzadeh. 2013. Effect of conjugated linoleic acid and omega-3 fatty acid supplementation on inflammatory and oxidative stress markers in atherosclerotic patients. *ARYA Atheroscler*, 9(6): 311-8.
- Fasihi, H. 2014. Interaction of n6:n3 ratio with level of vitamin E of starter on performance and immunity responses of new born Holstein dairy calves. M.S. Thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran, 72 pp (In Persian).
- Fellner, V., F.D. Sauer and J.K.G. Kramer. 1997. Effect of Nigericin, Monensin, and Tetronasin on biohydrogenation in continuous flow-through ruminal fermenter. *Journal of Dairy Science*, 80: 921-928.
- Flórez-Díaz, H., E.B. Kegley, G.F. Erf, D.L. Kreider, K.P. Coffey, N.D. Luchini and S.L. Krumpelman. 2006. Influence of live weight gain and calcium salts of conjugated linoleic acid on growth performance and immune function of growing cattle. *Arkansas Agricultural Experiment Station Research*, 167-170.
- Hill, T., M. VandeHaar, F. Sordillo, D. Catherman, H. Bateman and R. Schlotterbeck. 2001. Fatty acid intake alters growth and immunity in milk-fed calves. *Journal of Dairy Science*, 94: 3936-3948.
- Hill, T.M., H.G. Bateman, J.M. Aldrich and R.L. Schlotterbeck. 2009. Effects of changing the essential and functional fatty acid intake on dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 92: 670-676.
- Hill, T.M., H.G. Bateman, J.M. Aldrich and R.L. Schlotterbecka. 2011. Impact of various fatty acids on dairy calf performance. *Professionnal Animal Scientists*, 27: 167-175.
- Hristov, A., L. Kennington, M. McGuire and C. Hunt. 2005. Effect of diets containing linoleic acid-or oleic acid-rich oils on ruminal fermentation and nutrient digestibility, and performance and Fatty acid composition of adipose and muscle tissues of Linishing cattle. *Journal of Animal Science*, 83: 1312-1321.
- Jahani-Moghadam, M., E. Mahjoubi and E. Dirandeh. 2015. Effect of linseed feeding on blood metabolites, incidence of cystic follicles and productive and reproductive performance in fresh Holstein dairy cows. *journal of Dairy Science*, 98(3): 1828-35.
- Jones, S., D.W. Ma, F.E. Robinson, C.J. Field and M.T. Clandinin. 2000. Isomers of conjugated linoleic acid (CLA) are incorporated into egg yolk lipids by CLA-fed laying hens. *Journal of Nutrition*, 130: 2002-2005.
- Juárez, M., M.E. Dugan, J.F. Aalhus, N. Aldai, J.A. Basarab, V.S. Baron and T.A. McAllister. 2011. Effects of vitamin E and flaxseed on rumen-derived fatty acid intermediates in beef intramuscular fat. *Meat Science*, 88: 434-440.
- Khorasani, G., P. Robinson, G. De Boer and J. Kennelly. 1991. Influence of canola fat on yield, fat percentage, Fatty acid profile, and nitrogen fractions in Holstein milk. *Journal of Dairy Science*, 74: 1904-1911.
- Loor, J.J. and J.H. Herbein. 2003. Dietary canola or soybean oil with two levels of conjugated linoleic acids (CLA) alter profile of 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat from dairy cows. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 103: 63-83.

21. Odens, L.J., R. Burgos, M. Innocenti, M.J. VanBaale and L.H. Baumgard. 2007. Effects of varying doses of supplemental conjugated linoleic acid on production and energetic variables during the transition period. *Journal of Dairy Science*, 90: 293-305.
22. Park, Y., J.M. Storkson, K.J. Albright, W. Liu and M.W. Pariza. 1999. Evidence that the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids*, 34(3): 235-41.
23. Pashaei, S., T. Ghoorchi and A. Yamchi. 2015. Effect of unsaturated fatty acid sources in diets containing different energy and protein levels on growth performance and blood metabolites in fattening lambs. *Journal of Ruminant Research*, 2(4): 103-121 (In Persian).
24. Quinn, M.J., E.S. Moore, D.U. Thomson, B.E. Depenbusch, M.L. May, J.J. Higgins, J.F. Carter and J.S. Drouillard. 2008. The effects of feeding flaxseed during the receiving period on morbidity, mortality, performance and carcass characteristics of heifers. *Journal of Animal Science*, 86: 3054-306.
25. Ramezani, M., J. Seifdavati, S. Seifzadeh, H. Abdi-benemar and V. Razmazar. 2018. The effects of conjugated linoleic acid and vitamin C on growth performance, some blood metabolites and blood cell counts of Holstein suckling calves. *Journal of Ruminant Research*, 6(2): 101-116 (In Persian).
26. SAS. 2009. Version 9.2 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
27. Schlegel, G., R. Ringseis, M. Shibani, E. Most, M. Schuster, F.J. Schwarz and K. Eder. 2011. Influence of a rumen-protected conjugated linoleic acid mixture on carcass traits and meat quality in young simmental heifers. *Journal of Animal Science*, 90: 1532-1540.
28. Soberon, F., E. Raffrenato, R.W. Everett and M.E. Van Amburgh. 2012. Prewaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 95: 783-793.
29. Sugano, M., A. Akahoshi, K. Koba, K. Tanaka, T. Okumura, H. Matsuyama, Y. Goto, T. Miyazaki, K. Murao, M. Yamasaki, M. Nonaka and K. Yamada. 2001. Dietary manipulations of body fat-reducing potential of conjugated linoleic acid in rats. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 65: 2535-2541.
30. Suksombat, W., T. Boonmee and P. Lounglawan. 2007. Effects of various levels of conjugated linoleic acid supplementation on fatty acid content and carcass composition of broilers. *Poultry science*, 86: 318-324.
31. Watkins, B., H. Lippman, L. Le Bouteiller, Y. Li and M. Seifert. 2001. Bioactive fatty acids: role in bone biology and bone cell function. *Progress in Lipid Research*, 40: 125-148.
32. William, W., W.W. Thatcher and C.R. Staples. 2000. Effects of dietary fat supplementation on reproduction in lactating dairy cows. *Advance Dairy Technology*, 12: 213.
33. Ye, J., C. Wang, H. Wang, H. Ye, B. Wang, H. Liu, Y. Wang, Z. Yang and J. Liu. 2009. Milk production and Fatty acid profile of dairy cows supplemented with flaxseed oil, soybean oil, or extruded soybeans. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A- Animal Science*, 59: 121-129.
34. Yoshikawa, T., H. Shimano, N. Yahagi, T. Ide, T. Matsuzaka and M. Nakakuki. 2002. Polyunsaturated fatty acids suppress sterol regulatory element-binding protein 1c promoter activity by inhibition of liver X receptor (LXR) binding to LXR response elements. *Journal of Biological Chemistry*, 277: 1705-1711.
35. Zhang, X.D., W.J. Chen, C.Y. Li and J.X. Liu. 2009. Effects of protein-free energy supplementation on blood metabolites, insulin and hepatic PEPCCK gene expression in growing lambs offered rice straw based diet. *Czech Journal of Animal Science*, 54: 481-489

Effects of Extruded Flaxseed and Conjugated Linoleic Acid on Growth Performance in Holstein Milk-Fed Calves

Mohsen Ramezani¹, Farzad Mirzaei Aghjehgheshlagh² and Bahman Navidshad²

1- M.Sc. Graduated of Animal Nutrition, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili
(Corresponding author: ramezanimohsen57@gmail.com)

2- Associate Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili

Received: 17 December, 2018

Accepted: 12 July, 2020

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of extruded flaxseed and conjugated linoleic acid on growth performance, blood parameters in Holstein suckling calves. This experiment was carried out with 30 newborn Holstein calves with an average age of 1-8 days, and about 36±2 kg body weight, with 6 treatments and 5 replications in a completely randomized factorial design (3×2). The treatments included: 1) Basal diet (control), (2) Basal diet with 3% flaxseed extruded and without conjugated linoleic acid, (3) Basal diet with 3% extruded flaxseed, and 10 g of conjugated linoleic acid, (4) Basal diet with 6% flaxseed extruded and without conjugated linoleic acid, (5) Basal diet with 6% flaxseed extruded and 10 g without conjugated linoleic acid, and (6) Basal diet with 10 g conjugated linoleic acid without extruded flaxseed. The calves were housed in individual pens and fed with whole milk approximately at 10% of birth weight and they had free access to the feed starter and water. Blood samples were collected from the jugular vein on the 30 and 75 day of the trial. Also, growth performance and feed conversion ratio were calculated. The results showed that final weight was affected by extruded flaxseed ($P = 0.0514$). While conjugated linoleic acid and their interacting was not affected on final weight. The results showed that adding conjugated linoleic acid and extruded flax in starter calves had not significant effect on daily gain in the first and second months and whole period. Daily feed intake was not affected by experimental treatments in the first and second months and whole periods. Blood parameters (glucose, cholesterol, total protein, albumin and triglyceride), and skeletal growth parameters were not affected by adding conjugated linoleic acid and extruded flaxseed. Based on the results of this study, supplementation of extruded flaxseed could not improve growth performance, skeletal growth and blood parameters.

Keywords: Extruded flaxseed, Conjugated linoleic acid, Holstein calves, Performance



"مقاله پژوهشی"

اثر دانه کلزا (خام و برشته) و سطوح کنسانتره جیره بر عملکرد و صفات کمی و کیفی لاشه بره‌های نر لری

بهروز یاراحمدی^۱، محسن محمدی ساعی^۲، علیرضا چگنی^۳، نادر پاپی^۴ و علیرضا آقاشاهی^۵

۱- استادیار، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی لرستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (نویسنده مسوول: Behrouzy@gmail.com)

۲- دانش‌آموخته دکتری، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی لرستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

۳- استادیار، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی لرستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

۴- استادیار، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

۵- دانشیار، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۸/۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۱۰

صفحه: ۳۹ تا ۴۸

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثر دانه کلزا (خام و برشته) و سطح کنسانتره جیره بر عملکرد رشد و صفات کمی و کیفی لاشه بره‌های نر نژاد لری انجام شد. برای انجام آزمایش، تعداد ۵۴ رأس بره‌ی نر ۸۶±۳۰ کیلوگرمی انتخاب شد. تیمارها شامل دو سطح دانه کلزا (خام و برشته) و سه سطح کنسانتره (۶۰، ۷۰ و ۸۰ درصد) بوده که بر اساس آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی (۲×۳) با سه تکرار (هر تکرار شامل ۳ رأس بره) انجام شد. اثر دانه کلزا (خام و برشته) و سطح کنسانتره جیره بر افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار شد ($p < 0.05$). بیشترین افزایش وزن و بهترین ضریب تبدیل غذایی به ترتیب با میزان ۲۳۰ گرم و ۵/۵۲ در بره‌های تغذیه‌شده با دانه کلزا برشته و ۷۰ درصد کنسانتره بود. دانه کلزا (خام و برشته) و سطح کنسانتره جیره اثر معنی‌داری روی درصد گوشت لخم، درصد کل چربی لاشه و درصد لاشه سرد و گرم داشت ($p < 0.05$). بالاترین راندمان لاشه، وزن لاشه سرد بدون دنبه و درصد گوشت لخم مربوط به بره‌های تغذیه‌شده با دانه کلزا برشته و ۷۰ درصد کنسانتره بود ($p < 0.05$). نتایج نشان داد خصوصیات کیفی از جمله pH، ترکیب شیمیایی و رنگ گوشت تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت اما درصد گوشت لخم در تیمار ۷۰ درصد کنسانتره و دانه کلزا برشته بیشتر از سایر تیمارها بود. نتایج این تحقیق نشان داد تیمار دانه کلزا برشته و ۷۰ درصد کنسانتره به دلیل خصوصیات عملکردی بالاتر و صفات لاشه بهتر نسبت به تیمارهای دیگر برتر بود.

واژه‌های کلیدی: بره لری، دانه کلزا، صفات کمی و کیفی لاشه، عملکرد، کنسانتره

مقدمه

شد که وزن و درصد لاشه گرم و سرد بزغاله‌های تغذیه شده با جیره‌ی حاوی ۸۵ درصد کنسانتره بالاتر از سایر گروه‌ها بود (۱۴).

در جیره‌های حاوی علوفه‌های با کیفیت پایین افزودن مکمل‌های پروتئینی سبب افزایش مصرف ماده خشک، قابلیت هضم ماده خشک و افزایش وزن بره‌ها می‌شود (۳۷). کنجاله کلزا یک مکمل پروتئین به‌آسانی قابل دسترس می‌باشد که به‌میزان گسترده‌ای در جیره‌های نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳). دانه کلزا دارای حدود ۲۲ درصد پروتئین است و می‌تواند به‌عنوان مکمل پروتئین استفاده شود. دانه کلزا حاوی حدود ۴۰ تا ۴۸ درصد چربی بوده که بخش اصلی آن را اولئیک اسید (۶۰ درصد)، لینولئیک اسید (۲۰ درصد) و لینولنیک اسید (۹ درصد) تشکیل می‌دهد (۴۰). از سایر مزایای افزودن آن‌ها به جیره می‌توان به افزایش جذب مواد مغذی قابل‌حل در چربی، افزایش راندمان تولید گوشت به‌دلیل انتقال مستقیم برخی اسیدهای چرب چربی‌ها به گوشت است (۳۱).

با توجه به اینکه دانه کلزا پوسته سختی دارد که حدود ۱۳ درصد از ماده خشک دانه را شامل می‌شود که همانند سد مؤثری در برابر حمله میکروبی در شکمبه عمل می‌کند. از سویی عمل‌آوری حرارتی سبب ایجاد پل‌های عرضی در داخل و بین زنجیره‌های پپتیدی با کربوهیدرات‌ها شده و حلالیت

یکی از مسائل مهم و اساسی پرورش دام تأمین مواد خوراکی و جیره مناسب و اقتصادی است. در طی چند سال اخیر، محدودیت منابع خوراک از عمده‌ترین مشکلات صنعت پرورش دام در کشور محسوب می‌شود. استفاده از کنسانتره در جیره بره‌های پروراری در کشور امری عادی و معمول است ولی آنچه دارای اهمیت است سطح مناسب کنسانتره و یا به عبارتی نسبت مناسب علوفه به کنسانتره در جیره است. در حال حاضر به‌دلیل محدودیت ظرفیت مراتع کشور، استفاده از سیستم بسته پرورابندی با تغذیه سطوح بالای مواد کنسانتره‌ای رایج‌تر شده است (۳۲، ۳۳).

استفاده از کنسانتره در سیستم‌های پرورابندی سبب افزایش سرعت رشد شده و این سیستم‌ها معمولاً بازدهی بالاتری نیز دارند. با این حال تغذیه با کنسانتره در حد اشتها در مقایسه با تغذیه علوفه، سبب رشد بره‌هایی با چربی بالاتر می‌شود (۱۹، ۳۳). نتایج یک مطالعه نشان داد با افزایش مقادیر کنسانتره جیره، ماده خشک مصرفی افزایش یافته و موجب بیشترین افزایش وزن و بهترین ضریب تبدیل غذایی در بره پروراری شده است (۵). آلکاس و همکاران (۲) دریافتند استفاده از دو سطح کنسانتره به نسبت یک و دو درصد وزن بدن در بره‌های دو نژاد آوآسی و عربی بر درصد لاشه اثر معنی‌دار نداشته ولی بر درصد چربی لاشه معنی‌دار بود. در تحقیقی دیگر نشان داده

گوسفند نژاد لری تقریباً نیمی از گوسفندان استان را تشکیل می‌دهد. گوسفند لری یکی از نژادهای دنیهدار و سنگین کشور است. سالیانه در استان لرستان بیش از ۳۲۰ هزار رأس بره‌ی نر از نژاد لری آماده پرواربندی می‌شوند این بره‌ها به شیوه‌های سنتی و صنعتی پروار شده و روانه کشتارگاه می‌شوند (۳). هدف از این مطالعه، تعیین مناسب‌ترین سطح اقتصادی کنسانتره در جیره و بررسی اثرات استفاده از دانه کلزا خام یا برشته شده بر عملکرد رشد، مصرف و بازده خوراک، ترکیب و صفات کیفی لاشه بره‌های نر پرواری لری بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تعداد ۵۴ رأس بره نر نژاد لری از شیر گرفته شده با میانگین وزن زنده 30 ± 0.86 کیلوگرم از گله‌های تحت پوشش طرح محوری کوچ لری انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت. سطح استفاده از دانه کلزا پنج درصد ماده خشک جیره بود. فاکتورهای مورد آزمایش شامل فاکتور دانه کلزا شامل دو نوع (خام و برشته) و سه سطح کنسانتره (۶۰، ۷۰ و ۸۰ درصد) بود. برشته کردن دانه کلزا به وسیله یک کوره‌ی الکتریکی در دمای ۱۱۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۱ دقیقه انجام شد (۳۶).

جیره‌های آزمایشی شامل: (۱) ۶۰ درصد کنسانتره با دانه کلزا خام (۲) ۷۰ درصد کنسانتره با دانه کلزا خام، (۳) ۸۰ درصد کنسانتره دانه کلزا خام، (۴) ۶۰ درصد کنسانتره با دانه کلزا برشته، (۵) ۷۰ درصد کنسانتره با دانه کلزا برشته، (۶) ۸۰ درصد کنسانتره با دانه کلزا برشته بود.

تنظیم جیره‌های آزمایشی با استفاده از جداول استاندارد احتیاجات غذایی نشخوارکنندگان کوچک (۳۰) و برنامه نرم‌افزاری جیره نویسی UFFDA (۱۹۹۲) و بر اساس احتیاجات بره ۳۰ کیلوگرمی بود (جدول ۱).

پروتئین را کاهش می‌دهد که خود سبب کاهش حساسیت به تجزیه در شکمبه می‌شود. بنابراین عمل‌آوری حرارتی (برشته کردن دانه کلزا) که پوسته دانه را می‌شکند اما تجزیه‌پذیری پروتئین را در شکمبه کاهش می‌دهد سبب افزایش ارزش تغذیه‌ای آن برای نشخوارکنندگان می‌شود (۴۳).

در سال‌های اخیر ترکیب شیمیایی و رنگ گوشت توجه بسیاری از محققین را به این عرصه معطوف نموده است. رنگ گوشت ناشی از عملکرد دو عامل رنگ‌دانه‌های گوشت (عمدتاً میوگلوبین و هموگلوبین) و ویژگی پراکنندگی نور است. معمولاً رنگ غذاها در سیستم $L^*a^*b^*$ اندازه‌گیری می‌شود. L^* جز نشان‌دهنده روشنایی است و بین صفر و ۱۰۰ متغیر است و پارامترهای a^* از سبز تا قرمز و b^* از آبی تا زرد اجزای رنگی می‌باشند که بین ۱۲۰- تا ۱۲۰+ متغیر هستند. برخی گزارش‌ها نشان داد که ترجیح مصرف‌کننده برای گوشت گوسفند دارای رنگ قرمز $a^* > 9/5$ بود. وجود شاخص بالاتر در رنگ زرد می‌تواند تا حدی مرتبط با ذخیره بیشتر چربی درون ماهیچه باشد (۲۵). فاکتورهای رنگ گوشت در گوسفند معمولاً با تغییر در میزان چربی گوشت، درجه چاقی لاشه دام و pH نهایی در ارتباط می‌باشد (۱۰).

از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر تردی گوشت، حفظ آب ماهیچه‌ای و pH نهایی آن است. علاوه بر آن روند کاهش pH و میزان نهایی آن بر کیفیت گوشت تأثیرگذار است. در ساعت‌های نخست پس از کشتار، pH به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. تحقیقات نشان داد کاهش pH و میزان نهایی آن بر کیفیت گوشت تأثیرگذار است (۱۰). نشخوارکنندگان تغذیه شده با جیره‌های حاوی کنسانتره بالا می‌توانند مقدار بیشتری گلیکوکون در بافت عضلانی خود ذخیره نمایند و بنابراین انتظار می‌رود که pH گوشت در آن‌ها قدری پائین‌تر از حیوانات دیگر باشد. استان لرستان با بیش از ۶/۴ میلیون واحد دامی یکی از مراکز مهم پرورش دام در کشور است و

جدول ۱- اجزای جیره‌های آزمایشی جیره

دانه کلزا برشته			دانه کلزا خام			سطح کنسانتره (درصد)	
۸۰	۷۰	۶۰	۸۰	۷۰	۶۰		
۱۷/۳	۲۳/۱	۳۰/۳	۱۷/۶	۲۲/۶	۳۱/۶	پونجه	
۲/۷	۶/۹	۹/۷	۲/۴	۷/۴	۸/۴	کاه گندم	
۱۲/۲	۹/۷	۶/۴	۱۲/۵	۹/۹	۶/۹	سیوس گندم	
۱۳/۶	۸/۵	۶/۲	۱۳/۹	۸/۲	۵/۳	تقاله چخندر	
۴۴/۷	۴۲/۴	۳۹/۲	۴۴/۲	۴۳/۶	۳۹/۵	جو	
۵	۵	۵	۵	۵	۵	دانه کلزا	
۲/۵	۱/۴	۱/۲	۲/۴	۱/۳	۱/۳	کنجاله سویا	
۱/۲	۱/۲	۱/۲	۱/۲	۱/۲	۱/۲	دی‌کلسیم فسفات	
۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۶	مکمل ویتامینی و معدنی ^۱	
۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	نمک	
ترکیب شیمیایی جیره							
۹۵/۳۸	۹۴/۵۸	۹۵/۷۹	۹۵/۸۴	۹۵/۲۷	۹۶/۵۱	ماده خشک (درصد)	
۲/۴۶	۲/۴۱	۲/۴۰	۲/۴۷	۲/۴۰	۲/۳۹	انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک)	
۱۳/۸۲	۱۳/۷۱	۱۳/۳۹	۱۳/۸۸	۱۳/۸۲	۱۳/۴۷	پروتئین خام (درصد)	
۰/۷۴	۰/۷۵	۰/۷۳	۰/۷۴	۰/۷۴	۰/۷۳	کلسیم (درصد)	
۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۴۳	۰/۴۱	فسفر (درصد)	
۴۱/۵۴	۴۲/۶۲	۴۴/۹۸	۴۱/۷۴	۴۳/۱۶	۴۵/۳۳	NDF (درصد)	
۳۰/۱۱	۳۲/۹۱	۳۵/۰۲	۳۰/۲۸	۳۳/۲۱	۳۵/۳۵	NFC (درصد)	

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

*: مکمل معدنی و ویتامین به نسبت مساوی به جیره‌ها اضافه گردید. هر کیلوگرم مکمل ویتامینی دارای ۶۰۰ هزار واحد بین‌المللی بتاکاروتن، ۲۰۰ هزار واحد بین‌المللی کوله کلسیفرول، ۲۰۰ میلی‌گرم توکوفرول، ۲۵۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان، ۱۹۵ گرم کلسیم، ۸۰ گرم فسفر، ۲۱۰۰۰۰ میلی‌گرم منیزیم، ۲۲۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۳۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۲۰ میلی‌گرم ید و ۱/۱ میلی‌گرم سلنیوم بود.

α_i = اثر دانه کلزا (خام و برشته)
 β_j = اثر سطح کنسانتره
 ε_{ijk} = اثر اشتباه آزمایشی
 $(\alpha\beta)_{ij}$ = اثر متقابل دانه کلزا \times سطح کنسانتره

نتایج و بحث

افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی

اثر دانه کلزا (خام یا برشته) و سطح کنسانتره جیره بر افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار شد ($P < 0.05$)، (جدول ۲). بیشترین افزایش وزن روزانه مربوط به بره‌های تغذیه شده با دانه کلزای برشته و ۷۰ درصد کنسانتره (۲۳۰ گرم) و کمترین اضافه‌وزن روزانه در بره‌های تغذیه شده با یونجه و ۶۰ درصد کنسانتره (۱۸۹ گرم) بود. بهبود افزایش وزن روزانه را می‌توان با افزایش غلظت میزان انرژی و پروتئین جیره‌های آزمایشی با ۷۰ درصد کنسانتره مرتبط دانست. نتایج به‌دست آمده با یافته‌های منتشر شده از مطالعات دیگر محققین که گزارش کردند جیره‌هایی با نزدیک به ۷۰۰ گرم در کیلوگرم کنسانتره سبب پاسخ مناسب بره‌ها و گوساله‌های پرواری به عملکرد رشد شد مطابقت داشت (۲۵،۷).

استفاده از دانه کلزا برشته در جیره موجب افزایش وزن شد که میزان این افزایش در تیمارهای با دانه کلزا برشته بیش از تیمارهای با دانه کلزا خام بود. بر این اساس روند مشابهی در وزن نهایی مشاهده شد و روند تفاوت در پاسخ به استفاده از دانه کلزا در جیره‌های با سطوح مختلف کنسانتره، موجب معنی‌دار شدن اثر متقابل این دو عامل شد.

اسداللهی و همکاران (۶) دریافتند افزودن دانه کلزا برشته شده به میزان هفت درصد جیره با نشاسته بالا موجب بهبود افزایش وزن روزانه بره‌های عربی شد. بیشترین وزن نهایی نیز مربوط به تیمار تغذیه با دانه کلزای برشته و ۷۰ درصد کنسانتره و کمترین وزن نهایی مربوط به بره‌های تغذیه‌شده با علوفه یونجه و ۶۰ درصد کنسانتره بود. در تضاد با نتایج بالا، لوف و همکاران (۲۴) نتیجه گرفتند که استفاده از ۶ درصد دانه کلزا در جیره تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه بره‌های پرواری نداشت.

در آزمایشی برای تأثیر سطوح ۱۵۰، ۲۵۰، ۳۵۰ و ۴۵۰ گرم کنسانتره بر افزایش وزن روزانه گوسفند، نشان داده شد که مصرف ۴۵۰ گرم کنسانتره در روز سبب افزایش وزن روزانه بیشتری نسبت به سایر سطوح شد (۲۳). پاپی و مصطفی‌تهرانی (۳۲) نشان دادند با افزایش سطوح کنسانتره تا ۷۰ درصد، افزایش وزن روزانه بره‌های نر پرواری شال روند صعودی داشت. اورج و همکاران (۴۲) در تحقیقی بر عملکرد رشد بزهای نر آلباین، آنقوره، بوئر و اسپانیایی، گزارش نمودند عملکرد رشد بزهای مذکور در سطح ۵۰ و ۷۵ درصد کنسانتره جیره تفاوتی باهم نداشتند که در تضاد با نتایج پژوهش حاضر بود. با این حال تغذیه با کنسانتره بالا در مقایسه با کنسانتره پایین، سبب رشد بره‌هایی با چربی بالاتر شد (۲۹).

از نظر مقدار ماده خشک مصرفی روزانه بره‌ها بین گروه‌های فوق تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۲). سطح کنسانتره و دانه کلزا (خام یا برشته) تأثیر معنی‌داری بر ضریب

بره‌های مورد آزمایش هر دو هفته یکبار و قبل از تغذیه صبح وزن کنشی شدند. میزان خوراک داده شده و باقیمانده به‌طور روزانه توزین شد، تا مقدار خوراک مصرفی روزانه تعیین گردد. بره‌ها در روز ۹۰ پروار کشتار شدند. افزایش وزن بره‌ها، ضریب تبدیل غذایی، وزن کشتار، راندمان لاشه، وزن دنبه، وزن لاشه گرم، وزن لاشه سرد، وزن گوشت لخم، وزن چربی کل لاشه، درصد گوشت لاشه، درصد چربی داخلی و درصد استخوان، هزینه تولید هر کیلوگرم لاشه و هزینه تولید هر کیلوگرم گوشت لخم اندازه‌گیری شد.

دام‌ها در انتهای مرحله پروار طبق نیم لاشه چپ به قسمت‌های مختلف گردن، سردست، راسته، سینه و قلوه‌گاه، ران و دنبه برش داده شد. پس از تقسیم نیمه لاشه چپ به شش قسمت مذکور، بافت گوشت، چربی زیر جلدی و استخوان آن‌ها جدا و پس از وزن کنشی با ترازوی دیجیتال ثبت گردید. سطح مقطع عضله راسته بین دنده ۱۲ و ۱۳ با استفاده از کاغذ شفاف رسم و سپس به‌وسیله دستگاه پلانی‌متر (مدل KP-92N ساخت KOIZUMI ژاپن) اندازه‌گیری شد، طول لاشه به‌وسیله متر پارچه‌ای و از قسمت لبه داخلی استخوان لگن تا قسمت جلوی استخوان سینه اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری رنگ نمونه‌های گوشت پس از کشتار بره‌ها به‌وسیله سیستم هاتر بر اساس سامانه L (روشنایی)، a (قرمزی) و b (زردی) عضله راسته بین دنده‌های ۶ و ۱۹ تشریح شد. برای بررسی کیفیت رنگ از دستگاه طیف (CR400, Minolta Konica) ساخت ژاپن) با سه بار اندازه‌گیری برای هر نمونه استفاده و متوسط این مقادیر جهت آنالیز مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری اشباع شدگی رنگ a کروما و زاویه هیو به‌ترتیب از طریق فرمول‌های $(a^2+b^2)^{1/2}$ و $\text{Arctag}(b/a)$ محاسبه شد (۲۰).

برای اندازه‌گیری pH، مطابق روش فیشر و همکاران (۱۲) پس از کشتار دام‌ها حدود ۲۰ گرم از نمونه گوشت عضله بین دنده‌های ۱۲ و ۱۳ هر بره، به‌خوبی کوبیده و در ۹۰ گرم آب دی‌یونیزه قرار داده شد. پس از ۴۲ ساعت مخلوط مذکور از کاغذ صافی مخصوص زبر واتمن عبور داده شده، سپس با استفاده از pH متر دیجیتال برای هر نمونه با شش تکرار اندازه‌گیری شد و متوسط تکرارها جهت آنالیز استفاده شد. جهت تعیین فراسنجه‌های کیفی گوشت، نمونه‌هایی معادل ۱۰۰ گرم از عضله بین دنده‌های پنج و شش برای تجزیه تقریبی گوشت تهیه و اندازه‌گیری (رطوبت، خاکستر، چربی خام و پروتئین خام) بر اساس روش AOAC (۴) انجام شد.

مدل اجرای آزمایش

آزمایش به‌صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی (۲ \times ۳) با سه تکرار (هر تکرار شامل ۳ رأس بره) آنالیز واریانس شد. در پایان داده‌ها توسط روش GLM برنامه آماری SAS (۳۸) آنالیز و میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفت. مدل آماری طرح به‌صورت زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = اثر دانه کلزا (خام و برشته)
 μ = میانگین صفت مورد آزمایش

محدودکننده خوراک مصرفی باشد. نتایج نشان داد درصد ماده خشک جیره تأثیری بر میزان مصرف استفاده از دانه روغنی (شبیبه دانه کلزا) در جیره‌های پرکنسانتره تا میزان ۹/۴ درصد خوراک بره‌ها نداشت که تأییدکننده نتایج تحقیق حاضر است (۱۷). در آزمایش حاضر به دلیل استفاده از دانه کلزا برشته که چربی را در بافت خود محافظت نموده و با سرعتی نسبتاً آهسته آن را آزاد می‌نماید اختلال در ماده خشک مصرفی رخ نداده است. ضریب تبدیل خوراک با افزایش سطوح کنسانتره جیره، به صورت خطی بهبود داشت، به نحوی که بهترین پاسخ در بره‌های تغذیه‌شده با دانه کلزا (خام یا برشته) و ۷۰ درصد کنسانتره بود. بهبود ضریب تبدیل جیره‌ها با زیاد شدن نسبت کنسانتره می‌تواند به دلیل افزایش انرژی و پروتئین جیره باشد که سبب پاسخ مناسب‌تر دام‌ها گردید. نتایج آزمایش حاضر با گزارش‌های هاتفیلد و همکاران (۱۶) و پایی و مصطفی تهرانی (۳۲) هم‌خوانی داشت.

تبدیل غذایی بره‌ها داشت ($p < 0.05$). به طوری که بیشترین ضریب تبدیل در بره‌های تغذیه‌شده با دانه کلزا خام ۶۰ درصد کنسانتره (۶/۸۲) مشاهده شد (جدول ۲).

اسداللهی و همکاران (۶) دریافتند تغذیه جیره‌های حاوی دانه کلزا برشته با کنسانتره بالا در کل دوره پروار بره‌های عربی، اثر معنی‌داری بر ماده خشک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی نداشت. همچنین لوف و همکاران (۲۴) نتیجه گرفتند که استفاده از ۶ درصد دانه کلزا در جیره بره‌های پروار تأثیر معنی‌داری بر ماده خشک مصرفی نداشت. عوامل متعددی می‌توانند مصرف روزانه خوراک را تحت تأثیر قرار دهند که از جمله آن‌ها می‌توان به انبساط یا کشیدگی دستگاه گوارش اشاره نمود. میزان تأثیر انبساط شکمبه در سیری به طور عمده به وزن و حجم خوراک مصرفی وابسته است. به نظر می‌رسد که سطح کنسانتره مورد استفاده در آزمایش حاضر به اندازه‌ای نبوده است که بتواند از طریق سازوکارهای مورد اشاره،

جدول ۲- اثر دانه کلزا (خام یا برشته) و سطح کنسانتره جیره بر عملکرد پروار در بره‌های لری

Table 2. The effect of canola seed (raw and roasted) and dietary concentrate level on fattening performance of Lori male lambs

اثر سطح کنسانتره P-Value	اثر دانه کلزا P-Value	P-Value	SEM	دانه کلزا برشته			دانه کلزا خام			سطح کنسانتره
				۸۰ درصد	۷۰ درصد	۶۰ درصد	۸۰ درصد	۷۰ درصد	۶۰ درصد	
۰/۱۵۲	۰/۱۷۳	۰/۱۵۴	۱/۷۱	۳۰/۲۷	۳۰/۵۱	۳۰/۷۳	۳۰/۳۲	۲۹/۸۷	۳۰/۱۱	وزن اولیه (کیلوگرم)
۰/۰۴۲	۰/۰۳۱	۰/۰۱۴	۰/۸۵	۵۰/۲۷ ^a	۵۱/۲۳ ^a	۴۸/۷۵ ^b	۴۸/۲۴ ^{ab}	۴۹/۲۱ ^{ab}	۴۷/۱۴ ^b	وزن نهایی (کیلوگرم)
۰/۱۴۱	۰/۱۵۹	۰/۲۸۷	۰/۶۹	۱/۲۷	۱/۲۷	۱/۲۸	۱/۲۸	۱/۲۷	۱/۲۹	ماده خشک
۰/۰۲۱	۰/۰۱۱	۰/۰۲۱	۶/۸۵	۲۲۲ ^{ab}	۲۳۰ ^a	۱۹۹ ^{bc}	۱۹۸ ^{bc}	۲۱۴ ^{ab}	۱۹۹ ^c	مصرفی (کیلوگرم)
۰/۰۳۷	۰/۰۳۹	۰/۰۱۹	۰/۲۱	۵/۷۱ ^b	۵/۵۲ ^b	۶/۴۶ ^{ab}	۶/۴۷ ^{ab}	۵/۹۳ ^b	۶/۸۲ ^a	افزایش وزن روزانه (گرم)
۰/۰۳۸	۰/۰۱۷	۰/۰۴۷	۳۸۷۰	۷۴۲۳ ^b	۷۱۷۶ ^b	۸۳۹۸ ^{ab}	۸۴۱۰ ^{ab}	۷۷۰۹ ^b	۸۸۷۳ ^a	ضریب تبدیل خوراک
										قیمت تمام‌شده هر کیلوگرم وزن زنده (ریال)

میانگین‌های داخل ردیف هر فاکتور که دارای حروف غیرمشابه هستند از لحاظ آماری با هم اختلاف معنی‌دار دارند ($p < 0.05$).

راندمان لاشه از معیارهایی است که بین نژادها دارای تغییرات زیاد بوده و بهبود این نسبت به عنوان یک هدف مطلوب به‌شمار می‌رود. اثر سطوح مختلف کنسانتره و دانه کلزا (خام یا برشته) بر راندمان لاشه بره‌های نر لری معنی‌دار شد ($p < 0.05$). نتایج نشان داد بره‌های تغذیه‌شده با دانه کلزا برشته ۷۰ و ۸۰ درصد کنسانتره، بالاترین راندمان لاشه را داشتند (جدول ۳). اسداللهی و همکاران (۶) دریافتند افزودن دانه کلزا برشته شده به میزان هفت درصد جیره با نشاسته بالا در جیره‌ها موجب افزایش معنی‌دار وزن لاشه گرم و درصد راندمان لاشه شد. در یک مطالعه، بازده لاشه بره‌های نر نژاد لری بختیاری و آمیخته (سنجابی × لری بختیاری) به ترتیب ۴۷/۵ و ۴۸ درصد گزارش شد (۴۱). در مطالعه دیگری چگنی و همکاران (۸) راندمان لاشه گوسفند لری را ۴۷/۱۹ درصد گزارش کردند. نتایج مطالعه حاضر با نتایج گزارش شده چگنی و همکاران (۸) برای گوسفند لری و طالبی و ادیس (۴۱) در گوسفند لری بختیاری مطابقت داشت و اختلاف جزئی در خصوص راندمان لاشه در مطالعه حاضر و مقادیر گزارش شده برای نژاد لری را می‌توان به اختلاف در سطوح مختلف کنسانتره و تأثیر دانه‌ی کلزا دانست.

صفات لاشه

جدول شماره ۳ میانگین صفات لاشه در بره‌های لری با سطوح مختلف کنسانتره و دانه کلزا (خام یا برشته) را نشان می‌دهد. اثر سطوح مختلف کنسانتره و دانه کلزا (خام یا برشته) روی وزن لاشه گرم و سرد معنی‌دار بود ($p < 0.05$). اثر متقابل سطوح مختلف کنسانتره در دانه کلزا (خام یا برشته) نشان داد بیشترین وزن لاشه گرم و سرد در بره‌های تغذیه شده با دانه کلزا برشته ۷۰ و ۸۰ درصد کنسانتره بود (جدول ۳). همچنین در این آزمایش وزن لاشه گرم و سرد در جیره‌ی حاوی دانه کلزا خام ۶۰ و ۸۰ درصد کنسانتره از بقیه جیره‌ها کمتر بود. یعنی با افزایش سطح کنسانتره و کاهش بخش علفه‌ی جیره، وزن و درصد لاشه افزایش یافت. در پژوهشی هانگو و همکاران (۱۵) دریافتند با افزایش مقدار مصرف کنسانتره، درصد لاشه افزایش یافت که محققین فوق علت آن را افزایش انرژی و پروتئین مصرفی دانستند. همچنین در گزارشی درصد لاشه گرم و سرد بزغاله‌های تغذیه شده با جیره‌ی حاوی ۸۵ درصد کنسانتره بالاتر از سایر گروه‌ها بود (۱۴). این در حالی بود که جیره‌های حاوی دانه کلزا خام ۸۰ درصد کنسانتره در این پژوهش اثر افزایشی روی بازده لاشه نداشتند و با جیره‌های حاوی دانه کلزا برشته با تیمار ۷۰ درصد کنسانتره در اکثر موارد اختلاف معنی‌دار نداشت.

جدول ۳- اثر دانه کلزا (خام یا برشته) و سطح کنسانتره جیره بر صفات کمی لاشه در بره‌های لری
Table 3. The effect of canola seed (raw and roasted) and dietary concentrate level on quantitative carcass traits of Lori male lambs

اثر سطح کنسانتره P-Value	اثر دانه کلزا P-Value	P-Value	SEM	دانه کلزا برشته			دانه کلزا خام			سطح کنسانتره
				۸۰ درصد	۷۰ درصد	۶۰ درصد	۸۰ درصد	۷۰ درصد	۶۰ درصد	
۰/۰۳۹	۰/۰۱۲	۰/۰۱۲	۰/۸۳	۲۴/۴۳ ^{ab}	۲۵/۳۱ ^a	۲۳/۴۷ ^{ab}	۲۲/۲۹ ^d	۲۳/۳۳ ^{ab}	۲۱/۵۲ ^d	وزن لاشه گرم (کیلوگرم)
۰/۰۳۷	۰/۰۱۵	۰/۰۳۴	۰/۸۵	۲۳/۱۸ ^a	۲۴/۲۵ ^a	۲۲/۵۱ ^{ab}	۲۱/۱۷ ^d	۲۲/۳۴ ^{ab}	۲۰/۴۵ ^d	وزن لاشه سرد (کیلوگرم)
۰/۰۴۱	۰/۰۲۱	۰/۰۱۱	۰/۶۵	۴۸/۵۸ ^a	۴۹/۴۳ ^a	۴۸/۱۴ ^{ab}	۴۶/۲۱ ^d	۴۷/۳۹ ^{ab}	۴۵/۶۵ ^d	راندمان لاشه (درصد)
۰/۰۴۲	۰/۰۴۱	۰/۰۱۸	۰/۰۹	۴/۰۵ ^{bc}	۳/۸۳ ^c	۴/۱۴ ^d	۴/۴۱ ^a	۴/۱۹ ^{ab}	۴/۵۵ ^a	وزن دنبه (کیلوگرم)
۰/۰۳۱	۰/۰۱۹	۰/۰۱۱	۰/۷۲	۱۷/۴۷ ^{bc}	۱۶/۲۱ ^c	۱۸/۱۹ ^a	۲۰/۸۳ ^a	۱۸/۷۶ ^d	۲۲/۲۴ ^a	درصد دنبه به لاشه سرد
۰/۰۳۹	۰/۰۲۲	۰/۰۳۹	۰/۵۹	۲۰/۱۷ ^b	۱۹/۷۵ ^b	۲۲/۱۱ ^a	۲۱/۹۱ ^a	۲۰/۷۳ ^{ab}	۲۳/۱۵ ^a	درصد چربی داخلی لاشه سرد ^۱
۰/۰۴۳	۰/۰۳۴	۰/۰۳۸	۰/۶۵	۵۷/۷۵ ^a	۵۸/۱۴ ^a	۵۶/۲۵ ^{ab}	۵۵/۷۴ ^d	۵۶/۷۳ ^{ab}	۵۵/۲۷ ^d	درصد گوشت لخم لاشه سرد
۰/۰۸۵	۰/۰۶۷	۰/۱۳	۰/۹۳	۲۲/۰۸	۲۲/۱۱	۲۱/۶۴	۲۲/۳۵	۲۲/۵۶	۲۲/۵۸	درصد استخوان لاشه سرد
۰/۲۵	۰/۱۲۷	۰/۱۹۲	۰/۸۴	۶۵/۲۱	۶۵/۳۷	۶۵/۰۹	۶۵/۰۳	۶۵/۰۷	۶۴/۹۱	طول لاشه (سانتی‌متر)
۰/۳۴	۰/۳۷	۰/۳۸	۰/۷۹	۱۴/۲۳	۱۴/۵۱	۱۴/۱۲	۱۴/۰۸	۱۴/۳۷	۱۳/۸۹	سطح مقطع عضله راسته (سانتی‌متر مربع)
۰/۰۱۱	۰/۰۱۲	۰/۰۲	۵۲۱۰	۱۵۲۷۹ ^{bc}	۱۴۵۲۰ ^c	۱۷۴۴۴ ^{ab}	۱۸۲۰۱۷ ^a	۱۶۲۶۷۱ ^b	۱۹۴۳۷۰ ^a	هزینه تولید هر کیلوگرم لاشه (ریال)
۰/۰۱۲	۰/۰۱۵	۰/۰۱	۶۵۱۳	۲۶۴۵۸۸ ^e	۲۴۹۷۴۹ ^e	۳۱۰۱۳۳ ^b	۳۲۶۵۴۶ ^b	۲۸۶۷۹۷ ^c	۳۵۱۶۳۳ ^a	هزینه تولید هر کیلوگرم گوشت لخم (ریال)

میانگین‌های داخل ردیف هر فاکتور که دارای حروف غیرمشابه هستند از لحاظ آماری باهم اختلاف معنی‌دار دارند ($p < 0.05$).
^۱ درصد چربی کل لاشه شامل درصد چربی عضلانی + درصد چربی زیر جلدی

با ۷۰ درصد کنسانتره و دانه کلزای برشته، درصد چربی لاشه و در نهایت چربی کل کمتری نسبت به سایر تیمارها داشتند.

اثر سطوح مختلف کنسانتره و دانه کلزا (خام یا برشته) روی درصد گوشت لخم معنی‌دار بود ($p < 0.05$). بره‌های تغذیه‌شده با ۷۰ درصد کنسانتره و دانه کلزای برشته با ۵۸/۱۴ درصد و بره‌های تغذیه‌شده با ۸۰ درصد کنسانتره و دانه کلزای برشته با ۵۷/۷۵ درصد بیشترین درصد گوشت لخم لاشه را داشتند. گزارش‌های نسبتاً محدودی در مورد اثرات نسبت کنسانتره جیره بر لاشه وجود دارد (۳۳، ۲۵، ۱۹، ۵، ۱۴). با این حال مورن فوین مایر و کلاورو (۲۷) وزن لاشه بره‌های پرورار شده با کنسانتره بالا را سنگین‌تر از بره‌های تغذیه‌شده با کنسانتره کم گزارش نمودند. در مقابل پرتیسو و همکاران (۳۴) وزن لاشه بره‌های پرورار شده با جیره‌ی تمام کنسانتره را سبک‌تر از بره‌های تغذیه‌شده با جیره کنسانتره به اضافه علوفه یونجه گزارش کردند. در پژوهشی با افزایش مقدار کنسانتره جیره، مقدار گوشت لاشه افزایش یافت (۱۵). دانه کلزای برشته اثر بازدارندگی بر اسیدهای چرب بلند زنجیر داشته و موجب افزایش اسیدهای چرب مفید گوشت برای سلامت انسان می‌شود (۳۱). در آزمایش حاضر افزایش سطوح کنسانتره جیره اثر معنی‌دار بر وزن لاشه داشت. با این حال وزن لاشه در بره‌های تغذیه‌شده توسط دانه کلزای خام با کنسانتره ۶۰ درصد کمتر از سایر تیمارها بود که می‌تواند به دلیل پائین بودن غلظت انرژی جیره باشد. همچنین سبک‌تر بودن وزن لاشه در تیمار فوق می‌تواند به دلیل رشد کمتر بره‌های این گروه در مقایسه با سایر گروه‌ها باشد. با توجه به میانگین وزن لاشه گرم در بره‌های تغذیه‌شده با دانه کلزای برشته و ۷۰ درصد کنسانتره که ۲۵/۳۱ کیلوگرم بود (جدول ۳)، میانگین وزن لاشه بره‌های مصرف کننده دانه کلزای برشته و ۷۰ درصد کنسانتره نسبت به بره‌های مصرف کننده دانه کلزای خام و ۶۰ درصد کنسانتره حدود ۳/۷۹ کیلوگرم بیشتر بود که

میانگین وزن دنبه و درصد دنبه نسبت به لاشه سرد با سطوح مختلف کنسانتره و دانه کلزا (خام یا برشته) معنی‌دار بود ($p < 0.05$). نتایج نشان داد کمترین وزن دنبه و درصد دنبه نسبت به لاشه سرد به ترتیب با ۳/۸۳ کیلوگرم و ۱۶/۲۱ درصد مربوط به تیمار دانه کلزای برشته و ۷۰ درصد کنسانتره بود (جدول ۳). مطالعات انجام‌شده نشان داد وزن و درصد دنبه نسب به لاشه در سایر نژادهای ایرانی مانند بره‌های بختیاری، مهربانی، قزل، معانی و ورامینی تقریباً مشابه یا کمی بیشتر از درصد دنبه نسب به لاشه گوسفند لری بود (۲۱). تنوع وزن و درصد دنبه نسبت به لاشه در نژادهای مختلف را می‌توان به تنوع بسیار بالا در دام‌های مورد آزمایش از نظر شرایط تغذیه و درجه چاقی آنها نسبت داد.

بین سطوح مختلف کنسانتره و دانه کلزا (خام یا برشته) از نظر درصد چربی داخلی لاشه اختلاف معنی‌دار بود ($p < 0.05$). بره‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی ۷۰ و ۸۰ درصد کنسانتره و دانه کلزای برشته کمترین چربی داخلی لاشه را داشتند. آلكاس و همکاران (۲) دو سطح کنسانتره به نسبت یک و دو درصد وزن بدن در بره‌های دو نژاد آوآسی و عربی را مورد مطالعه و گزارش کردند سطح کنسانتره جیره بر درصد چربی لاشه معنی‌دار بود. در تضاد با نتایج پژوهش حاضر، در پژوهشی، جیره‌های حاوی دانه برشته کلزا در مقایسه با جیره‌های بدون دانه کلزا به‌طور معنی‌داری موجب افزایش درصد چربی لاشه شد (۶). در مجموع با توجه به میانگین درصد کل چربی لاشه با ۳۵/۶ درصد در گوسفندان ایرانی دنبه‌دار که توسط خالداری (۲۱) گزارش شده، گوسفند لری دارای یکی از نژادهای با چربی کل لاشه متوسط در بین نژادهای ایرانی است. با توجه به داده‌های حاصل از وزن گوشت لخم و وزن دنبه بره‌ها، بین تیمارهای ۷۰ و ۸۰ درصد کنسانتره و دانه کلزای برشته به دلیل اندوخته چربی بیشتر در تیمار ۸۰ درصد اضافه وزن روزانه کاهش پیدا کرده است، بر این اساس چنین می‌توان نتیجه گرفت که بره‌های تغذیه‌شده

ترکیب شیمیایی و رنگ گوشت

سطوح مختلف کنسانتره و دانه کلزا (خام یا برشته) تأثیر معنی‌داری بر میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر گوشت نداشتند (جدول ۴). نتایج برخی مطالعات نشان داد، مقدار ماده خشک، پروتئین خام، خاکستر و چربی گوشت تحت تأثیر قرار نگرفت (۳۹،۲۲). در مقابل اسدالهی و همکاران (۶) دریافتند جیره‌های حاوی دانه برشته کانولا در مقایسه با جیره‌های بدون دانه کانولا به‌طور معنی‌داری موجب افزایش درصد چربی گوشت شد.

سبب کاهش ذخیره چربی، افزایش وزن لاشه، درصد گوشت لخم، بهبود ضریب تبدیل غذایی و درنهایت افزایش کیفیت لاشه شد. با توجه به مطالب بالا، این موضوع موجب شده در تیمار دانه کلزای برشته و ۷۰ درصد کنسانتره، هزینه تولید یک کیلوگرم افزایش وزن زنده به ازای هزینه تولید هر کیلوگرم لاشه و گوشت لخم، نسبت به سایر تیمارها کاهش قیمتی مناسبی داشته و با توجه به اینکه حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد هزینه‌های تولید در پروار بندی بستگی به تغذیه دارد، این امر می‌تواند از نظر توجیه اقتصادی برای تولیدکننده دارای اهمیت باشد.

جدول ۴- اثرات دانه کلزا (خام یا برشته) و سطح کنسانتره جیره بر صفات کیفی و رنگ سنجی گوشت بره‌های لری

Table 4. The effect of canola seed (raw and roasted) and dietary concentrate level on carcass qualitative traits and meat colorimetric of Lori male lambs

اثر سطح کنسانتره P-Value	اثر دانه کلزا P-Value	P-Value	SEM	دانه کلزا برشته			دانه کلزا خام			سطح کنسانتره
				۸۰ درصد	۷۰ درصد	۶۰ درصد	۸۰ درصد	۷۰ درصد	۶۰ درصد	
۰/۰۹	۰/۱۳	۰/۱۱	۲/۳۳	۷۳/۳۷	۷۳/۶۶	۷۴/۰۱	۷۳/۱۸	۷۳/۴۷	۷۳/۸۳	رطوبت (درصد)
۰/۲۱	۰/۲۹	۰/۲۶	۱/۱۳	۲۰/۷۸	۲۰/۶۸	۲۰/۵۲	۲۰/۸۲	۲۰/۷۲	۲۰/۵۷	پروتئین (درصد)
۰/۵۶	۰/۵۳	۰/۵۴	۰/۷۷	۳/۲۵	۳/۳۱	۳/۲۴	۳/۲۴	۳/۳۰	۳/۲۳	خاکستر (درصد)
۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۱۲	۰/۴۲	۲/۶۱	۲/۳۶	۲/۲۶	۲/۷۶	۲/۵۱	۲/۴۱	چربی (درصد)
۰/۶۹	۰/۶۷	۰/۶۸	۰/۵۷	۵/۳۸	۵/۵۵	۵/۶۹	۵/۴۸	۵/۶۵	۵/۷۹	pH
۰/۱۷	۰/۱۲	۰/۱۵	۱/۲۶	۱۷/۵۶	۱۷/۷۵	۱۷/۲۰	۱۷/۷۶	۱۷/۹۰	۱۷/۳۱	a*
۰/۰۹	۰/۱۵	۰/۰۷	۰/۶۸	۳/۶۲	۳/۲۵	۳/۱۸	۳/۴۸	۳/۱۲	۳/۰۴	b*
۰/۲۱	۰/۲۹	۰/۲۵	۱/۱۶	۱۸/۰۱	۱۸/۰۹	۱۷/۴۸	۱۸/۰۶	۱۸/۱۷	۱۷/۵۷	c*
۰/۲۷	۰/۲۴	۰/۲۶	۲/۵۷	۴۴/۴۷	۴۳/۵۴	۴۳/۴۱	۴۲/۷۱	۴۲/۱۷	۴۱/۶۴	L*
۰/۰۷	۰/۰۸	۰/۰۸	۱/۱۰	۱۱/۵۷	۱۰/۳۴	۱۰/۴۴	۱۱/۱۰	۹/۸۷	۹/۹۸	H*

میانگین‌های داخل ردیف هر فاکتور که دارای حروف غیرمشابه هستند از لحاظ آماری باهم اختلاف معنی‌دار دارند ($p < 0.05$)
 a* (قرمزی) و b (زردی) c (کروما)، L (روشنایی) و H (زاویه هیو)

اسیدهای چرب لاشه بوده و گوشت صورتی رنگ $L^* \geq 34$ دارد.

تیمارهای حاوی دانه کلزا برشته از لحاظ شاخص قرمزی رنگ گوشت وضعیت مطلوب‌تری نسبت به تیمارهای دانه کلزا خام داشتند. در جیره‌های حاوی دانه کلزا برشته به‌علت وجود درصد روشنایی بالاتر نسبت به تیمارهای دانه کلزا خام گوشت قرمزتر به‌نظر می‌رسد. از سوی دیگر برخی مطالعات قرمزی رنگ گوشت را وابسته به حضور یون Fe^{3+} و کنترل اکسیداسیون بیان نموده‌اند (۱). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج نیتسو و همکاران (۲۸) و اسدالهی و همکاران (۶) مطابقت داشت. از آنجایی که محصولات اکسیداسیون لیپیدها موجب افزایش اکسیداسیون اکسی‌میوگلوبین و تولید مت‌میوگلوبین می‌شوند، از بهترین عوامل مؤثر بر تردی گوشت، حفظ آب ماهیچه‌ای و pH نهایی گوشت است.

نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف از نظر pH گوشت وجود نداشت (جدول ۴). بعد از کشتار، pH گوشت از ۶/۲ به ۵/۲ می‌رسد. جیره‌های دانه کلزا برشته از نظر عددی نسبت به جیره‌های حاوی دانه کلزا خام درصد pH کمتری داشتند. علاوه بر آن روند کاهش pH و میزان نهایی آن بر کیفیت گوشت تأثیرگذار است. در ساعت‌های نخست پس از کشتار کاهش معنی‌داری در مقدار pH اتفاق می‌افتد. به‌دلیل کاهش محتوای گلیکوزن، سرعت کاهش pH از زمان خون‌گیری تا حصول مقدار نهایی آن کاهش می‌یابد (۱۰). در این پژوهش pH گوشت بین ۵/۷-۵/۵ بود که بیانگر سالم بودن گوشت است (۹).

اثر سطوح مختلف کنسانتره و دانه کلزا (خام یا برشته) بر روشنایی، قرمزی، زردی و همچنین فاکتورهای ته رنگ (زاویه هیو) و فام (درجه اشباع رنگی) گوشت تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۴). ته رنگ (زاویه هیو) یکی از مهم‌ترین شاخص‌های رنگ‌سنجی ثانویه وابسته به میزان قرمزی و زردی است. وجود شاخص بالاتر در رنگ زرد می‌تواند تا حدی مرتبط با ذخیره بیشتر چربی درون ماهیچه باشد تفاوت در میزان چربی می‌تواند علت بروز تفاوت در رنگ گوشت شود. بالا بودن عدد مربوط به شاخص زردی در جیره‌های حاوی دانه کلزا برشته و کنسانتره ۷۰ و ۸۰ درصد، به‌علت وجود میزان چربی بالاتر در گوشت این نوع جیره‌هاست. روشنایی شاخصی است که انعکاس نور را مشخص نموده و می‌تواند تحت تأثیر ترکیب اسیدهای چرب لاشه نیز قرار گیرد.

مطالعات نشان داد ترجیح مصرف‌کننده برای گوشت گوسفند برای رنگ روشن $L^* \geq 34$ است (۱۸). هر چند گزارش مستدلی از تمایل مردم ایران به انتخاب رنگ گوشت وجود ندارد اما اکثر مردم ایران به گوشت‌های صورتی تمایل دارند. دانه کلزا به عنوان یک دانه روغنی حاوی حدود ۴۰ تا ۴۸ درصد چربی بوده که بخش اصلی آن را اولئیک اسید (۶۰ درصد)، لینولئیک اسید (۲۰ درصد) و لینولنیک اسید (۹ درصد) تشکیل می‌دهد (۴۰). محققین نیز گزارش نموده‌اند که استفاده از دانه‌های روغنی در جیره غذایی دام‌ها موجب افزایش اسیدهای چرب بلند زنجیر با یک پیوند دوگانه در دامنه ۳۰ تا ۴۵ درصد و اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر با چند پیوند دوگانه در دامنه ۴/۶ تا ۱۶/۳ درصد کل اسیدهای چرب لاشه می‌گردد (۱۲). روشنایی گوشت تحت تأثیر ترکیب

توجه به عدد متغیر فاکتورهای مذکور در تحقیق حاضر در مورد رنگ گوشت نیز تفاوتی انتظار نمی‌رفت. نتایج این تحقیق نشان داد تیمار دانه کلزا برشته و ۷۰ درصد کنسانتره به دلیل افزایش وزن بالاتر (۲۳۰ گرم در روز)، ضریب تبدیل غذایی مناسب‌تر (۵/۵۲) کیلوگرم خوراک به ازای هر کیلوگرم افزایش وزن) از نظر وضعیت پروراری و صفات لاشه از قبیل راندمان لاشه بالا، وزن دنبه و درصد چربی کل لاشه کمتر، گوشت لخم بیشتر نسبت به سایر تیمارها ارجحیت داشت. با توجه به نتایج به دست آمده تیمار دانه کلزا برشته و ۷۰ درصد کنسانتره قابل توصیه می‌باشد.

اگرچه میانگین pH گوشت در تیمارهای دریافت‌کننده جیره‌های حاوی کنسانتره بالا در مقایسه با جیره‌های حاوی کنسانتره پایین به صورت غیر معنی‌داری پایین‌تر بود ولی عدم مشاهده اختلاف معنی‌دار این پیشنهاد را مطرح می‌سازد که به دلیل سطح بالای کنسانتره مصرفی، محدودیتی به لحاظ گلوکز مورد نیاز برای ذخیره گلیکوژن وجود نداشته و در نهایت میانگین pH مشاهده شده در تمام تیمارها برای نگهداری مطلوب گوشت، مناسب است (۱۱). از آنجایی که تغییر فاکتورهای رنگی معمولاً مرتبط با تغییر در مقدار چربی، درجه چاقی و pH می‌باشند (۳۵)، با

منابع

1. Aabdollahi Khazaghi, M., M. Rezaei and A. Jafarpour. 2015. Gel forming and physico-chemical properties of protein recovered from whole and gutted common tilapia (*Clupeonella cultriventris*). *Journal Fish Science Technology*, 4(3): 101-116.
2. Alkass, J.E., K.H. Juma and T.S. Aldoori. 1985. Studies on some economic characteristics in Awassi and Arrabbi sheep, fattening and carcass traits. *World Review Animal production*, XXI (2): 61-64.
3. Anonymous. 2018. Performance report of the Deputy of Improvement of Livestock Production in Lorestan Province in 2018. Agriculture Jihad Organization of Lorestan, (In Persian).
4. AOAC. 2006. Official Methods of Analysis, 19th ed. Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
5. Archimède, H., P. Pellonde, P. Despois, T. Etienne and G. Alexandre. 2008. Growth performances and carcass traits of Ovin Martinik lambs fed various ratios of tropical forage to concentrate under intensive conditions. *Small Ruminant Research*, 75(2-3): 162-170.
6. Asadollahi, S., M. Sari, N. Erfani Majid, M. Chaji and M. Mamui. 2018. Effect of carbohydrate source and oleic acid-rich canola seed on yield, fatty acid profile and qualitative characteristics of fattening lambs meat. *Journal of Animal Science Research*, 28(4): 1-19 (In Persian).
7. Berthiaume, R., I. Mandell, L. Faucitano and C. Lafreniere. 2006. Comparison of alternative beef production systems based on forage finishing or grain-forage diets with or without growth promotants: 1. Feedlot performance, carcass quality and production costs. *Journal of Animal Science*, 84: 2168-2177.
8. Chegeni, A.R., B. Yarahmadi and J. Mansouri. 2006. Comparison of carcass efficiency and characteristics of Lori lambs in pre-rangeland, post-rangeland and fattening condition. *Proceedings of the Second Iranian Congress of Animal Science and Fisheries*. Pp: 68-66 (In Persian).
9. Devine, C., A. Gvaafhuis, P. Muir and B. Chvystall. 1993. The effect of growth rate and ultimate pH on meat quality of lambs. *Journal of Meat Science*, 35(1): 63-77.
10. Emadzadeh, B., M.J. Varidi and M. Nassiri Mahallati. 2011. The physicochemical characteristics of sheep meat post mortem. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 7(2): 164-171.
11. Ferreira, E.M., A.V. Piresa, I. Susina. and R.S. Gentila. 2013. Growth, feed intake, carcass characteristics and meat fatty acid profile of lambs fed soybean oil partially replaced by fish oil blend. *Journal of Animal Feed Science*, 80: 285-295.
12. Fisher, A.V., M. Enser, R.I. Richardson, J.D. Wood, G.R. Nute, E. Kurt, L.A. Sinclair and R.G. Wilkinson. 2000. Fatty acid composition and eating quality of lamb types derived from four diverse breed x production systems. *Journal of Meat Science*, 55: 141-147.
13. Golchin-Gelehdooni, S., A. Teimori-Yanesari and H. Taghavi-Kargan. 2013. The effects of alfalfa particle size and processed Canola meal on physicochemical properties of ration in Zel sheep. *Research on Animal Production*, 4(7): 47-61 (In Persian).
14. Haddad, S.G. 2005. Effect of dietary forage: concentrate ratio on growth performance and carcass characteristics of growing Baladi kids. *Small Ruminant Research*, 57: 43-49.
15. Hango, A., L.A. Mtenga, G.C. Kifaro, J. Safari, D.E. Mushi and V.R.M. Muhikambe. 2007. A study on growth performance and carcass characteristics of Small East African goats under different feeding regimes. *Livestock Research for Rural Development* 19(9): 123-142.
16. Hatfield, P.G., J.A. Hopkins, G.T. Pritchard and C.W. Hunt. 1997. The effects of amounts of whole barley, barley bulk density, and form of roughage on feedlot lamb performance, carcass characteristics, and digesta kinetics. *Journal of Animal Science*, 75: 3353-3366.
17. Hess, B.W., G.E. Moss and D.C. Rule. 2008. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *Journal of Animal Science*, 86(14 Suppl.): 188-204.

18. Hopkins, D.L., T.A. Lamb, M.J. Kerr, R.J. Van de Ven and E.N. Ponnampalam. 2013. Examination of the effect of ageing and temperature at rigor on colour stability of lamb meat. *Meat science*, 95(2): 311-316.
19. Jacques, J., R. Berthiaume and D. Cinq-Mars. 2011. Growth performance and carcass characteristics of Dorset lambs fed different concentrates: Forage ratios or fresh grass. *Small Ruminant Research*, 95(2-3): 113-119.
20. Kazala, E.C., F.J. Lozeman, P.S. Mir, A. Laroche, D.R.C. Bailey and R.J. Weselake. 1999. Relationship of fatty acid composition to intramuscular fat content in beef from crossbred Wagyu cattle. *Journal of Animal Science*, 77: 1717-1725.
21. Khaldari, M. 2009. Challenges and strategies for carcass quality of sheep in Iran. Proceedings of the first seminar on quality and quantity improvement of livestock and poultry, University of Tehran, 56-87 (In Persian).
22. Khamisabadi, H., F. Kafilzadeh and B. Charaiein. 2015. Effect of addition of Peppermint (*Mentha peppirta* L) or Thymus (*Thymus vulgaris* L.) on meat quality characteristics of Sanjabi finishing lambs. *Journal of Ruminant Research*, 3(1): 103-121 (In Persian).
23. Liu, X., Z. Wang and F. Lee. 2005. Influence of Concentrate level on dry matter, N balance, nutrient digestibility, ruminal outflow rate and nutrient degradability in sheep. *Small Ruminant Research*, 58: 55-62.
24. Lough D.S., M.B. Solomon, T.S. Rumsey, T.H. Elsasser, L. Slyter and S. Kahl. 1991. Effects of dietary canola seed and soy lecithin in high -forage diets on per formance, serum lipids, and carcass characteristics of growing ram lambs. *Journal of Animal Science*, 69: 3292 -3298.
25. Mahgoub, O., C.D. Lu and R.J. Early. 2000. Effects of dietary energy density on feed intake, body weight gain and carcass chemical composition of Omani growing lambs. *Small Ruminant Research*, 37: 35-42.
26. Mendozaa, F., P. Dejmek and J. Aguileraa. 2006. Calibrated color measurements of gricultural foods using image analysis. *Journal of Post harvest and Biology and Technolgy*, 41(3): 285-295
27. Moron-Fuenmayor, O.E. and T. Clavero. 1999. The effect of feeding system on carcass characteristics, non-carcass components and retail cut percentages of lambs. *Small Ruminant Research*, 34: 57-64.
28. Nieto, G., P. Diaz, S. Banon and M.D. Garrido. 2010. Effect on lamb meat quality of including thyme (*Thymus zygisspgracilis*) leaves in ewes's diet. *Meat Science*, 85(1): 82-88.
29. Notter, D.R., R.F. Kelly and F.S. Mc Clagherty. 1991. Effects of ewe breed and management system on efficiency of lamb production. II. Lamb growth, survival and carcass characteristics. *Journal of Animal Science*, 69: 22-33.
30. NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. National Academy of Science. Washington, DC. 384 pp.
31. Palmquist, D.L., N. StPierre and K.E. McClure. 2004. Tissue fatty acid profiles can be used to quantify endogeneous rumenic acids synthesis in lambs. *Journal of Nutrition*, 134: 2407-2414.
32. Papi, N. and A. Mostafa-Tehrani. 2017. Tehrani Effects of dietary concentrate levels on growth performance, feed intake and carcass characteristics of fattening Chall male lambs. *Journal of Ruminant Research*, 5(2): 59-69 (In Persian).
33. Papi, N., A. Mostafa-Tehrani, H. Amanlou and M. Memarian. 2011. Effects of dietary forage-to-concentrate ratios on performance and carcass characteristics of growing fat-tailed lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 163(2-4): 93-98.
34. Preziuso, G., C. Russo, L. Casarosa., G. Campodoni, S. Piloni and D. Cianci. 1999. Effect of diet energy source on weight gain and carcass characteristics of lambs. *Small Ruminant Research*, 33: 9-15.
35. Priolo, A., D. Micol and J. Agabriel. 2001. Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and lavour. *A Review Journal Animal Research*, 50: 185-200.
36. Sahebi Ala, M., F. Kafilzadeh and M. Heydari. 2016. The effect of physical and chemical treatments on crude protein fractions of canola and safflower seeds using CNCPS and SDS-PAGE. *Iranian Journal of Animal Science*, 47(1): 79-87 (In Persian).
37. Samadi-Vaskasi, H, A. Teimouri-Yansari, S. Golchin-Gelehdooni and H. Taghavi-Kargan. 2014. Effect of Iranian Clover Silage Processing with Easily Degradable Carbohydrates and Enzyme on Intake, Digestibility, Chewing Behavior and Body Weight Gain in Zell Sheep. *Research on Animal Production*, 5(9): 69-82 (In Persian).
38. SAS Institute. 2003. SAS User's Guide. Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
39. Shahabi, H. and Y. Chashnidel. 2014. The effects of canola oil and oregano essential oil on performance, blood parameters and chemical carcass compositions of Dalagh fattening lambs. *Iranian Journal of Ruminant Research*, 2(1): 33-50 (In Persian).
40. Solomon M.B., G.P. Lynch, E. Paroczay and S. Norton. 1991. Influence of rapeseed meal, whole rapeseed and soybean meal on fatty acid composition and cholesterol content of muscle and adipose tissue from ram lambs. *Journal of Animal Science*, 69: 4055 -4061.

41. Talebi, M. and M.A. Idris. 2002. The Effect of fattening time on growth and carcass characteristics of Lori Bakhtiari male lambs. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 9(2): 157-167 (In Persian).
42. Urge, M., R.C. Merkel, T. Sahlu., G. Animut and A.L. Goetsch. 2004. Growth performance by Alpine, Angora, Boer and Spanish wether goats consuming 50 or 75% concentrate diets. *Small Ruminant Research*, 55: 149-158.
43. Zollitsch, W., W. Wetscherek and F. Lettner. 1993. Use of differently processed full-fat soybeans in a diet for pig fattening. *Animal Feed Science and Technology*, 41: 237-246.

The Effect of Canola Seed (Raw and Roasted) and Dietary Concentrate Level on Growth Performance and Quantitative and Qualitative Carcass Traits of Lori Male Lambs

**Behrouz Yarahmadi¹, Mohsen Mohamadi Saei², Alireza Cheqeni³, Nader Papi⁴
and Alireza Aghashahi⁵**

1- Assistant Professor, Lorestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Iran
(Corresponding author: Behrouzy@gmail.com)

2- PhD, Lorestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Iran

3- Assistant Professor, Lorestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Iran

4- Assistant Professor, Animal Science Research Institute, AREEO, Iran

5- Associate Professor, Animal Science Research Institute, AREEO, Iran

Received: 28 October, 2019

Accepted: 30 June, 2020

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of canola seed (raw and roasted) and diet concentrate levels on growth performance and quantitative and qualitative characteristics of carcass of Lori male lambs. A total of 54 male 30 ± 0.86 kg lambs were selected for the experiment. Treatments consisted of two levels of canola seed (raw and roasted) and three levels of concentrate (60, 70 and 80%). The experiment was conducted as factorial with completely randomized design (2×3) with three replicates (each replicate containing 3 lambs). The effect of canola seed (raw and roasted) and diet concentrate level on weight gain and feed conversion ratio were significant ($P < 0.05$). The most daily gain and the best feed conversion ratio were 230g and 5.52 in lambs fed with roasted canola seed and 70% concentrate, respectively. The canola seed (raw and roasted) and diet concentrate had a significant effect on lean meat percentage, total carcass fat percentage and cold and hot carcass percentage ($P < 0.05$). The highest carcass yield, cold carcass weight, carcass and meat percentage were related to lamb fed with roasted canola seed and 70% concentrate ($P < 0.05$). The production cost per kg of live weight, cost per kg of carcass and lean meat in lambs fed roasted canola seed and 70% concentrate were lower than other treatments. The results showed that the qualitative characteristics including pH, chemical composition and color of meat were not affected by diets. The results of this study showed that the treatment of roasted canola seeds and 70% concentrate was superior to other treatments due to higher performance characteristics and better carcass traits.

Keywords: Canola, Concentrate, Lori lamb, Performance, Quantitative and qualitative carcass traits



"مقاله پژوهشی"

اثر سطوح مختلف سیبزمینی بر قابلیت هضم مواد مغذی،
آنزیم‌های فیبرولیتیک و فراسنجه‌های شکمبه‌ای در میش‌های دالاق

کتایون مهرانی^۱، تقی قورچی^۲، عبدالحکیم توغدری^۳ و راحله رجبی علی‌آبادی^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (نویسنده مسؤل: ghoorchit@yahoo.com)
۳- استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۴- دانشجوی دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۱۹
صفحه: ۴۹ تا ۵۶

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی سطوح مختلف سیبزمینی در جیره بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای، قابلیت هضم مواد مغذی و آنزیم‌های سلولولیتیک مایع شکمبه شامل میکروکریستالین سلولاز و کربوکسی متیل سلولاز در بخش‌های مختلف مایع شکمبه (بخش جامد، خارج سلولی و درون سلولی) در میش‌های دالاق انجام گرفت. در این آزمایش از ۱۲ رأس میش نژاد دالاق در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و چهار تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل (۱) تیمار شاهد (بدون سیبزمینی)، (۲) تیمار حاوی ۷/۵ درصد سیبزمینی و (۳) تیمار حاوی ۱۵ درصد سیبزمینی بر اساس ماده خشک جیره بودند. جیره‌ها از نظر پروتئین و انرژی یکسان بودند. نتایج این تحقیق نشان داد که اختلاف در میزان pH مایع شکمبه در بین تیمارها با یکدیگر (۶/۴۰ تا ۶/۰۲) از نظر آماری معنی‌دار است ($p=0/0003$). در بین تیمارهای آزمایشی بیشترین میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در تیمار شاهد (۱۴/۹۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و کمترین مقدار در تیمار حاوی ۱۵ درصد سیبزمینی (۱۱/۲۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) مشاهده شد و اختلاف بین تیمارها از نظر آماری معنی‌دار است ($p=0/0001$). تعداد پروتوزوا در تیمار شاهد کمترین مقدار و در تیمار حاوی ۷/۵ درصد سیبزمینی بیشترین مقدار را نشان می‌دهد. این اختلاف بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی ۷/۵ و ۱۵ درصد سیبزمینی معنی‌دار شد ($p=0/023$). اختلاف معنی‌داری در قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، ماده‌الی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی بین تیمارها وجود داشت ($p=0/0001$). از نظر فعالیت آنزیم‌های کربوکسی‌متیل سلولاز و میکرو کریستالین سلولاز در بخش سلولی، خارج سلولی، بخش جامد و کل (مجموع هر سه بخش)، بیشترین مقدار در تیمار شاهد و کمترین مقدار در تیمار حاوی ۱۵ درصد سیبزمینی مشاهده شد و از نظر آماری این اختلاف در بین سه تیمار معنی‌دار بود ($p=0/0001$). با توجه به نتایج ذکر شده می‌توان بدون هیچ مشکلی تا سطح ۱۵ درصد سیبزمینی خام در جیره میش‌ها استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های سلولولیتیک، سیبزمینی، فراسنجه‌های شکمبه‌ای، قابلیت هضم، میش

مقدمه

کیلوگرم ماده خشک) و قابلیت هضم بیش از ۸۵ درصد این محصول خوراک با ارزشی برای دام‌ها محسوب شود. انرژی سیبزمینی با انرژی جو و سیلاژ ذرت برابری می‌کند، سطح الیاف آن کم است، همچنین سیبزمینی از نظر موادمعدنی به جز پتاسیم فقیر است. فسفر موجود در آن بیشتر به صورت فیتاتی بوده و از قابلیت هضم کمی برخوردار است و مقدار آن حدود ۰/۲۱ درصد است و دارای کلسیم ۰/۱۵ درصد می‌باشد. مقدار کربوهیدرات غیرالیافی در سیبزمینی بیشتر از دانه جو است (۳).

جو به‌عنوان یک غله بومی مهم‌ترین منبع نشاسته مورد استفاده در جیره‌ها است. بر اساس تحقیقاتی که انجام گرفته، مشخص شده است که نشاسته جو به‌سرعت در شکمبه تخمیر می‌شود (۱۲) که ممکن است منجر به افزایش مشکلات گوارشی مانند اسیدوز شکمبه‌ای شود. در چند سال گذشته مازاد تولید سیبزمینی جمع‌آوری و به‌عنوان خوراک با انرژی بالا استفاده شده است (۱۹). چاشنی‌دل و همکاران (۶) گزارش کردند که کاهش سطح دانه جو به‌عنوان منبع تأمین انرژی و افزایش سطح ضایعات پخته شده سیبزمینی تا ۱۵ درصد،

سیبزمینی (*Solanum tuberosum*) گیاه یک ساله از خانواده *Solanaceae* می‌باشد. سیبزمینی منبع خوبی از انرژی برای نشخوارکنندگان می‌باشد (۳). سیبزمینی یکی از پنج محصول مهم غذایی در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. در فصول خاصی از سال، زمانی که عرضه سیبزمینی بیش از تقاضای آن باشد، با مشکل فروش این محصول روبه‌رو هستند (۵). سالانه ۵۰۱۹۲۷۱ تن محصول سیبزمینی در کشور تولید می‌شود که بر اساس گزارشات حدود ۳۰ درصد آن به‌صورت ضایعات از مسیر خرید و فروش خارج می‌شود. بنابراین می‌توان سیبزمینی‌هایی که کیفیت مناسب برای مصرف انسانی ندارند را در صنعت خوراک دام استفاده کرد (۳۱). سیبزمینی یکی از مهم‌ترین محصولات غذای است که سالانه میلیون‌ها تن در جهان تولید می‌شود و پس از گندم، برنج و ذرت در مرتبه چهارم جهانی قرار دارد (۵). سیبزمینی یک محصول غذای سرشار از نشاسته و دارای حدود ۸۰ درصد رطوبت است، پروتئین حدود ۱۰/۵ درصد، انرژی بالا (۳/۶ مگا کالری انرژی متابولیسمی در

سه تیمار و چهار تکرار استفاده شد. میش‌ها به‌طور تصادفی در تیمارها قرار گرفتند. هر تیمار به‌مدت پنج هفته که شامل یک هفته (عادت‌پذیری) و چهار هفته (طول مدت آزمایش) مورد تغذیه قرار گرفتند، سه جیره آزمایشی که از نظر انرژی قابل متابولیسم و پروتئین مشابه بودند، شامل جیره شاهد (بدون سیب‌زمینی)، جیره حاوی ۷/۵ درصد سیب‌زمینی و جیره حاوی ۱۵ درصد سیب‌زمینی بود که بر اساس احتیاجات غذایی میش (۲۰) بررسی و توسط نرم‌افزار UFFDA تنظیم شدند. اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است. میش‌ها دو بار در روز تغذیه شده و میزان سیب‌زمینی مورد نیاز هر رأس دام در همان وعده به قطعات یکسان یک سانتی‌متر مربع خرد شده و با جیره پایه به‌صورت تازه و روزانه مخلوط می‌شد.

فراسنجه‌های خونی را تحت تاثیر قرار نداد. همچنین در تحقیقی دیگر گزارش شد که افزودن دو سطح ۷ و ۱۴ درصد سیب‌زمینی به جیره بره‌های پرواری نسبت به تیمار شاهد سبب اختلاف معنی‌دار در مقدار فراسنجه‌های خونی نشد (۲۱). تحقیقات خیلی کمی در خصوص استفاده از سیب‌زمینی در تغذیه میش‌ها انجام گرفته است، بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر سطوح مختلف سیب‌زمینی بر قابلیت هضم مواد مغذی، آنزیم‌های فیبرولیتیک و فراسنجه‌های شکمبه‌ای در میش‌های دالاق می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مزرعه آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. در این آزمایش از ۱۲ رأس میش غیرآبستن با میانگین وزن زنده $36 \pm 1/1$ در

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده (بر حسب درصد ماده خشک) در تغذیه میش‌های دالاق
Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets used for Dalagh ewes (diet dry matter (%))

شاهد	سیب‌زمینی (۷/۵٪)	سیب‌زمینی (۱۵٪)
۴۰/۰	۴۰/۰	۴۰/۰
۰	۷/۵	۱۵/۰
۳۰	۲۲/۵	۱۵/۰
۴/۶	۵/۲	۵/۷
۲۲/۵	۲۱/۹	۲۱/۴
-/۴	-/۴	-/۴
۱/۰	۱/۰	۱/۰
۱/۵	۱/۵	۱/۵
مکمل مواد معدنی - ویتامین*		
ترکیب شیمیایی خوراک (درصد ماده خشک)		
۲/۱۰	۲/۱۰	۲/۱۰
۱۰/۷۰	۱۰/۷۰	۱۰/۷۰
۴۵/۸۹	۴۴/۲۷	۴۲/۶۵
۳۶/۸۳	۳۸/۸۳	۴۰/۸۴
۴/۵۹	۴/۴۱	۴/۲۲
۱/۹۹	۱/۷۹	۱/۵۹
۰/۴۹	۰/۴۶	۰/۴۳
۰/۵۶	۰/۵۶	۰/۵۶

مکمل ویتامین و معدنی شامل ویتامین A ۱۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین D3 ۲۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی، منیزیم ۳۲۰۰۰ میلی‌گرم، منگنز ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم، روی ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم، مس ۳۰۰ میلی‌گرم، سلنیوم ۱۰۰ میلی‌گرم، ید ۱۰۰ میلی‌گرم، آهن، ۳۰۰۰ میلی‌گرم، کبالت ۱۰۰ میلی‌گرم، فسفر ۳۰۰۰۰ میلی‌گرم، موننسیسین ۱۵۰۰ میلی‌گرم، آنتی‌اکسیدان ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد.

خوبی هم زده شد تا یک محلول شکمبه با غلظت یک دهیم حاصل گردد. برای شمارش تعداد پروتوزوا از لام مخصوص شمارش پروتوزوا (لام فوش - روزنتال) استفاده شد. به منظور بررسی اثر استفاده از سیب‌زمینی بر قابلیت هضم مواد مغذی، ابتدا نمونه‌های خوراک و مدفوع جمع‌آوری شده هر دام در پنج روز دوره جمع‌آوری نمونه با یکدیگر مخلوط و یک نمونه ۲۰۰ گرمی از هر کدام برای هر دام برداشته و در اون خشک شدند. نمونه‌های جامد به‌وسیله آسیاب دارای غربال یک میلی‌متری آسیاب شدند. سپس مطابق استاندارد انجمن شیمی دانان تجزیه آمریکا (۲) مقادیر ماده خشک، ماده‌الی، چربی خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، پروتئین خام، مورد تجزیه قرار گرفتند. میش‌ها به‌طور هفتگی و به‌صورت ناشتا و قبل از تغذیه صبح توزین می‌شدند. همچنین خوراک داده شده و پس‌آخور هر دام به‌صورت روزانه جهت محاسبه ماده خشک مصرفی ثبت می‌شد. نمونه‌های مدفوع و خوراک در روزهای ۳۱ تا ۳۵ به‌مدت پنج روز جمع‌آوری شد

به منظور بررسی اثر استفاده از سیب‌زمینی بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای مانند pH و نیتروژن آمونیاکی و همچنین تعداد پروتوزوا، نمونه‌گیری از مایع شکمبه در روز آخر دوره و چهار ساعت پس از خوراک‌دهی صبح توسط لوله مری انجام شد. بلافاصله پس از نمونه‌گیری، pH مایع شکمبه توسط pH متر اندازه‌گیری شد. میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با استفاده از روش فنل - هیپوکلریت تعیین شد (۴). ابتدا از هر گوسفند مقدار ۲۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه گرفته شد و با استفاده از چهار لایه پارچه متقال صاف گردید. سپس این شیرابه با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال به نسبت ۵ به ۱ رقیق گردید و تا روز آزمایش فریز شد. برای شمارش پروتوزوا، در روز آخر دوره و در زمان چهار ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح، نمونه مایع شکمبه با استفاده از لوله مری از گوسفندان گرفته شد. مایع شکمبه صاف شده و تعداد پروتوزوا در زیر میکروسکوپ شمارش شد (۸). در این روش، یک میلی‌لیتر از مایع شکمبه صاف شده به نه میلی‌لیتر فرمالدئید چهار درصد افزوده و به

منتقل گردید. آنزیم‌های موجود در بخش‌های مختلف مایع شکمبه مطابق روش هریستوف و همکاران (۱۳) استخراج گردید. برای جداسازی بخش‌های پروتوزوایی و باکتریایی، ابتدا شیرابه با دور ۴۵۰g به مدت پنج دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پلت به دست آمده به عنوان بخش پروتوزوایی در نظر گرفته شد. مایع شفاف رویی (سوپر ناتانت) مجدداً با دور ۲۷۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. پلت به دست آمده در این مرحله به عنوان بخش باکتریایی مشخص شد. در نهایت، مایع شفاف رویی به عنوان منبع آنزیم‌های خارج سلولی مورد استفاده قرار گرفت (۲۸).

تخمین فعالیت آنزیمی

فعالیت آنزیم‌های میکروبی در هر دام در هر یک از بخش‌های مایع شکمبه طبق روش (۱) تخمین زده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۷) و در قالب طرح کاملاً تصادفی با مدل آماری (رابطه ۲) تجزیه واریانس شدند.

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

در این مدل Y_{ij} : فراسنجه مورد اندازه‌گیری، μ : میانگین کل، T_i : اثر تیمار و e_{ij} : اثر خطای آزمایش است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

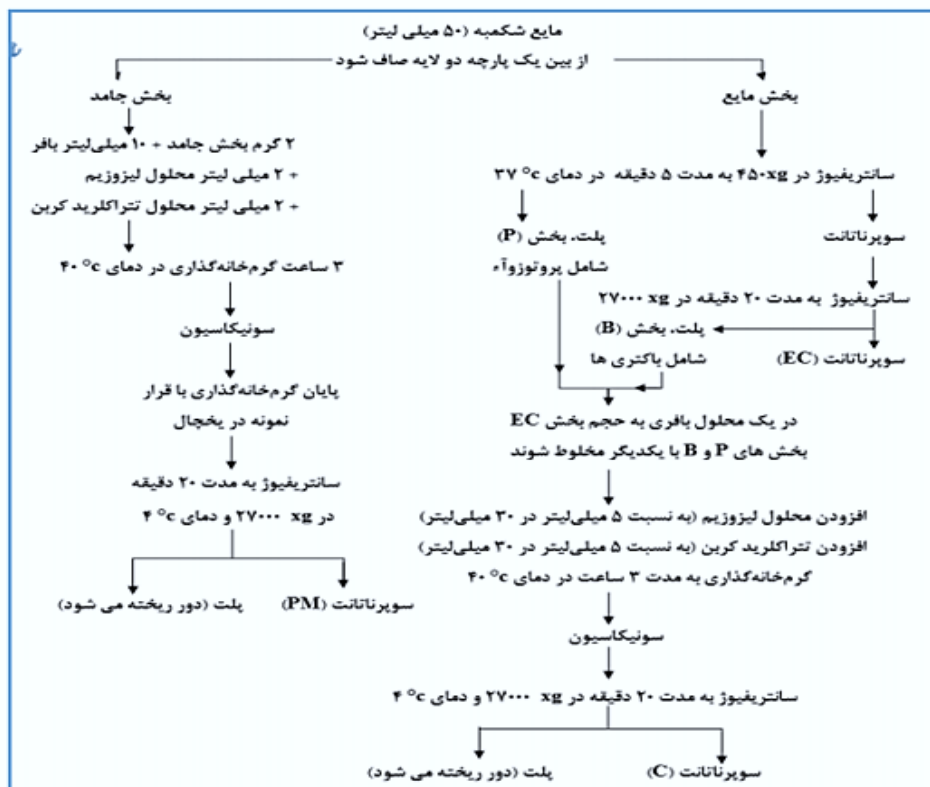
تا آزمایشات مربوط به قابلیت هضم انجام شود. نمونه‌های خوراک مصرفی و مدفوع در آن خشک شده و آسیاب شدند و پس از آن نمونه‌های مدفوع هر دام در طی یک دوره با یکدیگر مخلوط شده و تا زمان تجزیه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. قابلیت هضم مواد مغذی و ماده خشک با استفاده از روش مارکر داخلی خاکستر نامحلول در اسید محاسبه شد. غلظت مواد مغذی و مارکر در نمونه‌های خوراک و مدفوع تعیین شد (۳۲). در پایان قابلیت هضم ماده خشک و مواد مغذی با استفاده از رابطه ۱، پیشنهادی ون کولن و یانگ (۳۲) محاسبه شد.

(رابطه ۱)

$$\text{Dig} (\%) = 100 - 100 \times (M_1/M_2 \times N_2/N_1)$$

در این معادله: Dig: قابلیت هضم ظاهری، M_1 : غلظت مارکر در خوراک (درصد)، M_2 : غلظت مارکر در مدفوع (درصد)، N_1 : ماده مغذی در خوراک (درصد)، N_2 : ماده مغذی در مدفوع (درصد).

به منظور تخمین فعالیت آنزیمی، نمونه‌های مایع شکمبه در روز آخر دوره آزمایش و در زمان چهار ساعت پس از خوراک‌دهی جمع‌آوری شد (۱). نمونه از پارچه صافی جهت جداسازی بخش جامد و مایع گذرانده شد و به‌طور کامل بخش جامد و مایع از هم تفکیک گردید و فوراً به آزمایشگاه



شکل ۱- PM-۱، میکروب‌های چسبیده به مواد خوراکی در شکمبه، EC، بخش خارج سلولی (شیرابه شکمبه)، C، بخش درون سلولی (میکروب‌های معلق در مایع شکمبه) آگاروال (۲۰۰۰).

Figure 1. Fractionation of rumen contents and extraction of hydrolytic enzymes, Agarwal (2000)
PM = Particulate Material, EC= Extracellular, C= Cellular

نتایج و بحث

فراسنجه‌های شکمبه‌ای

اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های شکمبه و تعداد پروتوزوآ مایع شکمبه در جدول ۲ ارائه شده است. اختلاف مقادیر pH مایع شکمبه در بین تیمارها با یکدیگر (۰/۰۲ تا ۰/۴۰) از نظر آماری معنی‌دار است ($p=0/003$). مقدار pH مایع شکمبه به زمان تغذیه (۱۱) و میزان اسیدهای چرب فرار تولید شده در شکمبه (۳۰) بستگی دارد. تغذیه مقادیر فراوانی از دانه‌ها و یا جیره‌های بر پایه نشاسته و همچنین فرآوری بیش از اندازه و تغذیه متناوب خوراک و همچنین جیره‌هایی که حاوی کربوهیدرات‌های نامحلول زیادی هستند غالباً باعث کاهش pH محیط شکمبه می‌شوند (۱۰). میانگین مقدار pH بین جیره‌های آزمایشی در دامنه نرمال ۷-۶ که توسط قورچی و قربانی (۱۰) گزارش شده است قرار داشت.

در بین تیمارهای آزمایشی بیشترین (۱۴/۹۳ میلی‌گرم در دسی لیتر) میزان نیتروژن آمونیاکی در تیمار شاهد و کمترین (۱۱/۲۳ میلی‌گرم در دسی لیتر) مقدار در تیمار حاوی ۱۵ درصد سیب‌زمینی مشاهده شد و اختلاف بین تیمارها از نظر آماری معنی‌دار است ($p<0/001$). پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد که وجود مقادیر زیادی از کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم در جیره غذایی، غلظت نیتروژن آمونیاکی را

کاهش می‌دهد، زیرا انرژی فراهم‌شده از تخمیر مواد متراکم، سنتز میکروبی را افزایش می‌دهد (۲۳). کاهش نیتروژن آمونیاکی چهار ساعت پس از خوراک‌دهی با نتایج تاویلا و همکاران (۳۱) در زمان استفاده از ضایعات سیب‌زمینی به میزان ۱۲/۵ و ۲۵ درصد کنسانتره هم‌خوانی دارد و می‌تواند نشانه‌ای از کاهش فعالیت شکمبه یا به‌علت قابلیت هضم کم پروتئین خام در سیب‌زمینی باشد. همچنین نشان داده شد که نرخ تخمیر نشاسته سیب‌زمینی در مقایسه با نشاسته ذرت بسیار سریعتر باعث کاهش آمونیاک شکمبه می‌شود (۲۲).

اطلاعات مربوط به تعداد پروتوزوآ نیز در جدول ۲ آورده شده است. تعداد پروتوزوآ در تیمار شاهد کمترین مقدار و در تیمار حاوی ۷/۵ درصد سیب‌زمینی بیشترین مقدار را نشان می‌دهد. این اختلاف در بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی ۷/۵ و ۱۵ درصد سیب‌زمینی معنی‌دار است ($p=0/023$). فاکتورهایی مانند ترکیب جیره مصرفی، خصوصیات فیزیکی جیره مصرفی و فاصله زمانی بین وعده‌های خوراک‌دهی می‌تواند بر جمعیت پروتوزوایی مؤثر باشد (۱۴). پروتوزوآها گرانول‌های نشاسته را با سرعت بیشتری بلع نموده و در مصرف این سوبسترا با باکتری‌های آمیلولیتیک رقابت دارند (۱۰). همچنین در تحقیقی نشان داده شد که پروتوزوآ باعث ممانعت از تجزیه دیواره سلولی می‌شوند (۱۶).

جدول ۲- تأثیر سیب‌زمینی در جیره بر خصوصیات شکمبه‌ای میش‌های دالاق

P-value	SEM	سیب‌زمینی (۱۵٪)	سیب‌زمینی (۷/۵٪)	شاهد	
0/003	0/038	6/03 ^c	6/25 ^b	6/40 ^a	pH
0/001	0/293	10/23 ^c	11/28 ^b	14/93 ^a	نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی لیتر)
0/023	4/145	49/00 ^a	52/00 ^a	32/50 ^b	تعداد پروتوزوآ

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین تیمارهای آزمایشی در هر ردیف می‌باشد ($p<0/05$). SEM=انحراف استاندارد میانگین، P-value=احتمال معنی‌داری

فعالیت آنزیم‌های سلولولیتیک شیرابه شکمبه‌ای

اثر جیره‌های آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های میکروبی بخش‌های مختلف شکمبه در جدول ۳ ارائه شده است. در آنزیم‌های مورد بررسی شامل میکروکریستالین سلولاز و کربوکسی متیل سلولاز بیشترین فعالیت آنزیمی در بخش جامد و کمترین فعالیت آنزیمی در خارج سلولی مایع شکمبه به دست آمده است. فعالیت آنزیمی کربوکسی متیل سلولاز

در هر سه بخش جامد، خارج سلولی و داخل سلولی و همچنین بخش کل (مجموع هر سه بخش جامد، خارج سلولی و داخل سلولی) با افزودن میزان سیب‌زمینی به جیره کاهش یافت ($p=0/001$). با افزایش میزان سیب‌زمینی به جیره، فعالیت آنزیم میکروکریستالین سلولاز در تمام بخش‌های اندازه‌گیری شده (جامد، خارج سلولی، داخل سلولی و کل) کاهش یافت ($p=0/001$).

جدول ۳- تأثیر سیب‌زمینی در جیره بر فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز (نانومول بر دقیقه) در مایع شکمبه میش‌های دالاق

p-value	SEM	سیب‌زمینی (۱۵٪)	سیب‌زمینی (۷/۵٪)	شاهد	
0/001	1/67	118/09 ^c	156/08 ^b	169/69 ^a	سلولی
0/001	1/618	49/88 ^c	74/80 ^b	96/43 ^a	خارج سلولی
0/001	2/263	216/40 ^c	234/83 ^b	291/07 ^a	بخش جامد
0/001	4/863	384/36 ^c	465/73 ^b	557/17 ^a	کل

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین تیمارهای آزمایشی در هر ردیف می‌باشد ($p<0/05$). SEM=انحراف استاندارد میانگین، P-value=احتمال معنی‌داری

(۱) مطابق است. وجود حداکثر فعالیت آنزیمی در بخش جامد مایع شکمبه نشان‌دهنده کلونیزه شدن ذرات خوراک توسط میکروب‌ها است. میزان فعالیت کمتر آنزیمی در بخش سلولی مایع شکمبه به این دلیل است که میکروب‌های سلولولیتیک

یافته‌های این آزمایش نشان داد، بیشترین مقادیر فعالیت آنزیمی در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه در هر دو آنزیم مورد بررسی مربوط به بخش جامد و کمترین آن در بخش خارج سلولی به‌دست آمد که با یافته‌های آگاروال و همکاران

(۲۶). تغییرات فعالیت آنزیمی به‌علت نوع منبع انرژی‌زای مصرفی احتمالاً به‌دلیل تغییرات رخ داده در جمعیت میکروبی شکمبه است، به‌عبارت دیگر نوع جیره تغذیه‌شده به حیوانات باعث تغییر جمعیت میکروبی و متعاقب آن تغییر در الگوی آنزیمی شده است (۱۵). کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده الیاف با افزایش سطح سیب‌زمینی در جیره احتمالاً به‌دلیل محتوی نشاسته این جیره بوده که سبب کاهش pH شکمبه شده است. زیرا باکتری‌های فیبرولایتیک شکمبه به تغییرات pH بسیار حساس هستند (۲۹) و زمانی که pH شکمبه به کمتر از ۶/۲ برسد رشد آن‌ها مهار می‌شود. مکانیسم اثر منفی pH بر رشد باکتری‌های شکمبه به‌خصوص باکتری‌های فیبرولایتیک به‌خوبی شناخته نشده اما بر اساس نظریه کیمواوسموتیک (۱۷)، مهار رشد میکروبی در pH پایین ممکن است به‌دلیل انرژی ناکافی برای انتقال پروتون به خارج از سلول توسط غشای سلولی برای ایجاد یک گرادیان پروتونی باشد (۹).

به ذرات خوراک متصل شده‌اند و جمعیت میکروب‌های آزاد در بخش مایع شیرابه شکمبه کمتر است (۲۶). کمترین میزان آنزیم‌های تجزیه‌کننده الیاف در بخش خارج سلولی شیرابه شکمبه قابل انتظار است (۱،۳۲). زیرا این آنزیم‌ها به پوشش سلولی متصل هستند و تنها مقدار کمی از آن‌ها به‌دلیل تخریب میکروب‌های تجزیه‌کننده الیاف به بخش مایع شیرابه شکمبه آزاد می‌شوند (۱). میزان فعالیت کربوکسی‌متیل سلولاز در بخش جامد، خارج سلولی، سلولی و کل شیرابه شکمبه نسبت به بخش‌های مربوطه در آنزیم میکروکریستالین سلولاز بیشتر بود. آنزیم کربوکسی‌متیل سلولاز بر روی بخش میانی زنجیر سلولز اثر کرده و از طریق هیدرولیز آن را پاره می‌کند و تولید دو زنجیر کوتاه‌تر می‌کند. اما میکروکریستالین سلولاز به قسمت انتهایی آزاد زنجیره حمله کرده و طی مراحل متوالی سلوبیوز را تولید می‌نماید (۷). بنابراین افزایش فعالیت کربوکسی‌متیل سلولاز نسبت به میکروکریستالین سلولاز احتمالاً به‌خاطر وجود سوبسترای بیشتر برای آن باشد

جدول ۴- تأثیر سیب‌زمینی در جیره بر فعالیت آنزیم میکروکریستالین سلولاز (نانومول بر دقیقه) در شکمبه میش‌های دالاق
Table 4. Effect of potato in diets on microcrystalline cellulose enzyme activity (nmol min) in rumen fluid of Dalagh ewes

p-value	SEM	سیب‌زمینی (٪۱۵)	سیب‌زمینی (٪۷/۵)	شاهد	
۰/۰۰۰۱	۰/۶۶۸	۶۹/۲۳ ^c	۱۱۶/۱۸ ^b	۱۳۳/۹۵ ^a	سلولی
۰/۰۰۰۱	۱/۳۷۲	۱۱/۵۶ ^c	۲۴/۳۳ ^b	۵۰/۶۰ ^a	خارج سلولی
۰/۰۰۰۱	۱/۹۸۸	۱۵۶/۱۰ ^c	۱۸۷/۸۷ ^b	۲۱۵/۲۰ ^a	بخش جامد
۰/۰۰۰۱	۲/۶۷۳	۲۳۶/۸۹ ^c	۳۲۸/۲۷ ^b	۳۹۹/۲۵ ^a	کل

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین تیمارهای آزمایشی در هر ردیف می‌باشد (p < ۰/۰۵). SEM = انحراف استاندارد میانگین، p-value = احتمال معنی‌داری

به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p = ۰/۰۰۰۱). کاهش قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی در تیمار حاوی ۱۵ درصد سیب‌زمینی می‌تواند به‌علت کاهش pH ناشی از تخمیر سریع نشاسته باشد. زیرا با کاهش pH شکمبه، انرژی نگهداری باکتری‌های تخمیرکننده کربوهیدرات‌های الیافی افزایش یافته و نرخ هضم الیاف کم می‌شود (۲۴). در عین حال حتی اگر بتوان pH را ثابت نگهداشت با افزودن نشاسته کاهش هضم الیاف رخ خواهد داد (۲۹).

قابلیت هضم مواد مغذی

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی حاوی سیب‌زمینی بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، پروتئین و عصاره‌تری در جدول ۴ نشان داده شده است. افزودن سیب‌زمینی به جیره در سطح ۱۵ درصد سبب افزایش معنی‌دار در قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی گردید (p = ۰/۰۰۰۱) اما بین دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. با افزایش میزان سیب‌زمینی در جیره قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی (۴۹/۱۳ تا ۴۵/۶۵)

جدول ۵- تأثیر سیب‌زمینی در جیره بر قابلیت هضم مواد مغذی میش‌های دالاق (برحسب درصد)
Table 5. Effect of potato in diets on nutrient digestibility in Dalagh ewes (%)

p-value	SEM	سیب‌زمینی (٪۱۵)	سیب‌زمینی (٪۷/۵)	شاهد	
۰/۰۰۰۱	۰/۰۳۷	۶۰/۴۲ ^a	۵۱/۱۸ ^b	۵۰/۱۹ ^b	ماده خشک
۰/۰۰۰۱	۰/۶۶۳	۶۵/۹۵ ^a	۵۹/۰۴ ^b	۵۸/۶۲ ^b	ماده آلی
۰/۰۰۰۱	۰/۲۳۱	۴۵/۶۵ ^c	۴۶/۹۳ ^b	۴۹/۱۳ ^a	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
۰/۰۰۰۱	۰/۷۳۴	۶۵/۱۱ ^b	۶۶/۸۳ ^b	۷۵/۸۳ ^a	پروتئین
۰/۴۴۷۳	۴/۰۶۱	۵۸/۰۱	۵۰/۵۵	۵۲/۷۲	عصاره اتری (چربی)

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین تیمارهای آزمایشی در هر ردیف می‌باشد (p < ۰/۰۵). SEM = انحراف استاندارد میانگین، p-value = احتمال معنی‌داری

پایین نشاسته در شکمبه و میزان بالای نشاسته هضم نشده و وارد شده به انتهای روده ارتباط داد (۱۸). سطوح بالای نشاسته هضم نشده ممکن است سنتز پروتئین میکروبی را در انتهای روده افزایش دهد. به‌دلیل آن که مکانیسمی برای هضم آنزیمی پروتئین میکروبی در انتهای روده وجود ندارد، از طریق

بیشترین میزان قابلیت هضم پروتئین در تیمار شاهد مشاهده شد و در قابلیت هضم عصاره‌تری بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در تحقیق حاضر قابلیت هضم پایین پروتئین خام در تیمارهای حاوی سیب‌زمینی در مقایسه با تیمار شاهد را ممکن است بتوان به‌میزان تجزیه

مدفوع دفع شده و بنابراین قابلیت هضم ظاهری پروتئین خام را در کل دستگاه گوارش کاهش می‌دهد. این نتایج با تحقیق رادونز و همکاران (۲۵) مطابق است.

به‌طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد استفاده از سیب‌زمینی تا سطح ۱۵ درصد در جیره تأثیر منفی بر pH، تعداد پروتوزوا، آنزیم‌های سلولیتیک و قابلیت هضم مواد مغذی نداشت.

منابع

1. Agarwal, N., I. Agarwal, D.N. K amra and L.C. Chaudhary. 2000. Diurnal variations in the activities of hydrolytic enzymes in different fractions of rumen contents of Murrah buffalo. *Journal of Applied Animal Research*, 18: 73-80.
2. AOAC. 2005. Official method of analysis, 15 ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, USA.
3. Boyles, S. 2012. Feeding Potato Processing Wastes and Culls to Cattle. The Ohio State University, <http://beef.osu.edu/library/potato.html>.
4. Broderick, G.A. 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.
5. Charmley, E., D. Nelson and F. Zvomaya. 2006. Nutrient cycling in the vegetable processing industry: utilization of potato by-product. *Canadian Journal of Soil Science*, 4: 621-629.
6. Chashnidel, Y., H. Kolarostaghi, A.R. Jafarisayad and M. Bahari. 2018. The effect of replacing waste potatoes cooked with barley on ruminal degradation and some blood parameters in lambs fattened Zell, *Animal Science Journal*, 118: 23-32 (In Persian).
7. Daneshmesgaran, M., A. Tahmasebi and S.A. Vakili. 2008. Digestion and Metabolism in Ruminant . 1rd edn., Ferdowsi University Press, Mashhad, Iran, 261 pp (In Persian).
8. Dehority, B.A. and J.R. Males. 1984. Rumen fluid osmolality: Evaluation of influence upon the occurrence and numbers of Holotrich protozoa in sheep. *Journal of Animal Science*, 38: 865-870.
9. Garland, P.B. 1977. Energy transduction in microbial systems. *Symposium of the Society for General Microbiology*, 27: 1-21.
10. Ghoorchi, T. and B. Ghorbani. 2011. Rumen Microbiology. 1rd edn., Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, 169 pp (In Persian).
11. Hindrichsen, I. K., P.O. Osuji, A.A. Odenyo, J. Madsena and T. Hvelplund. 2002. Effects of supplementation of basal diet of maize stover with different amounts of *Leucaena diversifolia* on intake, digestibility, nitrogen balance and rumen parameters in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 98: 131-142.
12. Horadagoda, A., W. Fulkerson, I. Barchia, R. Dobos and K. Nandra. 2008. The effect of grain species, processing and time of feeding on the efficiency of feed utilization and microbial protein synthesis in sheep. *Journal of livestock Science*, 114: 117-126.
13. Hristov, A.N., T.A. McAllister and K.J. Cheng. 1999. Effect of diet, digesta processing, freezing and extraction procedure on some polysaccharide degrading activities of ruminal contents. *Canadian Journal of Animal Science*, 79: 73-81.
14. Ivan, M., L. Neill, R. Forster, R. Alimon, L.M. Rode and T. Entz. 2000. Effects of Isotricha, Dasytricha, Entodinium and total fauna on ruminal fermentation and duodenal flow in wethers fed different diets. *Journal of Dairy Science*, 83: 776-787.
15. Kamra, D.N., N. Agarwal and T.A. McAllister. 2010. Screening for compounds enhancing fiber degradation. In: Vercoe, P.E., H.P.S. Makkar, A.C. Schlink, (Eds.). *In vitro* Screening of Plant Resources for Extra-nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. IAEA, Dordrecht, the Netherlands, 85-107.
16. Lee, S.S., J.K. Ha and K.J. Cheng. 2000. Relative contributions of bacteria, protozoa, and fungi to *in vitro* degradation of orchard grass cell walls and their interactions. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(9): 3807-3813.
17. Mitchell, P. 1961. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. *Nature (London)*, 191: 144-147.
18. Mousavi, S.G.R., F. Fattahnia, H.R. Mirzaei Alamouti, A.A. Mehrabi Oladi and H. Darmani Kouhi. 2011. Effect of dietary starch source on milk production and composition, nutrient digestibility and plasma metabolites in lactating Holstein cows. 2011. *Iranian Journal of Animal Science*, 42: 133-142 (In Persian).
19. Murphy, S. 1997. Feeding potato by-products. Prince Edward Island, Agriculture and Forestry, Fact Sheet, AGDEX. 420-68.
20. NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervides and New World Camelids. National Academy, 384 pp.
21. Omer, H.A., S.S. Abdel-Magid, F.M. Salman, S.M. Ahmed, M.I. Mohamed, I.M. Awadalla and M.S. Zaki. 2011. Using potato processing waste in sheep rations. *Life Science Journal*, 8(4): 733-742.
22. Onwubuemeli, C., J.T. Huber, K.J. King and C.O.L.E. Johnson. 1985. Nutritive value of potato processing wastes in total mixed rations for dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 68(5): 1207-121.

23. Owens, F.N. and A.L. Goetsch. 1988. Ruminant Fermentation in the Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition. D.C. Church, ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, 153 pp.
24. Pitt, R.E., J.S. Van Kessel, D.G. Fox, A.N. Pell, M.C. Barrv and P.J. Van Soest. 1996. Prediction of ruminal volatile fatty acids and pH within the net carbohydrate and protein system, *Journal of Animal Science*, 74: 226-244.
25. Radunz, A.E., G.P. Lardy, M.L. Bauer, M.J. Marchello, F.R. Loe and P.T. Berg. 2003. Influence of steam-peeled potato processing waste inclusion level in beef finishing diets: Effects on digestion, feedlot performance and meat quality. *Journal of Animal Science*, 81: 2675-2685.
26. Raghuvansi, S.K.S., R. Prasad, M.K. Tripathi, A.S. Mishra, Chaturvedi, O.H. Misra, A.K. Saraswat, B.L. and R.C. Jakhmola. 2007. Effect of complete feed blocks or grazing and supplementation of lambs on performance, nutrient utilization, rumen fermentation and rumen microbial enzymes. *Animal*, 1: 221-226.
27. SAS. 2003. SAS Users Guide: Statistics. SAS. Inst. Cary. NC.
28. Shahravan, S. and T. Ghoorchi. 2020. Study of cellulose enzymes activity in rumen fluid of fattening slaughtered goat kids. *Research on Animal Production*, 17(27): 9-17 (In Persian).
29. Sung, H.G., Y. Kobayashi, J. Chang, A. Ha, I.H. Hwang and J.K. Ha. 2007. Low ruminal pH reduces dietary fiber digestion via reduced microbial attachment. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 20: 200-207.
30. Synder, L.J.U., J.M. Luginbuhl, J.P. Mueller, A.P. Conrad and K.E. Turner. 2006. Intake, digestibility and nitrogen utilization of *Robinia pseudoacacia* foliage fed to growing goat wethers. Available online at: Science direct.com.
31. Tawila, H.A., A. Omer and S.M. Gad. 2008. Partial replacing of concentrate feed mixture by potato processing waste in sheep ration. *Journal of Agriculture and Environmental Science*, 4: 156-164.
32. Van Keulen, J. 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.

Effect of Different Levels of Potato on Nutrient Digestibility, Fibrolytic Enzyme and Ruminal Characteristics in Dalagh Ewes

Katayoun Mehrani¹, Taghi Ghoorchi², Abdolhakim Toghdory³ and Raheleh Rajabi Ali Abadi⁴

1- Former M.Sc. Student, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2- Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

(Corresponding author: ghoorchirt@yahoo.com)

3- Assistant Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

4- Ph.D. Student, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Received: 24 November, 2019

Accepted: 9 October, 2020

Abstract

This study was performed to investigate the effect of different levels of potato in the diet on ruminal parameters, nutrient digestibility and rumen liquor cellulolytic enzymes including microcrystalline-cellulase and carboxymethyl-cellulase in different parts of rumen liquor (particulate material (PM), extra cellular (EC) or cellular). Twelve Dalagh ewes were used in this experiment in a completely randomized design with 3 treatments and 4 replicates. Experimental treatments included 1) control treatment (no potatoes) 2) 7.5% potato treatment 3) 15% potato treatment based on dietary dry matter. The diets were similar in protein and energy. The results of this study showed that the difference in pH of rumen liquor between treatments (6.02-6.4) was statistically significant ($p=0.0003$). Among the experimental treatments, the highest amount of rumen ammonia nitrogen was observed in the control treatment (14.93) and the lowest in the treatment containing 15% potato (10.23) and the difference was statistically significant ($p=0.0001$). The number of protozoa in the control treatments was the lowest and the potato treatment 7.5% the highest. This difference was significant between control treatment and treatments containing 7.5 and 15% potatoes ($p=0.023$). The DDM, CP, OM, NDF digestibility of diet in three rations did differ significantly ($p=0.0001$). Among the activities of carboxymethyl-cellulase and microcrystalline-cellulase enzymes in the cellular, EC, PM and total fraction (all 3 sections), the highest and lowest values were observed in control and 15% potato treatments, respectively. There was a significant difference between the three treatment ($p<0.0001$). According to the results mentioned, potato can be used up to 15% of the diet of ewes without any adverse effect.

Keywords: Cellulase enzyme, Digestibility, Ewe, Potato, Rumen parameters



"مقاله پژوهشی"

بررسی تجزیه پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم روده‌ای کنجاله سویا و کنجاله کلزا پوشش دار شده با منابع مختلف چربی

محسن ابراهیمی^۱، مهدی گنج‌خانلو^۲، مهدی دهقان بنادکی^۳، ابوالفضل زالی^۴ و کامران رضایزدی^۵

۱- دانشجوی دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، (نویسنده مسوول : ganjkhanelou@ut.ac.ir)

۲- دانشیار، کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۳- استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۴- دانشیار، کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۵- دانشیار، کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۱۶

صفحه: ۵۷ تا ۶۵

چکیده

هدف از انجام این مطالعه بررسی برون تنی اثر پوشش دار کردن کنجاله سویا و کنجاله کلزا با منابع مختلف چربی بر تجزیه پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم روده‌ای و همچنین بررسی درون تنی قابلیت هضم کنجاله سویا پوشش دار شده با منابع مختلف چربی در دستگاه گوارش بود. برای این منظور، از نمک کلسیمی روغن امگا۳، نمک کلسیمی غیراشباع و چربی اشباع برای پوشش دار کردن استفاده شد. به منظور تعیین تجزیه پذیری شکمبه‌ای از سه رأس گاو نژاد هلشتاین مجهز به فیستولای شکمبه‌ای استفاده شد و میزان تجزیه پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک و پروتئین خام تعیین شد. در آزمایش درون تنی، ۴۰ رأس گاو نژاد هلشتاین به طور تصادفی در پنج تیمار (شاهد، سویا اکستروود شده، سویا-امگا۳، سویا-کلسیمی و سویا-اشباع) اختصاص داده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پوشش دار کردن کنجاله سویا و کلزا با چربی‌های مختلف موجب کاهش تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین در شکمبه و افزایش قابلیت هضم آن‌ها در روده می‌شود. همچنین نشان داده شد که محافظت کنجاله سویا با چربی اشباع و چربی کلسیمی نسبت به چربی امگا۳ بهتر بود، در حالی که محافظت کنجاله کلزا با چربی کلسیمی و امگا۳ نسبت به چربی اشباع و چربی کلسیمی بهتری داشتند ($p < 0.0001$). نتایج آزمایش درون تنی نشان داد که کنجاله سویا پوشش دار شده با امگا۳ بیشترین میزان قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش را داشت ($p = 0.009$). می‌توان نتیجه گرفت که پوشش دار کردن کنجاله‌های پروتئینی با چربی باعث انتقال هضم پروتئین از شکمبه به روده و در نتیجه افزایش بخش RUP کنجاله پروتئینی خواهد شد.

کلیدواژه‌ها: امگا۳، پوشش دار کردن، چربی کلسیمی، قابلیت هضم، کنجاله پروتئینی

مقدمه

کنجاله می‌تواند موجب تغییر ترکیب اسید آمینه‌ای پروتئین عبوری کنجاله سویا و فرآورده‌های آن نسبت به پروتئین خوراک اولیه شود (۸). اگرچه حرارت‌دهی یک بخش تفکیک نشدنی از فرآوری کنجاله است و ممکن است موجب کاهش تخریب شکمبه‌ای شود (۴) اما با این وجود تصور می‌شود که پوشش دار کردن کنجاله با اسیدهای چرب می‌تواند موجب کاهش قابل ملاحظه قابلیت هضم مواد آلی و پروتئین و تولید گاز شکمبه‌ای شود (۱۸). علاوه بر نقش محافظتی، لیپید می‌تواند به‌عنوان یک منبع انرژی برای گاوهای شیری پر تولید ایفای نقش کند (۱۳). پوشش چربی فعالیت پروتئاز شکمبه را تا زمان خروج خوراک از شکمبه به تأخیر می‌اندازد و امکان استفاده مستقیم و بیشتر پروتئین را برای نشخوارکنندگان فراهم می‌سازد. همچنین افزودن چربی منجر به کاهش تولید گاز در شکمبه می‌شود (۷). از طرفی نشان داده شده است که اسیدهای چرب هیدروژنه به‌عنوان پوشش برای محافظت از ترکیبات مختلف مورد استفاده قرار گرفته است اما این اسیدهای چرب در برابر اسیدهای چرب ناشباع به‌میزان کمتری در روده باریک هضم می‌شوند. همچنین گزارش شده است که افزودن اسیدهای چرب غیراشباع مانند اولئیک‌اسید همراه با اسید چرب اشباع می‌تواند قابلیت هضم اسیدهای چرب را به‌طور کلی در روده باریک بهبود ببخشد (۲۸).

حیوانات نشخوارکننده اسیدهای آمینه مورد نیاز خود را از طریق پروتئین میکروبی تولید شده در شکمبه و پروتئین عبوری از شکمبه، به‌دست می‌آورند (۱۱). گاوهای جوان در حال رشد و گاوهای شیرده علاوه بر پروتئین میکروبی نیازمند پروتئین عبوری برای تأمین پروتئین قابل متابولیسم خود هستند (۱۰). سهم بالای پروتئین قابل هضم در شکمبه منجر به افزایش دفع پروتئین به شکل اوره در ادرار می‌شود. تجزیه سریع و گسترده پروتئین‌های با ارزش در شکمبه منجر به توسعه مفهوم حفاظت از پروتئین در برابر تجزیه شکمبه‌ای با هدف اصلی افزایش تأمین اسیدهای آمینه ضروری و کاهش اتلاف نیتروژن در حیوان تولیدی شده است (۱۰). بنابراین انتخاب مناسب مکمل پروتئینی برای تغذیه، یک فرصت عالی در جهت تأثیرگذاری نحوه تأمین اسیدهای آمینه مورد نیاز گاوهای شیری است. این امر می‌تواند موجب تعدیل تأمین روده‌ای اسید آمینه از طریق میزان عبور پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه و همچنین نیتروژن میکروبی شود (۹). از نظر پروتئین، کنجاله سویا و کلزا منابع مهمی به‌شمار می‌روند ولی با این حال در شکمبه نشخوارکنندگان به‌شدت در معرض تخمیر میکروبی قرار می‌گیرند (۱۶).

برای محافظت پروتئین در شکمبه و افزایش پروتئین عبوری از روش‌های متعددی استفاده می‌شود (۱۹). گرمادهی

مناسب چربی در شرکت دانش بنیان کیمیا دانش الوند با هم ترکیب شدند. هشت تیمار مورد بررسی در این آزمایش از ترکیب مجزای دو منبع پروتئینی (کنجاله سویا و کنجاله کلزا) با سه نوع چربی ۱- چربی کلسیمی غیراشباع، ۲- پودر چربی اشباع و ۳- نمک کلسیمی امگا ۳ و دو جیره شاهد حاصل گردید. مکمل‌های چربی از شرکت تعاونی کیمیا دانش الوند (قم، ایران) با نام پرشیافت تهیه شد. ترکیب شیمیایی مکمل‌های چربی آزمایشی و تیمارهای آزمایشی بر اساس ماده خشک به ترتیب در جدول ۱ و جدول ۲ نشان داده شده است.

با توجه به کمبود اطلاعات در مورد اثربخشی پوشش‌دهی چربی‌های مختلف بر میزان عبور و قابلیت هضم ترکیبات پروتئینی، پژوهش حاضر با هدف بررسی کنجاله‌های پروتئینی پوشش‌دار شده با منابع مختلف چربی بر میزان تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و گوارش پذیری روده‌ای به روش برون تنی و درون تنی طراحی گردیده است.

مواد و روش‌ها آزمایش برون تنی

به‌منظور تولید کنجاله‌های پروتئینی محافظت شده، کنجاله‌های پروتئینی در شرایط دمایی مختلف و با نسبت

جدول ۱- ترکیب شیمیایی مکمل‌های چربی آزمایشی (بر اساس ماده خشک)

Table 1. Chemical composition of the experimental fat supplements (dry matter basis)

چربی اشباع	نمک کلسیمی	نمک کلسیمی امگا ۳	انرژی خالص شیردهی (Mcal/kg)
۵/۸	۵/۸	۵/۸	چربی (%)
۹۹	۸۵	۸۵	کلسیم (%)
---	۹	۹	اسیدهای چرب (%)
			C16:0
۳۵	۲۴/۲۵	۲۱/۳	C16:1
--	۳/۵۱	۶/۳	C18:0
۶۰	۷/۸۴	۵/۹	C18:1 n9
۵	۳۶/۴	۳۵/۲۴	C18:2 n6
---	۲۶	۱۶/۱۷	C18:3 n3
---	۲	۲/۲	EPA&DHA'
---	---	۱۱	

جدول ۲- ترکیب شیمیایی تیمارهای آزمایشی (بر اساس ماده خشک)

Table 2. Chemical composition of the experimental treatments (dry matter basis)

کلزا-چربی اشباع	سویا-چربی اشباع	کلزا-نمک کلسیمی	سویا-نمک کلسیمی	کلزا-امگا ۳	سویا-امگا ۳	کلزا	سویا	ماده خشک (%)
۹۱/۳۷	۹۲/۱۲	۹۱/۱۹	۹۲/۰۲	۹۱/۵۳	۹۲/۱۶	۹۱/۴۳	۸۹/۲۰	پروتئین (%)
۱۷/۱۷	۲۱/۶۴	۱۷/۱۶	۲۱/۹۶	۱۷/۱۱	۲۲/۰۱	۳۴/۶۸	۴۴/۹۶	چربی (%)
۵۷/۱	۶۲/۳۰	۵۴/۹۶	۵۶/۷۴	۵۴/۸۹	۵۸/۱۱	۲/۴۰	۲/۶۶	خاکستر (%)
۵/۴۵	۵/۱۱	۹/۰۱	۸/۸۸	۹/۱۸	۸/۵۶	۷/۲۴	۶/۷۱	الیاف شوینده خنثی (%)
۱۷/۵۳	۱۰/۱۱	۱۷/۸۷	۹/۰۰	۱۸/۰۳	۸/۵۳	۲۵/۹۲	۱۳/۸۰	

سرد شستشو داده شدند. کیسه‌ها پس از شستشو در آون ۶۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت.

به‌منظور تعیین قابلیت هضم روده‌ای، ابتدا نمونه‌ها طبق بخش پیشین به مدت ۱۶ ساعت داخل شکمبه گاوهای فیستولا شده قرار داده شد (۱۲). سپس به‌منظور متوقف کردن فعالیت میکروبی بلافاصله در آب سرد قرار داده و سه مرتبه هر بار به مدت پنج دقیقه شسته شد و سپس در آون ۶۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. برای انجام تجزیه‌پذیری روده‌ای یک گرم از نمونه باقیمانده را در کیسه‌هایی به ابعاد میانگین ۱۰×۴ با قطر منفذ ۵۰ میکرومتر ریخته و سپس در دستگاه دیزی ۲ (Daisy 2) قرار داده شد. داخل هر بطری دو لیتری دستگاه شیشه‌ساز هضم شیردان، اسید هیدروکلریک (Merk) ۰/۱ نرمال و یک گرم در لیتر پپسین (Aldrich) افزوده شد (pH= ۱/۹). سپس کیسه‌ها داخل بطری‌ها قرار داده شد (۲۴ کیسه در هر بطری) و با دور ثابت چرخش در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت داخل دستگاه انکوباسیون گردید. سپس تمام مایعات تخلیه شده و کیسه‌ها تا زمان خروج آب شفاف از آن‌ها با آب سرد شستشو داده شد.

به‌منظور تعیین تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای از سه رأس گاو هلشتاین مجهز به فیستولای شکمبه‌ای استفاده شد. میزان تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام بر اساس روش استاندارد شده استفاده شد (۲۴). برای تعیین میزان تجزیه‌پذیری از کیسه‌های داکرونی با جنس پلی‌استر با ابعاد ۱۷×۱۰ سانتی‌متر، با قطر منافذ ۵۰ میکرومتر استفاده شد. نمونه‌ها در اندازه‌های دو میلی‌متری آسیاب شده و به‌منظور یکنواختی از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. همچنین برای جلوگیری از خروج ذرات ریز از منافذ کیسه‌های نایلونی، نمونه‌های آسیاب شده با الک ۴۵ میکرونی غربال شدند و در نهایت مقدار پنج گرم از نمونه‌های آسیاب شده در داخل کیسه‌های نایلونی ریخته شد. ۱۲ کیسه برای هر تیمار در شکمبه قرار گرفت و کیسه‌ها به مدت ۱۶ ساعت در شکمبه قرار داده شدند. کیسه‌ها بلافاصله پس از خارج شدن از شکمبه در آب سرد قرار داده شدند و با دست به مدت ۲۰ دقیقه و تا هنگام شفاف شدن آب خروجی از سطل شستشو شدند (۲). ۲ عدد از کیسه‌های هر تیمار بدون قرار گرفتن در شکمبه با آب

تیمارهای آزمایشی مورد بررسی در این مرحله شامل (۱) کنجاله سویا فرآوری نشده (۲) سویا اکستروید شده (کنترل مثبت) (۳) کنجاله سویا محافظت شده با روغن ماهی کلسیمی (۴) کنجاله سویا محافظت شده با نمک کلسیمی اسیدهای چرب (۵) کنجاله سویا محافظت شده با چربی اشباع بودند. ترکیب شیمیایی سویا اکستروید شده و کنجاله‌های سویا محافظت شده در جدول ۳ نشان داده شده است. طول مدت آزمایش به مدت ۳۲ روز بود که تا ۱۸ روزگی به عنوان عادت‌دهی به جیره‌های آزمایشی در نظر گرفته شد. قابلیت هضم مواد مغذی با جمع‌آوری مدفوع از رکتوم در سه روز پایانی انجام شد نمونه‌های مدفوع در دو نوبت صبح و عصر از راست روده جمع‌آوری و قابلیت هضم با استفاده از خاکستر نامحلول در اسید به‌عنوان نشانگر اندازه‌گیری شد. بلافاصله بعد از نمونه‌گیری از مدفوع، نمونه‌ها تا زمان تجزیه شیمیایی در فریزر (منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت.

سپس کیسه‌ها در محلولی شامل از سه گرم در لیتر پانکراتین (Merk)، بافر پتاسیم دی هیدروژن فسفات (Merk) ۰/۵ مولار و ۵۰ ppm تیمول (Merk) به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون شدند (pH= ۷/۷۵). بعد از اتمام انکوباسیون، کیسه‌ها شسته شده و در آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و برای تعیین نیتروژن از محتویات آن‌ها استفاده شد. مقدار هضم نیتروژن با تفریق میزان نیتروژن نمونه‌ها بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای از میزان نیتروژن باقیمانده بعد از انکوباسیون در دیزی دو تقسیم بر میزان نیتروژن نمونه‌ها به دست آمد (۶). برای محاسبه پروتئین نمونه‌ها از دستگاه کج‌دلال (FossElectric, Copenhagen,) (Denmark) استفاده شد.

آزمایش درون تنی

در این مرحله تعداد ۴۰ راس گاو هلشتاین با روزهای شیردهی ۱۱۵±۸ و میانگین تولید ۴۵ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و هشت تکرار انتخاب شدند.

جدول ۳- ترکیب شیمیایی سویا اکستروید شده و کنجاله‌های سویا محافظت شده (بر اساس ماده خشک)

Table 3. Chemical composition of the full fat soybean and protected soybean meal (dry matter basis)

سویا- اشباع	سویا- کلسیمی	سویا- امگا۳	سویا اکستروید شده	
۹۲/۱۲	۹۱/۴۲	۹۲/۳۵	۸۹/۳۲	ماده خشک (%)
۲۰/۱۱	۱۹/۸۶	۱۹/۲۳	۳۷/۱۱	پروتئین (%)
۶۰/۳۲	۵۷/۴۲	۵۸/۲۱	۱۹/۲۳	چربی (%)
۵/۱۱	۸/۴۲	۸/۱۱	۵/۹۰	خاکستر (%)
۱۰/۱۱	۹/۵۴	۹/۷۲	۲۳/۱۳	الیاف شوینده خنثی (%)
				اسیدهای چرب (% از کل اسیدهای چرب)
۳۴/۱۲	۲۴/۶۶	۲۱/۵۳	۱۱/۲۴	C16:0
—	۴/۲۵	۷/۸۱	۲/۱۳	C16:1
—	۰/۲۶	۲/۰۸	۰/۱۱	C17:0
—	—	۱/۲۱	—	C17:1
۵۶/۱۳	۸/۷۰	۵/۲۴	۴/۱۱	C18:0
۷/۱۳	۳۷/۹۴	۲۸/۷۵	۱۹/۸۵	C18:1 cis-9
—	۰/۲۵	۱/۴۲	—	C18:1 trans 11
۱/۲۴	۲۲/۱۵	۳/۹۷	۴۹/۵۲	C18:2
۱/۰۱	۲/۲۰	۳/۷۵	۷/۱۱	C18:3
—	۰/۴۵	۲/۱۱	۰/۲۵	C18:4n-3
—	۰/۲۳	۰/۷۸	—	C20:00
—	—	۱/۰۳	—	C20:1cis
—	—	۰/۹۶	—	C20:4n-3
—	—	۱/۱۱	—	C20:4n-6
—	—	۸/۱۷	—	C20:5n-3
—	—	۰/۳۴	—	C22:1 cis
—	—	۱/۷۴	—	C22:5n-3
—	—	۱۰/۵۲	—	C22:6n-3

ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۴ نشان داده شده است.

جیره دام‌ها با نرم‌افزار Amino cow و بر اساس NRC (۲۰۰۱) تنظیم شده و به صورت کاملاً مخلوط شده در دو وعده (صبح و ظهر) به گاوها داده شد. ترکیب مواد خوراکی و

جدول ۴- ترکیب مواد خوراکی (گرم در کیلوگرم) و ترکیب شیمیایی (درصد از ماده خشک یا واحد بیان شده) جیره‌های آزمایشی
Table 4. Experimental diet ingredients (gr/kg) and chemical composition (% of DM)

اشباع	کلسیمی	امگا ۳	فول فت	شاهد	
۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	ذرت
۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	جو
۱۷۶	۱۶۹	۱۶۹	۱۷۸	۲۰۹	کنجاله سویا
۵۰	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰	کنجاله کلزا
۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	پودر گوشت
۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	پنبه دانه
.	.	.	۲۵	۳۰	پودر چربی اشباع
۱۱	۲۶	۲۶	۱۸	۱۷	سبوس گندم
۱۰	۲	۲	۱۰	۱۰	کربنات کلسیم
۱۴	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴	جوش شیرین
۵	۵	۵	۵	۵	نمک
۴	۴	۴	۴	۴	اکسید منیزیم
۵	۵	۵	۵	۵	بتونیت
۶	۶	۶	۶	۶	مکمل
.	.	.	۳۵	.	فول فت
.	.	۶۹	.	.	کنجاله سویا - امگا ۳
.	۶۹	.	.	.	کنجاله سویا - کلسیمی
۶۹	کنجاله سویا - اشباع
					ترکیب شیمیایی
۲/۰۰	۲/۰۰	۲/۰۰	۲/۰۰	۲/۰۰	انرژی خالص شیردهی (مگا کالری در کیلوگرم)
۱۹/۷۷	۱۹/۷۷	۱۹/۷۷	۱۹/۷۷	۱۹/۷۷	پروتئین خام (درصد)
۲۹/۹	۲۹/۹	۲۹/۹	۲۹/۹	۲۹/۹	پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه (درصد)
۷/۲۰	۷/۲۰	۷/۲۰	۶/۶۰	۶/۵	چربی خام (درصد)
۰/۱۸۶	۰/۱۸۷	۰/۱۸۷	۰/۱۸۵	۰/۱۸۵	کلسیم (درصد)
۰/۵۸	۰/۵۹	۰/۵۹	۰/۵۶	۰/۵۶	فسفر (درصد)

داده‌های به‌دست آمده از این آزمایش توسط نرم افزار SAS با استفاده از رویه GLM در قالب یک طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت که از مدل آماری (۱) در این مطالعه استفاده شد. همچنین مقایسه میانگین‌ها به‌روش آزمون توکی و در سطح احتمال ۰/۰۵ خطا با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفتند.

به‌ترین و بیشترین میزان تجزیه‌پذیری پروتئین شکمبه‌ای به‌ترتیب در تیمار محافظت شده با چربی کلسیمی (۲۶/۵ درصد) و تیمار محافظت نشده (شاهد) (۷۰/۳ درصد) مشاهده گردید ($p < 0.0001$). نتایج این آزمایش کاهش حداقل ۱۵ درصدی و هفت درصدی تجزیه‌پذیری پروتئین شکمبه‌ای را به ترتیب در تیمارهای آزمایشی کنجاله سویا و کلزا نشان داد به گونه‌ای که کاهش تجزیه‌پذیری در تیمارهای آزمایشی کنجاله کلزا نسبت به کنجاله سویا بیشتر بود. داده‌های این مطالعه نشان می‌دهد که محافظت با منابع چربی مختلف به‌خوبی صورت پذیرفته و چربی از تجزیه‌شدن منابع پروتئینی در شکمبه توسط میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کرده است. با توجه به اینکه میکروارگانیسم‌های شکمبه توانایی شکستن زنجیره کربنی اسیدهای چرب موجود در خوراک را ندارند (۱۶) لذا وجود چربی در اطراف ذرات پروتئینی باعث بیشتر شدن میزان پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه می‌شود. در راستای پژوهش حاضر، نشان داده شد، پوشش‌دار کردن کنجاله سویا با چربی اشباع سبب ایجاد مقادیر بالاتری از پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه در مقایسه با کنجاله سویای فاقد پوشش شد به گونه‌ای که سطوح ۴۰ و ۵۰ درصد چربی اشباع به‌ترتیب سبب افزایش بیشتر پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه به‌میزان ۲۵ و ۴۷ درصد در مقایسه با تیمار شاهد شد (۲۱). مطالعه‌ی نیا و اینگالز (۱۴) نشان داد که محافظت کنجاله کلزا در شکمبه با چربی کلسیمی یا اشباع موجب کاهش ۳۱ درصدی قابلیت هضم شکمبه‌ای شد (۱۴).

داده‌های به‌دست آمده از این آزمایش توسط نرم افزار SAS با استفاده از رویه GLM در قالب یک طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت که از مدل آماری (۱) در این مطالعه استفاده شد. همچنین مقایسه میانگین‌ها به‌روش آزمون توکی و در سطح احتمال ۰/۰۵ خطا با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفتند.

$$Y: \mu + T_i + A_j + TA_{ij} + E_{ij} \quad (\text{رابطه ۱})$$

که در این مدل Y: متغیر وابسته، μ : میانگین کل، T_i : اثر تیمار، A_j : عامل تصادفی حیوان، TA_{ij} : اثر متقابل حیوان و تیمار و E_{ij} : اثر خطای آزمایشی بود.

نتایج و بحث

آزمایش درون تنی

گوارش‌پذیری پروتئین تیمارهای مختلف در شکمبه، روده و کل دستگاه گوارش در جدول ۵ نشان داده شده است. اختلاف معنی‌داری در تجزیه‌پذیری پروتئین شکمبه‌ای و قابلیت هضم روده‌ای بین تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد مشاهده شد، به گونه‌ای که میزان تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه و قابلیت هضم در روده در تمام تیمارهای آزمایشی کنجاله‌های سویا و کلزا نسبت به تیمار شاهد آن‌ها به‌ترتیب کمترین و بیشترین بود ($p < 0.0001$). کمترین میزان تجزیه‌پذیری پروتئین شکمبه‌ای در ساعت ۱۶ آنکوباسیون در بین تیمارهای آزمایشی کنجاله سویا مربوط به تیمارهای کنجاله سویا با چربی اشباع (۵۳/۹ درصد) و محافظت شده با چربی کلسیمی (۵۸/۷ درصد) بود ($p < 0.0001$) در حالی که بیشترین میزان مربوط به کنجاله سویا محافظت نشده (۷۹/۳ درصد) بود

با این حال، قابلیت هضم پروتئین در کل دستگاه گوارش در بین تیمارهای سویا تفاوت معنی‌داری نداشت. اما در بین تیمارهای کلزا، تیمار محافظت شده با چربی امگا۳ و چربی کلسیمی قابلیت هضم را در مقایسه با تیمار محافظت شده با چربی اشباع به‌طور معنی‌داری بهبود بخشیدند ($p=0.009$)، اگرچه تنها تیمار امگا۳ با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. چنین افزایشی در قابلیت هضم پروتئین در کل دستگاه گوارش احتمالاً به‌دلیل اثر حرارت بر پروتئین کلزا در فرآیند ساخت ترکیبات عبوری است.

نتایج قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش با نتایج نیا و اینگالز (۱۴) هم‌خوانی داشت، آنها بیان کردند که قابلیت هضم پروتئین در بین تیمارهای محافظت شده و نشده کنجاله سویا تفاوت معنی‌داری نداشت ولی در گوارش‌پذیری پروتئین در کل دستگاه گوارش بین تیمارهای کنجاله کلزا اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (۱۴). اگرچه وطن‌دوست و همکاران (۲۵) مشاهده کردند که افزودن روغن در سطوح مختلف بر کنجاله سویا و کلزا اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم پروتئین در کل دستگاه گوارش نداشت (۲۵).

در بین تیمارهای کنجاله سویا کمترین و بیشترین گوارش‌پذیری روده‌ای به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد (۸۱/۳ درصد) و تیمار سویا محافظت شده با چربی کلسیمی (۹۴/۵ درصد) و اشباع (۹۳/۳ درصد) بود ($p<0.0001$). همچنین کمترین میزان گوارش‌پذیری روده‌ای در بین تیمارهای کلزا مربوط به تیمار کنجاله کلزا محافظت نشده با میانگین ۷۸/۷ درصد بود ($p<0.0001$)، در حالی که تیمار کلزا محافظت شده با امگا۳ و چربی کلسیمی به‌ترتیب با میانگین ۹۴/۴ و ۹۳/۱ درصد بیشترین میزان قابلیت هضم روده‌ای را نشان دادند ($p<0.0001$). می‌توان نتیجه گرفت که به‌دلیل بالا بودن میزان تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای در تیمارهای شاهد بخش غیرقابل هضم‌تری از پروتئین (بخش C) به روده رسیده و باعث کاهش قابلیت هضم روده‌ای شده است. در راستای نتایج قابلیت هضم پروتئین در روده نشان داده شده است که فرآوری کنجاله کلزا با حرارت با نتایج مطالعه‌ی نیا و اینگالز (۱۴) سازگار است. همچنین بیان شده است که کنجاله سویا فرآوری شده با حرارت نیز به‌طور معنی‌داری قابلیت هضم روده‌ای را افزایش داد (۱۵).

جدول ۵- میانگین قابلیت هضم پروتئین منابع مختلف پروتئین محافظت شده در شکمبه و روده و در کل دستگاه گوارش
Table 5. Mean of protein digestibility of various source of protected protein in rumen, small intestine and total tract

سطح معنی‌داری	انحراف معیار استاندارد	تیمار			شاهد		
		محافظت شده با چربی اشباع	محافظت شده با چربی کلسیمی	محافظت شده با چربی امگا۳			
۰/۰۰۰۶	۲/۵۹	۵۲/۹۳ ^c	۵۸/۷۳ ^{bc}	۶۳/۶۳ ^b	۷۹/۳۰ ^a	کنجاله سویا	قابلیت هضم شکمبه‌ای
۰/۰۰۰۱	۱/۷۹	۶۳/۱۶ ^b	۲۶/۵۰ ^d	۴۴/۴۰ ^c	۷۰/۳۰ ^a	کنجاله کلزا	
۰/۰۰۰۱	۰/۴۹	۹۳/۳۳ ^{ab}	۹۴/۵۵ ^a	۹۱/۹۰ ^b	۸۱/۳۵ ^c	کنجاله سویا	قابلیت هضم روده‌ای
۰/۰۰۰۱	۰/۷۳	۸۲/۵۰ ^b	۹۳/۱۶ ^a	۹۴/۴۶ ^a	۷۸/۷۳ ^c	کنجاله کلزا	
۰/۴۸۱	۰/۶۴	۹۷/۰۶	۹۷/۷۰	۹۶/۹۳	۹۶/۲۰	کنجاله سویا	قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش
۰/۰۰۹	۰/۶۳	۹۳/۱۳ ^c	۹۵/۷۰ ^{ab}	۹۶/۹۵ ^a	۹۳/۷۰ ^{bc}	کنجاله کلزا	

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p<0.05$).

کلزا محافظت شده با منابع مختلف چربی نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را در قابلیت هضم ماده خشک نشان دادند ($p<0.0001$). ترکیب هر یک از دو کنجاله سویا و کلزا با سه منبع چربی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را در قابلیت هضم ماده خشک روده‌ای نشان ندادند. کاهش تجزیه‌پذیری در شکمبه و افزایش قابلیت هضم در روده نشان‌دهنده فرآیند مناسب محافظت‌کنندگی از کنجاله‌ها توسط چربی بوده است. همچنین گزارش شده است که قابلیت هضم پس شکمبه‌ای ماده خشک در کنجاله سویا محافظت شده با چربی کلسیمی و اشباع افزایش یافت (۱۳).

از نظر آماری قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش در بین تمام تیمارهای کنجاله سویا تفاوت نداشت اما در بین تیمارهای کنجاله کلزا، تیمارهای محافظت شده با چربی نسبت به گروه شاهد قابلیت هضم بالاتری را نشان دادند که در این بین اختلاف تیمار محافظت شده با امگا۳ نسبت به تیمار شاهد معنی‌داری بود ($p=0.03$). دلیل افزایش قابلیت هضم می‌تواند احتمالاً ناشی از تفاوت نوع فرآوری تیمارهای کلزا نسبت به سویا و اثر دما بر روی آن باشد. نتایج قابلیت هضم ماده خشک، نتایج مربوط به قابلیت هضم پروتئین را تأیید کردند.

نتایج قابلیت هضم ماده خشک تیمارهای مختلف در جدول ۶ آورده شده است. تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک در تمامی تیمارهای کنجاله سویا و کنجاله کلزا محافظت شده نسبت به تیمارهای شاهد خود کاهش معنی‌داری یافت ($p<0.0001$). در کنجاله سویا کمترین میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک شکمبه‌ای مربوط به تیمار محافظت شده با چربی کلسیمی با میانگین ۱۴/۴ درصد بود ($p<0.0001$). در مقایسه تیمارهای کلزا کمترین میزان تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای مربوط به کنجاله کلزای محافظت شده با چربی کلسیمی و همچنین امگا۳ بود ($p<0.0001$). این نتایج به‌گونه‌ای بود که تقریباً به‌ترتیب به‌میزان ۶۸ و ۴۶ درصد موجب کاهش تجزیه‌پذیری ماده خشک در کنجاله سویا و کلزا شد. قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک نیز در کنجاله کلزا فرآوری شده با حرارت به‌مدت ۳۰ دقیقه در حدود ۳۰ درصد کاهش یافت (۱۴). صحرایی و همکاران (۲۱) با استفاده از چربی اشباع به‌عنوان عامل پوشش کنجاله سویا، کاهش میزان تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک را مشاهده کردند (۲۱). کمترین قابلیت هضم روده‌ای مربوط به تیمار شاهد کنجاله سویا و کلزا بود (به‌ترتیب ۵۵/۲ و ۲۸/۸ درصد) ($p<0.0001$). در مرحله روده‌ای نیز تیمارهای کنجاله سویا و

داد کنجاله سویا پوشش دار شده با چربی موجب محافظت آن در برابر تخمیر میکروبی شکمبه، کاهش قابلیت هضم ماده آلی و تولید گاز است که با کاهش تجزیه پذیری شکمبه ای کنجاله های پروتئینی در این پژوهش مطابقت دارد (۱۷). نتایج مطالعه دیگر نشان داد که پودر ماهی ترکیب شده با چربی موجب کاهش قابلیت هضم ماده آلی و تولید گاز در طی انکوباسیون برون تنی شد (۱۸).

نتایج مطالعه حاضر با دیگر نتایج هم خوانی داشت به طوری که گزارش شده است که استفاده از چربی کلسیمی می تواند موجب کاهش تخریب پروتئین در شکمبه و افزایش تأمین پروتئین مصرفی غیر قابل هضم شود (۲۲). همچنین صابون کلسیمی به منظور پوشش دار کردن پروتئین منجر به حداکثر کردن فراهمی پروتئین و افزایش نرخ غلظت انرژی در گاوهای شیری شد (۲۳). مطالعه پالیزدار و همکاران نیز نشان

جدول ۶- میانگین قابلیت هضم ماده خشک منابع مختلف پروتئین محافظت شده در شکمبه و روده و در کل دستگاه گوارش
Table 6. Mean of dry matter digestibility of various source of protected protein in rumen, small intestine and total tract

سطح معنی داری	انحراف معیار استاندارد	تیمار			شاهد	ملاحظات شده با چربی امگا ۳	ملاحظات شده با چربی کلسیمی	ملاحظات شده با چربی اشباع
		ملاحظات شده با چربی اشباع	ملاحظات شده با چربی کلسیمی	ملاحظات شده با چربی اشباع				
۰/۰۰۰۱	۰/۳۴	۴۲/۷۱ ^b	۱۴/۴۳ ^d	۲۲/۳۷ ^c	۸۳/۲۳ ^a	کنجاله سویا	قابلیت هضم شکمبه ای	
۰/۰۰۰۱	۱/۴۴	۴۲/۴۶ ^b	۱۷/۵۰ ^c	۲۰/۰۵ ^c	۶۴/۲۹ ^a	کنجاله کلزا	قابلیت هضم روده ای	
۰/۰۰۰۱	۲/۰۵	۸۷/۱۰ ^a	۸۷/۸۱ ^a	۸۶/۳۳ ^a	۵۲/۲۸ ^b	کنجاله سویا	قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش	
۰/۰۰۰۱	۴/۲۱	۷۰/۰۳ ^a	۷۹/۹۰ ^a	۸۱/۴۵ ^a	۲۸/۸۴ ^d	کنجاله کلزا		
۰/۳۲۷	۱/۳۸	۹۲/۵۷	۹۰/۴۰	۸۹/۳۶	۹۲/۵۲	کنجاله سویا		
۰/۰۹۶	۳/۴۷	۸۲/۷۳ ^{ab}	۸۳/۶۳ ^{ab}	۸۵/۰۹ ^a	۷۴/۵۸ ^b	کنجاله کلزا		

میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (p < ۰/۰۵).

است که اگر میزان اسیداستتاریک رسیده به دئودنوم افزایش یابد قابلیت هضم اسید استتاریک به صورت خطی کاهش می یابد. همچنین قابلیت هضم اسیداولئیک بالاتر از اسیدپالمیتیک و اسیداستتاریک است (۱). اسیداولئیک دارای خاصیت آمفی فیلیک (ترکیب شیمیایی که هم دارای خاصیت آب دوستی و هم چربی دوستی است) بوده که اثبات شده اسیداولئیک به خاطر این خاصیت تأثیر مثبتی بر روی انحلال پذیری میسلی اسیداستتاریک دارد (۲۶).

اسیدهای چرب غیر اشباع نسبت به اسیدهای چرب اشباع قابلیت هضم بالاتری دارند (۵،۲۶). هرچند در جیره شاهد و جیره فولت سویا نیز از چربی اشباع استفاده شده است اما می توان گفت بالاتر بودن میزان این چربی در تیمار سویا-چربی اشباع (۷/۲ درصد) نسبت به این دو تیمار باعث کاهش میزان قابلیت هضم آن شده است. در یک مطالعه فراتحلیلی مشاهده شد که نمک کلسیمی اسیدهای چرب پالم تأثیری بر روی قابلیت هضم NDF نداشت هرچند مکمل اسیدهای چرب اشباع حاوی مخلوطی از اسیدهای چرب پالمیتیک و اسیداستتاریک باعث افزایش قابلیت هضم NDF شد با این وجود این محققان این افزایش هضم را مربوط به کاهش مصرف ماده خشک در این تیمار دانستند (۲۷).

آزمایش برون تنی

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در کل دستگاه گوارش در مرحله مزرعای تحت تاثیر تیمارهای کنجاله سویا کپسوله شده با منابع مختلف چربی قرار گرفت (جدول ۷) (p < ۰/۰۵). گزارش پذیری ماده خشک، پروتئین، چربی در تیمار سویا کپسوله شده با چربی امگا ۳ (۸۶/۲۲، ۸۶/۵۲ و ۹۳/۶۰ درصد) نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود (p < ۰/۰۵)، با این حال با میانگین های تیمار سویا اکستروود شده اختلاف معنی داری نداشتند. قابلیت هضم ظاهری الیاف شوینده خنثی در تیمار سویا کپسوله شده با چربی اشباع در کمترین میزان نسبت به تیمارهای دیگر بود (p < ۰/۰۵)، با این حال این اختلاف با میانگین تیمار سویا کلسیمی و گروه شاهد معنی دار نبود. افزایش قابلیت هضم در تیمار سویا محافظت شده با چربی امگا ۳ می تواند به دلیل کاهش مصرف خوراک در این تیمار نسبت به تیمارهای دیگر باشد (کاهش سه تا چهار کیلوگرمی ماده خشک نسبت به دیگر تیمارها). با افزایش مصرف خوراک قابلیت هضم مواد مغذی در گاوهای شیری کاهش می یابد (۳،۱۶).

پروفایل اسیدهای چرب رسیده به دئودنوم عامل بسیار مهم در قابلیت هضم اسیدهای چرب هستند (۲۰). مشخص شده

جدول ۷- اثر تیمارهای حاوی سویا پوشش دار شده با منابع مختلف چربی بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در کل دستگاه گوارش
Table 7. effect of protected soybean meal with different fat sources on apparent digestibility of nutrient in total tract

P value	SEM	تیمارهای آزمایشی				شاهد	مورد
		سویا-اشباع	سویا-کلسیمی	سویا-w ₃	سویا اکستروود شده		
۰/۰۰۰۱	۰/۸۹	۷۷/۸۷ ^d	۸۲/۳۷ ^{bc}	۸۶/۲۳ ^a	۸۵/۸۴ ^{ab}	۸۱/۹۹ ^c	ماده خشک
۰/۰۰۰۱	۰/۹۹	۷۸/۴۱ ^c	۸۲/۵۰ ^{bc}	۸۶/۵۲ ^a	۸۶/۱۳ ^{ab}	۸۲/۴۶ ^{bc}	پروتئین
۰/۰۰۰۱	۰/۵۷	۸۶/۰۰ ^d	۹۰/۵ ^c	۹۳/۶۰ ^a	۹۳/۱۳ ^{ab}	۹۱/۳۷ ^{bc}	چربی
۰/۰۰۱	۲/۰۲	۶۳/۱۳ ^c	۶۹/۲۶ ^{abc}	۷۵/۴۸ ^a	۷۳/۱۹ ^{ab}	۶۷/۴۵ ^{abc}	الیاف نامحلول در شوینده خنثی

میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (p < ۰/۰۵).

محافظت کنجاله کلزا با چربی کلسیمی و امگا۳ نسبت به چربی اشباع عملکرد بهتری داشتند. می‌توان نتیجه گرفت که پوشش‌دار کردن کنجاله‌های پروتئینی با چربی باعث انتقال هضم پروتئین از شکمبه به روده و در نتیجه افزایش بخش RUP کنجاله پروتئینی خواهد شد.

استفاده از چربی‌ها به‌عنوان پوشش محافظتی منابع پروتئینی می‌تواند باعث کاهش تجزیه‌پذیری منابع پروتئینی در شکمبه و افزایش قابلیت هضم پروتئین در روده شود که بر بهره‌وری بهتر از پروتئین و بهبود تولید گاوهای شیرده اثرگذار خواهد بود. همچنین نشان داده شد که محافظت کنجاله سویا با چربی اشباع و چربی کلسیمی نسبت به چربی امگا۳ و

منابع

1. Boerman, J.P., J.L. Firkins, N.R. St-Pierre and A.L. Lock. 2015. Intestinal digestibility of long-chain fatty acids in lactating dairy cows: A meta-analysis and meta regression. *Journal of Dairy Science*, 98: 8889-8903.
2. Coblenrz, W., J. Fritz, R. Cochran, W. Rooney and K. Bolsen. 1997. Protein degradation in response to spontaneous heating in alfalfa hay by in situ and ficin methods. *Journal of Dairy Science*, 80: 700-713.
3. De Souza, J., J.L. Garver, C.L. Preseault and A.L. Lock. 2017. Short communication: Effects of prill size of a palmitic acid-enriched fat supplement on the yield of milk and milk components, and nutrient digestibility of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100: 379-384.
4. Fatahnia, F., S.G. Mosavi, E. Abdi and A. Shokri. 2014. Effect of roasting and extruding on nitrogen fractions and ruminal degradability of soybean seed protein. *Research On Animal Production*, 5(10): 84-97 (In Persian).
5. Firkins, J.L. and M.L. Eastridge. 1994. Assessment of the effects of iodine value on fatty acid digestibility, feed intake, and milk production. *Journal of Dairy Science*, 77, 2357-2366.
6. Gargallo, S., S. Calsamiglia and A. Ferret. 2006. A modified three-step in vitro procedure to determine intestinal digestion of proteins. *Journal of animal science*, 84, 2163-2167.
7. Getachew, G., E. Depeters, P. Robinson and S. Taylor. 2001. In vitro rumen fermentation and gas production: influence of yellow grease, tallow, corn oil and their potassium soaps. *Animal Feed Science and Technology*, 93: 1-15.
8. Hedayati, A.K., Y. Chashnidel, M.D. Banadaky and A.T. Yansari. 2017. Effects of different processing of soybean meal on ruminal degradability parameters and intestinal digestibility of crude protein and amino acids in Holstein cows. *Iranian Journal of Animal Science*, 48(3): 353-362 (In Persian).
9. Ipharraguerre, I., J. Clark and D. Freeman. 2005. Rumen fermentation and intestinal supply of nutrients in dairy cows fed rumen-protected soy products. *Journal of dairy science*, 88: 2879-2892.
10. Kamalak, A., O. Canbolat, Y. Gurbuz and O. Ozay. 2005. Protected protein and amino acids in ruminant nutrition. *Journal of Science and Engineering*, 8: 84-88.
11. Kang, S., M. Wanapat, P. Pakdee, R. Pilajun and A. Cherdthong. 2012. Effects of energy level and *Leucaena leucocephala* leaf meal as a protein source on rumen fermentation efficiency and digestibility in swamp buffalo. *Animal Feed Science and Technology*, 174: 131-139.
12. Kononoff, P.J., S. Ivan and T.J. Klopfenstein. 2007. Estimation of the proportion of feed protein digested in the small intestine of cattle consuming wet corn gluten feed. *Journal of dairy science*, 90: 2377-2385.
13. Manterola, H.B., D.A. Cerda and J.J. Mira. 2001. Protein degradability of soybean meal coated with different lipid substances and its effects on ruminal parameters when included in steer rations. *Animal feed science and technology*, 92: 249-257.
14. Nia, S.M. and J. Ingalls. 1992. Effect of heating on canola meal protein degradation in the rumen and digestion in the lower gastrointestinal tract of steers. *Canadian journal of animal science*, 72: 83-88.
15. Nowak, W., S. Michalak and S. Wylegala. 2005. In situ evaluation of ruminal degradability and intestinal digestibility of extruded soybeans. *Czech Journal Animal Science*, 50: 281-287.
16. NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC.
17. Palizdar, M., H. Amanlou, H.R. Mohammadian-Tabrizi and A. Mirhadi. 2012. Effects of soybean meal coated with fat on in vitro organic matter fermentation and gas production. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11: 171-180.
18. Palizdar, M., H. Sadeghipanah, H. Amanlou, K. Nazer and A. Mirhadi. 2011. In vitro organic matter digestibility and gas production of fish-meal coated with fat. *African Journal of Biotechnology*, 10: 248-255.
19. Perfield J., A. Lock, A. Peeiffer and D. Bauman. 2004. Effects of amide-protected and lipid-encapsulated conjugated linoleic acid (CLA) supplements on milk fat synthesis. *Journal of Dairy Science*, 87: 3010-3016.

20. Rico, J.E., J. de Souza, M.S. Allen and A.L. Lock. 2017. Nutrient digestibility and milk production responses to increasing levels of palmitic acid supplementation vary in cows receiving diets with or without whole cottonseed. *Journal of Animal Science*, 95: 436-446.
21. Sahraei-belverdy, M., A. Alamouti and A.A. Khadem. 2018. The effect of rumen protection of soybean meal by fats and zeolite on ruminal degradability and intestinal digestibility of protein. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 123: 335-348 (In Persian).
22. Sklan, D. 1989. In vitro and in vivo rumen protection of proteins coated with calcium soaps of long-chain fatty acids. *The Journal of Agricultural Science*, 112: 79-83.
23. Sklan, D. and M.Tinsky. 1993. Production and reproduction responses by dairy cows fed varying undegradable protein coated with rumen bypass fat. *Journal of dairy science*, 76: 216-223.
24. Vanzant, E.S., R.C. Cochran and E.C. Titgemeyer. 1998. Standardization of in situ techniques for ruminant feedstuff evaluation. *Journal of animal science*, 76: 2717-2729.
25. Vatandoost, M., M. Didarkhah and F. Jamili. 2020. The effect of different levels of soybean oil, soybean and canola meal on production performance, rumination activity and nutrient digestibility in holstein dairy cows. *Research On Animal Production*, 10(26): 38-47 (In Persian).
26. Weiss W.P. and D.J. Wyatt. 2004. Digestible energy values of diets with different fat supplements when fed to lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87: 1446-1454.
27. Weld, K.A. and L.E. Armentano. 2017. The effects of adding fat to diets of lactating dairy cows on total-tract neutral detergent fiber digestibility: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 100: 1766-1779.
28. Wu, Z., J. Bernard, R. Eggleston and T. Jenkins. 2012. Ruminal escape and intestinal digestibility of ruminally protected lysine supplements differing in oleic acid and lysine concentrations. *Journal of Dairy Science*, 95: 2680-2684.

Investigation of Ruminal Degradability and Intestinal Digestibility in Soybean and Canola Meals Coated with Different Fat Sources

**Mohsen Ebrahimzadeh¹, Mehdi Ganjkhanlou², Mehdi Dehghan benadaki³, Abolfazl Zali⁴
and Kamran Reza Yazdi⁵**

1- Ph.D. Student; Tehran University College of Agriculture and Natural Resources,
(Corresponding author: ganjkhanlou@ut.ac.ir)

2- Associate Professor, Tehran University College of Agriculture and Natural Resources

3- Professor, Tehran University College of Agriculture and Natural Resources

4- Associate Professor, Tehran University College of Agriculture and Natural Resources

5- Associate Professor, Tehran University College of Agriculture and Natural Resources

Received: 1 August, 2020

Accepted: 7 October, 2020

Abstract

The aim of this study was to evaluate the in vitro effect of coating soybean meal and canola meal with different fat sources on ruminal degradability and intestinal digestibility, as well as, the in vivo digestibility. For this purpose, calcium salt of omega-3, calcium salts of unsaturated fatty acids and prilled fat were used for coating. To determine ruminal degradability, three lactating Holsteins cows fitted with rumen fistulas were used and ruminal degradability and intestinal digestibility of dry matter and crude protein were measured. In the in vivo experiment, 40 Holstein cows were randomly assigned to five treatments (control, full fat soybean, soybean-omega3, soybean-ca salt and soybean-prilled fat). The results of the present study showed that coating soybean meal and canola meal with different fats reduced the degradability of dry matter and protein in the rumen and increased their digestibility in the intestine ($p < 0.0001$). It was also shown that protection of soybean meal with prilled fat and calcium salts of unsaturated fatty acids was better than omega 3, but coating of canola meal with calcium salt and omega 3 fats was better than prilled fat ($p < 0.05$). The results of in vitro experiment showed that omega-3 coated soybean meal had the highest digestibility ($p = 0.009$). It can be concluded that coating protein meal with fat will transfer protein digestion from rumen to intestine and thus increase the RUP portion of protein meal.

Keywords: Coating, Calcium fat, Digestibility, Omega 3, Protein meal



"مقاله پژوهشی"

بررسی نقش گیرنده‌های کورتیکوتروپینی بر مصرف غذا با استفاده از آگونیست گیرنده‌های M_3 و M_4 ملانوکورتینی در جوجه‌های گوشتی

فریبا احمدی دشتیانی^۱، مرتضی زنده دل^۲، وهاب باباپور^۳ و نگار پناهی^۴

۱- دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران

۲- دانشیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران، (نویسنده مسؤل : zendedel@ut.ac.ir)

۳- استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۴- استادیار دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۲۹

صفحه: ۶۶ تا ۷۳

چکیده

شواهد به دست آمده از پژوهش‌های حیوانی حاکی از نقش سیستم‌های کورتیکوتروپینی و ملانوکورتینی در مصرف خوراک دارد، اما ارتباط آنها تاکنون در پرندگان بررسی نشده است. در این پژوهش سه آزمایش با هدف بررسی گیرنده‌های کورتیکوتروپینی بر مصرف غذا با استفاده از آگونیست گیرنده‌های M_3 و M_4 ملانوکورتینی در جوجه‌های تازه از تخم درآمده انجام شد (هر آزمایش شامل چهار گروه و ۱۱ جوجه در هر گروه بود). در آزمایش اول، جوجه‌های محروم از غذا به مدت سه ساعت، تزریقات داخل بطن مغزی (ICV) را به شکل زیر دریافت کردند: سالین، MTH (آگونیست گیرنده‌های MC_3/MC_4 ۲/۴۵، ۴/۹ و ۹/۸ پیکومول). در آزمایش دوم، سالین، MTH (۹/۸ پیکومول)، astressin-B (آنتاگونیست گیرنده‌های CRF_1/CRF_2 ۳۰ میکروگرم) و astressin-B + MTH تزریق شدند. در آزمایش سوم، جوجه‌ها با سالین، MTH (۹/۸ پیکومول)، astressin-2B (آنتاگونیست گیرنده‌های CRF_2 ۳۰ میکروگرم) و astressin-B + MTH تزریق شدند. سپس مصرف تجمعی غذا تا ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق اندازه‌گیری شد. با توجه به نتایج به دست آمده، کاهش وابسته به دوز بر مصرف غذا بعد از MTH دیده شد ($p < 0.05$). تزریق داخل بطنی مغزی MTH (۹/۸ پیکومول) + astressin-2B موجب مهار هیپوفازای ناشی از MTH شد ($p < 0.05$). نتایج نشان‌دهنده این بود که هیپوفازای ناشی از سیستم ملانوکورتینی از طریق گیرنده‌های CRF_2 کورتیکوتروپینی در جوجه‌های گوشتی میانجی‌گری می‌شود.

واژه‌های کلیدی: جوجه‌های گوشتی، سیستم ملانوکورتینی، کورتیکوتروپینی، مصرف غذا

مقدمه

که درگیر تنظیم انرژی بدن هستند، یافت می‌شوند. بروز جهش در ژن پرواپیوملانوکورتین و یا بروز نقص در فراورده‌های ناشی از این ژن همچنین در گیرنده‌های MC_3R و MC_4R موجب چاقی زودرس و یا چاقی دیررس در انسان می‌شوند. مهم‌ترین لیگاند داخلی برای گیرنده MC_3R و MC_4R هورمون تحریک کننده ملانوسیت α -MSH است که در بخش جانبی هسته‌ی قوسی بیان می‌شود. تزریق درون‌بطنی مغزی آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های MC_4R به ترتیب سبب کاهش و افزایش مصرف غذا می‌گردد. پپتید مرتبط با آگوتی AgRP که آنتاگونیست طبیعی گیرنده‌های MC_3R و MC_4R است به همراه نروپپتید Y به میزان نود درصد در نورون‌های هسته‌ی قوسی قرار دارند. این پپتید کاهش دریافت غذای ناشی از تزریق درون بطن مغزی α -MSH را سرکوب می‌کند (۲۳). علاوه بر نقش افزایش دهنده‌ی اشتها AgRP، همچنین مشخص شده است که این پپتید مصرف انرژی را در بدن کاهش می‌دهد (۲۳). هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپیک پپتید ۴۱ اسید آمینه‌ای است و نقش مهمی در تنظیم جنبه‌های مرکزی پاسخ به تنش دارد (۲۱). گیرنده‌های کورتیکوتروپین (CRF_1 و CRF_2) گیرنده‌های همراه پروتئین G و در بسیاری از فعالیت‌های سیستم عصبی مرکزی مثل عملکرد هیپوفیز در اضطراب و تنش نقش دارند (۲۵). فعال شدن گیرنده‌های CRF_1 و CRF_2 باعث کاهش مصرف مواد غذایی می‌شود (۱۷). مشخص شده است که تزریق درون بطنی مغزی آنتاگونیست

دریافت غذا مجموعه‌ای از سازوکارهای فیزیولوژیک با سطوح مختلف تنظیم‌کننده را شامل می‌شود که نواحی مختلفی از دستگاه عصبی مرکزی و همچنین محل‌هایی در خارج این دستگاه را درگیر می‌نماید. عوامل گوناگونی مانند پپتیدها، هورمون‌ها، میانجی‌ها و تعدیل‌کننده‌های عصبی، شبکه‌ها، مسیرها، هسته‌ها و مراکز مغزی، دستگاه عصبی خودمختار و نیازهای متابولیکی در این پدیده نقش دارند و ده‌ها فرضیه برای تبیین سازوکارهای تنظیم اشتها ارائه شده است. با این همه و علی‌رغم تحقیقات بسیار گسترده‌ای که در چند دهه‌ی اخیر در این زمینه صورت گرفته است، هنوز ناشناخته‌های فراوانی پیرامون چگونگی دریافت اختیاری غذا وجود دارد (۱۵). ملانوکورتین‌ها هورمون‌های آدرنوکورتیکوتروپ و هورمون‌های محرک ملانویت را شامل می‌شوند که از شکسته‌شدن مولکول بزرگ پرواپیوملانوکورتین به دست آمده و اثرات خود را از طریق اتصال به خانواده گیرنده‌های ملانوکورتین اعمال می‌کنند. میزان بیان پرواپیوملانوکورتین تابعی از وضعیت انرژی بدن است. میزان mRNA پرواپیوملانوکورتین به‌طور قابل توجهی در حیوانات گرسنه کاهش و به‌وسیله تزریق لپتین افزایش می‌یابد و همچنین شش ساعت پس از تغذیه بازبایی می‌گردد (۲۳). گیرنده‌های ملانوکورتین (MC_3R) و ملانوکورتین ۴ (MC_4R) در نواحی هیپوتالاموس مثل هسته‌ی قوسی، هسته شکمی میانی و هسته‌ی مجاور بطنی

مواد و روش‌ها

این پژوهش در تابستان سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه فیزیولوژی و بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام گرفت. این طرح در سه مرحله (جداول ۱ تا ۳) و در هر گروه آزمایشی از ۱۱ قطعه جوجه یک روزه گوشتی استفاده شد. به منظور کاهش مرگ و میر جوجه‌ها کسب غذای کافی در روز اول تغذیه‌ای توسط آن‌ها بسیار مهم است (۱۹). در هر مرحله جوجه‌ها تحت شرایط محیطی استاندارد (نور- دما- رطوبت) و جیره مناسب پرورش یافتند. جوجه‌ها به مدت دو روز به طور گروهی نگهداری شده و پس از آن به قفس‌های انفرادی انتقال داده شدند. غذای مصرفی آن‌ها شامل پیش‌دان حاوی ۲۱ درصد پروتئین و ۲۸۵۰ کیلو کالری انرژی قابل متابولیسم بود. پرندگان در معرض نور مداوم قرار گرفته و دمای داخل قفس در ۳۲-۳۱ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود (۱۶). جوجه‌ها به مدت ۲ روز به صورت گروهی نگهداری شده و بعد در قفس‌های انفرادی قرار گرفتند.

گیرنده‌های کورتیکوتروپین (Astressin-B یا Astressin-2) باعث کاهش مصرف مواد غذایی در موش صحرایی می‌شود (۲۲). همچنین، محققین بیان کردند که تزریق داخل بطنی مغزی Astressin-2-B موجب کاهش مصرف مواد غذایی در پرندگان شد (۵). به تازگی، حیدرزاده و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند تزریق درون بطنی مغزی Astressin-B بر هیپوفیزی ناشی از نسفاتین-۱^۱ در مرغ گوشتی تأثیر می‌گذارد (۷). علی‌رغم مطالعات انجام شده تاکنون پژوهشی در خصوص اثر متقابل این دو سیستم در تنظیم مرکزی اشتها در پرندگان صورت نگرفته است. شناسایی این مسیرها در بهبود ژنتیک و تغذیه طیور و افزایش راندمان و بهره‌وری پرندگان دارای اهمیت است. از طرفی مشخص شده است که وضعیت تغذیه‌ای (سیر یا گرسنه بودن حیوان) نقش مهمی در تعیین اشتها بازی می‌کند (۱۵). جوجه‌های گوشتی امروزی به پر خوری و سرعت رشد بالا معروف هستند (۹). پژوهش حاضر به منظور مشخص کردن نقش گیرنده‌های کورتیکوتروپینی بر مصرف غذای ناشی از آگونیست گیرنده‌های M₃ و M₄ ملانوکورتینی در جوجه‌های گوشتی انجام شد.

جدول ۱- نحوه انجام تزریقات در مرحله اول

Table 1. How to perform injections in the first step

گروه	کنترل
گروه ۱	سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو ۰/۱٪
گروه ۲	MTII (آگونیست گیرنده‌های MC3/MC4 ۲/۴۵ پیکومول)
گروه ۳	MTII (آگونیست گیرنده‌های MC3/MC4 ۴/۹ پیکومول) MTII (آگونیست گیرنده‌های MC3/MC4 ۹/۸ پیکومول)

جدول ۲- نحوه انجام تزریقات در مرحله دوم

Table 2. How to perform injections in the second step

گروه آزمایشی	تزریق
کنترل	سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو ۰/۱٪
گروه ۱	MTII (۹/۸ پیکومول)
گروه ۲	astressin-B (۳۰ میکروگرم)
گروه ۳	astressin-B + MTII

جدول ۳- نحوه انجام تزریقات در مرحله سوم

Table 3. How to perform injections in the third step

گروه آزمایشی	تزریق
کنترل	سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو ۰/۱٪
گروه ۱	MTII (۹/۸ پیکومول)
گروه ۲	astressin-2B (۳۰ میکروگرم)
گروه ۳	astressin-2B + MTII

بطن جانبی بود مورد آنالیز قرار گرفت. زیرا رنگ اوانس بلو ۰/۱ درصد در نرمال سالین ۰/۸۵ درصد به عنوان شاهد در گروه کنترل استفاده شد و دیگر داروهای مد نظر یا در آن حل شده و یا در آن رقیق شدند. مقادیر داروهای تزریقی با استفاده از مطالعات قبلی انتخاب شدند (۷، ۱۵، ۱۱، ۲۴). سپس مقدار غذای تجمعی در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق اندازه‌گیری شد. همچنین مصرف غذا به عنوان درصدی از وزن بدن بیان شد تا تأثیر تفاوت وزن بین جوجه‌ها بر میزان مصرف غذا به حداقل برسد. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، نتایج حاصل از هر مرحله و برای هر دوره زمانی توسط آنالیز واریانس دو طرفه بر پایه اندازه‌گیری‌های تکراری مورد تجزیه

تزریق درون بطنی مغزی در پنج روزگی جوجه انجام شد. جهت تزریق بطنی مغزی در جوجه‌ها، سر جوجه هوشیار توسط یک وسیله اکریلیک که زاویه نوک آن ۴۵ درجه می‌باشد نگه داشته می‌شود و سطح مجسمه موازی با سطح میز کار است. یک سوراخ در کلیشه تعبیه شده و کلیشه بلافاصله بر روی مجسمه در ناحیه بطن راست قرار می‌گرفت. با استفاده از سرنگ هاملتون از طریق سوراخ ایجاد شده در بطن مواد مورد نظر تزریق شد. سر سوزن تنها به اندازه چهار میلی‌متر در پوست و مجسمه فرو می‌رود (۳). این پروسه در جوجه‌ها تنش‌زا نمی‌باشد (۱۸).

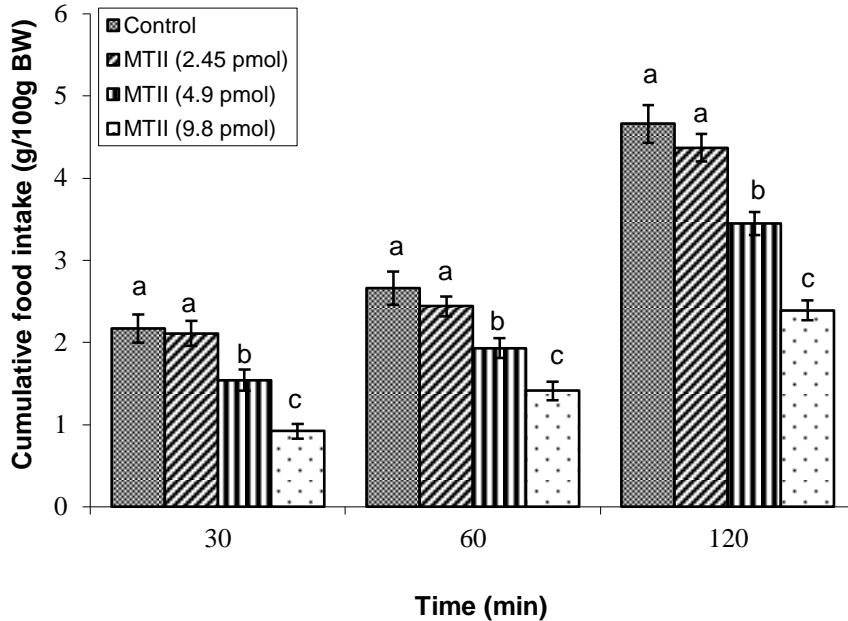
در پایان آزمایش جوجه‌ها با اتر کشته و محل تزریق مورد بررسی قرار گرفت و تنها داده‌های جوجه‌هایی که رنگ در

۴/۹ و ۹/۸ نانوگرم)، به‌طور معنی‌داری موجب کاهش مصرف غذا در جوجه‌های گوشتی شد ($p \leq 0.05$). همچنین تفاوت معنی‌داری بین سطوح ۲/۴۵ و ۴/۹ نانوگرم دیده نشد ($p > 0.05$).

و تحلیل قرار گرفته و برای بررسی سطح معنی‌داری از تست بونفرونی استفاده شد.

نتایج و بحث

همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود، تزریق سطوح مختلف MTII (آگونیست گیرنده‌های MC_3/MC_4 (۲/۴۵،

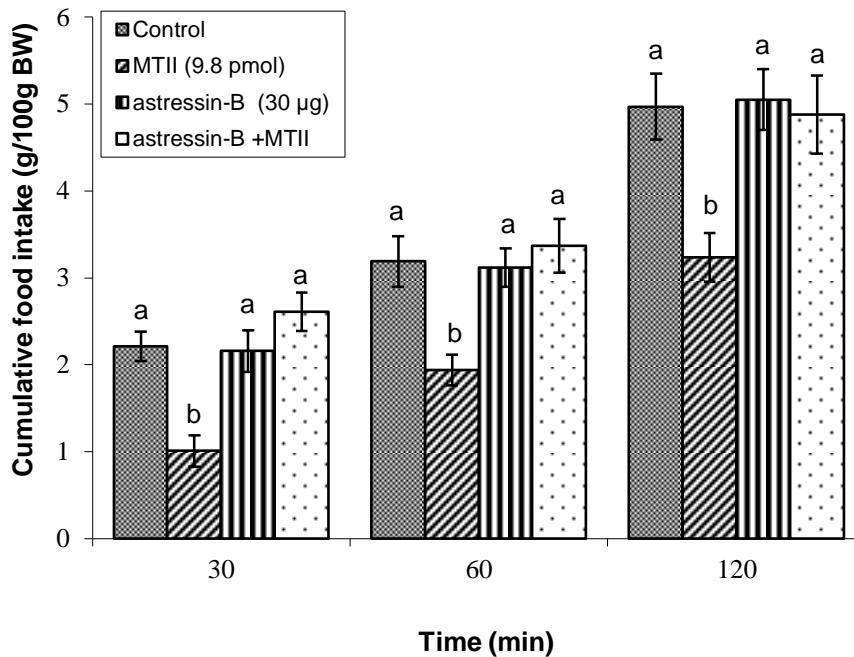


شکل ۱- اثر تزریق MTII آگونیست گیرنده‌های MC_3/MC_4 (۲/۴۵، ۴/۹ و ۹/۸ نانوگرم) بر مصرف غذای تجمعی در جوجه‌های گوشتی. حروف نامشابه (a، b و c) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مختلف در هر زمان است ($p \leq 0.05$).

Figure 1. Effects of intracerebroventricular injection MTII (MC_3/MC_4 receptors agonist; 2.45, 4.9 and 9.8 ngr) on cumulative food intake in neonatal meat-type chicks. Different letters (a, b and c) indicate significant differences between treatments at each time ($P \leq 0.05$).

پیکومول) + *astressin-B* اثری بر هیپوفازای ناشی از MTII نداشت ($p > 0.05$). احتمالاً اثرات MTII از طریق مسیر عصبی *astressin-B* میانجی‌گری نمی‌شود.

با توجه به شکل ۲، تزریق MTII (۹/۸ پیکومول) به‌طور معنی‌داری موجب کاهش مصرف غذا در جوجه‌های گوشتی شد ($p \leq 0.05$). تزریق درون بطنی مغزی MTII (۹/۸

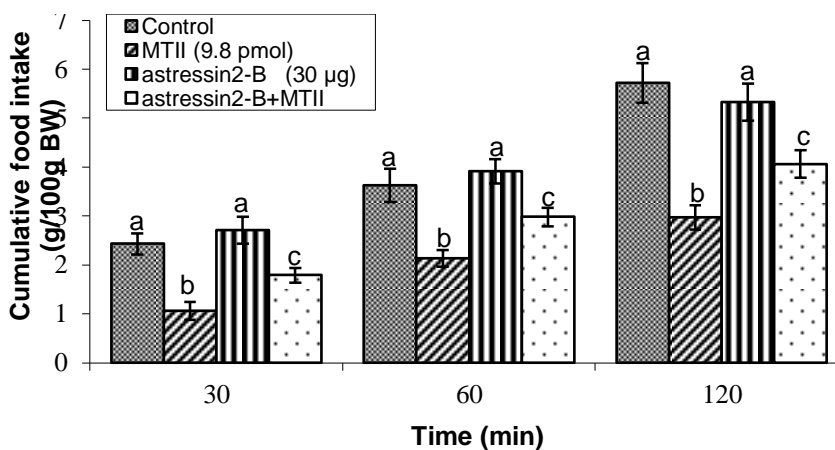


شکل ۲- اثر تزریق سالین، MTII (۹/۸ پیکومول)، astressin-B (آنتاگونیست گیرنده‌های CRF1/۳۰ میکروگرم) و MTII + astressin-B بر مصرف غذایی تجمعی در جوجه‌های گوشتی. حروف نامشابه (a و b، c) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مختلف در هر زمان است ($p \leq 0.05$).

Figure 2. Effects of intracerebroventricular injection of control solution (PBS), MTII (9.8 pmol), astressin-B (CRF1/CRF2 receptors antagonist; 30 µg) and MTII+ astressin-B on cumulative food intake in neonatal meat-type chicks. Different letters (a and b) indicate significant differences between treatments at each time ($P \leq 0.05$).

پیکومول) + astressin-2B موجب مهار هیپوفازای ناشی از MTII شد ($p < 0.05$).

در شکل ۳، تزریق MTII (۹/۸ پیکومول) به‌طور معنی‌داری موجب کاهش مصرف غذا در جوجه‌های گوشتی شد ($p \leq 0.05$). از طرفی تزریق درون بطنی مغزی MTII (۹/۸)



شکل ۳- اثر تزریق سالین، MTII (۹/۸ پیکومول)، astressin-2B (آنتاگونیست گیرنده‌های CRF2/۳۰ میکروگرم) و MTII + astressin-2B بر مصرف غذایی تجمعی در جوجه‌های گوشتی. حروف نامشابه (a و b، c) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مختلف در هر زمان است ($p \leq 0.05$).

Figure 3. Effects of intracerebroventricular injection of control solution (PBS), MTII (9.8 pmol), astressin-2B (CRF1/CRF2 receptors antagonist; 30 µg) and MTII+ astressin-B on cumulative food intake in neonatal meat-type chicks. Different letters (a, b and c) indicate significant differences between treatments at each time ($P \leq 0.05$).

پیشین در جوندگان (۲۳) و پرنده‌ها بود (۲۰). هر دو گیرنده MC4R و MC3R در مغز موش بیان می‌شوند، ولی احتمال

با توجه به نتایج به‌دست آمده، کاهش وابسته به دوز بر مصرف غذا بعد از MTII دیده شد که همسو با پژوهش‌های

مشخص شده است که تزریق داخل مغزی آگونیست ملانوکورتین موجب بروز بی‌اشتهایی و افزایش غلظت کورتیکواسترون به صورت وابسته به دوز می‌شود. هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین اولین عامل تنظیم کننده محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-فوق کلیه می‌باشد. رونویسی و بیان ژن هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین در هسته پاراونتریکلار و غلظت کورتیکواسترون توسط آگونیست ملانو کورتین (MTII) افزایش می‌یابد که نشان دهنده نقش سیستم ملانوکورتینی در تحریک محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-فوق کلیه می‌باشد (۱۳). نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نیز نشان دهنده اثر متقابل سیستم ملانوکورتینی و کورتیکوتروپین در تنظیم مرکزی جوجه‌های گوشی بود.

اثرات هیپوفازیک نورون‌های ملانوکورتین ممکن است از طریق اثر POMC¹ بر NMDA¹ انجام شود که جزیی از اثرات سیستم ملانوکورتینی بر تنظیم انرژی به آزاد شدن POMC از هیپوتالاموس مرتبط است (۱۴). همچنین مشخص است که POMC و گیرنده‌های MC₄R و MC₃R در ARC و NTS پراکنش دارد که با NPY و AgRP بیان می‌شود (۸). در حقیقت نورون‌های POMC و AgRP در کنار همدیگر در نزدیکی گیرنده‌های MC₄R و MC₃R در ARC بیان می‌شوند. این نورون‌ها با مسیرهای نورونی دیگری مثل گلوتامات تقابل عمل دارند که موجب اثر بر آزاد شدن نوروترانسمیترهایی می‌شوند که در تنظیم اشتها، سوخت و ساز و متابولیسم ایفای نقش دارند. علی‌رغم اینکه مکانیسم دقیق سلولی مؤثر در عمل سیستم ملانوکورتینی مغز مشخص نیست، اما پیشنهاداتی در مسیرهای احتمالی داده شده است. به‌عنوان مثال، محققین بیان کرده‌اند که فعال شدن پیش سیناپسی گیرنده‌های Gαs MC₄R از طریق پایانه‌های آوران واگ بواسطه MTII موجب کاهش مصرف غذا در موش می‌شود (۱۰). همچنین گزارش شده است که کاهش اشتها ناشی از MTII به وسیله مهار کننده پروتیین کیناز A مهار می‌شود (۲۳)، درحالی‌که رها شدن گلوتامات نیازمند فسفریلاسیون سیناپسین (۱۵) در انتهای آوران واگ است (۲۳). فعال شدن سیناپسین (۱۵) یکی از مولکول‌های اصلی محرک در آزاد شدن نوروترانسمیتر است (۱۰). بنابراین آزاد شدن گلوتامات به واسطه سیناپسین (۱۵) برای هیپوفازی ناشی از MTII در موش ضروری است. بنابراین بلوک گیرنده‌های NMDA موجب تقلیل اثرات هیپوفازیک ناشی از MTII می‌شود. فسفریلاسیون سیناپسین وابسته به گیرنده NMDA در پایانه‌های آوران واگ مکانیسمی است که به واسطه فعال شدن گیرنده‌های NMDA در طی هیپوفازی ناشی از MTII رخ می‌دهد (۶).

نتایج نشان دهنده این بود که هیپوفازی ناشی از سیستم ملانوکورتینی از طریق گیرنده‌های CRF₂ کورتیکوتروپینی در جوجه‌های گوشی میانجی‌گری می‌شود. نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌تواند پایه‌ای بر مطالعات بعدی در زمینه تنظیم مرکزی اشتها در جوجه‌های گوشی باشد. براساس پژوهش‌های انجام شده برای روشن شدن مکانیسم

داده می‌شود که MC₄R تنها گیرنده ملانوکورتینی مغز پرندگان باشد (۱۴). تزریق داخل بطنی مغزی MTII (۹/۸ پیکومول) + astressin-B اثری بر هیپوفازی ناشی از MTII نداشت. تزریق داخل بطنی مغزی MTII (۹/۸ پیکومول) + astressin-2B موجب مهار هیپوفازی ناشی از MTII شد. بانگو و همکاران در سال ۲۰۰۸ اثر مرکزی انسولین در کاهش اشتها جوجه‌ها از طریق نورون‌های ملانوکورتینی مورد بررسی قرار دادند و نقش واسطه‌گری نورون‌های ملانوکورتینی را در کاهش اشتها ایجاد شده توسط انسولین گزارش کردند که به دلیل تحریک گیرنده‌های MC₄ بوده است، به طوری که با تجویز ICV آنتاگونیست انتخابی MC₄R (HS014) و آنتاگونیست غیرانتخابی MC₃R و MC₄R (SHU9119) این عمل انسولین متوقف شده است. این پژوهش تشابه زیادی با پژوهش‌های موجود دارد که نقش واسطه‌گری سیستم ملانوکورتینی در تنظیم اشتها ناشی از اثر مرکزی سروتونین را بررسی کرده است (۲). لام و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند αMSH به‌عنوان لیگاند از نورون‌های POMC بر روی گیرنده‌های MC₄ عمل کرده و موجب کاهش مصرف غذا و از طرف دیگر AgRP موجب مهار αMSH می‌شود (۱۲). همچنین تزریق AgRP مصرف غذا را در جوجه‌های تخم‌گذار افزایش داده است، ولی در جوجه‌های گوشی تغییری مشاهده نشده است (۲۴). در زمینه اثر سیستم ملانوکورتین بر مصرف آب تحقیقات بسیار کمی موجود است، در یک پژوهش تزریق ICV داروی MTII که آگونیست MC₃R و MC₄R می‌باشد در دوزهای بالاتر از ۵۰ نانوگرم موجب کاهش معنی‌دار مصرف آب در موش‌های صحرایی شده است (۱۱).

هورمون آدرنو کورتیکوتروپین و فرم‌های مختلف هورمون تحریک کننده ملانوسیتی از مولکول POMC در غده هیپوفیز تشکیل می‌شوند که تحت عنوان ملانوکورتین شناخته می‌شود (۲۳). اثر α-MSH و پیش‌ساز آن POMC بر مصرف خوراک به خوبی مشخص شده است (۴). α-MSH مهم‌ترین لیگاند برای گیرنده‌های MC₃R و MC₄R در مغز است. همچنین AgRP آنتاگونیست اصلی گیرنده‌های MC₃R و MC₄R است. AgRP اغلب به‌همراه NPY بیان می‌شود، درحالی‌که تزریق هم‌زمان آنها موجب مهار اثرات α-MSH می‌شود (۱). گزارش شده است که اثرات سیستم ملانوکورتینی مغز تحت تاثیر سایر سیستم‌های عصبی می‌باشد. تحریک سیستم ملانوکورتینی بواسطه هورمون‌های مختلفی مثل گرلین، انسولین، لپتین، گلوکوکورتیکوئیدها و هورمون‌های تیروئیدی میانجی‌گری می‌شود. بنابراین ممکن است اثر متقابل نوروآندوکروینی بین هورمون‌های اشاره شده و ملانوکورتین مغزی وجود داشته باشد که وظیفه تعادل مصرف غذا و سوخت و ساز را بر عهده دارند. بنابراین مطالعاتی نیاز بود تا مسیرهای درگیر در تنظیم اثرات سایر مسیرهای سیگنالینگ بر آزادسازی ملانوکورتین مشخص شود. علی‌رغم این‌که مسیرهای سیگنالینگ در تنظیم مصرف غذا در پستاندارن انجام شده است (۲۳).

با توجه به اختلافات موجود بین پرندگان و پستانداران، نقش این سیستم به‌طور کامل در پرندگان مشخص گردد.

دقیق اثرات سیستم ملانوکورتینی و سایر سیستم‌ها در تنظیم مرکزی مصرف غذا در جوجه‌های گوشتی پیشنهاد می‌شود ارتباط سایر سیستم‌های عصبی نیز مورد بررسی قرار گیرند تا

منابع

1. Atsuchi, K., A. Asakawa, M. Ushikai, K. Ataka, M. Tsai and K. Koyama. 2010. Centrally administered nesfatin-1 inhibits feeding behaviour and gastroduodenal motility in mice. *Neuroreport*, 21(15): 1008-1011.
2. Bungo, T., K. Yahata, T. Izumi, K.I. Dodo, K. Yanagita and J.I. Shiraiishi. 2008. Centrally administered tryptophan suppresses food intake in free fed chicks through the serotonergic system. *The Journal of Poultry Science*, 45(3): 215-219.
3. Davis, J.L., D.T. Masuoka, L.K. Gerbrandt and A. Cherkin. 1979. Autoradiographic distribution of L-proline in chicks after intracerebral injection. *Physiology & Behavior*, 22(4): 693-695.
4. Dong, J., H. Xu, P.F. Wang, G.J. Cai, H.F. Song and C.C. Wang. 2013. Nesfatin-1 stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase in STZ-induced type 2 diabetic mice. *PLoS One*, 8(12): e83397.
5. Furuse, M., M. Matsumoto, N. Saito, K. Sugahara and S. Hasegawa. 1997. The central corticotropin-releasing factor and glucagon-like peptide-1 in food intake of the neonatal chick. *European Journal of Pharmacology*, 339(2-3): 211-213.
6. Guo, F.F., L. Xu, S.I. Gao, X. Sun, Z. Li and Y. Gong. 2015. The effects of nesfatin-1 in the paraventricular nucleus on gastric motility and its potential regulation by the lateral hypothalamic area in rats. *Journal of Neurochemistry*, 132(3): 266-275.
7. Heidarzadeh, H., M. Zendejdel, V. Babapour and H. Gilanpour. 2018. The effect of nesfatin-1 on food intake in neonatal chicks: role of CRF 1/CRF2 and H1/H3 receptors. *Veterinary Research Communications*, 42(1): 39-47.
8. Iwasaki, Y., H. Nakabayashi, M. Kakei, H. Shimizu, M. Mori and T. Yada. 2009. Nesfatin-1 evokes Ca²⁺ signaling in isolated vagal afferent neurons via Ca²⁺ influx through N-type channels. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 390(3): 958-962.
9. Khazari, B., M. Rezaei and M. Kazemifard. 2019. The effect of different sources of insoluble fiber on performance, nutrient digestibility and blood parameters in broiler chicks. *Rap*, 10(24): 1-9
10. Kohno, D., M. Nakata, Y. Maejima, H. Shimizu, U. Sedbazar and N. Yoshida. 2007. Nesfatin-1 neurons in paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus coexpress oxytocin and vasopressin and are activated by refeeding. *Endocrinology*, 149(3): 1295-1301.
11. Kumar, K.G., G.M. Sutton, J.Z. Dong, P. Roubert, P. Plas and H.A. Halem. 2009. Analysis of the therapeutic functions of novel melanocortin receptor agonists in MC3R- and MC4R-deficient C57BL/6J mice. *Peptides*, 30(10): 1892-1900.
12. Lam, D.D., M.J. Przydzial, S.H. Ridley, G.S. Yeo, J.J. Rochford and S.O'Rahilly. 2007. Serotonin 5-HT_{2C} receptor agonist promotes hypophagia via downstream activation of melanocortin 4 receptors. *Endocrinology*, 149(3): 1323-1328.
13. Lu, X.Y., G.S. Barsh, H. Akil and S.J. Watson. 2003. Interaction between α -melanocyte-stimulating hormone and corticotropin-releasing hormone in the regulation of feeding and hypothalamo-pituitary-adrenal responses. *Journal of Neuroscience*, 23(21): 7863-7872.
14. Mortazavi, S., R. Gonzalez, R. Ceddia and S. Unniappan. 2015. Long-term infusion of nesfatin-1 causes a sustained regulation of whole-body energy homeostasis of male Fischer 344 rats. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 3: 22.
15. Novoseletsky, N., A. Nussinovitch and M. Friedman-Einat. 2011. Attenuation of food intake in chicks by an inverse agonist of cannabinoid receptor 1 administered by either injection or ingestion in hydrocolloid carriers. *General and Comparative Endocrinology*, 70 (3): 522-527.
16. Olanrewaju, H., J. Thaxton, W. Dozier, J. Purswell, W. Roush and S. Branton. 2006. A review of lighting programs for broiler production. *International Journal of Poultry Science*, 5(4): 301-308.
17. Richard, D., Q. Lin and E. Timofeeva. 2002. The corticotropin-releasing factor family of peptides and CRF receptors: their roles in the regulation of energy balance. *European Journal of Pharmacology*, 440(2-3): 189-197.
18. Saito, E.S., H. Kaiya, T. Tachibana, S. Tomonaga, D.M. Denbow and K. Kangawa. 2005. Inhibitory effect of ghrelin on food intake is mediated by the corticotropin-releasing factor system in neonatal chicks. *Regulatory Peptides*, 125(1-3): 201-208.
19. Samadian F, M.J. Eskandari and M.R. Bahreini Behzadi. 2019. Preference of broiler chickens for feed color. *Rap*, 10(25): 1-7.
20. Shousha, S., D. Kirat and T. Naso. 2015. Effect of central and peripheral nesfatin-1 on food intake in Japanese quail. *AASCIT Journal of Biology*, 1(1): 1-9.

21. Silberman, Y. and D.G. Winder. 2013. Corticotropin releasing factor and catecholamines enhance glutamatergic neurotransmission in the lateral subdivision of the central amygdala. *Neuropharmacology*, 70: 316-23.
22. Stengel, A., M. Goebel, L. Wang, J. Rivier, P. Kobelt and H. Mönnikes. 2009. Central nesfatin-1 reduces dark-phase food intake and gastric emptying in rats: differential role of corticotropin-releasing factor2 receptor. *Endocrinology*, 150(11): 4911-4919.
23. Stengel, A. and Y. Tache. 2013. Role of brain NUCB2/nesfatin-1 in the regulation of food intake. *Current Pharmaceutical Design*, 19(39): 6955-6959.
24. Tachibana, T., K. Sugahara, A. Ohgushi, R. Ando and S.I. Kawakami, T. Yoshimatsu ., et al. 2001. Intracerebroventricular injection of agouti-related protein attenuates the anorexigenic effect of alpha-melanocyte stimulating hormone in neonatal chicks. *Neuroscience Letters*, 305(2): 131-134.
25. Yamada, H. and A.W. Bruijnzeel. 2011. Stimulation of α 2-adrenergic receptors in the central nucleus of the amygdala attenuates stress-induced reinstatement of nicotine seeking in rats. *Neuropharmacology*, 60(2-3): 303-11.

Evaluating the Role of Corticotropin Receptors on Feed Intake Using Melanocortin Receptor Agonists in Neonatal Broilers

Fariba Ahmadi Dashtiani¹, Morteza Zendehtdel², Vahab Babapour³ and Negar Panahi¹

- 1- Department of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran (Corresponding author: zendedel@ut.ac.ir)
3- Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
4- Assistant Professor, Department of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: December 9, 2019

Accepted: September 19, 2020

Abstract

Evidence from animal studies suggests corticotrophin and melanocortin systems have regulatory role in feeding system in avian, but there is no evidence for their interaction. In this survey three experiments designed to investigate the role of corticotrophin receptors on food intake using melanocortin receptors agonist M3 and M4 in neonatal chicken (each experiment includes 4 groups and 11 birds in each group). In experiment 1, chickens were intracerebroventricularly (ICV) injected with control solution, MTII (MC₃/MC₄ receptors agonist; 2.45, 4.8 and 9.8 pmol). In experiment 2, control solution, MTII (9.8 pmol), astressin-B (CRF₁/CRF₂ receptors antagonist; 30 µg), and MTII + astressin-B were injected. In experiment 3, control solution, MTII (9.8 pmol), astressin-2B (CRF₂ receptors antagonist; 30 µg), and MTII + astressin-2B were injected. Then, cumulative feed intake was recorded until 120 min after injection. According to the results, dose dependent hypophagia observed after ICV injection of the MTII (p<0.05). ICV injection of MTII (9.8 pmol) + astressin-B had no effect on the hypophagic effect of the MTII (p> 0.05). ICV injection of MTII (9.8 pmol) + astressin-2B significantly diminished MTII-induced hypophagia (p<0.05). These results suggest that inducing hypophagia by melanocortin mediates via corticotropin CRF₂ receptors in broiler chicken.

Keywords: Broiler chicken, Corticotropin Food intake, Melanocortin



"مقاله پژوهشی"

تأثیر پودر بهار نارنج بر عملکرد رشد، اجزای لاشه و برخی فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی

میکائیل قلی‌پور^۱، وحید واحدی^۲، شاهین حاجی قهرمانی^۳ و زربخت انصاری پیرسرای^۴۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، (نویسنده مسوول: vahediv@uma.ac.ir)

۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۴- دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری

تاریخ ارسال: ۹۷/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۴/۰۷

صفحه: ۷۴ تا ۸۲

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی آثار تغذیه پودر بهار نارنج بر عملکرد رشد، اجزای لاشه و برخی فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش گرمایی بود. تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه (رأس ۳۰۸) در قالب طرح کاملاً تصادفی به پنج گروه آزمایشی با چهار تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ قطعه پرنده تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد (جیره پایه)، جیره پایه دارای نئومایسین (۲٪ درصد جیره) و ۳ سطح از پودر بهار نارنج (۱، ۰/۵ و ۲ درصد جیره) بودند. جوجه‌ها از سن ۱۵ تا ۴۲ روزگی تحت شرایط تنش گرمایی (۳۲°C ± ۲) از ساعت ۱۰ صبح الی شش بعد از ظهر) قرار گرفتند. در پایان آزمایش از هشت قطعه پرنده در هر تیمار خونگیری انجام شد. نتایج نشان داد که میانگین تلفات در گروه‌های تیماری (۳/۷۵ درصد) نسبت به گروه شاهد (۲۲/۵ درصد) به‌طور معنی‌داری کمتر بود. پودر بهار نارنج در دوره‌های مختلف رشد تأثیر معنی‌داری روی مصرف خوراک و افزایش وزن جوجه‌ها نداشت. طی دوره رشد (۱۱-۲۴ روزگی)، کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۰/۵٪ پودر بهار نارنج حاصل شد که با تیمار ۲٪ تفاوت معنی‌داری داشت (p < ۰/۰۵). گلوکز سرم خون در جوجه‌هایی که ۱٪ پودر بهار نارنج دریافت کرده بودند، کاهش معنی‌داری (p < ۰/۰۵) نسبت به جوجه‌های گروه شاهد، نشان داد (۲۱۱ در مقابل ۲۲۵/۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر). سطح LDL خون در تیمار ۲٪ پودر بهار نارنج (۵۷/۴ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) نسبت به گروه ۰/۵٪ (۶۹/۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) کمتر بود (p < ۰/۰۵). مصرف پودر بهار نارنج روی وزن لاشه، سینه، ران و وزن بافت‌های داخلی بدن جوجه‌های گوشتی اثر معنی‌دار نداشت (p > ۰/۰۵). بنابراین بهار نارنج ممکن است به‌دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی در تخفیف اثرات تنش گرمایی مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: بهار نارنج، تنش گرمایی، جوجه گوشتی، خصوصیات لاشه، ضریب تبدیل غذایی

مقدمه

علائمی مانند له‌ل‌زدن، خستگی، تشنج را نشان می‌دهند که در مراحل حاد و مزمن، باعث مرگ حیوان خواهد شد (۱۹). به حداقل رساندن تنش گرمایی در دوره پرورش از اهمیت زیادی برخوردار است. بنابراین پرورش دهندگان با به‌کار بردن برخی روش‌های مدیریتی مانند تهویه مناسب سالن، اعمال تاریکی در زمان تنش حرارتی، کاهش تراکم سالن، اعمال محدودیت غذایی و قطع دان در ساعات گرم روز و استفاده از مکمل‌های خوراکی به‌دنبال کاهش اثرات زیان بار تنش گرمایی هستند. در اثر تنش گرمایی تولید گونه‌های فعال اکسیژنی (ROS) در بدن افزایش یافته و باعث بروز تنش اکسیداتیو می‌شود (۲). اگر چه مقادیر کم ROS در بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی ضروری است اما انباشت آن شاید به بسیاری از ماکرو مولکول‌های بیولوژیکی نظیر پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و DNA آسیب برساند (۲۰). آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسیژن را غیرفعال نموده و سلول‌ها را از آسیب‌های اکسیداتیوی محافظت نمایند. اثرات منفی تنش اکسیداتیو را می‌توان با افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند ویتامین‌ها (C و E)، مواد معدنی (سلنیوم و روی) و آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی در جیره تا حد قابل قبولی کاهش داد (۱، ۱۸، ۲۷ و ۳۳). امروزه گیاهان دارویی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

پرورش جوجه گوشتی یکی از منابع اصلی تامین غذا در جوامع بشری می‌باشد. در برخی از نقاط جهان به‌دلیل دارا بودن اقلیمی گرم و مرطوب و گاهی خشک، این صنعت با چالشی جدی رو به رو است و تلفات ناشی از تنش گرمایی در این مناطق زیاد است. رشد سریع جوجه‌های جوان، توانایی آن‌ها برای سازگاری با تغییرات محیطی را ضعیف می‌کند. از آن‌جا که طیور فاقد غدد عرقی هستند، این امر باعث شده که آن‌ها نسبت به تنش گرمایی بسیار حساس و آسیب‌پذیر باشند (۱۶). کاهش مصرف و عدم بازدهی مناسب خوراک، کاهش وزن و کاهش کیفیت لاشه، از مهمترین مواردی است که در زمان تنش گرمایی اتفاق می‌افتد (۵، ۲۲). در زمان تنش علاوه بر اینکه ترشح هورمون‌های کورتیکوسترون و کاتکولامین‌ها و فراسنجه‌های گلوکز و کلسترول پلازما افزایش می‌یابند، با پراکسیداسیون غشای سلولی لنفوسیت‌های نوع B و T قدرت دفاعی و سیستم ایمنی بدن نیز تضعیف می‌شود (۳۲). نشان داده شده است که تنش حرارتی باعث به‌وجود آمدن تغییراتی در مورفولوژی روده از قبیل کاهش ارتفاع پرز و سطح مخاط روده کوچک در جوجه‌های جوان شده و همچنین از فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌کاهد (۱۶، ۲۱). پرنده‌گانی که دچار تنش حرارتی شده باشند

۵ تیمار آزمایشی که هر تیمار شامل ۴ تکرار (۱۰ قطعه جوجه برای هر تکرار) بود، تقسیم شدند. به طوری که در هر واحد آزمایشی (تکرار) از ۱۰ قطعه جوجه با میانگین وزنی مشابه استفاده شد. در سالن پرورش از لامپ‌های ۶۰ وات برای روشنایی استفاده شد. فاصله لامپ‌ها از یکدیگر ۲/۵ متر و فاصله آن‌ها از سطح زمین ۲ متر بود. لامپ‌ها طوری در سالن تعبیه شده بودند که کل سالن روشنایی یکسان داشته باشد. از روز چهارم دوره پرورش، شب‌ها به مدت ۳۰ دقیقه خاموشی به سالن داده شد که به تدریج تا پایان دوره، این مدت به یک ساعت افزایش یافت. تهویه سالن از طریق فن‌های مکند و دمند در دو انتهای سالن و دریچه‌های ورودی هوا صورت می‌گرفت. برای گرم کردن داخل سالن از یک هیتر بسیار قوی استفاده شد. برای ثبت دما و رطوبت سالن از چهار دماسنج جیوه‌ای و دو رطوبت سنج استفاده شد. به منظور ایجاد تنش گرمایی، دمای سالن از روز ۱۵ پرورش تا پایان دوره از ساعت ۱۰ صبح الی ۶ بعد از ظهر به حدود $32 \pm 2^{\circ}\text{C}$ افزایش یافت و در بقیه ساعات شبانه روز دما بر طبق پیشنهاد کاتالوگ پرورشی راس ۳۰۸ تنظیم شد. رطوبت سالن در دوره پرورش بین ۵۰ تا ۷۰ درصد متغیر بود. برای افزایش رطوبت سالن در روزهای اول پرورش از آب پاش دستی در سطح کف سالن (خارج از پن‌ها) استفاده شد. برنامه بهداشتی و واکسیناسیون جوجه‌ها بر اساس توصیه راهنمای پرورش جوجه‌های گوشتی بود. جیره‌ها بر پایه ذرت و سویا و بر اساس احتیاجات سویه راس ۳۰۸ و با استفاده از نرم‌افزار UFFDA و بر اساس حداقل قیمت تنظیم شدند. اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی در سه دوره آغازین (۰ تا ۱۰ روزگی)، دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و دوره پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) در جدول ۱ آورده شده است. طی دوره پرورش دسترسی پرندگان به آب و خوراک آزاد بود. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد (جیره پایه)، جیره پایه حاوی نئومایسین (۲۰۰ گرم در هر تن) و ۳ سطح از پودر بهارنارنج (۰/۵، ۱ و ۲ درصد جیره) بودند. جیره‌ها از نظر پروتئین و انرژی در تیمارهای مختلف یکسان بودند. در این پژوهش پودر شکوفه بهارنارنج از شرکت شهید آوران نانا خریداری شد.

درخت نارنج با نام لاتین *Citrus aurantium L.* و با نام انگلیسی Bitter Orange، از خانواده مرکبات (Rutaceae) است. شکوفه این گیاه با نام بهار نارنج از گیاهان دارویی پر مصرف و بومی کشور ایران است که در شمال و جنوب ایران رشد می‌کند (۱۴). در طب سنتی ایران، این گیاه به‌عنوان آرام بخش، اشتهاآور و برطرف کننده تپش قلب شناخته شده است (۳۶). اثرات ضدترومبوز، ضدایسکمی، آنتی‌اکسیدانی و گشادکننده عروق از فلاونوئیدهای بهارنارنج نیز گزارش شده است (۱۳ و ۱۷). چندین ترکیب همچون آلکالوئیدهای فینیتیل آمین شامل (اکتوپامین، سینی فرین، تیرامین، ان اتیل تیرامین و هوردینین) و فلاونوئیدها (لیمونین، هیسپیریدين، نئوهیسپیریدين، نارنجین، مسیرین، تانگاریتین و فورانو کومارین‌ها) و ترکیبات لینالول و لینالیل استات در این گیاه وجود دارند (۲۵ و ۲۹). در بین این ترکیبات، لینالول ترکیب غالب در عصاره بهارنارنج می‌باشد (۲۸). به دلیل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات فنولی در بهارنارنج، می‌توان با افزودن این گیاه به جیره، رادیکال‌های آزاد شده در سلول‌ها در هنگام تنش گرمایی را حذف کرد و مانع تنش اکسیداتیو در بدن شد (۳۱). در پژوهشی نشان داده شده است که ترکیبات موثره لیمونین و مسیرین موجود در گیاه بهارنارنج دارای خواص بیولوژیک بوده و با اثرات مهارکنندگی بر سیستم اعصاب مرکزی، باعث کاهش اضطراب در موش‌های آزمایشگاهی شد. (۲۴). اثرات گیاه بهارنارنج به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی در جیره حیوانات کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات تغذیه پودر این گیاه بر عملکرد رشد، اجزای لاشه و برخی فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش گرمایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مرغداری هنرستان جهاد کشاورزی جویبار وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران انجام شد. برای این آزمایش تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه (سویه راس ۳۰۸) از شرکت الماس طلایی پارسین خریداری شد و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 1. Ingredients and chemical analyses of the experimental diets

دوره پايانی (۲۵-۴۲ روزگی)	دوره رشد (۱۱-۲۴ روزگی)	دوره آغازین (۱-۱۰ صفر روزگی)	ماده خوراکی (درصد)
۶۲/۵۰	۵۹/۱۵	۵۶/۴۰	ذرت
۲۹/۸۲	۳۴/۰۸	۳۷	کنجاله سویا
۳/۷۹	۲/۶۱	۲	روغن
۱/۵۴	۱/۷۹	۲	دی کلسیم فسفات
۱/۱	۱/۱۲	۱/۳۵	سنگ آهک
۰/۳	۰/۳	۰/۳	نمک
۰/۱	۰/۱	۰/۱	جوش شیرین
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل معدنی ^۲
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل ویتامینی ^۱
۰/۱	۰/۱	۰/۱	ویتامین E
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	DL متیونین
۰/۱	۰/۱	۰/۱	L لیزین
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	جمع کل
ترکیبات شیمیایی جیره (درصد)			
۳۱۰۰	۳۰۰۰	۲۹۲۰	انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)
۱۸/۵	۲۰	۲۱	پروتئین
۰/۸۵	۰/۹	۱/۰۵	کلسیم
۰/۴۲	۰/۴۵	۰/۵	فسفر قابل دسترس
۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	سدیم
۱/۰۲	۱/۱۲	۱/۳۱	آرژنین
۰/۹۵	۱/۰۸	۱/۴۴	لیزین
۰/۳۲	۰/۴۲	۰/۴۷	متیونین
۰/۷۴	۰/۸۴	۰/۹۰	متیونین + سیستئین
۰/۶۳	۰/۷۳	۰/۴۵	ترئونین

۱: مکمل ویتامینی به ازای هر کیلوگرم جیره شامل: ویتامین A (رتینول) ۱۲۸۰۰ واحد بین المللی، ویتامین D3 (کوله کلسیفرول) ۴۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین E (dl- α -توکوفریل استات) ۴۸ واحد بین المللی، ویتامین K3 ۴/۴ میلی‌گرم، اسید پانتوتینیک ۶۵ میلی‌گرم، نیاسین ۲۲/۴ میلی‌گرم، پیریدوکسین ۶/۴ میلی‌گرم، کوبالامین ۰/۱۰۱۶ میلی‌گرم، فولیک اسید ۱/۶ میلی‌گرم، کولین کلرید ۴۰۰ میلی‌گرم.
 ۲: مکمل معدنی به ازای هر کیلوگرم جیره شامل: منگنز با منشا سولفات منگنز ۱۱۲ میلی‌گرم، روی با منشا اکسید روی ۱۲۸ میلی‌گرم، آهن با منشا سولفات آهن ۳۲ میلی‌گرم، ید با منشا کلسیم یدات ۰/۹ میلی‌گرم، سلنیوم با منشا سلنیت سدیم ۰/۴ میلی‌گرم.

در ۳۰۰۰ دور جدا شد و تا زمان اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی، نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند. فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز، کلسترول، پروتئین کل، تری گلیسرید، HDL و LDL با استفاده از دستگاه اتونالیزور بیوشیمیایی (مدل BS-120، ساخت کشور آلمان) و توسط کیت‌های شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) اندازه‌گیری شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش تجزیه واریانس، توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و با استفاده از رویه GLM انجام شد و در صورت تفاوت معنی‌دار میانگین تیمارها با آزمون دانکن در سطح احتمال $\alpha=0/05$ مورد مقایسه قرار گرفتند. داده‌های مربوط به تلفات در هر تیمار آزمایشی نیز با استفاده از آزمون Chi-Squire و توسط رویه GENMOD انجام شد.

نتایج و بحث

اثر استفاده از سطوح مختلف پودر بهار نارنج بر میزان تلفات جوجه‌ها در شرایط تنش گرمایی در جدول ۲ آورده شده است. اثر پودر بهار نارنج روی تلفات جوجه‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود به طوری که تلفات جوجه‌ها در گروه شاهد (۲۲/۵ درصد)

برای محاسبه مقدار خوراک مصرفی در هر واحد آزمایشی، روزانه مقدار دان مشخصی به هر تکرار داده شد و در پایان هر هفته مقدار دان برگشتی توزین و از مقدار خوراک اختصاص یافته کسر شد. برای اندازه‌گیری میانگین افزایش وزن، از ابتدای دوره پرورش جوجه‌های هر تکرار از سن ۱ تا ۴۲ روزگی به صورت هفتگی پس از ۶ ساعت گرسنگی وزن‌کشی شدند. ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های مختلف پژوهش از تقسیم خوراک مصرفی بر افزایش وزن محاسبه شد. قابل ذکر است که صفات عملکردی برای هر تکرار پس از تصحیح برای تلفات در پایان هر مرحله آزمایش اندازه‌گیری شدند. در پایان دوره‌ی آزمایش (۴۲ روزگی)، از هر واحد آزمایشی تعداد دو قطعه جوجه با وزنی نزدیک به میانگین وزن گروه مربوطه، انتخاب و برای اندازه‌گیری درصد اجزای لاشه، کشتار شدند و وزن لاشه، سینه، ران + ساق، جگر، قلب، دندوم، ژژنوم و ایلئوم هر جوجه ثبت شد. به‌منظور تعیین تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی، در روز ۴۲ آزمایش از دو پرنده در هر تکرار خونگیری از ورید بال به‌عمل آمد. پلاسمای نمونه‌های خونی بعد از سانتریفیوژ به‌مدت ۱۰ دقیقه

معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ نشان نداد. بنابراین شاید بتوان ادعا نمود که پودر بهار نارنج به‌کاررفته در این آزمایش موجب کاهش میزان تلفات ناشی از تنش گرمایی شده است.

نسبت به تیمارهای نئومایسین، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد پودر بهار نارنج (به‌ترتیب ۷/۵، صفر، ۵ و ۲/۵ درصد) کاهش معنی‌داری نشان داد (p < ۰/۰۵). همچنین تلفات گروه نئومایسین نسبت به تیمارهای پودر بهار نارنج تفاوت

جدول ۲- اثر سطوح مختلف پودر بهار نارنج بر میزان تلفات جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی

Table 2. The effect of Bitter Orange blossom powder on mortality rate of broiler chickens under heat stress condition

صفت	شاهد	نئومایسین	۰/۵٪ بهار نارنج	۱٪ بهار نارنج	۲٪ بهار نارنج	p > x ²
تلفات جوجه‌ها، درصد (تعداد تلفات/تعداد کل جوجه‌ها)	۲۲/۵ (۹/۴۰) ^a	۷/۵ (۳/۴۰) ^b	۰/۰ (۰/۴۰) ^b	۵/۰ (۲/۴۰) ^b	۲/۵ (۱/۴۰) ^b	۰/۰۰۱۶

ab در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت دارای تفاوت معنی‌دار هستند (p < ۰/۰۵).

اثر پودر بهار نارنج بر عملکرد رشد

در جوجه‌هایی که ۲٪ پودر بهار نارنج را در طی دوره رشد دریافت کرده بودند در مقایسه با تیمار ۰/۵٪ افزایش معنی‌داری (p < ۰/۰۵) نشان داد (۱/۶۲ در مقابل ۱/۵۱). اما اثر اصلی پودر بهار نارنج روی ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های آغازین، پایانی و کل دوره معنی‌دار نبود (p > ۰/۰۵).

اثر استفاده از سطوح مختلف پودر بهار نارنج بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود اثر پودر بهار نارنج بر میانگین افزایش وزن و مصرف خوراک جوجه‌ها در شرایط تنش گرمایی در دوره‌های مختلف رشد معنی‌دار نبود (p > ۰/۰۵). ضریب تبدیل غذایی

جدول ۳- اثر پودر بهار نارنج بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی

Table 3. The effect of Bitter Orange blossom powder on growth performance of broiler chickens under heat stress condition

پارامترها	شاهد	نئومایسین	۰/۵٪ بهار نارنج	۱٪ بهار نارنج	۲٪ بهار نارنج	SEM	P-Value
افزایش وزن (کیلوگرم)							
۱۰-۰ روزگی	۰/۲۵۳	۰/۲۵۹	۰/۲۵۱	۰/۲۵۹	۰/۲۵۵	۰/۰۰۳۵	۰/۵۰
۱۱-۲۴ روزگی	۰/۷۳۰	۰/۷۳۶	۰/۷۴۹	۰/۷۲۱	۰/۷۰۱	۰/۰۱۸	۰/۳۴
۲۵-۴۲ روزگی	۱/۵۷	۱/۵۴	۱/۵۵	۱/۵۹	۱/۵۳	۰/۲۳۳	۰/۵۱
۴۲-۰ روزگی	۲/۳۰	۲/۳۳	۲/۲۹	۲/۳۱	۲/۲۳	۰/۰۳۹	۰/۴۴
مصرف خوراک (کیلوگرم)							
۱۰-۰ روزگی	۰/۳۹۹	۰/۳۹۵	۰/۳۹۹	۰/۳۰۰	۰/۳۹۹	۰/۰۰۴	۰/۹۹
۱۱-۲۴ روزگی	۱/۱۴	۱/۱۵	۱/۱۵	۱/۱۴	۱/۱۳	۰/۰۰۴۵	۰/۲۲
۲۵-۴۲ روزگی	۲/۹۹	۲/۹۵	۲/۹۷	۲/۹۶	۲/۹۶	۰/۰۱۵	۰/۶۷
۴۲-۰ روزگی	۴/۴۲	۴/۴۱	۴/۴۱	۴/۴۰	۴/۴۱	۰/۰۱۷	۰/۸۵
ضریب تبدیل خوراک							
۱۰-۰ روزگی	۱/۱۸	۱/۱۴	۱/۱۹	۱/۱۶	۱/۱۷	۰/۰۰۹	۰/۰۹
۱۱-۲۴ روزگی	۱/۵۶ ^{ab}	۱/۵۵ ^{ab}	۱/۵۱ ^b	۱/۶۰ ^{ab}	۱/۶۲ ^a	۰/۰۰۳	۰/۰۵
۲۴-۴۲ روزگی	۱/۹۲	۱/۹۰	۱/۹۲	۱/۸۷	۱/۹۵	۰/۰۳۳	۰/۳۸
۴۲-۰ روزگی	۱/۹۳	۱/۹۷	۱/۹۲	۱/۹۰	۱/۹۸	۰/۰۲۸	۰/۳۱

ab: در هر ردیف میانگین‌هایی که حروف مشترکی ندارند دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

تاثیری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی ندارند (۶ و ۱۲). خواص ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی عمدتاً به‌دلیل وجود ترکیبات فنولیکی در این گیاهان می‌باشد و گفته می‌شود که نحوه‌ی عمل آن‌ها مشابه سایر ترکیبات فنولیکی می‌باشد و به‌طور کلی بیان شده است که این ترکیبات با از بین بردن رادیکال‌های آزادی که در اثر انواع تنش‌ها تولید شده‌اند از مرگ سلول‌ها در برابر تنش جلوگیری می‌کند (۳۴). در ارتباط با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره و اثر آن‌ها بر افزایش وزن جوجه‌های گوشتی، نظرات گوناگونی وجود دارد. برای نمونه در آزمایش هرناندز و همکاران (۱۰) استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها تاثیری بر افزایش وزن بدن نداشتند. در این

در این پژوهش، اثرات سطوح مختلف پودر بهار نارنج هیچ تاثیر معنی‌داری بر افزایش مصرف خوراک نداشته است. اسماعیلی و همکاران (۸) در تحقیق خود در ارتباط با عرق بهار نارنج، اختلاف معنی‌داری بین تیمار نئومایسین و عرق بهار نارنج مشاهده نکردند که این نتیجه با نتیجه این آزمایش مطابقت دارد. همچنین مطابق با نتایج اسماعیلی و همکاران (۸)، هیچ تفاوت معنی‌داری در افزایش وزن جوجه‌های تغذیه شده با پودر بهار نارنج مشاهده نشد. تعداد مطالعات روی اثرات بهار نارنج بر عملکرد جوجه‌های گوشتی محدود است اما در تعدادی از پژوهش‌های صورت‌گرفته روی سایر گیاهان دارویی گزارش شده است که مواد مشتق شده از گیاهان

دارویی به دلیل خاصیت ضد باکتریایی و ضد ویروسی، اثرات مثبتی روی سلامت پرنده داشته و قادر به کاهش تلفات در طول دوره پرورش و همچنین بهبود ضریب تبدیل غذایی می‌باشد (۱۵).

اثر پودر بهار نارنج بر اجزای لاشه

اثر استفاده از سطوح مختلف پودر بهار نارنج بر اجزای لاشه در جدول ۴ آورده شده است. اثر مصرف پودر بهار نارنج روی وزن لاشه، وزن سینه و وزن ران معنی‌دار نبود. همچنین در این خصوصیات تفاوتی بین تیمارها با گروه نئومايسين نیز مشاهده نشد ($p > 0/05$). افزودن پودر بهار نارنج بر وزن قلب، جگر، سنگدان، دئودنوم، ژژنوم و ایلتوم تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p > 0/05$).

پژوهش نیز تفاوت معنی‌داری بین تیمار آنتی‌بیوتیک نئومايسين با سایر تیمارها مشاهده نشد. بر اساس آنالیز داده‌های ضریب تبدیل غذایی در این آزمایش، ۰/۵٪ پودر بهار نارنج در دوره رشد (۱۱-۲۴ روزگی) باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی نسبت به گروه ۲٪ شد، به طوری که اسماعیلی و همکاران (۸)، نشان دادند که با مصرف بهار نارنج در شرایط عادی در هیچ یک از دوره‌های پرورشی، تفاوت معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی مشاهده نشد که با نتایج این آزمایش همخوانی نداشت. یکی از دلایل افزایش ضریب تبدیل در گروه ۲٪ پودر بهار نارنج در این دور رشد را می‌توان به مصرف دوز بالای این گیاه در جوجه‌ها نسبت داد که اثرات سوئی روی افزایش وزن و مصرف خوراک داشته است. گزارش شده است که ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گیاهان

جدول ۴- اثر پودر بهار نارنج بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی (درصدی از وزن لاشه)

Table 4. The effect of Bitter Orange blossom powder on carcass characteristics of broiler chickens under heat stress condition (% of carcass weight)

اجزای لاشه	شکم پر (kg)	لاشه	سینه	ران+ساق	قلب	جگر	سنگدان	دئودنوم	ژژنوم	ایلتوم
صفر	۲/۱۸	۸۲/۷	۳۱/۷	۲۲/۵	۰/۴۷	۲/۷۵	۲/۵۱	۰/۸۲	۱/۷۹	۱/۶۳
نئومايسين	۲/۲۱	۸۴/۲	۳۲/۵	۲۳/۹	۰/۵۴	۲/۸۳	۲/۵۷	۰/۸۷	۱/۸۴	۱/۷۴
۰/۵٪ بهار نارنج	۲/۱۶	۸۴/۲	۳۲/۸	۲۳	۰/۵۰	۲/۷۴	۲/۵۵	۰/۷۹	۱/۷۰	۱/۵۹
۱٪ بهار نارنج	۲/۲۷	۸۴/۹	۳۱/۹	۲۳/۲	۰/۵۴	۲/۷۳	۲/۳۹	۰/۸۴	۱/۸۵	۱/۷۷
۲٪ بهار نارنج	۲/۲۰	۸۳/۰	۳۱/۴	۲۲/۸	۰/۴۹	۲/۸۰	۲/۴۷	۰/۸۳	۱/۸۲	۱/۶۸
SEM	۰/۰۵	۰/۵۳	۰/۶۲	۰/۴۳	۰/۲۱	۰/۰۹	۰/۰۷	۰/۰۲	۰/۰۹	۰/۰۷
P-Value	۰/۴۸	۰/۱۵	۰/۴۴	۰/۶۷	۰/۶۸	۰/۷۴	۰/۴۷	۰/۵۵	۰/۶۶	۰/۳۶

حاصل از این تحقیق بود.

اثر پودر بهار نارنج بر فراسنجه‌های خونی

اثر استفاده از سطوح مختلف پودر بهار نارنج بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی در جدول ۵ نشان داده شده است. غلظت گلوکز در بین تیمارهای مورد مقایسه تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p < 0/05$). به طوری که کمترین مقدار گلوکز در جوجه‌هایی مشاهده شد که با ۱ درصد پودر بهار نارنج تغذیه شده بودند (۲۱۱/۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و بیشترین مقدار گلوکز مربوط به تیمار شاهد و تیمار نئومايسين بود (به ترتیب ۲۲۵/۸ و ۲۲۶/۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر). میانگین غلظت LDL خون جوجه‌هایی که ۲٪ پودر بهار نارنج دریافت کرده بودند، کاهش معنی‌داری ($p < 0/05$) نسبت به جوجه‌های گروه ۰/۵٪، نشان داد (۵۷/۴ در مقابل ۶۹/۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر). ولی تفاوت معنی‌داری با بقیه تیمارها مشاهده نشد (جدول ۵). غلظت سایر متابولیت‌های خونی (کلسترول، تری‌گلیسیرید، پروتئین کل و HDL) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($p > 0/05$).

اثر مصرف پودر بهار نارنج روی وزن لاشه و اجزای لاشه در این آزمایش معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). همانند این تحقیق در تحقیق اسماعیلی و همکاران (۸) نیز با مصرف عرق بهار نارنج در اجزای لاشه تفاوت معنی‌داری ایجاد نشد. پایین بودن کمیت و کیفیت لاشه پرنده‌گان تحت تنش گرمایی ممکن است به دلیل کاهش مصرف خوراک و اختلال در استفاده از مواد مغذی باشد (۲۶). در تحقیقی مخلوط گیاهان دارویی و آنتی‌بیوتیک به طور همزمان در جیره جوجه‌های گوشتی مورد استفاده قرار گرفت که این ترکیب بر وزن نسبی اجزای لاشه تأثیری نداشت اما وقتی آنتی‌بیوتیک را به تنهایی در جیره استفاده کردند جوجه‌ها وزن لاشه بالاتری داشتند (۳۷). در آزمایش‌های دیگری استفاده از آنتی‌بیوتیک ویرجینامایسین در جیره جوجه‌های گوشتی وزن اندام‌های داخلی و وزن نسبی اجزای لاشه را تحت تاثیر قرار نداد (۱۱،۷). همچنین در پژوهش پلیکانو و همکاران (۲۳) نیز استفاده از آنتی‌بیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی بر وزن نسبی اجزای لاشه تأثیری نداشت که این یافته‌ها با نتایج این مطالعه همخوانی داشتند. اما در مطالعه‌ای وزن نسبی اجزای لاشه در اثر استفاده از آنتی‌بیوتیک در جیره بهبود یافت (۳۵) که مغایر با نتایج

جدول ۵- اثر پودر بهار نارنج بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی
Table 5. The effect of Bitter Orange blossom powder on blood parameters of broiler chickens under heat stress condition

لیپوپروتئین با چگالی بالا (میلی گرم در دسی لیتر)	لیپوپروتئین با چگالی بالا (میلی گرم در دسی لیتر)	پروتئین کل (گرم در دسی لیتر)	تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)	کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)	گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	فراسنجه‌های خونی
۶۳/۱ ^{ab}	۷۶/۰	۳/۰۹	۴۰/۴	۱۴۶/۵	۲۲۵/۸ ^a	صفر
۶۱/۸ ^{ab}	۷۳/۷	۳/۲۲	۵۲/۰	۱۴۶/۰	۲۲۶/۷ ^a	نئومایسین
۶۹/۶ ^a	۷۱/۲	۳/۰۹	۵۱/۲	۱۵۱/۱	۲۲۱/۱ ^{ab}	۰/۵٪ بهار نارنج
۶۲/۳ ^{ab}	۷۴/۴	۳/۱۰	۴۴/۹	۱۴۴/۹	۲۱۱/۰ ^b	۱٪ بهار نارنج
۵۷/۳ ^b	۷۴/۷	۳/۱۳	۴۵/۱	۱۳۹/۶	۲۱۴/۴ ^{ab}	۲٪ بهار نارنج
۳/۳۷	۱/۵۹	۰/۰۸	۳/۶	۳/۵	۴/۲	SEM
۰/۰۱	۰/۱۸	۰/۹۷	۰/۲۲	۰/۱۶	۰/۰۵	P-Value

ab: در هر ستون میانگین‌هایی که حروف مشترکی ندارند دارای تفاوت معنی‌دار هستند

کوآنزیم A ردوکتاز) باعث کاهش سنتز کلسترول در هنگام تنش گرمایی می‌شوند. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با مهار سنتز کلسترول و افزایش تبدیل کلسترول به اسیدهای صفاوی و همچنین با افزایش فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز منجر به کاهش لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها می‌شوند. کاهش کلسترول خون در هنگام استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است در اثر کاهش سنتز کلسترول باشد (۴). بنابراین اثر هیپوکلسترول پودر بهار نارنج در این آزمایش ممکن است به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن باشد. در این آزمایش نیز سطح کلسترول خون در تیمار ۲٪ بهار نارنج نسبت به بقیه تیمارها کاهش یافته هر چند این کاهش معنی‌دار نبود ولی در این تیمار مصرف پودر بهار نارنج به‌طور معنی‌داری LDL خون را کاهش داده است.

به‌طور کلی نتایج به‌دست آمده از این آزمایش نشان داد که درصد تلفات در گروه نئومایسین و تیمارهای پودر بهار نارنج نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. اثرات مصرف پودر بهار نارنج روی عملکرد رشد و اجزای لاشه جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی معنی‌دار نبودند. مصرف پودر بهار نارنج در جیره باعث کاهش غلظت گلوکز و LDL خون شد. تعداد مطالعات روی اثرات بهار نارنج بر عملکرد جوجه‌های گوشتی محدود است. بنابراین در مورد استفاده از این گیاه در طول دوره پرورش همچنان تحقیقات بیشتری لازم است و پیشنهاد می‌شود برخی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی مانند مالون دی آلدئید و فعالیت برخی آنزیم‌های ضد اکسایشی از جمله سوپر اکسید دیسموتاز، گلوکاتیون پراکسیداز و کاتالاز در پژوهش‌های آتی مورد ارزیابی قرار گیرد تا نتایج قابل استنادتری ارائه شود.

در این پژوهش پودر بهار نارنج باعث کاهش غلظت گلوکز و LDL خون شد. در پژوهش اسماعیلی و همکاران (۸)، افزودن عرق بهار نارنج و نئومایسین بر غلظت گلوکز، کلسترول، HDL، LDL، تفاوت معنی‌داری نشان نداد. اما عرق بهار نارنج باعث افزایش تری گلیسرید خون شد که با نتایج حاصل از این پژوهش مغایرت داشته است. پژوهشگران نشان دادند که اجزای شیمیایی فعال موجود در گیاهان، از فعالیت آنزیم‌های جگری دخیل در سنتز اسیدهای چرب و لیپیدهای خون (مانند β هیدروکسی، β متیل گلوکوتاریل کوآنزیم A ردوکتاز و کلسترول γ آلفا هیدروکسیلاز)، جلوگیری می‌کنند و به این ترتیب مانع سنتز اشکال مختلف لیپیدهای خونی در جگر می‌شوند (۹). محرک‌های رشد گیاهی با تعدیل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش پرنده می‌توانند در کاهش لیپیدهای خون نقش داشته باشند. بیشتر پژوهش‌های انجام‌شده نشان داد که برخی از گیاهان و فراورده‌های آن‌ها باعث کاهش کلسترول سرم خون و ارتقای سیستم ایمنی شده است (۳). سیرویدیس و همکاران (۳۰)، نشان دادند که افزودنی‌ها یا مکمل‌های تغذیه‌ای که دارای منشا گیاهی هستند باعث کاهش تری گلیسرید سرم خون در جوجه‌های گوشتی شدند. در کیوت‌های قرارگرفته در معرض تنش گرمایی، سطح تری گلیسریدهای سرم به کمتر از نصف مقدار گروه‌های شاهد کاهش یافت. در صورتی که سطوح اسیدهای چرب آزاد پلاسما، افزایش بیش از دو برابر نشان دادند. این موضوع اشاره‌ای است به این‌که افزایش در اسیدهای چرب آزاد به دلیل تجزیه‌ی تری گلیسریدهای خون می‌باشد. ترکیبات فنولی با کاهش فعالیت آنزیم تنظیم‌کننده سنتز کلسترول در جگر (۳- هیدروکسی-۳- متیل گلوکوتاریل

منابع

- Al-Azzawie, H.F. and M.S. Alhamdani. 2006. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Science*, 78: 1371-1377.
- Arabiyan, E., S.R. Hashemi, A. Yamchi, H. Davoodi and S. Rostami. 2019. Evaluation of NF-kB gene expression in liver tissue of broiler chickens fed with silver nanoparticles as an indicator of inflammation induction in heat stress conditions. *Research on Animal Production*, 10(24): 103-111 (In Persian).
- Aritajat, S., K. Saenphet, V. Thaworn and S. Wutteraphol. 2008. Effects of selected herbal extracts on blood profiles on rats. *Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 9: 221-225.
- Bopanna, K.N., J. Kannan, S. Gadgil, E.R. Balaraman and S.P. Rathore. 1997. Antidiabetic and antihyperglycaemic effects of neem seeds kernel powder on alloxan diabetic rabbits. *Indian Journal Pharmacology*, 29: 162-167.
- Borges, S.A., A.V. Fischer Da Silva, A. Majorca, D.M. Hooge and K.R. Cumming. 2004. Physiological responses of broiler chickens to heat stress and dietary electrolyte balance (sodium plus potassium minus chloride milliequivalents per kilogram). *Poultry Science*, 83: 1551-1558.
- Botsoglou, N., P. Florou-Paneri, E. Christaki, D. Fletouris and A. Spais. 2002. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *Journal of Poultry Science*, 43: 223-230.
- Denil, M., F. Okan and K. Celik. 2003. Effect of dietary probiotic, organic acid and antibiotic supplementation to diets on broiler performance and carcass yield. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(2): 89-91.
- Esmaili, M. 2015. Effect of Peppermint and *Citrus aurantium* extract on performance, carcass characteristics and some blood parameters on broilers chicks in heat stress condition. M.Sc. Thesis, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran (In Persian).
- Haq, A., K.A. Meraj and S. Rasool. 1999. Effect of Supplementing *Allium sativum* (Garlic) Azadirachtu india (Neem) leaves in broiler feed on their blood cholesterol, triglycerides and antibody titer. *International Journal of Agriculture and Biology*, 1: 125-127.
- Hernandez, F., J. Madrid, V. Garcia, J. Orengo and M.D. Megias. 2004. Influence of two plants extracts on broiler performance, digestibility and digestive organ size. *Journal of Poultry Science*, 83: 169-174.
- Izat, A.L., R.A. Thomas and M.H. Adanms. 1989. Effects of antibiotic treatment on yield of commercial broilers. *Poultry Science*, 68(5): 651-655.
- Jang, I., Y. Ko, S. Kang and C. Lee. 2007. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 134: 304-315.
- Joshi, S.G. 2003. Medicinal plant. First edn., New Dehli, Oxford and IBN publishing co, pp: 342-343.
- Khakpour, S., M. Khosravi, Z. Mashayekhipour and M.H. Jahromy. 2014. Effect of *Citrus aurantium* L. Essential oil and haloperidol on anxiety in male mice. *World Journal of Neuroscience*, 4(5): 427.
- Khojasteh Shalmany, S. and M. Shivazad. 2006. The effect of diet propolis supplementation on Ross broiler chicks performance. *International Journal of Poultry Science*, 5: 84-88.
- Li, M., J. Wu and Z. Chen. 2015. Effect of heat stress on the daily behavior of wenching chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 17(4): 559-566.
- Li, S., Z. Wang, F. Ding, D. Sun, Z. Ma, Y. Cheng and J. Xu. 2014. Content changes of bitter compounds in 'Guoqing No. 1' Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) during fruit development of consecutive 3 seasons. *Food chemistry*, 145: 963-969.
- Lin, H., H. Jiao, J. Buyse and E. Decuyper. 2006. Strategies for preventing heat stress in poultry. *World's Poultry Science Journal*, 62(01):71-86.
- Liu, J.L., X.T. Gong, Y.A. Sun and H.J. Hu. 2007. Occurrence and control of heat stress of chicken. *Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 11: 93-94.
- Mates, I.M., C. Perez-Gomez and I.N. De Castro. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32: 595-603.
- Mitchell, M.A. and A.J. Carlisle. 1992. The effects of chronic exposure to elevated environmental temperature on intestinal morphology and nutrient absorption in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Comparative biochemistry and physiology. A, Comparative Physiology*, 101(1): 137-142.
- Nienaber, J.A. and G.L. Hahn. 2007. Livestock production system management responses to thermal challenges. *International Journal of Biometeorology*, 52: 149-157.
- Pelicano, E.R.L., P. Souza, H. Souza, D. Figueiredo, M. Boiago, S. Carvalho and V. Bordon. 2005. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 7(4): 221-229.
- Pultrini Ade, M., L.A. Galindo and M. Costa. 2006. Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in experimental anxiety models in mice. *Life Science*, 78(15): 1720-1725.

25. Rahnema, S., Z. Rabiei, Z. Alibabaei, S. Mokhtari, M. Rafieian-Kopaei and F. Deris. 2015. Antiamnesic activity of Citrus aurantium flowers extract against scopolamine-induced memory impairments in rats. *Neurological Sciences*, 36(4): 553-560.
26. Sahin, K., M. Onderci, N. Sahin, M.F. Gursu, F. Khachik and O. Kucuk. 2006. Effects of lycopene supplementation on antioxidant status, oxidative stress, performance and carcass characteristics in heat-stressed Japanese quail. *Journal of Thermal Biology*, 31(4): 307-312.
27. Sahin, K., C. Orhan, M.O. Smith and N. Sahin. 2013. Molecular targets of dietary phytochemicals for the alleviation of heat stress in poultry. *World's Poultry Science Journal*, 69: 113-123.
28. Sarrou, E., P. Chatzopoulou, K. Dimassi-Therios and L. Therios. 2013. Volatile constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oils of *Citrus aurantium* L. growing in Greece. *Molecules*, 18: 10639-10647.
29. Shabanian, G., A. Pooria Mofread and M. Akhlaghi. 2008. Comparison of Citrus (*Citrus aurantium*) and diyazepam in reducing anxiety before surgery. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 4: 8-13.
30. Sirvidis, H., R. Bobiniene, V. Priudokiene and D. Vilinius. 2003. Phytobiotics add value to broiler feed. *Journal of World Poultry Science*, 19: 16-17.
31. Torres, M., R. Santiago-Adame, F. Calderas, J.A. Gallegos-Infante, R.F. González-Laredo, N.E. Rocha-Guzmán, D.M. Núñez-Ramírez, M.J. Bernad-Bernada and O. Manero. 2016. Microencapsulation by spray drying of laurel infusions (*Litsea glaucescens*) with maltodextrin. *Industrial Crops and Products*, 90: 1-8.
32. Valavi, M., H. Sarir, H. FarhangFar, A. Zarban, S.J. Hosseini-Vashan and Y. Hossein Naeimipour. 2016. Evaluation the effect of garlic and cinnamon powder on performance, antioxidant system, blood parameters of broilers under heat stress conditions. *Research on Animal Production*, 7(14): 10-20 (In Persian).
33. Wang, L., X.L. Piao, S.W. Kim, X.S. Piao, Y.B. Shen and H.S. Lee. 2008. Effects of Forsythia suspensa extract on growth performance, nutrient digestibility, and antioxidant activities in broiler chickens under high ambient temperature. *Poultry Science*, 87: 1287-1294.
34. Wollen Weber, E., M. Dorr, A. Rustaiyan, J. Ritman and E. Graven. 1992. Exudate flavonoids of some salvia and a trichostema species. *Phytochemistry*, 47: 782-784.
35. Woodward, S., R. Harms, R. Miles, D. Janky and N. Ruiz. 1988. Research note: Influence of virginiamycin on yield of broilers fed four levels of energy. *Poultry Science*, 67(8): 1222-1224.
36. Zargari, A. 1996. Medicinal plants. 6th edn., Tehran University Publication, Tehran, 485-487 pp.
37. Zhang, K.Y., F. Yan, C.A. Keen and P.W. Waldroup. 2005. Evaluation of microencapsulated essential oils and organic acids in diets for broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 4(9): 612-619.

The Effect of Bitter Orange Blossom Powder on Growth Performance, Carcass Characteristics and Some Blood Parameters of Broiler Chickens Under Heat Stress Condition

Michael Gholipour¹, Vahid Vahedi², Shahin Hajighahremani³ and Zarbakht Ansari Pirsarei⁴

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

2- Associate Professor, Department of Animal Science, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, (Corresponding author: vahediv@uma.ac.ir)

3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

4- Associate Professor, Department of Animal Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Received: January 13, 2020

Accepted: June 27, 2020

Abstract

This study was conducted to determine the effects of Bitter Orange blossom powder (BOBP) on growth performance, carcass characteristics and some blood parameters in broiler chickens under heat stress condition. A total of 200 one day-old male broiler chicks (Ross 308) randomly were divided into five treatment groups in a completely randomized design with four replicates of 10 birds each. The experimental treatments including control (basal diet), the basal diet with Neomycin (0.2% of v diet) and 3 levels of BOBP (0.5, 1 and 2% of diet). Birds submitted to heat stress ($32\pm 2^{\circ}\text{C}$ from 10.00 AM to 6.00 PM) from 15 to 42 d of age. Blood samples were taken from 8 birds per treatment at the end of experiment. The results showed that, average mortality was significantly lower ($P < 0.05$) in treatments groups (3.75%) than in the control group (22.5%). The diet supplemented with BOBP had no effects on feed intake and weight gain of chicks during different periods ($P > 0.05$). In the grower phase (11-24 d), the lowest feed conversion ratio (FCR) was obtained in 0.5% BOBP, which were significantly different from 2% treatment ($P < 0.05$). Birds receiving diet supplemented with 1% BOBP revealed significantly ($P < 0.05$) lower blood glucose compared to the control group (211 vs 225.8 mg/dl). LDL level was lower ($p < 0.05$) in 2% BOBP treatment (57.4 mL/dL) compared to 0.5% (69.6 mg/dl). The feeding of BOBP did not induce any significant effect on the whole carcass, breast, drumstick and internal organs weight of broiler chickens ($P < 0.05$). In conclusion, BOBP may be effective in attenuating heat stress effects due to its illustrated antioxidant effects.

Keywords: Bitter Orange blossom, Broiler chicken, Carcass traits, Feed conversion ratio, Heat stress



"مقاله پژوهشی"

تأثیر مصرف سطوح مختلف پیتیدهای زیست فعال کنجاله پنبه‌دانه بر راندمان تولید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرمی جوجه‌های گوشتی

محمد محمدرضائی^۱، بهمن نویدشاد^۲ و عباسعلی قیصری^۳

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

۲- گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، (نویسنده مسؤل: bnavidshad@uma.ac.ir)

۳- مرکز آموزش و تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۹/۰۱/۰۴ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۵/۱۳

صفحه: ۸۳ تا ۹۱

چکیده

کنجاله پنبه‌دانه با استفاده از پنج نوع آنزیم آلکالاز، کیموتریپسین، پیپسین، تریپسین و پانکراتین هیدرولیز شد. آزمایش با استفاده از ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و پنج تکرار از سن یک تا ۳۵ روزگی و طی دو دوره پرورش آغازین (۱۵-۱ روزگی) و رشد (۳۵-۱۶ روزگی) انجام گرفت. جیره‌های آزمایشی عبارت بودند از جیره کنترل، جیره کنترل دارای آنتی‌بیوتیک محرک رشد زینک باسیتراکسین (۷۰ mg/kg) و جیره‌های آزمایشی حاوی ۱۵ یا ۲۰ گرم در کیلوگرم پیتید زیست فعال کنجاله پنبه‌دانه که جایگزین مقادیر برابری از ذرت و کنجاله سویای جیره شدند. مصرف خوراک، اضافه وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی برای هر قفس (تکرار) طی سه دوره پرورشی (آغازین، رشد و کل دوره) اندازه‌گیری و محاسبه شدند. در سن ۳۵ روزگی، از سیاه‌رگ بال ۳ قطعه پرنده در هر تکرار مقدار پنج میلی‌لیتر خون جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی سرم خون تهیه شد. در پایان دوره پرورش تعداد سه پرنده از هر قفس به‌طور انفرادی وزن‌کشی و کشتار شدند و وزن نسبی اجزای لاشه، اندام‌های گوارشی و لنفوئیدی و همچنین طول قسمت‌های مختلف روده کوچک اندازه‌گیری شد. در کل دوره‌ی آزمایش بیشترین و کمترین اضافه وزن به ترتیب در گروه آنتی‌بیوتیک و گروه کنترل ثبت شدند و گروه‌های دارای آنتی‌بیوتیک و پیتید مصرف خوراک و همچنین ضریب تبدیل غذایی بالاتری نسبت به گروه کنترل داشتند. غلظت نیتریک اکسید سرم در گروه دریافت‌کننده ۱۵ گرم در کیلوگرم پیتید بالاتر از گروه کنترل و همچنین گروه دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک بود. غلظت مالون‌دی‌آلدئید در گروه‌های دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک و یا پیتید پایین‌تر از گروه کنترل بود و غلظت گلوکاتایون پراکسیداز در دو گروه دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک و سطح ۱۵ گرم در کیلوگرم پیتید کنجاله پنبه‌دانه بالاتر از دو گروه دیگر بود. غلظت سوپراکسید دیسموتاز سرم در گروه‌های دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک و یا سطوح مختلف پیتید بالاتر از گروه کنترل بود و غلظت کل آنتی‌اکسیدان‌های سرم تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. مصرف آنتی‌بیوتیک و همچنین پیتید باعث کاهش معنی‌دار چربی حفره شکمی در مقایسه با گروه کنترل شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پیتیدهای زیست‌فعال کنجاله پنبه‌دانه تولیدشده توسط هیدرولیز آنزیمی باعث بهبود عملکرد رشد و همچنین فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی سرم خون جوجه‌های گوشتی می‌شوند. این نتایج پیشنهاد می‌نمایند که پیتیدهای زیست فعال کنجاله پنبه‌دانه پتانسیل استفاده به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک محرک رشد در جیره‌ی جوجه‌های گوشتی را دارا است.

واژه‌های کلیدی: پیتیدهای زیست‌فعال، جوجه‌ی گوشتی، شاخص‌های اکسیداتیو، صفات تولیدی، کنجاله پنبه‌دانه

مقدمه

به‌همراه داشته است (۴۵). هضم آنزیمی یکی از بهترین و قابل‌اعتمادترین روش‌ها برای تولید پیتیدهای کوچک با کاربردهایی فرامغذی و از جمله با فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. تاکنون این محصولات حاصل از هیدرولیز با خاصیت آنتی‌اکسیدانی از پروتئین سویا، ذرت، سیب زمینی، بادام‌زمینی، شیر، آب پنیر، تخم مرغ و گوشت تولید شده‌اند (۱۱). بازدهی آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌های هیدرولیز شده و پیتیدها به منبع پروتئین‌ها، پیش‌فرآوری سوبسترای پروتئینی، نوع آنزیم پروتئاز مورد استفاده و شرایط هیدرولیز بستگی دارد (۱۱،۳). هر دو دسته آنزیم‌های خالص و غیرخالص سازی شده قادر به تولید پیتیدهای با خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند. با این وجود، به‌منظور کاهش هزینه تولید، مخلوط‌های آنزیمی خالص‌سازی نشده ترجیح داده می‌شوند (۴۴). پیتیدهای کوچک می‌توانند به‌طور فعال به‌وسیله‌ی سلول‌های روده از طریق حامل‌های اختصاصی جذب شوند

پنبه به‌عنوان یک محصول راهبردی در بیش از ۸۰ کشور دنیا تولید می‌شود. رایج‌ترین گونه‌های زیر کشت از پنبه *Gossypium hirsutum* و *G. barbadense* هستند (۴۳). اگرچه هدف اصلی در کشت پنبه استفاده از الیاف ارزشمند آن است اما به ازای هر ۱۰۰ کیلوگرم الیاف استحصالی از پنبه حدود ۱۵۰ کیلوگرم محصولات فرعی از جمله پنبه‌دانه نیز تولید می‌شود (۸) که حاوی مقادیر قابل توجهی چربی، پروتئین، کربوهیدرات و مواد معدنی است (۵). بخش چربی پنبه‌دانه، روغنی با ارزشی است که کاربرد گسترده‌ای در صنایع غذایی دارد (۸). از پنبه‌دانه کامل و یا روغن‌گیری شده به‌طور معمول به‌عنوان خوراک دام و نیز کود زراعی استفاده می‌شود (۳۶). در سال‌های اخیر استفاده‌ی صنعتی از اجزاء فرامغذی پروتئین‌ها و پیتیدهای موجود در کنجاله پنبه‌دانه و پروتئین‌های جداسازی شده‌ی آن نتایج امیدوارکننده‌ی

روش مورد استفاده برای هیدرولیز آنزیمی کنجاله پنبه‌دانه روش توصیف شده توسط آلاشی و همکاران (۳) همراه با تغییرات جزئی بود. در این آزمایش کنجاله پنبه‌دانه با استفاده از پنج نوع آنزیم با نسبت آنزیم به سوبسترا ۱ به ۲۰ برای همه آنزیم‌ها هیدرولیز گردید و پس از ۴ ساعت انکوباسیون محصولات حاصل از هیدرولیز پروتئین پنبه‌دانه تولید شدند. شرایط هیدرولیز بدین شرح بود: الکا لاز (pH=۸ و ۶۰°C)، کیموتریپسین (pH=۸ و ۳۷°C)، پیپسین (pH=۳ و ۳۷°C)، تریپسین (pH=۸ و ۳۷°C) و پانکراتین (pH=۸ و ۴۰°C). پس از ۴ ساعت دوره هضم آنزیمی با استفاده از آنزیم‌ها و شرایط مذکور برای هر آنزیم، آنزیم‌ها با حرارت‌دهی در دمای ۸۵°C برای ۱۵ دقیقه غیرفعال شدند. محصولات حاصل از هیدرولیز سپس لیوفلیزه شده و در دمای ۱۸°C- تا زمان آنالیزهای بیشتر و استفاده در آزمایش‌های بعدی نگهداری شدند.

جیره‌های آزمایشی و مدیریت حیوانات

جوجه‌های گوشتی نر سویه راس ۳۰۸، پس از وزن‌کشی و نصب شماره بال، به‌طور تصادفی در گروه‌های آزمایشی توزیع شدند، به‌طوری که میانگین وزن گروه‌ها یکسان بود. پنج قفس دارای ۱۲ قطعه جوجه گوشتی به هر یک از گروه‌های آزمایشی اختصاص یافت و آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در دوره‌های آغازین (۱۵-۱۶ روزگی) و رشد (۳۵-۱۶ روزگی) انجام گرفت. هر قفس به دانخوری و آبخوری مستقل مجهز بود. ترکیب جیره‌های آزمایشی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از جیره کنترل بدون پیتیدهای زیست‌فعال پنبه‌دانه، جیره کنترل دارای زینک باسیتراسین (۷۰ mg/kg). به‌عنوان آنتی‌بیوتیک محرک رشد و جیره‌های آزمایشی حاوی ۱۵ یا ۲۰ گرم در کیلوگرم پیتید زیست‌فعال کنجاله پنبه‌دانه که جایگزین مقادیر برابری از ذرت و کنجاله سویای جیره شدند. جیره‌های آزمایشی به گونه‌ای تنظیم شدند که حاوی مقادیر یکسانی انرژی و پروتئین خام باشند و مواد مغذی تأمین‌شده اندکی بیش از توصیه‌های جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ بود (۴). در کل دوره آزمایش پرنده‌ها دسترسی آزاد به خوراک و آب داشتند. جیره‌های آزمایشی به‌صورت آردی تهیه شدند. آزمایش در سالن پرورشی مجهز به سیستم تهویه و قفس‌هایی به ابعاد ۱۲۴ در ۶۵ سانتی‌متر انجام گرفت. تراکم پرنده‌ها ۷/۹ کیلوگرم در متر مربع برای دوره‌ی آغازین و ۲۳/۵ کیلوگرم در مترمربع برای دوره‌ی رشد بود. برنامه نوری در طول ۲۴ ساعت شبانه روز شامل ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی بود. نور سالن توسط لامپ‌های جیبی رشته‌ای تأمین گردید و شدت نور در سطح پرنده‌ها ۳۰ لوکس بود. دمای محیط در ۳-۱۶ روزگی ۳۲ درجه سانتیگراد بود و به‌تدریج کاهش یافت تا در انتهای هفته سوم به ۲۵ درجه سانتی‌گراد رسید. رطوبت نسبی بین ۴۵ و ۶۵ درصد حفظ شد.

(۹). پیتیدهای زیست‌فعال (۳۱،۳۲) به‌عنوان قطعات پروتئینی خاصی تعریف می‌شوند که اثری مثبت بر عملکرد یا شرایط بدن داشته و می‌توانند سلامتی بدن را بهبود بخشند (۲۱). پیتیدهای زیست‌فعال و پروتئین‌ها نقش مهمی در فعالیت‌های متابولیکی موجودات زنده داشته و از اینرو در سلامت انسان و حیوانات اهمیت زیادی دارند (۲۱،۱۱). این ترکیب‌ها فعالیت‌هایی شبه‌هورمونی و شبه‌دارویی نشان داده و می‌توان آنها را بر اساس نحوه عمل‌شان به‌عنوان ترکیبات ضد میکروبی، ضد انعقادی، ضد فشار خون، مسکن، محرک سیستم ایمنی، متصل‌شونده به مواد معدنی و آنتی‌اکسیدانی طبقه‌بندی نمود (۳۳).

تحقیقات زیادی در مورد اثرات پیتیدهای زیست‌فعال با منشاء گیاهی و از جمله کنجاله پنبه‌دانه (۱۶، ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۳۹)، کنجاله سویا (۱، ۲، ۱۰، ۲۲، ۳۰، ۳۷، ۳۸) و کنجاله کانولا (۳) بر صفات تولیدی و سلامت طیور انجام گرفته است. با این وجود، در بیشتر این مطالعات از روش تخمیر برای تولید پیتیدهای زیست‌فعال استفاده شده است. به‌طور کلی و بدون در نظر گرفتن منبع اولیه پیتیدی، در مطالعات صورت گرفته هنگامی که پیتیدها در سطوح پایین و کمتر از ۶ گرم در کیلوگرم به‌طور معمول مورد استفاده قرار گرفته‌اند، تاثیر چشمگیری بر صفات عملکردی نداشته‌اند (۱، ۲، ۲۵) و اغلب باعث اندکی بهبود در ضریب تبدیل غذایی شده‌اند. این در حالی است که مطالعات مختلف صورت گرفته نشان داد شده است که با افزایش میزان پیتیدها در جیره غذایی عملکرد رشد نیز به‌طور چشمگیری تحت تاثیر قرار گرفته و بهبود یافته است (۱۰، ۱۶، ۱۹، ۲۲، ۳۸).

در مطالعات مختلف کاهش رادیکال‌های آزاد سرم خون به‌واسطه استفاده از محصولات هیدرولیز شده از جمله کنجاله پنبه‌دانه (۴۰)، کنجاله سویا (۴۲) و شیر شتر (۳۵) گزارش شده است. به‌طوری که گاو و همکاران (۱۱) با استفاده از کنجاله پنبه‌دانه هیدرولیز شده به‌وسیله آنزیم نوتراز نشان دادند که پیتیدهای تولیدی می‌توانند از اتوپراکسیداسیون اسید لینولئیک به‌خوبی جلوگیری کنند. در این خصوص بیان شده است که پروتئین‌های هیدرولیز شده (پیتیدها)، به‌علت افزایش خاصیت هیدروفوبیک در آن‌ها از حلالیت بیشتری در محتوای چربی بدن برخوردار هستند، بنابراین بهتر می‌توانند از پراکسیداسیون چربی‌ها به‌واسطه رادیکال‌های آزاد جلوگیری کنند.

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر استفاده از سطوح بالای پیتیدهای زیست‌فعال کنجاله پنبه‌دانه تولیدشده به‌روش آنزیمی بر صفات تولیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم خون و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی در مقایسه با یک آنتی‌بیوتیک محرک رشد طراحی و انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه پیتیدهای زیست‌فعال

جدول ۱- اجزای جیره و ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در دوره‌های مختلف پرورش

Table 1. Ingredients and nutrient composition of experimental diets¹ in different growth periods of production

جیره دوره رشد (۱۶ تا ۳۵ روزگی)				جیره دوره آغازین (۱ تا ۱۵ روزگی)				اجزای جیره (گرم در کیلوگرم)
سطح پیتید کنجاله پنبه‌دانه (g/kg)				سطح پیتید کنجاله پنبه‌دانه (g/kg)				
آنتی‌بیوتیک	۲۰	۱۵	صفر	آنتی‌بیوتیک	۲۰	۱۵	صفر	
ذرت	۵۴۹	۵۵۵	۵۴۴	۵۴۹	۵۰۵	۵۱۲	۵۱۰	
کنجاله سویا	۳۶۳	۳۴۱	۳۴۶	۳۶۳	۴۱۱	۳۸۸	۳۹۴	
روغن سویا	۴۸/۱	۴۵/۲	۴۶	۴۸/۱	۳۸/۵	۳۵/۵	۳۶/۵	
منوکلسیم فسفات	۱۴/۲	۱۴	۱۴/۱	۱۴/۲	۱۶/۵	۱۶/۴	۱۶/۵	
کربنات کلسیم	۱۳/۲	۱۲/۱۱	۱۲/۲۵	۱۳/۲	۱۴/۹	۱۳/۴	۱۳/۷	
دی ال - متیونین	۳/۲۵	۳/۲۲	۳/۲۳	۳/۲۵	۳/۵	۳/۷	۳/۶	
ال-لیزین هیدروکلراید	۱/۵	۱/۷	۱/۶۶	۱/۵	۱/۹	۲/۳	۲/۲	
ال - ترئونین	۰/۵۳	۰/۵۷	۰/۵۶	۰/۵۳	۰/۸	۰/۹	۰/۸	
کولین کراید (۶۰٪)	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۲	۲	۲	
پیتید کنجاله پنبه دانه	-	۲۰	۱۵	-	۲۰	۱۵	-	
پیش مخلوط ویتامینی و معدنی	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	
نمک طعام	۳/۲۲	۳/۲	۳/۲	۳/۲۲	۲/۹	۲/۸	۲/۸	
بیکربنات سدیم	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۱	۱	۱	
زینک یاسیتراسین	۰/۰۷	-	-	۰/۰۷	-	-	-	
مقادیر محاسبه شده در جیره	۳۱۵۰	۳۱۵۰	۳۱۵۰	۳۱۵۰	۳۰۳۰	۳۰۳۰	۳۰۳۰	
انرژی قابل سوخت و ساز (Kcal/Kg)	۲۰۹	۲۰۹	۲۰۹	۲۰۹	۲۲۸	۲۲۸	۲۲۸	
پروتئین خام (گرم در کیلوگرم)	۸/۶	۸/۶	۸/۶	۸/۶	۹/۸	۹/۸	۹/۸	
کلسیم (گرم در کیلوگرم)	۴/۳	۴/۳	۴/۳	۴/۳	۴/۹	۴/۹	۴/۹	
فسفر قابل دسترس (گرم در کیلوگرم)	۲۲۰	۲۱۷	۲۱۸	۲۲۰	۲۲۲	۲۲۸	۲۳۰	
تعادل آهون - کاتیون (meq/Kg)	۱۱/۳۹	۱۱/۳۷	۱۱/۳۸	۱۱/۳۹	۱۲/۸۲	۱۲/۸۷	۱۲/۸۵	
لیسه‌های آمینه قابل هضم (گرم در کیلوگرم)	۸/۷۱	۸/۷۳	۸/۷۳	۸/۷۱	۹/۴۸	۹/۵۲	۹/۵۰	
لیزین	۷/۲۳	۷/۲۴	۷/۲۴	۷/۲۳	۸/۰۶	۸/۱۱	۸/۰۹	
متیونین + سیستین								
ترئونین								

ویتامین‌های تأمین شده توسط پیش مخلوط ویتامینی در هر کیلوگرم از خوراک ویتامین A (رتینول) ۲۷۰۰ میکروگرم، ویتامین D3 (کوله کلسیفرول) ۱۲۵ میکروگرم، ویتامین E (توکوفرول استات) ۶۵ میلی‌گرم، ویتامین K3 ۲/۷ میلی‌گرم، تیامین ۳ میلی‌گرم، ریوفلاوین ۷/۵ میلی‌گرم، اسید پنتوتینیک ۱۸ میلی‌گرم، پیریدوکسین ۴/۵ میلی‌گرم، سیانوکوبالامین ۰/۱۸ میلی‌گرم، نیاسین ۶۵ میلی‌گرم، بیوتین ۰/۳ میلی‌گرم، اسید فولیک ۲ میلی‌گرم، کولین کلراید ۶۰۰ میلی‌گرم، آنتی‌اکسیدان ۱۰۰ میلی‌گرم؛ مواد معدنی تأمین شده توسط پیش‌مخلوط معدنی در هر کیلوگرم از خوراک: آهن (FeSO4.7H2O, 20-09% Fe) ۹۰ میلی‌گرم، منگنز (MnSO4.H2O, 32-49% Mn) ۱۲۰ میلی‌گرم، روی (ZnO, 80-35% Zn) ۱۱۰ میلی‌گرم، مس (CuSO4.5H2O) ۱۶ میلی‌گرم، ید (KI, 58% I) ۱/۲۵ میلی‌گرم، سلنیوم (NaSeO3, 45-56% Se) ۰/۲۲ میلی‌گرم.

بازدهی و اجزای لاشه

مصرف خوراک و وزن زنده جوجه‌ها در هر قفس (تکرار) از سن ۱ تا ۳۵ روزگی به‌صورت تجمعی برای هر قفس ثبت شد و سپس مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی برای هر پرنده محاسبه و میانگین آنها برای هر قفس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تلفات نیز به‌طور روزانه ثبت شد. در روز ۳۵ آزمایش، پرنده‌های نزدیک به میانگین وزن زنده هر قفس به‌طور انفرادی وزن‌کشی و کشتار شدند. وزن نسبی اجزای لاشه، اندام‌های گوارشی و لنفوتیدی شامل وزن لاشه، چربی بطنی، کبد، قلب، سنگدان، پانکراس، دودنوم، ژژنوم و ایلئوم اندازه‌گیری و محاسبه شد. طول دودنوم، ژژنوم و ایلئوم نیز ثبت گردید.

شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی خون

در سن ۳۵ روزگی، پس از اعمال ۱ ساعت گرسنگی و در ابتدای ساعات روشنایی روز، با استفاده از سرنگ‌های پنج میلی‌لیتری مقدار پنج میلی‌لیتر خون از سیاهرگ بال ۳ قطعه پرنده در هر تکرار (انتخاب شده به‌طور تصادفی) گرفته شد. نمونه خون‌های گرفته‌شده با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ^۱ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سپس نمونه‌های سرم جداسازی و تا زمان اندازه‌گیری فراسنجه‌های سرمی در دمای ۲۰°C- نگهداری شد. غلظت سرمی اکسید نیتریک توسط کیت اکسید نیتریک کل^۲ و بر اساس روش کار شرکت تولید کننده تعیین شد. اندازه‌گیری

مالون‌دی‌آلدئید، گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و غلظت کل آنتی‌اکسیدان‌ها با استفاده از روش‌های رنگ‌سنجی و دستگاه اسپکتروفتومتر^۳ اندازه‌گیری شد. برای این بخش از کیت‌های تهیه شده از انستیتو مهندسی زیستی واقع در جیاگسو کشور چین^۴ استفاده شد. غلظت مالون‌دی‌آلدئید توسط 2-TBA-آنالیز شد و تغییرات جذب در طول موج ۵۳۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر ثبت گردید (۱۷). فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز توسط اسید 5,5'-دیتیوبیس-پی-نیتروبنزوتیک اندازه‌گیری شد و تغییرات جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر ثبت گردید (۱۳). فعالیت سوپراکسید دیسموتاز توسط روش گرانتین اکسیداز تعیین شد که مهار نیترو بلو تترازولیوم توسط نمونه را اندازه‌گیری می‌نماید (۳۹). غلظت کل آنتی‌اکسیدان‌ها توسط روش قدرت احیا-آنتی‌اکسیدانی فریک تعیین شد (۶) و در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های ثبت‌شده توسط روش‌های تجزیه واریانس متناسب برای طرح کاملاً تصادفی و رویه مدل خطی عمومی توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹,۴ (۲۹) طبق مدل ذیل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند:

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

که μ : میانگین کل، T_i : اثر تیمارهای آزمایشی و e_{ij} : خطا باقیمانده تصادفی است. برای صفات تولیدی هر قفس

1- SIGMA 4-15 Lab Centrifuge, Germany

3- Leng Guang SFZ1606017568, Shanghai, China

2- Zellbio GmbH, Germany

4- Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute, Nanjing, China

آنتی‌بیوتیک و کمترین میزان در گروه کنترل مشاهده شد، به‌طوری‌که هر دو سطح پپتید کنجاله پنبه‌دانه مصرف خوراک بالاتری نسبت به گروه کنترل داشتند. در دوره رشد مصرف خوراک تحت تاثیر نوع جیره آزمایشی قرار نگرفت، اما در کل دوره آزمایش گروه‌های حاوی آنتی‌بیوتیک و پپتید کنجاله پنبه‌دانه مصرف خوراک بالاتری نسبت به گروه کنترل داشتند. در دوره آغازین مصرف آنتی‌بیوتیک و یا پپتید کنجاله پنبه‌دانه باعث افزایش ضریب تبدیل غذایی نسبت به گروه کنترل شد. این رویه در دوره رشد و نیز کل دوره آزمایش نیز تداوم یافت، اما طی این دوره‌ها تنها تفاوت بین گروه کنترل و گروه دریافت کننده ۲۰ گرم در کیلوگرم پپتید معنی‌دار بود.

تجزیه آنزیمی کنجاله پنبه‌دانه می‌تواند به‌طور چشمگیری میزان گوسپیول آزاد، فیبر خام و روغن خام این محصول را نسبت به کنجاله پنبه‌دانه کاهش و برخی از اسیدهای آمینه از جمله آرژنین را افزایش دهد. هیدرولیز آنزیمی کنجاله پنبه‌دانه در کاهش مواد ضد تغذیه‌ای موجود در این کنجاله همانند سایر محصولات حاصل از فرایند تجزیه آنزیمی بسیار موثر است (۱۸). همانطور که نتایج نیز نشان می‌دهد اضافه کردن پپتیدهای هیدرولیز شده کنجاله پنبه‌دانه توانسته است عملکرد رشد پرندگان را نسبت به گروه کنترل و همراستا با گروه آنتی‌بیوتیک به‌طور معنی‌داری بهبود بخشد، هرچند با بهبود عملکرد رشد ضریب تبدیل غذایی بهبود پیدا نکرده است. نیه و همکاران (۲۴) نیز با استفاده از کنجاله پنبه‌دانه تخمیر شده بهبود افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی را گزارش کردند. بر خلاف نتایج حاصل در آزمایش ما وانگ و همکاران (۳۹) با دو سطح کنجاله پنبه‌دانه تخمیری نشان دادند شاخص‌های عملکردی تحت تاثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار نگرفته است.

به‌عنوان واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و میانگین سه قطعه جوجه گوشتی در هر قفس واحد آماری برای فراسنجه‌های خونی بود. در صورت معنی‌دار بودن تست F، میانگین‌های مربوطه توسط آزمون توکی^۱ تفکیک شدند. مقادیر جدول‌ها شامل میانگین فراسنجه‌ها و pooled SEM هستند. علاوه بر آن، تفاوت‌ها میان تیمارها با استفاده از مقایسات ارتوگونال انجام گرفت و پاسخ‌های خطی و درجه دو نیز تعیین شد.

نتایج و بحث

اثر گروه‌های آزمایشی بر صفات تولیدی جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ نشان داده شده است. بیشترین افزایش وزن بدن طی دوره ۱ تا ۱۵ روزگی در گروه آنتی‌بیوتیک و کمترین میزان در گروه کنترل مشاهده شد. هر دو سطح مصرف پپتید منجر به افزایش وزن بالاتری نسبت به گروه کنترل شدند و سطح ۲۰ گرم در کیلوگرم پپتید منجر به افزایش وزنی قابل مقایسه با گروه آنتی‌بیوتیک شد. افزایش وزن بدن طی دوره ۱۶ تا ۳۵ روزگی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. در کل دوره آزمایش نیز بالاترین و کمترین میانگین افزایش وزن به ترتیب در گروه آنتی‌بیوتیک و گروه کنترل ثبت شد و گروه‌های مصرف‌کننده پپتید کنجاله پنبه‌دانه تفاوت معنی‌داری با سایر گروه‌ها در کل دوره نداشتند. در دوره آغازین میانگین افزایش وزن گروه دریافت کننده ۲۰ گرم در کیلوگرم پپتید کنجاله پنبه‌دانه با میانگین افزایش وزن در گروه دریافت کننده آنتی‌بیوتیک محرک رشد تفاوت معنی‌داری نداشت. البته نسبت به گروه کنترل هر دو گروه دریافت کننده پپتیدهای کنجاله پنبه‌دانه با اختلافی معنی‌دار دارای میانگین اضافه وزن بیشتری بودند. مصرف خوراک طی دوره آغازین نیز از رویه‌ای مشابه افزایش وزن پیروی نمود و بالاترین افزایش وزن در گروه

جدول ۲- اثرات پپتیدهای زیست‌فعال کنجاله پنبه‌دانه در جیره بر صفات تولیدی جوجه‌های گوشتی در طول دوره ۱ تا ۳۵ روزگی
Table 2. Effects of cottonseed meal bioactive peptides in diet on performance traits of broiler chickens during the period of 1-35 d of age

سطح احتمال	گروه‌های آزمایشی				سطح پپتید کنجاله پنبه‌دانه (g/kg)			وزن بدن اولیه (g)
	Quadratic	Linear	ANOVA	SEM	آنتی‌بیوتیک			
					۲۰	۱۵	صفر	
۰/۲۴۵۳	۰/۴۳۰۳	۰/۵۳۴۱	۰/۰۳	۴۱/۲	۴۱/۱	۴۱/۲	۴۱/۲	اضافه وزن بدن (پرنده/گرم/دوره)
۰/۰۶۴۴	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۷/۸۱	۶۵۷/۶ ^a	۶۳۳/۳ ^{ab}	۶۲۱/۶ ^b	۵۷۱/۳ ^c	دوره آغازین (۱-۱۵ روزگی)
۰/۴۸۸۵	۰/۳۱۵۱	۰/۶۱۸۸	۱۱/۳	۱۸۹۹/۷	۱۸۸۹/۴	۱۸۷۳/۴	۱۸۸۳/۱	دوره رشد (۱۶-۳۵ روزگی)
۰/۸۸۳۵	۰/۰۰۱۶	۰/۰۱۴۰	۱۹/۵۳	۲۵۵۷/۱ ^a	۲۵۲۲/۶ ^{ab}	۲۴۹۴/۹ ^{ab}	۲۴۵۴/۳ ^d	کل دوره (۱-۳۵ روزگی)
۰/۰۱۵	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۱۰/۵۴	۷۳۰/۱ ^a	۷۱۶/۹ ^{ab}	۶۸۷/۳ ^b	۶۲۱/۹ ^c	مصرف خوراک (پرنده/گرم/دوره)
۰/۲۷۶۹	۰/۱۱۸۱	۰/۲۹۳۱	۳۷/۹۴	۳۲۶۵/۸	۳۲۹۹/۸	۳۲۳۹/۹	۳۱۴۷/۱	دوره آغازین (۱-۱۵ روزگی)
۰/۱۶۶۱	۰/۰۱۳۲	۰/۰۴۷۴	۴۷/۰۵	۳۹۹۵/۸ ^a	۴۰۱۶/۸ ^a	۳۹۲۷/۱ ^{ab}	۳۷۶۸/۹ ^b	دوره رشد (۱۶-۳۵ روزگی)
۰/۰۱۷۸	۰/۰۱۴۹	۰/۰۰۶۹	۰/۰۰۶۱	۱/۱۱۰ ^{ab}	۱/۱۳۲ ^a	۱/۱۰۶ ^{ab}	۱/۰۸۸ ^b	کل دوره (۱-۳۵ روزگی)
۰/۰۶۴۱	۰/۰۱۶۸	۰/۰۲۳۵	۰/۰۰۸۳	۱/۷۱۸ ^{ab}	۱/۷۴۶ ^a	۱/۷۲۹ ^{ab}	۱/۶۷۱ ^b	ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم)
۰/۰۵۵۹	۰/۰۲۱۵	۰/۰۳۸۱	۰/۰۱۰۶	۱/۵۶۳ ^{ab}	۱/۵۹۲ ^a	۱/۵۷۳ ^{ab}	۱/۵۳۵ ^b	دوره آغازین (۱-۱۵ روزگی)
								دوره رشد (۱۶-۳۵ روزگی)
								کل دوره (۱-۳۵ روزگی)

a-c میانگین‌هایی که در هر سطر با حروف لاتین متفاوتی نشان‌گذاری شده‌اند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$).

کننده آنتی‌بیوتیک و سطح ۱۵ گرم در کیلوگرم پپتید بالاتر از گروه کنترل و نیز گروه مصرف‌کننده سطح ۲۰ گرم در کیلوگرم پپتید بود. غلظت سوپراکسید دیسموتاز سرم در گروه‌های دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک و یا سطوح مختلف پپتید بازر از گروه کنترل بود. غلظت کل آنتی‌اکسیدان‌های سرم تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت.

استرس اکسیداتیو در بدن موجودات زنده می‌تواند باعث تولید انواع مختلفی از رادیکال‌های آزاد از جمله هیدروکسیل و آنیون‌های سوپر اکسید شود. در این ارتباط مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که مقدار زیاد رادیکال‌های آزاد می‌تواند به پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و سایر ماکرومولکول‌های بیولوژیک آسیب جدی برساند (۴۲).

شاخص‌های بیوشیمیایی خون می‌تواند تا حدودی مسیر متابولیسم مواد مغذی را در بدن نشان دهد (۱۴،۱۱). آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز^۱ که در واقع یک نام عمومی برای یک خانواده بزرگ آنزیمی است و نقش اصلی آنها پراکسیداسیون هیدروپرواکسیدهای لیپیدی به الکل‌های مربوطه و تولید آب با کمک ملکول‌های گلوکاتایون است (۷).

در آزمایش دیگری با استفاده از ۶ درصد کنجاله پنبه‌دانه تخمیرشده بر خلاف نتایج ما عملکرد رشد در این آزمایش تحت تاثیر قرار نگرفته ولی ضریب تبدیل غذایی به‌طور معنی‌داری بهبود یافت است (۲۵). در آزمایش‌های مشابه که با استفاده از کنجاله سویا هیدرولیز شده صورت گرفته افزایش عملکرد رشد (۳۷،۲۲) و همچنین بهبود ضریب تبدیل غذایی (۱،۲) نیز گزارش شده است. بهبود شاخص‌های عملکردی هنگام استفاده از محصولات هیدرولیز شده می‌تواند به علت افزایش قابلیت هضم (۲۴) و همچنین افزایش فعالیت آنزیمی (۱۰،۱۹) در روده باشد. در این همین راستا در آزمایش قبلی ما نیز بهبود قابلیت هضم به‌طور خطی با افزایش میزان کنجاله پنبه‌دانه هیدرولیزشده افزایش پیدا کرد (چاپ نشده).

اثر پپتیدهای زیست‌فعال جیره بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی سرم جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ نشان داده شده است. غلظت نیتریک اکسید سرم در گروه دریافت‌کننده ۱۵ گرم در کیلوگرم پپتید بالاتر از گروه کنترل و نیز گروه مصرف‌کننده آنتی‌بیوتیک بود. غلظت مالون دی‌آلدئید در گروه‌های دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک و یا پپتید پایین‌تر از گروه کنترل بود. غلظت گلوکاتایون پراکسیداز در دو گروه دریافت

جدول ۳- اثرات پپتیدهای زیست‌فعال کنجاله پنبه‌دانه جیره بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی سرم جوجه‌های گوشتی در سن ۳۵ روزگی
Table 3. Effects of cottonseed meal bioactive peptides in diet on serum antioxidant activity of broilers at 35 days of age

سطح احتمال				گروه‌های آزمایشی			آنتی‌بیوتیک	SEM	ANOVA	Linear	Quadratic
سطح پپتید کنجاله پنبه‌دانه (g/kg)			۲۰	۱۵	صفر						
۲۰	۱۵	صفر									
۰/۰۰۰۵	۰/۵۰۳۹	۰/۰۰۲۸	۰/۷۸۶	۱۹/۷۹ ^b	۲۳/۷ ^{ab}	۲۶/۱ ^a	۲۰/۱۳ ^b	(μmol/L)	نیتریک اکساید		
۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۱۳	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۵۷	۷/۰۸ ^b	۷/۲۷ ^b	۷/۱۳ ^b	۷/۷۱ ^a	(nmol/mL)	مالون‌دی‌آلدئید		
۰/۰۰۷۰	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۱۱	۲/۴۹۱	۲۱۷ ^a	۲۰۶/۹ ^b	۲۲۱ ^a	۱۹۸/۸ ^b	(U/mL)	گلوکاتایون پراکسیداز		
<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۲۶۷	۱۴/۴۵ ^a	۱۴/۸۵ ^a	۱۴/۸۱ ^a	۱۲/۳۱ ^b	(U/mL)	سوپراکسیداز دیسموتاز		
۰/۴۹۸۷	۰/۰۴۰۹	۰/۰۸۷۱	۰/۳۰۶	۲/۱۱	۱/۸	۲/۰۱	۱/۴۶	(mmol/L)	آنتی‌اکسیدان کل		

a-b میانگین‌هایی که در هر سطر با حروف لاتین متفاوتی نشان‌گذاری شده‌اند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (p < ۰/۰۵).

لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری نبودند. در سیستم‌های بیولوژیک، پراکسیداسیون چربی‌ها بواسطه رادیکال‌های آزاد باعث تولید محصولات آلدئیدی می‌گردد، که از بین این آلدئیدها ترکیب مالون‌دی‌آلدئید^۲ که مهم‌ترین مشتق آنها است به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون چربی‌ها در اثر استرس اکسیداتیو مورد مطالعه قرار می‌گیرد (۱۵) وجود مقادیر بالای این ترکیب منجر به ایجاد آسیب بافتی جدی شده و به پیشرفت بیماری‌ها و کاهش مقاومت پرنده در برابر بیماری‌ها می‌انجامد. امروزه به‌دلیل استفاده از جیره‌هایی با انرژی بالا در پرورش مرغ‌های گوشتی، میزان ذخیره چربی در بدن آنها نیز نسبتاً زیاد است، که این عامل می‌تواند به‌شدت باعث تولید رادیکال‌های آزاد^۳ شده و همچنین ترکیب مالون‌دی‌آلدئید را در بدن آنها افزایش دهد (۴۲).

نتایج تحقیق حاضر در این خصوص نشان داد که همسو با بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم خون جوجه‌ها، مالون دی‌آلدئید نیز کاهش یافته و در واقع پراکسیداسیون چربی‌ها نیز کمتر شده است. در این ارتباط گائو و همکاران (۱۱) با استفاده از کنجاله پنبه‌دانه هیدرولیز شده بوسیله آنزیم نوتراز^۴ نشان دادند که پپتیدهای تولیدی می‌توانند از اتوپراکسیداسیون اسید لینولئیک به‌خوبی جلوگیری کنند. برای توضیح بهتر این

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که وجود کنجاله پنبه‌دانه هیدرولیز شده در جیره‌ی غذایی توانسته مقدار آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز را نسبت به گروه کنترل افزایش دهد. این نتایج با آزمایش قبلی ما در خصوص افزایش میزان گلوکاتایون سرم خون و بهبود عملکرد سیستم ایمنی با استفاده از کنجاله پنبه‌دانه هیدرولیزشده مطابقت دارد (چاپ نشده). در مطالعاتی که قبلاً نیز صورت گرفته است کاهش رادیکال‌های آزاد سرم خون به واسطه استفاده از محصولات هیدرولیز شده از جمله کنجاله پنبه‌دانه (۳۹). کنجاله سویا (۴۱) و شیر شتر (۳۲) گزارش شده است. بنابراین می‌توان گفت استفاده از منابع پروتئینی هیدرولیز شده ممکن است پراکسیداسیون چربی‌ها را کاهش، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم خون را افزایش و به‌طور کلی آسیب‌های اکسیداتیو را کاهش دهد (۱۴). به‌طور کلی بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بدن هنگام استفاده از منابع پروتئینی هیدرولیزشده ممکن است به نوع پپتیدهای زیست‌فعال مشتق شده در حین هیدرولیز وابسته باشد (۱۱). در این آزمایش استفاده از پپتیدهای کنجاله پنبه‌دانه ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی سرم خون را به‌طور خطی توانست بهبود بخشد (۰/۰۴۰۹)، هرچند میانگین‌های حاصل از این فراسنجه در گروه‌های آزمایشی از

1- Glutathione peroxidase (GPx)
3- Reactive oxygen species (ROS)

2- Malondialdehyde (MDA)
4- Neutrased

نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از کنجاله پنبه‌دانه هیدرولیز شده می‌تواند درصد وزن لاشه بدون پوست و درصد وزن چربی محوطه شکمی را نسبت به گروه کنترل به ترتیب افزایش و کاهش دهد. در آزمایش‌های دیگر در این خصوص نیز نتایج مشابهی حاصل شده است (۱۶، ۲۴). در آزمایش‌های قبلی علت بهبود خصوصیات لاشه و کاهش معنی‌دار چربی محوطه شکمی را افزایش شمار باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک دانسته‌اند، زیرا جهت هیدرولیز پروتئین کنجاله پنبه‌دانه از باکتری‌های تخمیر کننده استفاده شده است (۱۶). در این خصوص بیان شده است که افزایش غلظت اسید لاکتیک می‌تواند باعث کاهش فعالیت آنزیم استیل کوانزیم-آ کربوکسیلاز شده، که این موضوع خود می‌تواند باعث کاهش ذخیره چربی در بدن شود (۲۸) و از این طریق درصد وزن لاشه بهبود می‌یابد.

موضوع کیم و همکاران (۲۰) بیان کردند چندین اسید آمینه از جمله هیستیدین، آلانین، پرولین و لوسین پتانسیل مهار رادیکال‌های آزاد را دارا هستند. هنگامی که پروتئین‌ها هیدرولیز و به صورت پپتید یا اسید آمینه آزاد شوند، خاصیت هیدروفوبیک آنها افزایش و در نتیجه حلالیت آنها در چربی بیشتر خواهد شد. بنابراین بهتر می‌توانند از پراکسیداسیون چربی‌ها بواسطه رادیکال‌های آزاد جلوگیری کنند (۲۷). جدول ۴ اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های لاشه را نشان می‌دهد. بیشترین درصد لاشه در گروه ۱۵ گرم در کیلوگرم پپتید مشاهده شد و تفاوت ثبت شده با گروه کنترل، تفاوتی معنی‌دار بود. مصرف آنتی‌بیوتیک و یا پپتید باعث کاهش معنی‌دار چربی حفره شکمی در مقایسه با گروه کنترل شد. سطح ۲۰ گرم پپتید باعث بزرگ شدن پانکراس در مقایسه با گروه ۱۵ گرم در کیلوگرم پپتید شد. سایر پارامترهای لاشه تحت تاثیر گروه‌های آزمایشی قرار نگرفتند.

جدول ۴- اثرات پپتیدهای زیست‌فعال کنجاله پنبه‌دانه در جیره بر اندام‌های داخلی به صورت درصدی از وزن بدن جوجه‌های گوشتی در سن ۳۵ روزگی
Table 4. Effects of cottonseed meal bioactive peptides in diet on some organs as a percentage of body weight of broilers on 35 days of age

سطح احتمال				گروه‌های آزمایشی			لاشه (%)	چربی بطنی (%)	قلب (%)	کید (%)	اندام‌های لنفوئیدی (%)	طحال	بورس فابریسیوس	اندام‌های گوارشی (%)	سنگدان خالی	پانکراس	دودنوم	ژژنوم	ایلئوم	طول روده (cm)	دودنوم	ژژنوم	ایلئوم
Quadratic	Linear	ANOVA	SEM	آنتی‌بیوتیک	سطح پپتید کنجاله پنبه‌دانه (g/Kg)																		
							۲۰	۱۵	صفر														
۰/۰۰۵۴	۰/۰۷۰۶	۰/۰۰۵۶	۰/۵۲	۶۶/۹۳ ^{ab}	۶۶/۲۳ ^{ab}	۶۷/۳ ^a	۶۴/۸ ^b																
۰/۰۰۷۱	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۰۴	۰/۰۷	۰/۹۶ ^b	۱/۰۶ ^b	۰/۹۸ ^b	۱/۶ ^a																
۰/۹۲۸۰	۰/۹۳۵۶	۰/۵۴۷۶	۰/۰۱	۰/۴۶	۰/۴۹	۰/۴۴	۰/۴۷																
۰/۰۴۴۱	۰/۱۳۶۱	۰/۰۸۹۷	۰/۰۵	۲/۵۳	۲/۳۴	۲/۴۹	۲/۶۹																
۰/۹۹۷۶	۰/۶۵۱۶	۰/۸۹۷۵	۰/۰۱	۰/۱	۰/۰۹	۰/۱	۰/۱																
۰/۶۳۷۵	۰/۳۶۵۷	۰/۵۶۵۲	۰/۰۱	۰/۱۶	۰/۱۷	۰/۱۵	۰/۱۵																
۰/۹۱۱۷	۰/۶۶۵۲	۰/۹۶۴۴	۰/۰۳	۱/۵۹	۱/۵۸	۱/۶۲	۱/۶۲																
۰/۷۶۱۶	۰/۲۶۷۰	۰/۰۱۸۸	۰/۰۱	۰/۳۲ ^{ab}	۰/۲۶ ^a	۰/۲۳ ^b	۰/۲۵ ^{ab}																
۰/۹۱۹۶	۰/۳۲۸۱	۰/۷۵۵۲	۰/۰۱	۰/۶۲	۰/۶۳	۰/۶۳	۰/۶۵																
۰/۷۲۱۳	۰/۹۹۴۵	۰/۹۰۳۳	۰/۰۳	۱/۳	۱/۲۹	۱/۳۴	۱/۲۸																
۰/۷۷۳۵	۰/۱۹۵۰	۰/۲۹۱۳	۰/۰۲	۰/۸۴	۰/۹۱	۰/۸۷	۰/۹۲																
۰/۶۰۰۷	۰/۱۴۰۲	۰/۴۶۱۵	۰/۳۷	۳۱	۳۲	۳۲/۴	۳۲/۶																
۰/۸۸۸۱	۰/۵۷۳۱	۰/۴۹۲۸	۰/۶۹	۷۸/۴	۸۰/۴	۷۸	۸۰/۴																
۰/۱۵۴۸	۰/۴۲۴۸	۰/۴۲۷۲	۰/۸۹	۸۴/۸	۲۰	۸۰/۷	۸۳																

ab: میانگین‌هایی که در هر سطر با حروف لاتین متفاوتی نشان‌گذاری شده‌اند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$).

باکتری‌های مفید و تاثیر بر کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در ذخیره چربی (۳) تاثیر مستقیم پپتیدهای تولیدی بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در فرایند ذخیره چربی یا پروتئین در بدن پرند.

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که استفاده از کنجاله پنبه‌دانه هیدرولیز شده باعث کاهش درصد وزن پانکراس خواهد شد. این تاثیر را وانگ و همکاران (۳۸) با ۲ درصد و متیوانان و همکاران (۲۲) با ۰/۵ درصد کنجاله سویا تخمیر شده به‌طور غیرمعنی‌داری مشاهده کردند. شاید علت اصلی کاهش وزن پانکراس، کاهش چشمگیر مواد ضد تغذیه‌ای در خوراک و نسبت مناسب مواد مغذی جیره باشد. در این خصوص در آزمایشی پاچو و همکاران (۲۶) نشان دادند که ارتباطی خطی و معنی‌دار بین میزان ممانعت‌کننده تیرپسین

از آنجایی که نیه و همکاران (۲۴) با استفاده از دوگونه باکتری (*S.cerevisiae* و *C.tropicalis*) فرایند تخمیر را صورت داده و در هر دو از نظر کاهش چربی محوطه شکمی نتایج یکسانی را دریافت کردند شاید بتوان چنین بیان کرد که تاثیر استفاده از پروتئین‌های هیدرولیز شده در بهبود خصوصیات لاشه می‌تواند به‌علت تشکیل پپتیدهایی باشد که در فرایند هیدرولیز از منابع پروتئین به‌دست می‌آیند، که البته در این خصوص نیز این پپتیدها به سه شکل ممکن می‌توانند تاثیر داشته باشند: ۱) تاثیر مثبت بر قابلیت هضم و جذب پروتئین‌ها که در این آزمایش و آزمایش‌های قبلی نیز مشاهده شده است. ۲) تاثیر غیرمستقیم پپتیدهای تولیدی بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در فرایند ذخیره‌ی چربی یا پروتئین از طریق تاثیر بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش (افزایش جمعیت

زیست فعال کنجاله پنبه‌دانه تولید شد توسط هیدرولیز آنزیمی باعث بهبود رشد و فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی سرم خون جوجه‌های گوشتی می‌شود. البته بهبود سرعت رشد با افزایش میزان خوراک مصرفی و همچنین افزایش ضریب تبدیل غذایی همراه بود. این نتایج پیشنهاد می‌نمایند که پپتیدهای زیست فعال کنجاله پنبه‌دانه پتانسیل استفاده به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در جیره جوجه‌های گوشتی را دارا هستند.

در خوراک و وزن پانکرانس وجود دارد. به‌طور کلی یکی از مزایای استفاده محصولات هیدرولیز شده در خوراک کاهش مواد ضد تغذیه‌ای از جمله گوسیپول، آنتی‌تریپسین، گلوکوزینولات، گالاتوالیگوساکاریدها، لکتین و فیتات است (۳۵). که در خصوص گوسیپول آزاد در آزمایش قبلی ما نیز فرایند هیدرولیز آنزیماتیک بر کنجاله پنبه‌دانه تاثیر مثبتی داشت (۲۴). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از پپتیدهای

منابع

1. Abdollahi, M.R., F. Zaefarian, Y. Gu, W. Xiao, J. Jia and V. Ravindran. 2017. Influence of soybean bioactive peptides on growth performance, nutrient utilisation, digestive tract development and intestinal histology in broilers. *Journal of Applied Animal Nutrition*, 5: e7.
2. Abdollahi, M.R., F. Zaefarian, Y. Gu, W. Xiao, J. Jia and V. Ravindran. 2018. Influence of soybean bioactive peptides on performance, foot pad lesions and carcass characteristics in broilers. *Journal of Applied Animal Nutrition*, 6: e3.
3. Alashi, A.M., C.L. Blanchard, R.J. Mailer, S.O. Agboola, A.J. Mawson, R. He, A. Girgih and R.E. Aluko. 2014. Antioxidant properties of australian canola meal protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 146: 500-506.
4. Aviagen. 2014. *Ross Broiler Management Handbook*. Aviagen Group, Huntsville, AL 35806.
5. Bellaloui, N. and R.B. Turley. 2013. Effects of fuzzless cottonseed phenotype on cottonseed nutrient composition in near isogenic cotton (*Gossypium hirsutum* L.) mutant lines under well-watered and water stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, 4: 516.
6. Benzie, I.F.F. and J.J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1): 70-76.
7. Bhabak, K.P. and G. Mughesh. 2010. Functional mimics of glutathione peroxidase: Bioinspired synthetic antioxidants. *Accounts of Chemical Reseqarch*, 43(11): 1408-1419.
8. Bolek, Y., H. Tekerek, K. Hayat and A. Bardak. 2016. Screening of cotton genotypes for protein content, oil, and fatty acid composition. *Journal of Agricultural Science*, 8(7): 107-122.
9. Deutz, N.E., C.F. Welters and P.B. 1996. Intra-gastric bolus feeding of meals containing elementary, partially hydrolyzed, or intact protein causes comparable changes in interorgan substrate flux in the pig. *Clinical Nutrition*, 15(3): 119-128.
10. Feng, J., X. Liu, Z.R. Xu, Y.Y. Liu and Y.P. Lu. 2007. Effects of aspergillus oryzae 3.042 fermented soybean meal on growth performance and plasma biochemical parameters in broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 134(3): 295-303.
11. Gao, D., Y. Cao and H. Li. 2010. Antioxidant activity of peptide fractions derived from cottonseed protein hydrolysate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(11): 1855-1860.
12. Ghezzi, P. 2011. Role of glutathione in immunity and inflammation in the lung. *International Journal of General Medicine*, 4: 105-113.
13. Hafeman, D.G., R.A. Sunde and W.G. Hoekstra. 1974. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. *Journal of Nutrition*, 104(5): 580-587.
14. Hu, Y., Y. Wang, A. Li, Z. Wang, X. Zhang, T. Yun, L. Qiu and Y. Yin. 2016. Effects of fermented rapeseed meal on antioxidant functions, serum biochemical parameters and intestinal morphology in broilers. *Food and Agricultural Immunology*, 27(2): 182-193.
15. Janero, D.R. 1990. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 9(6): 515-540.
16. Jazi, V., F. Boldaji, B. Dastar, S.R. Hashemi and A. Ashayerizadeh. 2017. Effects of fermented cottonseed meal on the growth performance, gastrointestinal microflora population and small intestinal morphology in broiler chickens. *British Poultry Science*, 58: 402-408.
17. Jensen, C., R. Engberg, K. Jakobsen, L.H. Skibsted and G. Bertelsen. 1997. Influence of the oxidative quality of dietary oil on broiler meat storage stability. *Meat Science*, 47(4): 211-222.
18. Kammerdetch, C., M. Weiss, C. Kasper and T. Scheper. 2007. An improvement of potato pulp protein hydrolyzation process by the combination of protease enzyme systems. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(4): 508-514.
19. Karimzadeh, S., M. Rezaei and A. Teimouri Yansari. 2016. Effects of canola bioactive peptides on performance, digestive enzyme activities, nutrient digestibility, intestinal morphology, and gut microflora in broiler chickens. *Poultry Science Journal*, 4(1): 27-36.
20. Kim, S.K., Y.T. Kim, H.G. Byun, K.S. Nam, D.S. Joo and F. Shahidi. 2001. Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of Alaska pollack skin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49(4): 1984-1989.

21. Kitts, D.D. and K. Weiler. 2005. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Current pharmaceutical design*, 9: 1309-1323.
22. Mathivanan, R., P. Selvaraj and K. Nanjappan. 2006. Feeding of fermented soybean meal on broiler performance. *International Journal of Poultry Science*, 9(5): 868-872.
23. Mohammadrezaei, M., B. Navidshad, A. Gheisari and M. Toghyani. 2020. Cottonseed meal bioactive peptides as an alternative to antibiotic growth promoters in broiler chicks. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 2020: 10086.
24. Nie, C., W. Zhang, W. Ge, Y. Wang, Y. Liu and J. Liu. 2015. Effects of fermented cottonseed meal on the growth performance, apparent digestibility, carcass traits, and meat composition in yellow-feathered broilers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39: 350-356.
25. Niu, J.L., J. Zhang, L.Q. Wei, W.J. Zhang and C.X. Nie. 2019. Effect of fermented cottonseed meal on the lipid-related indices and serum metabolic profiles in broiler chickens. *Animals*, 9: 930.
26. Pacheco, W.J., C.R. Stark, P.R. Ferket and J. Brake. 2014. Effects of trypsin inhibitor and particle size of expeller-extracted soybean meal on broiler live performance and weight of gizzard and pancreas. *Poultry Science*, 93(9): 2245-2252.
27. Rajapakse, N., E. Mendis, H.G. Byun and S.K. Kim. 2005. Purification and in vitro antioxidative effects of giant squid muscle peptides on free radical-mediated oxidative systems. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(9): 562-569.
28. Santoso, U., K. Tanaka and S. Ohtani. 1995. Effect of dried bacillus subtilis culture on growth, body composition and hepatic lipogenic enzyme activity in female broiler chicks. *British Journal of Nutrition*, 74(4): 523-529.
29. SAS Institute. 2016. SAS version 9.4 - University Edition. SAS Inst. Inc.
30. seifi, M., M. Rezaei and A. Teimouri Yansari. 2018. Effect of different levels of soybean meal peptides on performance, intestinal morphology, and intestinal bacterial population in broiler chicks. *Research on Animal Production*, 9(22): 9-17 (In Persian).
31. Shahidi, F. and Y. Zhong. 2008. Bioactive peptides. *Journal of AOAC International*, 91: 914-931.
32. Sharma, S., R. Singh and S. Rana. 2011. Review article bioactive peptides: A review. *International Journal of Bioautomation*, 15: 223-250.
33. Singh, R. and Geetanjali. 2016. *Protein Byproducts*. Elsevier Inc.
34. Soleymanzadeh, N., S. Mirdamadi and M. Kianirad. 2016. Antioxidant activity of camel and bovine milk fermented by lactic acid bacteria isolated from traditional fermented camel milk (Chal). *Dairy Science and Technology*, 96(4): 443-457.
35. Sugiharto, S. and S. Ranjitkar. 2019. Recent advances in fermented feeds towards improved broiler chicken performance, gastrointestinal tract microecology and immune responses: A review. *Animal Nutrition*, 5(1): 1-10.
36. Swiatkiewicz, S., A. Arczewska-Wlosek and D. Józefiak. 2016. The use of cottonseed meal as a protein source for poultry: An updated review. *Worlds Poultry Science Journal*, 72(3): 473-484.
37. Wang, J.P., N. Liu, M.Y. Song, C.L. Qin and C.S. Ma. 2011. Effect of enzymolytic soybean meal on growth performance, nutrient digestibility, and immune function of growing broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 169: 224-229.
38. Wang, L.C., C. Wen, Z.Y. Jiang and Y.M. Zhou. 2012. Evaluation of the partial replacement of highprotein feedstuff with fermented soybean meal in broiler diets. *Journal of Applied Poultry Research*, 21(4): 849-855.
39. Wang, Y., Q. Deng, D. Song, W. Wang, H. Zhou, L. Wang and A. Li. 2017. Effects of fermented cottonseed meal on growth performance, serum biochemical parameters, immune functions, antioxidative abilities, and cecal microflora in broilers. *Food and Agricultural Immunology*, 28(4): 725-738.
40. Winterbourn, C.C., R.E. Hawkins, M. Brian and R.W. Carrell. 1975. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 85(2): 337-341.
41. Xu, L., B. Du and B. Xu. 2015. A systematic, comparative study on the beneficial health components and antioxidant activities of commercially fermented soy products marketed in China. *Food Chemistry*, 174: 202-213.
42. Yang, R., W. Li, Y.H. Shi and G.W. Le. 2008. Lipoic acid prevents high-fat diet-induced dyslipidemia and oxidative stress: A microarray analysis. *Nutrition*, 24: 582-588.
43. Yuan, D., Z. Tang, M. Wang, W. Gao, L. Tu, X. Jin, L. Chen, Y. He, L. Zhang, L. Zhu, Y. Li, Q. Liang, Z. Lin, X. Yang, N. Liu, S. Jin, Y. Lei, Y. Ding, G. Li, X. Ruan, Y. Ruan and X. Zhang. 2015. The genome sequence of Sea-Island cotton (*Gossypium barbadense*) provides insights into the allopolyploidization and development of superior spinnable fibre. *Scientific Reports*, 4(5): 17662.
44. Zarei, M., A. Ebrahimpour, A. Abdul-Hamid, F. Anwar and N. Saari. 2012. Production of defatted palm kernel cake protein hydrolysate as a valuable source of natural antioxidants. *International Journal of Molecular Science*, 13(7): 8097-8111.
45. Zhang, B., Y. Cui, G. Yin, X. Li and Y. You. 2010. Synthesis and swelling properties of hydrolyzed cottonseed protein composite superabsorbent hydrogel. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 59(12): 1018-1032.

Effect of Different Levels of Cottonseed Meal Bioactive Peptides on Production Efficiency and Serum Antioxidant Activity of Broiler Chickens

Mohammad Mohammadrezaei¹, Bahman Navidshad² and Abasali Gheisari³

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

2- Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran,
(Corresponding Author: bnavidshad@uma.ac.ir)

3- Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education, and Extension Organization, Isfahan, Iran

Received: 23 March, 2020

Accepted: 3 August, 2020

Abstract

Cottonseed meal was hydrolyzed using five types of enzymes: alkalase, chymotrypsin, pepsin, trypsin, and pancreatin. The experiment was carried out using 240 male broilers of Ross 308 strain in a completely randomized design with 4 treatments and 5 replications from 1 to 35 days of age and during the starter (1-15 days) and grower (16-35 days) phases. The experimental diets were the control diet, the control diet containing zinc bacitracin (70 mg/kg), and the experimental diets containing 15 or 20 g/kg cottonseed bioactive peptides which replaced equal amounts of corn and Soybean in the diet. Feed intake, weight gain and feed conversion ratio were measured and calculated for each cage (repetition) during three rearing (starter, grower and total period). At 35 days of age, 3 ml blood was obtained from the wing vein of 3 birds per replicate to measure serum antioxidant parameters. At the end of the rearing period, three birds from each cage were individually weighed and slaughtered and the relative weights of carcass, gastrointestinal and lymphoid organs as well as the length of different parts of the small intestine were measured. In the whole of the experimental period, the highest and lowest weight gain was observed in the antibiotic and the control groups, respectively. Antibiotic and peptide fed groups had higher feed intake and feed conversion ratio than the control group. Serum nitric oxide levels were higher in the 15 g/kg peptide group than in the control group and the antibiotic group. Malondialdehyde levels were lower for antibiotic or peptide groups than in the control group, and glutathione peroxidase levels in the groups fed antibiotic or 15 g/kg peptide was higher than in two other groups. Serum superoxide dismutase levels were higher in the groups receiving antibiotics or different levels of peptide than in the control group and the total serum antioxidant levels were not affected by the experimental diets. Antibiotic or peptide administration significantly reduced abdominal fat compared with the control group. The results of the present study showed that the bioactive peptides produced by enzymatic hydrolysis of cottonseed meal improved the growth efficiency and antioxidant parameters of broiler chickens. These results suggest that the bioactive peptides of cottonseed meal have the potential to be used as an alternative to growth-promoting antibiotics in the broiler chickens diets.

Keywords: Bioactive peptides, Broiler chickens, Cottonseed meal, Oxidative indices, Productive traits



"مقاله پژوهشی"

اثر پودر میوه گیاه پنج‌انگشت بر بیان ژن GnRH هیپوتالاموس مرغان تخمگذار

راضیه صباحی^۱، محمود نظری^۲، محمدتقی بیگی‌نصیری^۳ و محمدرضا قربانی^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
(نویسنده مسوول: M.nazari@asnruk.ac.ir)

۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۴- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۰۱

صفحه: ۹۲ تا ۱۰۰

چکیده

هورمون آزادکننده گنادوتروپین‌ها (GnRH) یک مولکول تنظیم‌کننده کلیدی در محور هیپوفیز-هیپوتالاموس است که رونویسی هورمون لوتهینه‌کننده (LH) در هیپوفیز را القاء می‌کند. تحقیقات نشان داده که استروژن نقش مهمی در تنظیم GnRH ایفا می‌کند. همچنین آزمایشات اخیر نشان داده که گیاه پنج‌انگشت حاوی مقدار زیادی فیتواستروژن است. از این‌رو، در مطالعه حاضر به بررسی اثر پودر میوه گیاه پنج‌انگشت بر بیان ژن GnRH و LH در مرغان تخمگذار با استفاده از تکنیک Real time qPCR پرداخته شد. برای انجام این آزمایش از ۹۰ قطعه مرغ تخمگذار سویه تجاری‌های لاین (W-36) از سن ۷۲ تا ۸۰ هفتهگی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار، ۵ تکرار و ۶ قطعه مرغ در هر تکرار به مدت ۵۶ روز استفاده شد. سه تیمار آزمایشی عبارت بودند از: ۱- جیره شاهد (جیره پایه بدون هیچ افزودنی)، ۲- جیره پایه به‌همراه ۱ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت، ۳- جیره پایه به‌همراه ۲ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت. در انتهای آزمایش یک مرغ از هر تکرار کشتار شد، هیپوتالاموس آن‌ها جدا و به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس RNA استخراج شده و برای سنتز cDNA مورد استفاده قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان‌داد بیان ژن GnRH در تیمار ۳ (جیره حاوی ۲ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت) نسبت به شاهد و تیمار ۱ درصد افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0/01$)، در حالی که افزودن پودر میوه گیاه پنج‌انگشت به‌میزان ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن GnRH نداشت ($p > 0/05$). علاوه بر این افزودن ۱ و ۲ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن LH نداشت ($p > 0/05$). نتایج این تحقیق نشان‌داد که افزودن پودر میوه گیاه پنج‌انگشت به‌میزان ۲ درصد نمی‌تواند بر محور هیپوفیز-هیپوتالاموس مرغ تخمگذار در سنین ۷۲ تا ۸۰ هفتهگی تأثیر گذار باشد.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، فیتواستروژن، گیاه پنج‌انگشت، GnRH

مقدمه

گلیکوپروتئینی‌اند که هر یک از دو زنجیره‌ی پپتیدی تشکیل شده‌اند. یک زنجیره‌ی مشترک آلفا با ۹۰ اسیدآمینو و زنجیره‌ی بتا که ویژه‌ی هر هورمون می‌باشد. گنادوتروپین‌ها، آثاری چندگانه دارند که تنظیم رشد فولیکول‌های تخمدان، تخمک‌ریزی و تنظیم تولید و ترشح هورمون‌های غدد جنسی از آن جمله هستند. بلوغ فولیکولی تخمدان به‌وسیله‌ی هورمون LH و FSH صورت می‌گیرد (۳۲).

با افزایش سن از تولید و کیفیت تخم مرغ کاسته می‌شود. با شروع بلوغ جنسی در مرغ‌ها غلظت استروژن پلازما به‌تدریج افزایش می‌یابد. نتایج مطالعه هنسن و همکاران (۱۳) نشان داده که میزان استروژن در مرغ تخمگذار در سن ۷۰ هفتهگی به سرعت نسبت به سن ۲۹ هفتهگی (پیک تولید تخم مرغ) کاهش می‌یابد و باعث کاهش تولید و کیفیت تخم‌مرغ می‌شود. این موضوع ضرر اقتصادی زیادی به مرغداران وارد می‌کند. افزودن عصاره گیاهان دارای خاصیت فیتواستروژنی مثل رازیانه (۱۷) و عناصر معدنی مثل روی (۳۵) می‌تواند جهت جلوگیری از این کاهش در انتهای دوره تولید مفید باشد. برای جلوگیری از این خسارت باید راه‌حلی یافت تا میزان استروژن را افزایش داد. با توجه به معایب هورمون‌ها و مشکلات و اثرات منفی آن‌ها و این‌که گیاهان حاوی فیتواستروژن فاقد اثرات منفی استروژن‌های صنعتی

مغز، عملکرد تولیدمثلی را از راه محور هیپوتالاموس-هیپوفیز- غدد جنسی (Hypothalamic- Pituitary- Gonadal= HPG) تنظیم می‌کند (۳۱). در برجستگی میانی، هورمون GnRH به عروق خونی باب هیپوفیز تراوش شده و در آن‌جا از راه جریان خون به هیپوفیز قدامی منتقل می‌شود. در هیپوفیز قدامی، نوروهورمون GnRH بر سلول‌های گنادوتروپ اثر گذاشته و با کمک سایر هورمون‌ها از جمله استروئیدهای جنسی، ترشح گنادوتروپین‌ها یعنی هورمون لوتهینی (LH) و هورمون محرک فولیکولی (FSH) را تنظیم می‌کند (۹). گنادوتروپین‌ها از راه خون به غدد جنسی (تخمدان‌ها و بیضه‌ها) رسیده و در آن‌جا موجب تنظیم رشد فولیکول‌ها و تخمک‌گذاری در ماده‌ها و اسپرماتوزن و بلوغ اسپرم در نرها می‌شوند (۱۶). تاکنون ۳ نوع GnRH در مغز مرغ مشاهده شده‌است. GnRH1 عامل اصلی هیپوفیزوتروپیک در کنترل و ترشح گنادوتروپین‌ها می‌باشد. در حالی که GnRH2 به‌عنوان انتقال دهنده‌ی عصبی و GnRH3 به‌عنوان یک واسطه برای تنظیم و ترشح گنادوتروپین‌ها عمل می‌کند (۲۶). غده‌ی هیپوفیز قدامی، ۳ هورمون گنادوتروپین به نام‌های LH و FSH و پرولاکتین را ترشح می‌کند (۱۲). هورمون‌های LH و FSH

است (۲۹). این ترکیبات ساختار و عملکرد شبیه به استرادیول دارند اما اثر آن‌ها نسبت به استروژن ضعیف‌تر است (۲۳). شباهت ساختمان این مواد با استروژن‌ها سبب گردیده که آن‌ها قادر باشند به گیرنده‌های استروژن متصل شوند و انواع اثرات استروژنی را اعمال کنند (۴). گیاه پنج‌انگشت به‌عنوان یک گیاه فیتواستروژن دارای خواص دارویی است و ترکیبات موجود در آن به‌عنوان جایگزین استروژن‌های مصنوعی در کنترل محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناد در موش به‌کار رفته است (۲۰). تاکنون تحقیقات زیادی در مورد کاربردهای دارویی گیاه پنج‌انگشت برای انسان (۳۴) موش (۲۱،۳) و ماهی (۳۳،۷) انجام گرفته است. اما تا کنون مطالعه‌ی مکتوبی در زمینه اثرات استفاده از پودر میوه گیاه پنج‌انگشت بر مرغ تخمگذار گزارش نگردیده است. لذا در این مطالعه به اثرات تغذیه‌ای پودر میوه گیاه پنج‌انگشت بر بیان ژن GnRH هیپوتالاموس و LH هیپوفیز در مرغ تخمگذار با استفاده از تکنیک Real time-qPCR پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۹۰ قطعه مرغ تخمگذار سویه تجاری های‌لاین (W-36) از سن ۷۲ تا ۸۰ هفتگی (در فاز دوم تولید) با میانگین وزن ۱۶۹۰/۸ گرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار، ۵ تکرار و ۶ قطعه مرغ در هر تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه تیمار: جیره شاهد (جیره پایه بدون هیچ افزودنی)، جیره پایه به‌همراه ۱ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت، جیره پایه به‌همراه ۲ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت بودند (جدول ۱).

می‌باشند، استفاده از استروژن‌های اگزوژن طبیعی مثل فیتواستروژن‌ها در صنعت دام و طیور رایج گردیده است. آزمایشات زیادی نشان داده‌است که گیاهان دارای فیتواستروژن می‌توانند بیان GnRH را تحت‌تأثیر قرار دهند. از مهم‌ترین فیتواستروژن‌ها می‌توان جنستین (۱۹) و دایدزین (۲۲) را نام برد که در جیره مرغ تخمگذار مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

گیاه پنج‌انگشت با نام علمی *Vitex Agnus Castus* متعلق به تیره نعنائیان یا لامیاسه است که به‌مقدار زیاد حاوی فیتواستروژن است. گیاه پنج‌انگشت را گیاه زنان می‌نامند. پنج‌انگشت در پیشگیری از اختلالات قاعدگی، پیود دردناک، قطع غیر طبیعی پیود، اختلال در زمان و مقدار خونریزی، نارسایی زودرس تخمدان و عوارض حین یائسگی مؤثر می‌باشد (۱۴،۳۴). گیاه پنج‌انگشت نام‌های زیادی از جمله، پنج‌پنجه، بنگر و دل‌آشوب، درخت پاک‌دامنی و فلفل بیابانی دارد (۳۰). این گیاه به‌طور عمده در آسیای مرکزی و نقاط استوایی، اروپا و شمال آمریکا می‌روید (۱). در ایران این گیاه در نواحی مختلف مانند رشته‌کوه البرز، تهران، کرج، قم، خراسان، جنوب، غرب، بندرعباس و نواحی مختلف خلیج فارس یافت می‌شود (۱۰). گیاه پنج‌انگشت دارای استروئیدها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، اسیدهای چرب غیراشباع، ویتامین‌ها، رزین‌ها، نیترات‌پتاسیم، اسیدآسپارتیک و اسیدگلوتامیک است (۱۱). از میوه این گیاه نیز اسید لینولئیک، ترکیبی با خاصیت استروژنی با توانایی اتصال به گیرنده‌های آلفا و بتای استروژنی را استخراج کرده‌اند که موجب بیان ژن‌های گیرنده از نوع بتا می‌گردد (۲۵). گیاه پنج‌انگشت به‌عنوان یکی از منابع غنی از فیتواستروژن‌ها شناخته شده

جدول ۱- ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی (بر حسب درصد)

ماده خوراکی (درصد)	شاهد	۱ درصد پنج‌انگشت	۲ درصد پنج‌انگشت
ذرت	۶۰/۱۹	۵۹/۰۰	۵۷/۶۰
کنجاله سویا	۲۲/۴	۲۲/۳	۲۲/۳
پنج‌انگشت	۰	۱/۰۰	۲
روغن گیاهی	۳/۰۵	۳/۳۴	۳/۷۴
دی‌کلسیم فسفات	۱/۶	۱/۶	۱/۶
پودر صدف	۶/۵	۶/۵	۶/۵
کربنات کلسیم	۵/۱۵	۵/۱۵	۵/۱۵
جوش شیرین	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳
نمک طعام	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳
آل-لیزین هیدروکلراید	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱
دی-آل متیونین	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴
مکمل معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل ویتامینه	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مقادیر تامین شده			
انرژی قابل سوخت و ساز (kcal/kg)	۲۸۰۲	۲۷۹۸	۲۷۹۸
پروتئین خام (درصد)	۱۵/۰۵	۱۵/۰۳	۱۵/۰۱
کلسیم (درصد)	۴/۸۵	۴/۸۴	۴/۸۴
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱
آل-لیزین هیدروکلراید (درصد)	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۷
متیونین+سیستین	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۳

*: به‌ازای هر کیلوگرم جیره حاوی ۸۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین K3، ۱۴۷۷ میلی‌گرم ویتامین B1، ۴۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B2، ۷۸۴۰ میلی‌گرم ویتامین B3، ۳۴۶۵۰ میلی‌گرم ویتامین B5، ۲۴۶۴ میلی‌گرم ویتامین B6، ۱۱۰ میلی‌گرم ویتامین B9، ۱۰ میلی‌گرم ویتامین B12، ۴۰۰ گرم کولین کلراید می‌باشد.
 **: به‌ازای هر کیلوگرم جیره حاوی ۷۴۴۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۷۵۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۶۷۵۶۴ میلی‌گرم روی، ۶۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۸۶۷ میلی‌گرم ید و ۲۰۰ میلی‌گرم سلنیوم می‌باشد.

و ۴ میکرولیتر آب استریل و در مرحله دوم شامل، ۴ میکرولیتر 5X Buffer، ۱ میکرولیتر DTT، ۰/۵ میکرولیتر M-Mlv، ۰/۵ میکرولیتر RNase inhibitor، ۲ میکرولیتر dNTP و ۲ میکرولیتر آب استریل استفاده شد. پس از اتمام مرحله اول ۱۰ میکرولیتر از محصول مرحله دوم به محصول مرحله اول اضافه شد. برنامه حرارتی عبارتند از: مرحله اول ۵ دقیقه با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد و مرحله دوم شامل ۶۰ دقیقه با دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و ۵ دقیقه در ۶۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. به‌منظور بررسی تغییر در رونوشت ژن GnRH و LH از روش PCR در زمان واقعی (RT-qPCR) استفاده گردید. پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق از مطالعه ردی و همکاران (۲۸) بدست آمده بود. توالی و خصوصیات پرایمرها در جدول ۲ ارائه شده است.

در پایان دوره آزمایش ۱ قطعه مرغ از هر تکرار کشتار شد و نمونه سر آن‌ها سریعاً جدا گردید. سپس جمجمه را شکافته و هیپوتالاموس و هیپوفیز از سایر قسمت‌های مغز جدا شد و با تانک ازت مایع به آزمایشگاه منتقل گردید و تا زمان استخراج RNA در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۸). استخراج RNA نمونه‌ها توسط روش کریستو و همکاران (۶) انجام گرفت. برای بررسی کمیت و خلوص RNA استخراج شده از دستگاه نانودراپ مدل (Thermo Scientific NanoOdrOp. 2000. USA) و برای تعیین کیفیت RNA استخراج شده از ژل آگارز ۲ درصد در بافر 0.5x TBE استفاده شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت سیناکلون و طبق دستورالعمل شرکت سازنده (تکاپوزیست) ساخته شد. اجزای سنتز cDNA، مرحله اول در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر شامل، ۵ میکرولیتر RNA، ۱ میکرولیتر Oligo dt

جدول ۲- توالی و خصوصیات آغازگرهای رفت و برگشت استفاده شده در واکنش PCR

ژن‌ها	توالی پرایمر	اندازه محصول	دمای اتصال
ژن GnRH	F:5'-ATTTTCCAGCGGGAAGAGTTG-3' R:5'-TGGGTTTGTGATGGTGTGTG-3'	۳۵۰	۶۲
ژن LH	F:5'-GTTGGTGTGATGACCCCTT-3' R:5'-TGGTGGTCACAGCCATACAT-3'	۱۹۴	۶۲
ژن Beta-Actin	F:5'-GAGGGAGGGTGGATCATAGA-3' R:5'-CCTCTGGGACCTTCAACAAT-3'	۱۵۰	۵۹

به‌مدت ۳۰ ثانیه، دمای بسط ۷۲ درجه به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۵۱ سیکل با دمای ۹۵-۷۰ درجه به‌مدت ۱۰ ثانیه برای تهیه نمودار ذوب می‌باشد. روش بررسی تغییرات بیان ژن در این پژوهش روش $\Delta\Delta CT$ (آستانه مقایسه‌ای) و نسبت به بیان ژن بتا‌اکتین بود. (۲۴).

$$ratio = \frac{(E_{target})^{\Delta CT_{target(control-sample)}}}{(E_{ref})^{\Delta CT_{ref(control-sample)}}}$$

در این رابطه E_{target} و E_{ref} به‌ترتیب بازدهی ژن مورد مطالعه و ژن مرجع می‌باشد. ΔCT حاصل تفریق CT (حد آستانه) ژن مورد مطالعه در نمونه از کنترل است. آنالیز سطح بیان ژن GnRH و LH با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و سپس آزمون دانکن در سطح خطای ۵ درصد ($p < 0.05$) بررسی شد.

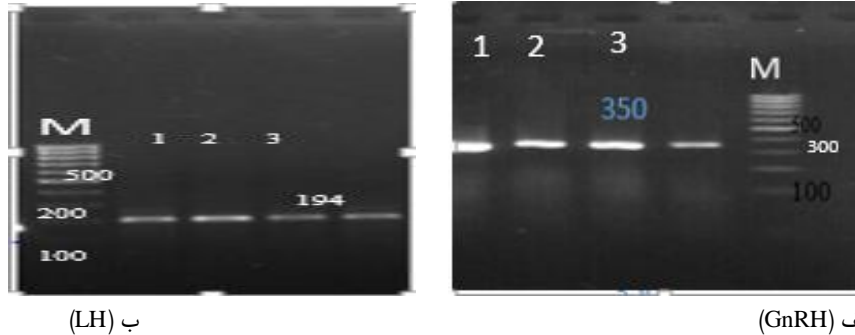
نتایج و بحث

استخراج RNA در تمامی نمونه‌ها با موفقیت انجام شد. پس از استخراج RNA و اندازه‌گیری میزان خلوص آن، توسط دستگاه نانودراپ، میزان خلوص آن با نسبت جذب نوری ۲۶۰ به ۲۸۰ بررسی شد. این نسبت در تمام RNAهای استخراج شده در این پژوهش بین ۱/۸-۲ بود و همچنین غلظت RNA استخراج شده در حدود ۱۵۰۰ الی ۳۰۰۰ نانوگرم در میکرولیتر بود. بررسی کیفیت RNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۲ درصد منجر به ایجاد دو باند ۲۸S و ۱۸S شد که نشان‌دهنده کیفیت خوب RNA بود. در تأیید صحت تکثیر ژن‌های GnRH و LH و بتا‌اکتین با استفاده از پرایمرهای طراحی شده پس از انجام PCR روی نمونه‌های cDNA بافت هیپوتالاموس و هیپوفیز، ژن GnRH منجر به ایجاد باند ۳۵۰ bp (شکل ۱)، ژن LH منجر به ایجاد باند ۱۹۴ bp

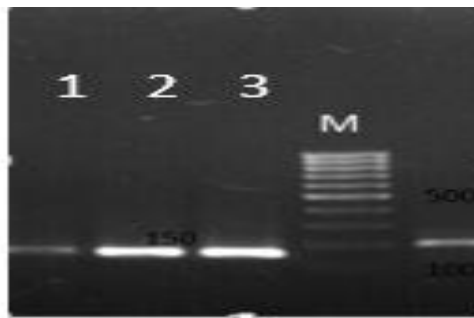
واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Bio-Rad انجام شد. تکثیر قطعه ۳۵۰ برای ژن GnRH و ۱۹۴ برای ژن LH توسط واکنش PCR دستگاه ترمال سایکلر Bio-Rad بر اساس روش استاندارد انجام شد. تعداد سیکل‌های انجام واکنش PCR برای هر جفت پرایمر ۳۵ در نظر گرفته شد. اجزای واکنش PCR در حجم نهایی ۲۳ میکرولیتر شامل، ۶/۵ میکرولیتر آب استریل، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۲ میکرولیتر از سنتز cDNA و ۱۲/۵ میکرولیتر Master 1.5 mix می‌باشند و برنامه حرارتی عبارت است از: یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل با دمای واسرشت‌سازی ۹۵ درجه به‌مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۶۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۰ ثانیه، دمای بسط ۷۲ درجه به‌مدت ۳۰ ثانیه، یک مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه به‌مدت ۵ دقیقه و نگهداری در دمای ۴ درجه به مدت ۵ دقیقه می‌باشد. الکتروفورز محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۱٪ و رنگ‌آمیزی آن با ماده سیف استین صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل بیان ژن با تکنیک RT-qPCR از دستگاه Step One Plus Real-Time PCR System شرکت ABI و کیت Real Q Plus 2xMasterMix Green (High ROX) ساخت شرکت سیناکلون استفاده شد. اجزای واکنش RT-qPCR در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر شامل، ۲ میکرولیتر cDNA، ۰/۲ میکرولیتر از هر پرایمر، ۲/۶ میکرولیتر آب استریل، ۵ میکرولیتر کیت تجاری Real Q Plus 2x Master Mix Green (High ROX) می‌باشند و برنامه حرارتی شامل: یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه ۱۵ دقیقه، ۴۰ سیکل با دمای واسرشت‌سازی ۹۵ درجه به‌مدت ۱۵ ثانیه، دمای اتصال ۶۲ درجه سانتی‌گراد

یک حد آستانه در فاز نمایی تعریف شد که نشان‌دهنده سیکلی می‌باشد که در آن شدت نور فلورسنت ساطع شده از تکثیر واکنش به حد آستانه رسیده است.

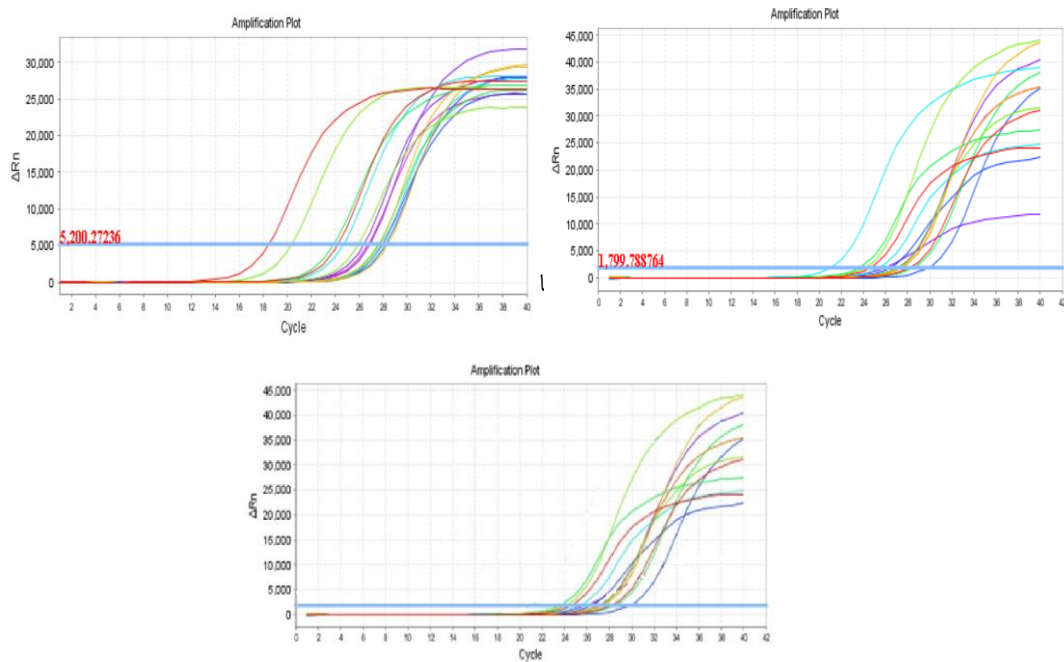
(شکل ۱) و باند ۱۵۰ bp برای ژن بتاکتین (شکل ۲) روی ژل آگارز گردید. طی انجام واکنش، دستگاه ریل تایم میزان تغییرات نور فلورسنت در هر سیکل را به صورت منحنی تکثیر نشان می‌دهد (شکل ۳). برای منحنی تکثیر همه نمونه‌ها،



شکل ۱- الکتروفورز محصولات PCR الف: ژن GnRH ب: LH روی ژل آگارز ۲ درصد. M: مارکر مولکولی ۱۰۰ bp
Figure 1. Electrophoresis of PCR products for a) GnRH b) LH genes on the 2% Agarose gel. M: Molecular marker 100 bp.

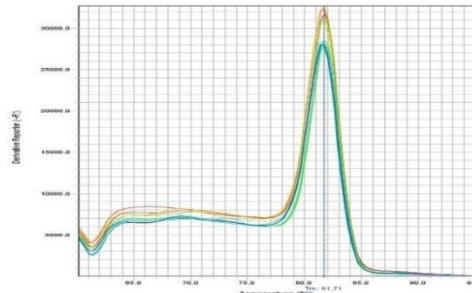


شکل ۲- الکتروفورز محصولات PCR ژن Beta-Actin روی ژل آگارز ۲ درصد. M: مارکر مولکولی ۱۰۰ bp
Figure 2. Electrophoresis of PCR products for Beta-Actin gene on the 2% Agarose gel. M: M: Molecular marker 100 bp.

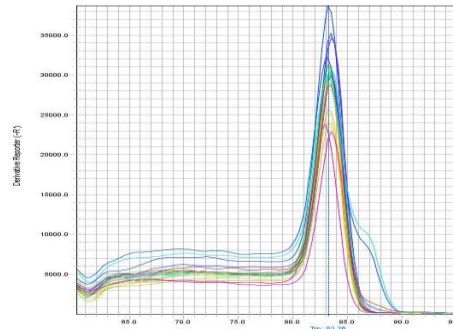


شکل ۳- منحنی تکثیر استاندارد الف: ژن LH ب: GnRH پ: بتاکتین حاصل از واکنش Real Time PCR برای مرغ تخمگذار
Figure 3. Standard amplification curve of a) LH b) GnRH c) Beta-Actin gene production using Real time PCR for laying hens

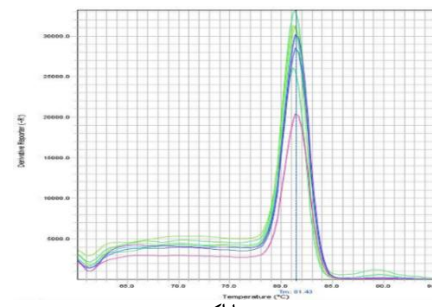
منحنی ذوب ژن بتا اکتین، GnRH و LH اختصاصی بودن و دمای Tm محصول (دمایی که در آن نیمی از محصول از حالت دو رشته‌ای خارج می‌شود) واکنش ریل تایم این ژن‌ها را نشان می‌دهد (شکل ۴).



الف - (LH)



ب - GnRH



پ - بتا اکتین

شکل ۴- منحنی ذوب محصول الف: ژن LH ب: GnRH پ: بتا اکتین حاصل از واکنش Real Time PCR برای مرغ تخمگذار
Figure 4. Melting curve of a) LH b) GnRH c) Beta -Actin gene production using Real time PCR for laying hens.

اثر تیمارها بر بیان ژن LH

جدول تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان می‌دهد که تیمارها بر بیان ژن LH اثر معنی‌داری نداشتند ($p > 0.05$). نتایج نرمال شده، نشان‌داد که میزان بیان ژن LH در گروه تغذیه شده با سطح ۲ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت برابر ۱/۲۷۳۳ و در گروه تغذیه شده با سطح ۱ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت ۱/۱ برآورد شد که این افزایش در سطح ۱ درصد معنی‌دار نبود ($p > 0.05$).

اثر تیمارها بر بیان ژن GnRH

جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان‌داد که تیمارها بر بیان ژن GnRH اثر معنی‌داری داشتند ($p < 0.01$). نتایج نرمال شده، نشان‌داد که میزان بیان ژن GnRH در گروه تغذیه شده با سطح ۲ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت برابر ۵/۲۰۶۷ و در گروه تغذیه شده با سطح ۱ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت ۱/۳۹۶۷ برآورد شد که در گروه تغذیه شده با سطح ۲ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود ($p < 0.01$).

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس اثر پودر میوه گیاه پنج‌انگشت بر بیان ژن GnRH هیپوتالاموس مرغ تخمگذار
Table 3. Analysis of variance (ANOVA) for Vitex Agnuse Castus fruit powder on hypothalamic GnRH gene expression in laying hens

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	سطح معنی‌داری
تیمارها	۲	۳۲/۳۶	۱۶/۱۸	۰/۰۰۱۷
خطا	۶	۲/۳۵	۰/۳۷۵	

جدول ۴- جدول تجزیه واریانس اثر پودر میوه گیاه پنج‌انگشت بر بیان ژن LH مرغ تخمگذار

Table 4. Analysis of variance (ANOVA) for Vitex Agnuse Castus fruit powder on LH gene expression in laying hens

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	سطح معنی‌داری
تیمارها	۲	۰/۱۱۴۷	۰/۰۵۷۳	۰/۱۶۳۲
خطا	۶	۰/۱۲۷۶	۰/۰۲۲۹	

جدول ۵- اثر پودر میوه گیاه پنج‌انگشت بر بیان ژن‌های LH و GnRH مرغ تخمگذار

Table 5. The Effect of Vitex Agnuse Castus fruit powder on GnRH and LH genes expression in laying hens

بیان ژن LH ^a	بیان ژن GnRH ^b	تیمارها
۱/۱±۰/۱۵ ^a	۱/۳۹۶±۰/۱۸۵ ^d	گروه شاهد
۱/۲۷۳±۰/۱۵ ^a	۵/۲۰۶±۰/۱۸۵ ^a	سطح ۱ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت
		سطح ۲ درصد پودر میوه گیاه پنج‌انگشت

حروف مشابه در ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p>۰/۰۵).

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پودر میوه گیاه پنج‌انگشت به میزان ۱ درصد نمی‌تواند تأثیری بر بیان ژن‌های LH و GnRH داشته باشد اما افزودن پودر میوه گیاه پنج‌انگشت به میزان ۲ درصد توانسته است بیان ژن GnRH را به میزان ۴/۲ واحد افزایش دهد. این در حالی است که این مقدار پودر میوه گیاه پنج‌انگشت تأثیری بر بیان ژن LH نداشته است. افزایش GnRH می‌بایستی سبب افزایش بیان LH می‌شد (۹) اما این اتفاق نیفتاده است. اگر افزایش GnRH سبب افزایش LH شده باشد بایستی اثر آن را در عملکرد و تولید و تولیدمثل مشاهده کرد. در مطالعه‌ای که محققین بر روی همین مرغان تخمگذار انجام دادند به این نتیجه رسیدند که افزودن پودر میوه گیاه پنج‌انگشت اثری بر عملکرد و تولیدمثل و کیفیت تخم مرغ نداشته است (۸). پس به نظر می‌رسد که افزایش GnRH نتوانسته است سبب افزایش LH شود و بر عملکرد و تولید مرغ‌ها اثری نداشته است. شاید علت این امر بالا بودن سن مرغ‌ها (۷۲ تا ۸۰ هفتگی) و یا نامناسب بودن سطح پودر میوه گیاه پنج‌انگشت با مرحله تولید باشد.

به‌طور کلی با توجه به نتایج مطالعه حاضر، افزودن پودر میوه گیاه پنج‌انگشت به جیره مرغ‌های تخمگذار بر بیان ژن GnRH تأثیر معنی‌داری داشت. سطح ۲ درصد از پودر میوه گیاه پنج‌انگشت بیشترین میزان بیان را در ژن GnRH شامل شد. در حالی که افزودن این مقدار نتوانسته سبب افزایش بیان LH شود لذا موضوع پیشنهاد می‌گردد از سطوح بالاتری از پودر میوه پنج‌انگشت استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

از کلیه مسئولین پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل تأمین بودجه این پژوهش همکاری صمیمانه‌شان تشکر به‌عمل می‌آید.

مطالعات نشان داده‌اند که گیاه پنج‌انگشت خاصیت فیتواستروژنی دارد (۲۰). از این رو پژوهش حاضر به منظور بررسی خاصیت استروژنی این گیاه بر بیان ژن‌های LH و GnRH در مرغ تخمگذار صورت گرفت. فیتواستروژن‌ها تعدیل‌کننده هورمونی هستند که در شرایطی که سطح هورمون استروژن پایین باشد به‌عنوان یک آگونیست استروژن عمل نموده و اثرات شبه استروژنی ایجاد می‌کنند و در شرایط بالا رفتن سطح هورمون استروژن به‌عنوان یک آنتاگونیست عمل می‌کنند (۲). استروژن رسپتور بتا در نورون‌های GnRH هیپوتالاموس وجود دارد و باعث افزایش اثرات مستقیم استروژن در سلول‌های عصبی GnRH می‌شود (۱۵). آزمایشات زیادی نشان داده است که گیاهان دارای خواص فیتواستروژنی می‌توانند بیان GnRH را تحت تأثیر قرار دهند. تاکنون تحقیقات زیادی در مورد کاربردهای دارویی گیاه پنج‌انگشت برای انسان (۲۷،۳۴) موش (۳،۲۰) و ماهی (۳۳،۷) انجام گرفته است. اما تا کنون مطالعه‌ی مکتوبی در زمینه اثرات استفاده از پودر میوه گیاه پنج‌انگشت بر مرغ تخمگذار گزارش نگردیده است. اما گزارشاتی در زمینه استفاده از دیگر گیاهان دارای خواص فیتواستروژنی وجود دارد. از مهم‌ترین فیتواستروژن‌های مورد استفاده در مرغ تخمگذار می‌توان عصاره رازیانه، جنسستین و دایدزئین را نام برد. محققین نشان دادند که افزودن ۵۰ میلی‌گرم عصاره رازیانه در کیلوگرم جیره به‌همراه ویتامین D باعث بهبود عملکرد مرغ‌های مادر گوشتی می‌شود (۱۷). در تحقیقی نشان داده شد که میزان ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمار جنسستین باعث افزایش بیان ژن LH و GnRH و بهبود سطح سرمی استروژن و افزایش میزان تخمگذاری در مرغ‌های دچار سندروم کبد چرب می‌شود (۱۹). همچنین محققین نشان دادند که دایدزئین عملکرد مرغ تخمگذار را از جمله تولید تخم مرغ و بازده خوراک را افزایش می‌دهد (۵،۳۶،۲۲).

منابع

1. Arokiyaraj S., K. Perinbam, P. Agastian and R.M. Kumar. 2009. Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Vitex agnus-castus*. International Journal of Green Pharmacy, 3(2): 162-164.
2. Ball, E. R., M.K. Caniglia, J.L. Wilcox, K.A. Overton, M.J. Burr, B.D. Wolfe and C.C. Wrenn. 2010. Effects of genistein in the maternal diet on reproductive development and spatial learning in male rats. Hormones and behavior, 57(3): 313-322.
3. Borrione, P., L. Di Luigi, N. Maffulli and F. Pigozzi. 2008. Herbal supplements: cause for concern? Journal of sports science and medicine, 7(4): 562.

4. Brebion, P., J.P. Belloc, M. Briousson and L. Elite. 1990. Ewe pretreated with a GnRH antagonist yield more usable embryos following FSH. In sixth meeting European association for embryo transfer, 12.
5. Chomczynski, P. and N. Sacchi. 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem*, 162: 156-159.
6. Christou, A., E.C. Georgiadou, P. Filippou, G.A. Manganaris and V. Fotopoulos. 2014. Establishment of a rapid, inexpensive protocol for extraction of high quality RNA from small amounts of strawberry plant tissues and other recalcitrant fruit crops. *Gene*, 537(1): 169-173.
7. Enayat gholampour, T., V. Jafari, M.R. Imanpour and H. Kolangi Miandare. 2017. Investigation of expression of CYP19 (a) and reproduction in *Danio rerio* fed a diet enriched with *Vitex agnus castus* extract. *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 4(3): 27-41 (In Persian).
8. Fathi Moghaddam, N., M.R. Ghorbani, S. Tabatabaie and A. Tatar. 2020. The effect of different levels of *Vitex agnus castus* fruit powder on performance, egg quality, some blood biochemical parameters, immunity response and some tibial bone characteristics in laying hens. Master thesis Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan (In Persian).
9. Fink, G. 2000. Neuroendocrine regulation of pituitary function. In *Neuroendocrinology in physiology and medicine*. Humana Press, Totowa, NJ, 107-133.
10. Ghahraman, A. 2003. Iranian cryophytes. Tehran: Tehran University Pub. 315 pp.
11. Ghosal, I. and S.B. Chakraborty. 2014. Effects of the aqueous leaf extract of *Basella alba* on sex reversal of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9(2): 162-164.
12. Hafez, A.S.A. and B. Hafez. 2013. *Reproduction in farm animals*. 7th edition. Blackwell publishing. 509 pp.
13. Hansen, K.K., R.J. Kittok, G. Sarath, C.F. Toombs, N. Caceres and M.M. Beck. 2003. Estrogen receptor- α population change with age in commercial laying hens. *Poultry Science*, 82: 1624-1629.
14. Jelodar, Gh.A. and E. Karami. 2014. Effect of hydroalcoholic extract of *Vitex agnus-castus* fruit on ovarian tissue changes in induced Polycystic Ovarian Syndrome in rat. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 15(3): 96-102 (In persian).
15. Kallo, I., J.A. Butler, M. Barkovics-Kallo, M.L. Goubillon and C.W. Coen. 2001. Oestrogen receptor β -immunoreactivity in gonadotropin releasing hormone-expressing neurones: regulation by oestrogen. *Journal of neuroendocrinology*, 13(9): 741-748.
16. Kauffman, A.S., M.L. Gottsch, J. Roa, A.C. Byquist, A. Crown, D.K. Clifton and M. Tena-Sempere, M. 2007 . Sexual differentiation of Kiss1 gene expression in the brain of the rat. *Endocrinology*. 148(4): 1774-1783.
17. Kazemi-Fard, M., H. Kermanshahi and M. Rezaei. 2013. Effect of Different Levels of Fennel Extract and Vitamin D3 on Performance, Hatchability and Immunity in Post Molted Broiler Breeders. *Research on Animal Production*, 4(2): 15-34 (In Persian)
18. Lal, P., P.J. Sharp, I.C. Dunn and R.T. Talbot. 1990. Absence of an effect of naloxone, an opioid antagonist, on luteinizing hormone release in vivo and luteinizing hormone-releasing hormone I release in vitro in intact, castrated, and food restricted cockerels. *Gen. Comp. Endocrinology*, 77: 239-245.
19. Lv, Z., K. Xing, G. Li, D. Liu and Y. Guo. 2018. Dietary genistein alleviates lipid metabolism disorder and inflammatory response in laying hens with fatty liver syndrome. *Frontiers in physiology*, 9.
20. Nasri, S., S. Oryan, A. Haeri Rohani, G.H. Amin and H. Yahyavi. 2004. The effects of vitex agnus castus L. extract on gonadotrophines and testosterone in male mice. *Iranian International Journal of Science*, 5(1): 25-31.
21. Nejati, Z. and S.E. Hossini. 2017. The effect of *Vitex agnus castus* alcoholic extract and Vitamin E on Serum Levels of Liver Enzymes in Rats. *Journal of Animal Biology*. Damghan Azad University, 9(2): 381-385 (In Persian)
22. Ni, Y., Q. Zhu, Z. Zhou, R. Grossmann, J. Chen and R. Zhao. 2007. Effect of dietary daidzein on egg production, shell quality, and gene expression of ER- α , GH-R, and IGF-IR in shell glands of laying hens. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(17): 6997-7001.
23. Park, J.A., S.K. Ha, T.H. Kang, M.S. Oh, M.H. Cho, S.Y. Lee and S.Y. Kim. 2008. Protective effect of apigenin on ovariectomy-induced bone loss in rats. *Life sciences*, 82(25-26): 1217-1223.
24. Pfaffl, M.W., G.H. Horgan and L. Dempfle. 2002. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real- time PCR. *Nucleic acids research*, 30(9): 36.
25. Podlech, D. and K.H. Rechinger. 1986. *Flora iranica akademische druch –u. verlagsansalt*. Graz, 159-223.
26. Proudman, J.A., C.G. Scanes, S.A. Johannsen, L.R. Berghman and M.J. Camp. 2006. Comparison of the ability of the three endogenous GnRHs to stimulate release of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in chickens. *Domestic Animal Endocrinology*, 31: 141-153.

27. Ramezani, M., S. Nasri and H. Bahadoran. 2008. The effects of *Vitex agnus castus* total extract on spermatogenesis of Balb/C Mice. *Armaghane-Danesh*, 13(3): 35-44 (In Persian).
28. Reddy, I. J., C.G. David, S. Selvaraju, S. Mondal and G.R. Kiran. 2012. GnRH-1 mRNA, LH surges, steroid hormones, egg production, and intersequence pause days alter in birds exposed to longer wavelength of light in the later stages of production in *Gallus gallus domesticus*. *Tropical animal health and production*, 44(6): 1311-1317.
29. Sehmisch, S., J. Boeckhoff, J. Wille, D. Seidlova-Wuttke, T. Rack, M. Tezval, W. Wuttke, K. Stuermer and E. Stuermer. 2009. *Vitex agnus castus* as prophylaxis for osteopenia after orchidectomy in rats compared with estradiol and testosterone supplementation. *Phytotherapy Research: an International Journal devoted to Pharmacological and Toxicological evaluation of natural product derivatives*, 23(6): 851-858.
30. Shoorideh Ziyaberi, M., A. Azadbakht, A. Zarifkar, A. Jafari and Sh. Hossienie. 2008. The Effect of *Vitex Agnus Castus* folio extract on serum prolactin concentration of female rats in gestation. *Iranian Journal of Biology* 20(1): 99-109 (In Persian).
31. Smith, J.T. 2008. Kisspeptin signalling in the brain: steroid regulation in the rodent and ewe. *Brain research reviews*, 57(2): 288-298.
32. Squires, E.J. 2003. *Applied animal endocrinology*. First ED., CABI Publishing, London, UK.
33. Zamani, Sh., M. Sudagar, Sh. Dadgar, H. Adineh and A.A. Hajibeglou. 2018. Effects of *Vitex agnus-castus* extract on reproductive performance, growth and survival in *Xiphophorus helleri*. *Journal of Aquaculture Sciences*, 5(7): 23-29 (In Persian).
34. Zargari, A. 2011. *Medicinal plants*. vol. 37 Th edition, University of Tehran press, 733-748.
35. Soroush, Z., S. Salari, M. Sari, J. Fayazi and S. Tabatabaai. 2015. Effects of Different Levels of Zinc on Performance, Egg Quality Traits and Some Blood Parameters of Laying Hens. *Research on Animal Production*, 6(11): 19-27 (In Persian).
36. Zhao, R. Q., Y.C. Zhou, Y.D. Ni, L. Z. Lu, Z.R. Tao, W. H Chen and J. Chen. 2005. Effect of daidzein on egg-laying performance in Shaoxing duck breeders during different stages of the egg production cycle. *British Poultry Science*, 46(2): 175-181.

The Effect of *Vitex Agnuse Castus* Fruit Powder on Hypothalamic GnRH Gene Expression in Laying Hens

Razieh Sabahi¹, Mahmood Nazari², Mohammad Taghi Beigi Nassiri³ and Mohammad Reza Ghorbani⁴

1- M.Sc. Student of Animal genetic and Breeding, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
(Corresponding author: M.nazari@asnrukh.ac.ir)

3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

4- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Received: February 19, 2020

Accepted: April 20, 2020

Abstract

Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) is a key regulatory molecule of the hypothalamus–pituitary gonadal axis which induces transcription of luteinizing hormone (LH) from the anterior pituitary. Research has shown that estrogen plays an important role in regulating GnRH. Also, recent experiments indicated that *Vitex agnus-castus* (VAC) has high levels of phytoestrogen. Hence, this research was performed to investigate the effect of *Vitex Agnuse Castus* (VAC) fruit powder on GnRH and LH genes expression in laying hens using Real time qPCR technique. For this purpose, 90 Hy-line W-36 leghorn (at 72 to 80 weeks old) were used in a completely randomized design with 3 treatments, 5 replicates and 6 hens per replicate for 56 days as an experimental period. The three experimental treatments were: 1- control diet (basal diet without any additives), 2- basal diet plus 1% VAC fruit powder, 3- Basal diet plus 2% VAC fruit powder. At the end of the experiment one hens were slaughtered and their hypothalamus was rapidly separated and transferred to the laboratory with liquid nitrogen. Then, RNA was extracted and used for cDNA synthesis. Finally, GnRH gene expression was evaluated by Real-Time qPCR. The ANOVA results showed that GnRH gene expression was significantly increased in treatment 3 (diet containing 2% VAC) compared to the control and 1% VAC groups ($P < 0.01$). While, addition of 1% VAC fruit powder to diet had no significant effect on GnRH gene expression ($P > 0.05$). Furthermore, addition of 1 or 2 % VOC fruit powder had no significant effect on LH gene expression ($P > 0.05$). The results of this study showed that the addition of VOC fruit powder fruit powder up to 2% level could not affect the pituitary-hypothalamic axis of laying hens at 72 to 80 weeks old.

Keywords: GnRH, Gene expression, Phytoestrogen, *Vitex Agnuse Castus*



"مقاله پژوهشی"

تغییرات صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی تحت تاثیر روش‌های آماری
برآورد اثر نشانگری، خصوصیات جمعیت و معماری ژنتیکی صفت

عباس عاطفی^۱، عبدالاحد شادپرور^۲ و نوید قوی حسین‌زاده^۳

۱- دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم دامی، دانشگاه گیلان

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشگاه گیلان (نویسنده مسؤل: shad@guilan.ac.ir)

۳- دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه گیلان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۱۹

صفحه: ۱۰۱ تا ۱۰۸

چکیده

هدف تحقیق حاضر بررسی اثر روش برآورد اثرات نشانگرها، توزیع اثرات QTLها، تعداد QTL، اندازه مؤثر جمعیت و وراثت‌پذیری صفت بر صحت ارزیابی‌های ژنومی بود. جمعیت پایه با دو اندازه مؤثر ۱۰۰ و ۵۰۰ فرد در نظر گرفته شده و به‌وسیله نرم‌افزار QMSim شبیه‌سازی شد. برای انجام این تحقیق، ژنومی متشکل از یک کروموزوم به طول ۱۰۰ سانتی‌مورگان با تعداد ۵۰۰ نشانگر SNP در طول ژنوم و با تعداد متفاوت QTL (۵۰ و ۲۰۰) که آن‌ها نیز به‌طور تصادفی روی کروموزوم پراکنده شده‌اند شبیه‌سازی شد. مقادیر وراثت‌پذیری بررسی شده در تحقیق حاضر نماینده صفات با وراثت‌پذیری پایین (۰/۱)، متوسط (۰/۳) و بالا (۰/۵) بودند. ارزش‌های اصلاحی ژنومی به‌وسیله روش‌های رگرسیون ریج بیزی (BRR)، بیز A (BayesA)، بیز B (BayesB)، بیز C (BayesC)، بیز L (BayesL)، روش نیمه پارامتری بر پایه کرنل (RKHS) و شبکه‌های عصبی (NN) پیش‌بینی شدند. بر اساس نتایج به‌دست آمده، عوامل وراثت‌پذیری، اندازه مؤثر جمعیت، روش برآورد اثرات نشانگری، توزیع QTL و تعداد QTL بر صحت ارزیابی ژنومی تأثیر محسوس داشتند. بین روش‌های برآورد اثرات نشانگری، روش‌های بیز A و B بیشترین و روش شبکه‌های عصبی کمترین صحت را داشتند. در تحقیق حاضر با افزایش وراثت‌پذیری و تعداد QTL، صحت پیش‌بینی‌های ژنومی افزایش و برعکس با کاهش اندازه مؤثر جمعیت، کاهش یافت. بیشترین صحت زمانی به‌دست آمد که QTLها دارای توزیع نرمال بودند.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی ژنومی، روش پارامتری، روش ناپارامتری، معماری ژنتیکی صفت

مقدمه

روش‌های مختلف بیزی از نظر نوع توزیع پیشین مفروض برای اثرات ژنومی متفاوتند. در روش رگرسیون ریج توزیع اثرات نشانگرها به‌صورت توزیع نرمال و اثر نشانگرها غیر صفر و جزئی فرض شده است. در روش Bayes A فرض پیشین به این صورت است که تعداد زیادی از جایگاه‌ها اثرات جزئی و تعداد کمی از جایگاه‌ها اثرات عمده دارند و توزیع شرطی در نظر گرفته شده برای اثرات نشانگری توزیع t می‌باشد. توزیع پیشین اثرات نشانگرها در Bayes B، یک توزیع ترکیبی است که در آن، تعداد زیادی از نشانگرها دارای اثر صفر و بقیه نشانگرها اثر با توزیع t دارند. همچنین روش بیز C مشابه بیز B می‌باشد با این تفاوت که به‌جای توزیع پیشین t از توزیع نرمال برای اثرات نشانگرها استفاده می‌کند. در روش Bayes LASSO توزیع اثرات نشانگرها به‌صورت توزیع نمایی دوگانه هستند.

در بررسی‌های صورت گرفته توسط داده‌های واقعی و شبیه‌سازی شده اثر ساختار جمعیت (اندازه جمعیت مرجع، اندازه جمعیت مؤثر، وراثت‌پذیری صفت، ارتباط بین جمعیت مرجع و جمعیت تأیید) و معماری ژنتیکی صفت (تعداد QTL، توزیع QTL، فراوانی آلل نادر QTL) و روش آماری برآورد اثرات نشانگری و همچنین تراکم نشانگرها بر صحت ارزیابی‌های ژنومی تأیید شده است (۲۷، ۱۵، ۲، ۳).

در بسیاری از کشورها انتخاب ژنومی تبدیل به روش اصلی ارزیابی گاوهای شیری شده است. به‌دلیل عدم وجود جمعیت مرجع مناسب گاوهای شیری در ایران به گونه‌ای که فقط

با توسعه فناوری‌های توالی‌یابی DNA با سرعت بالاتر و هزینه کمتر این امکان فراهم شده است که اطلاعات صدها هزار جایگاه نشانگر تک نوکلئوتیدی به‌صورت تراشه‌های SNP توسط شرکت‌هایی مانند ایلومینیا و افیمتیریکس در دسترس محققین قرار گیرد (۱۲). با فراهم‌شدن تراشه‌های SNP با تراکم بالا و به‌منظور غلبه بر مشکلات استفاده از MAS، انتخاب ژنومی پیشنهاد شد (۱۶). فرض اساسی در انتخاب ژنومی این است که هاپلوتیپ‌ها با آلل‌های QTL مؤثر بر صفات مورد انتخاب در حالت عدم تعادل پیوستگی هستند. انتخاب ژنومی به‌عنوان شکلی از انتخاب بر اساس نشانگر است که در آن از نشانگرهای ژنتیکی که سطح کل ژنوم را پوشانده‌اند، استفاده می‌شود به‌طوری‌که همه جایگاه‌های صفات کمی با حداقل یک نشانگر در حالت عدم تعادل پیوستگی ژنی باشند (۱۶).

روش‌های متعددی برای برآورد آثار نشانگر توسط محققین مختلف پیشنهاد شده است. روش‌های حداقل مربعات معمولی و حداکثر درست‌نمایی زمانی که تعداد اثرات نشانگرها نسبت به تعداد مشاهدات خیلی بیشتر است ممکن است منجر به چالش فزونی تعداد پارامترها (اثرات نشانگرهای متراکم، p) نسبت به تعداد مشاهدات (n)، یا پدیده موسوم به بالای ابعاد می‌شود (۷) برای مواجهه با این مشکل، روش‌های جریمه‌ای، روش‌های جریمه‌ای همراه با انتخاب متغیر، روش‌های ناپارامتری و نیمه پارامتری پیشنهاد شده است.

برای کدهای ژنوتیپی نشانگر مربوطه و e بردار باقیمانده‌ها است.

از هفت روش آماری مختلف شامل رگرسیون ریدج بیزی^۱ (BRR)، بیز A، بیز B، بیز C، بیز لزو، روش نیمه پارامتری بر پایه کرنل (RKHS)^۲ و شبکه‌های عصبی (NN)^۳ برای برآورد اثرات نشانگرها از روی فنوتیپ جمعیت مرجع استفاده شد.

رگرسیون ریدج بیزی

در روش رگرسیون ریدج، برآورد اثرات نشانگری به یک اندازه جریمه می‌شوند و این امر ممکن است مطلوب نباشد چون بعضی نشانگرها در مکان‌هایی قرار دارند که با واریانس ژنتیکی مرتبط نیستند این در حالی است که بقیه با QTLها مرتبط هستند (۱۱) برای غلبه بر این محدودیت، روش‌هایی که شامل انتخاب متغیر و کاهش هستند (LASSO) (۲۴) یا روش‌های بیزی با استفاده از کاهش اثرات مختص هر نشانگر (BayesA, BL) پیشنهاد شد.

Bayes A

روش بیز A توزیع پیشین مشابهی برای همه واریانس‌های موقعیت‌های نشانگری در نظر می‌گیرد. توزیع احتمال کای اسکوتر معکوس مقیاس‌دار $\chi^{-2}(df, s^2)$ با درجه آزادی df و پارامتر مقیاس s^2 می‌تواند به‌عنوان توزیع پیشین در نظر گرفته شود. این یک انتخاب مطلوب است چون یک پرایور توام می‌باشد که در آن توزیع پسین در خانواده‌ای مشابه با توزیع پیشین قرار دارد. بنابراین توزیع پسین نیز یک توزیع کای اسکوتر معکوس مقیاس‌دار $\chi^{-2}(df + n_j, s^2 + \beta_j^2)$ است که n_j تعداد اثرات هاپلوئی در موقعیت نشانگری j می‌باشد.

Bayes B

این روش از یک پرایور استفاده می‌کند که دارای چگالی زیاد، π در $\sigma_{\beta_i}^2 = 0$ بوده و یک توزیع کای مربع مقیاس‌دار معکوس برای $\sigma_{\beta_i}^2 > 0$ دارد. در این روش توزیع پیشین به این صورت است (رابطه ۲ و ۳).

$$\sigma_{\beta_i}^2 = 0 \text{ with probability } \pi, \quad (\text{رابطه ۲})$$

$$\sigma_{\beta_i}^2 \sim \chi^{-2}(df, s^2) \text{ with probability } (1-\pi) \quad (\text{رابطه ۳})$$

Bayes C

اگر در روش بیز B به‌جای چگالی t استاندارد شده از چگالی گوسی استفاده شود، روش بیز C ایجاد می‌شود.

Bayesian LASSO

پارک و کاسلا (۱۹) روش لزو بیزی (BL) را برای برآورد ضرایب رگرسیونی معرفی نمودند. آن‌ها از ایده تیبشیرانی (۲۴) برای ارتباط بین روش لزو و آنالیز بیزی بهره بردند. تیبشیرانی (۲۴) بیان کرد که برآوردهای لزو برای ضرایب رگرسیون را می‌توان به‌عنوان برآوردهای مد پسین با فرض این که ضرایب رگرسیون دارای توزیع پیشین دو نمایی باشند، در نظر گرفت. لزوی بیزی همچنین با استفاده از مدل آشیانه‌ای با تابع درست‌نمایی (رابطه ۴) در انتخاب ژنومی مورد استفاده قرار گرفت (۸).

$$f(y|\mu, X, m, \sigma^2) \sim N(\mu + Xm, \sigma^2 I), \quad (\text{رابطه ۴})$$

تعداد ۸۰ گاو نر پروف شده یا جوان در ایران وجود دارد (۲۳) هنوز قابلیت اجرای روش انتخاب ژنومی در کشور وجود ندارد. بنابراین بررسی جنبه‌های مختلف روش انتخاب ژنومی توسط مطالعات شبیه‌سازی ضروری می‌باشد.

هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر خصوصیات جمعیت و معماری ژنتیکی صفت بر صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی و تعیین بهترین روش برآورد اثرات نشانگری از بین هفت روش پارامتری و نیمه پارامتری بود.

مواد و روش‌ها

جمعیت‌ها توسط نرم‌افزار QMSim (۲۲) بر پایه فرآیند پیش رونده شبیه‌سازی شدند. در تحقیق حاضر جمعیت پایه با دو اندازه مؤثر ۱۰۰ و ۵۰۰ فرد در نظر گرفته شدند (۲). به‌منظور ایجاد عدم تعادل پیوستگی بین نشانگر و QTL، بین افراد نسل پایه، ۵۰ نسل آمیزش تصادفی انجام گرفت و در نسل ۵۱ اثر جایگزینی ژن‌ها برای هر یک از QTLها با استفاده از سه نوع توزیع مختلف شامل توزیع یکنواخت، نرمال استاندارد و گاما (با پارامتر شکل = ۰/۴ و پارامتر مقیاس ۱/۶۶) برآورد شد.

بعد از ۵۰ نسل آمیزش تصادفی، افراد در نسل ۵۱ با نمونه‌گیری تصادفی از والدین نسل قبل ازدیاد یافته و به تعداد ۱۰۵۰ فرد رسیدند که شامل ۵۰ فرد نر و ۱۰۰۰ فرد ماده بود و این ساختار تا نسل ۵۳ ادامه یافت. نسبت نتاج نر در هر نسل برابر ۰/۵ بود. انتخاب والدین نسل بعد به‌صورت تصادفی انجام گرفته و سیستم آمیزشی نیز از نوع آمیزش تصادفی بود. افراد نسل ۵۱ به‌عنوان جمعیت مرجع در نظر گرفته شده که دارای رکورد فنوتیپی و هم ژنوتیپی بوده و افراد نسل‌های ۵۲ تا ۵۴ نیز به‌عنوان جمعیت تأیید محسوب شدند که فقط دارای اطلاعات ژنتیکی بودند.

برای انجام این تحقیق، ژنومی متشکل از یک کروموزوم به طول ۱۰۰ سانتی‌مورگان با تعداد ۵۰۰ نشانگر SNP در طول ژنوم و با تعداد متفاوت QTL (۵۰ و ۲۰۰) که آن‌ها نیز به‌طور تصادفی روی کروموزوم پراکنده شده‌اند شبیه‌سازی شد. نشانگرها و QTLها به‌صورت دو آلی با فراوانی اولیه ۰/۵ بودند. نرخ جهش برای نشانگرها و QTLها 2.5×10^{-5} به ازای هر جایگاه ژنی در هر نسل در نظر گرفته شد.

مقادیر وراثت‌پذیری بررسی شده در تحقیق حاضر نماینده صفات با وراثت‌پذیری پایین (۰/۱)، متوسط (۰/۳) و بالا (۰/۵) بودند. QTLها تمامی واریانس ژنتیکی صفت را در بر گرفتند و ارزش اصلاحی واقعی هر فرد برابر مجموع اثرات جایگزینی آلی QTLها و تنها با فرض اثرات افزایشی به‌دست آمد. فنوتیپ‌ها توسط اضافه کردن باقیمانده‌ها که از توزیع نرمال با میانگین صفر نمونه‌گیری شده بودند، به TBVها به‌دست آمدند. ساختار عمومی مدل‌ها به‌شکل خطی (رابطه ۱) است.

$$y = \mu + \sum_{j=1}^p X_j g_j + e \quad (\text{رابطه ۱})$$

که y بردار رکوردهای فنوتیپی، μ میانگین کل، \sum_j نشان‌دهنده جمع برای همه نشانگرها است، g_j ضریب نشانگر j و نشان‌دهنده اثر جایگزینی آلی است، X_j ماتریس طرح

تحت تأثیر عوامل فراوانی آلل نادر QTL، وراثت‌پذیری QTL، تعداد QTL، توزیع QTL و اندازه جمعیت مرجع قرار گرفت.

برای بررسی رفتار متفاوت روش‌های ارزیابی ژنومی با معماری‌های ژنتیکی صفات کمی و ژنوم، یک مطالعه شبیه‌سازی طراحی شد که طی آن دو روش GBLUP و BayesB تحت سه اندازه مؤثر جمعیت (۲۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰)، دامنه وسیعی از تعداد جایگاه صفت کمی (Me ۰/۰۳، Me ۰/۰۵، Me ۰/۱۵، Me ۰/۳، Me ۰/۵، Me ۰/۷۵ و Me ۱ که نشان‌دهنده تعداد قطعات کروموزومی مستقل است) و تعداد متفاوت نشانگر ژنتیکی مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج به‌دست آمده مبین آن بود که صحت ارزیابی‌های ژنومی تحت تأثیر عوامل مورد بررسی شامل روش برآورد اثرات نشانگری، تعداد جایگاه صفت کمی، اندازه مؤثر جمعیت و تعداد نشانگرهای ژنتیکی پخش شده در سطح ژنوم قرار داشت (۶).

وراثت‌پذیری

مقادیر وراثت‌پذیری بررسی شده در تحقیق حاضر نماینده صفات با وراثت‌پذیری پایین (۰/۱)، متوسط (۰/۳) و بالا (۰/۵) بودند. وراثت‌پذیری نشان‌دهنده میزان مشارکت ژن‌ها در واریانس فنوتیپی است و در صفات با وراثت‌پذیری بالا بخش بیشتری از واریانس فنوتیپی، به‌وسیله واریانس ژنتیکی افزایشی تبیین شده و ارتباط بین ژنوتیپ و فنوتیپ بالا است که در نتیجه این امر صفات با وراثت‌پذیری بالا پاسخ مناسب‌تری به انتخاب نشان می‌دهند.

صفات با وراثت‌پذیری کمتر از قبیل صفات باروری و مقاومت در برابر بیماری‌ها اغلب به‌دلیل فقدان رکوردهای فنوتیپی معتبر و پاسخ نامناسب به انتخاب مستقیم، از تابع هدف اصلاح نژادی کنار گذاشته می‌شوند. از آنجا که روش انتخاب ژنومی توانایی پیش‌بینی ارزش ارثی برای حیوانات جمعیت تأیید بدون رکورد را تنها با استفاده از اثرات نشانگری برآورد شده دارد، می‌توان بسیاری از صفات ذکر شده را با این روش، تحت فرآیند انتخاب قرار داد.

با توجه به موارد ذکر شده انتظار می‌رود با افزایش وراثت‌پذیری، به دام انداختن اثرات ژن‌ها با استفاده از رکوردهای فنوتیپی به‌صورت مؤثرتری انجام گیرد. شکل 1a نشان می‌دهد که با افزایش وراثت‌پذیری صفت از ۰/۱۰ به ۰/۵۰، میزان صحت ارزیابی‌های ژنومی افزایش یافت. البته شیب افزایش صحت ارزیابی‌های ژنومی بین وراثت‌پذیری ۰/۱ و ۰/۳۰ بیشتر از میزان آن بین ۰/۳۰ به ۰/۵۰ است که مبین کاهش شیب صحت با افزایش میزان وراثت‌پذیری است. قابل ذکر است در پلات جعبه‌ای زیر (1a)، باکس بالایی، باکس پایینی، خط میانی و ستاره به‌ترتیب نشان‌دهنده، صدک ۷۵، صدک ۲۵، میانه و میانگین است. شکل نشان می‌دهد که پراکنش صحت‌های به‌دست آمده در وراثت‌پذیری ۰/۱۰، بیشترین و در وراثت‌پذیری ۰/۵۰، کمترین است.

تحقیقات زیادی (۱۵۶،۲) صحت بالا برای وراثت‌پذیری‌های بالا را مورد تأیید قرار داده‌اند. برای صفات با وراثت‌پذیری بالا (مانند خصوصیات لاشه) اثرات ژنی سهم

که y یک بردار $n \times 1$ μ بردار میانگین کل، m بردار اثرات نشانگری و X ماتریس طرحی است که m را به y ارتباط می‌دهد. $N(\mu + X\alpha, \sigma^2 I)$ نشان‌دهنده چگالی نرمال با میانگین $\mu + X\alpha$ و واریانس $\sigma^2 I$ است که I یک ماتریس $n \times n$ می‌باشد.

RKHS

در این روش، تابع رگرسیون به‌صورت رابطه ۵ تبدیل می‌شود.

$$f(x_i) = \mu + \sum_{i'} \alpha_{i'} k(x_i, x_{i'}) \quad (\text{رابطه ۵})$$

که $x_i = (x_{i1}, \dots, x_{ip})$ و $x_{i'} = (x_{i'1}, \dots, x_{i'p})$

بردارهای ورودی ژنوتیپ‌های نشانگری در افراد i و i'

ضرایب رگرسیون و $k(x_i, x_{i'}) = \exp(-h \|x_i - x_{i'}\|^2)$

نشان‌دهنده Reproducing kernel می‌باشد که در تحقیق حاضر به دلخواه تعریف شده است و h پارامتر عرض باند و

$\|x_i - x_{i'}\|$ نرم اقلیدسی بین هر جفت از بردارهای ورودی

می‌باشد.

شبکه‌های عصبی

در مدل‌های رگرسیون خطی، امید ریاضی شرطی به‌صورت

مجموع وزنی متغیرهای ورودی $E(y_i | X_i) = \sum_{j=1}^p x_{ij} \beta_j$

نشان داده می‌شود. تعداد زیادی الگوهای غیر خطی را می‌توان با انتخاب توابع پایه مناسب به‌صورت خطی نشان داد:

$E(y_i | X_i) = \sum_{m=0}^M \phi(X_i) w_m$ که $\{\phi(X_i)\}_{m=1}^M$ توابع

پایه‌های هستند که از متغیرهای ورودی به خط واقعی ترسیم می‌شوند.

انجام تجزیه‌های آماری مربوط به شش روش شامل روش‌های رگرسیون ریدج بیزی، بیز A، بیز B، بیز C، بیز LASSO و RKHS توسط بسته نرم‌افزاری BGLR و برای به‌کارگیری شبکه‌های عصبی در ارزیابی‌های ژنومی از بسته نرم‌افزاری BRNN استفاده شد. تعداد نورون‌های در نظر گرفته شده در این تحقیق برابر سه بود.

نتایج و بحث

در تحقیق حاضر صحت ارزیابی‌های ژنومی توسط وراثت‌پذیری، اندازه مؤثر جمعیت، روش برآورد اثرات نشانگری، توزیع QTL و تعداد QTL تحت تأثیر قرار گرفت. با افزایش وراثت‌پذیری و تعداد QTL، صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی افزایش یافت این در حالی بود که کاهش اندازه مؤثر جمعیت منجر به افزایش صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی گردید. میزان صحت بین روش‌های مختلف برآورد اثرات نشانگری و توزیع‌های QT Lها متفاوت بود.

در یک مطالعه، تعداد ۱۳۶۸ گاو سیاه ژاپنی برای ۵۹۲۰۳۴ SNP با استفاده از کیت Illumina BovineHD BeadChip تعیین ژنوتیپ شده و فنوتیپ آن‌ها بر اساس عوامل مورد بررسی در سناریوهای مختلف شبیه‌سازی شد. عوامل مورد بررسی در این تحقیق شامل فراوانی آلل نادر QTL، وراثت‌پذیری QTL، تعداد QTL، توزیع QTL، مدل پیش‌بینی، اندازه جمعیت مرجع و جمعیت تأیید بود (۲۲). بر اساس نتایج حاصله از این تحقیق، صحت ارزیابی‌های ژنومی

اثرات معنی‌داری بین صحت توزیع‌های اثرات ژنی مشاهده نشد. این محققین بیان کردند که در تعداد QTL پایین، احتمال شکل‌گیری توزیع اثرات ژنی کم بوده و توزیع آماری مورد نظر با تعداد ژن‌های بزرگ اثر و کوچک اثر به‌خوبی بیان و نمایان نمی‌شود که می‌تواند محتمل‌ترین دلیل برای عدم تفاوت معنی‌داری بین این توزیع‌ها باشد. گودارد (۱۰) گزارش نمود روش‌های بیزی برای موقعی که اثرات ژن‌ها با توزیع گاما مطابقت داشته باشند به صحت بیشتری منجر می‌شوند.

در یک مطالعه شبیه‌سازی که صحت پیش‌بینی دو روش بیزی Ridge و Lasso تحت معماری‌های مختلف ژنتیکی مورد بررسی قرار گرفت، از سه توزیع مختلف گاما ۱ (shape=0.4, scale=1.66), گاما ۲ (shape=0.4, scale=1) و توزیع بتا (shape1=3.11, shape2=1.16) برای اثرات جایگزینی ژن‌ها استفاده شد و مشاهده گردید در حالت کلی هنگامی که توزیع QTL از تابع گاما پیروی می‌کند، روش‌های بیزی صحیح‌تر از بقیه می‌توانند پیش‌بینی کنند (۱۴) محققین دلیل این برتری را به دو عامل نسبت دادند. اول این که توزیع پیش‌فرض دو روش بیزی ذکر شده با توزیع گامای اثرات و واریانس ژن‌های عمده اثر هماهنگی بیشتری نسبت به توزیع بتا دارد که باعث برآورد صحیح‌تر اثرات چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی می‌گردد. دلیل دوم این است که توزیع گاما دارای تعداد بیشتری ژن‌های عمده اثر با اثرات بزرگتر است.

تعداد QTL

در تحقیق حاضر اثر معنی‌دار تعداد QTL بر صحت ارزیابی‌های ژنومی مشهود بوده و با افزایش تعداد جایگاه ژنی صفات کمی از ۵۰ به ۲۰۰، صحت پیش‌بینی ژنومی افزایش یافت (شکل ۱d). در بررسی تحقیقات انجام گرفته توسط سایر محققین الگوی خاصی برای روند صحت ارزیابی‌های ژنومی در نتیجه افزایش تعداد QTL‌ها مشاهده نشد.

در یک تحقیق که صحت پیش‌بینی ژنومی برای تعداد متفاوت QTL (۵۰، ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰) مورد بررسی قرار گرفت، در عمده سناریوها با افزایش تعداد QTL از ۵۰ به ۳۰۰ صحت افزایش از ۳۰۰ تا ۵۰۰ صحت کاهش، از ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ صحت بدون تغییر و پس از آن با شیب اندکی کاهش یافت (۶) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در یک مطالعه شبیه‌سازی که صفاتی با ۳، ۳۰، ۳۰۰ و ۳۰۰۰ QTL شبیه‌سازی شدند، در همه سناریوها با افزایش تعداد QTL صحت ارزیابی‌های ژنومی کاهش یافت (۲۶).

در ارزیابی ژنومی صفات آستانه‌ای با معماری‌های ژنتیکی متفاوت با استفاده از روش‌های بیزی، تعداد ۲۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ QTL شبیه‌سازی شدند (۵) و گزارش گردید که صحت روش‌ها بین سناریوهای دارای تعداد مختلف QTL معنی‌دار نبود و با افزایش شمار QTL صحت برآورد‌ها به میزان بسیار ناچیز (و غیرمعنی‌دار) در توزیع گاما، کاهش، در توزیع آماری نرمال، ثابت، و در توزیع یکنواخت، افزایش یافته است.

افزایش تعداد QTL‌ها در صورتی که با افزایش تعداد نشانگرها همراه گردد، می‌تواند صحت ارزیابی‌های ژنومی را افزایش دهد. افزایش تعداد نشانگرها باعث می‌شود اثرات همه

بزرگی در واریانس فنوتیپی داشته و بنابراین ارزیابی‌های دقیق‌تری ایجاد می‌کنند. بنابراین اجرای برنامه‌های انتخاب منجر به پیشرفت ژنتیکی بالاتر در این نوع صفات می‌شود.

اندازه مؤثر جمعیت

در تحقیق حاضر اثر دو اندازه مؤثر جمعیت (۱۰۰ و ۵۰۰) مورد بررسی قرار گرفت. شکل Ib به‌وضوح مقدار بالاتر صحت در حالت $N_e=100$ نسبت به $N_e=500$ را نشان می‌دهد. فرآیند انتخاب طی نسل‌های متمادی، منجر به افزایش رابطه خویشاوندی افراد جامعه، کاهش اندازه مؤثر جمعیت و در نتیجه افزایش LD شده است. بنابراین در جوامع امروزی که اندازه مؤثر جمعیت آن‌ها کمتر است، به‌دلیل این که قطعات کروموزومی مشترک که از جد مشترک به افراد به ارث رسیده است دارای اندازه بزرگتری هستند، LD بالاتر و بالتبع صحت ارزیابی‌های بالاتری نیز دارند (۵). در تحقیق حاضر نیز میزان LD برای $N_e=100$ و $N_e=500$ به‌ترتیب برابر 0.19 و 0.09 بود که به‌وضوح رابطه عکس بین اندازه مؤثر جمعیت و میزان عدم تعادل پیوستگی را نشان می‌دهد. N_e معیاری برای تعیین مشابهت آلل‌های یک جایگاه ژنی در نتیجه هم‌تباری بوده و مشخص‌کننده سطح هم‌خوانی و میزان واریانس ژنتیکی کاهش یافته به‌دلیل رانش تصادفی ژن است. مطالعات مختلف نشان داده است به‌دلیل این که بسیاری از افراد سهم اندک و یا در برخی موارد هیچ سهمی در خزانه ژنی نسل‌های آینده ندارند مقدار N_e غالباً از تعداد واقعی مولدها کمتر است (۱۸). در دام‌ها اغلب علیرغم افزایش افراد جمعیت طی سال‌های متمادی مقدار N_e کاهش یافته که این موضوع بیانگر این واقعیت است که به موازات افزایش تعداد افراد، متوسط رابطه خویشاوندی بین مولدها در نتیجه آمیزش‌های فامیلی نیز افزایش یافته است.

یانگ و سیکورا (۲۸) اندازه مؤثر جمعیت برای گاوهای هلشتاین آمریکا را ۱۰۰ برآورد کردند که طی بررسی‌های بعدی عدد مشابهی برای گاوهای هلشتاین استرالیایی به‌دست آمد (۹). طی تحقیقات صورت گرفته، اندازه مؤثر جمعیت در گاوهای جززی کمتر بوده و برابر ۳۰ برآورد شد. بنابراین برای این نژاد می‌توان از چپ‌های با تراکم کمتر استفاده نمود.

در بررسی اندازه جمعیت مرجع و اندازه مؤثر جمعیت در صحت ارزیابی صفات رشد و لاشه جوجه‌های چینی، دلیل بالاتر بودن صحت ارزیابی ژنومی در جامعه‌ای با اندازه مؤثر جمعیت کمتر بدین صورت بیان شد که زمانی که اندازه مؤثر جمعیت کوچک است، افراد قطعات کروموزومی بزرگتری را به اشتراک گذاشته و در نتیجه پیش‌بینی‌های ژنومی با صحت بالا به‌دست خواهد آمد (۱۳).

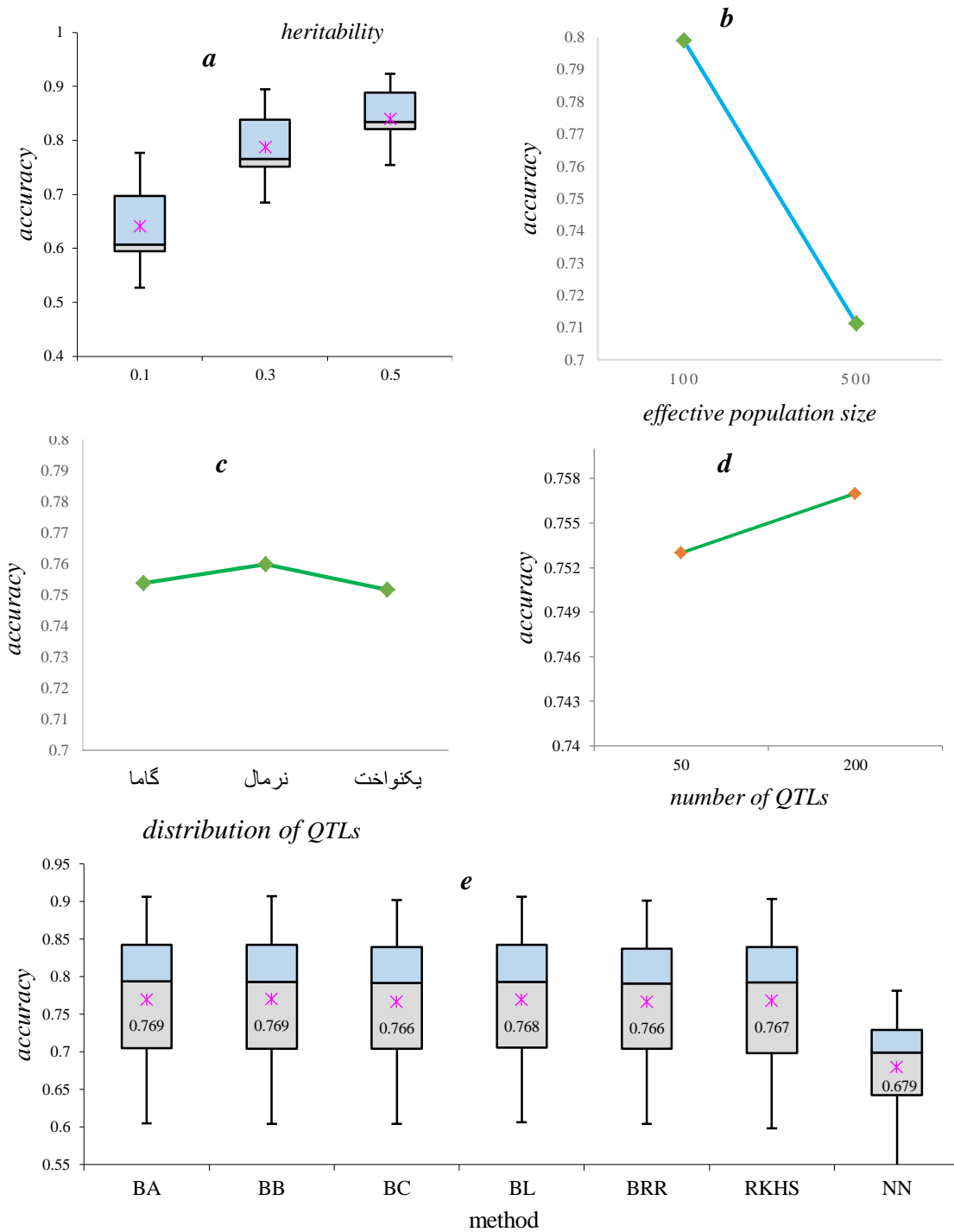
توزیع اثرات QTL

در این مطالعه، تفاوت صحت برای صفات دارای توزیع اثرات ژنی متفاوت، معنی‌دار بود و بیشترین صحت متعلق به توزیع نرمال بود، ولی بین توزیع گاما و یکنواخت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱c).

عبدالهی و همکاران (۱) طی یک مطالعه شبیه‌سازی گزارش کردند که علیرغم این که صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی در حالت توزیع نرمال بهتر از گاما و یکنواخت بود اما

به دلیل محدود بودن مقدار واریانس ژنتیکی در مقابل تعداد زیادی QTL که سهم هر QTL در ارزش ژنتیکی کل کاهش می‌یابد و قدرت مدل‌ها در برآورد تأثیرات کم خواهد شد (۲۰).

QTLها در نظر گرفته شود. در صورتی که افزایش تعداد QTL با افزایش تعداد نشانگرها همراه نباشد، صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی کاهش می‌یابد، به این دلیل که



شکل ۱- اثر عوامل وراثت‌پذیری (a)، اندازه موثر جمعیت (b)، توزیع QTL (c)، تعداد QTL (d) و روش برآورد اثرات نشانگری (e) بر صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی

Figure 1. Effect of Heritability (a), Effective population size (b), Distribution of QTLs (c), Number of QTLs (d) and Marker effect estimation methods (e) on the accuracy of genomic breeding values

روش برآورد اثرات نشانگری

در تحقیق حاضر صحت ارزیابی ژنومی به‌دست آمده توسط هفت روش متشکل از پنج روش بیزی (BA, BB, BC, BL, BRR) و دو روش ناپارامتری (RKHS, NN) مورد مقایسه قرار گرفت. بیشترین مقدار صحت پیش‌بینی ژنومی (۰/۹۰۷) مربوط به روش BB و کمترین آن (۰/۵۱۳) متعلق به روش NN بود. قابل ذکر است که علاوه بر توانایی متفاوت روش‌های مختلف، مقدار صحت در روش NN به عواملی چون تعداد نوروها، در RKHS به کرنل انتخابی و در سایر روش‌ها به تعیین هابیر پارامترها بستگی دارد.

در یک مطالعه شبیه‌سازی که صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی به‌دست آمده توسط روش‌های random forest, RKHS, support vector machine, رگرسیون ریبج و Bayes A مورد مقایسه گرفت، بیشترین صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی توسط روش Bayes A حاصل شد و در حالت کلی بیان گردید که صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی با استفاده از روش‌های پارامتری بر روش‌های نیمه پارامتری و ناپارامتری برتری دارند (۲۱).

علت پایین بودن صحت روش‌های ناپارامتری خصوصاً روش NN بیش برآورد شدن مدل در این روش است. یعنی در این نوع روش‌های غیر پارامتری مدل آنچنان روی مشاهدات مورد استفاده برازش می‌شود که قابلیت پیش‌بینی خود را برای نمونه‌های مستقل دیگر از دست می‌دهد. این مشکل زمانی پیش می‌آید که تعداد مشاهدات از تعداد مجهولات خیلی کم است و سعی داشته باشیم که بیشترین برازش را هم به‌دست بیاوریم. همان‌گونه که قبلاً بیان شد، در این تحقیق بالاترین صحت متعلق به روش BB بود که احتمالاً به دلیل چگالی پیشین واقع‌گرایانه‌تر آن برای برآورد اثرات نشانگری است.

در تحقیقی که اخیراً جهت ارزیابی صحت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی صورت گرفته، چهار روش شامل GBLUP, Bayes B, RKHS و NN برای صفات تولید شیر، تولید چربی، تولید پروتئین و شمارش سلول‌های سوماتیک گاوهای هلشتاین ایران مورد بررسی قرار گرفته است که مشاهده شد در حالت کلی روش بیز B دارای بیشترین و روش شبکه عصبی دارای کمترین صحت بوده‌اند.

البته برای صفت شمارش سلول‌های سوماتیک دو روش GBLUP و بیز B دارای صحت برابر با ۰/۴۹ بودند. در تحقیق ذکر شده بیشترین صحت مربوط به صفت تولید چربی بود که احتمالاً به این دلیل است که این صفت تحت تاثیر تعداد محدودی ژن‌های بزرگ اثر است که این ژن‌ها نسبت زیادی از واریانس ژنتیکی صفت را توجیه می‌کنند. یکی از این ژن‌ها ژن بزرگ اثر DGAT1 می‌باشد. در توصیف این ویژگی‌ها گزارش شده که مدل‌هایی با توزیع پیشین انتها کشیده متأثر از نشانگر نظیر بیز A و روش‌های انتخاب متغیر نظیر بیز C π و بیز LASSO در مقایسه با GBLUP با دقت بیشتری تأثیرات نشانگرها را برآورد می‌کنند (۱۷).

یک روش برآورد اثرات نشانگری بهینه باید بیشترین صحت ممکن را داشته، از برآورد نامناسب داده‌ها ممانعت به‌عمل آورد و تا حد امکان به‌جای روابط خوشاوندی شجره‌ای، بر پایه LD بین نشانگر و QTL باشد. به‌علاوه چنین روش‌هایی باید به آسانی قابلیت استفاده داشته باشند، در دامنه وسیعی از صفات دارای نتیجه پایدار بوده و از نظر محاسباتی آسان باشند (۵).

نتایج این تحقیق مشخص کرد که بین روش‌های مورد بررسی، روش‌های بیزی پیشنهاد شده توسط موویسن و همکاران (۱۶) یعنی روش‌های بیز B و A بیشترین صحت را داشتند بنابراین می‌توان خصوصاً روش بیز B را به‌دلیل چگالی پیشین واقع‌گرایانه‌تر آن برای برآورد اثرات نشانگری توصیه نمود. بین دو روش ناپارامتری مورد بررسی روش RKHS دارای عملکرد بهتری نسبت به NN بوده و در بعضی حالات در حد روش‌های بیزی بود ولی در هر حال تا مادامی که می‌توان از روش‌های بیز استفاده کرد، استفاده از این روش‌ها منطقی به‌نظر نمی‌رسد. با افزایش وراثت‌پذیری، صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی افزایش یافت. افزایش اندازه مؤثر جمعیت، میزان صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی کاهش یافت. تعداد و توزیع QTL بر صحت ارزیابی‌های ژنومی مؤثر بودند. با افزایش تعداد QTL، میزان صحت ارزیابی‌های ژنومی افزایش یافت. بین توزیع‌های QTL، صفاتی که دارای ژن‌های عمده با توزیع نرمال بودند، دارای بیش‌ترین صحت ارزیابی ژنومی بودند.

منابع

1. Abdollahi-Arpanahi, R., A. Pakdel, A. Nejati-Javaremi and M. Moradi Shahrebabak. 2014. Comparison of genomic evaluation methods in complex traits with different genetic architecture. *Journal of Animal Production*, 15(1): 65-77 (In Persian).
2. Atefi, A., A.A. Shadparvar and N. Ghavi Hossein-Zadeh. 2016. Comparison of whole genome prediction accuracy across generations using parametric and semi parametric methods. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 38(4): 447-453.
3. Atefi, A., A.A. Shadparvar and N. Ghavi Hossein-Zadeh. 2018. Accuracy of genomic prediction under different genetic architectures and estimation Mmethods. *Iraninan Journal of Applied Animal Science*, 8(1): 43-52.
4. Baneh, H., A. Nejati Javaremi, G. Rahimi-Mianji and M. Honarvar. 2015. Genomic Evaluation of Threshold Traits with Different Genetic Architecture using Bayesian Approaches. *Research on Animal Production*, 8 (14): 149-154 (In Persian).
5. Daetwyler, H.D., R. Pong-Wong, B. Villanueva and J.A. Woolliams. 2010. The impact of genetic architecture on genome-wide evaluation methods. *Genetics*, 185(3): 1021-1031.

6. De los Campos, G., D. Gianola, G.J. Rosa, K.A. Weigel and J. Crossa. 2010. Semi-parametric genomic-enabled prediction of genetic values using reproducing kernel Hilbert spaces methods. *Genetics research*, 92(40): 295-308.
7. De Los Campos, G., H. Naya, D. Gianola, J. Crossa, A. Legarra, E. Manfredi, K. Weigel and J.M. Cotes. 2009. Predicting quantitative traits with regression models for dense molecular markers and pedigree. *Genetics*, 182(1): 375-385.
8. De Roos, A.P.W., B.J. Hayes, R.J. Spelman and M.E. Goddard. 2008. Linkage disequilibrium and persistence of phase in Holstein-Friesian, Jersey and Angus cattle. *Genetics*, 179: 1503-1512.
9. Goddard, M. 2009. Genomic selection: prediction of accuracy and maximisation of long term response. *Genetica*, 136(2): 245-257.
10. Goddard, M.E. and B.J. Hayes. 2009. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature Reviews Genetics*, 10(6): 381-391.
11. Habier, D., R. Fernando and J. Dekkers. 2007. The impact of genetic relationship information on genome-assisted breeding values. *Genetics*, 177(4): 2389-2397.
12. LaFramboise, T. 2009. Single nucleotide polymorphism arrays: a decade of biological, computational and technological advances. *Nucleic Acids Research*, 37(13): 4181-4193.
13. Liu, T., H. Qu, C. Luo, D. Shu, J. Wang, M.S. Lund and G. Su. 2014. Accuracy of genomic prediction for growth and carcass traits in Chinese triple-yellow chickens. *BMC Genetics*, 15(1): 110.
14. Mahmoudi, N., A.A. Mehrgardi, M. Honarvar and A. Esmailzadeh kashkoeiyeh. 2015. Study of QTL Effects Distribution on Accuracy of Genomic Breeding values Estimated Using Bayesian Method. 2015. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 7(3): 356-363 (In Persian).
15. Martinez, R., W. Burgos-Paz, D. Bejarano, P. Reyes and J.F. Rocha. 2018. Genomic predictions and accuracy of weight traits in a breeding program for Colombian Brahman, *Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Volume Genetic Gain- Strategies for Local Breeds 2*, 644, Auckland, New Zealand.
16. Meuwissen, M.H.E., B.J. Hayes and M. Goddard. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157(4): 1819-1829.
17. Mohammadi, Y., M.M. Shariati, S. Zerehdaran, M. Razmkabir, M.B. Sayyadnejad and M.B. Zandi. 2016. The accuracy of genomic breeding value for production trait in Iranian Holstein dairy cattle using parametric and non-parametric methods. *Journal of Animal Production*, 18(1): 1-11 (In Persian).
18. Norberg, E. and A.C. Sorensen. 2007. Inbreeding trend and inbreeding depression in the Danish populations of Texel, Shropshire, and Oxford Down. *Journal of animal science*, 85(2): 299-304.
19. Park, T. and G. Casella. 2008. The bayesian lasso. *Journal of the American Statistical Association*, 103(482): 681-686.
20. Saheb Alam, H., M. Gholizadeh, H. Hafezian and A. Farhadi. 2018. Comparison of Bayesian methods in the genomic evaluation with different genetic architecture. *Research on Animal Production* 8(18): 177-186 (In Persian).
21. Saheb Alam, H., M. Gholizadeh, H. Hafezian and A. Farhadi. 2019. Comparison of parametric, semiparametric and nonparametric methods in genomic evaluation. *Journal of Genetics* 98, 102.
22. Sargolzaei, M. and F. S. Schenkel. 2009. QMSim: a large-scale genome simulator for livestock. *Bioinformatics*, 25(5): 680-681.
23. Teimuria, M., M.M. Shariati and A.A. Aslaminejad. 2016. Comparison of methods for the implementation of genomic selection in Holstein. *Research on Animal Production*, 7(14): 198-203 (In Persian).
24. Tibshirani, R. 1996. Regression shrinkage and selection via the lasso. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, 267-288.
25. Uemoto, Y., S. Sasaki, T. Kojima, Y. Sugimoto and T. Watanabe. 2015. Impact of QTL minor allele frequency on genomic evaluation using real genotype data and simulated phenotypes in Japanese Black cattle. *BMC Genetics*, 16(1): 1.
26. Van den Berg, S., M.P. Calus and Y. Wientjes. 2015. Across population genomic prediction scenarios in which Bayesian variable selection outperforms GBLUP. *BMC Genetics*, 16(1): 146.
27. Wang, X., J. Miao, T. Chang, J. Xia, B. An, Y. Li, L. Xu, L. Zhang, X. Gao, J. Li and H. Gao. 2019. Evaluation of GBLUP, BayesB and elastic net for genomic prediction in Chinese Simmental beef cattle. *PLoS ONE* 14(2): e0210442.
28. Young, C. and A. Seykora. 1996. Estimates of inbreeding and relationship among registered Holstein females in the United States. *Journal of Dairy Science*, 79(3): 502-505.

Effect of Markers Effect Estimation Methods, Population Structure and Trait Architecture on the Accuracy of Genomic Breeding Values

Abbas Atefi¹, Abdol Ahad Shadparvar² and Navid Ghavi Hossein-Zadeh³

1- Graduated PhD Student, Department of Animal Science, Guilan University

2- Professor, Department of Animal Science, Guilan University, (Corresponding author: shad@guilan.ac.ir)

3- Associate Professor, Department of Animal Science, Guilan University

Received: 26 February 2019

Accepted: 10 October 2020

Abstract

This study aimed to investigate the effect of the method of estimating the effects of markers, QTLs distribution, number of QTLs, effective population size and trait heritability on the accuracy of genomic predictions. Two effective population sizes, 100 and 500 individuals, were simulated by QMSim software. A 100 cM genome including one chromosome was simulated where 500 SNPs and two different numbers of QTLs (50 and 200) were distributed on it randomly. In this study three levels of heritability (0.1, 0.3 and 0.5) were considered. Genomic breeding values were predicted using Bayesian ridge regression, BayesA, BayesB, BayesC, Bayesian LASSO, Reproducing kernel Hilbert space and neural networks. In this research, the accuracy of genomic breeding values were affected by trait heritability, effective population size, markers effect estimation methods, QTLs distribution and number of QTLs. The Bayes A and B had the highest accuracy while accuracy of neural networks method was the lowest. The accuracy of genomic breeding values were increased as the heritability of trait and number of QTLs increased while the accuracy was decreased as the effective population decreased. Considering the QTLs distribution, the highest accuracy was achieved when the QTLs distributed normally.

Keywords: Genomic Evaluation, Genetic architecture, Non-parameteric method, Parameteric method



"مقاله پژوهشی"

اثر اندازه جمعیت مرجع و روش‌های استنباط ژنوتیپ بر صحت استنباط در جمعیت‌های خالص و آمیخته

یحیی محمدی^۱ و جواد احمدپناه^۲

۱- استادیار و عضو هیات علمی گروه علوم دامی دانشگاه ایلام (نویسنده مسوول: mohamadi_yahya@yahoo.com)

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

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۱۸

صفحه: ۱۰۹ تا ۱۱۴

چکیده

استنباط ژنوتیپ به‌عنوان یک روش تبدیل تراشه‌های با تراکم پایین به تراشه‌های با تراکم بالا به‌منظور افزایش صحت انتخاب ژنومی در حیوانات است. در پژوهش حاضر به‌منظور بررسی صحت استنباط ژنوتیپ سه جمعیت آمیخته (سناریو ۱)، خالص (سناریو ۲) و آمیخته + خالص (سناریو ۳) به کمک نرم‌افزار QMSim شبیه‌سازی شد. از دو روش استنباط ژنوتیپ Beagle و Flmpute برای دو نوع تراشه با تراکم کم و زیاد استفاده شد. اندازه جمعیت مرجع برای هر سناریو ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ حیوان انتخاب شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که برای تمام سناریوها با افزایش اندازه جمعیت مرجع از ۲۵۰ به ۵۰۰ حیوان، افزایش صحت استنباط ژنوتیپ بیشتر و از ۵۰۰ به ۱۰۰۰ حیوان این افزایش، کندتر شد. صحت استنباط ژنوتیپ به‌کمک روش Flmpute نسبت به Beagle برای اندازه جمعیت مرجع کوچک (۲۵۰ حیوان) بیشتر نمایان شد. در اندازه‌های جمعیت مرجع ۵۰۰ و ۱۰۰۰ حیوان در تمام سناریوها افزایش صحت Flmpute نسبت به روش Beagle معنی‌دار نبود. برای سناریو ۱ میزان صحت استنباط ژنوتیپ نسبت به سناریو ۲ بیشتر برآورد شد. افزایش صحت استنباط ژنوتیپ در سناریو ۳ در مقایسه با سناریو ۱ بی‌معنی شد. به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در کشورهای در حال توسعه که جمعیت حیوانی تعیین ژنوتیپ شده کوچک در دسترس هست، برای افزایش صحت انتخاب ژنومی استفاده از روش استنباط ژنوتیپ Flmpute به کمک جمعیت آمیخته با افزایش ارتباط خویشاوندی بین جمعیت مرجع و هدف می‌توان به‌عنوان یک راهکار مناسب استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: انتخاب ژنومی، استنباط ژنوتیپ، جمعیت آمیخته، شبیه‌سازی، صحت پیش‌بینی

مقدمه

انتخاب حیوانات به‌کمک برآورد ارزش اصلاحی ژنومی^۱ (GEBV) به‌عنوان یک روش استاندارد برای بهبود ژنتیکی بسیاری از گونه‌های دامی مورد توافق می‌باشد. در انتخاب ژنومی از عدم تعادل پیوستگی (LD) بین نشانگرهای SNP شناخته شده و جهش‌های علی^۲ ناشناخته برای تخمین ارزش اصلاحی ژنومی کمک گرفته می‌شود (۱). در انتخاب ژنومی از معادلات پیش‌بینی ژنومی در جمعیت مرجع بزرگ برای تخمین ارزش‌های اصلاحی ژنومی برای کاندیداهای انتخاب که فقط دارای اطلاعات ژنومی هستند استفاده می‌شود (۱۴). انتخاب ژنومی به‌ویژه در هنگام استفاده از روش‌های سنتی برآورد ارزش اصلاحی که اطلاعات شجره در دسترس نیست بسیار مهم می‌باشد (۱). در بسیاری از پژوهش‌ها گزارش شده است که با افزایش اندازه جمعیت مرجع و استفاده از تراشه‌های نشانگری با تراکم بالا می‌توان صحت GEBV را در جمعیت‌های مرجع افزایش داد (۱۳،۹). تراشه‌های نشانگری برای توجیه کردن LD بین نشانگرها و QTLها مؤثر و مفید می‌باشند. گزارش شده که برای حصول LD مناسب در داخل یک نژاد به تراشه با تراکم ۵۰ هزار کیلو بازی برای حداکثر صحت پیش‌بینی نیاز است و در داخل گله‌های مختلط تراکم تراشه باید بیشتر باشد (۷). این امر به‌ویژه زمانی که اندازه جمعیت مرجع کوچک و دیگر نژادها هم در حیوانات جمعیت مرجع برای برآورد اثرات نشانگر وجود دارند، بیشتر احساس می‌شود. اگرچه هزینه تعیین ژنوتیپ به‌صورت محسوس کاهش پیدا نموده است اما با این وجود

باید گفته شود که تهیه نشانگرهای با تراکم بالا به‌ویژه برای کشورهای در حال توسعه و گله‌های کوچک یک امر پرهزینه است. در این کشورها یک روش مقرون‌به‌صرفه برای تبدیل تراشه‌های با تراکم پایین نشانگر به تراشه‌های با تراکم بالا استفاده از روش استنباط ژنوتیپ (ایمپوتیشن) است (۱). تعداد مناسب نشانگرهای SNP و یک الگوریتم مناسب برای انتخاب آن‌ها در یک تراشه با چگالی کم و تبدیل این تراشه به‌کمک استنباط ژنوتیپ برای ایجاد یک تراشه با چگالی زیاد هنوز ناشناخته است (۱). فاکتورهای زیادی صحت استنباط ژنوتیپ را تحت تأثیر قرار می‌دهند که از آن‌ها می‌توان به اندازه جمعیت مرجع و رابطه خویشاوندی بین جمعیت مرجع و هدف اشاره نمود (۲۷،۲۲). هابیر و همکاران (۸) گزارش کردند که جایگذاری نشانگرهای SNP با فواصل یکسان در تمام سطح ژنوم برای تراشه‌های کم تراکم^۳ و کمک از روش استنباط ژنوتیپ می‌توان به یک تراشه با تراکم و دقت بالا دست یافت. تلاش‌های دیگری در راستای استفاده از تراشه‌های با تراکم پایین براساس جایگذاری یکسان نشانگرها در تمام سطح ژنوم و حداکثر نمودن فراوانی آلل‌های کمیاب مطرح شده است (۳،۲). برای استنباط ژنوتیپ نشانگرهای SNP روش‌های متعددی وجود دارند. این گونه روش‌ها براساس شجره، تفرق آلل‌ها، عدم تعادل پیوستگی (LD)، اطلاعات جمعیت و ترکیب متقابل آنها می‌باشند. از بین روش‌های موجود، می‌توان روش بگل (Beagle) (۵)، فیندهپ (Findhap) (۲۶) و پدایمپوت (PedImpute) (۲۱) را نام برد. در بعضی موارد که بین افراد ارتباط خویشاوندی قوی

آمیخته (سناریو ۱)، خالص (سناریو ۲) و خالص + آمیخته (سناریو ۳) شبیه‌سازی شد. بعد از شبیه‌سازی، از طریق دو روش متفاوت، Flmpute (۲۲) و Beagle (۶) به‌عنوان نرم‌افزارهای استنباط ژنوتیپ، به پیش‌بینی نقاط گم‌شده از طریق روابط فامیلی و الگوریتم‌های بر پایه جمعیت تأثیر روی صحت انتخاب ژنومی، اقدام شد. افراد جمعیت مرجع با استفاده از دو تراشه با تراکم ۷۹۰۰۰ نشانگر SNP (تراشه تراکم پایین) و تراشه با تراکم ۳۵۰۰۰ هزار نشانگر SNP (تراکم بالا) تعیین ژنوتایپ شدند. به‌منظور مطالعه تأثیر روابط بین افراد جمعیت مرجع و جمعیت هدف بر صحت استنباط ژنوتیپ، آمیزش پنج نسل ادامه پیدا نمود. در هر نسل ۲۰ حیوان نر برتر به‌طور تصادفی با ۲۰۰ حیوان ماده آمیزش داده شد که به تولید ۴۰۰ حیوان در هر نسل گردید. ژنوتیپ حیوانات نر طی دو راهبرد دو و سه‌مرحله‌ای، با استفاده از ژنوتیپ افراد جمعیت مرجع استنباط ژنوتیپ گردیدند. در راهبر دو مرحله‌ای با تراشه تراکم پایین ژنوتیپ حیوانات نر برای تراشه با تراکم بالا ایمپوت شد. در روش سه‌مرحله‌ای ابتدا ژنوتیپ‌های تراشه بالا از تراشه متوسط ایمپوت شدند و در مرحله بعدی تراشه تراکم بالا از تراکم متوسط ایجاد شدند. راهبرد دو و سه‌مرحله‌ای در جدول ۱ نشان داده شد. در راهبرد دو مرحله‌ای بعد از ایمپوت شدن تعداد ۳۴۱۷۸ نشانگر باقی ماند. در روش سه مرحله‌ای تعداد نشانگرهای باقی مانده بعد از ایمپوتیشن ۳۴۰۲۰ عد بود.

وجود ندارد به اطلاعات شجره برای ایجاد استنباط ژنوتیپ نیاز نیست. برای ایجاد استنباط ژنوتیپ در این گونه جوامع، نرم‌افزار Flmpute پیشنهاد می‌شود (۲۲). از طرف دیگر Beagle، یک ابزار نرم‌افزاری مؤثر و حافظه‌ای الکترونیکی است که از درون‌یابی خطی برای ایمپوت کردن واریانت‌های ژنوتیپ نشده با تنظیمات پیش‌فرض استفاده می‌کند (۱۱). تراشه نشانگرهای SNP و همچنین روش استنباط ژنوتیپ بیشتر برای جمعیت‌های خالص طراحی گردیده است. برای کشورهای در حال توسعه که اکثر گله‌های گاو شیری آمیخته و از طرفی حیوانات تعیین ژنوتیپ شده کمی در دسترس می‌باشد، روش استنباط ژنوتیپ برای ایجاد تراشه با تراکم بالا که حداکثر صحت پیش‌بینی ژنومی را ایجاد نماید، یک اصل پذیرفته شده است. هدف از این مطالعه بررسی صحت استنباط ژنوتیپ در سه جمعیت خالص، آمیخته و خالص + آمیخته به‌کمک روش‌های Flmpute و Beagle، بررسی صحت استنباط ژنوتیپ برای دو تراشه با تراکم پایین و تراشه با تراکم بالا در راهبردهای متفاوت سه جمعیت ۳ و در نهایت بررسی صحت استنباط ژنوتیپ برای سناریوهای مختلف با اندازه‌های جمعیت مرجع متفاوت تحت روش‌های Flmpute و Beagle می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به‌کمک نرم‌افزار QMSim (۲۳) سه جمعیت گاو شیری

جدول ۱- مراحل راهبرد دو و سه مرحله‌ای در استنباط ژنوتیپی

راهبرد سه‌مرحله‌ای		راهبرد دو مرحله‌ای	
جمعیت مرجع	تراشه تراکم پایین با ۷۹۰۰۰ نشانگر	تمام افراد نسل پایه (۴۰۰ حیوان)	تراشه تراکم پایین با ۷۹۰۰۰ نشانگر
تراشه میانی	تراشه تراکم متوسط	۲۰۰ نر در هر نسل	
جمعیت‌های آزمون	تراشه تراکم بالا با ۳۵۰۰۰ نشانگر	۲۰۰ نر در هر نسل	تراشه تراکم بالا با ۳۵۰۰۰ نشانگر

ضریب همبستگی پیرسن^۲ بین ژنوتیپ‌های مشاهده و ایمپوت شده برآورد شد. برای معنی‌داری دو به دوی این روش‌ها از آزمون Hotelling Williams- t-test استفاده شد.

روابط خویشاوندی بین جمعیت مرجع و جمعیت هدف با توجه به اندازه جمعیت مرجع برای سناریوهای مختلف در جدول ۲ نشان داده شده‌اند. صحت استنباط ژنوتیپ به‌کمک

جدول ۲- خویشاوندی بین سناریوهای متفاوت تحت اندازه‌های متفاوت جمعیت مرجع

سناریو ۳	سناریو ۲	سناریو ۱	اندازه جمعیت مرجع
۰/۲۶	۰/۱۲	۰/۲۵	۲۵۰
۰/۲۵	۰/۱۱	۰/۲۳	۵۰۰
۰/۲۳	۰/۱۰	۰/۲۲	۱۰۰۰

سناریو ۱، ۲ و ۳ به‌ترتیب جمعیت آمیخته، جمعیت خالص و جمعیت آمیخته + خالص

نتایج و بحث

(۲۰،۱۰،۱۶). افزایش صحت استنباط ژنوتیپ برای تمام سناریوها برای افزایش اندازه جمعیت مرجع از ۲۵۰ به ۵۰۰ حیوان شیب بیشتری دیده شد در مقابل افزایش اندازه جمعیت مرجع از ۵۰۰ به ۱۰۰۰ حیوان شیب افزایش، کاهش شد (جدول ۳ و ۴). در مطالعه قریشی‌فر و همکاران (۱۰) افزایش اندازه مرجع از ۴۲ به ۲۰۲ حیوان باعث افزایش صحت

صحت استنباط ژنوتیپ برای تمام سناریوهای با افزایش اندازه جمعیت مرجع افزایش پیدا نمود (جدول ۳ و ۴). در مطالعات مختلفی گزارش شده است که با افزایش اندازه جمعیت مرجع صحت استنباط ژنوتیپ افزایش خواهد یافت که نتایج پژوهش حاضر در مطابقت با این پژوهش‌ها بود

به Flmpute برای اندازه جمعیت مرجع ۳۰۰۰ حیوان، بیشتر گزارش شد که در تناقض با نتایج پژوهش حاضر بود که دلیل آن احتمالاً به نوع داده استفاده شده در پژوهش مربوط باشد زیرا که در مطالعه آنها از داده‌های واقعی گاوهای سوئدی و Finnish Red استفاده شده بود. در توافق با پژوهش حاضر که افزایش صحت استنباط ژنوتیپ روش Flmpute نسبت به Beagle مطالعه میلانسی و همکاران (۱۵) و قریشی‌فر و همکاران (۱۰) بود.

برای سناریو ۱ (جمعیت آمیخته) میزان صحت استنباط ژنوتیپ نسبت به سناریو ۲ (جمعیت خالص) بیشتر به دست آمد. دلیل افزایش صحت در سناریو ۱ نسبت به سناریو ۲ احتمالاً به خویشاوندی بیشتر افراد جمعیت مرجع در سناریو ۱ مرتبط است (جدول ۲). گزارش شد که هر چه بین جمعیت مرجع و هدف رابطه خویشاوندی بیشتر باشد صحت استنباط ژنوتیپ بیشتر برآورد می‌گردد (۱۱). در مطالعه دیگر گزارش شد، که صحت استنباط ژنوتیپ برای تراشه‌های با تراکم پایین بیشتر تحت تأثیر استراتژی استفاده شده برای استنباط ژنوتیپ ژنوتیپ‌ها است. انتخاب جمعیت مرجع و الگوریتم‌های استنباط ژنوتیپ در مرحله بعدی اهمیت قرار دارند (۱). اندازه جمعیت مرجع بزرگ عموماً باعث افزایش صحت استنباط ژنوتیپ می‌شود (۹). در هنگام استفاده از تراشه با تراکم پایین دارا بودن اجداد مشترک در جمعیت مرجع و تایید نسبت به اندازه جمعیت مرجع بر روی صحت استنباط ژنوتیپ تأثیر بیشتری دارد (۲۷). برای رسیدن به حداکثر صحت در جمعیت مرجع برای کشورهای در حال توسعه باید حیوانات آمیخته در این جمعیت حداکثر ارتباط و خویشاوندی را با هم داشته باشند. در مطالعه الیلو و همکاران (۱) صحت استنباط ژنوتیپ در حالت استفاده از تراشه با تراکم پایین برای جمعیت گاوهای آمیخته آفریقای جنوبی در مقایسه با جمعیت خالص که ارتباط خویشاوندی بیشتر با هم داشتند، صحت استنباط ژنوتیپ بیشتر برآورد نمودند. در سناریو ۳ (آمیخته + خالص) اضافه نمودن جمعیت خالص به جوامع آمیخته صحت استنباط ژنوتیپ را در تمام حالات در مقایسه با سناریو ۱ (جمعیت آمیخته) به مقدار جزئی افزایش داده است. دلیل این امر که اضافه نمودن حیوانات خالص به جمعیت آمیخته (سناریو ۳) باعث افزایش معنی‌دار در صحت استنباط ژنوتیپ نگردیده را احتمالاً می‌توان به دلیل خویشاوندی پایین جمعیت خالص با افراد جمعیت آمیخته نسبت داد که صحت را زیاد تحت تأثیر قرار نداد. در توافق با پژوهش حاضر مطالعات زیادی گزارش نمودند که استفاده از چند نژاد به جای یک نژاد در جمعیت مرجع باعث افزایش صحت استنباط ژنوتیپ می‌شود (۱۹،۴). دلیل افزایش صحت را می‌توان به تنوع بیشتر از تفرق هاپلوتیپ‌ها در تراشه جمعیت مرجع چند نژاد نسبت داد که قادر است یک فیت شدن بهتر برای عدم تعادل پیوستگی با جمعیت هدف ایجاد نماید (۱۱). در مطالعه اوگاوا و همکاران (۱۸) که بر روی گاوهای سیاه ژاپنی انجام گردید، برای تراشه با تراکم ۱۰ کیلو بازی به تراشه با تراکم ۵۰ کیلو بازی افزایش صحت استنباط ژنوتیپ ۰/۹۷٪ گزارش شد که این افزایش صحت برای جمعیت مرجع با تعداد ۴۹۴ حیوان بود.

استنباط ژنوتیپ به میزان ۸ واحد در حالیکه با افزایش جمعیت مرجع از ۲۰۲ به ۷۳۶ حیوان این افزایش فقط ۲ واحد گزارش شد. افزایش میزان صحت در اندازه جمعیت مرجع کوچک به اندازه جمعیت مرجع متوسط (۲۵۰ به ۵۰۰ حیوان) احتمالاً به دلیل افزایش تعداد هاپلوتایپ‌های مشترک در جمعیت مرجع باشد (۹)، در حالی که افزایش جمعیت مرجع از حالت متوسط به بزرگ (۵۰۰ به ۱۰۰۰ حیوان) احتمالاً باعث افزایش مقدار ناچیز هاپلوتیپ مشترک در جمعیت مرجع می‌شود (۱). برای اندازه جمعیت مرجع کوچک (۲۵۰ حیوان) صحت استنباط ژنوتیپ به کمک روش Flmpute نسبت به Beagle بیشتر بود (جدول ۳). در اندازه‌های جمعیت مرجع ۵۰۰ و ۱۰۰۰ حیوان در تمام سناریوها افزایش صحت Flmpute نسبت به روش Beagle معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). در یک مطالعه که بر روی گاوهای آمیخته هلشتاین آفریقای جنوبی انجام شد، نتایج آنها نشان داد که صحت استنباط ژنوتیپ در روش Flmpute در مقایسه با روش Beagle بیشتر برآورد شد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (۱). همچنین در مطالعه قریشی‌فر و همکاران (۱۰) که صحت استنباط ژنوتیپ را بر روی گاوهای آبی به کمک دو روش Flmpute و Beagle مقایسه نمودند، نتایج آنها نشان داد که اندازه جمعیت مرجع نسبت به نوع نرم‌افزار تأثیر بیشتری بر روی صحت استنباط ژنوتیپ دارد. دلیل افزایش صحت در نرم‌افزار Flmpute در مقایسه با روش Beagle احتمالاً به دخالت دادن روابط خویشاوندی در جمعیت مرجع و هدف، اطلاعات پیوستگی میان خانواده‌ها و همچنین اطلاعات LD موجود در جمعیت است. همچنین گزارش شده است که با توجه به استفاده روش Flmpute از اطلاعات شجره، احتمالاً بهبود کیفیت فاز و توالی‌یابی ژنوتایپ باعث افزایش صحت استنباط ژنوتیپ در این روش نسبت به روش‌های دیگر گردد (۱۷). در مطالعه‌ای گزارش شده است که افزایش صحت استنباط ژنوتیپ برای مقایسه روش Flmpute نسبت به Beagle برای اندازه جمعیت مرجع کوچک معنی‌دار گزارش شد، و برای اندازه جمعیت مرجع بزرگتر از ۴۰۰ حیوان این افزایش صحت معنی‌دار نبود (۱۰). متوسط صحت استنباط ژنوتیپ برای روش Beagle برای سناریوی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۰/۷۲، ۰/۵۹ و ۰/۷۴ و برای روش Flmpute به ترتیب ۰/۸۱، ۰/۶۹ و ۰/۸۲ بدست آمد. افزایش صحت سناریو ۱ در مقایسه با سناریو ۲ معنی‌دار ($p \leq 0.05$)، اما در مقایسه با سناریو ۳ معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). که این عمل را می‌توان به عدم خویشاوندی افراد خالص و آمیخته در جمعیت مرجع نسبت داد (سناریو ۳). در مطالعه حاضر صحت استنباط ژنوتیپ برای اندازه جمعیت مرجع ۱۰۰۰ حیوان در سناریو ۱ برای روش Flmpute و Beagle به ترتیب ۰/۸۷ و ۰/۸۶ برآورد شد که این تفاوت صحت بسیار ناچیز و بی‌معنی شد ($p > 0.05$). در یک مطالعه با روش Beagle برای اندازه جمعیت مرجع ۱۰۰۰ حیوان از گاوهای شیری سوئدی برای تراشه با تراکم ۵۰ هزار کیلو بازی به تراشه با تراکم بالاتر صحت استنباط ژنوتیپ تغییر ناچیز برآورد شد (۱۳). در مطالعه ما و همکاران (۱۳) صحت استنباط ژنوتیپ روش Beagle نسبت

جدول ۳- صحت استنباط ژنوتیپ در سناریوهای متفاوت تحت اندازه جمعیت مرجع متفاوت برای تراشه با تراکم پایین
Table 3. Accuracy of imputation in different scenarios under different reference population sizes for low-density chip

سناریوهای استنباط ژنوتیپ					
تراشه	نرم‌افزار	اندازه جمعیت مرجع	سناریو ۱	سناریو ۲	سناریو ۳
تراشه با تراکم پایین	Beagle	۲۵۰	۰/۵۸	۰/۴۳	۰/۶۱
		۵۰۰	۰/۷۳	۰/۶۲	۰/۷۴
		۱۰۰۰	۰/۸۶	۰/۷۱	۰/۸۷
	Flmpute	۲۵۰	۰/۷۶	۰/۶۵	۰/۷۹
		۵۰۰	۰/۸۱	۰/۶۸	۰/۷۷
		۱۰۰۰	۰/۸۷	۰/۷۴	۰/۸۹

سناریو ۱، ۲ و ۳ به ترتیب جمعیت آمیخته، جمعیت خالص و جمعیت آمیخته+خالص

استنباط ژنوتیپ برای روش‌های Beagle و Flmpute در حالت سناریو ۱ به ترتیب به میزان ۰/۲۸ و ۰/۱۱ شد. اما این میزان افزایش برای تراشه با تراکم بالا با افزایش اندازه جمعیت مرجع برای دو روش فوق به ترتیب ۰/۱۵ و ۰/۱۲ در حالت سناریو ۱ برآورد شد. میزان صحت استنباط ژنوتیپ برای سناریو ۳ نسبت به سناریو ۲ تفاوت بسیار ناچیز نشان داد، اما تفاوت صحت نسبت به سناریو اول معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$) (جدول ۴).

صحت استنباط ژنوتیپ تحت سناریوهای متفاوت برای تراشه با تراکم بالا در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. در تمام سناریوها صحت استنباط ژنوتیپ برای تراشه با تراکم بالا نسبت به تراشه با تراکم پایین بیشتر برآورد شد. در تراشه‌های با تراکم پایین افزایش اندازه جمعیت مرجع در مقایسه با تراشه‌های با تراکم بالا افزایش صحت استنباط ژنوتیپ بیشتر مشهود بود. برای تراشه با تراکم پایین افزایش اندازه جمعیت مرجع از ۲۵۰ حیوان به ۱۰۰۰ حیوان باعث افزایش صحت

جدول ۴- صحت استنباط ژنوتیپ در سناریوهای متفاوت تحت اندازه جمعیت مرجع متفاوت برای تراشه با تراکم بالا
Table 4. Accuracy of imputation in different scenarios under different reference population sizes for high-density chip

سناریوهای استنباط ژنوتیپ					
تراشه	نرم‌افزار	اندازه جمعیت مرجع	سناریو ۱	سناریو ۲	سناریو ۳
تراشه با تراکم بالا	Beagle	۲۵۰	۰/۷۳	۰/۵۶	۰/۷۴
		۵۰۰	۰/۸۴	۰/۶۷	۰/۸۵
		۱۰۰۰	۰/۸۸	۰/۷۳	۰/۹۱
	Flmpute	۲۵۰	۰/۸۳	۰/۶۹	۰/۸۲
		۵۰۰	۰/۸۹	۰/۷۲	۰/۹۰
		۱۰۰۰	۰/۹۵	۰/۸۴	۰/۹۷

سناریو ۱، ۲ و ۳ به ترتیب جمعیت آمیخته، جمعیت خالص و جمعیت آمیخته+خالص

سناریوها این افزایش خیلی چشمگیر نبود. برای سناریو ۱ میزان صحت استنباط ژنوتیپ نسبت به سناریو ۲ به دلیل بالا بودن رابطه خویشاوندی بین جمعیت مرجع و هدف بیشتر به دست آمد. در سناریو ۳ اضافه نمودن جمعیت خالص به جوامع آمیخته صحت استنباط ژنوتیپ را در تمام حالات در مقایسه با سناریو ۱ به مقدار جزئی افزایش داد. بنابراین با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان گفت که در کشورهای در حال توسعه که جمعیت حیوانی تعیین ژنوتیپ شده کوچک در دسترس هست، برای افزایش صحت انتخاب ژنومی استفاده از روش استنباط ژنوتیپ Flmpute به کمک جمعیت آمیخته با افزایش ارتباط خویشاوندی بین جمعیت مرجع و هدف می‌توان به عنوان یک راهکار مناسب دیده شود.

در جداول ۳ و ۴ برای سناریو ۱ نسبت به سناریو ۲ به دلیل افزایش روابط خویشاوندی صحت استنباط ژنوتیپ بیشتر برآورد شد. ولی افزایش صحت سناریو ۳ نسبت به سناریو ۱ اختلاف بسیار ناچیز و بی‌معنی شد ($p > 0.05$). به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که صحت استنباط ژنوتیپ برای تمام سناریوهای با افزایش اندازه جمعیت مرجع افزایش پیدا نمود. افزایش صحت استنباط ژنوتیپ برای تمام سناریوها برای افزایش اندازه جمعیت مرجع از ۲۵۰ به ۵۰۰ حیوان شیب بیشتری دیده شد و در مقابل افزایش از ۵۰۰ به ۱۰۰۰ حیوان شیب افزایشی، کاهش یافت. صحت استنباط ژنوتیپ به کمک روش Flmpute نسبت به Beagle برای اندازه جمعیت مرجع کوچک (۲۵۰ حیوان) بیشتر خود را نشان داد. در اندازه‌های جمعیت مرجع ۵۰۰ و ۱۰۰۰ حیوان در تمام

منابع

- Aliloo, H., R. Mrode, A.M. Okeyo, G. Ni, M.E. Goddard and J.P. Gibson. 2018. The feasibility of using low-density marker panels for genotype imputation and genomic prediction of crossbred dairy cattle of East Africa. *Journal Dairy Science*, 101: 9108-9127.
- Boichard, D., H. Chung, R. Dasonneville, X. David, A. Eggen, S. Fritz, K.J. Gietzen, B.J. Hayes, C. T. Lawley, T.S. Sonstegard, C.P. Van Tassell, P.M. VanRaden, K.A. Viaud-Martinez, G.R. Wiggins, and Bovine L.D. Consortium. 2012. Design of a bovine low-density SNP array optimized for imputation. *PLoS One*, 7: e34130.

3. Bolormaa, S., K. Gore, J.H.J. van der Werf, B.J. Hayes and H.D. Daetwyler. 2015. Design of a low density SNP chip for the main Australian sheep breeds and its effect on imputation and genomic prediction accuracy. *Animal Genetics*, 46: 544-556.
4. Bouwman, A.C. and R.F. Veerkamp. 2014. Consequences of splitting whole genome sequencing effort over multiple breeds on imputation accuracy. *BMC Genetic*, 15: 105.
5. Browning, B., Zhou, Y. and S. Browning. 2018. A one-penny imputed genome from next-generation reference panels. *The American Journal of Human Genetics*, 103: 338-348.
6. Browning, B.L. and S.R. Browning. 2016. Genotype imputation with millions of reference samples. *American Journal of Human Genetics*, 98: 116-126.
7. de Roos, A.P.W., B.J. Hayes, R.J. Spelman and M.E. Goddard. 2008. Linkage disequilibrium and persistence of phase in Holstein–Friesian, Jersey and Angus cattle. *Genetics*, 179: 1503-1512.
8. Habier, D., R.L. Fernando and J.C.M. Dekkers. 2009. Genomic selection using low-density marker panels. *Genetics*, 182: 343-353.
9. Hozé, C., M.N. Fouilloux, E. Venot, F. Guillaume, R. Dassonneville, S. Fritz, V. Ducrocq, F. Phocas, D. Boichard and P. Croiseau. 2013. High-density marker imputation accuracy in sixteen French cattle breeds. *Genetic Selection Evolution*, 45: 33.
10. Ghoreishifar S.M., H. Moradi-Shahrbabak, M. Moradi-Shahrbabak, E.L. Nicolazzi, J.L. Williams, D. Iamartino and A. Nejati- Javaremi. 2018. Accuracy of imputation of single-nucleotide polymorphism marker genotypes for water buffaloes (*Bubalus bubalis*) using different reference population sizes and imputation tools. *Livestock Science*, 216: 174-182.
11. Korkuc, P., D. Arnedo and G.A. Brockmann. 2019. Finding the optimal imputation strategy for small cattle populations animal breeding biology and molecular genetics. *Frontiers in Genetics*, 10: 52-59.
12. Ma, P., R.F. Brøndum, Q. Zhang, M.S. Lund and G. Su. 2013. Comparison of different methods for imputing genome-wide marker genotypes in Swedish and Finnish Red Cattle. *Journal Dairy Science*, 96: 4666-4677.
13. Ma, P., R.F. Brøndum, Q. Zhang, M.S. Lund and G. Su. 2013. Comparison of different methods for imputing genome-wide marker genotypes in Swedish and Finnish Red Cattle. *Journal Dairy Science*, 96: 4666-4677.
14. Meuwissen, T., B. Hayes and M. Goddard. 2016. Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding. *Animal Frontiers*, 6: 6-14.
15. Milanese, M., D. Vicario, A. Stella, A. Valentini, P. Ajmone-Marsan, S. Biffani, F. Biscarini, G. Jansen and E.L. Nicolazzi. 2015. Imputation accuracy is robust to cattle reference genome updates. *Animal Genetics*, 46: 69-72.
16. Mohammadi, Y. and M. Mokhtari. 2017. Genomic selection accuracy parametric and nonparametric statistical methods with additive and dominance genetic architectures. *Research on Animal Production*, 8(18): 161-167 (In Persian).
17. Mulder H., M. Calus, T. Druet and C. Schrooten. 2012. Imputation of genotypes with low-density chips and its effect on reliability of direct genomic values in Dutch Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, 95: 876-889.
18. Ogawa, S., H. Matsuda, Y. Taniguchi, T. Watanabe, A. Takasuga, Y. Sugimoto and H. Iwaisaki. 2016. Accuracy of imputation of single nucleotide polymorphism marker genotypes from low-density panels in Japanese Black cattle. *Journal Animal Science*, 87: 3-12.
19. Pausch, H., I.M. MacLeod, R. Fries, R. Emmerling, P.J. Bowman and H.D. Daetwyler. 2017. Evaluation of the accuracy of imputed sequence variant genotypes and their utility for causal variant detection in cattle. *Genetic Selection Evolution*, 49: 1-10.
20. Pausch, H., B. Aigner, R. Emmerling, C. Edel, K.U. Götz and R. Fries. 2013. Imputation of high-density genotypes in the Fleckvieh cattle population. *Genetic Selection Evolution*, 45: 3.
21. Nicolazzi, E., S. Biffani and G. Jansen. 2013. Short communication: Imputing genotypes using PedImpute fast algorithm combining pedigree and population information. *Journal of Dairy Science*, 96: 2649-2653.
22. Sargolzaei, M., J.P. Chesnais and F.S. Schenkel. 2014. A new approach for efficient genotype imputation using information from relatives. *BMC Genomics*, 15.
23. Sargolzaei M. and F.S. Schenkel. 2009. QMSim: a large-scale genome simulator for livestock. *Bioinformatics*, 25: 680-1.
24. Van Binsbergen, R., M.C. Bink, M.P. Calus, F.A. van Eeuwijk, B.J. Hayes and I. Hulsege. 2014. Accuracy of imputation to whole-genome sequence frontiers in genetics data in Holstein Friesian cattle. *Genetic Selection Evolution*, 46: 41.
25. VanRaden P., C. Sun and J. O'Connell. 2015. Fast imputation using medium or low-coverage sequence data. *BMC Genetics*, 16(82): 2039-2042.
26. Ventura, R.V., D. Lu, F.S. Schenkel, Z. Wang, C. Li and S.P. Miller. 2014. Impact of reference population on accuracy of imputation from 6K to 50K single nucleotide polymorphism chips in purebred and crossbred beef cattle. *Journal Animal Science*, 92: 1433-1444.
27. Wang, Z. and N. Chatterjee. 2017. Increasing mapping precision of genome wide association studies: to genotype and impute, sequence, or both? *Genome Biology*, 18: 17-19.

Effect of Reference Population Size and Imputation Methods on the Accuracy of Imputation in Pure and Mixed Populations

Yahya Mohammadi¹ and Javad Ahmadpanah²

1- Assistant Professor and Faculty Member, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran (Corresponding author: mohamadi_yahya@yahoo.com)

2- Assistant Professor, Animal Science Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Kermanshah, Iran

Received: March 1, 2020

Accepted: June 7, 2020

Abstract

Imputation as a method of creating low-density chips to high-density chips has been introduced to increase the accuracy of genomic selection in animals. In the current study, to investigate imputation accuracy, three populations of mixed (scenario 1), pure (scenario 2) and mixed + pure (scenario 3) were simulated using QMSim. Two methods of imputation including Beagle and Flmpute were used for two types of low and high density chips. Selected reference population sizes for each scenario were 250, 500 and 1000 animals. The results showed that in all considered scenarios, the accuracy of imputation raised by increasing the reference population size from 250 to 500 animals, but decreased by increasing the reference population size from 500 to 1000 animals. The accuracy of imputation using Flmpute method was greater than that of Beagle for the small reference population (250 animals). In all scenarios and reference population sizes of 500 and 1000 animals, increased accuracy in Flmpute method was not significant in compared to the Beagle method. The accuracy of the imputation was higher for scenario 1 than for scenario 2. Also the increase in the accuracy of the imputation in Scenario 3 was not significant in compared to Scenario 1. Generally, the results of the current study showed that in developing countries where small genotyped animal populations are available, to increase the accuracy of genomic selection, using Flmpute method and mixed population and increasing the relationship between the reference and the target population could be a suitable approach.

Keywords: Genomic selection, Imputation, Mixed population, Prediction accuracy, Simulation



"مقاله پژوهشی"

برآورد فراسنجه‌های فنوتیپی و ژنتیکی صفات کیفیت تخم در مرغان بومی آذربایجان

افسانه جاهدی^۱، جلیل شجاع^۲، صادق علیجانی^۳ و مجید علیایی^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشگاه تبریز

۲- استاد و استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه تبریز

۳- دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه تبریز، (نویسنده مسوول: sad-ali@tabrizu.ac.ir)

تاریخ ارسال: ۹۹/۰۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۴/۱۰

صفحه: ۱۱۵ تا ۱۲۵

چکیده

کیفیت تخم مرغ یکی از عوامل موفقیت اقتصادی در گله‌های مرغ تخم‌گذار است، به طوری که علاوه بر نقش در فرآیند جوجه‌درآوری، در بازاریابی محصول نیز دخیل است. با توجه به تعداد کم رکوردهای مربوط به صفات کیفیت تخم مرغ، یکی از راهکارها در برآورد فراسنجه‌های فنوتیپی و ژنتیکی، انجام تجزیه و تحلیل‌های چندصفتی می‌باشد. این مطالعه با هدف برآورد فراسنجه‌های فنوتیپی و ژنتیکی صفات کیفیت تخم در مرغان بومی آذربایجان انجام شد. برای این منظور تعداد ۲۰۰۰ عدد تخم مرغ از مرغان شجره‌دار مربوط به نسل‌های چهاردهم و پانزدهم مرکز اصلاح نژاد مرغ بومی آذربایجان غربی تهیه و صفات کیفیت خارجی و داخلی تخم در آزمایشگاه اندازه‌گیری شدند. فراسنجه‌های فنوتیپی و ژنتیکی صفات کیفیت تخم مرغ با استفاده از تجزیه و تحلیل چند صفتی با نرم‌افزارهای SAS و WOMBAT انجام گرفت. اثرات نسل-نوبت جوجه‌گشی و مدت زمان نگهداری تخم مرغ در یخچال، اثر معنی‌داری بر صفات کیفیت تخم داشتند. میانگین صفات شامل وزن تخم مرغ $3.3/9.4 \pm$ گرم، $5.5/3.06$ گرم، شاخص شکل تخم مرغ $7.5/1.92 \pm 2/9$ درصد پوسته $9/3.89 \pm 0/7.3$ درصد، درصد سفیده $6/4.42 \pm 2/4.9$ بود. بیشترین پراکندگی درصد، درصد زرده $3.0/4.66 \pm 2/3.5$ درصد، شاخص زرده $3/1.3 \pm 3.5/9.28$ و pH زرده $6/4.42 \pm 0/1.3$ بود. بیشترین پراکندگی مربوط به صفت ارتفاع اتاقک هوایی با ضریب تغییرات $1.6/9.47$ درصد و کمترین آن در صفت pH سفیده با ضریب تغییرات $1.3/3.66$ درصد بود. بیشترین همبستگی فنوتیپی مثبت بین وزن و حجم تخم مرغ برابر با $0/6.44$ ، کمترین همبستگی فنوتیپی مثبت بین pH سفیده و وزن زرده برابر با $0/4$ بود. بیشترین همبستگی ژنتیکی مثبت بین وزن و سطح تخم مرغ و همچنین بین سطح و حجم تخم مرغ (به میزان $0/9.99$)، بیشترین همبستگی ژنتیکی منفی بین درصد سفیده و نسبت زرده به سفیده (به میزان $0/9.94$)، کمترین همبستگی ژنتیکی مثبت بین شاخص زرده و وزن زرده (به میزان $0/0.2$)، کمترین همبستگی ژنتیکی منفی بین شاخص زرده و ماده خشک زرده (به میزان $0/0.5$) برآورد شد. وراثت‌پذیری برآورد شده برای صفات مورد مطالعه در دامنه $0/1.5$ (pH سفیده) تا $0/2.12$ (درصد سفیده) قرار داشت. به طور کلی نتایج حاکی از آن است که صفات مرتبط با کیفیت تخم در مرغان بومی آذربایجان همبستگی فنوتیپی و ژنتیکی نسبتاً بالایی دارند که می‌توان به منظور کم کردن هزینه‌های رکوردبرداری تعداد صفات مورد نظر برای رکوردبرداری را کاهش داد. همچنین وراثت‌پذیری صفات کیفیت تخم مرغ در حد پایین تا متوسط قرار دارد که نشان دهنده میزان پیشرفت کم در موقع انتخاب مستقیم است.

واژه‌های کلیدی: تجزیه و تحلیل چند صفتی، کیفیت تخم مرغ، مرغ بومی، وراثت‌پذیری، همبستگی فنوتیپی

مقدمه

انتخاب ژنتیکی می‌تواند نسبت زرده به وزن تخم مرغ و همچنین نسبت زرده به سفیده را بهبود داد (۲۱). هارتمن و همکاران (۱۴) هنگام انتخاب مرغ‌ها بر اساس درصد زرده تخم مرغ، پاسخ انتخاب قابل قبولی را بدست آوردند. در ارتباط با رابطه صفات کیفیت تخم مرغ با عملکرد پس از تفریح، مستگیر و همکاران (۲۳) گزارش دادند که بین وزن جوجه تازه تفریح شده با وزن تخم مرغ ارتباط مستقیمی وجود دارد و پیشنهاد کردند که این تأثیر بر وزن جوجه‌ها از ژنوتیپ و اثرات سن بر نسبت زرده به سفیده ناشی می‌شود. در نتیجه، احتمالاً انتخاب برای افزایش مقدار زرده بر وزن جوجه تأثیر می‌گذارد. همچنین استفاده از تخم مرغ‌های تازه در جوجه‌گشی، می‌تواند وزن اولیه جوجه‌ها و عملکرد رشد پس از تفریح آنها را تحت تأثیر قرار دهد به صورتی که با بهبود رشد جوجه‌ها میزان تلفات آنها در طی دوره پرورش نیز کاهش می‌یابد (۳۴). مطالعه تنوع ژنتیکی در جمعیت مرغ‌های بومی، به منظور انجام دقیق‌تر برنامه‌های اصلاح نژادی و بهبود صفات اقتصادی و توان تولیدی، کسب اطلاعات و شناخت دقیق‌تر این حیوانات را ضروری می‌سازد و یکی از گام‌های اولیه و پایه برای حفظ و نگاهداری این ذخایر ارزشمند ژنتیکی

طیور بومی به دلیل تطابق با روش پرورش در روستاها به‌عنوان مهمترین منبع تأمین پروتئین برای خانواده‌های روستایی محسوب می‌شوند. همچنین طیور بومی قدرت سازگاری و مقاومت بیشتری در مقابل تنش‌های محیطی و بیماری‌ها دارند. هزینه پرورش و نگهداری مرغان بومی در مقایسه با مرغ‌های تجاری کم‌تر است و نیازی به امکانات و تکنولوژی پرورشی گسترده ندارند (۳۰). در ایران مرغان بومی به‌عنوان یک سرمایه ملی و ذخیره ژنتیکی سازگار با شرایط پرورش غیرصنعتی، مطرح می‌باشد. طیور بومی ایران دومنظوره بوده و نرخ رشد و تولید تخم مرغ آن‌ها در شرایط سنتی و روستایی پایین است (۴). کیفیت تخم مرغ یکی از عوامل مهم در جوجه‌درآوری، رشد جوجه‌ها و بازاریابی است. بنابراین هدف تولیدکنندگان تخم مرغ، پرورش طیوری است که بتواند با کمترین هزینه، تکنولوژی و امکانات تخم مرغ‌هایی با کیفیت بالا را تولید نمایند، چه بسا در این راستا استفاده از طیور بومی هر منطقه نسبت به طیور غیربومی ارجح‌تر باشد. مهمترین صفتی که بر محتوای مواد مغذی تخم مرغ تأثیر دارد، غلظت ماده خشک زرده و سفیده است. با

نسل چهارم انتخاب به صورت فنوتیپی و تنها با استفاده از رکورد مرغان همان نسل و بدون استفاده از رکوردهای موجود در نسل‌های قبل و بدون دخالت دادن رکوردهای خروس‌ها انجام شده است. برای بررسی صفات مربوط به کیفیت تخم مرغ از داده‌های مرغان شجره‌دار نسل ۱۴ و ۱۵ مرکز اصلاح نژاد مرغ بومی آذربایجان استفاده شد. بدین منظور تعداد ۲۰۰۰ عدد تخم مرغ سالم پس از انتقال به آزمایشگاه مرکز تحصیلات تکمیلی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز و نگهداری در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، صفات مختلف کیفیت تخم اندازه‌گیری شدند. صفات کیفیت تخم مرغ که برای هر یک از تخم‌ها و به صورت انفرادی انجام شد، شامل وزن تخم مرغ^۱ (EW)، طول تخم مرغ^۲ (EL)، عرض تخم مرغ^۳ (EB)، شاخص شکل تخم مرغ^۴ (ESI)، محیط تخم مرغ^۵ (EC)، مساحت سطح پوسته تخم مرغ^۶ (ESA)، وزن پوسته^۷ (SW)، درصد پوسته^۸ (SP)، وزن پوسته در واحد سطح^۹ (SWSA)، ارتفاع اتاقک هوایی^{۱۰} (ACH)، حجم تخم مرغ^{۱۱} (EV)، درصد سفیده^{۱۲} (AP)، pH سفیده^{۱۳} (PHA)، وزن زرده^{۱۴} (YW)، درصد زرده^{۱۵} (YP)، نسبت زرده به سفیده^{۱۶} (YTA)، ارتفاع زرده^{۱۷} (YH)، ضریب زرده^{۱۸} (YC)، شاخص زرده^{۱۹} (YI)، ماده خشک زرده^{۲۰} (YDM) و pH زرده^{۲۱} (PHY) بودند. صفت EW، SW و YW با استفاده از ترازوی الکترونیکی (با دقت ۰/۰۰۱ گرم)، EL و EB با استفاده از کولیس دیجیتالی (دقت ۰/۱ میلی‌متر)، ESI با استفاده از رابطه (۱)، EC با استفاده از متر نواری و با اندازه‌گیری دور کامل تخم مرغ، ESA با استفاده از رابطه (۲)، SP، AP و YP به ترتیب با استفاده از روابط (۳، ۴ و ۵)، SWSA (رابطه ۶)، EV (رابطه ۷)، YH پس از جداسازی زرده در روی سطح شیشه‌ای و با استفاده از میکرومتر سه پایه، YC (رابطه ۸)، YI (رابطه ۹)، YDM پس از جداسازی و توزین دو گرم زرده و خشک کردن در آون طی ۲۴ ساعت و PHA و PHY توسط pH متر اندازه‌گیری شد (۹).

می‌باشد (۱،۱۶،۲۲). موفقیت برنامه‌های اصلاح نژادی بستگی به میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت دارد و فقدان تنوع، قدرت انتخاب‌های ژنتیکی را محدود می‌سازد (۳)، لذا حفظ تنوع ژنتیکی گونه‌ها در دستور کار موسسات اصلاح نژادی قرار دارد (۱۰،۱۹،۲۲). دقت تخمین مؤلفه‌های واریانس اهمیت زیادی در اصلاح حیوانات دارد (۳۵). از مهم‌ترین فراسنجه‌هایی که از طریق این مؤلفه‌ها به دست می‌آید می‌توان به وراثت‌پذیری و همبستگی‌های ژنتیکی و فنوتیپی اشاره کرد (۶،۱۷،۳۱). وراثت‌پذیری راه اجرا و عملی نمودن برنامه‌های اصلاح نژادی را نشان می‌دهد (۷،۱۷،۱۸، ۱۹). لذا این مؤلفه‌ها بایستی به طور دقیق و صحیح با استفاده از مدل‌ها و روش‌های آماری مناسب و داده‌های صحیح و کافی برآورد گردند تا در نهایت با انتخاب حیوانات برتر از لحاظ ژنتیکی و استفاده از آن‌ها به عنوان والدین نسل بعدی، میانگین تولید بهبود یابد. معیار بسیار مهم برای نیل به نتایج ناریب و در نهایت پیشرفت ژنتیکی موثر، نوع مدل استفاده شده است، در این ارتباط نیز هر چه عوامل بارز (تأثیرات ژنتیکی و محیط دائمی مادری) در برآورد مؤلفه‌های واریانس شناسایی به مدل وارد شوند، نتایج دقیق‌تری حاصل خواهد شد (۱۶).

هدف از اجرای این تحقیق برآورد مؤلفه‌های واریانس و کوواریانس و تخمین وراثت‌پذیری و همبستگی صفات مربوط به کیفیت تخم مرغان بومی آذربایجان با استفاده از تجزیه و تحلیل تمام صفات به صورت توأم و به شکل یک تجزیه و تحلیل چند صفتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مرکز پرورش، اصلاح نژاد و تکثیر مرغ بومی آذربایجان در ۲۷ کیلومتری شهرستان ارومیه واقع در جاده طلا تپه و در مساحت ۱۱ هکتار با دوسالن تکثیری و یک سالن رکوردگیری به مساحت کل سه هزار متر مربع در سال ۱۳۶۳ احداث و در سال ۱۳۶۷ فعالیت خود را آغاز کرده است. در این ایستگاه تا

$$\text{رابطه (۱)} \quad 100 \times \frac{\text{عرض تخم مرغ (میلی متر)}}{\text{طول تخم مرغ (میلی متر)}} = \text{شاخص شکل تخم مرغ}$$

$$\text{رابطه (۲)} \quad 100 \times \frac{\text{وزن تخم مرغ}}{4.558} = \text{مساحت سطح پوسته (سانتی متر مربع)}$$

$$\text{رابطه (۳)} \quad 100 \times \frac{\text{وزن پوسته تخم مرغ (گرم)}}{\text{وزن تخم مرغ (گرم)}} = \text{درصد پوسته تخم مرغ}$$

$$\text{رابطه (۴)} \quad 100 \times \frac{\text{وزن سفیده تخم مرغ (گرم)}}{\text{وزن تخم مرغ (گرم)}} = \text{درصد سفیده تخم مرغ}$$

$$\text{رابطه (۵)} \quad 100 \times \frac{\text{وزن زرده تخم مرغ (گرم)}}{\text{وزن تخم مرغ (گرم)}} = \text{درصد زرده تخم مرغ}$$

$$\text{رابطه (۶)} \quad \frac{\text{وزن پوسته تخم مرغ (میلی گرم)}}{\text{مساحت سطح پوسته تخم مرغ (سانتی متر مربع)}} = \text{وزن پوسته در واحد سطح (میلی گرم در هر سانتی متر مربع)}$$

$$\text{رابطه (۷)} \quad \left(\text{عرض} \times \text{طول} \right) \times \left(0.018 - 0.00057 \right) = \text{حجم تخم مرغ (میلی متر مکعب)}$$

1- Egg weight (EW)	2- Egg length (EL)	3- Egg breadth (EB)
4- Egg shape index (ESI)	5- Egg circumference (EC)	6- Egg shell surface area (ESA)
7- Sell weight (SW)	8- Shell percentage (SP)	9- Shell weight to surface are (SWSA)
10- Air cell height (ACH)	11- Egg volume (EV)	12- Albumin percentage (AP)
13- pH of albumin (PHA)	14- weight (YW)	15- Yolk percentage (YP)
16- Yolk to albumin ratio (YTA)	17- Yolk height (YH)	18- Yolk coefficient (YC)
19- Yolk index (YI)	20- Dry matter of egg yolk (YDM)	21- pH of yolk (PHY)

$$\text{رابطه (۸)} \quad 100 \times \left(\frac{\text{ارتفاع زرده (میلی متر)}}{\text{قطر زرده (میلی متر)}} \right) = \text{شاخص زرده}$$

$$\text{رابطه (۹)} \quad 100 \times \left(\frac{\text{وزن زرده (گرم)}}{\text{قطر زرده (سانتی متر)}} \right) = \text{ضریب زرده}$$

۲۸). مطابق با نتایج این تحقیق، فدرن و همکاران (۹) گزارش کردند که با افزایش مدت زمان نگهداری تخم در دامی اتاق تا ۸ هفته ارتفاع زرده و سفیده تخم و واحد هاو به شدت کاهش می‌یابد و pH زرده افزایش می‌یابد که این تغییرات در تخم‌مرغ‌هایی که در یخچال نگهداری می‌شدند با سرعت کم و تدریجی است. با افزایش مدت زمان نگهداری تخم چندین واکنش شیمیایی رخ می‌دهد که در نتیجه آن بخش غلیظ سفیده حالت آبکی می‌یابد. با افزایش مدت زمان نگهداری اسید کربنیک H₂CO₃ در سفیده تخم تشکیل می‌گردد که یکی از اجزای سیستم بافری سفیده تخم است که به هنگام افزایش زمان نگهداری به آب و دی‌اکسید کربن (CO₂) تفکیک می‌شود. در شرایط طبیعی CO₂ از طریق روزنه‌های موجود در پوسته از تخم خارج می‌شود که منجر به کاهش میزان اسیدیته و یا افزایش pH سفیده می‌گردد. با افزایش pH سفیده پروتئین‌های غشای سفیده تجزیه شده و محیط را آبکی می‌نماید (۹، ۲۴).

آماره‌های توصیفی صفات مرتبط با کیفیت داخلی و خارجی تخم مرغان بومی آذربایجان (صفات کیفی و کمی) در جدول ۲ ارائه شده است. در این تحقیق میانگین وزن تخم‌مرغ در مرغان بومی آذربایجان ۵۵/۳۰۶ گرم اندازه‌گیری شد که این مقدار بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط امامقلی بگلی و همکاران (۶ و ۸) و علی‌پناه و همکاران (۲) و کم‌تر از مقدار اندازه‌گیری شده توسط ولک و همکاران (۳۵) بود. به نظر می‌رسد دلیل اصلی اختلاف در مقادیر وزن تخم‌مرغ اندازه‌گیری شده به تفاوت‌های ناشی از سن مرغ در هنگام تخم‌گذاری، نژاد مرغ، نوع و شرایط محل پرورش، وضعیت سلامتی پرنده و نوع جیره غذایی مربوط باشد. مقادیر حداقل و حداکثر طول تخم‌مرغ به ترتیب ۵۰/۰۲۰ و ۶۲/۵۷۰ میلی‌متر اندازه‌گیری شدند. مقادیر میانگین، حداقل و حداکثر شاخص شکل تخم‌مرغ که یکی از صفات مهم کیفیت تخم مرغ می‌باشد که هم در جوجه‌درآوری و هم در سود اقتصادی گله‌های تخم‌گذار موثر است به ترتیب ۷۵/۱۹۲، ۶۷/۲۴۵ و ۸۳/۳۲۷ اندازه‌گیری شد. تخم‌مرغ‌های با شکل دراز و باریک، خیلی گرد و یک طرف صاف و دنداندار علاوه بر ایجاد مشکلات در حمل و نقل و بسته‌بندی، عموماً به علت ظاهر نامناسب و غیرمعمول کم‌تر مورد پسند مصرف‌کنندگان قرار می‌گیرد و ارزش اقتصادی کم‌تری در مقایسه با تخم‌مرغ‌های با شکل بیضی و شاخص شکل استاندارد، دارند (۱۴، ۵، ۲). دومان و همکاران (۵) در مورد ارتباط شاخص شکل و وزن تخم‌مرغ، تخم‌مرغ‌ها را بر اساس شاخص شکل تخم‌مرغ به سه گروه دراز با شاخص شکل کمتر از ۷۲، تخم‌مرغ‌های استاندارد با شاخص شکل بین ۷۶-۷۲ و تخم‌مرغ‌های گرد با شاخص شکل بیشتر از ۷۶ تقسیم و نتیجه‌گیری کردند در تخم‌های سنگین‌تر شاخص شکل متمایل به گرد و در تخم‌های سبک‌تر شاخص شکل متمایل به دراز است. شاخص

روش تجزیه و تحلیل آماری صفات مورد مطالعه

پس از حذف داده‌های پرت (با بیش از سه انحراف معیار تفاوت از میانگین)، آماره‌های توصیفی برای صفات مورد نظر و با استفاده از رویه Univariate نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ محاسبه شد. در ادامه با توجه به اینکه تخم‌مرغ‌ها به مرغ‌های نسل‌های مختلف تعلق داشته و جوجه‌ها در نوبت‌های مختلف جوجه‌کشی تولید شده بودند، اثرات آن‌ها بر صفات کیفیت تخم بررسی شد. برای این کار از رویه GLM نرم‌افزار SAS (با سطح معنی‌داری ۰/۰۵) استفاده شد. تجزیه واریانس برای هر صفت به‌طور جداگانه انجام و معنی‌دار بودن اثر عوامل ثابت، نسل-نوبت جوجه‌کشی و متغیرهای کمکی مدت نگهداری در یخچال و میزان همخونی مورد بررسی قرار گرفت. برای برآورد فراسنجه‌های ژنتیکی صفات با توجه به اینکه از هر مرغ چندین تخم مرغ رکوردبرداری شده بود، از مدل حیوانی تکرارپذیری به شکل زیر برای برآورد فراسنجه‌های ژنتیکی استفاده شد. همبستگی‌های فنوتیپی و ژنتیکی بین صفات توسط نرم‌افزار WOMBAT (۲۰) و با استفاده از مدل حیوانی تکرارپذیری چندصفتی به روش حداکثر درست‌نمایی محدودشده (REML) و با الگوریتم امید ریاضی-بیشینه‌سازی شده^۲ برآورد شدند. مدل مورد استفاده به‌صورت زیر بود:

$$y = X\beta + Za + Wpe + \varepsilon$$

که در آن y بردار مشاهدات، β بردار اثرات ثابت نسل-نوبت جوجه‌کشی و متغیرهای کمکی مدت زمان نگهداری در یخچال و میزان همخونی، α بردار اثرات ژنتیک افزایشی، pe بردار اثرات محیطی دائمی مرغ و ε بردار اثرات باقیمانده و ماتریس‌های X ، Z و W ماتریس ضرایب می‌باشند که به ترتیب رکوردها را به اثرات ثابت، ژنتیک افزایشی مرغ‌ها و محیطی دائمی مرغ‌ها ربط می‌دهند. کلیه تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی صفات کیفیت داخلی و خارجی تخم به‌صورت تجزیه و تحلیل ۲۱ صفت صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج معنی‌داری اثرات ثابت نسل-نوبت جوجه‌کشی و متغیرهای کمکی مدت زمان نگهداری تخم مرغ در یخچال و میزان همخونی (خطی و غیرخطی) بر صفات کیفیت تخم مرغان بومی آذربایجان در جدول ۱ نشان داده شده است. اثر متغیر کمکی مدت زمان نگهداری در یخچال بر صفات محیط تخم‌مرغ، ارتفاع اتاقک هوایی، وزن و درصد زرده، نسبت زرده به سفیده، ضریب و شاخص زرده و pH زرده تخم‌مرغ معنی‌دار بود ($p < 0/05$). اثر نسل-نوبت جوجه‌کشی بر صفات محیط تخم مرغ و وزن زرده معنی‌دار بود ($p < 0/05$). نتایج گزارشات قبلی نشان‌دهنده اثرات معنی‌دار مدت زمان نگهداری تخم‌مرغ بر کیفیت تخم‌مرغ است که با افزایش مدت زمان نگهداری کیفیت تخم کاهش می‌یابد (۹، ۲۴، ۲۶،

مرغان بومی آذربایجان $0/43$ برآورد شد که میزان این همبستگی توسط علی‌پناه و همکاران (۲) $0/83$ گزارش گردید. میزان همبستگی فنوتیپی بین وزن تخم‌مرغ و عرض تخم‌مرغ در این تحقیق $0/55$ برآورد گردید که مشابه نتایج خیرخواه و همکاران (۱۸) و کمتر از نتایج علی‌پناه و همکاران (۲) بود. میزان همبستگی فنوتیپی بین وزن تخم‌مرغ و وزن پوسته تخم‌مرغ در مرغان بومی آذربایجان $0/37$ برآورد گردید که مقدار آن مثبت، ولی کمتر از گزارش سایر محققین بود به‌طوری‌که امامقلی بگلی و همکاران (۶) این همبستگی را $0/75$ ، علی‌پناه و همکاران (۲) $0/68$ ، ژانگ و همکاران (۳۸) $0/50$ ، خیرخواه و همکاران (۱۸) $0/63$ گزارش نمودند. یوسریا و همکاران (۳۷) این همبستگی را $(-0/01)$ گزارش نمودند. همبستگی فنوتیپی وزن زرده و وزن تخم‌مرغ $0/33$ برآورد شد که کمتر از محدوده گزارشات قبلی است (۸، ۱۱، ۱۵، ۲۸، ۲۹، ۳۸). همبستگی وزن پوسته و وزن زرده $0/19$ به‌دست آمد. این همبستگی مثبت ولی کمتر از نتایج سلیم و ابراهیم (۲۹)، امامقلی بگلی و همکاران (۸)، علی‌پناه و همکاران (۲) و ژانگ و همکاران (۳۸) (به ترتیب $0/51$ ، $0/32$ ، $0/31$) بود. همبستگی فنوتیپی وزن پوسته و شاخص زرده $0/06$ محاسبه شد. امامقلی بگلی و همکاران (۸) و هدایا و همکاران (۱۵) این همبستگی را مشابه مقدار این تحقیق گزارش کردند (به ترتیب $0/07$ و $0/06$). علی‌پناه و همکاران (۲) همبستگی فنوتیپی بین وزن پوسته تخم‌مرغ با درصد سفیده و درصد زرده را به ترتیب $0/23$ و $-0/43$ گزارش نمودند، که میزان این همبستگی‌ها در مرغان بومی آذربایجان به ترتیب $0/02$ و $-0/15$ برآورد گردید. همبستگی فنوتیپی وزن زرده و شاخص زرده $-0/02$ برآورد شد که مشابه گزارش امامقلی بگلی و همکاران (۸) و سلیم و ابراهیم (۲۹) است. از نظر همبستگی ژنتیکی در مطالعه‌ی انجام شده بین وزن تخم‌مرغ و صفات حجم، مساحت سطح پوسته تخم و محیط تخم‌مرغ بالاترین میزان همبستگی مثبت و از سوی دیگر بین وزن تخم‌مرغ و نسبت زرده به سفیده، درصد پوسته و درصد زرده همبستگی بالا و منفی مشاهده شد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان گفت با افزایش وزن تخم‌مرغ درصد پوسته و درصد زرده کاهش می‌یابد. تخم‌مرغ‌های بزرگتر درصد سفیده بیشتری خواهند داشت. یعنی با افزایش وزن تخم‌مرغ وزن سفیده نسبت به وزن زرده و پوسته بیشتر افزایش می‌یابد (۵). همبستگی فنوتیپی بین وزن تخم‌مرغ با ارتفاع زرده، شاخص زرده و وزن زرده به ترتیب $0/276$ ، $0/084$ و $0/416$ برآورد شد. امامقلی بگلی و همکاران (۸) میزان همبستگی بین این صفات را به ترتیب $0/68$ ، $0/22$ و $0/7$ گزارش نمودند. خیرخواه و همکاران (۱۸) میزان این همبستگی‌ها را به ترتیب $0/68$ ، $-0/03$ و $0/74$ گزارش نمودند.

درصد سفیده تخم‌مرغ‌های بومی $60/160$ درصد اندازه‌گیری شد که کمتر از نتایج گزارش شده توسط رومرول و همکاران (۲۷) و وو و همکاران (۳۶) (در مرغان لگهورن تخم‌گذار تجاری) است. درصد پوسته، زرده و سفیده تخم‌مرغ به‌شدت تحت تأثیر وزن تخم‌مرغ قرار دارد و با توجه به اینکه وزن تخم‌مرغ نیز نسبت به نژاد، سویه، نوع و شرایط محل پرورش متفاوت است، بنابراین تفاوت در درصد سفیده ممکن است مربوط به تفاوت در وزن تخم‌مرغ باشد. میانگین pH سفیده در تخم‌مرغ‌های بومی آذربایجان $9/441$ اندازه‌گیری شد. پاپ پاس و همکاران (۲۵) محدوده pH سفیده را $8/83$ تا $9/64$ و شانگ و همکاران (۳۳) pH سفیده را $9/22$ تا $9/27$ گزارش نمودند. اولیوریا و همکاران (۲۴) در 50 روز نگهداری میزان pH سفیده را $8/02$ تا $9/13$ گزارش نمودند که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. میانگین وزن زرده در مرغان بومی آذربایجان $16/865$ گرم اندازه‌گیری شد که از مقادیر گزارش شده توسط امامقلی بگلی و همکاران (۸) به میزان $12/91$ گرم، علی‌پناه و همکاران (۲) به میزان $14/20$ گرم، ژانگ و همکاران (۳۸) به میزان $14/77$ گرم، خیرخواه و همکاران (۱۸) به میزان $14/07$ گرم، بیشتر بود. در این مطالعه میانگین درصد زرده تخم‌مرغ $30/466$ درصد اندازه‌گیری شد که کمتر از نتایج گزارش شده توسط علی‌پناه و همکاران (۲) به میزان $32/88$ درصد و کمی بیشتر از مقادیر اندازه‌گیری شده توسط ژانگ و همکاران (۳۸) به میزان $27/45$ درصد بود. میانگین نسبت زرده به سفیده تخم که نشان دهنده محتویات قابل دسترس برای جنین‌های در حال رشد و مقدار مواد مغذی موجود در تخم است $50/778$ محاسبه شد که مقادیر بزرگتر این نسبت نشان دهنده درصد سفیده کمتر و یا درصد زرده بیشتر است که از نقطه نظر تغذیه جنینی با اهمیت است زیرا زرده تخم منبع عمده مواد غذایی برای جنین می‌باشد. میانگین، حداقل و حداکثر ماده خشک زرده تخم در مرغان بومی به ترتیب $8/354$ ، $6/143$ و $10/681$ درصد تعیین شد. هر چه قدر ماده خشک زرده بیشتر باشد حاکی از مواد مغذی بیشتر برای جنین‌های در حال رشد است و هم از طرفی با توجه به اینکه زرده محل اصلی ذخیره مواد معدنی می‌باشد، از نقطه نظر بازارپسندی با اهمیت است.

ضرایب همبستگی فنوتیپی و همبستگی ژنتیکی صفات کیفیت داخلی تخم مرغان بومی آذربایجان در جدول ۳ نشان داده شده است. بالاترین ضریب همبستگی فنوتیپی در مطالعه حاضر بین وزن تخم‌مرغ با عرض تخم‌مرغ، مساحت سطح پوسته، محیط و حجم تخم‌مرغ برآورد گردید که میزان این همبستگی‌ها مثبت و بالای $0/50$ بود، که می‌توان گفت با افزایش وزن تخم‌مرغ اندازه تخم‌مرغ بزرگ‌تر می‌شود و حجم و مساحت سطح پوسته تخم‌مرغ افزایش می‌یابد. میزان همبستگی فنوتیپی بین وزن تخم‌مرغ و طول تخم‌مرغ در

جدول ۳- ضرایب همبستگی ژنتیکی (بالای قطر) و همبستگی فنوتیپی (پایین قطر) صفات کیفیت داخلی تخم مرغان بومی آذربایجان

Table 3. Genetic correlation (above diameter) and phenotypic correlation (low diameter) of Azarbayjan hens egg quality traits

صفات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	
۱																						
۲																						
۳																						
۴																						
۵																						
۶																						
۷																						
۸																						
۹																						
۱۰																						
۱۱																						
۱۲																						
۱۳																						
۱۴																						
۱۵																						
۱۶																						
۱۷																						
۱۸																						
۱۹																						
۲۰																						
۲۱																						

۱:۱. وزن تخم مرغ (EW)، ۲. طول تخم مرغ (EL)، ۳. عرض تخم مرغ (EB)، ۴. شاخص شکل تخم مرغ (ESI)، ۵. محیط تخم مرغ (EC)، ۶. مساحت سطح پوسته تخم مرغ (ESA)، ۷. وزن پوسته (SW)، ۸. درصد پوسته (SP)، ۹. وزن پوسته در واحد سطح (SWSA)، ۱۰. ارتفاع اتاقک هوایی (ACH)، ۱۱. حجم تخم مرغ (EV)، ۱۲. درصد سفیده (AP)، ۱۳. pH سفیده (PHA)، ۱۴. وزن زرده (YW)، ۱۵. درصد زرده (YP)، ۱۶. نسبت زرده به سفیده (YTA)، ۱۷. ارتفاع زرده (YH)، ۱۸. ضریب زرده (YC)، ۱۹. شاخص زرده (YI)، ۲۰. ماده خشک زرده (YDM) و ۲۱. pH زرده (PHY)

این محققین به ترتیب ۰/۱۳، ۰/۶۴، ۰/۲۳ و ۰/۵۴ گزارش گردید. وراثت پذیری درصد زرده و درصد سفیده به ترتیب ۰/۱۵۸۶ و ۰/۲۱۲ برآورد شد که اندکی کمتر از نتایج گزارش شده توسط علی‌پناه و همکاران (۲) بود. وراثت پذیری وزن زرده تخم مرغ توسط خیرخواه و همکاران (۲) به میزان ۰/۱۵، ژانگ و همکاران (۳۸) به میزان ۰/۴۵، امامقلی بگلی و همکاران (۸) به میزان ۰/۲۴ و علی‌پناه و همکاران (۲) به میزان ۰/۳۲ گزارش شده است و در این تحقیق ۰/۱۲ برآورد شد. وراثت پذیری ضریب زرده و نسبت زرده به سفیده به ترتیب ۰/۱۰۳۹ و ۰/۱۷۳ برآورد شد البته در این مورد گزارشی وجود نداشت. وراثت پذیری عرض تخم مرغ توسط خیرخواه و همکاران (۱۸) به میزان ۰/۱۰ و علی‌پناه و همکاران (۲) به میزان ۰/۴۹ گزارش شده است. وراثت‌پذیری عرض تخم‌مرغ ۰/۱۶ برآورد شد که کمی بیشتر از نتایج به‌دست‌آمده توسط خیرخواه و همکاران (۱۸) و کمتر از نتایج گزارش شده توسط علی‌پناه و همکاران (۲) بود. شهری قره‌بابا و همکاران (۳۰، ۳۲) در مرغان بومی آذربایجان وراثت‌پذیری وزن تخم‌مرغ، شاخص زرده، وزن زرده و وزن پوسته تخم مرغ را به ترتیب ۰/۴۱، ۰/۳۴، ۰/۵۲ و ۰/۸۰ گزارش نمودند که از نتایج برآورد شده در این پژوهش اندکی بیشتر بود که این اختلاف می‌تواند ناشی از مدل به‌کار گرفته شده باشد، به‌صورتی که آنها اثر محیط دائم را در مدل در نظر نگرفته بودند. از وراثت‌پذیری می‌توان در برنامه‌های انتخاب ژنتیکی، پیشگویی توانایی تولید پرند و در برنامه‌های مدیریتی استفاده نمود. برای صفاتی که دارای وراثت پذیری بالایی هستند تغییرات در ارزش‌های اصلاحی بخش زیادی از تغییرات عملکرد فوتویی پرندها را تبیین می‌کند؛ در حالی که اثر تفاوت‌های محیطی اندک است. بنابراین استفاده از برنامه‌های انتخاب ژنتیکی در صفات با وراثت‌پذیری بالا می‌تواند به‌عنوان ابزار اصلی در بهبود عملکرد صفات، مورد استفاده قرار گیرد و در صفات با توارث پذیری پایین استفاده از برنامه‌های مدیریتی راهکار اصلی در افزایش عملکرد صفات است (۹، ۱۳، ۲۶، ۲۸، ۳۷). بر اساس نتایج تحقیق حاضر که نشان‌دهنده میزان وراثت‌پذیری پایین تا متوسط صفات کیفیت خارجی و داخلی تخم مرغان بومی آذربایجان است، برای بهبود عملکرد صفات مذکور بایستی برنامه‌های مدیریتی و پرورشی ارتقاء یابند.

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، به‌نظر می‌رسد صفات مربوط به کیفیت تخم در مرغان بومی آذربایجان دارای همبستگی فوتویی و ژنتیکی نسبتاً بالایی هستند، یعنی اینکه صفات، اطلاعات قابل توجهی در مورد صفت دیگر ارائه می‌دهند، بنابراین به‌منظور کم‌کردن هزینه‌ها می‌توان تعداد صفات مورد رکوردبرداری را کم کرد. از طرف دیگر نتایج نشان داد که صفات مطالعه‌شده دارای وراثت‌پذیری نسبتاً پایین تا متوسط بوده که بیان‌کننده میزان پیشرفت کم در موقع انتخاب مستقیم است.

همبستگی وزن زرده و وزن تخم مرغ کمتر از نتایج ژانگ و همکاران (۳۸) و هدایا و همکاران (۱۵) و همبستگی وزن تخم مرغ و شاخص زرده کمتر از نتایج هدایا و همکاران (۱۵) است (۰/۲۰۱). همبستگی بین عرض تخم مرغ و وزن زرده در مرغان بومی آذربایجان ۰/۱۴ برآورد شد. علی‌پناه و همکاران (۲)، خیرخواه و همکاران (۱۸) میزان این همبستگی را به ترتیب ۰/۵۱ و ۰/۴۲ گزارش نمودند. ضرایب همبستگی بین دو صفت وزن پوسته تخم مرغ و ارتفاع زرده در مرغان بومی آذربایجان ۰/۳۳ برآورد شد که از نتایج امامقلی بگلی و همکاران (۸) ۰/۶۶ پایین‌تر و مشابه نتایج خیرخواه و همکاران (۱۸) ۰/۲۵ بود. وزن پوسته و وزن زرده همبستگی ۰/۷۳ به‌دست آمد. این همبستگی مثبت، ولی بالاتر از گزارشات ژانگ و همکاران (۳۸)، هدایا و همکاران (۱۸) و امامقلی بگلی و همکاران (۸) بود. همبستگی وزن پوسته و شاخص زرده ۰/۰۵ به‌دست آمد. این همبستگی جزئی و مثبت است. امامقلی بگلی و همکاران (۸) در مرغ بومی یزد و هدایا و همکاران (۱۵) این همبستگی را بیشتر از مقدار گزارش شده برآورد کردند (۰/۳۴ و ۰/۲). همبستگی ژنتیکی بین وزن زرده و شاخص زرده در مرغان بومی آذربایجان ۰/۰۰۲ برآورد گردید که کمتر از نتایج خیرخواه و همکاران (۱۸) ۰/۳۴ می‌باشد. هدایا و همکاران (۱۵) این همبستگی را ۰/۲۰۱- گزارش نمودند. علی‌پناه و همکاران (۲) همبستگی بین وزن زرده با درصد زرده و درصد سفیده را ترتیب ۰/۴۰ و ۰/۴۷- گزارش نمودند که در مرغان بومی آذربایجان ۰/۵ و ۰/۴۵- برآورد گردید که با نتایج علی‌پناه و همکاران همخوانی داشت. نتایج فراسنجه‌های ژنتیکی برآورد شده برای صفات کیفیت تخم‌مرغ با استفاده از تجزیه و تحلیل چندصفتی در جدول ۴ ارائه شده است. بیشترین وراثت‌پذیری مربوط به صفت درصد سفیده (۰/۲۱۲) بود. این صفت تکرارپذیری (۰/۶۳۸) بالایی نیز داشت، بدین ترتیب صفت درصد سفیده تخم مرغ نسبت به سایر صفات اندازه‌گیری شده در این تحقیق با احتمال زیادی به ارث می‌رسد. وراثت‌پذیری وزن تخم‌مرغ ۰/۱۷۵ برآورد شد که مشابه نتایج به‌دست‌آمده توسط خیرخواه و همکاران (۱۸) و کمتر از نتایج محاسبه شده توسط ژانگ و همکاران (۳۸)، امامقلی بگلی و همکاران (۷) و علی‌پناه و همکاران (۲) است. همچنین بیشترین تکرارپذیری بین صفات نیز مربوط به وزن تخم‌مرغ بود (۰/۶۴۶). وراثت‌پذیری عرض تخم مرغ ۰/۱۶ برآورد شد. این وراثت‌پذیری توسط خیرخواه و همکاران (۱۸) به میزان ۰/۱۰، علی‌پناه و همکاران (۲) به میزان ۰/۴۹ گزارش شد. وراثت‌پذیری شاخص شکل تخم مرغ ۰/۱۳۴ برآورد گردید که مشابه نتایج به‌دست‌آمده توسط خیرخواه و همکاران (۱۸) بود که میزان آن را ۰/۱۱ گزارش کردند. در این مطالعه وراثت‌پذیری وزن پوسته تخم‌مرغ ۰/۰۵۷۵ برآورد شده است (جدول ۴) که مشابه نتایج خیرخواه و همکاران (۱۸) و کمتر از نتایج به‌دست‌آمده توسط ژانگ و همکاران (۳۸)، امامقلی بگلی و همکاران (۷) و علی‌پناه و همکاران (۲) بود. میزان این وراثت‌پذیری توسط

جدول ۴- فراسنجه‌های ژنتیکی برآورد شده برای صفات کیفیت تخم مرغ در تجزیه و تحلیل چندصفتی

Table 4. Estimated genetic parameters of egg quality traits by multi-trait analysis

تکرارپذیری	وارپانس باقی مانده	وارپانس محیطی دائمی	وارپانس ژنتیک افزایشی	وارپانس فنوتیپی	وارپانس پذیرایی	صفت
۰/۶۴۶	۵/۷۸۳	۷/۷۰۱	۲/۸۵۴	۱۶/۳۳۸	۰/۱۷۵	EW (گرم)
۰/۵۴۳	۲/۰۴۴	۱/۷۰۴	۰/۷۲۲	۴/۴۷۰	۰/۱۶۲	EL (میلی متر)
۰/۶۰۲	۰/۵۲۱	۰/۵۷۹	۰/۲۱۰	۱/۳۱۰	۰/۱۶۰	EB (میلی متر)
۰/۵۰۳	۴/۳۷۳	۳/۲۴۵	۱/۱۸۳	۸/۸۰۱	۰/۱۳۴	ESI
۰/۵۲۳	۰/۰۹۱	۰/۰۷۰	۰/۰۳۰	۰/۱۹۱	۰/۱۵۶	EC (میلی متر)
۰/۶۴۱	۳/۸۰۸	۵/۰۵۷	۱/۷۴۸	۱۰/۶۱۳	۰/۱۶۵	ESA (سانتی متر مربع)
۰/۵۹۱	۰/۱۱۸	۰/۱۵۴	۰/۰۱۷	۰/۲۸۹	۰/۰۵۸	SW (گرم)
۰/۵۶۸	۰/۲۴۷	۰/۲۶۸	۰/۰۵۷	۰/۵۷۲	۰/۰۹۹	SP (درصد)
۰/۵۶۴	۱۶/۵۲۳	۱۸/۸۵۶	۲/۵۵۹	۳۷/۹۴۷	۰/۰۶۷	SWSA (میلی گرم/سانتی متر مربع)
۰/۰۹۰	۱/۲۷۳	۰/۰۲۵	۰/۱۰۱	۱/۴۰۰	۰/۰۷۲	ACH (میلی متر)
۰/۶۴۴	۴/۸۱۷	۶/۴۷۲	۲/۲۳۲	۱۳/۵۲۲	۰/۱۶۵	EV (میلی متر مکعب)
۰/۶۳۸	۲/۲۳۲	۲/۶۲۷	۱/۳۰۸	۶/۱۶۷	۰/۲۱۲	AP (درصد)
۰/۱۱۰	۰/۰۱۵	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۱۷	۰/۰۱۵	APH
۰/۶۳۵	۰/۶۸۶	۰/۹۶۸	۰/۲۲۵	۱/۸۷۹	۰/۱۳۰	YW (گرم)
۰/۶۲۰	۲/۰۵۳	۲/۵۱۶	۰/۸۶۱	۵/۴۳۰	۰/۱۵۹	YP (درصد)
۰/۶۲۰	۱۳/۱۸۲	۱۵/۵۰۴	۶/۰۰۳	۳۴/۶۹۰	۰/۱۷۳	YTA
۰/۴۶۹	۰/۵۵۷	۰/۳۸۱	۰/۱۱۱	۱/۰۴۹	۰/۱۰۶	YH (میلی متر)
۰/۵۵۵	۳/۰۶۸	۳/۱۱۰	۰/۷۱۶	۶/۸۹۵	۰/۱۰۴	YC
۰/۴۹۸	۵/۰۶۵	۳/۹۴۳	۱/۰۷۵	۱۰/۰۸۴	۰/۱۰۷	YI
۰/۵۶۷	۰/۲۴۴	۰/۲۵۷	۰/۰۶۲	۰/۵۶۳	۰/۱۱۰	YDM (درصد)
۰/۱۶۹	۰/۰۱۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۱۵	۰/۰۳۹	YPH

۱- وزن تخم مرغ (EW)، طول تخم مرغ (EL)، عرض تخم مرغ (EB)، شاخص شکل تخم مرغ (ESI)، محیط تخم مرغ (EC)، مساحت سطح پوسته تخم مرغ (ESA)، وزن پوسته (SW)، درصد پوسته (SP)، وزن پوسته در واحد سطح (SWSA)، ارتفاع اتاقک هوایی (ACH)، حجم تخم مرغ (EV)، درصد سفیده (AP)، pH سفیده (PHA)، وزن زرده (YW)، درصد زرده (YP)، نسبت زرده به سفیده (YTA)، ارتفاع زرده (YH)، ضریب زرده (YC)، شاخص زرده (YI)، ماده خشک زرده (YDM) و pH زرده (PHY)

منابع

1. Abbasi, S., M. Abbasi and A. Noshari. 2015. Estimation of heritability and genetic and phenotypic correlation between egg quality and body weight traits in Native Fowls of Fars. *Animal Production*, 17(2), 391-401 doi: 10.22059/jap.2015.54125. (In Persian)
2. Alipanah, M., J. Deljo, M. Rokouie and R. Mohammadnia. 2013. Heritability and genetic and phenotypic correlations of egg quality traits in Iranian Khazak layers. *Trakia Journal of Sciences*, 2:175-180.
3. Dehghanzadeh, H. and S.Z. Mirhoseini. 2004. Study of genetic diversity of native birds Iran using RAPD markers. *Pajouhesh and Sazandegi*, 62: 25-34 (In Persian).
4. Deimi Ghas Abadi, P., S. Alijani, J. Shodja Ghas and N. Pirani. 2013. Comparison of tow restricted maximum likelihood (REML) and Bayesian bayesian statistical methods for estimating genetic parameter of some economically important traits in Fars native chickens. *Research on Animal Production*, 3(5): 1-13 (In Persian).
5. Duman, M., A. Sekeroglu, A. Yildirim, H. Eleroglu and O. Camci. 2016. Relation between egg shape index and egg quality characteristics. *European Poultry Science*, 80: 1-9.
6. Emamgholi Begli, H., S. Zerehdaran, S. Hassani and M.A. Abbasi. 2009. Estimation of genetic parameters of economically important traits in native fowl, Yazd Province. *Iranian Journal of Animal Science*, 40: 63-70.
7. Emamgholi Begli, H., S. Zerehdaran, S. Hassani, A. Khan Ahmadi and M. Abbasi. 2010. Estimation of genetic and phenotypic correlations for performance and egg quality traits in native fowls of Yazd province. *Journal of Animal Science Research*, 20(1): 89 (In Persian).
8. Emamgholi Begli, H., S. Zerehdaran, S. Hassani., M.A. Abbasi and A.K. Khan Ahmadi. 2010. Heritability, genetic and phenotypic correlations of egg quality traits in Iranian Native Fowl. *British Poultry Science*, 51: 740-744.
9. Feddern, V., M.C.D. Prá, R. Mores, R.D.S. Nicoloso, A. Coldebella and P.G.D. Abreu. 2017. Egg quality assessment at different storage conditions, seasons and laying hen strains. *Ciência e Agrotecnologia*, 41(3): 322-333.
10. Frankhan, R. 1994. Conservation of genetic diversity for animal improvement. 5th world congress on Genetic Applied to livestock production. 27:385-392. University of Guelph, Ontario, Canada.
11. Halbersleben, D.L. and F.E. Mussehl. 1922. The relation of egg weight to chick weight at hatching. *Poultry Science*, 1: 143-144.

12. Hani, M.S., R.W. Henry, H.H. Robert and J.W. Charles. 1999. Genetic parameter for egg and related characteristics of white leghorn hens in a subtropical environment. *Genetic and Molecular Biology*, 2:183-186.
13. Hartmann, C., K. Johansson, E. Strandberg and L. Rydhmer. 2003. Genetic correlation between the maternal genetic effect on chick weight and direct genetic effects on egg composition traits in a White Leghorn line. *Poultry Science*, 82: 1-8.
14. Hartmann, C., K. Johansson, E. Strandberg and M. Wilhelmson. 2000. one-generation divergent selection on large and small yolk proportion. *British Poultry Science*, 41: 280-286.
15. Hedaia, M., S. Nadia., A.E. Sayed and R.E. Rizk. 2012. Estimates of genetic parameters for egg production and egg quality in local chicken strains. *Poultry Science*, 32: 399-411.
16. Jafari, F., M.T. Beigi Nasiri and J. Fayazi. 2015. Estimation of genetic parameters of native chicken in Fars province by Bayesian statistical method. *Journal of Animal Production*, 17(2): 171-182.
17. Jasouri, M., S. Alijani., N. Pirani., J. Shodja., M. Pourtahmasebian., H. Daghighkia., A. Yousefi., R. Jafarzadeh and M. Karimi. 2012. Estimation of genetic parameters of some important economical traits in Mazandaranian native chicken. *Animal Science*, 22(4): 163-172.
18. Kheirkhah, Z., S. Hassani, S. Zerehdaran, M. Ahani Azari, M.H. Sekhavati and M. Salehinasab. 2017. Genetic analyses of egg quality in Khorasan Razavi Native native fowl using the Bayesian method. *Poultry Science Journal*, 5(2): 113-121.
19. Khobdel, R. 2012. Estimation of genetic parameters of egg quality and quantity traits of native hens by Bayesian method. M.Sc. thesis, Tabriz University (In Persian).
20. Meyer, K. 2006. WOMBAT-Digging deep for quantitative genetic analyses by restricted maximum likelihood". *Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, New Zealand, Massey University, 14-27 pp.
21. Miyoshi, S. and T. Mitsumoto. 1980. Selection for high and low yolk-albumen ratio in chickens, II. The direct response to selection on the yolk-albumen ratio for seven generations. *The Journal of Poultry Science*, 17(5): 219-227.
22. Mohammadi, A., S. Alijani, S.A. Rafat, A. Taghizadeh and M. Buhloli. 2013. Comparison of fitting performance of polynomial functions in random regression model for test day milk yield in of Iranian Holstein dairy cattle. *Research on Animal Production*, 3 (6): 46-63 (In Persian).
23. Mostageer, A. and A. Beidah. 1978. Genetic and phenotypic parameters of the components parts of egg weight in fayomi and Rhode Island Reds. *Annales de Génétique et de Sélection Animale* 10(2): 251-7. Doi: 10.1186/1297-9686-10-2-251
24. Oliverira, A.L., S.V. Cncado and M.B.A. Gloria. 2009. Bioactive amines and quality of egg from DeKalb hens under different storage conditions. *Poultry Science*, 88: 2428-2434.
25. Pappas, A.C., T. Acamovic, N.H. Spark, P.F. Surai and M. Mcdevitt. 2005. Effect of supplementing broiler breeder diets with selenium and poly unsaturated fatty acids on egg quality during storage. *Poultry Science*, 84: 865-874.
26. Ragni, L., A. Al-Shami, A. Berardinelli, G. Mikhaylenko and J. Tang. 2007. Quality evaluation of shell eggs during storage using a dielectric technique. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 50(4): 1331-1340.
27. Romerol, L.F., M.J. Zuidbof., R.A. Renema., A.N. Naeima and F. Robinson. 2005. Effect of maternal energetic efficiency on egg traits, chick traits, broiler growth, yield, and meat quality. *Poultry Science*, 88: 236-245.
28. Scott, T.A. and F.G. Silversides. 2000. The effect of storage and strain of hen on egg quality. *Poultry Science*, 79: 1725-1729.
29. Selim, K. and S. Ibrahim. 2004. Phenotypic correlations between some external and internal egg quality traits in the Japanese quill. *Poultry Science*, 3(6): 400-405.
30. Shahri, L. 2012. Estimation of genetic parameters of egg quality and quantity traits of Azerbaijan native hens by REML method. M.Sc. thesis, Tabriz University (In Persian).
31. Shahri, L., S. Alijani, H. Jonmohammadi, H. Daghighkia, P. Bostanchi and S. Alizadeh. 2014. Estimation of genetic and phenotypic parameters for internal egg quality traits of Azerbaijan's native chickens. *Journal of Livestock Research*, 3(1): 49-55 doi: 10.22077/jlr.2014.264 (In Persian).
32. Shahri, L., S. Alijani, H. Janmohhamadi and A. Hosseinkhani. 2016. A study on genetic and phenotypic trends for some performance characteristics in Azerbaijan's native chickens. *Journal of Livestock Research*, 4(4): 29-38 doi: 10.22077/jlr.2016.408 (In Persian).
33. Shang, X.G., F.L. Wang, D.J. Yin and Y.J. Li. 2004. Effect of dietary of laying linoleic acid on productivity of laying hens and egg quality during refrigerated storage. *Poultry Science*, i83: 1688-1695.
34. Wilson, H.R. 1991. Interrelationships of egg size, chick size, post hatching growth and hatchability. *World's Poultry Science Journal*, 47: 5-20.
35. Wolc, A., M.S. White, W.G. Hill and V.E. Olori. 2010. Inheritance of hatchability in broiler chicken and its relationship to egg quality trait. *Poultry Science*, 89: 2334-2340.

36. Wu, G., M.M. Bryant, D. Gunawardana and S.R. Roland. 2007. Effect of nutrient density on performance component, egg quality and profits in eight commercial leghorn strains during phase one. *Poultry Science*, 86: 691-697.
37. Yousria, K.M. A.O. Aly and Y.A. Nazla. 2010. Effect of crossing on the performance of local chicken strains. *Poultry Science*, 30: 1171-1188.
38. Zhang, L.C., Z.H. Ning, G.Y. Xu, Z.C. Hou and N. Yang. 2005. Heritability's and genetic and phenotypic correlations of egg quality traits in brown-egg dwarf layers. *Poultry Science*, 84: 1209-1213.

Estimation of Phenotypic and Genetic Parameters of Egg Quality Traits of Azerbaijan Native Hens

Afsaneh Jahedi¹, Jalil Shodja², Sadegh Alijani³ and Majid Olyayee⁴

1- Graduated M.Sc. Student, Department of Animal Science, University of Tabriz

2 and 4- Professor and Assistant Professors, Department of Animal Science, University of Tabriz, respectively

3- Associate Professor, Department of Animal Science, University of Tabriz, respectively,

(Corresponding author: sad-ali@tabrizu.ac.ir)

Received: April 4, 2020

Accepted: June 30, 2020

Abstract

The egg quality is one of the most important economic factors for layers that are crucial for hatchability and marketing. Given the low number of egg quality traits records, one of the approaches in estimating phenotypic and genetic parameters is multi trait analysis. The aim of this study was to estimate the phenotypic and genetic parameters of west Azerbaijan native hens egg quality traits by multi-trait analysis. For this purpose, 2000 eggs of 14th and 15th generation of pedigree hens were purchased from west Azerbaijan native fowl breeding station and for measuring egg quality traits were transferred to laboratory. The genetic and phenotypic parameters of egg quality traits were estimated by multi-trait analysis using SAS and WOMBAT softwares. The generation-hatching time and storage duration in refrigerator had significant effect on egg quality traits. The mean of some egg quality traits were: egg weight 55.306 g±3.94, egg shape index 75.192±2.9, egg shell percentage 9.389 %±0.73, albumin percentage 60.160 %±2.49, yolk percentage 30.466%±2.35, yolk index 35.928±3.13 and yolk pH 6.442±0.13. The highest and the lowest coefficient of variance were calculated in air cell height and albumin pH, as 16.947 % and 1.366 %, respectively. The highest positive phenotypic correlation was observed between egg weight and egg volume (0.644), and the lowest one was observed between pH of albumen and yolk weight (0.004). The highest positive genetic correlation was observed between egg weight and egg shell surface area (0.999), the highest negative genetic correlation was observed between albumen percentage and yolk to albumen ratio (-0.994). The lowest positive genetic correlation was estimated between yolk index and yolk weight (0.002) and the lowest negative genetic correlation was evaluated between yolk index and dry matter of yolk (-0.005). The range of estimated heritability of studied egg quality traits were 0.212 (albumen percentage) and 0.015 (pH of albumen). Generally, the results indicated that the egg quality traits of Azerbaijan indigenous hens have relatively high phenotypic and genetic correlation, which in order to decreasing the cost of data recording, the number of recorded traits could be decreased. The heritabilities of egg quality traits were moderate to low that indicated the low progress with direct selection.

Keywords: Egg Quality Traits, Heritability, Multi-Trait Analysis, Native Hen, Phenotypic Correlation



"مقاله پژوهشی"

ارتباط چندشکلی اگزون یک ژن *Kiss1* با صفت چندقلوزایی در گوسفندان نژاد سنجابی و قزل به روش PCR-SSCP

نعیمه پاک طینت^۱، علی هاشمی^۲، مختار غفاری^۳، حسن خمیس آبادی^۴ و روناک صالحی^۵

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسؤل: a.hashemi50@gmail.com)
۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۴- استادیار پژوهشی بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه
۵- دانشجوی دکتری تخصصی دانشگاه تبریز
تاریخ ارسال: ۹۹/۰۲/۰۱ | تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۴/۱۸
صفحه: ۱۲۶ تا ۱۳۳

چکیده

ژن *Kiss1* از جمله ژن‌های شناخته شده مؤثر بر باروری است که در افزایش تخمک‌گذاری و چندقلوزایی تأثیر دارد. در مطالعه حاضر از تعداد ۱۰۰ راس گوسفند نژاد سنجابی ایستگاه پرورش مهرگان استان کرمانشاه و ۵۰ راس گوسفند نژاد قزل ایستگاه پرورش گوسفند دانشگاه ارومیه خونگیری به عمل آمد. پس از انجام استخراج DNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) جهت تکثیر قطعه ۳۳۱ جفت بازی از اگزون ۱ ژن *Kiss1* با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی انجام گرفت. چندشکلی فضایی تکرار شده‌ای SSCP محصولات PCR با استفاده از ژل پلی‌آکریل‌امید و رنگ‌آمیزی ژل به روش نیترات نقره به دست آمد. نتایج بیانگر وجود الگوهای متفاوت بود که می‌تواند ناشی از وجود چندشکلی در این جایگاه باشد. در نمونه‌های مورد مطالعه ۵ الگوی ژنوتیپی مختلف ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ برای نژاد سنجابی به ترتیب با فراوانی ۰/۲۳، ۰/۰۳، ۰/۱۷ و ۰/۱۱ و دو الگوی ژنوتیپی مختلف ۱ و ۲ برای نژاد قزل به ترتیب با فراوانی ۰/۲۴ و ۰/۷۶ مشاهده شد. آنالیز آماری نشان داد اثر الگوهای متفاوت ژنتیکی بر صفت چندقلوزایی در نژاد سنجابی معنی‌دار ($p < 0/05$) ولی در نژاد قزل معنی‌دار نبود. نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که تنوع موجود در اگزون یک ژن *Kiss1* را می‌توان برای برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگرها در گوسفندان نژاد سنجابی مورد توجه قرار داد.

واژه‌های کلیدی: چندقلوزایی، ژن *Kiss1*، گوسفند، PCR-SSCP

مقدمه

بیشترین تعداد در بین گوسفندان ایران است و این گوسفند نژادی دانه‌دار است که جثه‌ای بزرگ دارد. رنگ صورت قهوه‌ای تا قهوه‌ای کم رنگ بوده و بدن از پشم بلند و نسبتاً سفید و ضخیمی تشکیل شده است. از لحاظ تولید جزء گوسفندان گوشتی و گوشتی-پشمی بوده و دارای تولید شیر مناسبی است. گوسفند قزل تپیی از نژاد افشاری است که محل اصلی پراکنش آن استان‌های آذربایجان شرقی و غربی بوده این گوسفند دارای سری نسبتاً بزرگتر از نژاد اصلی افشاری است و پشم‌های ضخیم‌تر و کم پشت‌تری دارد (۲۴). اگر چه صفت تولیدمثل از جمله صفات کمی و از نظر توارث جزء صفات چندژنی می‌باشد، اما در سال‌های اخیر نشان داده شده که کنترل تولیدمثل در گوسفند توسط ژن‌هایی با اثرات عمده نیز صورت می‌گیرد. از این رو کشف ژن‌هایی با اثرات عمده بر نرخ تخمک‌ریزی و در نتیجه تعداد بره در هر زایش، توجه بسیاری از دانشمندان را به خود جلب کرده است (۸).

کیس پپتین (kisspeptin) محرکی قوی برای آزادسازی هورمون آزادکننده گنادوتروپینها (GnRH) است. نورون‌های کیس پپتین (KP) در کنش‌های بازگشتی استروئیدهای تخمدان نقش دارند (۱۱). این ژن روی کروموزوم شماره ۱۲ گوسفند قرار گرفته و دارای ۳ اگزون است (NCBI). مجموعه کیس پپتین‌ها در ابتدا به‌عنوان ژن‌های سرکوب‌کننده بیماری‌ها از جمله سرطان شناخته شدند (۱۲). ژن *Kiss1*

امروزه اصلاح نژاد در حیوانات مزرعه‌ای به‌منظور بهبود بازده اقتصادی حیوانات با استفاده از نژادهای تجاری موجود انجام می‌شود. در سال‌های اخیر بهبود صفات تولیدمثلی در گوسفند توسط تولیدکنندگان مورد توجه زیادی قرار گرفته است. از جمله این صفات تعداد نتاج در هر زایش است که سودمندی مزارع پرورش گوسفند به‌طور عمده‌ای تحت تأثیر تعداد فرزندان قرار می‌گیرد علاوه بر دامپروران، متخصصین اصلاح نژاد نیز استفاده از حیوانات چندقلوزا را نسبت به حیوانات تک‌قلوزا ترجیح می‌دهند. همچنین امکان تکثیر ژن خارجی هدف در حیوانات تراریخته چندقلوزا نسبت به تک‌قلوزاها زیادتر بوده و به‌همین دلیل استفاده از حیوانات چندقلوزا به‌خصوص دام‌های اهلی مورد توجه متخصصین اصلاح نژاد است (۴). میانگین میزان دوقلوزایی در جمعیت گوسفندان ایران کمتر از ۱۰ درصد می‌باشد (۶). بنابراین یکی از مشکلات موجود در صنعت گوسفندداری ایران پایین‌بودن نرخ بره‌گیری در هر زایش است، که نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. افزایش تعداد بره در هر زایش، با استفاده از روش‌های کلاسیک مانند انتخاب در داخل یک نژاد، پیشرفت کمی دارد، زیرا وراثت‌پذیری این صفت در هر زایش پایین است. گوسفند سنجابی یکی از نژادهای گوسفندان ایرانی می‌باشد و از نژادهای سنگین وزن کشور بوده و جمعیت آن بعد از گوسفند بلوچی دارای

شناسایی و تعیین الگوهای ژنوتیپی و ارتباط آنها با صفت چندقلو زایی بود.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر از تعداد ۱۵۰ رأس از دو نژاد گوسفند شامل ۱۰۰ رأس گوسفند نژاد سنجابی موجود در ایستگاه پرورش مهرگان استان کرمانشاه و ۵۰ رأس گوسفند نژاد قزل موجود در ایستگاه پرورش گوسفند دانشگاه ارومیه به صورت تصادفی و در سنین مختلف، با استفاده از ونوجکت‌های 5ml حاوی ماده ضد انعقاد EDTA از سیاهرگ و داجی خون‌گیری انجام شد. و سپس در مجاورت با یخ از ایستگاه پرورش به آزمایشگاه منتقل گردیدند و تا زمان استخراج DNA در فریزر با دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت شرکت سیناژن ایران (DNNTM Kit) طبق دستورالعمل کیت مذکور انجام شد. جهت ارزیابی DNA استخراج شده از روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز با غلظت ۱ درصد استفاده شد. با توجه به ژن و ناحیه مورد نظر، ابتدا توالی ژن و mRNA آن از ژنوم گوسفندان مختلف در بانک اطلاعاتی مرکز ملی اطلاعات زیست فناوری ایالات متحده (NCBI) با شماره دستیابی HM135393 استخراج شد. آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر قطعه ای به طول ۳۳۱ جفت باز از اگزون شماره یک ژن *Kiss1* گوسفند با استفاده از سایت primer 3plus طراحی شد. که توالی آغازگرهای رفت و برگشت به ترتیب 5'- GTTCCATGCTGTGTCGGTT-3' و 3'- TCCCAACCTTCTCCAGAC-5' بود. واکنش PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر (مسترمیکس ۱۰ میکرولیتر، ۱ میکرولیتر از هر یک از آغازگرها با غلظت ۱۰ پیکومول، یک میکرولیتر DNA با غلظت ۱۰۰-۱۵۰ ng/μl و ۷ میکرولیتر آب مقطر) انجام شد. جهت انجام PCR، یک میکرولیتر از هر نمونه DNA ژنومی داخل میکروتیوب‌های مخصوص PCR ریخته شد. سپس با توجه به تعداد نمونه‌ها اقدام به تهیه مخلوطی از مواد مورد نیاز برای همه نمونه‌ها گردید. جهت بهینه‌سازی واکنش PCR برنامه‌های مختلفی مورد استفاده قرار گرفت ولی نهایت برنامه حرارتی زیر با ۳۵ چرخه، ایده‌آل‌ترین شرایط برای تکثیر ژن *Kiss-1* تشخیص داده شد و اسرشته سازی اولیه DNA به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، و اسرشته سازی DNA به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگر به DNA به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد، بسط DNA به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و بسط نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، محصولات PCR روی ژل آگارز دو درصد حاوی اتیدیوم برآمید با ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۲۰ الی ۳۰ دقیقه الکتروفورز شدند. قطعه تکثیر شده با استفاده از دستگاه ژل داک مشاهده و عکس‌برداری شد. برای تشخیص اندازه قطعات تکثیر شده از نشانگر ۵۰ جفت بازی (سیناژن-ایران) استفاده شد.

پروتئینی ۱۴۵ اسید آمینه‌ای را کد می‌کند که به یک پپتید ۵۴ اسید آمینه‌ای شکسته می‌شود کیس پپتین ۵۴ (*Kiss54*) نیز نامیده می‌شود. از آنجا که ژن *Kiss1* در ابتدا به عنوان ژن‌های سرکوب‌کننده سرطان شناخته می‌شد، آن را متاستین نیز می‌نامند (۱۳). در سال ۲۰۰۳ سه گروه به طور همزمان کشف کردند که *Kiss1* (GPR54) آغازکننده بلوغ جنسی در دو گروه مردان و موش‌ها است. به علاوه *Kisspeptin* یک محرک قوی گنادوتروپین ناشی GnRH است که ممکن است بازخورد استروئیدی مثبت و هم منفی در سطح هیپوتالاموس داشته باشد. مطالعات ژنتیکی در انسان از دست‌دادن عملکرد و جهش‌های عملکردی در بیماران مبتلا به هیپوگنادیسم و بلوغ زودرس را نشان داده است (۱۹). اگرچه رابطه بین متاستاز *Kisspeptin* و نقش عصبی عضلانی آن هنوز مشخص نیست سطوح بالای آن در خون محیطی زنان باردار کشف شده است. به علاوه سطوح بالای *Kiss1R* و *Kisspeptin* در جفت انسان طی سه ماهه اول بارداری مشاهده شده است (۱۲).

به نظر می‌رسد که استروئیدهای جنسی نقش مهمی را در بیان *Kisspeptin* ایجاد می‌کنند. در موش و میمون سطح mRNA *Kiss1* در هیپوتالاموس قبل از بلوغ جنسی پایین است اما در زمان رشد جنسی به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (۹). تزریق *Kisspeptin* به حیوانات سالم، محرک قدرتمند برای ترشح گنادوتروپین و پپتیدهای *Kisspeptin* محرک‌های قوی ترشح گنادوتروپین در چندگونه از پستانداران از جمله جوندگان (۷)، گوسفند (۲۲) میمون (۲۱) و انسان (۳) هستند. بنابراین جهش‌های از دست‌دادن عملکرد *Kiss1* به نظر می‌رسد مقدار GnRH را کاهش دهد بدون اینکه تداخلی با پالس اصلی GnRH داشته باشد (۲۳). امروزه PCR-SSCP به عنوان روشی توانمند و قابل اطمینان جهت آزمایش چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) در تعیین ژنوتیپ به شمار می‌رود. تکنیک SSCP روش مؤثری در شناسایی تنوع توالی تکثیر شده می‌باشد (۱۸). اساس این تکنیک مهاجرت DNA دناتوره شده از میان ژل پلی‌آکریل‌امید غیردناتوره^۳ بر اساس اندازه و توالی آن می‌باشد. بنابراین، وجود حتی یک جهش نقطه‌ای، با تفاوت حرکت در روی ژل قابل مشاهده می‌باشد. با توجه به این که گوسفند نژادهای سنجابی، قزل، از نژادهای مهم غرب کشور می‌باشد، شناسایی چندشکلی‌های موجود در ژن‌های مرتبط با چندقلو زایی می‌تواند در بهبود اصلاح نژاد این نژادها و افزایش چندقلو زایی تأثیر بسزایی داشته باشد، علی‌رغم اینکه سایر ژن‌های موثر بر چندقلو زایی در نژادهای مختلف به وسیله محققین زیادی مورد بحث و بررسی قرار گرفته، اما مطالعات اندکی روی ژن *Kiss1* انجام گرفته است. لذا هدف از انجام پژوهش حاضر، شناسایی چندشکلی ناحیه اگزون ۱ ژن *Kiss1* در گوسفندان نژاد قزل و سنجابی با استفاده از روش چندشکلی فضایی رشته‌های منفرد مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR-SSCP) همچنین

تجزیه آماری مدل مورد استفاده برای بررسی ارتباط الگوهای حاصل از ژن تحت بررسی با صفت مورد نظر در زیر آورده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها برای صفت چندقلوزایی با استفاده از نرم‌افزار SAS ورژن ۹.۲ و رویه GLM و با استفاده از آزمون مقایسه ای دانکن صورت گرفت (۲۰).

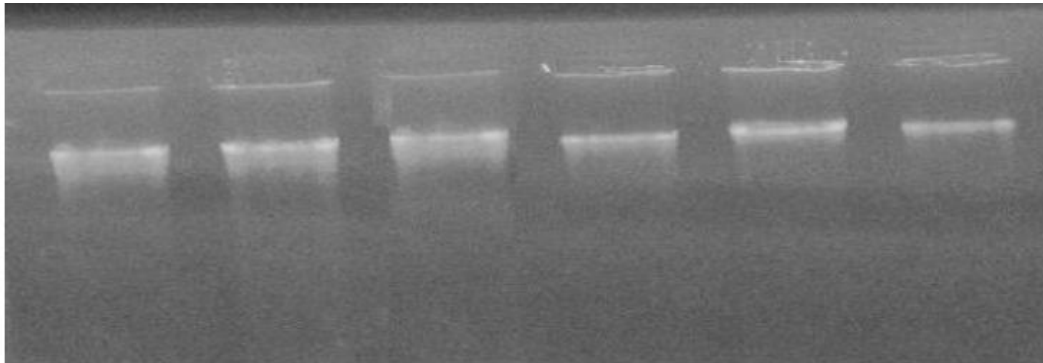
$$Y_{ij} = \mu + G_i + E_{ij}$$

که در رابطه بالا Y_{ij} : مشاهدات مربوط به صفت چند قلوزایی، μ : میانگین صفت در جامعه، G_i اثر آمین الگوی ژنوتیپی در جایگاه ژنی، E_{ij} : اثر باقی‌مانده می‌باشد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از الکتروفورز DNA استخراج‌شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد در شکل ۱ نمایش داده شد.

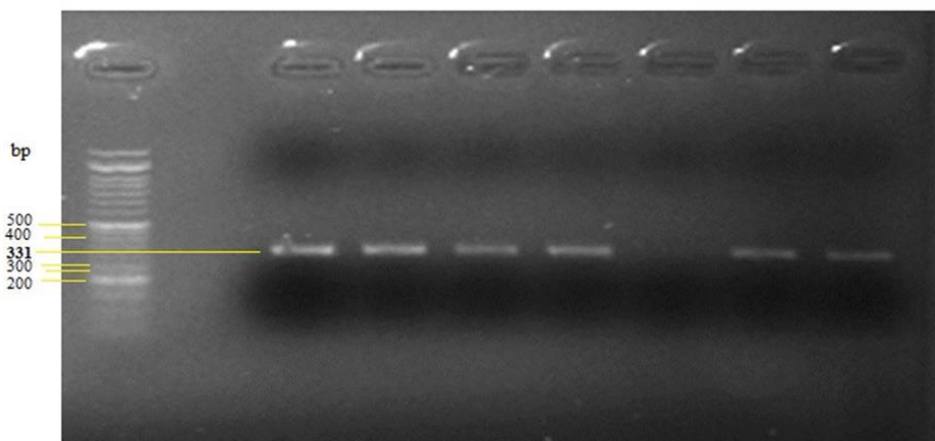
تعیین الگوی ژنوتیپی نمونه‌ها به روش PCR-SSCP با استفاده از دستگاه الکتروفورز عمودی مدل (PRO-21*22CM) (پایا پژوهش پارس) روی ژل پلی‌آکریل‌آمید (۱۰ درصد) و رنگ‌آمیزی با نیترات نقره انجام گرفت. به منظور انجام واکنش SSCP، رشته‌های DNA تکثیرشده، با استفاده از بافر SSCP (شامل برموفنیل بلو ۰/۰۵ درصد، گزیلین سیانول ۰/۰۵ درصد، فرمامید ۹۵ درصد و EDTA ۲۰ میلی‌مولار) به نسبت ۴ به ۱۶ به مدت زمان ۱۲ دقیقه در دمای ۹۷ درجه سلسیوس تک‌رشته‌ای شدند که بلافاصله پس از این مرحله در داخل یخ قرار گرفتند. الکتروفورز محصولات تک‌رشته‌ای شده، روی ژل اکریل‌آمید ۱۰ درصد، با ولتاژ ۲۵۰ به مدت ۲۴ ساعت جهت بررسی چندشکلی انجام شد و رنگ‌آمیزی ژل با استفاده از نیترات نقره طی سه مرحله تثبیت، لکه‌گذاری و ظهور صورت گرفت (۱۰).



شکل ۱- نمونه‌های DNA استخراج‌شده از خون گوسفند روی ژل آگارز ۱ درصد
Figure 1. DNA samples extracted from sheep blood on the 1 percent agarose gel

محصولات تکثیرشده روی ژل آگارز ۱/۵ درصد از جایگاه ژن *Kiss1* نشان داد که قطعه ۳۳۱ جفت بازی در نظر گرفته شده به خوبی و بدون باند غیراختصاصی تکثیر یافته است (شکل ۲).

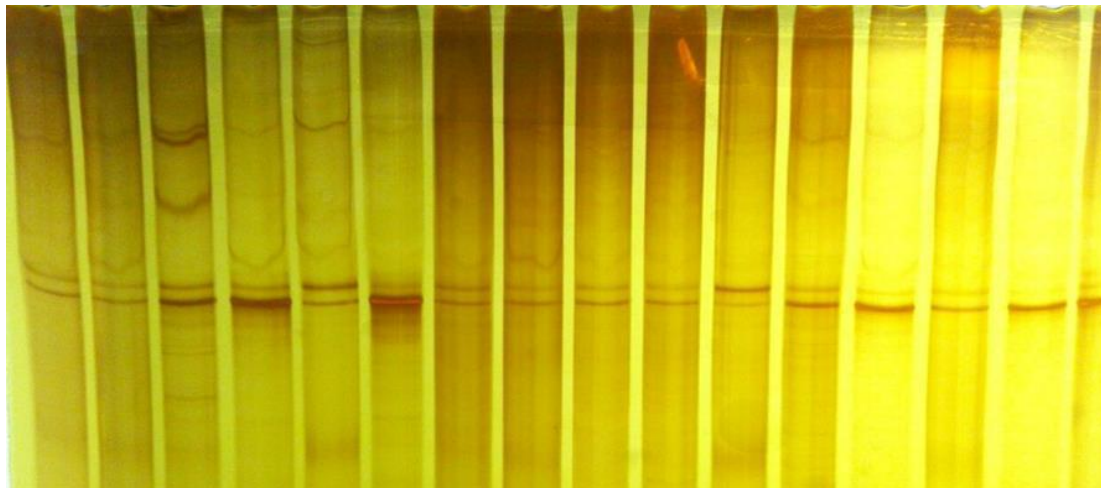
اکثر DNAهای استخراج شده عاری از هرگونه کشیدگی و آلودگی بودند. در نمونه‌های فاقد باند و همچنین نمونه‌های با باند ضعیف مجدداً استخراج DNA صورت گرفت. الکتروفورز



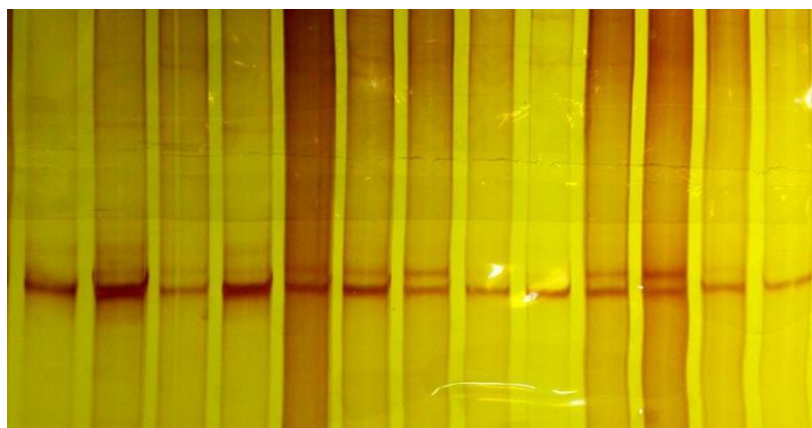
شکل ۲- نمونه ای از محصولات PCR بارگذاری شده بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد
Figure 2 . PCR products were loaded on 1.5 percent agarose gel

متفاوت به ترتیب در نژاد سنجابی و قزل بود که در شکل ۳ و ۴ مشاهده می شود.

در این مطالعه نشانگر مولکولی مورد استفاده ۱۰۰۰ جفت بازی و متعلق به شرکت الیم طب بود. نتایج حاصل از SSCP و رنگ آمیزی پلی اکریل آمید بیانگر ۵ و ۲ الگوی بانندی



شکل ۳- الگوهای SSCP مشاهده شده برای ژن *Kiss1* در گوسفند نژاد سنجابی
Figure 3. SSCP patterns observed for *Kiss1* in sanjabi breed sheep



شکل ۴- الگوهای SSCP مشاهده شده برای ژن *Kiss1* در گوسفند نژاد قزل
Figure 4. SSCP patterns observed for *Kiss1* in Ghezel breed sheep

سنجابی، قزل محاسبه و در جدول ۱ نشان داده شد (جدول ۱).

بنابراین الگوهای ژنوتیپی متفاوت نشان دهنده وجود چندشکلی بالا در قطعه تکثیر شده آگزون ۱ ژن *Kiss1* می باشد که فراوانی مربوط به الگوهای ژنوتیپی برای جمعیت

جدول ۱- فراوانی های ژنوتیپی مشاهده شده در گوسفندان نژاد سنجابی و قزل

فراوانی	الگوهای بانندی	نژاد
۰/۴۶	۱	سنجابی
۰/۲۳	۲	
۰/۰۳	۳	
۰/۱۷	۴	
۰/۱۱	۵	
۰/۲۴	۱	قزل
۰/۷۶	۲	

است. الگوهای ژنوتیپی متفاوت بین افراد درون این نژادها، ناشی از جهش های تک نوکلئوتیدی بین افراد می باشد. در مطالعات گذشته هم تعداد قابل توجهی چندشکلی در این

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می شود الگوی ۱ با فراوانی ۰/۴۶ درصد بیشترین فراوانی را در نژاد سنجابی و الگوی ۲ با فراوانی ۰/۷۶ در نژاد قزل به خود اختصاص داده

ژن توسط محققان مختلف گزارش شده است. با مشخص کردن الگوهای ژنوتیپی و همچنین تهیه رکوردهای ثبت شده صفت دوقلوزایی برای گوسفندان نژاد قزل و سنجابی، ارتباط الگوهای ژنوتیپی با صفت مذکور مورد بررسی قرار گرفت. نتایج صفت مورد بررسی در جدول ۲ و ۳ مشاهده می شود.

جدول ۲ - نتایج تجزیه واریانس اثر ژنوتیپ بر روی صفت دوقلوزایی در گوسفندان نژاد قزل برای ژن *Kiss1*

Table 2. Results of variance analysis of genotype effect on twin traits in Ghezel sheep for *Kiss1* gene

منابع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P value
ژنوتیپ	۱	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۱۶	۰/۶۹۵
خطا	۲۱	۴/۸۳۳	۰/۲۳۰		
کل	۲۲	۰/۸۷۰			

جدول ۳ - نتایج تجزیه واریانس اثر ژنوتیپ بر روی صفت دو قلوزایی در گوسفندان نژاد سنجابی برای ژن *Kiss1*

Table 3. Results of variance analysis of genotype effect on twin traits in Sanjabi sheep for *Kiss1* gene

منابع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P value
ژنوتیپ	۴	۲/۳۲	۰/۵۸	۲/۵۲	۰/۰۲۲
خطا	۴۸	۱۱/۵۵	۰/۲۳۰		
کل	۵۲	۱۲/۸۷			

تعداد بره در هر زایش با تکنیک SSCP انجام شد چندشکلی در اگزون یک ژن *Kiss1* در نژاد شمال تیل با ژنوتیپهای (AB, AA, BB) و نژاد هو (AA و CC) که از نژادهایی با میزان باروری بالا هستند مشاهده گردید. تاکنون چندشکلی این ژن در ایران تنها در گوسفندان نژادهای مهربان، شال و دورگه‌های آنها با نژاد رومانف توسط رجبی و همکاران (۱۹) بررسی گردیده که ۱۵ الگوی متفاوت برای این نژادها گزارش کرده‌اند که با نتایج تحقیق ما مطابقت داشت. در تحقیق دیگر توسط مایترا و همکاران (۱۵) روی چندشکلی ژن *Kiss1* در ۹ نژاد بز بومی هندی که در صفات بلوغ جنسی و باروری متفاوت بودند، که در اینترون یک و دو این ژن چند شکلی گزارش شد که با صفت دوقلوزایی ارتباط معنی‌داری مشاهده گردید. در تحقیقی دیگر برای بررسی تنوع ژن *Kiss-1* در دو نژاد از بزهای ایتوپی پرورش یافته در دو شرایط آب و هوایی و مدیریتی مختلف، با تکثیر دو قطعه ۱۲۱۰ و ۳۲۵ جفت بازی اگزون یک و دو ژن مذکور، ۲۰ تا از جایگاه SNP گزارش کردند که چندشکلی چهار مورد از آنها با صفت چندقلوزایی ارتباط داشته است (۱۶). در مطالعه‌ای دیگر برای تعیین چندشکلی ژن *Kiss1* در سه نژاد بز مصری با روش PCR-RFLP و توالی‌یابی یک قطعه ۳۷۷ بازی یک جهش SNP در هر سه نژاد شناسایی شد که ارتباط چندشکلی جهش فوق با صفت چندقلوزایی در دو نژاد از بزها معنی‌دار گزارش شد (۵). با توجه به ارزش بسیار بالای نژادهای بومی و پایداری نژاد ایرانی باید در حفظ این نژاد به‌عنوان یکی از ذخایر ژنتیکی ارزشمند که در بین میلیون‌ها سال با شرایط اکولوژیکی کشور سازش یافته تلاش شود و ضمن حفظ خصوصیات مطلوب آن برای تثبیت و بهبود صفات زایشی، طرح‌های اصلاح نژادی به اجرا درآید. با در نظر گرفتن نتایج مهمی گزارش‌های ذکر شده و نتایج این بررسی ژن *Kiss-1* را به‌عنوان ژن کاندیدای مرتبط با چندقلوزایی می‌توان معرفی کرد. لذا با در نظر گرفتن تاثیر افزایش تعداد بره متولد شده و میزان بره‌زایی بر میزان گوشت تولیدی به ازای هر رأس میش در هر سال، کاهش تعداد میش‌های مولد روی مراتع و

نتایج تجزیه و تحلیل (GLM) برای صفت دوقلوزایی در نژاد قزل و سنجابی که در جدول ۲ و ۳ ارائه شده است نشان می‌دهد که این مدل آماری برای صفت دو قلوزایی در سطح $(p < 0.05)$ در نژاد سنجابی و قزل به ترتیب معنی‌دار و غیرمعنی‌دار شده است.

پژوهشگران گزارش کرده اند که ژن *Kiss1* از ژن‌های موثر بر باروری در بز می‌باشد (۱۵). همچنین احمدی و همکاران (۱) چندشکلی ژن *Kiss1* و ارتباط آن با تعداد بره به ازای هر زایش در گوسفند نژاد مهربان را بررسی کردند نتایج مطالعه این محققین نشان‌دهنده چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی با چهار الگوی متفاوت SSCP در اگزون یک بود. برای اینترون یک تمامی نمونه‌ها دارای الگوی باندی مشابه بودند و هیچ گونه چندشکلی شناسایی نشد. مقایسه فراوانی‌های مشاهده شده با مورد انتظار با کمک آزمون کای اسکور نشان داد که فراوانی ژنوتیپ‌ها در اگزون یک به‌طور معنی‌داری متفاوت و در تعادل هاردی واینبرگ نبودند $(p < 0.001)$. در بررسی پیوستگی بین ژنوتیپ‌های شناسایی شده با صفت تعداد بره به ازای هر زایش، ارتباط معنی‌داری مشاهده شد $(p < 0.05)$. که از لحاظ چندشکلی با نتایج تحقیق حاضر و همچنین معنی‌دار بودن نتایج آنالیز بر روی چندقلوزایی در نژاد سنجابی مطابقت داشت. در مطالعه‌ای دیگر توسط چو و همکاران (۲) که در گوسفندان نژادهای شمال تیل هان، تکسل، دوردست و کوریدال انجام شده است، قطعه ۱۰۶ جفت بازی از اگزون یک این ژن با استفاده از تکنیک PCR-SSCP مورد مطالعه قرار گرفت که شواهد نشان‌دهنده چندشکلی در این جایگاه بود. در تحقیق دیگر توسط لوریدینا و همکاران (۱۴) در میش‌های نژاد سارادا ایتالیا یک جهش در جایگاه ۱۰۳۵ یافت شده است، و هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی‌های مشاهده با صفت چندقلوزایی مشاهده نگردید. که یکی از دلایل این امر فراوانی کم آلل A جهش یافته و تعداد کم گوسفندان مشاهده شده با ژنوتیپ AA دانسته‌اند. در مطالعه‌ای که توسط مینگ زین و همکاران (۱۷) در گوسفند روی ژن *Kiss1* و ارتباط آن با

داد. نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر نشان داد که تنوع موجود در اگزون ۱ ژن *Kiss1* را می‌توان برای برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگرها در گوسفندان نژاد سنجابی مورد توجه قرار داد. بنابراین لازم است که بخش‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر و بقیه قسمت‌های ژن *Kiss1*، در مطالعات آینده با تعداد افراد بیشتری و در نژادهای مختلف گوسفند مورد بررسی قرار گیرد.

جلوگیری از تخریب مراتع به‌نظر می‌رسد که مطالعه برای پیدا کردن جهش در سایر ژن‌های با اثر عمده بر چندقلوزایی در نژاد سنجابی و قزل و سایر نژادهای کشور لازم باشد. از طرفی می‌توان با کشف و وارد کردن این ژن‌ها و برنامه‌ریزی برای تکثیر و تثبیت جهش‌های اتفاق‌افتاده مرتبط با ژن‌های باروری کمک قابل توجهی به افزایش تولید و درآمد دامداران کشور انجام داد. تحقیق حاضر وجود چندشکلی ژنتیکی برای ژن *Kiss1* را در گوسفندان نژاد سنجابی و قزل به‌خوبی نشان

منابع

- Ahmadi, A., Zh. Rajabi, P. Zamani and A.A. Bahari. 2018. Polymorphism of *KiSS-1* gene and its association with litter size in Mehraban sheep. *Animal Product Research*, 3: 25-34.
- Chu, M., C. Xiao, T. Feng, Y. Fu, G. Cao, L. Fang, D. Ran, Q. Tang, D. Huang, Y. Ma, K. Li and N. Li. 2012. Polymorphisms of *KiSS-1* and *GPR54* genes and their relationships with litter size in sheep. *Molecular Biology Reports*, 39: 3291-3297.
- Dhillon, W.S., O.B. Chaudhri, M. Patterson, E.L. Thompson and K.G. Murphy. 2005. Kisspeptin-54 stimulates the hypothalamic-pituitary gonadal axis in human males. *Journal of Clin Endocrinol Metab*, 90: 6609-6615.
- Eghbalsaiied, S., K. Ghaedi, M. Forouzanfar, M. H.ajian, S.M. Hosseini and M.H. Nasr-e-Esfahan. 2009. Science and technology of farm animal Transgenesis. *Yakhteh Medical Journal*, 11(2): 78-87 (In Persian).
- El-Tarabany, M.S., A.Z. Zagloul, A.A. El-Tarabany and A. Awad. 2017. Association analysis of polymorphism in *KiSS1* gene with reproductive traits in goats. *Animal Reproduction Science*, 180: 92-99.
- Farajzadeh, M., Q. Rahimi, H. Sayyahzadeh, A. Dehnad, G.H. Eliasi and A. Javanmard. 2005. Multimodal study of *Candida* gene for twinning (*GDF9*) in Mazandaran sheep population using PCR-RFLP technique. Fourth National Conference on Biotechnology of the Islamic Republic of Iran, Kerman, (In Persian).
- Gottch, M.L., M.J. Cunningham, J.T. Smith, M.S. Popa, B.V. Acohidio, W.F. Crowley, S. Seminara, D.K. Clifton and R.A. Stoiner. 2004. A role for Kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology*, 145(9): 4073-4077.
- Hanrahan, J.P., S.M. Gregan, P. Mulsant, M. Mullen, G.H. Davis, R. Powell and S.M. Galloway. 2004. Mutations in the genes for oocytes-derived growth factors *GDF9* and *BMP15* are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*). *Biology of Reproduction*, 70: 900-909.
- Han, S.K., M.G. Todman and A.E. Herbison. 2004. Endogenous GABA release inhibits the firing of adult gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology*, 145: 495-499.
- Herring, A.J., N.F. Inglis, C. Ojeh, D.R. Snodgrass and J.D. Menzies. 1982. Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. *Journal of Clinical Microbiology*, 16: 473-477.
- Jafarzadeh Shirazi, M.R. 2008. Role of Kisspeptin in the processes of reproduction of ewes. PhD thesis. Ministry of Science, Research and Technology, University of Tehran.
- Lee, J.H., M.E. Miele, D.J. Hicks, K.K. Phillips, J.M. Trent, B.E. Weissman and D.R. Welch. 1996. *KiSS-1*, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *Journal of the National Cancer Institute*, 88: 1731-1737.
- Luan, X., Y. Zhou, W. Wang, H. Yu, P. Li, X. Gan, D. Wei and J. Xiao. 2007. Association study of the polymorphisms in the *KISS1* gene with central precocious puberty in Chinese girls. *Endocrinology*, 157: 113-118.
- Luridiana, S., M.C. Mura, C. Daga, G. Cosso, S. Bodano, F. Farci and V. Carcangiu. 2014. Influences of melatonin treatment, melatonin receptor 1A (*MTNR1A*) and kisspeptin (*KiSS-1*) gene polymorphisms on first conception in Sarda ewe lambs. *Reproduction, Fertility and Development*, 47: 154-187.
- Maitra, A., R. Sharma, S. Ahlawat, M.S. Tantiya, M. Roy and V. Prakash. 2014. Association analysis of polymorphisms in caprine *KiSS1* gene with reproductive traits. *Animal Reproduction Science*, 151: 71-77.
- Mekuriaw, G., J.M. Mwacharo, D. Dessie, O. Mwai, A. Djikeng, S. Osama, G. Gebreyesus, A. Kidane, S. Abegaz and T. Tesfaye. 2017. Polymorphism analysis of kisspeptin (*KISS1*) gene and its association with litter size in Ethiopian indigenous goat populations. *African Journal of Biotechnology*, 16(22): 1254-1264.
- Mingxing, C., X. Chaoting, T. Feng and Y. Fu. 2012. Polymorphisms of *KISS1* and *GPR54* genes and their relationships with litter size in sheep. *Springer Science*, 39(3): 3291-7.

18. Orita, M., Y. Suzuki, Sekiya and K. Hayashi. 1989. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. *Genomics*, 5: 874-879.
19. Rajabi, J., A. Ahmadi, P. Zamani, A. Asghar Bahari, P. Mahmoudi Koochi and R. Abdeli. 2015. Analysis of Polymorphism *Kiss1* gene exon 1 in Mehraban sheep and shal and their hybrids with Romanof breed by PCR-SSCP method. The second national conference of livestock and poultry in the country (In Persian).
20. SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT User's Guide. Version 9.1. Cary, NC: SAS Institute Inc.
21. Seminara, S.B., S. Messenger, E.E. Chatzidaki, R.R. Thresher and J.S. Acierno. 2003. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *The New England Journal of Medicine*, 349: 1614-1627.
22. Shahab, M., C. Mastronardi, S.B. Seminara, W.F. Crowley and S.R. Ojeda. 2005. Increased hypothalamic GPR54 signaling a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 102: 2129-2134.
23. Smith, J.T., M.J. Cunningham, E.F. Rissman, D.K. Clifton and R.A. Steiner. 2005. Regulation of *Kiss1* gene expression in the brain of the female mouse. *Endocrinology*, 146: 3686-3692.
24. Saadat Nouri, M. and S. Siah Mansour. 1996. Principles of sheep keeping and breeding. Ashrafi Publications of Tehran (In Persian).

Association of the Polymorphism *Kiss1* Gene Exon 1 with Twin Traits in Sanjabi, Ghezel Breed Sheep by PCR–SSCP Technique

Naeimeh Pak Tinat¹, Ali Hashemi², Mokhtar Ghaffari³, Hossein Khameis Abadi⁴ and Ronak Salehi⁵

1- M.Sc. Student Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University

2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University
(Corresponding author: a.hashemi50@gmail.com)

3- Assistant Professor Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University

4- Assistant Professor, Animal Science Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center

5- Ph.D. Student of Tabriz University

Received: May 21, 2020

Accepted: July 8, 2020

Abstract

The *Kiss1* gene is one of the known affective gene in fertility, which affects ovulation and multiplication. In this study, Blood samples were collected from 100 sheep of Sanjabi in Mehregan breeding station in Kermanshah province and 50 sheep Ghezel breeding station of Urmia University. After DNA extraction, the polymerase chain reaction (PCR) was used for specific primers amplification of 331 bp fragment of Exon1 *Kiss1* gene. Then single strand conformation polymorphism (SSCP) of PCR products was performed and genotypic patterns were obtained using acrylamid gel and the gel stain was obtained by silver nitrate method. The results showed different patterns that could be due to the presence of polymorphism in this position. Three different genotype patterns in samples 1, 2, 3, 4 and 5 for Sanjabi breed 46% ,23% ,3%, 17% and 11% respectively and two different genotype pattern The frequency were 1and 2 for Ghezel breed 0.24% and 0.76%. The association of observed patterns on the multiplicity trait was significant in Sanjabi breed ($P < 0.05$). But this relationship was not in was significant in Ghezel breeds. The results of this study showed that the variation in exon one of the *Kiss1* gene can be considered in marker assistance selection programs in sanjabi sheep breed.

Keywords: *Kiss1* gene, PCR-SSCP, Sheep, Twin traits



"مقاله پژوهشی"

مدل‌سازی معادلات ساختاری سازه‌های ژنتیکی پنهان تولیدی،
تولید مثلی و ماندگاری در گاوهای هلشتاین ایرانمصطفی قادری زفره‌ای^۱، فرشاد گراوند^۲، آزاده ترابی^۳ و سیدصمد بهشتی^۴

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران، (نویسنده مسوول: mgghaderi@yu.ac.ir)

۲- دانشجوی ژنتیک و اصلاح نژاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، ایران

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

۴- استادیار، گروه علوم اجتماعی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۳/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۱۳

صفحه: ۱۳۴ تا ۱۵۰

چکیده

در مدل‌سازی معادلات ساختاری، امکان ایجاد متغیرهای پنهان وجود دارد و این متغیرها به طور مستقیم توسط پژوهشگر قابل اندازه‌گیری نیستند. هدف از این پژوهش مدل‌سازی معادلات ساختاری سازه‌های ژنتیکی پنهان تولیدی، تولید مثلی و ماندگاری گاوهای شیری هلشتاین ایران با استفاده از ارزش ارثی صفات تشکیل‌دهنده این سازه‌ها بود. بر این اساس، ارزش ارثی صفات سن اولین زایش، فاصله زایش و روزهای باز تشکیل‌دهنده سازه ژنتیکی پنهان تولید شیر، چربی و پروتئین تصحیح شده تشکیل‌دهنده سازه ژنتیکی پنهان تولیدی و صفات طول عمر در گله و طول عمر تولیدی، تشکیل‌دهنده سازه ژنتیکی پنهان ماندگاری بودند. برآورد مدل حیوانی تک صفتی و چند صفتی مؤلفه‌های واریانس ژنتیکی، ارزش‌های ارثی هر یک از صفات ذکر شده در بالا با استفاده از روش بیزی و با نرم‌افزار GIBBS3F90 انجام شد. برای این منظور تعداد ۵۰۰۰۰۰ دور به اجراء آمد که ۵۰۰۰۰ نمونه ابتدایی به‌عنوان دوره‌های سوخته از تجزیه و تحلیل حذف شد. در ادامه با استفاده از روش واریانس محور و با استفاده از نرم‌افزار SMARTPLS، مدل مفهومی از مدل‌سازی معادلات ساختاری (SEM) با استفاده از ارزش ارثی صفات یاد شده ایجاد شد. با استفاده از مدل تک صفتی وراثت‌پذیری صفات تولید شیر، تولید چربی، تولید پروتئین، سن نخستین زایش، فاصله زایش، روزهای باز، طول عمر در گله و طول عمر تولیدی به ترتیب ۰/۳۶، ۰/۵۵، ۰/۵۶، ۰/۲۵، ۰/۲۴، ۰/۰۷، ۰/۰۷ و ۰/۱۱ و با استفاده از مدل چند صفتی این مقادیر به ترتیب ۰/۲۱، ۰/۵۲، ۰/۴۲، ۰/۴۸، ۰/۳۸، ۰/۰۸، ۰/۷۴، ۰/۵۱ و ۰/۹۸ (طول عمر در گله - طول عمر تولیدی) متغیر بود. شاخص ریشه میانگین پسماند (RMSR) حاکی از برازش مدل‌های مختلف SEM روی ارزش‌های ارثی صفات تشکیل‌دهنده سازه‌های مختلف نشان داد که وقتی سازه پنهان تولید مثلی روی سازه پنهان ماندگاری و تولیدی اثر علی داشته باشد و هم زمان سازه ماندگاری روی سازه تولیدی اثر علی داشته باشد، بهترین برازش مدل SEM روی داده حاصل می‌شود. چنین نگاه مدل‌سازی در علوم دامی برای اولین بار در این پژوهش استفاده شده است. بنابراین تطبیق مفروض‌های مدل‌سازی SEM با واقعیت‌های موجود در داده‌های علوم دامی، می‌تواند یک حوزه جدید برای متخصصان اصلاح نژاد و بالخصوص مدیران واحدهای تولیدی به‌شمار آید، چرا که پژوهش‌گران علوم اصلاح نژادی، سوال‌ها و فرضیه‌های زیادی را می‌توانند در غالب ایجاد سازه‌های مختلف و مناسب ایجاد نمایند و با توجه به رابطه علی و معلولی معنی‌دار استخراج شده بین سازه‌ها، مدیریت بهتری را برای واحد پرورش پایه ریزی نمایند.

واژه‌های کلیدی: روش بیزی، سازه پنهان، گاو هلشتاین، مدل‌سازی معادلات ساختاری (SEM)

مقدمه

می‌شوند را می‌توان در سه دسته عمده سازه پنهان تولیدی^۱، تولید مثلی^۲ و ماندگاری^۳ دسته‌بندی کرد^۴. از جمله صفات تولیدی در گاوهای شیری می‌توان به مقدار شیر، درصد چربی و پروتئین اشاره نمود که جزء صفات کمی بوده و تعداد زیادی ژن در کنترل آنها دخیل هستند (۲۱) و معمولاً صفات تولیدی به‌عنوان اولین معیار انتخاب و اصلاح نژاد در نظر گرفته می‌شوند (۱۱)، همچنین صفات تولید مثلی نقش مهمی در سودآوری واحدهای صنعتی پرورشی دارند و از آن‌جا که ایجاد تمامی صفات تولیدی در گله به برقراری موفقیت‌آمیز زایش گاوها در گله بستگی دارد، تمامی توجه در صنعت پرورش گاو شیری به برقراری زایش به ازای هر گاو در یک سال می‌باشد. برای این منظور معمولاً کارایی تولید مثلی در گاوهای شیری مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. کارایی تولید مثل یک گاو از طریق اندازه‌گیری صفاتی هم چون سن اولین زایش، طول دوره آبستنی، روزهای باز، تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی و فاصله

طبق آخرین آمار رسمی وزارت جهاد کشاورزی، تعداد ۱۸۸۳۰ واحد صنعتی گاو داری با ظرفیت ۲۰۴۸۵۶۳ راس گاو شیرده در کشور مشغول فعالیت هستند. طی سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۷ تولید شیر دارای یک روند رو به رشد بوده است (۳۲). با وجود روند افزایشی تولید شیر در کشور اما هنوز سرانه مصرف شیر از حد استاندارد جهانی پایین تر است. سرانه صرف شیر در کشور برای هرنفر برابر با ۹۵ کیلوگرم می‌باشد، در حالی که سرانه مصرف شیر در جهان برابر با ۱۶۹ کیلوگرم و در اروپا برابر با ۳۵۰ کیلوگرم در سال است (۳۲). با توجه به نتایج پژوهش‌های مختلف انجام شده بر روی گاوهای هلشتاین ایران (۳۴، ۳۲، ۴) و آمار و اطلاعات موجود می‌توان دریافت که این دام‌ها باید از جنبه‌های گوناگون مورد مطالعه قرار گیرند. به‌علاوه، صفاتی که در گاوداری‌های صنعتی گاو شیری در سراسر دنیا رکوردگیری

1- Hidden Productive Construct

2- Hidden Reproductive Construct

3- Hidden Longivity Construct

۴- لازم به ذکر است در سرتاسر این مقاله از واژه "سازه (Construct)" برای نامیدن صفات تولیدی، تولید مثلی و ماندگاری، که خود شامل تعدادی صفات دیگر هستند در متن مقاله آمده است، استفاده می‌شود. واژه "سازه" در واژه شناسی مدل‌سازی معادلات ساختاری (SEM) به صورت متغیر پنهان ظاهر می‌شود و قدرت زیادی برای اندازه‌گیری آن دسته از متغیرهایی که به راحتی قابل اندازه‌گیری نیستند را به پژوهشگر می‌دهد. درک این نکته می‌تواند به خواننده کمک کند که مقاله را به آسانی دنبال کند.

نظر می‌رسد. برای اولین بار استفاده از SEM در پژوهش‌های ژنتیک کمی و شناسایی ساختار علی میان صفات توسط جیانولا و سورنسون در سال ۲۰۰۴ پیشنهاد شد، که در این روش ساختار شناسایی شده بر اساس شاخص‌های آماری باید دارای توجیه زیستی باشد. استفاده از SEM برای اولین بار در ایران جهت ارزیابی ژنتیکی گاوهای هلشتاین ایران توسط ستایی مختاری استفاده شد (۷،۱۳). اما از متغیر پنهان برای مدل‌سازی SEM استفاده نشد و هیچ‌گونه متغیر پنهانی روی داده‌های گاو شیری در ایران صورت نگرفته است. این پژوهش برای نخستین بار سازه پنهان ژنتیکی را با استفاده از داده‌های گاو شیری ایجاد کرد و در اصلاح نژاد و مدیریت واحدهای پرورش گاو شیری بررسی نمود. برای این منظور از ارزش‌های ارثی صفات تولید شیر، چربی و پروتئین برای ایجاد سازه پنهان ژنتیکی تولیدی و از ارزش‌های ارثی صفات سن نخستین زایش، فاصله زایش و روزهای باز در گاوهای شیری برای ایجاد سازه پنهان ژنتیکی صفات تولیدمثلی و در نهایت از ارزش ارثی صفات طول عمر در گله و طول عمر تولیدی برای ایجاد سازه پنهان ژنتیکی استفاده شد. پس از ارزیابی‌های ژنتیکی، SEM بر روی ارزش‌های اصلاحی انجام شد. اهداف این پژوهش شامل برآورد مؤلفه‌های واریانس و فراسنجه‌های ژنتیکی سازه تولیدی (تولید شیر، درصد چربی و درصد پروتئین) و سازه تولید مثلی (سن اولین زایش، فاصله گوساله‌زایی و روزهای باز) و سازه ماندگاری (طول عمر تولید و طول عمر در گله)، برآورد همبستگی ژنتیکی بین صفات نامبرده، استخراج سازه ژنتیکی پنهان برای سازه تولیدی، تولید مثلی و ماندگاری، مدل‌سازی و استخراج روابط علی بین سازه‌های ژنتیکی پنهان و ارائه رویکردی جدید و عملی جهت ارزیابی مدیریت ژنتیکی مجموعه سازه‌های تولیدی، تولید مثلی و ماندگاری بود.

مواد و روش‌ها داده‌های مورد استفاده

رکورد‌های مورد استفاده در این پژوهش از گاوداری صنعتی گاوهای هلشتاین شرکت فکا واقع در شهر اصفهان بدست آمد. برای هر گاو داده‌های شناسنامه‌ای (نظیر تاریخ تولد، شماره پدر، تاریخ اولین زایش)، رکورد‌های تولیدی (روز تولید و تولید تجمعی مثل تولید شیر تصحیح شده، تولید پروتئین تصحیح شده، تولید چربی شیر تصحیح شده)، رکورد‌های تولید مثلی (نظیر سال زایش، فصل زایش نوع زایش، جنس گوساله متولدشده، سن اولین زایش، فاصله دو زایش، روزهای باز، تاریخ خشک‌کردن، تعداد تلقیح به ازای هر گاو، تاریخ تلقیح) و رکورد‌های حذف-چه اختیاری چه غیراختیاری- از گله در دسترس بودند. در جدول ۱ ساختار شجره گاوهای هلشتاین گاوداری صنعتی شرکت فکا ارائه شده است. شجره بعد از مرتب‌سازی در نرم‌افزار FoxPro نسخه ۹ با استفاده از نرم‌افزار CFC استخراج و شماره‌گذاری شد (۳۹).

دو زایش ارزیابی می‌شود. سازه ماندگاری یک معیار عمومی برای بررسی میزان ماندگاری یک گاو در یک گله را ارائه می‌دهد. صفاتی مثل طول عمر تولیدی و طول عمر در گله در این حوزه معمولاً طبقه بندی می‌شوند. تمامی این سه سازه می‌توانند به طور مستقیم و غیر مستقیم در انتخاب گاوهای برتر و کمک به افزایش ماندگاری این افراد و تداوم دوره تولید و زایش در گله کمک شایانی کنند. در پرورش گاو شیری، سودآوری ممکن است به‌طور مستقیم از طریق صفات تولیدی مانند شیر و یا به طور غیرمستقیم از طریق صفات غیر تولیدی یا عملکردی نظیر باروری، سلامت، ماندگاری و غیره اصل شود (۱۷). از آنجایی که بهبود ژنتیکی گله بستگی به وجود تلیسه کافی و مناسب جهت جایگزینی دام‌های مسن دارد، عملکرد مناسب تولید مثل دام‌ها حائز اهمیت است. (۶). تعداد روزهای از تولد تا روز اولین زایش را سن اولین زایش گویند که معمولاً متوسط سن اولین زایش حدود ۲۴ ماهگی می‌باشد (۲۵،۱۰). برنامه‌های انتخاب ژنتیکی در سال‌های اخیر منجر به پیشرفت قابل‌توجهی در تولید شیر شده‌اند و در مقابل باعث کاهش باروری، ماندگاری و همچنین کاهش مقاومت به بیماری شده‌اند (۴۴،۴۵). مؤثرترین راه برای کاهش و یا متوقف کردن روند نزولی راندمان تولید مثلی، استفاده از شاخص انتخاب چندصفتی است که در آن پیشرفت ژنتیکی چند صفت به طور هم‌زمان صورت می‌گیرد. از طرفی دیگر مدل‌های متکی به سازه یا متغیر پنهان^۱ در این حوزه تا کنون توسعه داده نشده است (۲۹). در حال حاضر اکثراً از مدل‌های چند صفتی برای ارزیابی ژنتیکی صفات تولیدی، تولید مثلی و ماندگاری در گله‌های گاو شیری استفاده شده است. اما به طور تجربی نشان داده شده است که بین برخی صفات تولیدی، تولید مثلی و ماندگاری روابط علی وجود داشته و در نظر نگرفتن این روابط مدیریت این صفات را مشکل می‌کند. یکی از روش‌های آماری پذیرفته شده برای محاسبه رابطه علی و معلولی بین متغیرها (عمدتاً پنهان)، مدل‌سازی معادلات ساختاری یا به طور اختصار SEM^۲ است.

کاربرد اصلی SEM در موضوعات چند متغیره‌ای است که نمی‌توان آن‌ها را به شیوه دو متغیری با در نظر گرفتن هر بار یک متغیر مستقل و یک متغیر وابسته انجام داد. از جمله مزایای که SEM در اختیار پژوهش‌گر قرار می‌دهد، می‌توان به توانایی در ایجاد و مدل‌سازی متغیر پنهان و نیز در نظر گرفتن خطاهای اندازه‌گیری متغیرها در محاسبات اشاره کرد. این پژوهش برای اولین بار مبادرت به مدل‌سازی معادلات ساختاری برای صفات نامبرده نموده است. مدل‌های معادلات ساختاری از دو قسمت «مدل اندازه‌گیری» و «مدل ساختاری» تشکیل می‌شوند. مدل‌های معادلات ساختاری با ادغام دو مدل تحلیل عوامل تأییدی و تحلیل توابع ساختاری، بسیاری از مسائل و مشکلات اندازه‌گیری متغیرهای نهفته و استنباط روابط علی و معلولی بین این متغیرهای نهفته را آسان می‌سازد (۲۸). امروزه با افزایش تعداد رکورد‌های اندازه‌گیری شده در صنعت اصلاح نژادی جهان و متغیرهای فراوان، استفاده از روش‌های غیر مرسوم اصلاح نژاد معقول به

جدول ۱ - ساختار شجره گله گاوهای هلشتاین در گاوداری صنعتی فکا

Table 1. Pedigree structure of herd of Holstein cattle in Foka Industrial Livestock			
۱۳۱۲	ماده‌های بنیان گذار	۱۲۴۹۱	تعداد افراد
۱۷۵۸	نتاج ماده‌های بنیان‌گذار	۱۶۶	افراد همخون
۱۲۴	افراد با فقط پدر مشخص	۶۸۷	نرها
۶	افراد با فقط مادر مشخص	۱۰۴۸۶	نرهای دارای نتاج
۱۰۳۶۲	افراد دارای هم پدر و هم مادر معلوم	۶۷۵۳	ماده‌ها
۱۴۵	گروه‌های تنی	۱۰۳۶۸	ماده‌های دارای نتاج
۲/۰۲	متوسط اندازه خانواده	۷۴۴۰	افراد دارای نتاج
۲	حداقل اندازه	۵۰۵۱	افراد بدون نتاج
۳	حداکثر	۱۹۹۹	بنیان‌گذاران
	تعداد افراد با ضریب همخونی:	۱۰۴۸۹	نتاج بنیان‌گذار
۱۱۶	بین ۰ و ۰/۱	۶۸۷	نرهای بنیان‌گذار
۵۰	بین ۰/۱ و ۰/۳	۱۰۴۸۶	نتاج نرهای بنیان‌گذار

باز از تفاضل ستون‌های سن مادر هنگام باروری در شکم زایش دوم و سن هنگام زایش اول استفاده شد.

تعیین اثر عوامل ثابت

اثرات فصل، سال زایش و اثرات متقابل آن‌ها روی صفات تشکیل‌دهنده سازه‌های تولیدی و تولید مثلی و ماندگاری مورد بررسی قرار گرفتند. آزمون معنی‌داری با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و رویه GLM انجام شد و در نهایت از بین اثرات مورد استفاده، اثر متقابل سال×فصل معنی‌دار شد ($p < 0.05$) و در تمامی ارزیابی‌های ژنتیکی و برای تمامی صفات اثر متقابل سال×فصل زایش به عنوان اثرات ثابت معنی‌دار در نظر گرفته شد همچنین صفات تولیدی روز شیردهی و سن مادر به هنگام زایش به عنوان متغیر همبسته و برای صفات تولید مثلی، سن مادر هنگام زایش (به استثناء صفت سن مادر هنگام زایش) به عنوان متغیر همبسته در مدل‌های مورد استفاده در نظر گرفته شد.

مدل و برآورد مؤلفه‌های واریانس و پارامترهای ژنتیکی

برای برآورد مؤلفه‌های واریانس و پارامترهای ژنتیکی تمامی صفات از مدل حیوانی تک صفت استفاده شد: $Y = Xb + Zu + e$ که در آن Y متغیر یا صفت مشاهده شده، b بردار اثرات ثابت u بردار اثرات ژنتیکی افزایشی و e اثرات خطا می‌باشد. X و Z نیز به ترتیب ماتریس‌های ارتباط‌دهنده مشاهدات به اثرات ثابت و تصادفی می‌باشد. در این مدل فرض شد که

$$E(y) = XB \quad E(u) = E(e) = 0 \quad \text{var}(u) = G = A\sigma_a^2 \quad \text{var}(e) = R = I\sigma_e^2$$

$$\text{Var}(y) = ZGZ' + R \quad \text{cov}(u, e) = 0$$

برای برآورد همبستگی ژنتیکی صفات تشکیل‌دهنده هر سازه، از مدل حیوانی سه صفت برای صفات تولیدی (تولید شیر تصحیح شده، تولید پروتئین شیر تصحیح شده و تولید چربی تصحیح شده) و تولید مثلی (سن نخستین زایش، فاصله زایش و روزهای باز) و مدل حیوانی دو صفتی (طول عمر تولید و طول عمر گله) برای صفات عملکردی استفاده گردید. به علت زیاد بودن تعداد داده‌ها و محدودیت‌های محاسباتی از چندسری تجزیه دو و سه صفتی بر اساس صفات مختلف استفاده شد. فرم ماتریسی مدل حیوانی دو صفتی به صورت زیر بود:

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x_1 & 0 \\ 0 & x_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} b_1 \\ b_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} z_1 & 0 \\ 0 & z_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \end{bmatrix}$$

به منظور ارزیابی‌های ژنتیکی، صفات به سه دسته سازه تولیدی، تولید مثلی و ماندگاری گروه‌بندی شدند. سازه تولیدی شامل صفات تولید شیر، تولید چربی تصحیح شده و تولید پروتئین تصحیح شده بودند. سازه تولید مثلی شامل سن اولین زایش AFC^۱، فاصله گوساله‌زایی CI^۲ و روزهای باز OD^۳ بودند. صفت سن اولین زایش از تفاوت بین تاریخ زایش و تاریخ تولد مادر محاسبه شد و گاوهایی که هنگام زایش سنین کمتر از ۱۸ ماه و بیشتر از ۳۶ ماه داشتند از مجموعه رکوردها حذف شدند. صفت فاصله گوساله‌زایی به صورت تعداد روزهای موجود بین دو زایش متوالی یک گاو محاسبه شد و مقادیر بین ۳۰۰ و ۶۰۰ روز به عنوان مقادیر طبیعی برای این صفت در نظر گرفته شد. صفت روزهای باز یا روزهای غیرآبستن به صورت تعداد روزهای بین زایش در شکم اول و آبستنی در شکم دوم تعیین شد و گاوهایی با رکورد کمتر و بیشتر از ۴۰ و ۲۸۰ روزه از مجموعه رکوردها حذف شدند. تمامی این ویرایش‌ها و آماده‌سازی رکوردهای تولید مثلی با استفاده از نرم‌افزارهای Access، Excel و FoxPro نسخه ۹ انجام گرفت. رکوردهای تولید شیر در دامنه ۱۲۰۰ تا ۱۳۰۰۰ کیلوگرم در نظر گرفته شد. برای صفت درصد چربی نیز رکوردهای روز-آزمونی دامنه‌ی ۱/۵ تا ۷ درصد، استفاده شد. برای صفت پروتئین نیز رکوردهای روز آزمونی دامنه ۱ تا ۷ درصد استفاده شد. سازه ماندگاری نیز به دو صفت طول عمر در گله و طول عمر تولیدی دسته بندی شدند. طول عمر در گله از تفاضل تاریخ حذف فرد از گله از تاریخ تولد او محاسبه شد. طول عمر تولیدی نیز از تفاضل تاریخ حذف فرد از تاریخ زایش فرد محاسبه شد. لازم به ذکر است در این پژوهش از مخفف MAND1 و MAND2 به ترتیب برای صفات طول عمر در گله و طول عمر تولیدی در نظر گرفته شد. در نهایت به منظور محاسبه صفت سن مادر هنگام زایش از رویه پرس و جو FoxPro (Query) استفاده شد. عملیات مشابهی برای استخراج صفات تولید مثلی هم چون فاصله گوساله‌زایی، فاصله آبستنی و روزهای باز انجام شد. برای محاسبه و استخراج صفت طول آبستنی از تفاضل ستون‌های زایش و باروری در اولین زایش استفاده شد. همچنین صفت روزهای

1- Age at First Calving(AFC)

2- Calving Interval(CI)

3- Open Days(OD)

اصلاحی و e_1 و e_2 بردار خطای صفات مورد بررسی هستند. هم‌چنین فرض شد که:

$$E(a_1) = E(a_2) = E(e_1) = E(e_2) = 0$$

$$E(y_1) = X_1b_1 \text{ و } E(y_2) = X_2b_2$$

$$\text{var} \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \\ e_1 \\ e_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A\sigma_{a_1}^2 & A\sigma_{a_{12}} & 0 & 0 \\ A\sigma_{a_{21}} & A\sigma_{a_2}^2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & I\sigma_{e_1}^2 & I\sigma_{e_{12}} \\ 0 & 0 & I\sigma_{e_{21}} & I\sigma_{e_2}^2 \end{bmatrix}$$

بدست آمده صفات مختلف در بخش تحلیل‌های ژنتیکی استفاده شد. روش مورد استفاده در این پژوهش با پژوهش جیانولا و سورنسون (۲۰۰۴) متفاوت بود. روش استفاده شده در این پژوهش عمدتاً در پژوهش‌های علوم اجتماعی و روان‌شناسی به کار می‌رود که بسیاری از متغیرها جنبه‌های اجتماعی، اقتصادی، سیاسی و یا فرهنگی دارند و این جنبه‌ها به خودی خود یک شاخص منفرد برای ارزیابی را ندارند و هر کدام توسط مجموعه‌ای از دیگر متغیرها ارزیابی و سنجیده می‌شوند. نرم‌افزار smartpls بر اساس محاسبه حداقل مربعات جزئی کار می‌کند، ضرائب علی که در روش پیشنهاد داده شده محاسبه می‌شوند ضرائب رگرسیونی هستند که برای اثرات مختلف تصحیح شده‌اند (۲۷،۲۹).

نتایج و بحث

آمار توصیفی سازه‌های تولیدی، تولید مثلی و ماندگاری گاوهای هلشتاین گاوداری صنعتی فکا، ایران در جدول ۲ قابل مشاهده می‌باشد. بیشترین تعداد رکورد (۸۶۱۳) در بین صفات تشکیل دهنده سازه تولیدی مربوط به صفت تولید شیر بود و برای دیگر صفات تولیدی تعداد رکوردها نزدیک به هم بودند. ضریب تغییرات صفات تولیدی همگی در حد مطلوبی قرار داشت (۲۱ الی ۲۵ درصد). در کل با توجه به ضریب تغییرات تنوع بالای مشاهده شده برای صفت تولیدی (تولید شیر و درصد چربی) و مقدار متوسط ضریب تغییرات برای صفت درصد پروتئین نمایانگر مطلوبیت این صفات برای پژوهش‌های ژنتیکی و ژنومیک در اصلاح نژاد گاوهای شیری هلشتاین ایران بودند.

که در آن: y_1 و y_2 بردار مشاهدات مربوط به صفات مورد بررسی، X_1 و X_2 ماتریس ضرایب عوامل ثابت، Z_1 و Z_2 ماتریس عوامل تصادفی، a_1 و a_2 بردار مربوط به ارزش

ساختار واریانس - کوواریانس عامل تصادفی نیز به صورت زیر بود.

$\sigma_{a_1}^2$ و $\sigma_{a_2}^2$ به ترتیب واریانس‌های ژنتیک افزایشی برای صفت اول و دوم، $\sigma_{e_1}^2$ و $\sigma_{e_2}^2$ واریانس باقیمانده به ترتیب برای صفات اول و دوم، $\sigma_{a_{12}}$ و $\sigma_{e_{12}}$ به ترتیب کواریانس‌های ژنتیکی افزایشی و باقیمانده بین صفت اول و دوم می‌باشند (۳۲) که در این رابطه A و I به ترتیب ماتریس رابطه خویشاوندی و همانی می‌باشد. برآورد مؤلفه‌های واریانس و پارامترهای ژنتیکی صفات تولیدی و تولید مثلی و عملکردی با استفاده از روش بیزی و نرم‌افزار Gibbs3f90b از مجموعه نرم‌افزاری blupf90 انجام گرفت. تعداد ۵۰۰۰۰۰ دور اصلی اجرا شد، ۵۰۰۰۰ نمونه ابتدایی به‌عنوان دوره‌های سوخته حذف گردید. فواصل بین نمونه‌گیری نیز ۵۰۰۰ در نظر گرفته شد. به منظور برآورد همبستگی فنوتیپی و محیطی از همبستگی دو و سه متغیره بین هر دسته از صفات تولیدی و تولید مثلی و عملکردی به صورت مجزا استفاده شد. برای محاسبه همبستگی فنوتیپی بین صفات مورد مطالعه از رویه همبستگی اسپیرمن و با استفاده از نرم‌افزار SAS ۹/۱ استفاده شد و معنی‌داری در سطح 0.05 ($p < 0.05$) مورد بررسی قرار گرفت. همبستگی ژنتیکی بین صفات محاسبه شد و برای محاسبه واریانس فنوتیپی از فرمول $\sigma_p^2 = \sigma_a^2 + \sigma_e^2$ برای وراثت پذیری از فرمول $h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_a^2 + \sigma_e^2}$ استفاده شد.

مدل‌سازی معادلات ساختاری صفات ژنتیکی پنهان

به طور کلی در مدل‌سازی معادلات ساختاری از دو رهیافت محاسباتی کوواریانس محور که اساس نرم‌افزار آماری AMOS است (۶). رهیافت واریانس محور که اساس نرم‌افزار smartpls است استفاده شد. در این پژوهش از رهیافت واریانس محور و از نرم‌افزار smartpls و از ارزش‌های ارثی

جدول ۲- آمار توصیفی سازه‌های تولیدی، تولید مثلی و ماندگاری در گاوداری صنعتی فکا

Table 2. Descriptive statistics of production, reproduction and longevity constructs in Foka herd enterprise

صفات	تعداد	میانگین	کمینه	بیشینه	انحراف معیار	اشتباه معیار	ضریب تغییرات
سازه تولیدی							
تولید شیر تصحیح شده	۸۶۱۳	۹۴۸۱	۱۲۲۸	۱۳۹۸۷	۲۰۰۷	۲۱	۲۱
تولید چربی تصحیح شده	۸۵۸۳	۲۶۵	۱۰۲	۴۹۷	۶۶	۰/۷۱	۲۴
تولید پروتئین تصحیح شده	۶۸۳۹	۲۵۶	۱۲۲	۴۶۴	۶۵	۰/۷۹	۲۵
سازه تولیدمثلی (روز)							
سن در نخستین زایش	۸۷۱۷	۱۱۴۰	۹۲۰	۱۳۰۰	۷۰	۰/۷۵	۱۶
فاصله زایش	۸۷۱۴	۳۹۰	۳۰۰	۱۰۴۹	۱۲۳	۱/۳۲	۳۱
روزهای باز	۸۷۳۳	۱۱۳	۴۰	۳۰۰	۵۹	۰/۶۳	۵۲
سازه ماندگاری (روز)							
طول عمر در گله	۷۲۰۰	۲۰۵۳	۷۳۲	۳۵۰۰	۵۸۳	۶/۸۷	۲۸
طول عمر تولید	۷۲۰۰	۲۲۲	۴	۱۱۶۸	۹۰	۲/۰۴	۴۰

همکاران (۲) ۱۰۸، شهدادی و همکاران (۴۱) ۹۵، بیطرف ثانی و همکاران (۵) ۱۱۱ بود. با در نظر گرفتن صفت حذف غیر اختیاری و صفت ماندگاری برای هر فرد تنها یک بار در طول عمر آن فرد محاسبه می‌شود. بنابراین انتظار می‌رود تعداد رکوردهای سازه ماندگاری (۷۲۰۰) نسبت به صفاتی مانند تولید شیر (۸۶۱۳) و سن نخستین زایش (۸۷۱۷) کمتر باشد. با توجه به فرمول و نوع محاسبه برای صفات طول عمر گله و طول عمر تولیدی انتظار می‌رود که صفت طول عمر گله دارای مقادیر برآوردی بیشتری از میانگین فنوتیپی (۲۰۵۳) به نسبت طول عمر تولیدی (۲۲۲) داشته باشد. مقدار انحراف معیار برای صفات طول عمر گله و طول عمر تولیدی به ترتیب ۵۸۳ و ۹۰ بود. با این حال مقادیر خیلی بالایی از ضریب تغییرات برای صفات تشکیل دهنده سازه ماندگاری از جمله صفات طول عمر تولیدی و طول عمر در گله (۲۸ درصد و ۴۰ درصد) مشاهده شد. میزان بالای ضریب تغییرات فنوتیپی نمایانگر مطلوبیت صفات فوق برای ارزیابی‌های ژنتیکی صفات فوق بود. دامنه بالای صفات عملکردی مورد پژوهش حاکی از آن است که حیوانات ممکن است دو هفته پس از زایش حذف شده‌اند و یا حتی بیش از هشت سال در گله باقی مانده‌اند. البته این در صورتی می‌تواند رخ دهد که حیوانات دارای چرخه تولیدمثلی منظم، بازگشت به فعلی سریع و نرخ پایین تلقیح به ازای آبستنی باشند تا حیوان از گزند عوامل حذف به دور بوده و میزان تولیدات در صفات ماندگاری گاودار را راضی نگه‌داشته باشد. میزان بالا بودن دامنه و ضریب تغییرات صفات ماندگاری در این تحقیق بیانگر میزان حساس بودن این صفات به سطوح مدیریتی در سال‌ها و شرایط مختلف بود.

میانگین حداقل مربعات اثرات ثابت

در جدول ۳ میانگین حداقل مربعات صفات تشکیل‌دهنده سازه‌های تولیدی، تولید مثلی و عملکردی مورد بررسی قابل مشاهده می‌باشد. به دلیل تعدد بالای سطوح سال‌های مورد بررسی برای تمامی صفات از ارائه مقادیر میانگین حداقل مربعات برای هر سطح سال زایش و فصل زایش اجتناب می‌شود. با توجه به معنی‌داری اثر متقابل فصل × سال زایش برای تمامی صفات مورد بررسی، برای ارزیابی‌های ژنتیکی اثر نامبرده مورد بررسی قرار گرفت.

میانگین صفت سن اولین زایش در پژوهش حاضر ۱۱۴۰ روز یا ۳۸ ماه بالاتر از تحقیق نافذ و همکاران (۲۹) ۲۷/۵ ماه، چوکانی و همکاران (۹) ۲۵ ماه، شهدادی و همکاران (۴۱) ۲۶ ماه، بیطرف ثانی و همکاران (۵) ماه، سلیمانی باغشاه و همکاران (۴۲) ۲۵ ماه، شیرمرادی و همکاران (۴۰) ۲۹ ماه، فیداله و همکاران (۱۴) ۳۰ ماه، عبدالقادر و همکاران (۱) ۲۹ ماه، و پایین‌تر از مقادیر میانگین حاصل توسط گوشت و همکاران (۲۳) ۳۹ ماه، اولها مگنابوسکو و همکاران (۴۳) ۴۰ ماه بود. ضریب تغییرات برای صفت سن اولین زایش ۱۶ که بالاتر از برآورد نافذ و همکاران (۲۹)، چوکانی و همکاران (۹) و شهدادی و همکاران (۴۱) (به ترتیب ۱۲ و ۱۰) به دست آمد و پایین‌تر از مقادیر برآورد شده توسط گوشت و همکاران (۲۵) بود (۲۳). میانگین صفت فاصله زایش ۳۹۰ پایین‌تر از مقدار محاسبه شده توسط نافذ و همکاران (۲۹) ۴۱۵، گوشت و همکاران (۲۳) ۴۰۰، قیاسی و همکاران (۲۰) ۳۹۴، چوکانی و همکاران (۹) ۴۰۰، نافذ و همکاران (۲۹) ۳۹۱، فو و همکاران (۱۸) ۳۹۲، گوا و همکاران (۲۴) ۳۹۷، فرجی آرق و همکاران (۱۵) ۴۲۵، عبدالقادر و همکاران (۱) ۴۳۵، گوشت و همکاران (۲۳) ۵۲۱، اولها مگنابوسکو و همکاران (۴۳) ۴۳۴ و سلیمانی باغشاه و همکاران (۴۲) ۴۰۶ و بالاتر از مقادیر محاسبه شده توسط شهدادی و همکاران (۴۱) ۳۷۵، روز، شیرمرادی و همکاران (۴۰) ۳۶۸، آقاجاری و همکاران (۲) ۳۸۶ بود با این حال ضریب تغییرات برای صفت فاصله زایش در این پژوهش (۳۱ درصد) بالاتر از مقادیر برآورد شده توسط شهدادی و همکاران (۴۱) ۱۲، پوزوه و همکاران (۳۶) ۱۶، فو و همکاران ۱۹ بود (۱۸). مقدار میانگین حاصل برای صفت روزهای باز ۱۱۳ با انحراف معیار ۵۹، اشتباه معیار ۰/۶۳ و ضریب تغییرات ۵۲ بدست آمد. میانگین روزهای باز برابر با مقدار برآورد شده توسط زینک و همکاران (۴) ۱۱۳ بود و پایین‌تر از مقادیر حاصل توسط گونزالس ریچیو (۲۲) ۱۱۷، معتمدی و همکاران (۲۷) ۱۱۴ و شیرمرادی و همکاران (۴۰) ۱۱۸، عبدالقادر و همکاران (۱) ۱۶۷، گوا و همکاران (۲۴) ۱۱۸، فرجی آرق و همکاران (۱۵) ۱۳۱، فیداله و همکاران (۱۴) ۱۵۷، پوزوه و همکاران (۳۶) ۱۲۴ بود و بالاتر از مقادیر میانگین برآورد شده توسط سلیمانی باغشاه و همکاران (۴۲) ۱۰۹، اولها مگنابوسکو و همکاران (۴۳) ۱۰۰، آقاجاری و

جدول ۳ - اثرات معنی‌دار بر روی صفات مورد بررسی در گله گاوهای هلشتاین گاوداری صنعتی فکا
Table 3. Significant effects on studied traits of dairy cattle in Foka herd

اثرات	شکم زایش	سال زایش	فصل زایش	سال × فصل زایش
تولید شیر تصحیح شده	---	۵۳۹۸۹۳۴**	۹۴۵۳۷۳۷۵۶**	۵۲۲۱۷۵۲**
تولید چربی تصحیح شده	---	۱۲۸۷۵۷۱۱**	۱۴۹۵۶**	۳۳۵۷۶**
تولید پروتئین تصحیح شده	---	۷۴۷۳۰۴**	۲۶۲۹۳**	۳۶۳۳۳**
سن نخستین زایش	---	۱۹۵۱۲۳**	۵۳۳۸۴**	۸۱۲۷**
فاصله زایش	---	۵۴۰۰۱**	۸۹۹۵۰**	۳۰۸۲۵**
روزهای باز	---	۳۴۱۸۰**	۶۵۱۵۹**	۹۱۷۷**
طول عمر گله	۶۵۱۲۷۷**	۲۱۷۳۰۴**	۷۲۵۸۹۴**	۴۲۲۵۷۲**
طول عمر تولیدی	۵۵۱۲۳۴**	۳۱۲۲۶**	۱۳۴۷**	۳۳۶۷۱**

** تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ (p < ۰/۰۱).

برآورد مولفه‌های واریانس و فراسنجه‌های ژنتیکی

در جدول ۴ نتایج برآورد مولفه‌های واریانس و فراسنجه‌های ژنتیکی صفات مورد بررسی گاوهای هلشتاین گاوداری صنعتی فکا با استفاده از مدل حیوانی تک صفتی قابل مشاهده است.

جدول ۴ - برآورد مولفه‌های واریانس و فراسنجه‌های ژنتیکی صفات مورد بررسی با استفاده از مدل حیوانی تک صفتی
Table 4. Prediction of genetic components and parameters of the studied traits using single-trait animal model

صفات مورد بررسی	σ_a^2	σ_e^2	σ_p^2	h_a^2
تولید شیر تصحیح شده	۲۵۶۶ (۸۲۰)	۴۵۵۰ (۱۲۱۰)	۷۱۱۶ (۹۶۵)	۰/۳۶ (۰/۰۱)
تولید چربی تصحیح شده	۶۰۵ (۱۱۲)	۴۷۷ (۱۴۵)	۱۰۸۲ (۳۲۱)	۰/۵۵ (۰/۰۳)
تولید پروتئین تصحیح شده	۵۳۹ (۶۴)	۴۱۹ (۱۲۳)	۹۵۸ (۲۰۱)	۰/۵۶ (۰/۰۲)
سن در نخستین زایش	۹۱۵ (۵۲)	۳۵۷۳ (۱۱۱۰)	۴۴۸۸ (۱۰۰۱)	۰/۲۵ (۰/۰۰۱)
فاصله زایش	۲۶۰ (۰/۱)	۸۲۰ (۲۱۰)	۱۰۸۰ (۵۲۰)	۰/۲۴ (۰/۰۰۲)
روزهای باز	۸۱ (۰/۱)	۱۰۲۱ (۶۴۲)	۱۱۰۲ (۵۰۲)	۰/۰۷ (۰/۰۱)
طول عمر گله	۴۳۹۳ (۱۱۰۰)	۵۸۱۲۸ (۶۲۴۱)	۶۲۵۲۱ (۱۲۳۴۶)	۰/۰۷ (۰/۰۱)
طول عمر تولیدی	۳۰۶ (۱۰۱)	۲۷۳۲۰ (۲۷۲۱)	۲۷۶۲۶ (۵۴۲۱)	۰/۰۱۱ (۰/۰۰۱)

با این حال گزارش‌هایی از برآورد فراسنجه‌ها با استفاده از مدل تک صفتی موجود می‌باشد اولها مگنابوسکو و همکاران (۴۳)، فرجی آرق و همکاران (۱۵)، مداحی و همکاران (۲۶)، چوکانی و همکاران (۹)، سلیمانی باغشاه و همکاران (۴۲)، عبدالقادر و همکاران (۱) و گوشو و همکاران (۲۳). برای صفت سن اولین زایش مقادیر واریانس ژنتیکی ۹۱۵ و فنوتیپی ۴۴۸۸ برآورد شد و این مقادیر بیانگر اختصاص سهم بالایی از واریانس فنوتیپی این صفت به واریانس خطا ۳۵۷۳ می‌باشد که مقدار واریانس خطا حدوداً ۳/۹ برابر واریانس ژنتیکی افزایش بود. این روند باعث شد مقدار وراثت پذیری گزارش شده برای این صفت در محدوده پایینی ۰/۲۴ مشاهده شود. که بالاتر از مقادیر وراثت پذیری برآورد شده توسط فرجی آرق و همکاران (۱۵) ۰/۱۹، سلیمانی باغشاه و همکاران (۴۲) و ۰/۱۹، مداحی و همکاران (۲۶) ۰/۲۲، چوکانی و همکاران (۹) ۰/۱۴، عبدالقادر و همکاران (۱) ۰/۰۹ و پایین‌تر از نتایج اولها مگنابوسکو و همکاران (۴۳) ۰/۳۶ و گوشو و همکاران (۲۳) ۰/۵۶ بود. مقدار واریانس ژنتیکی و واریانس فنوتیپی و وراثت‌پذیری برآورد شده برای صفت فاصله زایش به ترتیب ۲۶۰، ۱۰۸۰ و ۰/۲۴ برآورد شد. میزان وراثت‌پذیری برآورد شده برای صفت فاصله زایش بالاتر از مقادیر گزارش شده توسط فرجی آرق و همکاران (۱۵) ۰/۰۵۶، اسدالهی و حسین زاده (۳) ۰/۰۶۰، معتمدی و همکاران (۲۷) ۰/۰۵۹، سلیمانی باغشاه و همکاران (۴۲) ۰/۰۶، فرجی آرق و همکاران (۱۵)

مقدار وراثت پذیری برای صفت تولید شیر ۰/۳۶ بدست آمد که بالاتر از مقادیر وراثت‌پذیری برآورد شده ۰/۲۸۱ توسط اسدالهی و حسین زاده (۳) رکورد تولید شیر گاوهای هلشتاین ایران طی سالهای ۱۳۹۰-۱۳۷۲ و معتمدی و همکاران (۲۷) ۰/۲۸۶ بود. هم‌چنین از مقادیر گزارش شده ۰/۲ توسط زینک و همکاران (۴) در گاوهای هلشتاین جمهوری چک و گزارش عبدالقادر و همکاران (۱) ۰/۱۳ در گاوهای هلشتاین سودانی بیشتر بود. مقدار وراثت پذیری برآورد شده برای صفت تولید چربی ۰/۵۵ بدست آمد که بالاتر از مقادیر گزارش شده توسط اسدالهی و همکاران (۳) ۰/۳۳ و زینک و همکاران (۴) ۰/۲۱ بود. دلایل زیادی می‌تواند منجر به برآورد شدن متفاوت وراثت‌پذیری یک صفت در پژوهش‌های متفاوت باشد، از جمله می‌توان به نوع برآوردکننده آماری به کار رفته برای برآورد وراثت‌پذیری (بیزین، درستنمایی، حداقل مربعات، جیمز- اشتاین)، جریان ژن (بپیچیدگی شجره و تعداد نسل)، معماری ژنتیکی صفت مورد بررسی (اینکه صفت تحت تاثیر اثرات افزایشی، غیر افزایشی، ایپستازیس باشد یا نه)، وجود یا عدم وجود انتخاب در جمعیت و اندازه نمونه اشاره کرد. مقادیر مشابهی از وراثت‌پذیری برای صفت تولید پروتئین شیر ۰/۵۶ مشاهده شد که بالاتر از مقادیر گزارش شده توسط زینک و همکاران (۴) ۰/۲۳ بود. بیشتر تحقیقات انجام گرفته روی فراسنجه‌های ژنتیکی صفات تولید مثلی در گاوهای هلشتاین ایران با استفاده از مدل چند صفتی انجام شده است.

بود. ضمناً با توجه به کم بودن وراثت‌پذیری‌های برآورد شده برای تمامی صفات تولید مثلی در مقایسه با سایر صفات، انتخاب بر اساس آن‌ها نمی‌تواند در تغییر میانگین شان موثر واقع شود. مدیریت تغذیه گوساله‌ها از عوامل مدیریتی موثر در سن اولین زایش می‌باشد، زیرا تغذیه نامناسب گوساله‌ها می‌تواند با تاخیر در بلوغ و عدم رشد پستان‌ها، مشکلات تولیدمثلی در آینده به همراه داشته باشد. هم‌چنین باید توجه داشت بلوغ زودرس نیز می‌تواند باعث مشکلات تولید مثلی هم‌چون عفونت رحم، جفت ماندگی و سخت‌زایی شود. به‌طور کلی، وراثت‌پذیری تولید شیر نشان می‌دهد می‌توان با انتخاب دام‌های با ظرفیت ژنتیکی بیشتر و حذف دام‌های با ظرفیت ژنتیکی کمتر، مقدار تولید شیر را افزایش داد. اختلاف بین برآورد وراثت‌پذیری تولید شیر در مطالعات مختلف می‌تواند به دلیل عوامل متعددی نظیر تفاوت در سطح تولید گله، تنوع محیطی، مدیریت گله، مدل آماری مورد استفاده، روش برآورد اجزای واریانس و کواریانس و نحوه ویرایش داده‌ها باشد. هم‌چنین انتخاب‌های انجام شده در طی سالیان متمادی می‌تواند سبب تغییر در مؤلفه‌های واریانس شده باشد. وراثت‌پذیری برآورد شده برای صفات تولیدی نشان می‌دهد که این صفات، پاسخ مناسبی را به برنامه‌های انتخاب از خود نشان می‌دهند. هم‌چنین برآورد وراثت‌پذیری پایین برای صفات تولید مثلی نشان می‌دهد که تنوع محیطی بخش زیادی از واریانس فنوتیپی را به خود اختصاص داده است و این صفات پاسخ مناسبی را به برنامه‌های انتخاب از خود نشان نمی‌دهند. بنابراین انتظار می‌رود که جهت بهبود این صفات، سازه‌های غیر ژنتیکی نظیر مدیریت و محیط تولید حیوانات بهبود یابد.

همبستگی‌های ژنتیکی بین صفات درون هر صفت ژنتیکی پنهان

در جدول ۵ نتایج حاصل از برآورد وراثت‌پذیری و همبستگی ژنتیکی داخل سازه پنهان ژنتیکی تولیدی، تولید مثلی و ماندگاری با استفاده از تجزیه و تحلیل‌های چندصفتی ارائه شده است. لازم به ذکر است از تجزیه و تحلیل‌های سه صفتی برای صفات تولیدی (تولید شیر، تولید چربی و تولید پروتئین) و برای صفات تولید مثلی (سن نخستین زایش، فاصله زایش و روزهای باز) و از تجزیه و تحلیل دو صفتی برای برآورد همبستگی ژنتیکی بین صفات ماندگاری (طول عمر در گله و طول در عمر تولید) استفاده شده است.

۰/۰۴ و پایین‌تر از مقدار وراثت‌پذیری برآورد شده ۰/۲۸ توسط گوشو و همکاران (۲۳) در گاوهای شکم زایش اول هلشتاین در کشور اتیوپی بود. مقدار وراثت‌پذیری برآورد شده برای صفت روزهای باز ۰/۰۷ که این میزان پایین‌تر از مقادیر گزارش شده توسط معتمدی و همکاران (۲۷) ۰/۰۸، فرجی آرق و همکاران (۱۵) ۰/۰۹ در گاوهای سیستانی و عبدالقادر و همکاران (۱) ۰/۵۱ در گاوهای هلشتاین منطقه گرمسیری سودان بود. هم‌چنین مقدار وراثت‌پذیری برآورد شده برای صفت روزهای باز بالاتر از مقادیر برآورد شده توسط سلیمانی باغشاه و همکاران (۴۲) ۰/۴۱ در گاوهای هلشتاین استان اصفهان و مقدار برآورد شده ۰/۰۳ توسط زینک و همکاران (۴۷) در شکم زایش اول گاوهای هلشتاین کشور چک بود. گرچه اختلاف‌هایی در برآورد وراثت‌پذیری صفت روزهای باز در پژوهش‌های متفاوت دیده می‌شود، اما همانگونه که مورد انتظار است، وراثت‌پذیری صفت یاد شده در تمامی پژوهش‌ها بسیار کم گزارش شده است. نشان داده شده است که تحلیل تک متغیره و یا چند متغیره به کار رفته می‌تواند در برآوردهای این صفت اثر گذار باشد (۳۱). همان‌گونه که مشاهده می‌شود مقدار وراثت‌پذیری برآورد شده برای صفات عملکردی طول عمر در گله و طول عمر تولیدی به ترتیب ۰/۰۷ و ۰/۱۱ برآورد شدند. مقدار پایین وراثت‌پذیری برآورد شده صفات عملکردی نمایانگر تاثیر زیاد عوامل محیطی بر بروز فنوتیپی صفات است. علاوه بر این مقدار کم تاثیرپذیری ژنتیکی این صفت را می‌توان از نسبت کم واریانس ژنتیکی به فنوتیپی در مقایسه با نسبت واریانس خطا به فنوتیپی تشخیص داد. وراثت‌پذیری برآورد شده برای صفات طول عمر تولیدی در مقایسه با صفت طول عمر گله بالاتر بدست آمد. در این راستا به دلیل در نظر گرفتن همبستگی ژنتیکی بین صفات از آنالیزهای چندصفتی استفاده شد. یکی از دلایل پایین بودن وراثت‌پذیری صفات ماندگاری تاثیر زیاد عوامل محیطی و مدیریت گله‌ها (به‌ویژه در حذف دام‌ها) بر این صفات می‌باشد. همان‌طور که مشاهده شد صفت سن اولین زایش و فاصله زایش دارای بیشترین مقدار وراثت‌پذیری برآورد شده (۰/۲۵) و ۰/۲۴ به ترتیب) به نسبت سایر صفات تولیدمثلی بود. هم‌چنین مقادیر وراثت‌پذیری برآورد شده برای تمامی صفات به جزء صفت روزهای باز بالا بود که نشان دهنده اهمیت قابل توجه اثرات ژنتیکی افزایشی در کنترل سن اولین زایش و فاصله زایش به نسبت سایر صفات تولید مثلی مورد بررسی

جدول ۵ - برآورد همبستگی ژنتیکی و فنوتیپی صفات مورد بررسی با استفاده از مدل‌های دو و سه صفتی

وراثت‌پذیری صفت دوم	وراثت‌پذیری صفت اول	همبستگی ژنتیکی	صفت دوم	صفت اول
۰/۵۲(۰/۰۴۳)	۰/۲۱ (۰/۰۰۴)	-۰/۸۷ (۰/۲۰۶)	چربی تصحیح شده	تولید شیر تصحیح شده
۰/۴۲(۰/۰۲۳)	۰/۲۱ (۰/۰۰۴)	-۰/۰۶ (۰/۰۱۱)	پروتئین تصحیح شده	تولید شیر تصحیح شده
۰/۴۲(۰/۰۲۳)	۰/۵۲(۰/۰۴۳)	-۰/۰۲(۰/۰۲۳)	پروتئین تصحیح شده	چربی تصحیح شده
۰/۳۸(۰/۴۱۶)	۰/۴۸(۰/۱۱۹)	-۰/۰۰۱(۰/۰۴۳)	فاصله زایش	سن نخستین زایش
۰/۰۸(۰/۱۶۲)	۰/۴۸(۰/۱۱۹)	-۰/۰۰۴(۰/۰۴۱)	روزهای باز	سن نخستین زایش
۰/۰۸(۰/۱۶۲)	۰/۳۸(۰/۴۱۶)	۰/۷۲(۰/۰۲۲)	روزهای باز	فاصله زایش
۰/۰۵(۰/۰۴۱)	۰/۰۴(۰/۰۸۸)	۰/۹۸(۰/۰۵۱)	طول عمر در گله	طول عمر تولیدی

تولید چربی) تا رابطه ژنتیکی منفی و خیلی قوی (۰/۸۷- برای صفات تولید شیر- تولید چربی) در نوسان بود. با توجه به نتایج

دامنه همبستگی‌های ژنتیکی برآورد شده برای صفات تولیدی منفی و خیلی ضعیف (۰/۰۰۲- برای صفات تولید پروتئین-

فاصله زایش و سن اولین زایش - روزهای باز را به ترتیب ۰/۲۰ و ۰/۱۱ به دست آوردند که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت داشت. همچنین آن‌ها میزان همبستگی ژنتیکی بین صفات فاصله-روز باز را ۰/۹۲ برآورد نمودند که با همبستگی‌های ژنتیکی بدست آمده برای صفات نامبرده در این پژوهش همخوانی داشت. میزان همبستگی ژنتیکی بدست آمده برای صفات سن اولین زایش - روزهای باز در تحقیق فیداله و همکاران (۱۴) بر روی گاوهای هلشتاین در کشور مصر بالا ۰/۷۲۵ و در تحقیق شهدادی و همکاران (۴۱) ۰/۰۷ پایین برآورد شد. در تحقیق شهدادی و همکاران (۴۱) مثبت و ضعیف ۰/۰۷ برآورد شد. رابطه ژنتیکی بین صفات فاصله زایش - روز باز در تحقیق گوا و همکاران (۲۴) ۰/۹۹ و شهدادی و همکاران (۴۱) ۰/۸۸ نیز بالا برآورد شد و نزدیک به پژوهش ما ۰/۷۲ بود. در پژوهش فرجی ارق و همکاران (۱۵) همبستگی ژنتیکی صفات فاصله زایش - روز باز (۰/۹۷) را برآورد نمودند. بنابراین لازم است در انتخاب مولدهای نر و ماده لازم است افرادی انتخاب شوند که علاوه بر ارزش ارثی بالا برای تولید شیر همزمان برای صفات تولیدمثلی و عملکردی نیز ارزش ارثی مطلوبی داشته باشند. در کل میزان وراثت‌پذیری‌های برآورد شده برای صفات ماندگاری در حد پایینی برآورد شدند. وراثت‌پذیری از یک جمعیت به جمعیت دیگر متفاوت است این امر می‌تواند به دلیل تفاوت در مدیریت و ظرفیت ژنتیکی حیوانات باشد. وراثت‌پذیری مربوط به صفات تولید و تولید مثلی با سطح تولید گله‌ها تغییر می‌یابد. در مجموع پایین بودن وراثت‌پذیری صفات تشکیل دهنده سازه تولید مثلی بیانگر این امر است که سهم عمده‌ای از تفاوت فنوتیپی موجود برای هر صفت در بین جمعیت گاوهای هلشتاین ناشی از تفاوت‌های محیطی بین آن‌ها می‌باشد (۲۰). به منظور افزایش عملکرد تولیدمثلی و باروری گاوهای ماده، توجه عمده به بهبود شرایط محیطی پرورش نظیر تشخیص بهنگام فحلی، توجه به بهداشت گله و نیز تغذیه بهتر دام‌ها یک امر ضروری به نظر می‌رسد. در کل دلیل بیشتر بودن وراثت‌پذیری صفت طول عمر تولیدی نسبت به صفات طول عمر گله، می‌تواند شاید به علت افزایش سهم واریانس ژنتیکی نسبت به عوامل محیطی بر ماندگاری به دلیل تصحیح صفت تولید شیر باشد. گاوهای بالغ شیر بیشتری نسبت به گاوهای جوان تولید می‌کنند و به عبارتی با افزایش میانگین سن گله (تا محدوده خاصی) تولید افزایش می‌یابد و با افزایش طول عمر تولیدی از سه دوره به چهار دوره شیردهی، سود سالیانه ۱۳ تا ۱۸ درصد افزایش می‌یابد (۲۹). طول عمر بالاتر دامدار را قادر خواهد ساخت تا بتواند نتایج بیشتری از حیوانات با تولید بالاتر داشته باشد و بتواند بهترین‌ها را با شدت انتخاب بالا انتخاب کند. در این پژوهش برای برآورد فراسنجه‌های ژنتیکی از روش بیز استفاده شد. علیرغم تمامی محاسن برآورد به روش بیزی دو مانع اصلی وجود دارد، اول اینکه اطلاعات قبلی مربوط به پارامترها در غالب موارد مبهم‌اند و از نظر ریاضی این امکان وجود ندارد که این اطلاعات بدون اضافه نمودن فرض‌های دیگری که نمی‌توانند مشخص شوند در قالب توابع توزیع آماری، ارایه شوند و مانع دوم دربرگیرنده‌ی

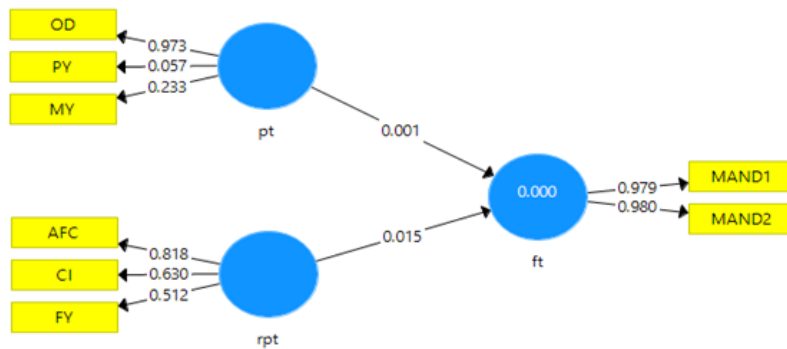
حاصل انتظار می‌رفت در گاوهای هلشتاین گاوداری صنعتی فکا با افزایش تولید شیر، تولید مقدار چربی شیر به مقدار قابل توجهی کاهش یابد. بنابراین می‌بایست در انتخاب صفت تولید شیر به عنوان تنها عامل افزایش تولید شیر در گله توجه خاصی داشت و به محاسبه و نحوه تاثیر سایر صفات از سازه‌های ماندگاری و تولید مثلی نیز همت گماشت. نافذ و همکاران (۲۹) با بررسی ژنتیکی صفات تولیدی و تولید مثلی گاوهای هلشتاین ایران طی سال‌های ۱۳۸۶-۱۳۶۷ و با استفاده از مدل چند صفتی توانستند همبستگی ژنتیکی بین صفات تولید شیر - چربی را بسیار بالا و مثبت برآورد نمایند (۰/۹۶) که با میزان و جهت به دست آمده برای همبستگی ژنتیکی صفات فوق در این پژوهش کاملاً مغایرت داشت. میزان ارتباط ژنتیکی صفات تولید شیر - چربی، تولید شیر - پروتئین و چربی - پروتئین در پژوهش شهدادی و همکاران (۴۱) به ترتیب ۰/۵۲، -۰/۵۰ و ۰/۷۴ برآورد شد که دو مورد اول با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت و بیانگر رابطه ژنتیکی ضعیف بین صفات چربی - پروتئین و رابطه منفی بین افزایش ژنتیکی تولید شیر و چربی و پروتئین بود. به طور کلی ارتباط ژنتیکی نامطلوبی بین تولید شیر با صفاتی از قبیل چربی و پروتئین وجود دارد. از این رو انتخاب یک طرفه به منظور افزایش تولید شیر سبب افزایش میزان آب شیر نسبت به ترکیبات سازنده شیر خواهد شد. در نتیجه هم‌زمان با افزایش آب موجود در شیر، درصد چربی و درصد پروتئین نیز کاهش می‌یابد. با توجه به همبستگی ژنتیکی منفی و پایین بین صفات تولید چربی و پروتئین نتیجه‌گیری می‌شود انتخاب گاوهایی با تولید چربی شیر بیشتر می‌تواند سبب کاهش اندکی در تولید پروتئین شیر شود. همبستگی ژنتیکی بین صفات تولید مثلی ۰/۰۰۱ - (سن نخستین زایش - فاصله زایش) تا ۰/۷۲ (فاصله گوساله‌زایی - روز باز) در نوسان بود که با میزان همبستگی ژنتیکی بدست آمده توسط زلک و همکاران (۴۶) در گاوهای هلشتاین کشور اتیوپی طی سال‌های ۲۰۱۲-۱۹۹۹ برای صفات نامبرده مطابقت داشت. همبستگی ژنتیکی خیلی ضعیف و منفی بین صفات سن اولین زایش - فاصله زایش مشاهده شد. این همبستگی برآورد شده بین این دو صفت بیانگر آن است که انتخاب بر اساس سن زایش پایین می‌تواند منجر به کاهش فاصله زایش در گاوهای هلشتاین گاوداری صنعتی فکا گردد. البته باید به این نکته اشاره کرد که پایین‌تر آمدن سن اولین زایش از مقدار مشخصی ممکن است منجر به بروز سخت‌زایی شود. هم‌چنین ارتباط ژنتیکی ضعیفی (۰/۰۰۴-) بین صفات سن اولین زایش - روزهای باز مشاهده شد. شیرمردادی و همکاران (۴۰) رابطه ژنتیکی بین صفات سن اولین زایش و فاصله زایش را کم و منفی برآورد نمود که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. همبستگی ژنتیکی برآورد شده در گاوهای هلشتاین اسپانیا برای صفات فاصله زایش - روز باز (۰/۹۹) در تحقیق گونزالس ریچیو (۲۲) با تحقیق حاضر مطابقت داشت. اولها مگنابوسکو و همکاران (۴۳) با بررسی بر روی صفات تولیدمثلی گاوهای نلور در مناطق گرمسیری برزیل میزان همبستگی ژنتیکی بدست آمده برای صفات سن اولین زایش -

مربع خی و rho_A که برای قابلیت اطمینان کامپوزیت در مدل است. برای بررسی و آزمون روابط بین سازه‌های پنهان ژنتیکی در این تحقیق از مدل نظری زیر استفاده شده است و محققین به دنبال بررسی این موضوع هستند که داده‌های تجربی گردآوری شده تا چه اندازه با مدل نظری این تحقیق هماهنگی دارند. این قدرت SEM است که امکان تطابق یک مدل نظری (که معمولاً در ذهن پژوهشگر است) با داده‌های حاصل از پژوهش را فراهم می‌کند. در مدل‌های SEM، علائم pt، ft، rpt و rpt به ترتیب نشان‌دهنده سازه پنهان ژنتیکی ماندگاری، تولیدی و تولید مثلی می‌باشد. از آنجایی که این سازه به عنوان عوامل پنهان اندازه‌گیری شده‌اند در مدل‌ها با نماد دایره نشان داده شده‌اند و معرف‌های اندازه‌گیری آن‌ها (که در اینجا صفات تشکیل دهنده این سازه‌ها هستند) که مستقیماً مورد سنجش قرار گرفته‌اند و متغیر آشکار هستند با نماد مستطیل آورده شده‌اند. همانطور که مشاهده می‌شود از پیکان‌های یک سویه برای نشان دادن روابط ساختاری متغیرهای درون مدل استفاده شده است.

این حقیقت است که اگر عملیات تجزیه شامل رکوردهای زیادی باشد در این صورت، تابع درست‌نمایی تمایل به اضمحلال توزیع پیشین دارد. یکی از مزایا روش‌شناسی این است که علاوه بر اینکه می‌توان دقت استنباط پارامترهای ژنتیکی را از گسترش توزیعات حاشیه‌ای تشخیص داد، از معیارهای استنباط دقتی هم‌چون بالاترین چگالی پیشین (HPD95%) نیز می‌توان استفاده نمود. روند بیزی‌گراها با روند فراوانی‌گراها فرق دارد، چون ارزش ارثی برآورد شده به مؤلفه‌های وارپانس قبلی بستگی دارد در روش بیزی تمامی اطلاعات پاسخ به انتخاب در توزیع پسین حاشیه‌ای موجود است لذا یک استنباط بیزی کامل مورد نیاز است.

نتایج مدل‌سازی معادلات ساختاری

نوع و یا شکل مدل‌های SEM بکار رفته برای ایجاد رابطه علی بین سازه پنهان ژنتیکی در این پژوهش در نمودارهای ۱ تا ۴ نشان داده شده است. نتایج برآزش هر مدل SEM در دو جدول ارائه شده است. در این جداول SRMR^۱ ریشه مربعات خطای استاندارد شده (ریشه میانگین پسماند)، ULS^۲ d مربع فاصله اقلیدسی، G^۳ d فاصله ژنودزی، NFI^۴ شاخص برازش هنجار شده،



شکل ۱ - نمایش گرافیکی مدل SEM برازش یافته که در آن سازه تولید مثلی (rpt) و سازه تولیدی (pt) روی سازه ماندگاری (ft) اثر علی دارند.
Figure 1. Representation of graphical fitted SEM in which reproduction construct (rpt) and production construct (pt) have causal effect on longevity (ft)

pt و نیز سطح بسیار پایین ضریب آلفای کرونباخ (به میزان ۰/۰۱۹) نشان می‌دهد که معرف مذکور شاخص مناسبی برای سنجش سازه پنهان ژنتیکی pt نیست. از اینرو در مدل‌سازی بعدی سعی شد که با حذف PY و انجام اصلاحات به برازش مناسب‌تری از مدل برسیم. جداول ۶ و ۷ معیارهای برازش بیشتری را برای مدل ۱ نشان می‌دهند.

شکل ۱ نمایش‌دهنده مدل SEM وقتی که سازه‌های پنهان ژنتیکی pt و rpt جداگانه روی سازه پنهان ژنتیکی ft اثر علی را از خود نشان می‌دهند، می‌باشد. خروجی محاسبات مدل فوق نشان از عدم برازش مناسب مدل (مقدار RMSR برابر یا ۰/۱۴۴) دارد. ضمن اینکه بار عاملی پایین معرف PY (صفت تولید پروتئین) در اندازه‌گیری سازه پنهان ژنتیکی

جدول ۶- معیارهای برازش برای مدل ۱ و مقادیر آن

Table 6. Fitted criteria for model 1 and its values

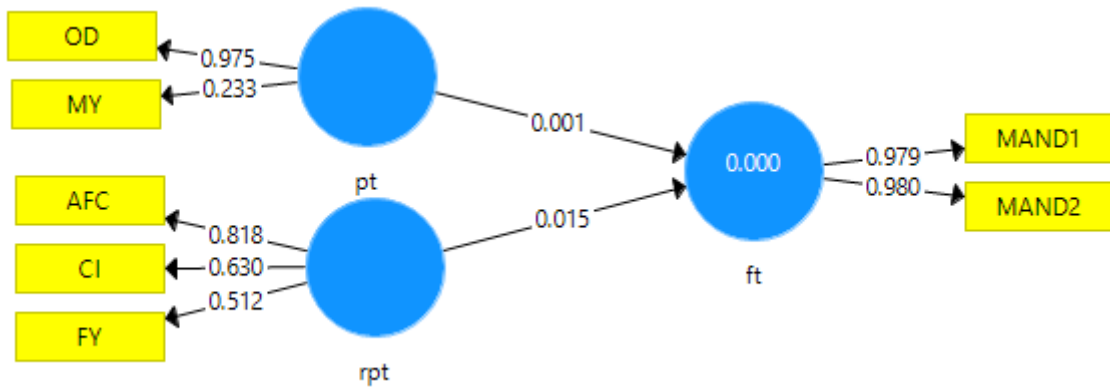
معیار	مدل اشباع	مدل برآورد
SRMR	۰/۱۴۴	۰/۱۴۴
d_ULS	۰/۷۴۸	۰/۷۴۸
d_G	۰/۵۱۶	۰/۵۱۶
chi-Square	۱۹۵۲۳/۰۳۱	۱۹۵۲۳/۰۳۱
NFI	۰/۵۰۴	۰/۵۰۴

جدول ۷- معیارهای برازش برای سازه‌های پنهان ژنتیکی و مقادیر آن‌ها برای مدل ۱

Table 7. Fitted criteria for hidden genetic structures constructs and their values for model 1

سازه	الفای کرونیخ	rho_A	قابلیت اطمینان کامپوزیت	واریانس متوسط استخراج شده
ft	۰/۹۵۸	۰/۹۵۹	۰/۹۷۹	۰/۹۵۹
pt	۰/۰۱۹	۰/۰۵	۰/۴۴۴	۰/۳۳۵
rpt	۰/۳۶۶	۰/۳۵۳	۰/۶۷۹	۰/۴۴۳

مدل ۲



شکل ۲- نمایش گرافیکی مدل تصحیح یافته SEM برازش یافته مدل اول که در آن سازه تولید مثلی (rpt) و سازه تولیدی (pt) روی سازه ماندگاری (ft) اثر علی دارند.

Figure 2. Representation of graphical fitted SEM in which reproduction construct (rpt) and production construct (pt) have causal effect on longevity (ft)

ضمن اینکه این دو سازه پنهان ژنتیکی نتوانسته‌اند واریانس ویژگی‌های ماندگاری (ft) را تبیین کنند (R2 برابر با صفر هست). شاخص RMSR نیز در برآورد نکویی برازش مدل مقدار ۰/۱۶۳ را نشان می‌دهد که نشان می‌دهد مدل مذکور مدل مناسبی نیست. جداول ۸ و ۹ معیارهای برازش بیشتری را برای مدل ۲ نشان می‌دهند.

شکل ۲ نمایش مدل SEM با ساختاری مشابه با مدل ۱ (نمودار ۱) است با این تفاوت که برای سازه پنهان ژنتیکی pt معرف یا صفت تولید پروتئین (PY) حذف شده است. چنانکه در مدل پیداست متغیرهای پنهان pt و rpt هر یک جداگانه روی متغیر پنهان ft اثر علی از خود نشان می‌دهند. نتایج خود گردان سازی داده‌ها نشان داد که ضرایب تاثیر رگرسیونی pt و rpt روی ft معنادار نیست و با صفر تفاوت معناداری ندارد.

جدول ۸- معیارهای برازش برای مدل ۲ و مقادیر آن

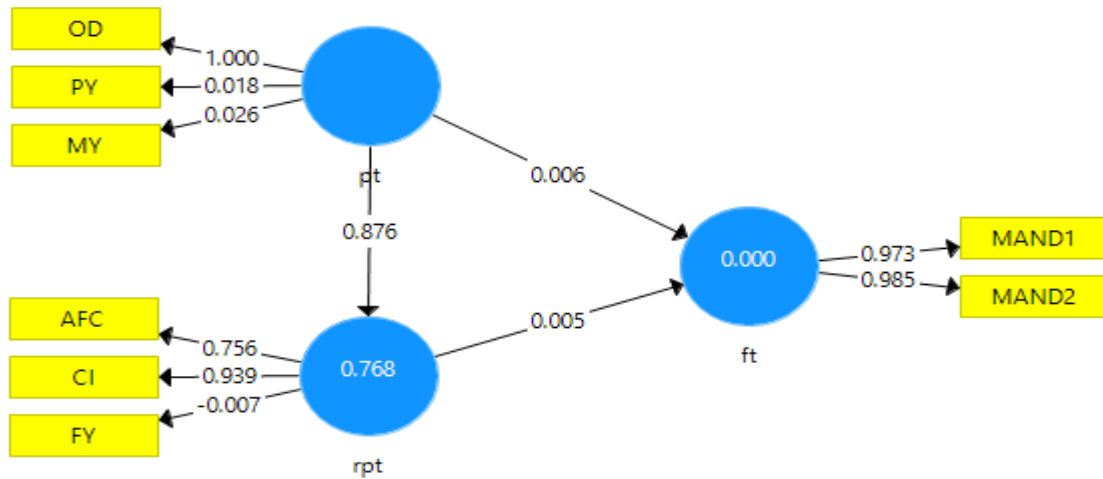
Table 8. Fitted criteria for model 2 and its values

معیار	مدل اشباع	مدل برآورد
SRMR	۰/۱۶۳	۰/۱۶۳
d_ULS	۰/۷۴۵	۰/۷۴۵
d_G	۰/۵۱۵	۰/۵۱۵
chi-Square	۱۹۴۹۱/۶۳۵	۱۹۴۹۱/۶۳۵
NFI	۰/۵۰۵	۰/۵۰۵

جدول ۹- معیارهای برازش برای سازه‌های پنهان ژنتیکی و مقادیر آن‌ها برای مدل ۲

Table 9. Fitted criteria for hidden genetic structures and their values for model 2

سازه	آلفای کروناخ	rho_A	قابلیت اطمینان کامپوزیت	واریانس متوسط استخراج شده
ft	۰/۹۵۸	۰/۹۵۹	۰/۹۷۹	۰/۹۵۹
pt	۰/۰۲	۰/۰۴۵	۰/۵۹۴	۰/۵۰۲
rpt	۰/۳۶۶	۰/۳۵۳	۰/۶۹۷	۰/۴۴۳



شکل ۳- نمایش گرافیکی مدل SEM برازش یافته که در آن سازه تولیدی (pt) روی سازه ماندگاری (ft) و سازه تولید مثلی (rpt) و همزمان سازه تولید مثلی (rpt) اثر علی روی سازه ماندگاری (ft) دارد.

Figure 3. Representation of graphical fitted SEM in which reproduction construct (rpt) and production construct (pt) have causal effect on longevity (ft)

شکل ۳-۱ (۰/۰۵۱). همچنین هر چند سازه‌های تولیدی و تولید مثلی روی سازه ماندگاری تاثیر معناداری نداشت و نمی‌توانند واریانس آنرا تبیین کنند ولی ویژگی‌های سازه تولیدی با تاثیر استاندارد به میزان ۰/۸۷۶ قادر است ۰/۷۷ درصد واریانس ویژگی‌های تولید مثلی را تبیین نماید. جداول ۱۰ و ۱۱ معیارهای برازش بیشتری را برای مدل ۳ نشان می‌دهند.

شکل ۳ مدل SEM را نشان می‌دهد که سازه pt اثر علی روی سازه rpt دارد و هر دو روی سازه ft اثر علی از خود نشان می‌دهند. با در نظر گرفتن این فرض که سازه pt روی سازه rpt اثر می‌گذارد، مدل مفروض آزمون شده است. خروجی محاسبات این مدل نشان می‌دهد ضمن اینکه میانگین واریانس استخراج شده تمامی عوامل بالای ۰/۵ بود، کلیت مدل از برازش مناسبی برخوردار بود (RMSR برابر با

جدول ۱۰- معیارهای برازش برای مدل ۳ و مقادیر آن

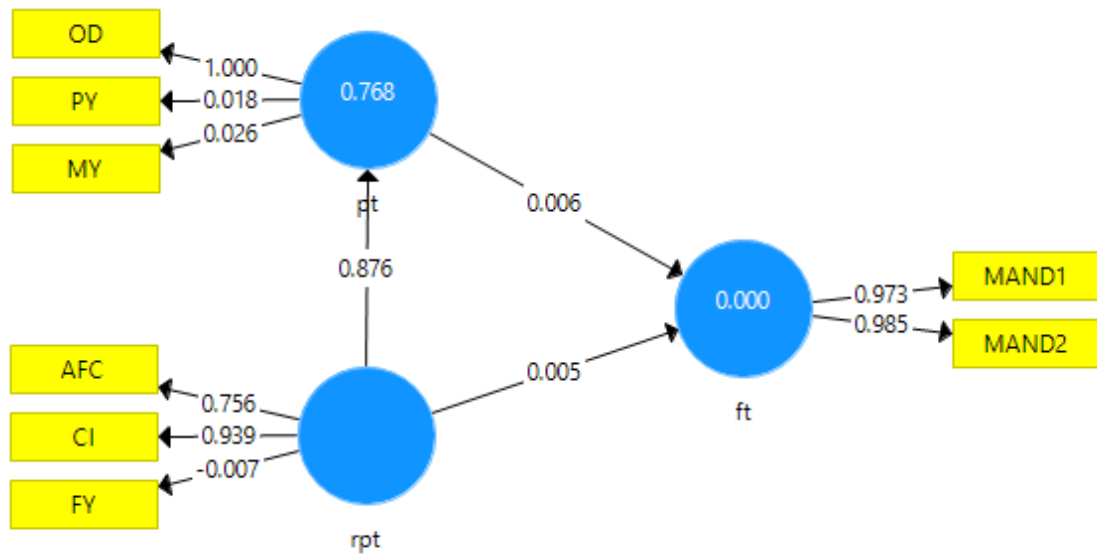
Table 10. Fitted criteria for model 3 and its values

معیار	مدل اشباع	مدل برآورد
SRMR	۰/۰۵۱	۰/۰۵۱
d_ULS	۰/۰۹۵	۰/۰۹۵
d_G	۰/۱۳۷	۰/۱۳۷
chi-Square	۷۶۴۵/۵۲۰	۷۶۴۵/۵۲۰
NFI	۰/۸۰۶	۰/۸۰۶

جدول ۱۱- معیارهای برازش برای سازه‌های پنهان ژنتیکی و مقادیر آن‌ها برای مدل ۳

Table 11. Fitted criteria for hidden genetic structures constructs their values for model 3

سازه	آلفای کروناخ	rho_A	قابلیت اطمینان کامپوزیت	واریانس متوسط استخراج شده
ft	۰/۹۵۸	۱/۰۱۶	۰/۹۷۹	۰/۹۵۹
pt	۰/۰۱۹	۰/۵۵۸	۰/۳۵۳	۰/۳۳۴
rpt	۰/۳۶۶	۰/۸۳۸	۰/۶۴۸	۰/۴۸۴



شکل ۴- نمایش گرافیکی مدل SEM برازش یافته که در آن سازه تولیدی (rpt) روی سازه ماندگاری (ft) و سازه تولید مثل (pt) و همزمان سازه تولید مثل (rpt) اثر علی روی سازه ماندگاری (ft) دارد.
 Figure 4. Representation of graphical fitted SEM in which reproduction construct (rpt) and production construct (pt) have causal effect on longevity (ft) and simultaneously reproduction construct (rpt) has casual effect on longevity construct (pt)

مناسبی برخوردار بود (RMSR برابر با ۰/۰۵۱). همچنین هرچند سازه‌های rpt و pt روی سازه ft تاثیر معناداری نداشت و نمی‌توانستند واریانس آنرا تبیین کنند ولی rpt با تاثیر استاندارد به میزان ۰/۸۷۶ قادر است ۰/۷۷ درصد واریانس pt را تبیین نماید. جداول ۱۲ و ۱۳ معیارهای برازش بیشتری را برای مدل ۴ نشان می‌دهند.

شکل ۴ با در نظر گرفتن این فرض که سازه rpt روی سازه pt اثر علی می‌گذارد، مدل مفروضه آزمون شده است. مدل یاد شده مانند ۳ است با این تفاوت که جهت علیت بین دو سازه rpt و pt عوض شده است. خروجی محاسبات این مدل نشان داد ضمن اینکه میانگین واریانس استخراج شده تمامی سازه‌ها بالای ۰/۵ هست، کلیت مدل نیز از برازش

جدول ۱۲- معیارهای برازش برای مدل ۴ و مقادیر آن

معیار	مدل اشیاع	مدل برآورد
SRMR	۰/۰۵۱	۰/۰۵۱
d_ULS	۰/۰۹۵	۰/۰۹۵
d_G	۰/۱۳۷	۰/۱۳۷
chi-Square	۷۶۴۵/۵۲	۷۶۴۵/۵۲
NFI	۰/۸۰۶	۰/۸۰۶

جدول ۱۳- معیارهای برازش برای سازه‌های پنهان ژنتیکی و مقادیر آن‌ها برای مدل ۴
 Table 13. Fitted criteria for hidden genetic structures and their values for model 4

سازه	الفای کرونیخ	rho_A	قابلیت اطمینان کامپوزیت	واریانس متوسط استخراج شده
ft	۰/۹۵۸	۱/۰۱۶	۰/۹۷۹	۰/۹۵۹
pt	۰/۰۱۹	۰/۵۵۸	۰/۳۵۳	۰/۳۳۴
rpt	۰/۳۶۶	۰/۸۳۸	۰/۶۴۸	۰/۴۸۴

بار عاملی معنا دار شود. معمولا این بار عاملی کمتر از ۰/۰۳ نباید باشد. مشخصه دوم مدل SEM بخش ساختاری آن است. به رابطه بین سازه‌های پنهان می‌پردازد که ضرایب رگرسیون هستند. معیار آرایه این ضرایب این است که تفاوت معنی دار با صفر داشته باشد و مقادیر آن زیر ۰/۵ باشد. در مدل ۱ چند شکل وجود دارد. بارهای عاملی که pt با آن‌ها اندازه‌گیری شده معنادار نیستند این دو معرف PY و MY، معرف‌های (صفات) مناسبی برای اندازه‌گیری pt نیستند. در

همانطور که گفته شد، SEM از دو بخش تشکیل می‌شود: بخش اندازه‌گیری و بخش ساختاری. در مدل‌های SEM به کار رفته در این پژوهش (مثل نمودار ۱)، سازه pt با چند معرف آشکار (صفت) OD و PY و MY اندازه‌گیری شده. به این مدل که با این سه معرف اندازه‌گیری شده است، یک مدل اندازه‌گیری می‌گویند. این مدل دارای چند بار عاملی (سازه‌ایی) است. به عبارتی پیکانی که از pt به OD و PY و MY رفته دارای بار عاملی است که pt باید زیر ۰/۰۵ باشد تا

است که قابل قبول است ولی برای سه مدل قبلی قابل قبول نیست. این مدل‌ها نشان داد معرف‌هایی (صفات) که برای ایجاد سازه‌های pt و rpt در نظر گرفته شده بودند، معرف‌های مناسب و درستی نبودند. معرف‌هایی که برای ft در نظر گرفته شده‌اند مناسب بودند. گزارش دادن تمام نتایج برآورد شده در این پژوهش نه الزم و نه امکان پذیر است و همه آنها نیز برای خوانندگان جذابیت ندارد. تفسیر مناسب از شاخص‌های برازندگی مستلزم تصمیم پژوهشگر در رابطه با نقاط بحرانی یا نقاط برش مقادیر این شاخص‌ها است.

میزان وراثت‌پذیری‌های برآورد شده برای صفات تولیدی، تولید مثلی و عملکردی با استفاده از روش‌های تجزیه و تحلیل‌های تک صفتی و چند صفتی تقریباً نزدیک به هم برآورد شدند. در میان صفات تولیدی و تولید مثلی، صفت چربی و سن اولین زایش بیشترین میزان وراثت‌پذیری را به خود اختصاص دادند. وراثت‌پذیری صفات تولیدی در حد متوسط و وراثت‌پذیری صفات تولید مثلی پایین برآورد شدند. برآوردهای پایین وراثت‌پذیری نشان داد که صفات باروری ممکن است تا حد زیادی تحت تاثیر شرایط محیطی قرار بگیرند. بنابراین بهبود در تغذیه و مدیریت تولید مثلی احتمالاً می‌تواند تاثیر بیشتری روی باروری داشته باشد. با توجه به ارزش اقتصادی و مهم این صفات تولیدی و تولید مثلی در صنعت پرورش گاو شیری ایران می‌بایست از ارزیابی‌های ژنتیکی چند صفتی بهره برد. نتایج تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی با استفاده از مدل‌های دو صفتی نشان داد که همبستگی ژنتیکی قوی و معکوسی بین صفات تولیدی (تولید شیر- چربی)، بین صفات تولید مثلی (فاصله زایش- روزهای باز) وجود دارد. با این حال متاسفانه در روش‌های ارزیابی ژنتیکی چند صفتی امکان برآورد رابطه علی بین صفات وجود ندارد. نتایج این پژوهش نشان داد صفت ژنتیکی پنهان تولیدی دارای اثر علی روی صفت ژنتیکی پنهان تولید مثلی و روی صفت ژنتیکی پنهان عملکردی است که باز خود صفت ژنتیکی پنهان تولید مثلی روی صفت ژنتیکی پنهان عملکردی اثر علی مستقیم دارد. استفاده از متغیرهای پنهان و با توجه به میزان مقادیر برآورد شده برای بارهای عاملی با استفاده از دو روش مدل‌سازی ساختاری سبب ارزیابی بهتر از روابط بین متغیرها خواهد شد. پیشنهاد می‌شود از مدل‌های تابعیت تصادفی به دلیل صحت بالاتر در برآورد پارامترهای ژنتیکی رکوردهای روز آزمون صفات تولید شیر مورد استفاده واقع شود. هم‌چنین از سایر صفات به دلیل همبستگی ژنتیکی بالای سایر صفات تولیدمثلی هم‌چون طول دوره خشکی، تعداد تلقیح، با صفات تولید مثلی مورد مطالعه در این تحقیق نیز در ارزیابی ژنتیکی صفات تولیدمثلی استفاده شود.

بخش برازش مدل، شاخص‌های برازش مدل نشان داده شده است. این شاخص‌ها میزان انطباق داده‌های تجربی با مدل نظری را نشان می‌دهد. از بین این شاخص‌ها با SRMR و ML سرو کار داریم که باید زیر ۰/۰۹ باشند و در مدل ۱ بالای ۰/۰۹ هستند و برابر ۰/۱۴ هستند. قابلیت اطمینان کامپوزیت اعتبار و پایداری سازه را می‌سنجد. مقدار آلفا کورن باخ فقط در ft قابل قبول است و به ما نشان می‌دهد معرف‌هایی که برای اندازه‌گیری pt در نظر گرفتیم معرف‌های (صفات) مناسبی نیستند و بهم ارتباط ندارند و در مورد ft این مشکل وجود ندارد. مقدار واریانس متوسط استخراج شده باید بالای ۵ باشد فقط ft بالای ۵ است و در بقیه موارد مقدار لازم واریانس را نتوانستند که داشته باشند. در مورد ساختی مدل ۱ اثر pt بر روی ft برابر با ۰/۰۰۱ است. و اثر rpt روی ft برابر با ۰/۰۱۵ است که مشخصاً اثر معناداری ندارند. نتایج خود گردان سازی داده‌ها نشان داد که این مقدار قابل قبول نیست چرا که مقدار P-value بالای ۰/۵ است. از طرفی داخل سازه پنهان ft مقدار واریانس صفر شده است و pt و rpt نتوانسته‌اند هیچ مقدار از واریانس ft را توضیح دهند. در مدل ۲ برای اینکه اندازه گیری درست‌تر باشد، در سازه pt معرف یا صفت PY حذف شد. واریانس متوسط استخراج شده در ft و pt به حد قابل قبولی رسید اما کرون باخ pt و rpt پایین بود و ضرایب رگرسیونی موثر بر ft باز هم با صفر تفاوت معناداری نداشت و اثر گذاری آن روی ft نشان داد که ضرایب رگرسیونی نتوانستند واریانس ft را تبیین کنند. شاخص مدل ۰/۱۶۲ بود که باید زیر ۰/۰۸ باشد این بدان معنی است که مدل برازش مناسبی ندارد. در مدل ۳ هر چند pt یا rpt نتوانستند روی ft اثر بگذارند ولی pt قادر بود روی rpt اثر بگذارد و میزان ضریب رگرسیون ۰/۸۷۶ شد و در مجموع pt توانست ۷۷ درصد از واریانس rpt را تبیین کند. در مورد شاخص برازش مدل، شاخص مناسبی است و SRMR برابر ۰/۰۵۱ بود که قابل قبول است. اما در مورد شاخص‌های اعتباری مدل کورن باخ، آلفا و p value وجود دارد که نشان می‌دهد معرف‌هایی که برای اندازه گیری pt و rpt در نظر گرفته شده اند، مناسب نبودند. در مدل ۴ مشاهده می‌شود که مدل ۴ همان مدل ۳ هست فقط عکس رابطه در نظر گرفته شده است. در اینجا فرض شده است که rpt می‌تواند روی pt اثر گذارد. مقدار ضریب رگرسیون آن ۰/۸۷۶ است و rpt می‌تواند حدود ۷۷٪ از pt را تبیین کند و این درحالی است که pt و rpt روی ft اثر گذار نیستند. شاخص SRMR ۰/۵۱ است که نشان می‌دهد مدل از برازش خوب و مناسب برخوردار است. آلفا کورن باخ برای مدل ۴ قابل قبول و بالای ۰/۷ است و واریانس متوسط استخراج شده آن هم بالای ۰/۵

منابع

1. Abdel-Gader A.Z., A. Musa, and L.M.Ahmad, A. Musa. 2007. Milk yield and reproductive performance of Friesian cows under Sudan tropical conditions. *Archives Animal Breeding*, 50(2): 155-164.
2. Aghajari, Z., A. Ayatollahi Mehrgardi, R. Tahmasbi and M. Moghbeli. 2015. Genetic and phenotypic trends of productive and reproductive traits in Iranian holstein dairy cattle of Isfahan province. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 5(4): 819-825.
3. Assadollahi, S.S. and N.Q. Hosseinzadeh. 2016. Genetic analysis of twinning and the distance between calving in Iranian Holstein cows using Bayesian method based on Gibbs sampling. 7th Iranian Congress of Animal Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
4. Barazandeh, A., M.R. Mohammadabadi, M. Ghaderi and H. Nezamabadipour. 2016. Predicting CpG islands and their relationship with genomic feature in cattle by hidden markov model algorithm. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6: 571-579.
5. Bitaraf Sani, M., A. Aslaminejad and A. Seyeddokht. 2013. Genetic evaluation of age at first calving, open days and milk production of Holstein cattle in Iran. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 5(1): 62-68.
6. Bousquet, D., E. Bouchard and D. DuTremblay. 2004. Decreasing fertility in dairy cows: Myth or Reality. 23rd World Buiatrics Congress, Quebec City, Canada.
7. Byrne, B.M. 2016. Structural equation modeling with AMOS: Basic concepts, applications and programming: 1ST edn, Routledge. 416 pp.
8. Campos, R., J.A. Cobuci, E.L. Kern, C.N. Costa and C.M. McManus. 2015. Genetic parameters for linear type traits and milk, fat, and protein production in Holstein cows in Brazil. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(4): 476-489.
9. Chookani, A., M. Dadpasand, H.R. Mirzaii, M. Rokouii and M.B. Sayadnejad. 2010. An estimation of genetic parameters for some reproductive traits and their relationships to milk yield in Iranian holstein cattle. *Iranian Journal of Animal Science*, 4(40): 53-61.
10. Cooke, J.S., Z. Cheng, N.E. Bourne and S.C. Wathes. 2013. Association between growth rates, age at first calving and subsequent fertility, milk production and survival in Holstein-Friesian heifers. *Journal of Animal Sciences*, 3(1): 1-12.
11. Dastanian, V., S. Khalajzadeh and M.B. Sayadnejad. 2012. Evaluation of milk production in the first lactation period of Iranian Holstein cows in different provinces of the country. Fifth Iranian Congress of Animal Sciences, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
12. Ebrahimi, Z., M.R. Mohammadabadi, A.K. Esmailizadeh, A. Khezri and A. Najmi Noori. 2015a. Association of PIT1 gene with milk fat percentage in Holstein cattle. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 5: 575-582.
13. Ebrahimi, Z., M.R. Mohammadabadi, A.K. Esmailizadeh and A. Khezri. 2015b. Association of PIT1 gene and milk protein percentage in Holstein cattle. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 3: 41-49.
14. Faid-Allah, E. 2015. Genetic and non-genetic analysis for milk production and reproductive traits in Holstein cattle in Egypt. *Indonesian Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 20(1): 10-17.
15. Faraji-Arough, H., A.A. Aslaminejad and H. Farhangfar. 2011. Estimation of genetic parameters and trends for age at first calving and calving interval in Iranian Holstein cows. *Journal of Research Agriculture Science*, 7(1): 79-87.
16. Faraji-Arough, H. and M. Rokouei. 2016. Bayesian inference of genetic parameters for reproductive traits in Sistani native cows using Gibbs sampling. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 4(2): 39-49.
17. Forabosco, F. 2005. Breeding for longevity in Italian Chianina cattle *Journal of Livestock Science and Technologies*, 4(2): 39-49.
18. Fu, X., L. Lu, X. Huang, Y. Wang, K. Tian, X. Xu, F. Jiqing, C. Liming, G. Zhiqin and Y. Tian. 2017. Estimation of genetic parameters for 305 days milk yields and calving interval in Xinjiang brown cattle. *Agricultural Sciences*, 8(1): 46-55.
19. Ghasemi, M., A. Baghizadeh and M.R. Abadi. 2010. Determination of genetic polymorphism in Kerman Holstein and Jersey cattle population using ISSR markers. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4: 5758-5760.
20. Ghiasi, H., M. Khaldari and R. Taherkhani. 2014. Genetic and phenotypic analyses of milk production and fertility traits of Iranian Holstein dairy cattle. *Journal of Livestock Research*, 2(2): 29-36.

21. Ghazi Khani Shad, A., M.B. Sayadnejad and M.A. Heidari. 2010. The effect of first calving age and maternal age on production traits of Iranian Holstein cows. *Journal of Animal Science and Research*, 5: 51-41.
22. González-Recio, O. and R. Alenda. 2005. Genetic parameters for female fertility traits and a fertility index in Spanish dairy cattle. *Journal of dairy science*, 88(9): 3282-3289.
23. Goshu, G., H. Singh, K.J. Petersson and N. Lundeheim. 2014. Heritability and correlation among first lactation traits in Holstein Friesian cows at Holeta Bull Dam Station, Ethiopia. *International Journal of Livestock Production*, 5(3): 47-53.
24. Guo, G., X. Guo, Y. Wang, X. Zhang, S. Zhang, X. Li and L. Du. 2013. Estimation of genetic parameters of fertility traits in Chinese Holstein cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 94(2): 281-285.
25. Hare, E., H.D. Norman and J.R. Wright. 2006. Trends in calving ages and calving intervals for dairy cattle breeds in the United States. *Journal of Dairy Science*, 89: 365-370.
26. Madahi, N., P. Zamani and A. Rostami, 2016. Genetic analysis of the first age of insemination, the first age of calving in Holstein cows in Hamadan province. 7th Iranian Congress of Animal Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
27. Motamedi, M.M., F. Eftekhari Shahroudi, R. Valizadeh, H. Farhangfar, M. Bashtani and H. Naemipour . 2011. Estimation of genetic parameters for some production and reproduction traits in a herd of Holstein cow, 24(90): 22-27.
28. Moghadasin, M. and M. Falsafi Nejhadi. 2012. Application of structural equation models to estimate reliability and validity of psychological tests and assess the reliability and validity of adult ADHD diagnostic scale. *Quarterly of Educational Measurement*, 3(10): 103-138.
29. Nafez, M.S., S. Zarehdaran, A. Hassani and R. Samiei. 2012. Genetic evaluation of production and reproductive traits in Holstein cows in the north of the country. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 4(1): 77-69.
30. Ilyas, A., S.M. Suhail and M. Shafiq. 2008. Heritability estimates and genetic correlations of various production and reproductive traits of different grades of dairy cattle reared under subtropical condition. *Reproduction in Domestic Animals*, 54: 1026-1033.
31. Kharrati Koopaei, H., M.R Mohammad Abadi, S. Ansari Mahyari, A.R. Tarang, P. Potki and A.K. Esmailizadeh. 2012. Effect of DGAT1 variants on milk composition traits in Iranian Holstein cattle population. *Animal Science Papers and Reports*, 30(3): 231-240.
32. Kharrati Koopaei, H., M.R Mohammadabadi, S. Ansari Mehyari, A.K. Esmailizadeh, A. Tarang and M. Nikbakhti. 2011. Genetic variation of DGAT1 gene and its association with milk production in Iranian holstein cattle breed population. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 3(2): 185-192.
33. Kline, R.B. 2015. Principles and practice of structural equation modeling. Guilford publications, New York, USA.
34. Mohammad Abadi, M.R. and A. Mohammadi. 2010. Study of beta-lactoglobulin genotypes in native and Holstein cattle of Kerman province. *Journal of Animal Productions*, 12(2): 61-67.
35. Pasandideh, M., M.R. Mohammadabadi, A.K. Esmailizadeh and A. Tarang. 2015. Association of bovine PPARGC1A and OPN genes with milk production and composition in Holstein cattle. *Czech Journal Animal Science*, 60: 97-104.
36. Pozveh, S.T., A.A. Shadparvar, M.M. Shahrababak and M.D and Taromsari. 2009. Genetic analysis of reproduction traits and their relationship with conformation traits in Holstein cows. *Journal of Livestock Science*, 125(1): 84-87.
37. Raykov, T. and G.A. Marcoulides. 2012. A first course in structural equation modeling, New York, 2nd Edition. 248pp.
38. Sadeghi Sefidmazgi, A., M. Moradi Shahrababak, A. Nejati Javaremi, S.R. Miraei Ashtiani and P.R. Amer. 2012. Breeding objectives for Holstein dairy cattle in Iran. *Journal of Dairy Science*, 95: 3406-3418.
39. Sargolzae, M. 2002. Pedigree, user guide. Department of Animal and Genetic, Animal Science Research institute. Karaj. Iran.
40. Shirmoradi, Z., A. Salehi, R.Pahlavan and M. Mollasalehi. 2010. Genetic parameters and trend of production and reproduction traits in Iranian Holstein cattle, *Animal Production*, 12(2): 21-28.
41. Shahdadi, S.D.A. Hassani, M. Saghi, A.R. Ahani Azari, B. Eghbal and A. Rahimi. 2014. Estimation of genetic parameters of A.R. first lactation production and reproduction traits in Iranian Holstein dairy cows. *Journal of Ruminant Research*, 1(4): 109-126.

42. Solemani-Baghshah, S., S. Ansari-Mahyari, M.A. Edriss and H. Asadollahpour Nanaei. 2014. Estimation of genetic and phenotypic trends for age at first calving, calving interval, days open and number of insemination to conception for Isfahan holstein cows. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2(5): 1307-1314.
43. Ulhôa Magnabosco, C.F., G. Brito Lopes, MR. Jordão de and R.D. Sainz. 2016. Bayesian estimates of genetic parameters for reproductive traits in Nelore cows raised on pasture in tropical regions. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 29(2): 22-36.
44. Van Raden, P., A. Sanders, M. Tooker, R.H. Miller, H.D. Norman, M.T. Kuhn and G.R. Wiggans. 2004. Development of a national genetic evaluation for cow fertility. *Journal of Dairy Science*, 87: 2285-2292.
45. Weigel, K. 2006. Prospects for improving reproductive performance through genetic selection. *Animal Reproduction Science*, 96: 393-330.
46. Zeleke, B., K. Kebede and B.A. Kumar. 2016. Estimation of genetic parameters for reproductive traits of Fogera and Holstein Friesian crossbred cattle at Metekel Ranch, Amhara region, Ethiopia. *Online Journal of Animal Feed Research*, 6: 90-95.
47. Zink, V., J. Lassen and M. Štípková. 2012. Genetic parameters for female fertility and milk production traits in first-parity Czech Holstein cows. *Czech Journal Animal Science*, 57(3): 108-114.

Structural Equations Modeling of Hidden Genetic Constructs of Production, Reproduction and Longevity in Holstein Cows in Iran

Mostafa Ghaderi-Zefrehei¹, Farshad Gravand², Azadeh Torabi³ and Seyyed Samad Beheshti⁴

1- Associate Professor, Department of Animal Science, Yasouj University, Yasouj, Iran
(Corresponding Author: Mostafa Ghaderi-Zafrehei)

2- Student of Genetics and Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran

3- Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran

4- Assistant Professor, Department of Social Sciences, Yasouj University, Yasouj, Iran

Received: June 12, 2020

Accepted: October 4, 2020

Abstract

In structural equation modeling, it is possible to create hidden variables that cannot be directly measured by the researcher. The aim of this study was to model the structural equations of hidden genetic constructs of production, reproduction and longevity of Holstein dairy cows in Iran using breeding value of the traits that make up these constructs. Accordingly, the breeding value of the traits of the age at first calving, calving interval and the open days made up the hidden genetic construct of reproductive production; the adjusted milk, fat, and protein production traits formed the hidden genetic construct of the product and the lifetime traits in the herd and the productive lifespan constituted the hidden genetic construct of longevity. Estimation of single-trait and multi-trait animal model of genetic variance components, breeding values of each of the above traits was performed using Bayesian method conducted in GIBBS3F90 software. For this purpose, 500,000 rounds were performed and 50,000 initial samples – as burnt-in were removed from analysis. Then, using the variance-based method implemented in SMARTPLS software, 4 conceptual models of structural equation modeling (SEM) were created using the breeding value of the mentioned traits. Using the single animal model, the heritability of milk, fat and protein productions, age at first calving, calving interval, open days, lifetime in herd and production lifespan were 0.36, 0.55, 0.56, and 0.0250, 0.24, 0.07, 0.07 and 0.011, and using the multi-animal model, these values were 0.21, 0.52, 0.42, 0.48, 0.38, and 0.08, 0.0, 0.74 and 0.51, respectively. The estimated genetic correlation between the traits varied from -0.87 (milk production-fat production) to 0.98 (lifetime in herd and productive lifespan). The report root means square residuals (RMSR) on different SEM models fitted to breeding values of the traits that made up the various structures showed that the best fit was obtained when reproduction and production constructs had causative effect on longevity construct. This type of modeling approach has been used for the first time in the animal sciences which is rooted in social science researches. Therefore, adapting SEM modeling assumptions to the reality of animal sciences data can be a new field for breeding specialists, especially managers of production farms, because researchers in breeding sciences can ask many questions and hypotheses in the form of different constructs and create appropriate and establish a better management for the breeding farm due to the significant causal relationship between the extracted constructs.

Keywords: Bayesian method, Hidden construct, Holstein cow, Structural equation modeling (SEM)

Research on Animal Production

Publisher: Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

Managing Director: Mansour Rezaei

Chief Editor: Ghodrat Rahimi Mianji

Executive Manager of University Scientific Journals: Rhmat Abasi

Editorial Boards:

Ansari Pirsaraei, Zorbakht	Associate Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Boldaji, Fatoollah	Professor, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University
Hafezian, Seyyed Hassan	Associate Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Jafari Ahangari, Yosef	Professor, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University
Moradi Shahre Babak, Mohammad	Professor, University of Tehran
Nasiri Moghadam, Hassan	Professor, Ferdowsi University of Mashhad
Rahimi Mianji, Ghodrat	Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Rezaei, Mansour	Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Shivazad, Mahmoud	Professor, University of Tehran
Teimouri Yansari, Asadollah	Associate Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Torbatinejad, Nourmohammad	Professor, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University

Editor: Ghodrat Rahimi Mianji

Typesetting and Layout: Office of Scientific Journals- Fatemeh Esmaili

Price: 100000 Rials

Address: Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

P.O.Box: 578, Sari, IRAN

Fax: +981133687437 ***Tel:*** +981133687437

Email: journal@sanru.ac.ir

Web Address: <http://rap.sanru.ac.ir>



The Effect of Dietary Supplementation with Organic and Inorganic Selenium on Quality of Frozen-Thawed Semen in Broiler Breeder Cockerel under Oxidative Stress with Dexamethasone	10
Namdar Kamrani, Amir Karimi, Zabihullah Nemati and Maghsoud Besharati	
Ursolic Acid Improve Skeletal Muscle Hypertrophy by Increasing of PAX7, Myod and Myogenin Expression and Satellite Cells Proliferation in Native Broiler Chickens	19
Hengameh Moradi, Abdullah Mohammadi Sang Cheshmeh, Seyed Davood Sharifi, Sim Zar Hosseinzadeh, Ehsan Seyed Jafari and Abdolreza Salehi	
Effect of Dietary Electrolyte Balance and Probiotic on Performance and Carcass Characteristics of Japanese Quails Under Heat Stress Conditions	30
Mohammad Reza Mofidi, Mostafa Yousef Elahi, Houshang Lotf Elahyan, Farzad Bagherzadeh Kasmani and Mohammad Reza Deghani	
Effects of Extruded Flaxseed and Conjugated Linoleic Acid on Growth Performance in Holstein Milk-Fed Calves	38
Mohsen Ramezani, Farzad Mirzaei Aghjehgheshlagh and Bahman Navidshad	
The Effect of Canola Seed (Raw and Roasted) and Dietary Concentrate Level on Growth Performance and Quantitative and Qualitative Carcass Traits of Lori Male Lambs	48
Behrouz Yarahmadi, Mohsen Mohamadi Saei, Alireza Cheqeni, Nader Papi and Alireza Aghashahi	
Effect of Different Levels of Potato on Nutrient Digestibility, Fibrolytic Enzyme and Ruminal Characteristics in Dalagh Ewes	56
Katayoun Mehrani, Taghi Ghoorchi, Abdolhakim Toghdory and Raheleh Rajabi Ali Abadi	
Investigation of Ruminal Degradability and Intestinal Digestibility in Soybean and Canola Meals Coated with Different Fat Sources	65
Mohsen Ebrahimzadeh, Mehdi Ganjkanlu, Mehdi Dehghan benadaki, Abolfazl Zali and Kamran Reza Yazdi	
Evaluating the Role of Corticotropin Receptors on Feed Intake Using Melanocortin Receptor Agonists in Neonatal Broilers	73
Fariba Ahmadi Dashtiani, Morteza Zendehtdel, Vahab Babapour and Negar Panahi	
The Effect of Bitter Orange Blossom Powder on Growth Performance, Carcass Characteristics and Some Blood Parameters of Broiler Chickens Under Heat Stress Condition	82
Michael Gholipour, Vahid Vahedi, Shahin Hajjighahremani and ZARBAKHT Ansari Pirsarei	
Effect of Different Levels of Cottonseed Meal Bioactive Peptides on Production Efficiency and Serum Antioxidant Activity of Broiler Chickens	91
Mohammad Mohammadrezaei, Bahman Navidshad and Abasali Gheisari	
The Effect of Vitex Agnuse Castus Fruit Powder on Hypothalamic GnRH Gene Expression in Laying Hens	100
Razieh Sabahi, Mahmood Nazari, Mohammad Taghi Beigi Nassiri and Mohammad Reza Ghorbani	
Effect of Markers Effect Estimation Methods, Population Structure and Trait Architecture on the Accuracy of Genomic Breeding Values	108
Abbas Atefi, Abdol Ahad Shadparvar and Navid Ghavi Hossein-Zadeh	
Effect of Reference Population Size and Imputation Methods on the Accuracy of Imputation in Pure and Mixed Populations	114
Yahya Mohammadi and Javad Ahmadpanah	
Estimation of Phenotypic and Genetic Parameters of Egg Quality Traits of Azerbaijan Native Hens	125
Afsaneh Jahedi, Jalil Shodja, Sadegh Alijani and Majid Olyayee	
Association of the Polymorphism Kiss1 Gene Exon 1 with Twin Traits in Sanjabi, Ghezel Breed Sheep by PCR-SSCP Technique	133
Naeimeh Pak Tinat, Ali Hashemi, Mokhtar Ghaffari, Hossein Khameis Abadi and Ronak Salehi	
Structural Equations Modeling of Hidden Genetic Constructs of Production, Reproduction and Longevity in Holstein Cows in Iran	150
Mostafa Ghaderi-Zefrehei, Farshad Gravand, Azadeh Torabi and Seyyed Samad Beheshti	

Research on Animal Production (Scientific)



Ministry of Science, Research and Technology
Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

ISSN 2251-8622

Vol. 11, No. 30, Winter 2021

Contents:

The Effect of Dietary Supplementation with Organic and Inorganic Selenium on Quality of Frozen-Thawed Semen in Broiler Breeder Cockerel under Oxidative Stress with Dexamethasone Namdar Kamrani, Amir Karimi, Zabihullah Nemati and Maghsoud Besharati	10
Ursolic Acid Improve Skeletal Muscle Hypertrophy by Increasing of PAX7, Myod and Myogenin Expression and Satellite Cells Proliferation in Native Broiler Chickens Hengameh Moradi, Abdullah Mohammadi Sang Cheshmeh, Seyed Davoud Sharifi, Sim Zar Hosseinzadeh, Ehsan Seyed Jafari and Abdolreza Salehi	19
Effect of Dietary Electrolyte Balance and Probiotic on Performance and Carcass Characteristics of Japanese Quails Under Heat Stress Conditions Mohammad Reza Mofidi, Mostafa Yousef Elahi, Houshang Lotf Elahyan, Farzad Bagherzadeh Kasmani and Mohammad Reza Dehghani	30
Effects of Extruded Flaxseed and Conjugated Linoleic Acid on Growth Performance in Holstein Milk-Fed Calves Mohsen Ramezani, Farzad Mirzaei Aghjehgheshlagh and Bahman Navidshad	38
The Effect of Canola Seed (Raw and Roasted) and Dietary Concentrate Level on Growth Performance and Quantitative and Qualitative Carcass Traits of Lori Male Lambs Behrouz Yarahmadi, Mohsen Mohammadi Saei, Alireza Cheqeni, Nader Papi and Alireza Aghashahi	48
Effect of Different Levels of Potato on Nutrient Digestibility, Fibrolytic Enzyme and Ruminal Characteristics in Dalagh Ewes Katayoun Mehrani, Taghi Ghoorchi, Abdolkhaki Toghory and Raheleh Rajabi Ali Abadi	56
Investigation of Ruminal Degradability and Intestinal Digestibility in Soybean and Canola Meals Coated with Different Fat Sources Mohsen Ebrahimzadeh, Mehdi Ganjkanlu, Mehdi Dehghan benadaki, Abolfazl Zali and Kamran Reza Yazdi	65
Evaluating the Role of Corticotropin Receptors on Feed Intake Using Melanocortin Receptor Agonists in Neonatal Broilers Fariba Ahmadi Dashtiani, Morteza Zendehelel, Vahab Babapour and Negar Panahi	73
The Effect of Bitter Orange Blossom Powder on Growth Performance, Carcass Characteristics and Some Blood Parameters of Broiler Chickens Under Heat Stress Condition Michael Gholipour, Vahid Vahedi, Shahin Hajjighahremani and Zorbakht Ansari Pirsarei	82
Effect of Different Levels of Cottonseed Meal Bioactive Peptides on Production Efficiency and Serum Antioxidant Activity of Broiler Chickens Mohammad Mohammadrezaei, Bahman Navidshad and Abasali Gheisari	91
The Effect of Vitex Agnuse Castus Fruit Powder on Hypothalamic GnRH Gene Expression in Laying Hens Razieh Sabahi, Mahmood Nazari, Mohammad Taghi Beigi Nassiri and Mohammad Reza Ghorbani	100
Effect of Markers Effect Estimation Methods, Population Structure and Trait Architecture on the Accuracy of Genomic Breeding Values Abbas Atefi, Abdol Ahad Shadparvar and Navid Ghavi Hossein-Zadeh	108
Effect of Reference Population Size and Imputation Methods on the Accuracy of Imputation in Pure and Mixed Populations Yahya Mohammadi and Javad Ahmadpanah	114
Estimation of Phenotypic and Genetic Parameters of Egg Quality Traits of Azerbaijan Native Hens Afsaneh Jahedi, Jalil Shodja, Sadegh Alijani and Majid Olyayee	125
Association of the Polymorphism Kiss1 Gene Exon 1 with Twin Traits in Sanjabi, Ghezal Breed Sheep by PCR-SSCP Technique Naimeh Pak Tinat, Ali Hashemi, Mokhtar Ghaffari, Hossein Khameis Abadi and Ronak Salehi	133
Structural Equations Modeling of Hidden Genetic Constructs of Production, Reproduction and Longevity in Holstein Cows in Iran Mostafa Ghaderi-Zefrehei, Farshad Gravand, Azadeh Torabi and Seyyed Samad Beheshti	150

Indexing:

