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

پژوهشهای تولیدات دامی (علمی)

سال دوازدهم، شماره ۳۲، تابستان ۱۴۰۰

ISSN 2251-8622

مندرجات:

اثرات نانو ذرات اکسید روی بر صفات عملکرد، شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ و وضعیت پاداکسندگی مرغ‌های تخم‌گذار ۱
امیر جوادی‌فر، سید جواد حسینی واشان، محمدباقر منتظر تربتی و یاسمن شمشیرگران

بررسی تأثیر سطوح مختلف روی و سلنیوم در جیره‌های حاوی روغن اکسیده بر سیستم ایمنی و اندام‌های لنفاوی جوجه‌های گوشتی ۱۱
مسعود صفرزائی، حسن صالح، محمد طاهر میرکزهی و امید جنگجو

تأثیر مکمل‌سازی جیره غذایی با منابع معدنی و آلی سلنیوم بر عملکرد رشد، خصوصیات لاشه و متابولیت‌های خونی در جوجه غازها ۲۰
ذبیح‌اله نعمتی، مقصود بشارتی و محمدرضا حاجی‌پور

تأثیر امولسی‌فایر در جیره‌های حاوی سطوح متفاوت انرژی بر عملکرد، ویژگی‌های لاشه، جمعیت میکروبی روده و قابلیت هضم ایلئومی جوجه‌های گوشتی ۳۱
حامد قلی‌پور نوذری، منصور رضایی و محمد کاظمی‌فرد

مقایسه اثرات تغذیه‌ای اسیدیفایر بر پایه اسید سیتریک با نمونه تجاری برعملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم، pH و ریخت‌شناسی روده جوجه‌های گوشتی ۴۲
علی‌رضا حسابی نامقی، علی نسری‌نژاد و مرضیه افخمی

اثر افزودنی‌های تنظیم‌کننده pH شکمبه بر برخی از فراسنجه‌های کیفی گوشت برههای پرواری تغذیه شده با جیره پرکنسانتره ۵۰
امید خراسانی، مرتضی چاجی و فرشاد باغبان

بررسی و مقایسه ارزش تغذیه‌ای، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های هضم برونتنی دانه و کنجاله پسته کوهی ۶۲
فاطمه گنجی، مسلم باشتنی، سیّد همایون فرهنگ‌فر، سیّد احسان غیاثی و حسین نعیمی‌پور بونسی

اثر استفاده از مونسین بر عملکرد تولیدی و تولید مثلی و سلامت گاوهای هلشتاین در دوره قبل و بعد از زایش ۷۲
بهرام محتشمی، حمیدرضا المونی و حامد خلیلوندی بهروزیار

بررسی اثر عصاره ساپونین بر عملکرد تولیدی، برخی فراسنجه‌های خونی و پروتوزوای شکمبه‌ای گاوهای شیری هلشتاین ۸۰
فریبا رضائی سرتشیزی، مهدی بابائی و جمال سیف دوانی

اثر بازدارنده روغن ماهی در تمایز سلول‌های مزانشیمی به سلول چربی در گوسفند ۸۸
آرش وشکینی، فاطمه کوهکن، علی اسدی‌المونی، عبدالرضا جالخی و عبدالله محمدی سنگ‌چشمه

اثرات کاهش ثابت یا تدریجی شدت نور محیط بر عملکرد، ویژگی‌های لاشه و شاخص‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی ۹۶
محمدهادی ذبیح‌الهی، فرید مسلمی‌پور، شهریار مقصودلو و وحید رضایی‌پور

مطالعه ارتباط غلظت پلاسمایی هورمون‌های لپتین و پروژسترون خون در مراحل قبل و بعد از بلوغ جنسی جوانه گاوهای ماده نجدی ۱۰۷
مرتضی مموبی، الهام منصوری بنی، خلیل میرزاده، آرمین توحیدی، صالح طباطبایی وکیلی و امین کاظمی‌زاده

بررسی اثر گیاه تشنه‌داری بر عملکرد، برخی از فراسنجه‌های خونی و بافت شناسی ژنوژنوم روده بلدرچین ژاپنی در حال رشد ۱۱۴
محمد مشایخی، مهدی خدایی مطلق، ایمان حاج خانعلی و محمدحسین مرادی

تأثیر منابع مختلف سلنیوم و ریزپوشانی کردن سلنیوم بر فراسنجه بارووری و جوجه‌درآوری در مرغ‌های مادر گوشتی نژاد آربورایکرز ۱۲۳
حسام المحمود، سید رضا هاشمی، سید مهدی جعفری، محمود حیدری و احسان اسکوئیان

بررسی هموزیگوسیتی آل‌های جنسی و رابطه آن با صفات میزان جمعیت و تولید عسل در جمعیت‌های زنبورعسل (*Apis mellifera meda*) استان‌های آذربایجان‌غربی و کردستان ۱۳۱
جمال یوسفی، مهدی مخبر، علی هاشمی و عطاله رحیمی

بررسی شاخص‌های تنوع ژنتیکی در یک جمعیت از گاو هلشتاین با استفاده از نشانگرهای متراکم اسنیپ ۱۴۰
رئوف شاکری، آرش جوانمرد، کریم حسن‌پور، مختارعلی عباسی، سید مصطفی مظلوم، مجید خان‌سفید و مهران رحیمی وریشتی

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی برخی مناطق ژنومی در جمعیت گوسفندان بر پایه فراتحلیل ۱۵۰
مهدی بایری یار، سیدحسن حافظیان، امیرحسین خلت‌آبادی فراهانی، ایوب فرهادی و حسین محمدی

واکاوی ترانسکریپتوم بافت پستانی جهت شناسایی ژن‌های عمده اثر در فرآیند تولید شیر ۱۶۰
سعیده اسکندری نسب، زهرا رودباری و محمدرضا محمدآبادی

ارزیابی ژنتیکی و اقتصادی برنامه‌های انتخاب آزمون نتاج با سطوح مختلف تلقیح مصنوعی و رکوردگیری شیر جهت اصلاح نژاد گاومیش خوزستان ۱۶۷
بهاره طاهری دزفولی

تعیین عوامل مدیریتی مؤثر بر میزان تلفات در مزارع پرورش جوجه‌های گوشتی (مطالعه موردی: شهرستان‌های رامیان و آزادشهر) ۱۸۰
حسن رجبلی، فاطمه بحری بیناباج، شهریار مقصودلو و رضا راه‌چمنی

نمایه شده در:

«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.

بسم الله الرحمن الرحیم

پژوهشهای تولیدات دامی

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

سال دوازدهم، شماره ۳۲، تابستان ۱۴۰۰

مندرجات:

اثرات نانو ذرات اکسید روی بر صفات عملکرد، شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ و وضعیت پاداکسندگی مرغ‌های تخم‌گذار ۱
امیر جوادی‌فر، سید جواد حسینی واشان، محمدباقر منتظر تربتی و یاسمن شمشیرگران

بررسی تأثیر سطوح مختلف روی و سلنیوم در جیره‌های حاوی روغن اکسیده بر سیستم ایمنی و اندام‌های لنفاوی جوجه‌های گوشتی ۱۱
مسعود صفرزائی، حسن صالح، محمد طاهر میرکزهی و امید جنگجو

تأثیر مکمل‌سازی جیره غذایی با منابع معدنی و آلی سلنیوم بر عملکرد رشد، خصوصیات لاشه و متابولیت‌های خونی در جوجه غازها ۲۰
ذبیح‌اله نعمتی، مقصود بشارتی و محمدرضا حاجی‌پور

تأثیر امولسی‌فایر در جیره‌های حاوی سطوح متفاوت انرژی بر عملکرد، ویژگی‌های لاشه، جمعیت میکروبی روده و قابلیت هضم ایلئومی جوجه‌های گوشتی ۳۱
حامد قلی‌پور نوذری، منصور رضایی و محمد کاظمی‌فرد

مقایسه اثرات تغذیه‌ای اسیدیفایر بر پایه اسید سیتریک با نمونه تجاری برعملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم، pH و ریخت‌شناسی روده جوجه‌های گوشتی ۴۲
علی‌رضا حسابی نامقی، علی نسری‌نژاد و مرضیه افخمی

اثر افزودنی‌های تنظیم‌کننده pH شکمبه بر برخی از فراسنجه‌های کیفی گوشت بره‌های پرواری تغذیه شده با جیره پرکنسانتره ۵۰
امید خراسانی، مرتضی چاجی و فرشاد باغبان

بررسی و مقایسه ارزش تغذیه‌ای، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های هضم برونتنی دانه و کنجاله پسته کوهی ۶۲
فاطمه گنجی، مسلم باشتنی، سیّد همایون فرهنگ‌فر، سیّد احسان غیاثی و حسین نعیمی‌پور یونسی

اثر استفاده از مونسین بر عملکرد تولیدی و تولید مثلی و سلامت گاوهای هلشتاین در دوره قبل و بعد از زایش ۷۲
بهرام محتشمی، حمیدرضا الموتی و حامد خلیلوندی بهروزیار

بررسی اثر عصاره ساپونین بر عملکرد تولیدی، برخی فراسنجه‌های خونی و پروتوزوای شکمبه‌ای گاوهای شیری هلشتاین ۸۰
فریبا رضائی سرتشنیزی، مهدی بابائی و جمال سیف دواتی

اثر بازدارنده روغن ماهی بر تمایز سلول‌های مزانشیمی به سلول چربی در گوسفند ۸۸
آرش وشکینی، فاطمه کوهکن، علی اسدی‌الموتی، عبدالرضا صالحی و عبدالله محمدی سنگ‌چشمه

اثرات کاهش ثابت یا تدریجی شدت نور محیط بر عملکرد، ویژگی‌های لاشه و شاخص‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی ۹۶
محمدهادی ذبیح‌الهی، فرید مسلمی‌پور، شهریار مقصودلو و وحید رضایی‌پور

مطالعه ارتباط غلظت پلاسمایی هورمون‌های لپتین و پروژسترون خون در مراحل قبل و بعد از بلوغ جنسی جوانه گاوهای ماده نجدی ۱۰۷
مرتضی مموییی، الهام منصوری بنی، خلیل میرزاده، آرمین توحیدی، صالح طباطبایی وکیلی و امین کاظمی‌زاده

بررسی اثر گیاه تشنه‌داری بر عملکرد، برخی از فراسنجه‌های خونی و بافت شناسی ژئوژنوم روده بلدرچین ژاپنی در حال رشد ۱۱۴
محمد مشایخی، مهدی خدایی مطلق، ایمان حاج خدادادی و محمدحسین مرادی

تأثیر منابع مختلف سلنیوم و ریزپوشانی کردن سلنیوم بر فراسنجه باروری و جوجه‌درآوری در مرغ‌های مادر گوشتی نژاد آربوراکرز ۱۲۲
حسام المحمود، سید رضا هاشمی، سید مهدی جعفری، محمود حیدری و احسان اسکوئیان

بررسی هموزیگوسیتی آل‌های جنسی و رابطه آن با صفات میزان جمعیت و تولید عسل در جمعیت‌های زنبورعسل (*Apis mellifera meda*) استان‌های آذربایجان‌غربی و کردستان ۱۳۱
جمال یوسفی، مهدی مخبر، علی هاشمی و عطاالله رحیمی

بررسی شاخص‌های تنوع ژنتیکی در یک جمعیت از گاو هلشتاین با استفاده از نشانگرهای متراکم اسنیپ ۱۴۰
رئوف شاکری، آرش جوانمرد، کریم حسن‌پور، مختارعلی عباسی، سید مصطفی مظلوم، مجید خان‌سفید و مهران رحیمی ورپشتی

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی برخی مناطق ژنومی در جمعیت گوسفندان بر پایه فراتحلیل ۱۵۰
مهدی بایری یار، سیدحسن حافظیان، امیرحسین خلت‌آبادی فراهانی، ایوب فرهادی و حسین محمدی

واکاوی ترانسکریپتوم بافت پستانی جهت شناسایی ژن‌های عمده اثر در فرآیند تولید شیر ۱۶۰
سعیده اسکندری نسب، زهرا رودباری و محمدرضا محمدآبادی

ارزیابی ژنتیکی و اقتصادی برنامه‌های انتخاب آزمون نتاج با سطوح مختلف تلقیح مصنوعی و رکوردگیری شیر جهت اصلاح نژاد گاومیش خوزستان ۱۶۷
بهاره طاهری دزفولی

تعیین عوامل مدیریتی مؤثر بر میزان تلفات در مزارع پرورش جوجه‌های گوشتی (مطالعه موردی: شهرستان‌های رامیان و آزادشهر) ۱۸۰
حسن رجبلی، فاطمه بحری بیناباج، شهریار مقصودلو و رضا راه‌چمنی

سال دوازدهم/ شماره ۳۲ / تابستان ۱۴۰۰

اسامی داوران مقالات در این شماره:

دکتر محمدعلی بهروزی لک
دکتری، دانشگاه ارومیه
دکتر آزاده ترابی
استادیار، دانشگاه پیام نور
دکتر آرش جوانمرد
استادیار، دانشگاه تبریز
دکتر علیرضا خان احمدی
استادیار، دانشگاه گنبد کاووس
دکتر مهدی خدایی مطلق
دانشیار، دانشگاه اراک
دکتر مسعود دیدارخواه
استادیار آموزشکده کشاورزی سرایان، دانشگاه بیرجند
دکتر عیسی دیرنده
دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
دکتر قدرت رحیمی میانجی
استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
دکتر فرجاد رفیعی
استادیار دانشگاه گیلان
دکتر کمال سحرخیز
دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
دکتر جمال سیف دواتی
دانشیار، دانشگاه محقق اردبیلی
دکتر پروین شورنگ
دانشیار پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای
دکتر احسان صالحی فرد
استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد
دکتر فرهاد صمدیان
استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
دکتر بهاره طاهری دزفولی
استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
دکتر امید عشایری‌زاده
استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر محسن قلی‌زاده
دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
دکتر تقی قورچی
استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
دکتر محمد کاظمی فرد
دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
دکتر امیر کریمی
استادیار دانشگاه تبریز
دکتر محمدامیر کریمی ترشیزی
دانشیار دانشگاه تربیت مدرس
دکتر فاطمه گنجی
پژوهشگر پسادکتری دانشگاه بیرجند
دکتر محمد مرادی
دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
دکتر بهرام محتشمی
دکتری، دانشگاه ارومیه
دکتر شهریار مقصودلو
استادیار، دانشگاه گنبدکاووس
دکتر معصومه نصیر اسلام
دکتری گروه علوم دامی، دانشگاه رازی
دکتر وحید واحدی
استادیار، دانشگاه محقق اردبیلی
دکتر سارا یوسفیان
دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

پژوهشهای تولیدات دامی

صاحب امتیاز: معاونت پژوهش و فناوری 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 پیرسرایی، زربخت	دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
بلداجی، فتح الله	استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تربتی‌نژاد، نورمحمد	استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تیموری، اسدالله	دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
جعفری آهنگری، یوسف	استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
حافظیان، سیدحسن	دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
رحیمی میانجی، قدرت	استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
رضائی، منصور	استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
شیوازاد، محمود	استاد، دانشگاه تهران
مرادی شهر بابک، محمد	استاد، دانشگاه تهران
نصیری مقدم، حسن	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 نگارش

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.

٤-۱- عنوان

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

٤-۲- 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.

٤-۳- 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.

٤-٤- مقدمه

مقدمه در برگیرنده 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.

٤-٥- 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.

٤-٦- 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 پیشنهادهای تحقیقاتی نیز در این بخش گنجانده شود.

٤-۷- تشکر و قدردانی

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

٤-۸- 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. Supplemental organically bound mineral compounds in livestock nutrition. In: Garnsworthy, P.C. and J. Wiseman (eds.) Recent advances in animal nutrition. 67-91 pp., 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 از (in press) استفاده شود.

٤-٩- 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 Mitra 12 2 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 Mitra 14 2 و برجسته (Bold)، (۲) نام نویسنده(گان) Mitra 11 2 و برجسته (Bold)، (۳) وابستگی سازمانی نویسنده(گان) Mitra 9 2، (۴) متن چکیده فارسی Mitra 10 2 و برجسته (Bold) و کلمات انگلیسی داخل متن چکیده Times New Roman 8 و برجسته (Bold)، (۵) سرتیتر بخش‌ها Mitra 12 2 و برجسته (Bold) و زیر تیتر هر بخش Mitra 11 2 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 Mitra 11 2 در بالای آنها و عناوین انگلیسی جداول با اندازه قلم Times New Roman 9 و هم چنین عناوین فارسی شکل‌ها با اندازه قلم Mitra 11 2 و عناوین انگلیسی شکل‌ها با اندازه قلم Times New Roman 9 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.

٥- 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 تعهدنامه 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.

٦- 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.

٧- 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.

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

اثرات نانو ذرات اکسید روی بر صفات عملکرد، شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ و وضعیت پاداکسندگی مرغ‌های تخم‌گذار

امیر جوادی‌فر[۱]، سید جواد حسینی واشان[۲]، محمدباقر منتظر تربتی[۳] و یاسمن شمشیرگران[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد پرورش و مدیریت تولید طیور دانشگاه بیرجند
۲- دانشیار تغذیه طیور دانشگاه بیرجند، (نویسنده مسوول: jhosseiniv@birjand.ac.ir)
۳- استادیار ژنتیک و اصلاح دام دانشگاه بیرجند

تاریخ دریافت: ۹۹/۱/۹ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۱۸
صفحه: ۱ تا ۱۰

چکیده

به‌منظور تعیین اثرات نانوذرات اکسید روی بر عملکرد، شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ و وضعیت پاداکسندگی مرغ‌های تخم‌گذار، آزمایشی با ۹۶ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه بونز در اوج تولید (۲۹-۳۷ هفته) در قالب طرح کاملاً تصادفی حاوی ۳ تیمار با ٤ تکرار و ۸ قطعه مرغ در هر تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد (بدون افزودنی) و گروه شاهد همراه با دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم نانواکسید روی بر کیلوگرم جیره بودند. پرندگان در طی ۸ هفته آزمایش با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. یافته‌ها نشان دادند که مکمل نانواکسید روی باعث افزایش گرم تخم‌مرغ تولیدی (۳۵-۳۲ هفتگی) و کاهش مصرف خوراک (۳۱-۲۸ هفتگی) در مقایسه با شاهد شد. با افزایش مکمل نانواکسید روی، واحد هاو در هفته‌های ۳۱ و ۳۵ و صفات کیفی پوسته تخم مرغ شامل مقاومت پوسته (در ۳۱ و ۳۵ هفتگی) و وزن مخصوص و وزن نسبی پوسته تخم‌مرغ (در ۳۵ هفتگی) در مقایسه با شاهد افزایش یافت (p<۰/۰۵). غلظت پروتئین تام، لیپوپروتئین با چگالی بالا، آهن خون و عیار پادتن بر ضدنیوکاسل تحت تاثیر سطح مکمل نانواکسید روی قرار نگرفت. استفاده از مکمل نانوذرات اکسید روی سبب کاهش غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی پایین، غلظت مالون دی‌آلدئید خون و زرده و میزان فعالیت آنزیم آلانین ترانس‌آمیناز شد (p<۰/۰۵). استفاده از مکمل نانوذرات اکسید روی باعث افزایش عیار پادتن بر ضدآنفلوآنزا و افزایش غلظت روی در خون شد (p<۰/۰۵). نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از سطح ۲۰۰ میلی‌گرم مکمل نانوذرات اکسید روی در جیره مرغ تخم‌گذار باعث بهبود شاخص‌های عملکردی، واحد هاو، کیفیت پوسته تخم‌مرغ، کاهش لیپیدهای خون و پاسخ ایمنی در مرغ‌های تخم‌گذار شد.

واژه‌های کلیدی: درصد تولید تخم‌مرغ، کلسترول، کیفیت پوسته تخم مرغ، نانو روی، واحد هاو

مقدمه

پرندگان به‌منظور انجام فعالیت‌های حیاتی خود شامل فعالیت‌های پایه، نگهداری، تولیدمثل، رشد و تولید اقتصادی گوشت و تخم‌مرغ، علاوه‌بر نیاز به درشت مولکول‌ها شامل ترکیبات کربوهیدراتی پروتئینی و چربی، به مواد ریزمغذی شامل ویتامین‌ها و مواد معدنی کم‌نیاز احتیاج وافری دارند (۳۲). به‌منظور تامین احتیاجات مواد معدنی شامل عناصر پرمصرف و عناصر کم مصرف به‌طور عمده از نمک‌های معدنی به‌صورت اکسید، سولفات، کربنات و یا ترکیب مواد معدنی با اسیدآمینه در جیره غذایی استفاده می‌شود. از جمله مواد معدنی کم‌نیاز با اهمیت بالا و موثر در بسیاری از فعالیت‌های حیاتی پرنده عنصر روی است که می‌تواند در افزایش عملکرد رشد و تولیدی طیور نقش مؤثری داشته باشد (۲۲). بسیاری از آنزیم‌های فعال در سامانه‌های عملکردی، فیزیولوژیکی، گوارشی و عصبی پرنده به عنصر روی به‌عنوان کوفاکتور نیاز دارند و کمبود آن می‌تواند باعث اخلال در عملکرد سامانه ایمنی به‌ویژه ایمنی سلولی شود (۳۱). بیشتر جیره‌های طیور تجاری بر پایه ذرت و سویا هستند که نمی‌توانند به‌میزان کافی مواد معدنی مورد نیاز پرنده را فراهم کنند. همچنین به‌دلیل وجود مواد ضد تغذیه‌ای مثل فیتات، بخشی از مواد معدنی جیره از دسترس پرنده خارج می‌شود (۳۲). بنابراین روی به‌دلیل نقش‌های فراوان متابولیکی و محدودیت در قابلیت ذخیره در بدن، باید به‌صورت مکمل به جیره حیوانات افزوده شود، البته هر گونه کاهش یا افزایش آن می‌تواند باعث کاهش عملکرد حیوان شود (۲۳). در مرغ‌های تخم‌گذار با توجه به این‌که بازده اقتصادی گله همبستگی بالایی با عواملی همانند افزایش تولید تخم‌مرغ، بهبود کیفیت پوسته تخم‌مرغ، کاهش ضریب تبدیل غذایی و سلامت گله دارد باید به نقش حیاتی مواد معدنی در فرآیندهای متابولیکی بدن، سلامت گله و فرآیند تولید تخم‌مرغ توجه ویژه داشت (۲۰).

نانو لغتی یونانی به‌معنای بسیار ریز و کوچک است (۲۳) نانومتر، "$۱۰^{-۹}$ متر"، یعنی یک میلیونیم میلی‌متر یا $۱۰^{-۹}$ متر، مقیاس مشخصه مولکول‌های نانو است، یعنی گروهی از اتم‌ها که توسط پیوندهای کووالانسی به یکدیگر متصل شده‌اند (۲۳). به‌دلیل اندازه کوچک، نانو ذرات می‌توانند از جریان خون وارد سیستم لنفاوی و در نهایت وارد بافت‌ها و سلول‌های هدف در بدن شده و در ساختار بافت‌ها به‌کار روند (۳). کاهش اندازه ذرات در مقیاس نانو و افزایش نسبت سطح به حجم در ترکیبات نانو، سبب شده است تا سطح تماس این ترکیبات با سایر مولکول‌های زیستی افزایش‌یافته و فعل‌وانفعالات شیمیایی این مواد با مولکول‌های آلی و غیرآلی در بدن به‌طور متفاوتی صورت گیرد که در بسیاری از موارد هنوز ناشناخته است (۱۶). محققان نشان دادند که با تغییر در ترکیب رژیم

غذایی طیور می‌توان ترکیبات مغذی تخم پرنده را تغییر داد (۲۱؛ ۳۵).

روی اثر مثبتی بر تولید تخم‌مرغ در مرغ‌های مادر گوشتی و تخم‌گذار دارد و سبب بهبود اندازه، کیفیت پوسته و تولید تخم‌مرغ می‌شود (۲۲). عنصر روی از اجزای اصلی آنزیم کربنیک آنهیدراز بوده که در تهیه یون بی‌کربنات در طی فرآیند تشکیل پوسته تخم مرغ نقش دارد و کمبود این آنزیم منجر به ترشح کمتر یون بی‌کربنات (یون اصلی مورد نیاز جهت رسوب کلسیم به‌صورت کربنات کلسیم) می‌گردد و باعث کاهش وزن پوسته تخم‌مرغ می‌شود. ماب و همکاران (۱۶) و محمدی و اکبری (۱۸) با بررسی عملکرد ایمنی و وضعیت پاداکسایشی سرم در جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیره‌های بر پایه گندم حاوی سطوح مختلف نانو ذرات اکسید روی از ۱ تا ۲۱ روزگی نشان دادند که افزودن روی در مقادیر ۶۰ تا ۸۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره، می‌تواند در تقویت پاسخ ایمنی و افزایش مقاومت پاداکسندگی سرم خون جوجه‌های گوشتی مؤثر است. تحقیقات اخیر نشان داده است که افزودن ۶۰ میلی‌گرم نانو روی در کیلوگرم باعث افزایش ضخامت پوسته تخم‌مرغ، هورمون رشد و آنزیم کربنیک آنهیدراز شد (۲۹). احمدی و همکاران (۲) نشان دادند که نانوذرات اکسید روی سبب افزایش وزن بدن، کاهش مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل خوراک جوجه گوشتی می‌شوند و علت آن را به خواص فیزیکی و شیمیایی این ذرات نسبت دادند. در تحقیقات عابدینی و همکاران (۱) مشاهده شد که مصرف مکمل جیره غذایی با نانوذرات اکسید روی کیفیت تخم‌مرغ و پاسخ ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار را بهبود داد لذا می‌توان به‌عنوان یک منبع مناسب از مکمل عنصر روی در جیره غذایی طیور استفاده کرد. بنابراین، هدف از این مطالعه تعیین اثرات نانوذرات اکسید روی بر صفات عملکردی، صفات کیفی تخم‌مرغ، شاخص‌های بیوشیمیایی خون، وضعیت پاداکسندگی خون و زرده تخم‌مرغ و پاسخ ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار بود.

مواد و روش‌ها

برای این منظور از تعداد ۹۶ قطعه مرغ تخم‌گذار بونز ۲۷ هفته استفاده شد. برای انتخاب مرغ‌های یکنواخت از نظر تولید و همگن‌سازی واحدهای آزمایشی قبل از شروع آزمایش اصلی، تعداد ۱۲۰ قطعه مرغ تخم‌گذار که در سن ۲۷ هفتگی بودند، انتخاب و دوره پیش‌آزمایش به‌مدت یک هفته (با جیره یکسان برای تمامی‌مرغ‌ها) آغاز شد. در این مدت تخم‌های تولیدی هر قفس روزانه جمع‌آوری و ثبت شد. بعد از اتمام دوره پیش‌آزمایش، تعداد ۹۶ قطعه مرغ از مرغ‌های ۲۸ هفته که دارای تولید یکنواختی بودند، برای آزمایش اصلی انتخاب شدند و طول دوره آزمایش اصلی ۸ هفته بود. پرندگان در سالن تجاری ۴ طبقه، قرار داشتند که پرندگان آزمایشی فقط در قفس طبقه دوم قرار داشتند. شرایط محیطی شامل درصد رطوبت، دمای محیط، برنامه نوری و مدیریتی مطابق پیشنهادات دفترچه راهنمای مرغ تخم‌گذار سویه بونز انجام گرفت. در دوره آزمایشی از برنامه نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی استفاده شد. در آزمایش اصلی پرندگان در ۱۲ واحد آزمایشی شامل ۳ تیمار و شامل سه سطح مکمل نانوذرات اکسید روی صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم نانواکسید روی بر کیلوگرم جیره، با ۴ تکرار توزیع شدند. در هر واحد آزمایشی ۸ قطعه مرغ با میانگین وزن و تولید مشابه در شروع آزمایش قرار داده شد. نانوذرات اکسید روی مورد نیاز از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان (ایران، مشهد) تهیه شد و با توجه به اطلاعات طیف‌نگاری، نانو ذرات اکسید روی با خلوص ۸۰ درصد مورد تایید بود. میزان روی در جیره پایه برابر ۸۷ میلی‌گرم و در جیره‌های حاوی ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم نانوذرات اکسید روی به‌ترتیب برابر ۱۶۷ و ۲۴۷ میلی‌گرم روی بود. جیره‌های آزمایشی بر مبنای احتیاجات توصیه شده در دفترچه راهنمای تغذیه سویه بونز و ترکیب شیمیایی مواد خوراکی بر مبنای جداول راهنمای مواد خوراکی انجمن ملی آمریکا (NRC) تنظیم شد (جدول ۱).

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی مواد خوراکی جیره پایه

Table 1. Components and chemical composition of edible food rations

اجزای خوراک	%	ارزش غذایی جیره		واحد
ذرت	۵۸/۳۱	پروتئین خام	۱۷/۵۳	٪
کنجاله سویا	۲۷/۴۸	انرژی قابل سوخت وساز	۲۸۰۰	Kcal/Kg
روغن سویا	۰/۳۰	فسفر قابل جذب	۰/۴۲	٪
کربنات کلسیم	۸/۴۶	کلسیم	۳/۸۳	٪
دی کلسیم فسفات	۱/۲۰	سدیم	۰/۱۵۳	٪
مکمل معدنی	۰/۲۶	کلر	۰/۱۷۲	٪
مکمل ویتامینی	۰/۲۶	پتاسیم	۰/۷۱۸	٪
نمک	۰/۲۰	متیونین + سیستین	۰/۷۶۵	٪
جوش شیرین	۰/۰۵	لیزین	۰/۹۰۴	٪
ویتامین E	۰/۰۱	ترئونین	۰/۷۰۳	٪
ویتامین ب‌کمپلکس	۰/۰۸	تریپتوفان	۰/۲۲۷	٪
متیونین	۰/۲۴	چربی خام	۳/۰۰	٪
لیزین	۰/۰۲	اسید لینولئیک	۱/۳۹	٪
ناتوزیم P	۰/۲۵	کولین کلراید	۰/۱۴۲	٪
زئولیت	۲/۸۸	فیبر	۷/۳۷	mg/kg
جمع	۱۰۰	نسبت انرژی: پروتئین	۱۵۹/۷	

هر کیلوگرم جیره حاوی: ۲۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D، ۱۲/۵ گرم ویتامین E، ۲/۵ گرم ویتامین K۳، ۱میلی گرم ویتامین B۱، ۸ میلی گرم ویتامین B۲، ۳ میلی گرم ویتامین B۶، ۰/۰۱۵ میلی گرم ویتامین B۱۲، ۰/۰۲۵ میلی گرم اسیدفولیک، ۱۷/۵ میلی گرم اسید نیکوتینیک، ۱۲/۵ میلی گرم پنتوتنات کلسیم، ۸۰ میلی گرم آهن، ۶۶ میلی‌گرم روی؛ ۱۰ میلی گرم مس، ۸۰ میلی گرم منگنز، ۰/۱۵ ملی گرم سلنیم، ۰/۳۵ میلی گرم ید.
نانو اکسید روی در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره اضافه شد

درصد تولید تخم‌مرغ (تعداد تخم مرغ÷ تعداد مرغ واحد آزمایشی)، میانگین وزن تخم‌مرغ، گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه (وزن تخم‌مرغx درصد تولید)، ضریب تبدیل غذایی به‌صورت روزانه و هفته‌ای رکوردبرداری می‌شدند. برای صفات کیفی شامل شاخص شکل تخم‌مرغ (عرض تخم‌مرغ ÷ طول تخم‌مرغ * ۱۰۰)، شاخص زرده (عرض زرده ÷ ارتفاع زرده * ۱۰۰)، شاخص رنگ زرده (مقیاس کاغذ رنگی رش)، شاخص کیفیت سفیده (واحد هاو U= 100 Log (AH+7.57- 1.7EW) که در فرمول HU : واحد هاو؛ EW وزن تخم‌مرغ؛ AH: ارتفاع سفیده)، وزن نسبی پوسته تخم‌مرغ (وزن پوسته تخم‌مرغ÷ وزن تخم‌مرغ * ۱۰۰)، ضخامت پوسته تخم‌مرغ، وزن مخصوص تخم‌مرغ و شاخص مقاومت پوسته (مگاپاسکال بر مترمکعب) در انتهای هر دوره ۴ هفته‌ای از هر تکرار دو نمونه تخم‌مرغ برداشته و به آزمایشگاه جهت ارزیابی صفات مذکور منتقل شدند (۲۶، ۲۸).

شاخص‌های بیوشیمیایی خون شامل غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی بالا (High density lipoprotein, HDL)، لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL; Low density lipoprotein)، پروتئین تام، عناصر معدنی و آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، پس از خونگیری از دو قطعه مرغ از هر تکرار در سن ۳۵ هفتگی تعیین شدند. پلاسمای نمونه‌های خون پس از سانتریفوژ با ۲۵۰۰ دور به‌مدت ۱۰ دقیقه تهیه شد. ارزیابی شاخص‌های خونی توسط دستگاه طیف‌سنجی نوری خودکار (مدل جسان چم ۲۰۰ ایتالیا) و با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون انجام شد.

به‌منظور ارزیابی شاخص‌های پاداکسندگی خون، دو نمونه پلاسمای خون و زرده تخم‌مرغ از دو قطعه مرغ از هر تکرار در پایان دوره آزمایش تهیه و غلظت مالون دی‌آلدئید (Malondialdehyde; MDA) خون و زرده تخم‌مرغ به روش یوشکا و همکاران (۳۴) در طول موج ۵۳۵ نانومتر با دستگاه طیف‌سنجی نوری (CECIL، آکواریوس، کمبریج، لندن) تعیین شد.

به‌منظور بررسی پاسخ ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار، واکسیناسیون مرغ‌های تخم‌گذار بر علیه نیوکاسل و آنفلوآنزا قبل از شروع دوره آزمایش مرحله دوم انجام گرفت و در پایان از دو قطعه مرغ از هر تکرار در انتهای دوره خونگیری شد و به‌روش هموآگلوتیناسیون، عیار پادتن بر ضدنیوکاسل و آنفلونزا تعیین شد (۲۹).

داده‌های حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملا˝ تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (SAS۲۰۰۵) مورد تجزیه واریانس قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون آماری توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

عملکرد

داده‌های مرتبط با اثر سطوح مختلف مکمل نانوذرات اکسید روی بر صفات عملکردی مرغ تخم‌گذار در جدول ۲ ارائه شده است. مکمل نانواکسید روی بر صفات درصد تولید تخم‌مرغ، میانگین وزن تخم‌مرغ و گرم تخم‌مرغ تولیدی در هفته‌های ۳۱–۲۸ و ۳۵–۳۲ و میانگین کل دوره آزمایش تاثیر نداشت به‌جز گرم تخم‌مرغ تولیدی که در طی ۳۲ تا ۳۵ هفتگی در مرغ‌های تغذیه‌شده با سطح ۲۰۰ میلی‌گرم مکمل نانواکسید روی در مقایسه با شاهد بالاتر بود (p=۰/۰۵). در مطالعات پیشین گزارش شد که استفاده از مکمل آلی روی بر تولید تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار اثر مثبت دارد (۱۱)، هر چند در پژوهش‌های دیگری گزارش شده است استفاده از سطوح مختلف عنصر روی بر درصد تولید تخم‌مرغ و وزن تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار تاثیر نداشت (۹، ۱۰، ۲۶، ۲۸). در مقابل در مطالعه دیگری ژائو و همکاران (۳۶) مشاهده کردند که استفاده از نانوذرات اکسید روی در جیره غذایی مرغ‌های تخم‌گذار باعث کاهش میانگین وزن تخم‌مرغ شد.

جدول ۲- اثر نانوذرات اکسید روی بر صفات عملکرد تولید مرغ‌های تخمگذار در پیک تولید
Table 2. Effect of zinc oxide nanoparticles on production performance traits in laying hens at peak production

صفت	نانواکسیدروی(میلی‌گرم/کیلوگرم)			اشتباه معیار میانگین	سطح معنی‌داری
	هفته	صفر	۱۰۰	۲۰۰		
درصد تخمگذاری (٪)	۲۸–۳۱	۹۳/۵۷	۹۲/۸۸	۹۳/۷۲	۱/۱۵۳	۰/۸۶۱
	۳۲–۳۵	۹۳/۴۵	۹۴/۲۷	۹۴/۵۷	۰/۵۱۴	۰/۳۰۲
	۲۸–۳۵	۹۳/۵۱	۹۳/۵۸	۹۴/۱۵	۰/۴۷۲	۰/۴۵۸
میانگین وزن تخم‌مرغ (گرم)	۲۸–۳۱	۶۰/۸۱	۵۹/۷۹	۶۰/۶۸	۰/۳۱۱	۰/۰۶۸
	۳۲–۳۵	۶۱/۲۲	۶۱/۲۱	۶۱/۷۷	۰/۲۵۳	۰/۲۱۴
	۲۸–۳۵	۶۱/۰۲	۶۰/۵۰	۶۱/۲۳	۰/۲۹۰	۰/۱۵۳
گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه (گرم در روز)	۲۸–۳۱	۵۶/۸۸	۵۵/۴۹	۵۶/۸۶	۰/۶۴۳	۰/۲۳۲
	۳۲–۳۵	۵۷/۲۲^{b}	۵۷/۷۱^{ab}	۵۸/۴۲^{a}	۰/۳۳۴	۰/۰۵۰
	۲۸–۳۵	۵۷/۰۵	۵۶/۶۰	۵۷/۶۴	۰/۴۹۲	۰/۰۹۳
مصرف خوراک روزانه (گرم در روز)	۲۸–۳۱	۱۱۴/۰۶^{a}	۱۱۳/۳۳^{ab}	۱۱۲/۹۶^{b}	۰/۰۳۰۲	۰/۰۴۴
	۳۲–۳۵	۱۲۰/۲۷	۱۲۰/۶۴	۱۲۰/۵۶	۰/۲۹۵	۰/۶۴۶
	۲۸–۳۵	۱۱۷/۱۷	۱۱۶/۹۹	۱۱۶/۷۶	۰/۱۸۳	۰/۷۴۲
ضریب تبدیل خوراک (گرم: گرم)	۲۸–۳۱	۲/۰۱	۲/۰۵	۱/۹۹	۰/۰۲۱	۰/۲۶۶
	۳۲–۳۵	۲/۱۰	۲/۰۹	۲/۰۶	۰/۰۱۲	۰/۱۱۷
	۲۸–۳۵	۲/۰۵	۲/۰۷	۲/۰۳	۰/۰۱۵	۰/۰۹۳

a,b: وجود حروف مختلف روی اعداد هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست (p≤ ۰/۰۵).

گرم تخم‌مرغ تولیدی به‌عنوان شاخصی که ترکیبی از درصد تولید و وزن تخم‌مرغ است از اهمیت بالایی برخوردار است و تغییرات آن اهمیت بیشتری دارد. به‌طور مشابه در مطالعات پیشین گزارش شده است استفاده از مکمل سولفات روی در جیره افزایش گرم تخم‌مرغ تولیدی را به‌همراه داشت (۲۶). در مطالعه دیگری افزودن متیونین و اکسید روی و اسید

آسکوربیک به جیره مرغ تخم‌گذار در شرایط تنش گرمایی نشان داد که استفاده از نانو اکسید روی بر گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه اثری نداشت (۹).

سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم نانوذرات اکسید روی باعث کاهش مصرف خوراک مرغ‌های تخم‌گذار در دوره ۳۱–۲۸ هفتگی شد (p< ۰/۰۵) ولی در دوره‌های ۳۲–۳۵ و ۳۱–۲۸ هفتگی سطح مکمل نانوذرات اکسید روی بر میزان خوراک مصرفی روزانه مرغ‌ها تاثیر نداشت (p> ۰/۰۵؛ جدول ۲). ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های ۳۲–۳۵ و ۳۱–۲۸ هفتگی و کل دوره تحت تاثیر سطوح نانو ذرات اکسید روی قرار نگرفت (p> ۰/۰۵). هوآنگ و همکاران (۱۵) گزارش نمودند که کمبود روی منجر به کاهش اشتها و مصرف خوراک می‌شود و افزایش سطح روی در جیره مرغ تخم‌گذار، افزایش میزان خوراک مصرفی را در پی داشت. از طرفی عابدینی و همکاران (۱) و یانگ و همکاران (۳۳) گزارش کردند که استفاده از مکمل نانوذرات اکسید روی در جیره جوجه گوشتی تاثیری بر میزان مصرف خوراک نداشت که با بخشی از یافته‌های مطالعه حاضر که نشان می‌دهد در کل دوره میزان مصرف خوراک تغییری نداشته است هم‌خوانی دارد. از طرف دیگر عابدینی و همکاران (۱) نشان دادند که سطوح مختلف جیره‌ای روی بر ضریب تبدیل خوراک اثر ندارد. در مطالعه دیگری نیز گزارش شد که مکمل‌های معدنی آهن، روی، مس و منگنز اثری بر ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی ندارد (۳۳) که با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مطالعه حاضر استفاده از سطح ۲۰۰ میلی‌گرم نانوذرات اکسید روی باعث کاهش عددی ضریب تبدیل شد که احتمالا روی بدلیل نقشی که در فرآیند سوخت و ساز مواد مغذی دارد باعث افزایش راندمان استفاده از مواد مغذی و کاهش ضریب تبدیل خوراک شد.

صفات کیفی تخم‌مرغ

داده‌های مرتبط با اثر سطوح مختلف مکمل نانواکسید روی بر شاخص‌های شکل تخم‌مرغ، واحد هاو، شاخص زرده، شاخص رنگ زرده و وزن نسبی سفیده و زرده در جدول ۳ ارائه شده است. تحلیل داده‌ها نشان داد که شاخص‌های شکل تخم‌مرغ، شاخص زرده، شاخص رنگ زرده، وزن نسبی سفیده و زرده در دوره آزمایشی ۳۱ هفتگی، تحت تأثیر سطوح مکمل نانو ذرات اکسید روی قرار نگرفتند بجز شاخص شکل تخم مرغ که در ۳۱ هفتگی با افزایش سطح مکمل نانو ذرات اکسید روی افزایش یافت و واحد هاو در ۳۱ و ۳۵ هفتگی در مرغ‌های تغذیه‌شده با سطح ۲۰۰ میلی‌گرم نانواکسید روی در مقایسه با شاهد بالاتر بود (p< ۰/۰۵). شاید بهبود شاخص هاو با افزایش سطح مکمل نانواکسید روی در جیره به‌دلیل خاصیت پاداکسندگی روی در غلظت‌های بالاتر باشد که باعث کاهش فعالیت‌های اکسایشی در بدن مرغ و افزایش راندمان استفاده از مواد مغذی باشد (۱). یافته‌های مطالعه حاضر با نتایج کرمی و همکاران (۹) در ارزیابی اثر سطوح مختلف منابع آلی و معدنی روی بر عملکرد، صفات کمی و کیفی تخم‌مرغ و نامرا و همکاران (۱۹) در ارزیابی سطوح مختلف روی کیفیت تخم بلدرچین ژاپنی هم‌خوانی داشت. کرمی و همکاران (۹) گزارش نمودند افزودن اکسید روی به جیره مرغ تخم‌گذار باعث افزایش شاخص شکل تخم‌مرغ، کیفیت پوسته و کاهش شاخص رنگ زرده شد بر سایر شاخص‌ها اثر نداشت. بهاکایم و همکاران (۶) مشاهده کردند که سطوح مختلف روی بر شاخص شکل تخم‌مرغ اثری نداشت اما ژائو و همکاران (۳۶) گزارش کردند که افزایش سطح نانوذرات اکسید روی باعث کاهش شاخص شکل تخم‌مرغ شد که با مطالعه حاضر همخوانی ندارد. با توجه به نتایج حاصل از اثر سطوح مختلف روی بر واحد هاو مشاهده شد که با افزایش سطح روی جیره، واحد هاو نیز افزایش یافت.

جدول ۳- اثر نانوذرات اکسید روی بر صفات کیفی تخم‌مرغ در پیک تولید مرغ‌های تخم‌گذار

Table 3. Effect of zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) on egg quality traits in laying hens at peak of production

صفت	سن (هفته)	نانواکسیدروی (میلی‌گرم/کیلوگرم)			اشتباه معیار میانگین	سطح معنی داری
		صفر	۱۰۰	۲۰۰		
شاخص زرده	۳۱ هفتگی	۲۳/۰۰	۲۲/۸۱	۲۲/۴۱	۰/۰۰۲	۰/۲۳۴۴
شکل تخم‌مرغ		۶۹/۳۰^{b}	۷۱/۸۸^{a}	۷۲/۳۰^{a}	۰/۵۹۱	۰/۰۰۱۲
واحد هاو		۷۶/۳۳^{b}	۷۸/۷۹^{b}	۸۶/۵۴^{a}	۲/۸۳۱	۰/۰۳۴۸
رنگ زرده		۱۰/۳۳	۱۰/۰۴	۱۰/۳۳	۰/۱۲۴	۰/۲۴۵۵
وزن نسبی زرده (گرم در ۱۰۰گرم تخم‌مرغ)		۲۶/۶۶	۲۶/۴۸	۲۶/۹۱	۰/۳۹۰	۰/۶۶۰۲
وزن نسبی سفیده (گرم در ۱۰۰گرم تخم‌مرغ)		۵۹/۸۶	۵۹/۲۸	۵۸/۹۰	۰/۴۹۴	۰/۳۸۶۵
شاخص زرده	۳۵ هفتگی	۲۴/۷۰	۲۴/۰۵	۲۳/۶۳	۰/۳۳۵	۰/۰۸۶۴
شکل تخم‌مرغ		۷۱/۵۰	۷۲/۱۰	۷۲/۷۰	۰/۲۱۶	۰/۱۳۳۵
واحد هاو		۸۰/۰۰^{b}	۸۴/۵۰^{a}	۸۲/۴۲^{ab}	۰/۱۲۵	۰/۰۲۰۶
رنگ زرده		۸/۷۰	۹/۰۳	۸/۹۴	۰/۰۹۴	۰/۳۳۳۴
وزن نسبی زرده (گرم در ۱۰۰گرم تخم‌مرغ)		۳۰/۹۰	۳۱/۳۲	۳۱/۴۲	۰/۳۶۲	۰/۶۸۱۷
وزن نسبی سفیده (گرم در ۱۰۰گرم تخم‌مرغ)		۵۷/۱۰	۵۷/۸۰	۵۷/۷۳	۰/۴۳۰	۰/۸۴۹۲

a,b: وجود حروف مختلف روی اعداد هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست (p< ۰/۰۵).

با افزایش سطح نانوذرات اکسید روی از ۱۰۰ به ۲۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم در جیره غذایی، واحد هاو از ۷۶/۳۳ به ۸۶/۵۴ در ۳۱ هفتگی افزایش یافت (p<۰/۰۵). مکمل‌نمودن روی به‌دلیل نقش آن در تشکیل آلبومین در مگنوم و تولید

سفیده تخم‌مرغ، سبب افزایش واحد هاو شد که در توافق با یافته‌های سایر محققین مبنی‌بر افزایش ارتفاع سفیده و واحد هاو با دریافت مکمل روی (۶، ۱۲، ۱۵، ۲۶، ۲۸) است. هرچه میزان مواد مغذی انباشته در سفیده تخم‌مرغ بیشتر باشد و به‌عبارتی درصد مواد جامد سفیده افزایش یابد غلظت سفیده تخم‌مرغ بالاتر رفته و کیفیت سفیده تخم‌مرغ افزایش می‌یابد (۲۲).

داده‌های مرتبط با اثر سطوح مختلف مکمل نانواکسید روی بر شاخص‌های کیفیت پوسته تخم‌مرغ شامل وزن نسبی پوسته، وزن مخصوص تخم‌مرغ، ضخامت پوسته و مقاومت پوسته در جدول ۴ ارائه شده است. استفاده از مکمل نانوذرات اکسید روی در مرغ‌های تخم‌گذار باعث افزایش مقاومت پوسته تخم‌مرغ نسبت به گروه شاهد را در ۳۱ هفتگی آزمایش شد ($p<۰/۰۵$). استفاده از سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم نانوذرات اکسید روی در هر کیلوگرم جیره مرغ‌های تخم‌گذار باعث بهبود وزن مخصوص در دوره ۳۵-۳۲ هفتگی و مقاومت پوسته تخم‌مرغ در دوره ۳۱ و ۳۵ هفتگی شد. عابدینی و همکاران (۱) نیز گزارش کردند که افزایش سطح سولفات روی در جیره باعث افزایش ضخامت پوسته تخم‌مرغ شد. در مطالعه دیگری اثر مثبت عنصر روی بر ضخامت پوسته تخم‌مرغ گزارش شد بطوری‌که جایگزینی مکمل اکسید روی با روی آلی به‌مقدار ۳۰ میلی‌گرم در نسبت ۵۰ و ۱۰۰ درصد به جیره مرغ باعث افزایش مقاومت پوسته تخم‌مرغ شد (۲۷). جیره‌های حاوی مکمل روی باعث افزایش استحکام و مقاومت پوسته تخم‌مرغ می‌شوند و بهبود در کیفیت پوسته تخم‌مرغ در گروه‌های دریافت‌کننده مکمل روی می‌توان به‌دلیل نقش روی در تشکیل پوسته تخم‌مرغ باشد (۶). روی به‌واسطه حضور در ساختار آنزیم کربونیک آنهیدراز کیفیت پوسته را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۱). فقدان این آنزیم سبب کاهش ترشح یون بی‌کربنات و در نتیجه موجب کاهش وزن پوسته تخم‌مرغ می‌شود (۲۰). از طرف دیگر، عنصر روی کوفاکتور مورد نیاز آنزیم کراتیناز است که در شکل‌گیری غشای پایه پوسته اثر دارد (۲۱، ۲۵).

جدول ۴- اثر نانوذرات اکسید روی بر صفات کیفی پوسته تخم‌مرغ در پیک تولید مرغ‌های تخم‌گذار
Table 4. Effect of ZnONPs on egg shell quality at peak of production in laying hens

صفت	سن (هفته)	نانواکسیدروی(میلی‌گرم/کیلوگرم)			اشتباه معیار میانگین	سطح معنی داری
		صفر	۱۰۰	۲۰۰		
وزن نسبی پوسته (گرم در ۱۰۰گرم تخم مرغ)	۳۱ هفتگی	۱۳/۴۷	۱۴/۲۳	۱۴/۱۳	۰/۲۲۱	۰/۰۵۴۴
ضخامت پوسته (میلی‌متر)		۰/۳۷	۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۰۰۴	۰/۵۶۵۵
مقاومت پوسته (نیوتن مترمکعب)		۳/۶۸^{a}	۳/۵۵^{ab}	۳/۱۶^{b}	۰/۳۲۴	۰/۰۰۵۳
وزن مخصوص(گرم بر سانتی‌مترمکعب)		۱/۰۸۶	۱/۰۸۷	۱/۰۸۷	۰/۰۰۰۹	/۷۹۵۱
وزن نسبی پوسته (گرم در ۱۰۰گرم تخم مرغ)	۳۵ هفتگی	۱۰/۳۷^{b}	۱۰/۸۵^{a}	۱۰/۷۹^{a}	۰/۱۴۲	۰/۰۴۶۰
ضخامت پوسته (میلی‌متر)		۰/۴۲	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۰۰۳	۰/۶۹۱۸
مقاومت پوسته (نیوتن مترمکعب)		۳/۵۲^{b}	۳/۶۸^{ab}	۳/۸۴^{a}	۰/۰۱۲	۰/۰۰۷۸
وزن مخصوص (گرم بر سانتی‌مترمکعب)		۱/۰۸۱^{b}	۱/۰۸۷^{a}	۱/۰۸۸^{a}	۰/۰۰۸	۰/۰۰۰۱

a,b: وجود حروف مختلف روی اعداد هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست ($p<۰/۰۵$).

در دوره ۳۵ هفتگی وزن مخصوص تخم‌مرغ تحت تأثیر مکمل روی قرار گرفت ($p<۰/۰۵$). افزایش سطح روی با افزایش وزن مخصوص تخم‌مرغ همراه بود به‌طوری‌که بیشترین مقدار مربوط به گروهی است که سطح ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم مکمل روی دریافت کردند و به‌میزان ۱/۰۸۸ گرم بر سانتی‌متر مکعب بود. وزن پوسته نیز تنها تحت تأثیر مکمل روی در ۳۵ هفتگی قرار گرفت ($p<۰/۰۵$). بیشترین وزن پوسته در ۳۵ هفتگی متعلق به سطح ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم مکمل روی و به‌میزان ۱۴/۲۲ گرم بود. در دوره دوم آزمایش بیشترین وزن پوسته مربوط به گروه تغذیه‌شده با ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم مکمل روی به‌میزان ۱۱/۳گرم بود بنابراین مکمل نانوذرات اکسید روی در جیره مرغ‌های تخم‌گذار می‌تواند باعث بهبود وزن پوسته شود ($p<۰/۰۵$). این یافته‌ها با گزارش‌های عابدینی و همکاران (۱) و کرمی همکاران (۹) مبنی بر افزایش وزن پوسته تخم‌مرغ با مکمل روی مطابقت دارد. بالاتر بودن وزن پوسته تخم‌مرغ در گروه‌هایی که مکمل نانوذرات اکسید روی دریافت کردند می‌تواند به‌دلیل بالاتر بودن قابلیت دسترسی روی در این گروه‌ها باشد.

شاخص‌های بیوشیمیایی خون

نتایج مربوط به اثر مکمل نانواکسید روی بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون مرغ تخم‌گذار در جدول ۵ نشان داده شده است. غلظت سرمی کلسترول، تری‌گلیسرید و LDL خون در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم مکمل نانو ذرات اکسید روی در مقایسه با شاهد کاهش یافت ($p<۰/۰۵$) ولی غلظت HDL و پروتئین تام خون تغییر معنی‌داری نشان نداد. افزایش سطح نانو ذرات اکسید روی جیره منجر به کاهش فعالیت آنزیم ALT شد. ایانیک و همکاران (۳۰) در مطالعه خود با استفاده از سطوح صفر، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اکسید روی در تغذیه جوجه‌های گوشتی مشاهده کردند که روی موجب کاهش غلظت کلسترول سرم شد به‌طوری‌که بالاترین سطح روی، پایین‌ترین غلظت کلسترول را نشان داد. اثر روی بر غلظت کلسترول خون را می‌توان به نقش آن در هورمون‌های جنسی و ساخت هورمون‌های استروئیدی و عمل آن در استروئیدهای جنسی همراه با پروستاگلاندین‌ها نسبت داد (۷). مکمل نمودن روی اثری بر میزان HDL نداشت که با مطالعه صورت گرفته روی جوجه‌های گوشتی مطابقت دارد (۲۴، ۲۶). کرمی و همکاران (۹) مشاهده کردند که غلظت پروتئین تام

در مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه‌شده با مکمل اکسید روی کاهش یافت اما تغییر آن معنی‌دار نبود.

جدول ۵- اثر نانوذرات اکسیدروی بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون مرغ‌های تخم‌گذار
Table 5. Effect of ZnONPs on blood biochemical parameters in laying hens

شاخص	واحد	نانواکسیدروی (میلی‌گرم/کیلوگرم)			اشتباه معیار میانگین	سطح معنی داری
		صفر	۱۰۰	۲۰۰		
تری‌گلیسرید	mg/dl	۱۱۵۳/۱^{a}	۱۰۱۰/۷^{ab}	۸۹۸/۳۵^{b}	۳۹/۶۳	۰/۰۰۰۴
کلسترول	mg/dl	۲۲۳/۳^{a}	۲۰۳/۰۳^{ab}	۱۸۲/۱۱^{b}	۱۱/۰۸۳	۰/۰۴۶۱
لیپوپروتئین با دانسیته بالا HDL	mg/dl	۱۷۰/۶	۱۶۹/۷	۱۶۹/۱	۳/۱۷	۰/۸۱۳۴
لیپوپروتئین با دانسیته پایین LDL	mg/dl	۶۳۹/۴a	۵۵۰/۱^{ab}	۴۲۷/۲^{b}	۲۷/۵۷	۰/۰۰۰۹
پروتئین تام	mg/dl	۶/۶۳	۶/۳۲	۶/۳۴	۰/۱۱۳	۰/۱۵۳۸
آلانین آمینوترانسفراز ALT	U/L	۵/۶۲^{a}	۴/۸۶^{ab}	۳/۶۴^{b}	۰/۳۹۶	۰/۰۰۳۷
آهن	mg/dl	۳۳۳/۷	۳۲۷/۵	۳۲۹/۸	۲/۵۷	۰/۲۲۳۲
روی	mg/dl	۴/۴۲^{c}	۶/۲۳^{b}	۷/۵۱^{a}	۰/۰۸۲	۰/۰۰۰۱

a,b: وجود حروف مختلف روی اعداد هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست (p< ۰/۰۵).

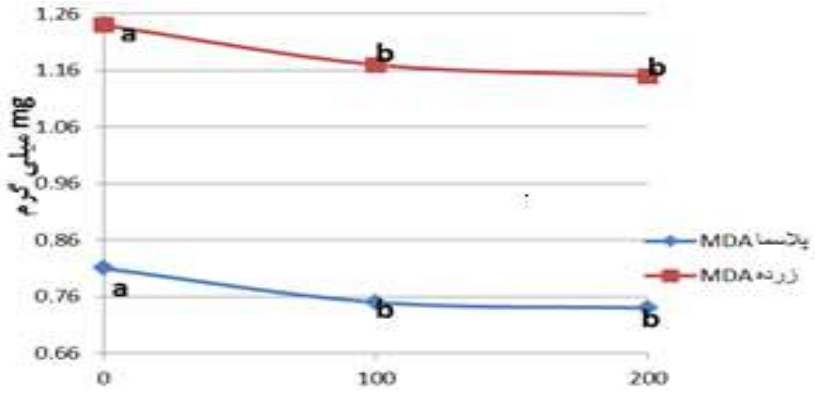
افزایش سطوح نانو ذرات اکسید روی سبب کاهش میزان فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در گروه‌های دریافت‌کننده مکمل نانواکسید روی نسبت به گروه شاهد شد (p<۰/۰۵). این نتایج نشان‌دهنده‌ی عدم آسیب کبدی تحت تأثیر نانو ذرات روی به‌صورت حاد است که با یافته‌های مطالعه حاضر و کاهش میزان فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز همخوانی دارد. یکی از دلایل احتمالی عدم افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی بررسی‌شده در این مطالعه آگلومره بودن نانو ذرات تهیه شده می‌باشد و این پدیده سبب کاهش سرعت جذب و عبور این نانو ذرات از غشاهای سلولی و کاهش ضایعات غشای سلولی و در نتیجه عدم افزایش فعالیت انواع آنزیم‌های کبدی شده است (۱۷). افزودن مکمل روی بر غلظت آهن سرمی از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). به‌طور کلی اگر سطح عنصر روی در جیره به‌حدی باشد که نیاز حیوان را به این عنصر تأمین کند، غلظت عنصر روی در خون در حد طبیعی خواهد بود و لذا مکمل‌کردن روی در جیره غلظت آن را در خون تحت تأثیر قرار نخواهد داد. ولی اگر سطح عنصر روی در جیره در حد کافی و نیاز حیوان نباشد، لذا با مصرف مکمل روی در جیره، غلظت آن در خون تحت تأثیر روی مکمل شده در جیره قرار گرفته و لذا غلظت آن در خون افزایش می‌یابد (۲۶؛ ۲۹). با توجه به نتایج این تحقیق افزایش سطح نانوذرات روی باعث افزایش غلظت روی سرمی در گروه‌های مختلف مرغ تخم‌گذار نسبت به گروه شاهد شد (p<۰/۰۵). در توافق با نتایج مطالعه حاضر، آنیل و همکاران (۵) مشاهده کردند که غلظت روی خون در گروه‌هایی که جیره حاوی مکمل روی دریافت کرده بودند افزایش پیدا کرده بود. این افزایش در غلظت روی خون ممکن است به‌دلیل جذب بالا و فعل و انفعال پایین مواد معدنی عالی در دستگاه گوارش باشد (۸، ۹).

داده‌های مرتبط با تأثیر سطوح مختلف نانو ذرات اکسید روی بر عیار پادتن بر ضدآنفلوآنزا در گراف یک و جدول ۶ نشان داده شده است افزایش سطوح مکمل نانوذرات اکسید روی در جیره باعث افزایش عیار پادتن بر علیه آنفلوآنزا در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد شد (p<۰/۰۵) هر چند بر عیار پادتن بر ضدنیوکاسل اثر معنی‌داری نداشت. اما عابدینی و همکاران (۱) گزارش کردند که استفاده از نانو ذرات اکسید روی در جیره غذایی مرغ‌های تخم‌گذار بر عیار پادتن نیوکاسل اثر داشته و با افزایش سطح نانواکسید روی باعث افزایش پاسخ ایمنی به واکسن نیوکاسل شد. همچنین در آزمایش هادسون و همکاران (۱۴) با مکمل‌نمودن جیره مرغ‌های مادر در سطح ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با دو منبع مختلف آلی و معدنی مشاهده کردند که پاسخ ایمنی به فیتوهماگلوتتین و عیار پادتن به ویروس بیماری نیوکاسل در گروه مکمل روی بالاتر از گروه شاهد بود و این افزایش برای گروه‌های دریافت‌کننده روی با منبع آلی بالاتر از منبع معدنی بود.

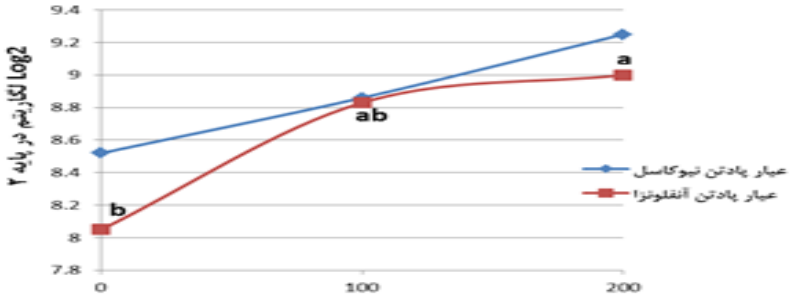
جدول ۶- اثر نانواکسیدروی بر وضعیت پاداکسندگی خون و بر عیار پادتن بر ضدنیوکاسل و آنفلوآنزا در مرغ تخم‌گذار
Table 6. The effect of zinc nano oxid on blood antioxidant status and the titer against Newcastle and Influenza in layer hens

شاخص	واحد	نانواکسیدروی(میلی‌گرم/کیلوگرم)			اشتباه معیار میانگین	سطح معنی‌داری
		صفر	۱۰۰	۲۰۰		
مالون دی‌آلدئید خون	µg/dl	۰/۸۱^{a}	۰/۷۵^{b}	۰/۷۴^{b}	۰/۰۲۴	۰/۰۰۱
مالون دی‌آلدئید زرده	µg/g	۱/۲۴^{a}	۱/۱۷^{b}	۱/۱۵^{b}	۰/۰۳۸	۰/۰۰۰۴
نیوکاسل	Log^{2}	۸/۵۲	۸/۸۶	۹/۲۵	۰/۳۹۹	۰/۰۹۰۳
آنفلوآنزا	Log^{2}	۸/۰۵^{b}	۸/۸۳^{ab}	۹/۰۰^{a}	۰/۴۲۲	۰/۰۳۲۸

a,b: وجود حروف مختلف روی اعداد هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست (p< ۰/۰۵).



شکل ۱- اثر نانوذرات اکسید روی بر عیار پادتن بر ضد نیوکاسل و آنفلونزا (لگاریتم در پایه ۲).
Figure 1. Effect of zinc oxide nanoparticles on Newcastle and Influnza antibody titer (Log2)



شکل ۲- اثر نانوذرات اکسید روی بر غلظت مالون دی آلدئید خون (میلی گرم بر دسی لیتر) و مالون دی آلدئید زرده تخم مرغ (میکروگرم بر گرم).
Figure 2. Effect of zinc oxide nanoparticles on plasma malondialdehyde (mg/dl) and yolk malondaldehyde (µg/g)

تحلیل داده‌ها نشان می‌دهد غلظت MDA خون و زرده با افزایش سطح روی جیره، به‌صورت خطی کاهش پیدا کرد (شکل ۲). عابدینی و همکاران (۱) گزارش کردند که استفاده از سطوح مختلف روی باعث کاهش MDA زرده در مقایسه با گروه شاهد شد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. آل و همکاران (۴) نیز گزارش کردند که سطح MDA در تمام گروه‌های تغذیه‌شده با مکمل اکسید روی کاهش یافت. عابدینی و همکاران (۱) گزارش کردند که سطح MDA خون و تخم‌مرغ در تمام مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه‌شده با نانو ذرات اکسید روی کاهش یافت که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. البته با توجه به نقش‌های مهم عنصر روی در ساختار آنزیم‌های مرتبط با سامانه پاداکسندگی، انتظار می‌رود که افزودن مکمل‌های عنصر روی اثر مثبتی بر سایر شاخص‌های پاداکسندگی و فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز نیز داشته باشد.

یافته‌ها نشان داد افزودن سطح ۲۰۰ میلی‌گرم نانواکسید روی به جیره مرغ تخم‌گذار باعث بهبود عملکرد، واحد هاو و کیفیت پوسته تخم مرغ و پاسخ ایمنی، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و وضعیت پاداکسندگی خون و زرده تخم‌مرغ در مرغان تخم‌گذار شد.

منابع

1. Abedini, M., F. Shariaatmadari, M.A. Karimi-Torshizi, H. Ahmadi and E. Shahraki. 2018. Effects of zinc oxide nanoparticles on performance, egg quality, tissue zinc content, bone parameters, and antioxidative status in laying hens. Biological Trace Element Research, 184: 259-267.
2. Ahmadi, F., Y. Ebrahimnezhad, N. Maheri and J. Ghiasi Ghalehkandi. 2013. The effects of zinc oxide nanoparticle on performance, digestive organs and serum lipid concentration in broiler chickens during starter period. International Journal of Bioscience Cesek, 7: 23-29.
3. Arabi, H.A., M.M. Tabatabdei, A. Fadayifar, S. Torkashvand, A.A. Bahari, P. Zamani, D. Alipour and A.H. Dezfoulian. 2011. Effects of supplementing organic zinc, with or without copper, on performance, plasma minerals and some enzymes activities in mehraban male lambs. Journal of Animal Science Researches, 21(3): 111-122.
4. Dawei, A., Z. Wang and A. Zhau. 2010. Protective effects of nano-Zno on the primary cutture mice intestinal epithelial cells in invitro against oxidative injury. World Journal of Agricultural Science, 6(2): 149-153.
5. Anil, K.C., J.V. Ramana, P.J. Rama, S.D. Sudheer and S. Shakeela. 2012. Dietary supplementation of Zinc sulphate and zinc–methionine: changes in levels of mineral composition. Journal of Animal Production Advances, 2(9): 409-419.
6. Bahakaim, A.S.A., H.A. Abdel Magied, S.M.H. Osman, A.S. Omar, N.Y. Abdelmalak and N.A. Ramadan. 2013. Effect of using different levels and sources of zinc in layer's diets on egg zinc enrichment. Egyptian Poultry Science Journal, (34) (I): 39-56.
7. Brown, L. and S. Pentland. 2007. Health infertility organization: Male infertility-improving sperm quality. Acubalance wellness Centre Ltd. Onwest 8thAve. in Voncover BC. Canada.
8. Francisco, H.S.J., R. Facundo, C.C.C.P. Diana, M.G. Fidel, E.M. Alberto, D.J.P.G. Amaury, T.P. Humberto and M.C. Gabriel. 2008. The antimicrobial sensitivity of Streptococcus mutans to nanoparticles of silver, zinc oxide and gold. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 4: 237-240.
9. Karami, M., M. Torki and H. Mohammadi. 2018. Effect of dietary supplemental chromium methionine, zinc oxide, and ascorbic acid on performance, egg quality traits and blood parameters of laying hens subjected to heat stress. Journal of applied Animal Research, 46(1): 1174-1184.
10. Kaya, S., H.O. Mucaliar, S.F. Haliliglu and H. Ipek. 2001. Effect of dietary vitamin A and zinc on egg yield and some blood parameters of laying hens. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 25: 763-769.
11. Khajaren, J., S. Khajaren, C.J. Rapp, T.A. Ward, J.A. Jahnson and T.M. Falker. 2006. Effects of zinc and manganese amino acid complexes (Availa-z/m) on layer production and egg quality. http://US zinpro.Com/Research/ZPA/ZPA0048.htm.
12. Hazim, J. and H.M. Mahmood. 2011. Effect of dietary zinc on certain blood traits of broiler breeder chickens. International Journal of Poultry Science, 10: 807-813.
13. Huang, Y.L., X.G. Luo and B. Liu. 2007. An optimal dietary zinc level of broiler chicks fed a corn-soybean meal diet. Poultry Science, 86: 2582-2589.
14. Hudson, B.P., W.A. Dozier III, J.L. Wilson, J.E. Sander and T.L. Ward. 2004. Reproductive performance and immune status of caged broiler breeder hens provided diets supplemented with either inorganic or organic sources of zinc from hatching to 65 wk of age. Journal of Applied Poultry Research, 13: 349-359.
15. Jahanian, R. and E. Rasouli. 2015. Effects of dietary substitution of zinc-methionine for inorganic zinc sources on growth performance, tissue zinc accumulation and some blood parameters in broiler chicks. Journal of Animal Physiology and Animal Nature, 99(1): 50-58.
16. Mabe, I., C. Rapp, M. Bain and Y. Nyss. 2003. Supplementation of a corn–soy bean meadiet wit manganese, cupper and zinc from organic or inorganic source improve eggshell quality in aged laying hens. Poultry Science Journal, 82: 1903-1913.
17. Mokhtari, M., M. Shariati and N. geshmardi. 2007. Oral effects of lead on thyroid hormones and liver enzymes in rats. Hormozgan Medical Journal, 11(2): 115-20.
18. Mohammadi, B. and M.R. Akbari. 2016. Effects of zinc oxide nanoparticles on immune system function, antioxidant status, and performance of broiler chickens fed wheat-based diets. Journal of Animal Science Researches, 27(1): 103-114 (In Persian).
19. Namera, M.M., M. Hla, M. Abdel Wahed and H.M. Fayek. 2008. Evolution of different sources of dietary zinc supplementation for Japanese Quail: 2-laying performance. Poultry Science, 29: 127-143.
20. Nys, Y., J. Gautron, M.D. Mckee, J.M. Garcia-Ruiz and M. Hincke. 2010. Biochemical and functional characterization of eggshell matrix proteins. Poultry Science, 57: 401-403.
21. Park, S.W., H. Namkung, H.J. Ahn and I.K. Paik. 2004. Production of iron enriched eggs of laying hens. Department of Animal Science, 456-756.
22. Pour Reza, J. and A. Nikkhah. 2003. Broiler breeder (Translated). Isfahan University of Technology. Isfahan, Iran, 360 pp (In Persian).

23. Rai, M., A. Yadav and A. Gade. 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnology Advances, 27: 76-83.
24. Salabi, F.M. Bujarpoor, J. Fayazi, S. Salari and M. Nazari. 2011. Effects of different levels of zinc on theperformance and carcass characteristics of broiler reared under heat stress condition. Journal of Animaland Veterinary Advances, 10: 1332-1335.
25. Sarvari, B.G., A.H. Seyedi, H.A. Shahryar, M. Sarikhan and S.Z. Ghavidel. 2015. Effects of dietary zinc oxide and a blend of organic acids on broiler live performance, carcass traits and serum parameters. Brazilian Journal of Poultry Science, 17: 39-46.
26. Soroush, Z., S. Salari, M. Sari, J. Fayazi and S. Tabataii. 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).
27. Swiatkiewicz, S. and J. Koreleski. 2008. The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. Veterinarni Medicina, 53:555-563.
28. Tabatabaie, M.M., H. Aliarab, A.A. Saki, A. Ahmadi and S.A. Hosseini Siyar. 2007. Effect of different sources of zinc on egg quality and hen performance. Pakistan Journal of Biological Science, 10: 3476-3478.
29. Tsai, Y.H., S.Y. Mao, M.Z. Li, J.T. Huang and T.F. Lien. 2016. Effects of nanosize zinc oxide on zinc retention, eggshell quality, immune response and serum parameters of aged laying hens. Department of Animal Science, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan.
30. Uyanik, F., M. Eren and G. Tuncoku. 2010. Effects of supplemental zinc on growth, serum glucose, cholesterol, enzymes and minerals in broiler. Pakistan Journal of Biological Scienc, 4: 745-747.
31. Virden, W.S., J.B. Yeatman, S.J. Barber, K.O. Willeford, T.L. Ward, T.M. Fakler, R.F. Wideman and M.T. Kidd. 2004. Immune system and cardiac functions of progeny chicks from dams fed diets differingin zinc and manganese level and source. Poultry Science, 83: 344 -351.
32. Yan, F., J.H. Kersey and P.W. Waldroup. 2001. Phosphorus requirements of broiler chicks three to six weeks of age as influenced by phytase supplementation. Poultry Science, 80: 455-459.
33. Yang, X.J., X.X. Sun, C.Y. Li, X.H. Wu and J.H. Yao. 2011. Effects of copper, iron, zinc, and manganes supplementation in a corn and soybean meal diet on the growth performance, meat quality, and immune responses of broiler chickens. Applied Journal of Poultry Research, 20: 263-271.
34. Yoshioka, T., K. Kawada, T. Shimada and M. Mori. 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. American Journal of Obstet Gynecol, 135: 372-376.
35. Zakaria, H.A., M. Jalal, H.H. Al-Titi and A. Souad. 2016. Effect of sources and levels of dietary zinc on the performance, carcass traits and blood parameters of broilers. Brazilian Journal of Poultry Science, 3: 519-526.
36. Zhao, Y., L. Li, P.F. Zhang, X.Q. Liu, W.D. Zhang, Z.P. Dirg, S.W. Wang, W. Shen, L.J. Min and Z. Hao. 2016. Regulation of egg quality and zinc oxide nanoparticle. Poultry Science, 95: 920-933.

The Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Production Performance, Egg Quality Traits and Antioxidant Status of Laying Hens

Ami Javadifarr[1], Seyyed Javad Hosseini-Vashan[2], Mohammad Bagher Montazer Torbati[3] and Yasaman Shamshirgaran[3]

1- Graduated M.Sc. Student in Poultry production and Husbandary, University of Birjand
2-Associate Professor in Poultry Nutrition, University of Birjand, (Corresponding authur: jhosseiniv@birjand.ac.ir)
3-Assistant Professor in Genetics and Animal breeding, University of Birjand
Received: March 28, 2020 Accepted: March 8, 2021

Abstract

The aim of the present study was to evaluate the effect of zinc oxide on production performance, egg quality and antioxidant status of layer hens. This experiment was performed with 96 Bovens strain layer hens at peak production (28-35 weeks) in a completely randomized design with 3 treatments with 4 replicates and 8 hens each for 3 periods of 28 days. The treatments included control group (without zinc oxide nanoparticles) and two levels of 100 and 200 mg zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) /kg of diet. Experimental diets were provided to laying hens for 8 weeks. Zinc oxide nanoparticles increased the egg mass (32-35 wk), and decreased feed intake (28-31wk) compared to control ($P<0.05$). The ZnONPs did not affect the egg production and egg weight. The haugh unit (31 and 35 wks) and quality traits of egg shell including eggshell stability (31 and 35 wks), and relative weight of eggshell and specific gravity (35wk) increased with increasing ZnONPs supplementation in diet ($P<0.05$). The concentration of total protein, HDL, and antibody against Newcastle disease were not affected by ZnONPs supplementation level. The use of ZnONPs supplementation reduced the concentration of cholesterol, triglyceride, LDL, concentration of MDA in blood and yolk, and the activity of the enzyme ALT ($P<0.05$). The ZnONPs supplementation increased the antibody titer against the influenza and increased zinc concentration in the blood. The results of this research showed that supplementation of 200 mg of ZnONPs per kg of layer diet may improve the growth performance indices, hough unit and egg shell quality, and decrease the blood lipids and improve immune response in layer hens at peak production.

Keywords: Egg production percentage, Egg shell quality, Haugh unit, ZnONPs

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

بررسی تأثیر سطوح مختلف روی و سلنیوم در جیره‌های حاوی روغن اکسیده بر سیستم ایمنی و اندام‌های لنفاوی جوجه‌های گوشتی

مسعود صفرزائی[۱]، حسن صالح[۲]، محمد طاهر میرکزهی[۳] و امید جنگجو[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد مدیریت پروش و تولید طیور، گروه علو مدامی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران، (نویسنده مسوول: hsaleh.um@gmail.com)
۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران
۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد مدیریت پروش و تولید طیور، گروه علو م دامی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران
تاریخ دریافت: ۹۹/۰۱/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۱
صفحه: ۱۱ تا ۱۹

چکیده

به‌منظور بررسی تاثیر سطوح مختلف روی و سلنیوم در جیره‌های حاوی سطح صفر و ۲ درصد روغن اکسیده بر سیستم ایمنی سلولی، هومورال و وزن نسبی اندام لنفوئیدی در جوجه‌های گوشتی، طرحی در قالب ازمایش فاکتوریل ۲*۳*۲ (دو سطح صفر و ۲ درصد روغن اکسیده، سه سطح صفر، ۴۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در جیره سولفات روی، دو سطح صفر و ۰/۳ میلی‌گرم/کیلوگرم در جیره سلنیت سدیم) با استفاده از ۴۸۰ جوجه یک روزه راس ۳۰۸ با ۱۲ تیمار و در هر تیمار ٤ تکرار ۱۰ جوجه‌ای انجام شد. به‌منظور بررسی سیستم ایمنی هومورال، تغییرات تیتر آنتی‌بادی با تزریق گلبول قرمز خون گوسفند در دو نوبت (۲۱ و ۲۸روزگی) و خون‌گیری در دو نوبت (۲۸ و ۳۵روزگی) انجام شد. اندازه‌گیری وزن نسبی بورس، طحال و تیموس در ٤۲روزگی بعد از کشتار انجام شد. جهت بررسی سیستم ایمنی سلولی از تست حساسیت پوستی بازوفیل (CBH) استفاده شد. نتایج به‌دست‌آمده عیار پادتن کل در نوبت اول و دوم اختلاف معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵). بیشترین عیار پادتن کل اولیه و ثانویه در جوجه‌های تغذیه شده با روغن سالم (صفر درصد روغن اکسید) به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرمروی و ۰/۳ میلی‌گرم/کیلوگرم سلنیوم و جوجه‌های تغذیه‌شده با روغن اکسیده (۲ درصد روغن اکسیده) حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روی و ۰/۳ میلی‌گرم/کیلوگرم سلنیوم بود و تأثیر استفاده همزمان روی و سلنیوم در پاسخ عیار پادتن کل اولیه نیز معنی‌دار شد و استفاده همزمان ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روی و ۰/۳ میلی‌گرم/کیلوگرم سلنیوم باعث افزایش معنی‌دار پاسخ عیار پادتن کل اولیه گردید. اثر گروه‌های مختلف آزمایشی بر پاسخ عیار پادتن IgM در نوبت اول و دوم اختلاف معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵). پاسخ ایمنی سلولی تست CBH تحت تاثیر جیره‌های مختلف آزمایشی قرار نگرفتند. نتایج تاثیر تیمارها بر وزن نسبی اندام مختلف لفناوی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. نتایج این پژوهش نشان داد مکمل کردن جیره با سولفات روی و سلنیوم موجب بهبود سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ایمنی سلولی، جوجه‌گوشتی، روی، سلنیوم

مقدمه

یکی از اهداف اصلی تولید کنندگان صنعت طیور، کاهش میزان تلفات در شرایط استرس‌های محیطی می‌باشد. مکمل‌های غذایی با افزایش راندمان سیستم ایمنی، زمینه را برای بهبود عملکرد تولیدی گله و در نتیجه بهره‌وری اقتصادی فراهم می‌کنند (۹، ۱۸ و ۱۱). پاسخ ایمنی هومورال و سلولی تأثیرات مثبتی بر روی محدود کردن عوامل عفونی بیماری‌زا دارد. شواهد بسیاری وجود دارد که نشان می‌دهد عناصر معدنی کم‌مصرف برای سلامتی حیوان ضروری بوده و در چالش‌های ایمنولوژیکی حیاتی می‌باشد (۶). مطالعات بسیاری نشان داده است که مکمل کردن جیره طیور به وسیله روی، سیستم ایمنی هومورال و سلولی را علیه برخی بیماری‌ها تقویت کرده است (۱۶). روی یکی از اجزای مهم و ضروری در خوراک طیور است که وظایف مهم در عملکرد بیولوژی بدن طیور ایفا می‌کند. روی به‌عنوان کاتالیست، برای عملکرد مورد نیاز برای بسیاری از آنزیم می‌باشد و خصوصا به‌صورت کاتالیزور مستقیم آنزیم‌ها فعالیت می‌کند. از نظر نقش تنظیمی، عنصر روی هم فعالیت آنزیمی داشته و هم به‌عنوان یک مهاری و یا تحریکی، پایداری پروتئین‌ها را تنظیم می‌نماید. ازجنبه نقش ساختمانی، عنصر روی به‌دلیل دارا بودن خصوصیت‌های فیزیکی-شیمیایی خاص در بسیاری از پروتئین‌های دخیل در همانند سازی DNA و رونویسی معکوس، نقش ساختاری و عملکردی داشته و برای فعالیت تعدادی از متالوپروتیین ضروری می‌باشد (۳ و ۱۹). علاوه بر این تأثیر روی از این نظر حائز اهمیت است که در بیش از ۲۴۰ آنزیم به‌عنوان کوفاکتور عمل کرده و در متابولیسم کربوهیدارت‌ها و پروتئین‌ها، دخالت دارد (۳). سلنیوم یک عنصر معدنی کم مصرف است که تأثیر فراوانی بر فعالیت‌های بیولوژیکی طیور دارد که از جمله می‌توان تنظیم فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، بهبود عملکرد سیستم ایمنی، رشد طبیعی، حفظ و نگهداری بدن نام برد (۲۰). کمبود سلنیوم می‌تواند موجب تغییرات در بافت‌های مختلف بدن مانند بورس فابرسیوس، تیموس و طحال شود که متعاقباً بر سیستم ایمنی بدن تأثیر منفی خواهد گذاشت (۲). نقش مثبت سلنیوم بر روی سیستم ایمنی از طریق دخالت در کاهش استرس اکسیداتیو با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی میسر می‌شود (۱۵). بنابراین هدف از انجام این آزمایش بررسی اثرات سطوح مختلف روی و سلنیوم در جیره‌های حاوی روغن اکسیده بر فعالیت سیستم ایمنی هومورال، ایمنی سلولی و وضعیت اندام‌های لنفاوی خواهد بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل ۲×۲×۳ در قالب طرح کاملا تصادفی به‌مدت ۴۲ روز با استفاده از ۴۸۰ قطعه جوجه یک روزه گوشتی سویه راس ۳۰۸ انجام شد. آزمایش بر روی بستر و جوجه‌ها در ۱۲ گروه آزمایشی که هر گروه دارای ۴ تکرار ۱۰ قطعه جوجه بودند، پن‌بندی شدند. جیره‌ها آزمایشی باسطوح روغن (روغن سالم و روغن اکسیده)، دو سطح سلنیت سدیم (۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) و سه سطح عنصر سولفات روی (۴۰،۰ و ۱۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) و بر اساس احتیاجات جوجه‌های گوشتی راس در سه مرحله آغازین (۱۰-۱ روز)، رشد (۲۳-۱۱) و پایانی (۴۲-۲۴) با نرم‌افزار جیره‌نویسی WUFFDA تنظیم شدند (جدول ۱). جیره‌های مراحل مختلف از نظر انرژی و پروتئین یک سان بود. روغن‌های تازه مورد استفاده در جیره دارای عدد پراکسید ۳ میلی‌اکی‌والان درکیلوگرم چربی و روغن اکسیده حاوی ۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم چربی بودند. سولفات روی ($ZnSO_4$) مورد استفاده دارای خلوص ۳۴٪ و تولید شده شرکت گیوان شیمی بود. همچنین سلنیت سدیم دارای خلوص ۹۹ درصد و تولید شده توسط شرکت سیگما آلدریچ (Sigma-Aldrich) بود. لازم به‌ذکر است، میزان روی و سلنیوم، علاوه بر میزان آنها در مکمل معدنی بوده و به‌عنوان مکمل به جیره افزوده شدند. در تنظیم جیره‌ها در تمامی مراحل، روغن اکسیده فقط دو درصد از میزان مورد نیاز را تأمین و سایر مقادیر مورد نیاز از روغن سالم استفاده می‌گردید. به‌منظور تعیین عیار پادتن کل علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC) به سیاهرگ زیربالی ۲ قطعه پرنده از هر تکرار در ۲۱ و ۲۸ روزگی، ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند ۵ درصد تزریق گردید. هفت روز بعد در ۲۸ و ۳۵روزگی از سیاهرگ زیربالی جوجه‌ها خون‌گیری به عمل آمد. سپس عیار ایمنوگلوبولین M ،G و تام بر ضد SRBC تعیین گردید (۱۲). به‌منظور بررسی سیستم ایمنی سلولی ابتدا از هر تکرار در سن ۳۴روزگی یک جوجه مشخص و با کولیس ورنیه مندرج، ضخامت پرده وسط پای انگشتان چپ اندازه‌گیری شد و سپس به‌مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر فیتوهموگلوتنین به آن تزریق شد و بین انگشتان پای راست ۰/۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی تزریق گردید. به منظور بررسی میزان تکثیر سلول‌های T در سیستم ایمنی، ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد از تزریق فیتوهموگلوتنین ضخامت بین انگشتان پای چپ به‌وسیله کولیس ورنیه اندازه‌گیری شد و اعداد ثبت گردیدند. میزان افزایش ضخامت پوست در هر پرنده از اختلاف ضخامت قبل و بعد تزریق به‌دست آمد (۲۲). در ۴۲ روزگی یک جوجه از هر پن انتخاب و برای جداسازی و اندازه‌گیری وزن اندام لنفاوی کشتار شد.

طرح آزمایشی و تجزیه تحلیل داده‌ها

در این تحقیق با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۹)، داده‌های جمع‌آوری شده در قالب طرح کاملاً تصادفی و با آزمایش فاکتوریل، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. جهت مقایسه میانگین، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد. مدل ریاضی این طرح در حالت کلی به‌صورت زیر است:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + C_k + AB_{ij} + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + e_{ijk}$$

در این رابطه، Y_{ijk}: مقدار هر مشاهده، μ: میانگین جامعه، A_i: اثر روغن، B_j: اثر روی، C_k : اثر سلنیوم، AB_{ij}: اثر متقابل روغن و روی، AC_{ik}: اثر متقابل روغن و سلنیوم، BC_{jk}: اثر متقابل روی و سلنیوم، ABC_{ijk}: اثر متقابل روغن، روی و سلنیوم و e_{ijk}: خطای آزمایش می‌باشد.

جدول ۱- ترکیب جیره‌های آزمایشی (٪)

Table1. Ingredients of experimental diets

اقلام[1]	جیره آغازین (۱۰-۱ روزگی)	جیره میانی(۱۱-روزگی۲۳)	جیره پایانی(۴۲-۲۴ روزگی)
دانه ذرت	۵۲/۲۵	۵۲/۳۷	۵۷/۰۸
کنجاله سویا (۴۴درصد)	۳۴/۰۰	۳۷/۸۶	۳۲/۴۵
گلوتن ذرت	۴/۸۲	–	–
روغن گیاهی آفتابگردان[2]	۳/۲۲	۵/۵۰	۶/۳۰
پودر صدف	۱/۲۵	۱/۱۸	۱/۱۵
دی‌کلسیم فسفات	۱/۷۸	۱/۵۶	۱/۵۶
نمک	۰/۴۰	۰/۴۵	۰/۴۶
دی-ال- متیونین	۰/۳۴	۰/۳۲	۰/۲۹
ال لایزین	۰/۴۶	۰/۱۸	۰/۱۸
دی-ال ترئونین	۰/۱۴	۰/۰۸	۰/۰۶
مکمل ویتامینی[3]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی[4]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
انرژی و مواد مغذی محاسبه شده (کیلوکالری/گرم)			
انرژی‌قابل متابولیسم	۳/۰۰	۳/۱۰	۳/۲۱
پروتئین خام٪	۲۳/۰۲	۲۱/۵۲	۱۹/۵۱
فیبر خام٪	۳/۵۹	۳/۸۰	۳/۵۳
کلسیم٪	۰/۹۶	۰/۹۰	۰/۸۸
فسفر٪	۰/۷۳	۰/۶۹	۰/۶۶
سدیم٪	۰/۱۸	۰/۲۰	۰/۱۹
پتاسیم٪	۰/۸۹	۰/۹۲	۰/۸۲
کلر٪	۰/۳۷	۰/۳۵	۰/۳۳
لایزین٪	۱/۴۴	۱/۲۹	۱/۱۶
متیونین٪	۰/۷۰	۰/۶۴	۰/۵۹

۱- روی و سلنیوم مورد نیاز از شرکت آزمایشگاهی واکرمن مشهد تهیه گردید و به‌ترتیب به مقدار ۰، ۴۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم جیره و ۰ و ۰/۳ میلی‌گرم/ کیلوگرم جیره در گروه‌های آزمایشی مد نظر، مورد استفاده قرار گرفت.

۲- از کل نیاز جوجه‌ها به روغن، فقط ۲ درصد روغن اکسیده در نظر گرفته شد و مابقی روغن سالم (همه جیره‌ها حاوی ۲ درصد روغن اکسیده می‌باشند)

۳- در هر کیلوگرم جیره مکمل ویتامینی مقادیر: ۷۰۴۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۱/۷۶ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۱/۲ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۳/۲ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۶/۴ میلی‌گرم ویتامین B_3 (کلسیم پنتوتنات)، ۲۸ میلی گرم ویتامین B_5 (نیاسین)، ۱/۹۷ میلی‌گرم ویتامین B_6، ۰/۳۸ میلی‌گرم ویتامین B_9 (فولیک اسید)، ۰/۰۰۸ میلی‌گرم ویتامین B_{12}، ۰/۱۲ میلی‌گرم ویتامین H_2(بیوتین) و ۳۲۰ میلی‌گرم کولین کلراید را در هر کیلوگرم جیره تأمین نمود.

۴- مکمل معدنی اضافه شده به جیره مقادیر: ۶۰ میلی‌گرم منگنز، ۶۰ میلی‌گرم آهن، ۴/۸ میلی‌گرم مس و ۰/۶۹ میلی‌گرم ید را تأمین نمود.

تأثیر گروه‌های آزمایشی بر سیستم ایمنی هومورال

اثرات گروه‌های آزمایشی مختلف بر میزان عیار پادتن‌های تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفند در پاسخ اولیه و ثانویه در دو مرحله خونگیری (۲۸و ۳۵روزگی) به‌صورت آنتی‌بادی کل، IgM و IgG در جدول ۲ نشان داده شده است. گروه‌های آزمایشی بر عیار پادتن کل و IgM در نوبت اول و دوم اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($p<0/05$). بیشترین پاسخ عیار پادتن کل و IgM در نوبت اول و دوم مربوط به جوجه‌های تغذیه شده با روغن‌سالم و اکسیده به‌همراه ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی و ۰/۳ میلی‌گرم/کیلوگرم سلنیوم بود. در بررسی عنصر روی، سطح ۱۰۰ میلی‌گرم درکیلوگرم در تیتر آنتی‌بادی کل تفاوت معنی‌داری را نسبت به سطوح صفر و ۴۰ میلی‌گرم درکیلوگرم نشان داده شد ($p<0/05$). با بررسی اثرات اصلی سلنیوم بدون در نظر گرفتن روی و روغن، در تیتر آنتی‌بادی کل و اولیه اختلاف معنی‌داری بین سطوح سلنیوم مشاهده شد به طوری که سطح ۰/۳ میلی‌گرم/کیلوگرم سلنیوم نسبت به سطح صفر میلی‌گرم/کیلوگرم سلنیوم تیتر بالاتری را باعث شده بود ($p<0/05$). تنها اثر متقابل مشاهده‌شده در سیستم ایمنی هومورال مربوط به اثر متقابل روی و سلنیوم در تیتر آنتی‌بادی کل نوبت اول بود ($p<0/05$). نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که تیتر آنتی‌بادی (کل، IGMو IgG) جوجه‌هایی که جیره غذایی آن‌ها حاوی روغن اکسیده ۲ درصد وروغن سالم بود بدون در نظر گرفتن سطوح روی و سلنیوم، فاقد اختلاف معنی‌داری می‌باشند.

نتایج و بحث

انبرگ و همکاران (۵) افت سیستم ایمنی پرندگان تغذیه شده با روغن اکسیده از نظر تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفند را گزارش شد. ولی نتیجه‌ی به‌دست‌آمده از آزمایش حاضر مغایر با این گزارشات بود. احتمالا این تفاوت به‌دلیل استفاده از سطوح مختلف روغن اکسیده در آزمایش حاضر و آزمایشات محققین دیگر باشد. همچنین سیستم ایمنی طیور در طی دوره آزمایش تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی و حتی سنی قرار می‌گیرد و بسته به سطح روغن اکسید شده می‌توان احتمال داد که سطح ۲ درصد روغن اکسیده نتواند باعث تاثیر معنی‌داری بر پاسخ سیستم ایمنی هومورال را سبب

شود. شانکار و پراساد (۱۶)، در بررسی تأثیر سطوح عنصر معدنی روی بر سیستم ایمنی طیور به این نتیجه رسیدند که عنصر روی باعث بهبود عملکرد سیستم ایمنی جوجه‌ها می‌شود. احتمالا روی با تأثیر بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، از طریق کاهش رادیکال‌های آزد در بدن طیور و کاهش آسیب‌های رادیکال‌های آزاد باعث بهبود سیستم ایمنی طیور می‌گردد واین آنتی اکسیدان به‌خاطر مشارکت در تولید گلبول‌های سفید نقش مهمی در سیستم ایمنی ایفا می‌کند. تاثیر استفاده هم‌زمان ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روی و ۰/۳ میلی‌گرم/کیلوگرم سلنیوم در این آزمایش قابل توجه بود و نشان داد که استفاده همزمان از این دو سلنیوم) باعث افزایش عیار آنتی‌بادی عنصر (روی و علیه گلبول قرمز گوسفند می‌گردد که این نتیجه با مشاهدات هگازی و آتاچی (۸)، مطابقت دارد.

جدول ۲- اثر گروه‌های آزمایشی بر پاسخ سیستم ایمنی همورال

Table 2. Effect of experimental diets on humoral immune response

تیمارها			تست اولیه			تست ثانویه		
گروه‌های ازمایشی آزمایشی	روی	سلنیوم	IgM	IgG	پادتن کل	IgM	IgG	پادتن کل
سالم	صفر	صفر	۱/۷۵^{b}	۳/۵۰	۵/۲۵^{b}	۲/۵۰^{b}	۴/۵۰	۷/۰۰^{b}
سالم	صفر	۰/۳	۱/۷۵^{b}	۳/۷۵	۵/۵۰^{b}	۳/۰۰^{ba}	۴/۵۰	۷/۵۰^{ba}
سالم	۴۰	صفر	۲/۰۰^{ba}	۳/۵۰	۵/۵۰^{b}	۳/۰۰^{ba}	۴/۵۰	۷/۵۰^{ba}
سالم	۴۰	۰/۳	۲/۰۰^{ba}	۳/۷۵	۵/۷۵^{ba}	۳/۰۰^{ba}	۴/۵۰	۷/۵۰^{ba}
سالم	۱۰۰	صفر	۲/۰۰^{ba}	۳/۵۰	۵/۵۰ ^{b}	۳/۰۰^{ba}	۴/۵۰	۷/۵۰^{ba}
سالم	۱۰۰	۰/۳	۲/۷۵^{ba}	۳/۷۵	۶/۵۰^{a}	۳/۵۰^{a}	۴/۷۵	۸/۲۵^{a}
روغن اکسیده	صفر	صفر	۲/۰۰^{ba}	۳/۵۰	۵/۵۰^{b}	۳/۰۰^{ba}	۴/۵۰	۷/۵۰^{ba}
روغن اکسیده	صفر	۰/۳	۱/۷۵^{b}	۳/۲۵	۵/۰۰^{b}	۲/۵۰^{b}	۴/۵۰	۷/۰۰^{b}
روغن اکسیده	۴۰	صفر	۱/۷۵^{b}	۴/۰۰	۵/۷۵^{ba}	۳/۰۰^{ba}	۴/۷۵	۷/۷۵^{ba}
روغن اکسیده	۴۰	۰/۳	۲/۲۵^{ba}	۳/۵۰	۵/۷۵^{ba}	۳/۰۰^{ba}	۴/۵۰	۷/۵۰^{ba}
روغن اکسیده	۱۰۰	صفر	۲/۲۵^{ba}	۳/۲۵	۵/۵۰ ^{b}	۲/۷۵^{ba}	۴/۷۵	۷/۵۰^{ba}
روغن اکسیده	۱۰۰	۰/۳	۲/۷۵ ^{a}	۳/۷۵	۶/۵۰^{a}	۳/۵^{a}	۴/۷۵	۸/۲۵^{a}
SEM			۰/۲۸۸	۰/۲۸۲	۰/۲۸۸	۰/۲۴۶	۰/۲۷۹	۰/۳۰۳
اثرات اصلی								
روغن اکسیده	سالم		۲/۰۴	۳/۶۲	۵/۶۶	۳/۰۰	۴/۵۴	۷/۵۴
	۲٪ روغن اکسیده		۲/۱۲	۳/۵۴	۵/۶۶	۲/۹۵	۴/۶۲	۷/۵۸
روی	۰		۱/۸۱^{b}	۳/۵۰	۵/۳۱^{b}	۲/۷۵^{b}	۴/۵۰	۷/۲۵^{b}
	۴۰		۲/۰۰^{b}	۳/۶۸	۵/۶۸^{ba}	۳/۰۰^{ba}	۴/۵۶	۷/۵۶^{ba}
	۱۰۰		۲/۴۳^{a}	۳/۵۶	۶/۰۰^{a}	۳/۱۸^{a}	۴/۶۸	۷/۸۷^{a}
سلنیوم	۰		۱/۹۵	۳/۵۴	۵/۵۰^{b}	۲/۸۷	۴/۵۸	۷/۴۵
	۰/۳		۲/۲۰	۳/۶۲	۵/۸۳^{a}	۳/۰۸	۴/۵۸	۷/۶۶
P-Values								
روغن			۰/۶۲۰	۰/۶۱۲	۰/۶۵۱	۰/۷۷۱	۰/۶۰۴	۰/۸۱۳
روی			۰/۰۱۲	۰/۶۳۷	۰/۰۰۷	۰/۰۵۳	۰/۶۲۴	۰/۰۲۲
روغن*روی			۰/۹۳۹	۰/۶۳۷	۰/۸۲۶	۰/۹۱۸	۰/۹۳۴	۰/۹۴۵
سلنیوم			۰/۱۴۲	۰/۶۱۲	۰/۰۵۳	۰/۱۵۱	۰/۸۴۵	۰/۲۴۲
روغن*سلنیوم			۰/۹۵۲	۰/۳۱۳	۰/۳۲۴	۰/۳۸۵	۰/۶۰۴	۰/۲۴۲
روی*سلنیوم			۰/۱۹۹	۰/۴۳۶	۰/۰۲۳	۰/۱۳۲	۰/۸۱۶	۰/۱۰۲
روغن*روی*سلنیوم			۰/۵۷۴	۰/۴۳۶	۰/۶۴۹	۰/۱۷۹	۰/۹۳۴	۰/۴۸۶

a-b: در هر ستون، حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p<0/05$).

SEM: میانگین انحراف استاندارد(Standard Error Mean)

تأثیر گروه‌های مختلف آزمایشی بر عملکرد سیستم ایمنی سلولی

نتایج ارزیابی حساسیت پوستی بازوفیل (CBH) که جهت بررسی میزان پاسخ ایمنی سلولی جوجه‌ها مورد استفاده قرار گرفت در جدول ۳ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری در میزان ضخامت پوست بین انگشتان ۲ و ۳ پا بعد ۱۲ و ۲۴ ساعت از تزریق فیتوهموگلوتنین بین جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی مختلف مشاهده نشد ($p>0/05$). افزودن سلنیوم به جیره پرندگان باعث تقویت سیستم ایمنی سلولی می‌گردد (۱). تحریک سیستم ایمنی ممکن است به‌دلیل افزایش فعالیت لنفوسیت‌های T و سلول‌های بیگانه‌خوار و افزایش سطح پروتئین سرم باشد (۷).روی فعالیت آنزیم‌های ضداکسیدانی را تحت تاثیر قرار می‌دهد و باعث کاهش اثر اکسیدکنندگی رادیکال‌های آزاد می‌شود همچنین عنصر ضروری برای آنزیم سوپراکسیددسموتاز می‌باشد که باعث بهبود عملکرد سیستم ایمنی سلولی می‌گردد (۱۳). در حالی که در آزمایش حاضر هیچ تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌های آزمایشی مشخص نشد و نتیجه به‌دست‌آمده مغایر با نتایج (۱،۷) می‌باشد.لازم به ذکر است که اثر روی بر وزن طحال به‌عنوان محل تولید لنفوسیت‌های T، در این آزمایش معنی‌دار بود ولی دلیل عدم تاثیر معنی‌دار عنصر روی در تست CBH، که نماینگر افزایش میزان فعالیت سلول‌های T، B و ماکروفاژها می‌باشد، احتمالاً ناشی از تفاوت در میزان سطح

روی مورد استفاده، شکل مورد استفاده شده عنصر روی، سویه جوجه مورد آزمایش و شرایط پرورش باشد.

پارامترهای مربوط به اندام‌های لنفاوی

اثرات گروه‌های آزمایشی مختلف بر وزن نسبی (گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن زنده) تیموس، بورس و طحال در جدول ۴ نشان داده شده است. گروه‌های آزمایشی مختلف تاثیری بر میانگین وزن تیموس، بورس و طحال نشان ندادند. در بررسی اثرات اصلی عنصر روی بروزن نسبی اندام طحال بدون در نظر گرفتن فاکتورهای سلنیوم و روغن، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). به‌طوری که بدون در نظر گرفتن روغن و سلنیوم جوجه‌های دریافت‌کننده سطح صفر میلی‌گرم در کیلوگرم روی کمترین، وزن نسبی طحال و جوجه‌های دریافت‌کننده سطح ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روی، بیشترین میزان وزن نسبی طحال را دارا بودند. همچنین اثر اصلی روغن در وزن نسبی طحال از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت ولی از لحاظ عددی میزان افزایش وزن نسبی طحال در روغن سالم در مقایسه با روغن اکسیده بیشتر بود (۰/۱۵۱ در مقابل ۰/۱۴۳). همچنین در مورد اثر اصلی سلنیوم، نتایج مشابهی در مورد وزن طحال نشان داده شد و تفاوت فقط از لحاظ عددی وجود داشت که سطح ۰/۳ میلی‌گرم/کیلوگرم سلنیوم وزن نسبی طحال بیشتری را نسبت به سطح صفر سلنیوم نشان داد (۰/۱۵۰ در مقابل ۰/۱۴۴). در اثرات اصلی نوع روغن، وزن نسبی تیموس اختلاف معنی‌داری بین دو سطح روغن مورد استفاده، نشان نداد ولی از نظر عددی میزان وزن نسبی تیموس در جوجه‌های تغذیه‌شده با روغن سالم بیشتر از جوجه‌های تغذیه‌شده با روغن اکسیده بود (۰/۱۴۰ در مقابل ۰/۱۳۷). همچنین تاثیر اثر سطوح مختلف روی بر وزن نسبی تیموس معنی‌دار نبود ولی از نظر عددی جوجه‌های تغذیه‌شده با سطح ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روی وزن نسبی تیموس بالاتری نسبت به وزن نسبی تیموس جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره فاقد روی داشتند (۰/۱۴۲ در مقابل ۰/۱۳۶). اثر اصلی سلنیوم نیز بر وزن نسبی تیموس از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ولی از نظر عددی سطح ۰/۳ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن نسبی تیموس بالاتری نسبت به سطح صفر سلنیوم را نشان دادند (۰/۱۴۰ در مقابل ۰/۱۳۷). در بررسی اثرات اصلی روغن، روی و سلنیوم بر وزن نسبی بورس نیز هیچ اثر معنی‌داری وجود نداشت ولی از نظر عددی روغن سالم نسبت به روغن اکسیده، ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روی نسبت به صفر میلی‌گرم/کیلوگرم روی و ۰/۳ میلی‌گرم/کیلوگرم سلنیوم نسبت به صفر میلی‌گرم/کیلوگرم سلنیوم، عدد بالاتری را نشان دادند ولی از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار نبود.

والش و همکاران (۲۳) گزارش کردند در اثر کمبود روی امکان کاهش اندازه اندام لنفاوی، خصوصا طحال وجود دارد. در آزمایش حاضر نیز عدم مکمل‌کردن روی در جیره باعث افت معنی‌دار در وزن نسبی طحال مشاهده شد. طحال از اندام‌های لنفوئیدی ثانویه بدن است که در تمایز و توسعه لنفوسیت‌های T و B نقشی مهم دارد و از اندام‌های اصلی تولید آنتی‌بادی در بدن در مقابل هر گونه آنتی‌ژن می‌باشد و افزایش وزن آن نشانه‌ی افزایش جمعیت و تولید سلول‌های ایمنی می‌باشد (۴). هر چند سطوح مختلف روی، تفاوت معنی‌داری را در وزن نسبی تیموس و بورس نشان ندادند ولی از نظر عددی وزن نسبی بورس در سطوح ۴۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روی، بیشتر از سطح صفر میلی‌گرم بر کیلوگرم روی بود. تراورز و همکاران (۲۱) و همچنین بارتلت و اسمیت (۱۷)، گزارش کردند روغن اکسیده و استرس اکسیداتیو، باعث کاهش وزن در اندام لنفوئیدی می‌شوند ولی مشاهدات ما در این آزمایش کاهش وزن اندام لنفوئیدی را در سطح روغن اکسیده نسبت به روغن سالم از نظر عددی نشان داد ولی این تفاوت معنی‌دار نبود که مطابق با گزارش صالح و همکاران (۱۵) می‌باشد. روی یک کوفاکتور برای تعدادی از آنزیم‌ها، از جمله تیمیدین کیناز، ریبونوکلئاز و DNA پلیمراز و RNA می‌باشد. تمام این آنزیم‌ها برای تقسیم سلولی مهم هستند. علاوه بر این، عنصر روی کوفاکتوری مهم برای تولید تیمولین و هورمون های پپتیدی هستند که نقش کلیدی در بلوغ سلول‌های T دارند.کید و همکاران (۱۰) در بررسی نقش عنصر روی نشان دادند که روی باعث افزایش پاسخ ایمنی می‌شود. محققان اعتقاد دارند که عنصر روی با آنزیم‌های تکثیر کننده سلول‌های ایمنی همکاری می‌کند و کمبود مختصر آن باعث کوچک شدن تیموس و طحال و بافت‌های لنفوئیدی می‌شود. مطالعات نشان داده است که جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های غذایی که از نظر سلنیوم کمبود دارند ضایعاتی در اندام‌های لنفاوی و اختلال عملکرد سیستم ایمنی بدن به نمایش گذاشته‌اند (۱۴، ۲۴)، که در آزمایش حاضر نیز این افت اندام لنفاوی از نظر عددی قابل مشاهده بود ولی از نظر آماری این اختلاف‌ها، معنی‌دار نبودند. تفاوت گزارشات این چنینی ممکن است در نتیجه تفاوت در میزان به کار رفته عناصر معدنی و یا اثر متقابل بین سایر مواد مغذی در جیره‌های پایه مورد استفاده در آزمایشات تغذیه‌ای باشد.

جدول ۳- اثر گروه‌های آزمایشی بر پاسخ ایمنی سلولی

Table 3. Effect of experimental diets on cellular immune response

گروه‌های ازمایشی		تفاوت اندازه بعد از ۱۲ ساعت	تفاوت اندازه بعد از ۲۴ساعت
روغن	سطح روی	سطح سلنیوم	
سالم	صفر	صفر	۰/۳۷۵	۰/۳۰۰
سالم	صفر	۰/۳	۰/۴۵۰	۰/۳۷۵
سالم	۴۰	صفر	۰/۳۰۰	۰/۳۰۰
سالم	۴۰	۰/۳	۰/۴۰۰	۰/۳۷۵
سالم	۱۰۰	صفر	۰/۲۷۵	۰/۳۷۵
سالم	۱۰۰	۰/۳	۰/۱۷۵	۰/۳۲۵
۲٪ روغن اکسیده	صفر	صفر	۰/۳۲۵	۰/۲۷۵
۲٪ روغن اکسیده	صفر	۰/۳	۰/۲۰۰	۰/۲۷۵
۲٪ روغن اکسیده	۴۰	صفر	۰/۴۷۵	۰/۳۲۵
۲٪ روغن اکسیده	۴۰	۰/۳	۰/۳۲۵	۰/۳۲۵
۲٪ روغن اکسیده	۱۰۰	صفر	۰/۲۲۵	۰/۲۵۰
۲٪ روغن اکسیده	۱۰۰	۰/۳	۰/۲۵۰	۰/۲۵۰
SEM			۰/۱۰۲	۰/۱۰۵
اثرات اصلی				
روغن		سالم	۰/۳۲۹	۰/۳۴۱
		۲٪ روغن اکسیده	۰/۳۰۰	۰/۲۴۵
روی		صفر	۰/۳۳۷	۰/۳۰۶
		۴۰	۰/۳۷۵	۰/۳۳۱
		۱۰۰	۰/۲۳۱	۰/۲۴۳
سلنیوم		صفر	۰/۳۲۹	۰/۲۶۶
		۰/۳	۰/۳۰۰	۰/۳۲۰
P-Value				
روغن			۰/۶۷۹	۰/۶۱۷
روی			۰/۲۷۰	۰/۶۴۱
روغن*روی			۰/۴۷۴	۰/۲۸۱
سلنیوم			۰/۷۹۱	۰/۴۵۲
روغن*سلنیوم			۰/۳۸۶	۰/۷۳۸
روی*سلنیوم			۰/۹۹۵	۰/۸۵۰
روغن*روی*سلنیوم			۰/۴۰۸	۰/۵۹۰

SEM: میانگین انحراف استاندارد (Standard Error Mean)

نتایج این پژوهش نشان داد مکمل کردن روی و سلنیوم، سیستم ایمنی هومورال را تحت تأثیر قرار می‌دهد و موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی هومورال می‌شود. همچنین با وجود این که گروه‌های آزمایشی بر روی سیستم ایمنی سلولی تفاوت معنی داری ایجاد نکردند، اما تأثیر مثبتی در جهت تقویت سیستم ایمنی داشتند. اندام‌های لنفاوی نیز به‌دلیل جیره‌های اعمال‌شده شامل روی و سلنیوم، وزن نسبی بهتری در مقایسه با تیمار شاهد ثبت کردند.

جدول ۴- اثر گروه‌های آزمایشی بر وزن نسبی اندام‌های لنفاوی

Table 4. Effect of experimental diets on relative weight of lymphoid organs

گروه‌های ازمایشی			وزنتیموس	وزنبورس	وزن طحال
روغن اکسیده	روی	سلنیوم	(گرمدرازای۱۰۰گرموزنزنده)	(گرمدرازای۱۰۰گرموزنزنده)	(گرمدر ازای۱۰۰گرموزنزنده)
سالم	صفر	صفر	۰/۱۳۷	۰/۲۳۲	۰/۱۴۲
سالم	صفر	۰/۳	۰/۱۳۷	۰/۲۵۵	۰/۱۴۷
سالم	۴۰	صفر	۰/۱۳۷	۰/۲۵۷	۰/۱۴۲
سالم	۴۰	۰/۳	۰/۱۴۰	۰/۲۱۷	۰/۱۵۰
سالم	۱۰۰	صفر	۰/۱۴۲	۰/۲۴۲	۰/۱۶۵
سالم	۱۰۰	۰/۳	۰/۱۴۵	۰/۲۵۷	۰/۱۶۰
۲٪روغن اکسیده	صفر	صفر	۰/۱۳۵	۰/۲۲۰	۰/۱۳۵
۲٪روغن اکسیده	صفر	۰/۳	۰/۱۳۵	۰/۲۴۵	۰/۱۳۷
۲٪روغن اکسیده	۴۰	صفر	۰/۱۳۷	۰/۲۴۰	۰/۱۳۵
۲٪روغن اکسیده	۴۰	۰/۳	۰/۱۳۷	۰/۲۴۵	۰/۱۴۵
۲٪روغن اکسیده	۱۰۰	صفر	۰/۱۳۷	۰/۲۴۵	۰/۱۴۷
۲٪روغن اکسیده	۱۰۰	۰/۳	۰/۱۴۵	۰/۲۲۲	۰/۱۶۲
		SEM	۰/۰۱۰	۰/۰۱۳	۰/۰۰۹
		اثرات اصلی			
روغن اکسیده	روغن سالم		۰/۱۴۰	۰/۲۴۳	۰/۱۵۱
	۲٪روغن اکسیده		۰/۱۳۷	۰/۲۳۶	۰/۱۴۳
روی	صفر		۰/۱۳۶	۰/۲۳۸	۰/۱۴۰^{b}
	۴۰		۰/۱۳۸	۰/۲۴۰	۰/۱۴۳^{ba}
	۱۰۰		۰/۱۴۲	۰/۲۴۱	۰/۱۵۸^{a}
سلنیوم	صفر		۰/۱۳۷	۰/۲۳۹	۰/۱۴۴
	۰/۳		۰/۱۴۰	۰/۲۴۰	۰/۱۵۰
		P -Value			
روغن			۰/۵۹۰	۰/۹۲۱	۰/۸۷۲
روی			۰/۲۹۸	۰/۷۸۸	۰/۰۰۸
روی*روغن			۰/۹۶۶	۰/۶۸۴	۰/۹۳۷
سلنیوم			۰/۴۵۰	۰/۹۲۹	۰/۲۴۴
سلنیوم*روغن			۰/۹۱۱	۰/۷۳۷	۰/۴۳۷
سلنیوم*روی			۰/۹۸۵	۰/۲۰۶	۰/۸۶۵
سلنیوم*روی*روغن			۰/۸۷۶	۰/۰۸۶	۰/۷۶۳

a-b: در هر ستون، حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (p<۰/۰۵).

SEM: میانگین انحراف استاندارد (Standard Error Mean)

منابع

1. Arthur, J.R., R.C. McKenzie and G.J. Beckett. 2003. Selenium in the immune system. The Journal of Nutrition,133: 1457S-1459S.
2. Cai, S., C. Wu, L. Gong, T. Song, H. Wu and L. Zhang. 2012. Effects of nano-selenium on performance, meat quality, immune function, oxidation resistance, and tissue selenium content in broilers. Poultry Science, 91: 2532-2539.
3. Chand, N., S. Naz, A. Khan, S. Khan and R.U. Khan. 2014. Performance traits and immune response of broiler chicks treated with zinc and ascorbic acid supplementation during cyclic heat stress. International Journal of Biometeorology, 58: 2153-2157.
4. Eerola, E., T. Veromaa and P. Toivanen. 1987. Special features in the structural organization of the avian lymphoid system.Cell and Tissue Research, 258:119-124.
5. Engberg, R.M., C. Lauridsen, S.K. Jensen and K. Jakobsen. 1996. Inclusion of oxidized vegetable oil in broiler diets. Its influence on nutrient balance and on the antioxidative status of broilers. Poultry Science, 75: 1003-1011.
6. Fekete, S.G. and R. Kellems. 2007. Interrelationship of feeding with immunity and parasitic infection: a review. Veterinární Medicína, 52: 131.
7. Fuller, R. 1989. A review: probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology, 66: 365-378.
8. Hegazy, S. and Y. Adachi. 2000. Comparison of the effects of dietary selenium, zinc, and selenium and zinc supplementation on growth and immune response between chick groups that were inoculated with Salmonella and aflatoxin or Salmonella. Poultry Science,79: 331-335.
9. Karimi, A., K. Hosseini, Z. Nemati and M.R. Sheikhlou. 2018. Effects of different zinc sources on productive performance and egg quality, blood parameters and immune response in Japanese layer quail. Research On Animal Production, 9(20): 27-35.

10. Kidd, M., N. Anthony, L. Newberry and S. Lee. 1993. Effect of supplemental zinc in either a corn-soybean or a milo and corn-soybean meal diet on the performance of young broiler breeders and their progeny. Poultry Science, 72: 1492-1499.
11. Kidd, M., P. Ferket and M. Qureshi. 1996. Zinc metabolism with special reference to its role in immunity. World's Poultry Science Journal, 52: 309-324.
12. Nelson, N., N. Lakshmanan and S. Lamont. 1995. Sheep red blood cell and Brucella abortus antibody responses in chickens selected for multitrait immunocompetence. Poultry Science,74: 1603-1609.
13. Powell, S.R. 2000. The antioxidant properties of zinc. The Journal of Nutrition,130: 1447S-1454S.
14. Rao, S.V.R., B. Prakash, M.V.L.N. Raju, A.K. Panda, S. Poonam and O.K. Murthy. 2013. Effect of supplementing organic selenium on performance, carcass traits, oxidative parameters and immune responses in commercial broiler chickens. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 26: 247.
15. Saleh, H., S. Rahimi and T.M. Karimi. 2009. Theeffect of diet that contained fish oil on performance, serum parameters, the immune system and the fatty acid composition of meat in broilers. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 3(2): 69-75.
16. Shankar, A.H. and A.S. Prasad. 1998. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistanceto infection. The American Journal of Clinical Nutrition, 68: 447S-463S.
17. Smith, M. 2003. Effects of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broilers under heat stress. Poultry Science, 82: 1580-1588.
18. Soroush, Z., S. Salari, M. Sari and J. Fayazi. 2015. Tabatabaii. Effects of different levels of zinc on performance, egg quality traits and some blood parameters of laying hens. Research on Animal Production, 6: 19-27 (In Pearsian).
19. Stefanidou, M., C. Maravelias, A. Dona and C. Spiliopoulou. 2006. Zinc: a multipurpose trace element. Archives of Toxicology, 80: 1.
20. Surai, P. 2002. Selenium in poultry nutrition 2. Reproduction, egg and meat quality and practical applications. World's Poultry Science Journal, 58: 431-450.
21. Tavárez, M., D.D. Boler, K. Bess, J. Zhao, F. Yan, A. Dilger, F. McKeith and J. Killefer. 2011. Effect of antioxidant inclusion and oil quality on broiler performance, meat quality, and lipid oxidation. Poultry Science, 90: 922-930.
22. Thompson, D., K. Elgert, W. Gross and P. Siegel. 1980. Cell-mediated immunity in Marek's disease virus-infected chickens genetically selected for high and low concentrations of plasma corticosterone. American Journal of Veterinary Research, 41: 91-96.
23. Walsh, C. T., H. H. Sandstead, A. d. S. Prasad, P. M. Newberne and P. J. Fraker. 1994. Zinc: health effects and research priorities for the 1990s. Environmental Health Perspectives, 102: 5-46.
24. Zhang, Z.W., Q.H. Wang, J.L. Zhang, S. Li, X.L. Wang and S.W. Xu. 2012. Effects of oxidative stress on immunosuppression induced by selenium deficiency in chickens. Biological Trace Element Research, 149: 352-361.

The Effect of Different Levels of Zinc and Selenium Supplementation in Diets Containing Oxidized Oil on Immune System and Lymphatic Organs of Broiler Chickens

Masood Sarfazaei[1], Hassan Saleh[2], Mohammad Taher Mirakzehi[3] and Omid Jangjoo[4]

1- Graduated M.Sc. Student, Higher Education Complex of Saravan, Sistan and baluchestan, Iran
2- Assistant Professor, Higher Education Complex of Saravan, Sistan and baluchestan, Iran
(Corresponding author: hsaleh.um@gmail.com)
3- Assistant Professor, Higher Education Complex of Saravan, Sistan and baluchestan, Iran
4- Graduated M.Sc. Student, Higher Education Complex of Saravan, Sistan and baluchestan, Iran
Received: 1 April 2020 Accepted: 19 February 2021

Abstract

In order to study the effect of different levels of zinc and selenium in diets containing oxidized oil on humoral and cellular immunity and relative weight of lymphoid organs in broilers, an experiment performed in a 2×3×2factorial arrangement in a completely randomized design(two Zero and 2% oxidized oil levels, three levels of 0, 40 and 100 mg / kg zinc sulfate, two levels of zero and 0.3 mg / kg selenium) using 480 one-day-old Ross 308 chicks with 12 treatments and 4 replicate per treatment and 10 chicks per each treatment. To evaluate the immune system, changes in antibody titers were performed by injection of Sheep red blood cell (SRBC) at two times (21 and 28 days) and blood sampling at two times (28 and 35 days). The relative weights of bursa, spleen and thymus were measured at 42 days after slaughter. Cutaneous basophil hypersensitivity (CBH) test was used to evaluate cellular immune system. The results of total antibody titer in first and second times showed significant difference (P <0.05). Maximum grade of primary and secondary total antibodies in chicks fed with 100 mg / kg zinc and 0.3 mg / kg selenium and chicks oil). Containing 100 mg / kg zinc and 0.3 mg / kg selenium and the effect of zinc, Selenium, and their combined supplementation on the initial total antibody grade response was also significant, with 100 mg / kg zinc and 0.3 mg / kg. Selenium significantly increased the initial total antibody titer response. The effect of different experimental groups on IgM antibody response was significant at the first and second time (P <0.05). The cellular immune response of CBH test was not affected by different experimental diets. The effect of treatments on the relative weight of different lymph nodes was not significantly different. The results demonstrated that supplementation of zinc sulfate and sodium selenite improved the immune system of broilers.

Keyword: Broiler, Cellular immunity, Humoral immunity, Selenium, Zinc

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

" مقاله پژوهشی"

تأثیر مکمل‌سازی جیره غذایی با منابع معدنی و آلی سلنیوم بر عملکرد رشد، خصوصیات لاشه و متابولیت‌های خونی در جوجه غازها

ذبیح‌اله نعمتی[۱]، مقصود بشارتی[۲] و محمدرضا حاجی‌پور[۳]

۱- دانشیار دانشگاه تبریز، (نویسنده مسوول: znnemati@yahoo.com)
۲- استادیار دانشگاه تبریز
۳- دانش‌آموخته کارشناس ارشد، دانشگاه تبریز

تاریخ ارسال: ۹۹/۰۳/۰۸ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۱۷
صفحه: ۲۰ تا ۳۰

چکیده

هدف از انجام آزمایش حاضر بررسی اثر جیره غذایی حاوی سلنیوم آلی و معدنی بر عملکرد رشد، صفات لاشه و متابولیت‌های خونی در جوجه غاز بود. تعداد ۹٦ قطعه غاز بومی یک روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار، ٤ تکرار و ۸ پرنده در هر تکرار به مدت ۸ هفته استفاده شد. جیره‌های آزمایشی شامل جیره پایه، جیره پایه بعلاوه ۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم آلی (Sel-plex) و جیره پایه بعلاوه ۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم معدنی (سلنیت سدیم) بودند. صفات مربوط به عملکرد از سن ۱ الی ٥٦ روزگی رکوردگیری و هر دو هفته یک بار محاسبه شدند. جهت ارزیابی ایمنی سلولی از روش پاسخ حساسیت پوستی به فیتوهماگلوتنین استفاده شد. نتایج نشان داد که افزایش وزن بدن در طی دوره‌های ۲ تا ٦ هفتگی افزایش و بعد از آن کاهش یافت. بیشترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به گروه شاهد در هفته هشتم بوده و افزودن هر دو منبع سلنیوم سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی شد (p<۰/۰۵). صفات لاشه تحت تأثیر منابع مختلف معدنی و آلی سلنیوم قرار نگرفت (p<۰/۰۵). مکمل‌سازی جیره غذایی با سلنیوم معدنی و آلی سبب افزایش میزان ترکیبات فنولیک و میزان اسید چرب اشباع و غیراشباع گوشت و کاهش اکسیداسیون لیپید گوشت بعد از ۹ روز نگهداری در دمای ٤ درجه یخچال شد (p<۰/۰۵). مکمل سلنیوم سبب کاهش میزان کلسترول تام خون شد (p<۰/۰۵). پاسخ ایمنی سلولی در گروه سلنیوم آلی در مقایسه با سلنیوم معدنی و گروه شاهد بهبود یافت (p<۰/۰۵). نتایج این آزمایش پیشنهاد می کند سلنیوم جیره غذایی خصوصا سلنیوم آلی پتانسیل مطلوبی برای بهبود نسبی عملکرد و افزایش ایمنی سلولی و کیفیت گوشت جوجه غازها دارد.

واژه‌های کلیدی: اسید چرب، ایمنی، سلنیوم، غاز، غیر اشباع، گوشت

مقدمه

مصرف گوشت غاز اگرچه در مقایسه با مرغ و بوقلمون به‌ویژه در کشورهای اروپایی و آمریکای شمالی محدود است ولی می‌توان یک علاقه‌ی فزاینده‌ی را در سراسر جهان در تولید و مصرف گوشت غاز مشاهده نمود به‌طوری‌که که تولید گوشت غاز در چین بین سال‌های ۱۹۹۰ تا ۲۰۰۹ از ۰/۴۷۴ به ۲/۳ بیلیون تن افزایش یافته است (۳۰). غاز از دیرباز در ایران به‌صورت سنتی در مزارع کشاورزی پرورش یافته و امروزه گوشت آن به‌لحاظ ارزش غذایی بالا و پرورش آن به‌روش طبیعی مورد توجه مصرف کنندگان می‌باشد (۲۴). ازجمله ویژگی‌های مهم پرورش غاز می‌توان به قابلیت استفاده از مواد خوراکی با فیبر بالا، سهولت پرورش آن به‌دلیل الگوهای رفتاری حیوان و استحصال فرآورده‌های فرعی باارزشی چون پر و کبد چرب اشاره کرد که آن را مناسب با سیستم کشاورزی پایدار کرده است (۲۴). کیفیت گوشت غاز از قابلیت هضم (۹۳٪) و انرژی بالا برخوردار بوده و چربی آن حاوی انواع اسیدهای چرب غیراشباع ارزشمند است (۱۰، ۳۵).

امروزه هدف پرورش دهندگان طیور علاوه بر دست‌یافتن به بالاترین راندمان اقتصادی، تولید فرآورده‌های غذایی سالم و با کیفیت بالا هست. در سال‌های اخیر به‌لحاظ نقش‌های حیاتی مواد معدنی در رشد، سلامت و تولید طیور مطالعه در خصوص مقدار و نوع مواد معدنی در جیره به منظور بهبود عملکرد مورد توجه محققین است. سلنیوم، یکی از عناصر ضروری کم‌مصرف است که شرکت در ساختار بیش از ۲۵ سلنوپروتئین در توسعه‌ی عملکردهای تولید مثلی و ایمنی حیوان نقشی کلیدی ایفا می‌کند (۴۸) اما بررسی‌ها حاکی از آن است که مطالعه روی نقش سلنیوم در پرندگان آبزی همچون غاز در مقایسه‌ی با سایر گونه‌های طیور یا دیگر حیوانات مزرعه‌ای بسیار اندک بوده است. سلنیوم موجود در مواد خوراکی تابعی از سلنیوم موجود در خاک است و غلظت سلنیوم خاک و قابلیت دسترسی آن در مناطق مختلف جغرافیایی بسیار متغیر است. بنابراین سلنیوم غلات مصرفی تکاپوی نیاز نبوده و جهت جلوگیری از عوارض کمبود آن لازم است سلنیوم موردنیاز تأمین شود. حداقل (۳۸) و حداکثر سطح مجاز سلنیوم در جیره غذایی طیور به ترتیب به میزان ۰/۱۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی می‌باشد (۱۷) که باید با استفاده از منابع آلی (مثل مخمر حاوی سلنیوم یا سلپلکس) یا معدنی سلنیوم (مثل سلنیت سدیم) تأمین می‌شود. سلنومتیونین که ۲۱ امین اسیدآمینه هم خوانده می‌شود یک منبع آلی سلنیوم بوده و افزودن آن به جیره غذایی مرغ تخم‌گذار سبب افزایش باروری، تولید تخم‌مرغ، وضعیت آنتی‌اکسیدانی مرغ و بلدرچین و بهبود رشد بعد از دوره پرریزی مرغ تخم‌گذار می‌شود (۱۸; ۳۴). افزودن هر دو منبع آلی و معدنی سلنیوم به‌میزان ۰/۴ میلی‌گرم سبب تغییر مثبت

در فراسنجه‌های اصلی کیفیت تخم (۱) و محتوای عناصر پرنیاز و کم‌نیاز آن می‌شود اما اثرگذاری منبع آلی آن بیشتر است (۵).

خصوصیات ظاهری گوشت و کیفیت گوشت ازجمله رنگ، طعم، تردی و آبدار بودن آن موردتوجه مصرف‌کنندگان است. گوشت طیور حاوی مقادیر بالای پروتئین، اسیدهای چرب غیراشباع و مواد معدنی است. چربی گوشت غاز شامل مقدار بیشتری اسیدهای چرب غیراشباع با پیوندهای دوگانه نسبت به سایر حیوانات اهلی است و نسبت به اکسیداسیون حساسیت زیادی دارند. اکسیداسیون چربی یکی از مشکلات اصلی در صنعت گوشت می‌باشد که در نهایت منجر به تحلیل بافت چربی و از بین رفتن طعم گوشت و ارزش غذایی آن در دراز مدت می شود (۳۵). تغذیه طیور با سطوح بالایی از آنتی‌اکسیدان‌ها در جیره یک روش ساده برای بهبود پایداری اکسیداتیو و افزایش مدت نگهداری گوشت می‌باشد (۵۷). مطالعات اخیر حاکی از آن است که افزودن سلنیوم و ویتامین E در جیره غذایی، سبب بهبود ویژگی‌های کیفی تخم و بهبود عملکرد جوجه درآوری در مرغ مادر (۵۱) و تثبیت چربی گوشت شده و از توسعه‌ی بوهای ناخواسته، اکسیداسیون میوگلوبین‌ها و دیگر مضرات مربوط به تجزیه چربی‌ها جلوگیری می‌کند (۵۰). محققین گزارش کردند افزودن سلنیوم آلی به جیره غذایی سبب افزایش وزن زنده، پروتئین گوشت، فعالیت گلوتاتیون پروکسیداز پلاسمای خون در اردک (۸)، بهبود عملکرد بلدرچین تخم‌گذار (۱۴) و پایداری اکسیداتیو فراورده‌های گوشتی (۱۲) می‌شود. سلنیوم جزئی از سلنوپروتئین‌ها و بخش فعال آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بوده و سلول‌ها را از آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد و پراکسید چربی‌ها محافظت می‌کند (۴۵; ۴۷). سلنیوم آلی در مقایسه با سلنیوم معدنی در کاهش پراکسیداسیون لیپید کبد و ذخیره سلنیوم در بدن مرغ تخم‌گذار مؤثرتر است (۴۱). اخیرا نشان دادند مکمل سلنیومی در جیره غذایی سبب افزایش ارزش غذایی و ماندگاری گوشت غاز می‌شود (۳۶). بنابراین با توجه به اطلاعات کمتر در زمینه تأثیر افزودنی منابع آلی و معدنی سلنیوم بر عملکرد تولیدی و کیفیت گوشت غاز، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر افزودن و منابع آلی و معدنی سلنیوم بر عملکرد تولیدی، کیفیت گوشت، پراکسیداسیون چربی گوشت، سیستم ایمنی و برخی فراسنجه‌های خونی غازهای بومی منطقه‌ی آذربایجان شرقی انجام شد.

مواد و روش‌ها

جوجه غازهای بومی منطقه آذربایجان شرقی موردنیاز از ایستگاه تحقیقاتی غاز ملکان واقع در ۸ کیلومتری شهرستان ملکان با ارتفاع ۱۲۸۵ متر از سطح دریا، در طول شرقی ۴۶ درجه و ۴ دقیقه و عرض شمالی ۳۷ درجه و ۸ دقیقه تهیه شد. تعداد ۹۶ قطعه جوجه غاز یک‌روزه با میانگین وزن بدنی مشابه (۵/۲ ± ۹۲ گرم از میان ۱۲۰۰ قطعه جوجه غاز انتخاب و تهیه شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار، ۴ تکرار و ۸ قطعه پرنده در هر تکرار انجام شد. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره پایه ۲- جیره پایه بعلاوه ۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سلنیوم از منبع آلی (Sel-plex) ۳- جیره پایه بعلاوه ۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره از منبع معدنی (سلنیت سدیم) بودند. جیره پایه آغازین و رشد بر مبنای ذرت – گندم – سویا (جدول ۱) و بر اساس احتیاجات غذایی غاز و مطابق با توصیه انجمن ملی تحقیقات آمریکا (۱۹۹۴)، تنظیم و در اختیار پرندگان آزمایشی قرار گرفت. سلنیوم آلی مورد استفاده با نام تجاری سلپلکس، محتوی ۰/۱ گرم در ۱۰۰ گرم، به‌عنوان منبع سلنیوم آلی و سلنیت سدیم، محتوی ۴۶ گرم در ۱۰۰ گرم، سلنیوم، به‌عنوان منبع سلنیوم معدنی، در جیره‌های آزمایشی افزوده شد. جوجه‌های غاز به‌مدت ۸ هفته پرورش یافته، آب و خوراک در طول مدت آزمایش به‌طور آزاد در اختیار آن‌ها قرار گرفت.

جدول ۱- مواد خوراکی و سطوح مواد مغذی جیره پایه آغازین (۱ الی ۲۸ روزگی) و رشد (۲۸ الی ۵۶ روزگی) (%)
Table 1. Ingredients and nutrients level of starter (1 to 28 d) and grower (28 to 56 d) basal diet (%)

ماده خوراکی	دوره پرورشی	
	جیره آغازین (۱ الی ۲۸روزگی)	جیره رشد (۲۸ الی ۵۶روزگی)
دانه ذرت	۴۱/۵	۵۵
دانه گندم	۲۴	۲۶
کنجاله سویا	۳۰	۱۶
روغن سویا	۱/۵	۰
دی کلسیم فسفات	۱	۱
پودر صدف	۱	۱
نمک	۰/۱	۰/۱
مکمل معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل ویتامینی	۰/۲۵	۰/۲۵
ال لیزین	۰/۲	۰/۲
دی ال متیونین	۰/۲	۰/۲
مجموع	۱۰۰	۱۰۰
ترکیب شیمیایی محاسبه‌شده		
انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۹۲۲	۲۹۱۱
پروتئین خام (٪)	۲۰/۲۹	۱۴/۵۲
فیبر خام (٪)	۴/۳۰	۴/۴۶
چربی خام (٪)	۲/۲۴	۲/۶۷
لایزین کل (٪)	۱/۳۵	۰/۹۴
متیونین + سیستین (٪)	۰/۷۶	۰/۶۲
ترئونین (٪)	۰/۸۷	۰/۶۴
کلسیم (٪)	۰/۶۸	۰/۶۶
فسفر قابل‌دسترس (٪)	۰/۴۰	۰/۳۷
سلنیوم (میلی گرم کیلوگرم)	۰/۱۷	۰/۱۱

*مقادیر ویتامین‌ها تأمین شده در کیلوگرم جیره غذایی: ۱۰۷×۳۶ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۵×۸ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۷ گرم ویتامین K_3، ۰/۷ گرم ویتامین B_1، ۲/۶۴ گرم ویتامین B_2، ۴ گرم ویتامین B_6، ۱۲ گرم ویتامین B_5، ۱/۲ میلی‌گرم ویتامین B_{12}، ۰/۰۴ میلی‌گرم بیوتین، ۰/۴ گرم فولیک اسید، ۰/۰۰۶ کوبالامین.
**مقادیر مواد معدنی تأمین شده در کیلوگرم جیره غذایی: منگنز ۲۴ گرم، روی ۰/۰۹ گرم، آهن ۱۶ گرم، مس ۳ گرم، ید ۰/۲ گرم.

تجزیه لاشه و نمونه‌برداری از گوشت

در پایان دوره پرورش (۵۶روزگی) پرندگان در هر واحد آزمایشی توزین شده و به‌طور تصادفی ۲ پرنده از هر تکرار با وزن نزدیک به وزن میانگین هر قفس برای کشتار انتخاب شدند. کشتار ۱۲ ساعت بعد از آخرین وعده غذایی (دسترسی آزاد به آب) انجام شد. ابتدا لاشه‌ها توزین و وزن قلب، سنگدان، کبد، امعاواحشا، چربی محوطه بطنی، ران، سینه، بال و پشت و گردن اندازه‌گیری شد. پس از تفکیک لاشه، وزن نسبی هر یک از اندام‌ها به‌صورت نسبتی از درصد کل وزن لاشه پرنده گزارش شد. از گوشت عضله سینه و عضله‌ی ران چپ پرندگان کشتار شده نمونه‌برداری و میزان اسیدهای چرب آن اندازه‌گیری شد. همچنین به‌منظور اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدهید، نمونه گوشت تهیه‌شده از تیمارهای آزمایشی به‌مدت ۹ روز در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد.

اندازه‌گیری اندیس تیوباربیتوریک اسید گوشت

جهت اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون چربی، از روش آزمایش اندیس تیوباربیتوریک اسید ارائه‌شده توسط فازمن و همکاران (۲۰) با اندکی تغییرات اندازه‌گیری شد. ابتدا ۳ گرم نمونه گوشت خرد شده با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۲۰ درصد و ۴ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل بشر با استفاده از هموژنایز مدل (IKA T-25) به‌مدت ۳۰ ثانیه مخلوط شد. پس از سانتریفیوژ کردن مخلوط به‌وسیله دستگاه سانتریفیوژ مدل، (UNIVERSAL HITECH – 320R) با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه، عمل فیلتراسیون مایع رویی بالایی (مدل PLATINUM DV-24N-250) با کاغذ واتمن شماره ۱ انجام و مخلوط صاف شد. مقدار ۲ میلی‌لیتر از محلول صاف‌شده با ۲ میلی‌لیتر از معرف ۲- تیوباربیتوریک اسید ۰/۰۲ مولار مخلوط و لوله آزمایش به‌مدت ۲۰ دقیقه در داخل بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سلسیوس منتقل و نگهداری شد. پس از خروج از بن‌ماری و سرد کردن مخلوط، اندیس تیوباربیتوریک اسید به‌وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل، JENWAY– 6405) بر اساس میزان جذب نور در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری و نتایج حاصل به‌صورت میلی‌گرم مالون دی آلدهید در کیلوگرم گوشت گزارش شد

ارزیابی پاسخ ایمنی

جهت ارزیابی ایمنی سلولی در اواخر دوره پرورش تعداد ۲ پرنده از هر واحد آزمایشی به‌طور تصادفی انتخاب و محلول فیتوهماگلوتنین (PHA-P) به‌میزان ۰/۱ میلی‌لیتر بین پرده پای چپ تزریق شد. سپس در ۴۸ ساعت بعد از تزریق پاسخ حساسیت پوست با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد میانگین افزایش ضخامت در هر پرنده، از اختلاف ضخامت قبل و بعد از هر چالش به‌دست آمد. اختلاف در ضخامت پوست ایجادشده در قبل و بعد از تزریق نشان‌دهنده شاخص تحریک پوستی است و با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۳۲).

شاخص تحریک = ضخامت پرده پا پرنده بعد از تزریق – ضخامت اولیه پرده پا پرنده

فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون

در هفته هشتم دوره پرورش (۵۶روزگی)، برای بررسی اثر تیمارها بر برخی پارامترهای خونی غاز از هر واحد آزمایشی تعداد ۲ پرنده انتخاب و از طریق رگ زیر بال خون‌گیری انجام شد. نمونه‌های خون به‌صورت جداگانه در لوله‌های غیرهپارینی جمع‌آوری و پس از انعقاد و جداسازی پلاسما، در

دمای ۲۱- درجه سلسیوس نگهداری شدند. میزان فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون (سرم) شامل کلسترول، تری گلیسیرید، ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل و لیپو پروتئین با چگالی بالا (HDL) به‌وسیله دستگاه اتو آنالایزر (ALISON300) و با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون انجام شد (۲).

اندازه‌گیری ترکیب اسید چرب

ترکیب اسید چرب گوشت (مخلوط برابر گوشت سینه و ران) بعد از استخراج عصاره لیپیدی گوشت (۲۱) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی و روش علیرضالو و همکاران (۳) اندازه‌گیری شد. نتایج به‌صورت میلی‌گرم اسید چرب در ۱۰۰ گرم گوشت بیان شد.

آنالیز آماری

در این آزمایش صفات عملکرد طی ۴ دوره (هر دوره ۲ هفته) اندازه‌گیری شد به‌علت وجود کواریانس در میان اندازه‌گیری‌ها تکرار شده از حیوان یکسان، استفاده از رویه GLM به‌جای رویه MIXED روش غیردقیق بوده و خطای آزمایش و اریب بیشتر خواهد بود. بنابراین این صفات تکرار شده در زمان در نظر گرفته شد و داده‌های حاصل از عملکرد دوره‌های پرورش با استفاده از مدل آماری کاملاً تصادفی و روش آنالیز واریانس رکوردهای تکرارشونده در زمان (Repeated Measurement)، تحت رویه MIXED (۳۷) و با استفاده از نسخه ۹ نرم‌افزار SAS مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت (۴۴). مقایسه میانگین در سطح آماری ۵ درصد و با استفاده از آزمون توکی انجام پذیرفت. مدل آماری مورداستفاده برای بررسی عملکرد به‌شرح زیر است:

$$Y_{ijkm} = \mu+T_i+W_j+TW_{ij}+Q_{k(ji)}+E_{ijkm}$$

μ: میانگین جمعیت، T_i: اثر تیمار آزمایشی، W_j: اثر دوره، TW_{ij}: اثر متقابل تیمار و دوره، $Q_{k(ji)}$: اثر تصادفی پرنده در هر تیمار و E_{ijkm}: اثر اشتباه آزمایشی.

داده‌های پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی و شیمیایی گوشت غاز که یک بار در طول آزمایش اندازه‌گیری شد با استفاده از مدل آماری کاملاً تصادفی، تحت رویه‌ی GLM و به‌وسیله نرم‌افزار SAS مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین برای این صفات در سطح آماری ۵ درصد و به‌وسیله آزمون دانکن صورت پذیرفت.

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

Y_{ij}: متغیر وابسته، μ: میانگین کل صفت، T_j: اثر تیمار، e_{ij}: اثر اشتباه آزمایشی

نتایج و بحث

عملکرد رشدی حیوانات

نتایج مربوط به اثر افزودن منابع مختلف سلنیوم در جیره غذایی بر صفات عملکردی جوجه غاز پرواری شامل میزان مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل جیره غذایی، شاخص اروپایی و وزن بدن غازها از سن ۱ الی ۵۶روزگی در جدول ۲ آمده است. اثر افزودن سلنیوم در جیره غذایی بر وزن نهایی دوره پرورش غاز تمایل به معنی‌داری داشت (P=۰/۰۹) و بیشترین وزن بدن به گروه سلنیوم آلی تعلق داشت. اثر دوره بر وزن بدن معنی‌دار شد و با افزایش دوره پرورش وزن بدن افزایش یافت (p<۰/۰۵). مصرف خوراک و افزایش وزن بدن در طی دوره‌های ۲ تا ۶ هفتگی افزایش و بعد آن کاهش یافت. بیشترین مصرف خوراک مربوط به سلنیوم آلی و معدنی در دوره ۶ هفتگی بود و در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نشان داد (p<۰/۰۵). همچنین بیشترین وزن بدن در ۶ هفتگی مربوط به گروه‌های سلنیوم الی و معدنی بود ولی تفاوت آن با گروه کنترل معنی‌دار نشد. همچنین تفاوت بین منابع سلنیوم معنی‌دار نشد. ضریب تبدیل خوراک طی دوره‌های مختلف پرورش تحت تأثیر مکمل سلنیوم قرار گرفت (p<۰/۰۵) بیشترین ضریب تبدیل مربوط به گروه شاهد در هفته هشتم بوده و افزودن هر دو منبع سلنیوم سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی شد و تفاوت در بین منابع معنی‌دار نشد.

افزایش مصرف خوراک با نتایج برخی محققین در پرندگان مطابقت (۲۵) داشت. همچنین نتایج این مطالعه در بهبود در افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک با یافته‌های حاصل از مطالعه دیگر محققین در غاز (۳۱) جوجه گوشتی (۴; ۱۵) و عملکرد مرغ تخم‌گذار (۷) مطابقت دارد. وانگ و ژو (۲۰۰۸) بهبود در ضریب تبدیل خوراک را بعد از مکمل‌سازی جیره با سلنیوم در سطح ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره‌ی جوجه‌های گوشتی با استفاده از هر دو منبع سلنیت سدیم و مخمر غنی‌شده با سلنیوم مشاهده کردند (۵۴). بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های مختلف پرورش جوجه گوشتی تغذیه‌شده مکمل جیره‌ای نانو سلنیوم می‌توان به نیاز بالای جوجه‌های گوشتی به سلنیوم مرتبط دانست (۴). در حقیقت سلنیوم نقش‌های متفاوتی در انرژی متابولیسمی دارد (۲۲). بهبود نسبی در تیمار سلنیوم می‌تواند به‌دلیل جذب و استفاده بالا از سلنیوم در مقایسه با گروه شاهد باشد. همچنین نتایج بهبود نسبی در صفات عملکردی می‌تواند به‌علت تغییرات متابولیسمی هورمون تیروئید و یا درنتیجه بهبود در پر درآوری جوجه‌ها باشد (۱۹). پر درآوری مناسب برای جوجه بسیار مهم است زیرا پرها به تنظیم دمای بدن و حفاظت پوست و عضله‌ها از آسیب کمک می‌کند (۴۰). پیشنهاد کردند که پاسخ رشد پرندگان به مکمل سلنیومی جیره ممکن است به سطح استرس پرنده وابسته باشد و میزان پاسخ در پرندگان دارای تنش بیشتر باشد (۴۹).

جدول ۲- اثر مکمل‌سازی جیره غذایی با افزودنی سلنیوم معدنی و آلی بر عملکرد غازها در طول دوره آزمایش از ۱ الی ۵۶ روزگی
Table 2. The effects of dietary supplementation et with organic and inorganic selenium on the performance of geese from day 1 to 56 of experimental period

صفات / موارد	وزن بدن (گرم)	میانگین افزایش وزن (گرم در پرنده در روز)	میانگین خوراک مصرفی (گرم در پرنده در روز)	ضریب تبدیل غذایی
جیره غذایی				
شاهد	۱۷۳۹/۵۱	۴۶/۳۶^{b}	۱۴۷/۹۰	۳/۳۱^{a}
سلنیوم آلی	۱۹۴۵/۹۸	۵۳/۸۶^{a}	۱۵۵/۸۰	۲/۹۲^{ab}
سلنیوم معدنی	۱۸۵۲/۸۷	۵۲/۰۳^{a}	۱۴۲/۵۵	۲/۷۶^{b}
SEM	۵۸/۱۵۷	۱/۸۶۱۲	۶/۱۴۳۷	۰/۱۱۱۲
دوره آزمایش				
دو هفته اول (۱ الی ۱۴)	۵۸۲/۵۷^{d}	۳۵/۰۴^{b}	۴۳/۸۹^{d}	۱/۲۵^{a}
دو هفته دوم (۱۴ الی ۲۸)	۱۵۱۶/۹^{c}	۶۶/۷۳^{a}	۱۶۷/۱۶^{c}	۲/۵۴^{b}
دو هفته سوم (۲۸ الی ۴۲)	۲۴۱۷/۸۱^{b}	۶۴/۳۷^{a}	۲۰۱/۵۳^{a}	۳/۱۴^{c}
دو هفته چهارم (۴۲ الی ۵۶)	۲۸۶۱/۸۷^{a}	۳۶/۸۶^{b}	۱۸۳/۷۳^{b}	۵/۰۵^{d}
SEM	۴۴/۴۴۲	۱/۶۷۹۸	۴/۵۴۱۶	۰/۰۸۷۶
P-value				
جیره غذایی	۰/۰۹۲۳	۰/۰۴۶۲	۰/۳۹۷۲	۰/۰۱۸۸
دوره آزمایش	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

در هر ستون میانگین‌های با حروف غیر یکسان در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار هستند.

صفات لاشه

نتایج اثر افزودن منابع مختلف سلنیوم بر وزن نسبی اجزای لاشه شامل وزن لاشه، درصد راندمان لاشه و درصد اندام‌هایی چون بال، پشت و گردن، قلب، سنگدان، چربی محوطه بطنی، کبد، ران و سینه در جدول ۳ ذکر شده است. مکمل‌سازی جیره غذایی با منابع مختلف سلنیوم تأثیر معنی‌دار بر صفات لاشه غازها نداشت ($p<۰/۰۵$). افزایش وزن لاشه در گروه سلنیوم آلی در مقایسه با گروه شاهد تمایل به معنی‌داری داشت ($p=۰/۰۵۳$). همچنین راندمان لاشه در مقایسه با گروه شاهد ازلحاظ عددی افزایش یافت.

جدول ۳- تأثیر مکمل‌سازی جیره غذایی با منابع سلنیوم معدنی و آلی بر خصوصیات لاشه در جوجه غاز نر در سن ۵۶ روزگی
Table 3. The effects of dietary supplementation with organic and inorganic selenium on the carcass characteristics of male goose chick at the age of 56 days

صفات	تیماری آزمایشی			SEM	P- value
	شاهد	سلنیوم معدنی	سلنیوم آلی		
وزن لاشه (گرم)	۲۱۹۸/۳	۲۱۵۵/۰	۲۴۴۵/۰	۷۷/۰۳۱۱	۰/۰۵۳۶
وزن کبد (گرم)	۶۰/۰	۶۵/۰	۷۱/۲۵	۸/۵۳۹۱	۰/۲۶۰۵
وزن قلب (گرم)	۲۵/۰	۲۲/۵۰	۲۳/۷۵	۲/۸۵۶۰	۰/۸۲۹۰
وزن سنگدان (گرم)	۱۱۱/۶۶۷	۱۱۵/۰۰	۱۱۲/۵۰	۵/۳۷۹۰	۰/۹۰۲۳
راندمان لاشه (٪)	۷۶/۳۲۰	۷۵/۵۵۷	۸۱/۱۱۳	۲/۱۱۱۰	۰/۱۸۶۶
وزن ران (٪)	۲۱/۳۳۰	۲۱/۶۸۱	۲۱/۴۳۳	۰/۹۳۶۳	۰/۹۶۳۸
وزن سینه (٪)	۱۸/۰۷۷	۱۹/۲۰۷	۲۰/۱۳۳	۱/۲۷۵۷	۰/۵۴۴۴
وزن بال (٪)	۱۴/۸۶۷۸	۱۳/۴۶۵۰	۱۳/۰۳۸۸	۲/۷۱۸۶	۰/۰۵۷۸
وزن پشت (٪)	۲۶/۴۶۸	۲۴/۴۷۶	۲۵/۹۶۶	۰/۹۹۰۴	۰/۳۶۷۹
وزن کبد (٪)	۲/۷۰۹۲	۳/۰۱۵۲	۲/۹۲۵۵	۰/۲۲۶۶	۰/۶۳۳۲
وزن قلب (٪)	۱/۱۵۲۱	۱/۰۴۳۴	۰/۹۸۰۹	۰/۱۳۴۸	۰/۶۷۳۷
وزن سنگدان (٪)	۵/۱۰۳۱	۵/۳۳۵۸	۴/۶۰۷۳	۰/۲۳۱۲	۰/۱۲۹۵
چربی محوطه شکمی (٪)	۲/۶۳۷۰	۱/۹۷۴۱	۲/۶۱۲۱	۰/۳۱۸۰	۰/۲۹۶۵

وزن لاشه بدون در نظر گرفتن وزن چربی محوطه شکمی و امعاء و احشاء نسبت به وزن زنده بیان‌شده است.

جدول ۴- تأثیر مکمل‌سازی جیره غذایی با منابع سلنیوم معدنی و آلی بر فراسنجه های خونی و پاسخ به ایمنی سلولی* غاز نر
Table 4. The effects of dietary supplementation with organic and inorganic selenium on the blood parameters and cellular immune response in male goose

صفات	تیماری آزمایشی			SEM	*P*- value
	شاهد	سلنیوم معدنی	سلنیوم آلی		
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۵۷/۶۷	۶۸/۶۷	۸۳/۰۰	۷/۹۵۰۰	۰/۱۳۲
کلسترول (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۱۹۶/۰^{b}	۱۷۲^{a}	۱۹۱/۰^{b}	۳/۷۴۱۴	۰/۰۰۳
کلسترول با چگالی بالا (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۷۲/۳۸۳	۶۷/۳۶۷	۶۳/۷۸۳	۳/۳۶۱۴	۰/۲۴۴
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل	۰/۸۱۶	۰/۸۸۳	۰/۹۰۰	۰/۰۴۶۴	۰/۴۳۹
پاسخ ایمنی سلولی (میلی‌متر)	۰/۱۴۳۷^{b}	۰/۱۵۰۰^{b}	۰/۱۸۲۵^{a}	۰/۰۰۹	۰/۰۴۸

*فیتوهماگلوتنین پ در روز ۵۴ در پرده بین انگشتان تزریق و بعد از ۴۸ ساعت میزان تورم پوست اندازه‌گیری شد.

برخلاف نتایج آزمایش حاضر گزارشات قبلی نشان دادند که وزن نسبی عضله سینه و ران جوجه گوشتی در گروه نانوسلنیوم نسبت به گروه شاهد بیشتر بود و مشابه این آزمایش مکمل سلنیوم اثر معنی‌داری بر وزن اعضای خوراکی بدن (قلب، کبد و سنگدان) و اعضای غیرخوراکی جوجه‌ها (شش‌ها، کلیه‌ها، پانکراس، بیضه‌ها، چینه دان، پیش معده، سکوم چپ و راست) نداشت (۴). در تحقیقی دیگر تغذیه ۲ نوع رژیم غذایی متفاوت به غازها نژاد کلودا از سن ۱ الی ۱۷ هفتگی تأثیری بر وزن ماهیچه ران و سینه، چربی محوطه شکمی، وزن نسبی اندام‌های خوراکی از قبیل کبد، قلب و سنگدان نشان نداد (۲۶). اگرچه تعدادی گزارش در مورد رابطه میان سلنیوم و ویژگی‌های دستگاه گوارش (۵۵) و اجزای لاشه (۲۷) وجود دارد اما در دیگر تحقیقی هیچ تأثیر معنی‌داری هنگام مکمل‌سازی جیره با استفاده از ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم آلی بر وزن سینه و ران و کبد و سنگدان و چربی محوطه بطنی جوجه گوشتی مشاهده نکردند (۴۶). همچنین نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های دیگر محققین مبنی بر عدم تأثیر مکمل سلنیومی بر صفات لاشه‌ی جوجه گوشتی تحت تأثیر (سلنیت سدیم یا مخمر سلنیومی) همخوانی داشت (۳۹،۱۶).

متابولیت‌های خونی

اثر منابع مختلف مکمل سلنیوم بر میزان کلسترول تام خون غاز معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) و بر میزان HDL و تری‌گلیسیرید خون معنی‌دار نشد. گروه آزمایشی سلنیوم آلی کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در میزان کلسترول تام حاوی پلاسمای خون غاز نسبت به گروه کنترل و گروه جیره‌ای سلنیت سدیم ایجاد کرد ($p>۰/۰۵$). افزودن منابع مختلف مکمل سلنیوم در جیره غذایی غازها تأثیر معنی‌داری بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل پلاسمای و میزان تری‌گلیسیرید خون غازها نداشت ($p>۰/۰۵$). مشابه آزمایش حاضر وکیلی و بهرامی (۱۳۸۷) گزارش کردند افزودن ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به کاهش غلظت کلسترول شد ولی تأثیر معنی‌داری بر میزان تری‌گلیسیرید پلاسمای مرغ نداشت. وجود عناصر کمیاب در جیره‌ی غذایی تمامی حیوانات برای حفظ سلامتی و عملکرد مناسب و فیزیولوژیکی آن‌ها ضروری است (۴۷). کمبود سلنیوم در جیره‌ی غذایی موش موجب افزایش کلسترول پلاسمای خون می‌شود. کاهش VLDL، کلسترول و تری‌گلیسیرید در موش‌های صحرایی به‌دنبال سطوح تغذیه‌شده سلنیوم، ممکن است به‌دلیل افزایش احتمالی فعالیت فسفولیپید هیدروپراکسید گلوتاتیون پرواکسیداز در احیای هیدروپروکسیدهای اسیدهای چرب و کلسترول در غشای LDL باشد (۴۲). افزودن سلنیوم به جیره غذایی سبب افزایش عددی آنتی‌اکسیدان کل شد ولی ازلحاظ آماری معنی‌دار نشد. برخلاف آزمایش حاضر افزودن ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم آلی در جیره بلدرچین ژاپنی، موجب افزایش آنتی‌اکسیدان کل شده است (۳۴; ۴۳). برخی از محققان دلیل افزایش آنتی‌اکسیدان کل را به ابقاء بیشتر ویتامین E در پلاسما مرتبط می‌دانند چراکه این ویتامین با کاهش هیدروپراکسیدازها نیاز به گلوتاتیون پرواکسیداز را برای حفاظت از سلول‌ها کاهش می‌دهد، به‌همین دلیل موجب افزایش آنزیم گلوتاتیون پرواکسیداز می شود (۲۹).

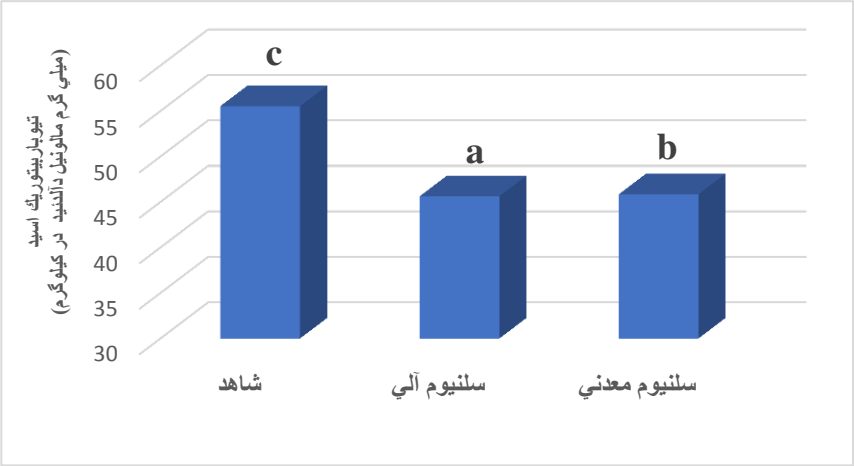
پاسخ ایمنی

نتایج داده‌های تزریق محول فیتوهماگلوتنین بر پاسخ ایمنی سلولی غاز در جدول ۴ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود افزودن سلنیوم آلی در ساعت ۴۸ بعد از تزریق باعث افزایش شاخص حساسیت پوست و بهبود عملکرد سیستم ایمنی در غازها شده‌اند ($p<۰/۰۵$). در این مطالعه افزودن ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم آلی (سلپلکس) در جیره غاز باعث بهبود شاخص سیستم ایمنی شد و تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد و گروه سلنیت سدیم ایجاد کرد. در تایید نتایج آزمایش حاضر یافته‌های باووی و همکاران ۲۰۱۰ نشان داد که سیستم ایمنی غاز به مکمل‌سازی جیره با سلنیوم آلی پاسخ مثبت داده است به‌طوری‌که با افزودن سلنیوم آلی در جیره‌ی غذایی غازها ایمنی بافت‌ها و ایمنی سلولی پرنده را به‌طور معنی‌داری افزایش داده است، اما تأثیری در ایمنی هومورال پرنده ایجاد نکرد (۹). برخلاف نتایج آزمایش حاضر (۵۲) افزودن ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم تأثیری ($p>۰/۰۵$) بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی تحریک‌شده با سرم گوسفندی، نداشت. مکمل‌سازی جیره غذایی با سلنیوم آلی احتمالاً با تأثیر مستقیم در بافت‌های مؤثر در سیستم ایمنی عمل می‌کند به‌طوری‌که در آزمایشی نشان دادند مکمل سلنیوم سبب بهبود وزن تیموس (۴۲٪) و به‌دنبال آن شاخص بورس فابرسیوس (۲۶٪) و نرخ تبدیل لنفوسیت‌ها (۲۴٪) و شاخص طحال (۲۰٪) می‌شود (۹). کمبود سلنیوم سبب کاهش میزان آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز و به‌تبع آن هیدروپراکسیدهای لیپیدی و پراکسیدهای هیدروژن افزایش می‌یابد بنابراین با اختلال در فعالیت نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و لوکوسیت‌ها توانایی پاسخ ایمنی کاهش می‌یابد (۵۶). همچنین این عمل باعث افزایش تراکم و میزان مواد سمی در نوتروفیل و درنتیجه موجب کاهش عملکرد بهینه‌ی نوتروفیل‌های سیستم ایمنی می شود (۵۶). همچنین گزارش کردند استفاده از سلنیوم پاسخ ایمنی سلولی را از طریق افزایش ترشح سایتوکین‌ها و افزایش تولید سلول‌های T کمکی بهبود می‌بخشد (۱۱). آزاد شدن سایتوکین‌ها ورود مواد غذایی را به داخل جریان خون افزایش می‌دهد و به این وسیله موجب رشد سریع سلول‌ها شده و تولید ترکیبات ایمنی‌زا را افزایش می‌دهند (۱۱).

میزان اکسیداسیون چربی گوشت

افزودن منابع مختلف سلنیوم تأثیر معنی‌داری بر میزان مالون دی‌آلدهید گوشت غاز داشت و بیشترین میزان مالون دی‌آلدهید مربوط به تیمار شاهد بود ($p<۰/۰۵$). مشابه آزمایش حاضر، کاهش در میزان مالون دی‌آلدهید گوشت سینه جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌ی حاوی مکمل سلنیوم آلی و نانو سلنیوم نسبت به گروه کنترل و سلنیوم معدنی گزارش کردند (۵۳). همچنین به‌طور مشابهی پراکسیداسیون چربی در گوشت جوجه گوشتی بعد از ۵ روز نگهداری در سردخانه هنگام استفاده از مکمل سلنیومی جلبک غنی‌شده با مخمر کاهش یافت (۴۶). آذر و همکاران (۲۰۰۷) دریافتند پراکسیداسیون چربی در گوشت سینه‌ی طیور هنگام

جایگزینی سلنیوم آلی به‌جای سلنیوم معدنی در جیره کاهش یافت (۱۳). برخلاف نتایج آزمایش حاضر ویشا و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند افزودن مکمل سلنیوم معدنی در جیره جوجه‌های گوشتی کاهش معنی‌داری در میزان مالون دی‌آلدهید گوشت سینه جوجه‌ها ایجاد نکرد (۵۳). نتایج گزارش‌های متناقض ممکن است به‌خاطر ترکیب جیره پایه و خصوصاً حضور و عدم حضور منبع سلنیومی در ترکیب جیره پایه باشد.



شکل ۱- میزان مالون دی‌آلدئید گوشت غازهای تغذیه شده با جیره غذایی مکمل شده با سلنیوم آلی و معدنی
Figure1. Malondialdehyde content of meat in goose fed diet supplemented with organic and inorganic selenium

جدول ۵- تأثیر مکمل‌سازی جیره غذایی با منابع سلنیوم معدنی و آلی بر ترکیب اسید چرب گوشت غاز
Table 5. The effects of dietary supplementation with organic and inorganic selenium on the fatty acid profile of goose meat

اسیدهای چرب	تیمارهای آزمایشی			SEM	P-value
	شاهد	سلنیوم آلی	سلنیوم معدنی		
اسیدهای چرب اشباع	۲۵۷۰/۱۰^{c}	۴۳۱۷/۷^{b}	۴۹۹۱/۲۶^{a}	۵۸/۳۳۲	۰/۰۰۰۱
اسیدهای چرب غیراشباع یا یک پیوند دوگانه	۱۸۵۰/۸۰^{b}	۳۲۳۷/۷^{a}	۲۹۸۴/۵۰^{a}	۹۰/۴۳۸	۰/۰۰۰۱
اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه	۱۵۱۶/۰^{b}	۲۶۳۲/۹^{a}	۲۵۴۴/۸۰^{a}	۱۰۲/۹۹	۰/۰۴۲۷
مجموع اسیدهای چرب غیراشباع	۳۳۶۶/۸۰^{b}	۵۸۷۰/۶^{a}	۵۵۲۹/۳^{a}	۱۳۲/۸۲	۰/۰۰۰۱
نسبت اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه نسبت به اسیدهای چرب اشباع	۰/۵۸۹۸^{ab}	۰/۶۱۶۰^{a}	۰/۵۱۱۲^{b}	۰/۰۲۳۱	۰/۰۰۰۱

میانگین‌های با حروف غیر یکسان در هر ردیف در سطح ۵ درصد باهم اختلاف معنی‌دار دارند.

کمبود سلنیوم در بدن سبب افزایش قابل توجه سطح تیوباربیتوریک اسید یا پراکسیداسیون چربی گوشت در بوقلمون می‌شود و افزودن سلنیوم آلی در جیره‌ی غذایی سبب کاهش سطح تیوباربیتوریک اسید در زرده تخم بوقلمون (۲۳)، زرده تخم بلدرچین (۱) و گوشت مرغ می‌شود (۳۳). سلنیوم قسمت مهمی از آنزیم سلنو پروتئینی گلوتاتیون پراکسیداز در بافت حیوانات می‌باشد. با توجه به نقش بسیار مهم خانواده آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز در سیستم آنتی‌اکسیدانی (۶) سلنیوم احتمالاً با افزایش سنتز یا فعال‌سازی بیشتر آنزیم‌ها از اکسیداسیون چربی گوشت جلوگیری می‌کند به‌طوری‌که داده‌های مربوط به میزان مالون دی آلدئید مؤید این موضوع بوده و با افزودن سلنیوم به جیره غذایی میزان اکسیداسیون به‌طور معنی کاهش یافت (شکل ۱).

ترکیب اسید چرب گوشت

افزودن سلنیوم معدنی یا آلی به جیره غذایی غاز به‌مدت ۸ هفته سبب افزایش میزان اسید چرب اشباع و غیراشباع گوشت شد ($p<۰/۰۵$). اسید چرب غیراشباع گوشت غاز بیشتر تحت تاثیر مکمل سلنیوم افزایش یافت که نتایج مشابهی در گوشت مرغ گزارش شده است بطوریکه سلنیوم جیره غذایی سبب افزایش لینولنیک اسید، ایکوزا پنتانوئیک، دکوزا پنتاتوئیک و ایکوزا هگزانوئیک گوشت می شود بنابراین این امر بیانگر آن است سلنیوم بالای جیره غذایی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های دلتادساچراز ۴، ۵ و ۶ می شود (۲۸).

مشابه نتایج تحقیقات دیگر محققین (۲۸،۱۰). میزان اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه غالب ترکیبات اسید چرب گوشت بود و میزان اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه نسبتاً پایین بود (جدول ۵). افزودن سلنیوم آلی سبب افزایش عددی نسبت اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه نسبت به اسیدهای چرب اشباع در گوشت شد. مطابق توصیه سازمان بهداشت جهانی و خواربار جهانی نسبت اسیدهای چرب در غذایی انسان باید ۰/۴۵ باشد. بنابراین از جنبه تغذیه‌ای میزان این نسبت در گوشت غاز خیلی موردتوجه و بالاتر از توصیه بهداشت جهانی بوده (۰/۵۹) و با افزودن سلنیوم آلی به عدد ۰/۶۱ افزایش یافت. نسبت بالای اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه نسبت به اسیدهای چرب اشباع در گوشت

غاز سفید نژاد دونگبی توسط محققین گزارش شده است که مقدار آن تحت تاثیرعلوفه مصرفی قرار می‌گیرد (۳۰).

افزودن منابع سلنیوم معدنی و آلی به جیره غذایی جوجه غاز سبب بهبود نسبی عملکرد و افزایش خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و اسیدهای چرب غیراشباع گوشت در مقایسه با گروه شاهد شد. بنابراین می‌توان برای بهبود نسبی عملکرد، ایمنی جوجه غاز و کیفیت گوشت جوجه غاز از مکمل سلنیوم، خصوصاً سلنیوم آلی در جیره غذایی جوجه غاز استفاده کرد.

منابع

1. Ahmadian, H., Z. Nemati, A. Karimi and R. Safari. 2019. Effect of different dietary selenium sources and storage temperature on enhancing the shelf life of quail eggs. Animal Production Research, 8: 23-33 (In Persian).
2. Al-Saad, S., M. Abbod and A. Abo Yones. 2014. Effects of some growth promoters on blood hematology and serum composition of broiler chickens International journal of agricultural research, 8: 265-270.
3. Alirezalu, K., J. Hesari, Z. Nemati, P.E. Munekata, F.J. Barba and J.M. Lorenzo. 2019. Combined effect of natural antioxidants and antimicrobial compounds during refrigerated storage of nitrite-free frankfurter-type sausage. Food Research International, 120: 839-850.
4. AR, S. 2018. Effect of Different Levels of Nano-selenium on Performance, Blood Parameters, Immunity and Carcass Characteristics of BroilerChickens. Poultry Science Journal, 6: 99-108.
5. Arpasova, H., J. Weis, P. Haščík and M. Kacaniovac. 2009. The effects of sodium selenite and selenized yeast supplementation into diet for laying hens on selected qualitative parameters of table eggs. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies, 42: 408-414.
6. Arthur, J. R., F. Nicol and G. J. Beckett. 1990. Hepatic iodothyronine 5′-deiodinase. The role of selenium. Biochemical Journal, 272: 537-540.
7. Attia, Y., A. Abdalah, H. Zeweil, F. Bovera, A. T. El-Din and M. Araft. 2010. Effect of inorganic or organic selenium supplementation on productive performance, egg quality and some physiological traits of dual-purpose breeding hens. Czech J Anim Sci, 55: 505-519.
8. Baltić, M., M. D. Starčević, M. Bašić, A. Zenunović, J. Ivanović, R. Marković, J. Janjić and H. Mahmutović. 2015. Effects of selenium yeast level in diet on carcass and meat quality, tissue selenium distribution and glutathione peroxidase activity in ducks. Animal Feed Science Technology, 210: 225-233.
9. Baowei, W., H. Guoqing, W. Qiaoli and Y. Bin. 2011. Effects of yeast selenium supplementation on the growth performance, meat quality, immunity, and antioxidant capacity of goose. Journal of animal physiology animal nutrition, 95: 440-448.
10. Biesiada-Drzazga, B. 2006. Description of selected characteristics of muscle and fat tissue of 10-week white KOLUDA® Geese. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 5: 47-54.
11. Burton, R.M., P.J. Higgins and K.P. McConnell. 1977. Reaction of selenium with immunoglobulin molecules. Biochimica et Biophysica Acta Protein Structure, 493: 323-331.
12. Cai, S., C. Wu, L. Gong, T. Song, H. Wu and L. Zhang. 2012. Effects of nano-selenium on performance, meat quality, immune function, oxidation resistance, and tissue selenium content in broilers. Poultry Science, 91: 2532-2539.
13. Chekani-Azar, S., N.H. Mansoub, A.A. Tehrani, F.V. Aghdam and S. Mizban. 2010. Effect of replacing inorganic by organic selenium sources in diet of male broilers on selenium and vitamin E contents and oxidative stability of meat. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9: 1501-1505.
14. Chitra, P., S. Edwin and M. Moorthy. 2013. Dietary inclusion of vitamin E and selenium on egg production, egg quality and economics of Japanese quail layers. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 9: 51-60.
15. Dhingra, S. and M.P. Bansal. 2006. Hypercholesterolemia and LDL receptor mRNA expression: modulation by selenium supplementation. Biometals, 19: 493-501.
16. Downs, K., J. Hess and S. Bilgili. 2000. Selenium source effect on broiler carcass characteristics, meat quality and drip loss. Journal of Applied Animal Research, 18: 61-71.
17. EC. 2014. Commission Regulation (EC) No 1750/2006 of 27 November 2006 concerning the authorisation of selenomethionine as a feed additive.
18. Edens, F. 2002. Practical applications for selenomethionine: broiler breeder reproduction. In: Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Proceedings of 18th alltech's Annual Symposium. Nottingham University Press. Nottingham, UK. pp: 29-42.
19. El-Sheikh, T., S. Ahmed and N. Nagwa. 2006. An attempt to alleviate heat stress of broiler chicks (during summer season) through stocking density, dietary organic selenium (Sel-Plex) and vitamin E-selenium. Poultry Science, 26: 1587-1611.
20. Faustman, C., S. Specht, L. Malkus and D. Kinsman. 1992. Pigment oxidation in ground veal: Influence of lipid oxidation, iron and zinc. Meat science, 31: 351-362.
21. Folch, J., M. Lees and G. Sloane Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry, 226: 497-509.

22. Hawkes, W.C. and N.L. Keim. 2003. Dietary selenium intake modulates thyroid hormone and energy metabolism in men. The Journal of nutrition, 133: 3443-3448.
23. Jankowski, J., Z. Zduńczyk, K. Sartowska, B. Tykałowski, T. Stenzel, M. Wróblewska and A. Koncicki. 2011. Metabolic and immune response of young turkeys originating from parent flocks fed diets with inorganic or organic selenium. Polish journal of veterinary sciences, 14: 353-358.
24. Janmohammadi, H. and Z. Nemati. 2009. Goose production. Parivar Puplication (In Persian).
25. Jiakui, L. and W. Xiaolong. 2004. Effect of dietary organic versus inorganic selenium in laying hens on the productivity, selenium distribution in egg and selenium content in blood, liver and kidney. Journal of Trace Elements in Medicine Biology, 18: 65-68.
26. Kokoszyński, D., Z. Bernacki, M. Grabowicz and K. Stańczak. 2014. Effect of corn silage and quantitative feed restriction on growth performance, body measurements, and carcass tissue composition in White Kołuda W31 geese. Poultry science, 93: 1993-1999.
27. Konieczka, P., M. Czauderna, A. Rozbicka-Wieczorek and S. Smulikowska. 2015. The effect of dietary fat, vitamin E and selenium concentrations on the fatty acid profile and oxidative stability of frozen stored broiler meat. Journal of Animal Feed Sciences, 24: 224-251.
28. Kralik, Z., G. Kralik, E. Biazik, E. Straková and P. Suchý. 2013. Effects of organic selenium in broiler feed on the content of selenium and fatty acid profile in lipids of thigh muscle tissue. Acta Veterinaria Brno, 82: 277-282.
29. Lin, H., E. Decuypere and J. Buyse. 2006. Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 144: 11-17.
30. Liu, H. and D. Zhou. 2013. Influence of pasture intake on meat quality, lipid oxidation, and fatty acid composition of geese. Journal of animal science, 91: 764-771.
31. Lukaszewicz, E., A. Kowalczyk and A. Jerysz. 2011. The effect of sex and feed supplementation with organic selenium and vitamin E on the growth rate and zoometrical body measurements of oat-fattened White Kołuda® geese. Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences, 35: 435-442.
32. Martin, L.B., P. Han, J. Lewittes, J.R. Kuhlman, K.C. Klasing and M. Wikelski. 2006. Phytohemagglutinin-induced skin swelling in birds: histological support for a classic immunoecological technique. Functional Ecology, 20: 290-299.
33. Naik, S.K., S. Tiwari, T. Sahu, M. Gendley, G. Dutta and V.R. Gilhare. 2015. Effect of organic selenium and vitamin E supplementation on physico-chemical characteristics of broiler meat. Journal of Animal Research, 5: 617-621.
34. Nemati, Z., H. Ahmadian, M. Besharati, S. Lesson, K. Alirezalu, R. Domínguez and J.M. Lorenzo. 2020. Assessment of Dietary Selenium and Vitamin E on Laying Performance and Quality Parameters of Fresh and Stored Eggs in Japanese Quails. Foods, 9: 1324.
35. Nemati, Z., K. Alirezalu, M. Besharati, S. Amirdahri, D. Franco and J. M. Lorenzo. 2020. Improving the quality characteristics and shelf life of meat and growth performance in goose fed diets supplemented with vitamin E. Foods, 9: 798.
36. Nemati, Z., K. Alirezalu, M. Besharati, B. W. Holman, M. Hajipour and B. M. Bohrer. 2021. The effect of dietary supplementation with inorganic or organic selenium on the nutritional quality and shelf life of goose meat and liver. Animals, 11: 261.
37. Nemati, Z., Z. Moradi, K. Alirezalu, M. Besharati and A. Raposo. 2021. Impact of Ginger root powder dietary supplement on productive performance, egg quality, antioxidant status and blood parameters in laying Japanese quails. International Journal of Environmental Research Public Health, 18: 2995.
38. NRC. 1994. Nutrient requirements of poultry. National Academy Press Washington, DC.
39. Payne, R. and L. Southern. 2005. Comparison of inorganic and organic selenium sources for broilers 1 2. Poultry science, 84: 898-902.
40. Perić, L., N. Milošević, D. Žikić, Z. Kanački, N. Džinić, L. Nollet and P. Spring. 2009. Effect of selenium sources on performance and meat characteristics of broiler chickens. Journal of Applied Poultry Research, 18: 403-409.
41. Petrovic, V., K. Boldizarova, S. Faix, M. Mellen, H. Arpasova and L. Leng. 2006. Antioxidant and selenium status of laying hens fed with diets supplemented with selenite or Se-yeast. Journal of Animal Feed Sciences, 15: 435.
42. Qu, X., K. Huang, L. Deng and H. Xu. 2000. Selenium deficiency-induced alterations in the vascular system of the rat. Biological trace element research, 75: 119-128.
43. Sarıca, S., H. Aydın and G. Ciftci. 2017. Effects of dietary supplementation of some antioxidants on liver antioxidant status and plasma biochemistry parameters of heat-stressed quail. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 5: 773-779.
44. SAS. 2009. Procedures Guide. Version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC.
45. Scheideler, S., P. Weber and D. Monsalve. 2010. Supplemental vitamin E and selenium effects on egg production, egg quality, and egg deposition of α-tocopherol and selenium. Journal of Applied Poultry Research, 19: 354-360.

46. Ševčíková, S., M. Skřivan, G. Dlouhá and M. Koucký. 2006. The effect of selenium source on the performance and meat quality of broiler chickens. Czech Journal of Animal Science, 51: 449-457.
47. Surai, P. 2002. Selenium in poultry nutrition 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. World's Poultry Science Journal, 58: 333-347.
48. Surai, P. and V. Fisinin. 2014. Selenium in poultry breeder nutrition: An update. Animal Feed Science and Technology, 191: 1-15.
49. Surai, P. F. 2006. Selenium in nutrition and health. Nottingham university press Nottingham.
50. Tsujii, H., A. Miah, I. Takeda and U. Salma. 2017. Dietary effect of selenium-enriched radish Sprouts, vitamin E, and Rhodobacter capsulatus on hypocholesterolemia and immunity of broiler. Poultry Science Journal, 5: 71-81.
51. Urso, U., F. Dahlke, A. Maiorka, I. Bueno, A. Schneider, D. Surek and C. Rocha. 2015. Vitamin E and selenium in broiler breeder diets: Effect on live performance, hatching process, and chick quality. Poultry Science, 94: 976-983.
52. Vakili, R. and M. Bahram. 2010. Effects of different dietary levels of selenium on metabolic parameters and humoralimmunity in broiler chickens. Journal of Veternery Research, 65: 339-336 (In Persian).
53. Visha, P., K. Nanjappan, P. Selvaraj, S. Jayachandran and V. Thavasiappan. 2017. Influence of dietary nanoselenium supplementation on the meat characteristics of broiler chickens. Int. J. Curr. Microbiol Appled Science, 6: 340-347.
54. Wang, Y.B. and B.H. Xu. 2008. Effect of different selenium source (sodium selenite and selenium yeast) on broiler chickens. Animal Feed Science Technology, 144: 306-314.
55. Wang, Y., X. Yan and L. Fu. 2013. Effect of selenium nanoparticles with different sizes in primary cultured intestinal epithelial cells of crucian carp, Carassius auratus gibelio. International journal of nanomedicine, 8: 4007.
56. Wen, W., S.L. Weiss and R.A. Sunde. 1998. UGA codon position affects the efficiency of selenocysteine incorporation into glutathione peroxidase-1. Journal of Biological Chemistry, 273: 28533-28541.
57. Yang, Y., F. Meng, P. Wang, Y. Jiang, Q. Yin, J. Chang, R. Zuo, Q. Zheng and J. Liu. 2012. Effect of organic and inorganic selenium supplementation on growth performance, meat quality and antioxidant property of broilers. African Journal of Biotechnology, 11: 3031-3036.

Influence of Dietary Supplementation with Organic and Inorganic Selenium Sources on Growth Performance, Carcass Traits and Blood Metabolites in Geese Chicken

Zabihollah Nemati[1], Maghsoud Besharatia[2] and Mohammadreza Hajipour[3]

1- Associate of prof. university of Tabriz, (Corresponding author: znnemati@yahoo.com)
2- Assistant of prof. university of Tabriz
3- Graduated M.Sc. Student, university of Tabriz
Received: May 28, 2020 Accepted: December 7, 2020

Abstract

The aim of the present experiment was to investigate the effect of diets containing organic and inorganic selenium on growth performance, carcass traits and blood metabolites in geese chickens. A total of 96 one day old native geese were used in a completely randomized design with 3 treatments of 4 replicates with 8 each. The experimental diets were basal diet, basal diet plus 0.3 mg organic Se per kg of diet (Sel-plex) and basal diet plus 0.3 mg inorganic Se per kg of diet (selenite sodium). Growth performance biweekly was calculated by recording during 1-56 days. Phytohemagglutinin test used for the evaluation of cellular immunity at 8 weeks of geese. Bodyweight gain was increased over 2 to 6 weeks and decreased thereafter. Feed conversion rate (FCR) was improved by both selenium sources and the highest FCR value related to the control group in the 8th week. Carcass traits were not affected by various inorganic and organic sources of selenium ($P < 0.05$). Diet supplementation with organic and inorganic Se increased phenolic content and the amount of saturated and unsaturated fatty acids and decreased lipid oxidation after 9 days of storage at 4°C in the refrigerator ($P<0.05$). Selenium supplementation decreased total blood cholesterol ($P < 0.05$). The cellular immune response was improved in the organic selenium group compared to inorganic selenium and control group ($P<0.05$). In conclusion, the results of this study suggest that dietary selenium especially organic selenium has desirable potential for improving the performance, immune, and meat quality of goose chickens.

Keywords: Carcass, Fatty acids, Goose, Immune, Meat, Selenium

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

تأثیر امولسی‌فایر در جیره‌های حاوی سطوح متفاوت انرژی بر عملکرد، ویژگی‌های لاشه، جمعیت میکروبی روده و قابلیت هضم ایلئومی جوجه‌های گوشتی

حامد قلی‌پور نوذری[۱]، منصور رضایی[۲] و محمد کاظمی‌فرد[۳]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
(نویسنده مسوول: hamedgh10 @yahoo.com)
۲- استاد، گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۳- دانشیار، گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
تاریخ دریافت: ۹۹/۰۶/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۱۱
صفحه: ۳۱ تا ۴۱

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی اثر افزودن امولسی‌فایر لسیتین در جیره‌های حاوی سطوح متفاوت انرژی بر عملکرد، خصوصیات لاشه و جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی انجام شد. تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه یک‌روزه گوشتی (جنس نر) سویه تجاری راس ۳۰۸ به ٤ تیمار، ۵ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار در یک آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: جیره حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد، جیره حاوی روغن سویا با انرژی پایین، جیره حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد + امولسی‌فایر، جیره حاوی روغن سویا با انرژی پایین + امولسی‌فایر بود. نتایج نشان داد که در مورد صفت افزایش وزن در کل دوره، با کاهش یافتن سطح انرژی وزن بدن جوجه‌ها افزایش یافت. همچنین در مورد صفت افزایش وزن در دوره پایانی و کل دوره، با افزایش یافتن سطح امولسی فایر، وزن بدن کاهش یافت. در مورد ضریب تبدیل، در دوره‌های آغازین، رشد و کل دوره، افزایش سطح امولسی‌فایر سبب افزایش ضریب تبدیل غذایی شد. در سایر صفات آزمایشی و دوره‌های مختلف پرورش اثرات آماری معنی‌داری با تغییر انرژی و افزودن امولسی‌فایر مشاهده نشد (p>۰/۰۵). درصد ران در جیره‌های با سطح انرژی بالا نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. ولی سایر صفات لاشه هیچ اثر معنی‌داری را نشان ندادند (p>۰/۰۵). هیچ‌گونه اثری از تیمارها بر جمعیت میکروبی روده مشاهده نشد. نتایج مربوط به قابلیت هضم نشان داد که در مورد صفات ماده خشک، ماده آلی و چربی در جیره‌های استاندارد و حاوی امولسی‌فایر هضم کاهش یافت و در سایر صفات اثرات معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). در کل می‌توان بیان کرد که افزایش سطح انرژی سبب کاهش وزن و کاهش هضم مواد مغذی و افزودن امولسی‌فایر سبب کاهش وزن، افزایش ضریب تبدیل و کاهش هضم مواد مغذی شدند.

واژه‌های کلیدی: انرژی، امولسی‌فایر، جمعیت میکروبی، جوجه گوشتی، عملکرد

مقدمه

در صنعت پرورش طیور گوشتی، انواع مختلف چربی به‌عنوان اجزای اصلی خوراک مورد استفاده قرار می‌گیرند. افزودن مقادیر کم چربی و روغن به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی یک شیوه قدیمی بوده که برای افزایش قوام و خوش‌خوراکی جیره‌های آردی استفاده می‌شد (۲۰). از آن‌جایی‌که چربی‌ها به‌عنوان منابع متراکم انرژی دارای بالاترین میزان انرژی در بین خوراک‌ها هستند، افزایش بهره‌وری چربی‌ها برای رشد جوجه‌ها بسیار مهم است. مقدار انرژی چربی‌ها ۲/۲۵ برابر بیشتر از کربوهیدرات‌ها است. لذا این مواد خوراکی معمولاً به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی به‌عنوان اجزای تولید کننده انرژی و به‌منظور بهبود عملکرد افزوده می‌شوند (۴۷). چربی‌ها علاوه بر داشتن مقدار زیاد انرژی، باعث افزایش خوش خوراکی، کاهش گرد و غبار ناشی از خوراک‌های آردی و... می‌شوند (۴۷). با این وجود مزیت‌های افزودن چربی تنها زمانی موثر است که سایر مواد مغذی جیره نسبت به سطح انرژی متوازن باشند (۲۱). هضم و جذب چربی‌ها به‌ویژه در هفته‌های اول زندگی کم است، که این مسئله به‌دلیل عدم بلوغ سیستم فیزیولوژیکی لازم برای هضم چربی‌ها (عدم تولید و ترشح آنزیم لیپاز در اوایل زندگی) می‌تواند عاملی برای کاهش جذب چربی باشد (۲۱). بیشتر پرورش‌دهندگان طیور از چربی با منشاء گیاهی در جیره‌های غذایی استفاده می‌کنند. با اینکه عکس‌العمل طیور نسبت به چربی‌های گیاهی و حیوانی متفاوت است که ناشی از اختلاف در میزان انرژی قابل سوخت و ساز حاصل از چربی‌هاست که احتمالاً به‌دلیل نوع و ترکیب اسیدهای چرب آن‌ها می‌باشد (۳۴). در جیره طیور، روغن سویا، روغن پالم و لسیتین سویا از جمله تامین‌کننده‌های انرژی هستند. روغن سویا غنی از اسیدلینولئیک می‌باشد که مهم‌ترین عضو خانواده اسیدهای چرب امگا-۶ است. با توجه به مرسوم بودن استفاده از روغن سویا در تنظیم جیره، جوجه‌های گوشتی اغلب مقادیر کافی از این اسیدهای چرب را دریافت می‌کنند (۴۶). طبق گزارش محققان، لسیتین سویا شامل: ۹۷ درصد مواد غیرمحلول در استن، که شامل ۲۶ درصد فسفاتیدیل کولین،۲۰ درصد فسفاتیدیل اتانول آمین، ۱۴ درصد فسفاتیدیل اینوزیتول، ۴ درصد فسفاتیدیل سرین، ۱۳ درصد فیتوگلیکولیپیدها و ۱۴ درصد دیگر فسفاتیدها می‌باشد (۲۲). لسیتین می‌تواند به‌عنوان یک امولسی‌فایر عمل کند و قابلیت هضم و جذب چربی را بهبود دهد (۱۲). همچنین لسیتین باعث سبب تسهیل جذب چربی (۱۹)، کنترل سندروم کبد چرب (۱۹) و بهبود سلامت حیوان (۵) شده، و به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی (۴) موجب افزایش ساخت لیپوپروتئین‌های کبدی (۲۷) می‌گردد.

پژوهشگران بیان کردند که جایگزینی بخشی از انرژی جیره با روغن سویا می‌تواند پارامترهای روده و عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی را بهبود دهد (۷). همچنین، برخی از مطالعات نشان داد که استفاده از روغن سویا باعث افزایش خوراک مصرفی و بهبود ضریب تبدیل غذایی خوراک شد (۱۹). بنابراین، هدف از انجام این پژوهش بررسی تاثیر امولسی‌فایر در جیره‌های حاوی سطوح مختلف انرژی بر عملکرد، خصوصیات لاشه و جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سالن پرورشی مرغداری بخش خصوصی در شهر ساری انجام شد. تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه یک روزه گوشتی (جنس نر) سویه تجاری راس ۳۰۸ در قالب ۴ تیمار، ۵ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: جیره حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد (دوره آغازین:۲۹۰۰؛ رشد:۳۰۰۰ و پایانی:۳۱۰۰)، جیره حاوی روغن سویا با انرژی پایین (دوره آغازین: ۲۸۳۰؛ رشد:۲۹۲۸ و پایانی:۳۰۲۶)، جیره حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد + امولسی‌فایر، جیره حاوی روغن سویا با انرژی پایین + امولسی فایر بود. جیره‌های آزمایشی بر اساس راهنمای جوجه‌های گوشتی سویه تجاری راس ۳۰۸ (۲۰۱۹) تنظیم شدند. اجزای تشکیل دهنده و ترکیب جیره‌های آزمایشی دوره‌های مختلف در جدول‌های ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است.

در طول دوره آزمایش، جوجه‌های گوشتی دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند. دمای سالن در هفته اول ۳۲ تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد حفظ شد و در هفته‌های بعد هر هفته حدود ۳ درجه سانتی‌گراد دما کاهش داده شد. به‌طوری که در هفتهٔ آخر دوره پرورشی (هفته ۶) دمای سالن ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. میزان رطوبت هوای سالن در هفته اول۶۰ تا ۷۰ درصد و در هفته‌های بعد ۵۰ تا ۶۰ درصد بود. ساعات روشنایی سالن از ۲۴ ساعت در روز اول به‌تدریج کم شد تا به ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی رسید. مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی به‌صورت دوره‌ای محاسبه شد. برای بررسی خصوصیات لاشه در سن ۴۲ روزگی از هر تکرار دو قطعه جوجه با وزن بدن نزدیک به میانگین وزن واحد آزمایشی مربوطه انتخاب و کشتار و راندمان لاشه محاسبه شد.

وزن سینه، ران‌ها، کبد و چربی محوطه شکمی پرنده‌ها اندازه‌گیری و به‌صورت درصدی از وزن زنده گزارش شد. ایلئوم روده جوجه‌ها در سن ۴۲روزگی جدا شد و به‌داخل ظرف‌های استریل منتقل گردید و روی یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. برای رقیق کردن نمونه‌ها از روش رقیق کردن پی‌درپی (به نسبت ۱ به ۱۰) در محلول سرم فیزیولوژیکی استفاده شد (۳). برای شمارش کلنی‌های کلی‌فرم و اشریشیاکلی، با استفاده از سمپلر، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های مناسب محتویات ایلئوم روی محیط کشت کروم آگار ای سی سی[1] در شرایط هوازی به‌مدت ۴۸ ساعت کشت داده شد (۳). پس از شمارش تعداد کلنی‌های ظاهر شده در هر پلیت، عدد حاصل در رقت ضرب و نتیجه به‌عنوان تعداد واحد تشکیل کلنی[2] در گرم نمونه ذکر شد (۱۰،۳).

به‌منظور تعیین قابلیت هضم مواد مغذی در رژیم غذایی، نمونه‌های دفع هر ۱۲ ساعت برای سه روز متوالی پس از روز ۲۱ جمع‌آوری شدند. جیره‌های مورد نظر دارای ۰/۳ درصد اکسید کروم به‌عنوان مارکر بودند. مواد دفع شده در کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شدند و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در پایان دوره جمع‌آوری، نمونه‌های دفع شده در یک آون حاوی تهویه با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند و سپس برای آنالیزهای بعدی آسیاب شدند. محتوای ماده خشک (DM)، عصاره اتری (EE)، پروتئین خام (CP) و فیبر خام (CF) با توجه به روش پیشنهادی AOAC (۱۹۹۰) تعیین و ضرایب قابلیت هضم با توجه به روش پیشنهادی توسط رودریگوئز و همکاران (۲۰۰۵) به‌صورت زیر محاسبه شد:

$$DC = ۱۰۰ - [۱۰۰ \times (M_{diet} / M_{excretal\ digesta}) \times (N_{excretal\ digesta} / N_{diet})]$$

در این معادله:

DC: قابلیت هضم ماده مغذی

M_{diet}: درصد مارکر در خوراک

$M_{excreta/digesta}$: درصد ماده مغذی در مدفوع و یا ایلئوم

N_{diet}: درصد ماده مغذی در جیره

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

کلیه داده‌های مطالعه در یک آزمایش فاکتوریل ۲×۲ و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۳۷) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (۶) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

مدل طرح به‌صورت زیر می‌باشد:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ij}$$

X_{ijk}: ارزش هر مشاهده

μ: میانگین مشاهدات

A_i: اثر سطح انرژی

B_j: اثر امولسی فایر

AB_{ij}: اثر متقابل انرژی و امولسی فایر

eijk: خطای آزمایشی

1- CHROM agar ECC (EF322- Paris France)

2- Colony Forming Unit

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی تیمارهای مختلف در دوره آغازین (صفر تا ۱۰روزگی) (درصد)
Table 1. Ingredients and chemical composition of different treatments at starter period (0-10 d) (%)

تیمار / مواد خوراکی	۱	۲	۳	۴
دانه ذرت	۴۹/۱۸	۵۳/۲۸	۴۸/۳۱	۵۳/۳۰
کنجاله سویا	۴۳/۲۳	۴۱/۰۵	۴۳/۹۸	۴۱/۰۷
دی کلسیم فسفات	۱/۶۵	۱/۵۹	۱/۶۶	۱/۵۹
روغن سویا	۳/۴۹	۱/۶۸	۳/۴۹	۱/۶۷
سنگ آهک	۱/۱۶	۱/۱۴	۱/۱۶	۱/۱۴
دی-ال متیونین	۰/۳۳	۰/۳۲	۰/۳۴	۰/۳۲
ال-لیزین هیدروکلراید	۰/۱۲	۰/۱۳	۰/۱۱	۰/۱۳
ال- ترئونین	۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۴
لسیتین	۰	۰	۰/۱۰	۰/۱۰
نمک	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۲۹
مکمل ویتامینی[۱]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی[۲]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مواد مغذی محاسبه شده:				
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۹۰۰	۲۸۳۰	۲۹۰۰	۲۸۳۰
پروتئین خام (درصد)	۲۲/۲۳	۲۱/۶۲	۲۲/۲۵	۲۱/۶۲
کلسیم	۰/۹۳	۰/۹۰	۰/۹۳	۰/۹۰
فسفر قابل دسترس	۰/۴۶	۰/۴۵	۰/۴۶	۰/۴۵
متیونین	۰/۶۷	۰/۶۴	۰/۶۷	۰/۶۴
متیونین + سیستئین	۱/۰۴	۱/۰۱	۱/۰۴	۱/۰۱
لیزین	۱/۳۹	۱/۳۵	۱/۳۹	۱/۳۵
ترئونین	۰/۷۰	۰/۹۱	۰/۹۴	۰/۹۱

۱) هرکیلوگرم از مکمل ویتامینی شامل: ۳۶۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۷۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۷۲۰ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۲۶۴۰ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۴۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B3، ۱۲۰۰۰ میلی‌گرم نیاسین، ۴۰۰ میلی‌گرم اسید فولیک، ۴۰ میلی‌گرم بیوتین، ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید.
۲) هرکیلوگرم از مکمل معدنی شامل: ۳۹۶۸۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۳۸۸۰ میلی‌گرم روی، ۴۰۰۰ میلی‌گرم مس،۴۰۰ میلی‌گرم ید و ۸۰ میلی‌گرم سلنیوم بود.

جدول ۲- اجزاء و ترکیب شیمیایی تیمارهای مختلف در دوره رشد (۱۱ تا ۲۴روزگی) (درصد)
Table 2. Ingredients and chemical composition of different treatments at grower period (11-24 d) (%)

تیمار / مواد خوراکی	۱	۲	۳	۴
دانه ذرت	۵۲/۵۸	۵۶/۲۶	۵۲/۸۳	۵۶/۵۱
کنجاله سویا	۳۹/۴۳	۳۷/۴۷	۳۹/۶۸	۳۷/۸۱
دی کلسیم فسفات	۱/۴۵	۱/۴۱	۱/۴۵	۱/۴۱
روغن سویا	۴/۴۲	۲/۶۵	۳/۷۲	۱/۹۶
سنگ آهک	۱/۰۷	۱/۰۵	۱/۰۷	۱/۰۵
دی-ال متیونین	۰/۲۹	۰/۲۸	۰/۲۹	۰/۲۸
ال-لیزین هیدروکلراید	۰/۰۶	۰/۰۸	۰/۰۶	۰/۰۷
ال-ترئونین	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۲
لسیتین	۰	۰	۰/۱۰	۰/۱۰
نمک	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۲۹
مکمل ویتامینی[۱]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی[۲]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مواد مغذی محاسبه‌شده:				
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)	۳۰۰۰	۲۹۲۸	۳۰۰۰	۲۹۲۸
پروتئین خام (درصد)	۲۰/۸۱	۲۰/۳۱	۲۰/۸۱	۲۰/۳۱
کلسیم	۰/۸۴	۰/۸۲	۰/۸۴	۰/۸۲
فسفر قابل دسترس	۰/۴۲	۰/۴۱	۰/۴۲	۰/۴۱
متیونین	۰/۶۰	۰/۵۹	۰/۶۰	۰/۵۹
متیونین + سیستئین	۰/۹۶	۰/۹۴	۰/۹۶	۰/۹۴
لیزین	۱/۲۵	۱/۲۲	۱/۲۵	۱/۲۲
ترئونین	۰/۸۵	۰/۸۳	۰/۸۵	۰/۸۳

۱) هرکیلوگرم از مکمل ویتامینی شامل: ۳۶۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۷۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۷۲۰ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۲۶۴۰ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۴۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B3، ۱۲۰۰۰ میلی‌گرم نیاسین، ۴۰۰ میلی‌گرم اسید فولیک، ۴۰ میلی‌گرم بیوتین، ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید.
۲) هرکیلوگرم از مکمل معدنی شامل: ۳۹۶۸۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۳۸۸۰ میلی‌گرم روی، ۴۰۰۰ میلی‌گرم مس،۴۰۰ میلی‌گرم ید و ۸۰ میلی‌گرم سلنیوم بود.

جدول ۳- اجزاء و ترکیب شیمیایی تیمارهای مختلف در دوره پایانی (۲۵ تا ۴۲روزگی) (درصد)
Table 3. Ingredients and chemical composition of different treatment in finisher period (25-42 d) (%)

تیمار / مواد خوراکی	۱	۲	۳	۴
دانه ذرت	۵۷/۶۳	۶۱/۲۱	۵۸/۰۲	۶۱/۵۶
کنجاله سویا	۳۳/۹۰	۳۲/۱۸	۳۴/۱۴	۳۲/۴۳
دی کلسیم فسفات	۱/۳۰	۱/۲۵	۱/۳۰	۱/۲۵
روغن سویا	۵/۰۵	۳/۲۸	۴/۳۶	۲/۵۹
سنگ آهک	۰/۹۸	۰/۹۷	۰/۹۸	۰/۹۶
دی-ال متیونین	۰/۲۶	۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۲۵
ال-لیزین هیدروکلراید	۰/۱۵	۰/۰۹	۰/۰۷	۰/۰۹
ال- ترئونین	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱
لسیتین	۰	۰	۰/۱۰	۰/۱۰
نمک	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۶
مکمل ویتامینی[۱]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی[۲]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مواد مغذی محاسبه شده:				
انرژی قابل متابولیسم(کیلوکالری در کیلوگرم)	۳۱۰۰	۳۰۲۶	۳۱۰۰	۳۰۲۶
پروتئین خام(درصد)	۱۸/۹۰	۱۸/۴۵	۱۸/۹۰	۱۸/۴۵
کلسیم	۰/۷۶	۰/۷۴	۰/۷۶	۰/۷۴
فسفر قابل دسترس	۰/۳۸	۰/۳۷	۰/۳۸	۰/۳۷
متیونین	۰/۵۵	۰/۵۴	۰/۵۵	۰/۵۴
متیونین + سیستئین	۰/۸۸	۰/۸۶	۰/۸۸	۰/۸۶
لیزین	۱/۱۴	۱/۱۰	۱/۱۲	۱/۱۰
ترئونین	۰/۷۶	۰/۷۴	۰/۷۶	۰/۷۴

۱) هرکیلوگرم از مکمل ویتامینی شامل: ۳۶۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۷۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۷۲۰ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۲۶۴۰ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۴۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B3، ۱۲۰۰۰ میلی‌گرم نیاسین، ۴۰۰ میلی‌گرم اسید فولیک، ۴۰ میلی‌گرم بیوتین، ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید.

۲) هرکیلوگرم از مکمل معدنی شامل: ۳۹۶۸۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۳۸۸۰ میلی‌گرم روی، ۴۰۰۰ میلی‌گرم مس،۴۰۰ میلی‌گرم ید و ۸۰ میلی‌گرم سلنیوم بود.

نتایج و بحث

در مطالعه حاضر، افزایش سطح انرژی جیره از طریق افزایش میزان روغن‌های گیاهی حاصل شد. نتایج نشان داد که سطح انرژی در دوره‌های آغازین و رشد بر افزایش وزن جوجه‌های گوشتی اثری نداشت ولی در دوره‌های پایانی و کل دوره آزمایش سطح انرژی اختلافات معنی‌داری را در افزایش وزن بدن ایجاد کرد. بین تیمارهای ۱ و ۲، بین تیمارهای ۳ و ۴ در دوره پایانی و همچنین بین تیمارهای ۱ و ۲ در دوره پایانی از نظر افزایش وزن اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p<0/05$). در ارتباط با مصرف خوراک در هیچ‌کدام از دوره‌ها از نظر سطح انرژی تفاوتی بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($p>0/05$). هرچند، ضریب تبدیل غذایی با مصرف جیره پر انرژی بهبود یافت، به‌گونه‌ای که با کاهش یافتن مصرف خوراک روند افزایش وزن حفظ شد و در طول تمام دوره‌های آزمایش تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف از نظر ضریب تبدیل غذایی مشاهده شد ($p<0/05$). نتایج سایر مطالعات در توافق با این نتایج می‌باشند (۳۱،۷،۱۴). عوامل زیادی می‌توانند بر نتایج عملکرد جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های حاوی تراکم مختلف مواد مغذی اثرگذار باشند که یکی از این عوامل می‌تواند ژنتیک باشد. کیم و همکاران (۱۷) پاسخ‌های متفاوتی را در برابر تراکم انرژی در گونه‌های مختلف جوجه‌های گوشتی گزارش کردند. مطالعه‌ای که قبلاً در این زمینه انجام شد هیچ گونه اثری از غلظت انرژی جیره‌ای را بر وزن بدن یا ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی گزارش نکرد (۴۴). مارکو و همکاران (۲۴) بهبود در عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با سطوح بالای انرژی را گزارش کردند.

فریرا و همکاران (۷) کاهش رشد را در جوجه‌های تغذیه‌شده با سطوح پایین انرژی گزارش کردند. برخی پژوهشگران مشاهده کردند که افزایش سطح انرژی سبب بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی شد (۳۸،۷)، کیم و همکاران (۱۷) مشاهده کردند که مصرف خوراک در جیره با انرژی بالا، کاهش یافت. در مطالعات انجام شده با سطوح انرژی کمتر از سطوح استفاده‌شده در مطالعه حاضر، انرژی قابل متابولیسم بیشتر سبب بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی شد (۴۱،۲۳،۱). اوردونا و همکاران (۳۱) گزارش کردند که افزایش در سطح انرژی به ۳۰۱۳ و ۳۱۱۱ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی قابل متابولیسم در مراحل آغازین و پایانی عملکرد جوجه‌های گوشتی را بهبود داد. از طرف دیگر، هوشمند و همکاران (۱۱) گزارش کردند که کاهش سطح انرژی جیره جوجه‌های گوشتی باعث افزایش ضریب تبدیل غذایی در کل دوره پرورش شد. توکی و همکاران (۴۰) جیره‌های با انرژی بالا (۳۰۱۰، ۳۱۵۰ و ۳۲۰۰ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی قابل متابولیسم به‌ترتیب برای مراحل آغازین، رشد و پایانی) را با جیره‌های با انرژی پایین (۲۸۰۰ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی قابل متابولیسم) مقایسه کردند و گزارش کردند که مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر غلظت انرژی در جیره قرار نگرفت، ولی جیره‌های پرانرژی سبب بهبود افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی شدند. کربوهیدرات موجود در دانه‌های غلات منبع اصلی انرژی در جیره‌های جوجه‌های گوشتی می‌باشند؛ هرچند، لیپیدها در این جیره‌ها اضافه می‌شوند تا نیازهای انرژی طیور را برای حداکثر عملکرد رشد پوشش دهند (۲۹). در صنعت پرورش جوجه‌های گوشتی هزینه‌های مربوط به خوراک به‌علاوه خرید جوجه

تقریباً ۹۰ درصد از هزینه‌های تولید را تشکیل می‌دهند. جیره‌هایی که برای طیور آماده می‌شوند بر اساس دانه‌هایی مانند سورگوم یا ذرت به‌علاوه کنجاله سویا می‌باشند که در سال‌های اخیر قیمت آن‌ها افزایش یافته است. در این شرایط، بهبود دادن راندمان خوراک سبب کاهش هزینه تولید در پرورش جوجه‌های گوشتی خواهد شد (۲۹).

در کل گزارشات ضد و نقیضی در زمینه اثرات انواع چربی‌ها و امولسی‌فایرها روی عملکرد غیر نشخوارکنندگان وجود دارد. ویرا و همکاران (۴۲)، چهار درصد روغن سویا را به جیره‌های جوجه‌های گوشتی اضافه کردند و هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری را در عملکرد مشاهده نکردند. گایوتو (۸) و آنرئوتی و همکاران (۲) نیز هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری را در عملکرد جوجه‌های ۷ روزه تغذیه‌شده با روغن سویا یا چربی طیور به‌ترتیب در سطوح ۳/۹۸ و ۴/۱۹ گزارش نکردند، که مشابه با سطح ۳/۴ درصد استفاده شده در مرحله آغازین مطالعه حاضر بود. در مطالعه حاضر نشان داده شد که افزودن امولسی‌فایر به جیره حاوی انرژی استاندارد سبب بهبود معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی در دوره های رشد و پایانی پرورش شد ($p<0/05$). استفاده از امولسی‌فایر سبب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره آغازین نشد که احتمالاً ناشی از فعالیت پایین لیپاز در این دوره می‌باشد که قبلاً توسط جیسون و کیلاگ (۱۵)، نیر و همکاران (۲۸) و جونز و همکاران (۱۶) نیز گزارش شده است. زینگ و همکاران (۴۸) یک بهبود خطی از افزایش وزن بدن را ناشی از مکمل‌سازی چربی خوک با ایزولسیتین در خوک از ۱۵ تا ۳۵ روزگی نشان داد. روی و همکاران (۳۵) مشاهده کردند که امولسی‌فایر سبب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی با استفاده از روغن پالم شد.

جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد و مکمل‌شده با امولسی‌فایر، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی بهتری را در دوره رشد نشان دادند ($p<0/05$). مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی بهتر جوجه‌های تغذیه‌شده با روغن سویا و امولسی‌فایر در دوره رشد ممکن است مرتبط با ترکیب اسیدهای چرب این منبع چربی و اثرات آن بر هضم و جذب چربی باشد. مطابق با گزارش زوسانگپویی (۵۱)، استفاده از چربی جیره‌ای توسط جوجه‌های گوشتی در زمانی که نسبت بین اسیدهای چرب غیراشباع و اشباع از صفر به ۲/۵ افزایش می‌یابد بیشتر می‌شود. زولیستچ و همکاران (۵۰) ضریب تبدیل غذایی بهتر و افزایش وزن بیشتری را در جوجه‌های ۴۳روزه تغذیه‌شده با یک جیره روغن سویا در مقایسه با مخلوط روغن گیاهی و حیوانی مشاهده کردند.

جدول ۴- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف آزمایش

Table 4. Effect of experimental treatments on growth performance of broilers at different periods

تیمارها		افزایش وزن (گرم)			مصرف خوراک (گرم)			ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم)		
سطح انرژی	امولسی فایر	آغازین	رشد	پایانی	کل دوره	آغازین	رشد	پایانی	کل دوره	آغازین	رشد	پایانی	کل دوره
استاندارد	۰	۲۹۳/۸۶	۹۳۰/۶۰	۱۵۵۵/۷۰^{ab}	۲۸۱۰/۱۶^{a}	۳۴۸/۸۶	۱۳۷۸/۷۰	۳۳۲۹/۸۸	۵۰۵۷/۴	۱/۱۸۶^{cd}	۱/۴۷۸^{b}	۲/۱۰۰	۱/۸۰۰^{c}
استاندارد	۰/۱۰	۲۸۹/۷۴	۸۷۷/۹۰	۱۴۷۱/۶۰^{c}	۲۶۳۱/۲۴^{b}	۳۵۱/۳۰	۱۴۷۰/۵۴	۳۲۹۱/۳۶	۵۱۱۳/۲	۱/۲۱۲^{a}	۱/۶۷۶^{a}	۲/۲۳	۱/۹۳۶^{a}
پایین	۰	۳۰۱/۱۴	۹۳۷/۳۸	۱۶۳۴/۲۰^{a}	۲۸۷۲/۷۲^{a}	۳۵۶/۳۲	۱۳۷۷/۸۰	۳۲۸۳/۱۸	۵۰۱۷/۳	۱/۱۸۲^{d}	۱/۴۶۸^{b}	۲/۰۰	۱/۷۴۶^{d}
پایین	۰/۱۰	۲۹۱/۹۰	۹۰۵/۶۸	۱۵۳۶/۱۰^{bc}	۲۷۳۳/۶۸^{ab}	۳۵۱/۳۰	۱۴۸۰/۲۰	۳۲۳۷/۹۶	۵۰۶۹/۵	۱/۲۰۲^{ab}	۱/۶۳۶^{a}	۲/۱۰	۱/۸۵۶^{b}
SEM		۲/۵۰	۷/۹۳	۱۱/۶۰	۲۰/۱۹	۲/۵۰	۱۶/۰۲	۱/۳۳۰۰	۴۴/۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۳	۰/۰۱۱۰	۰/۰۰۵
اثرات اصلی سطح انرژی													
استاندارد		۲۹۴/۵۵	۹۳۲/۸۷	۱۶۰۲/۱۲	۲۶۵۳/۲۷^{b}	۳۵۰/۸۵	۱۳۸۰/۱۳	۳۲۶۴/۲۷	۵۰۴۶/۸۵	۱/۱۸	۱/۴۷	۲/۲۰	۱/۸۱
پایین		۳۰۳/۴۱	۹۳۹/۸۱	۱۶۴۶/۹۷	۲۸۷۴/۸۵^{a}	۳۵۸/۸۲	۱۳۷۹/۶۸	۳۲۵۶/۲۳	۵۰۰۹/۷۸	۱/۱۷	۱/۴۶	۲/۱۱	۱/۷۶
SEM		۵/۸۸	۱۸/۶۴	۳۲/۷۸	۳۹/۲۶	۷/۸۹	۲۷/۶۰	۳/۱۶	۱۰۰/۹۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۳
سطح امولسی فایر													
صفر		۲۹۵/۷۷	۹۴۰/۹۹	۱۶۵۷/۳۲^{a}	۲۸۴۶/۶۳^{a}	۳۴۹/۴۷	۱۳۸۵/۷۳	۳۲۵۳/۷۴	۵۰۳۵/۲۲	۱/۱۹۰^{b}	۱/۴۸^{b}	۲/۰۸	۱/۷۹^{b}
۰/۱۰		۲۹۱/۷۷	۸۹۰/۹۹	۱۴۴۵/۲۳^{b}	۲۶۷۳/۲۶^{b}	۳۵۳/۴۷	۱۴۹۷/۷۳	۳۲۶۸/۳۶	۵۰۸۸/۵۵	۱/۱۲۲^{a}	۱/۶۹^{a}	۲/۲۱	۱/۹۱^{a}
SEM		۵/۹۰	۱۸/۸۰	۳۱/۳۴	۳۹/۳۴	۶/۹۸	۲۷/۷۰	۳/۰۸	۳/۰۸	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۳
سطح احتمال													
سطح انرژی		۰/۶۴	۰/۳۷	۰/۵۵	۰/۳۶	۰/۹۲	۰/۳۹	۰/۹۶	۰/۹۱	۰/۴۷	۰/۰۶۸۳	۰/۶۷۸۳	۰/۰۹۵۶
سطح امولسی فایر		۰/۸۶	۰/۹۴	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۹۸	۰/۸۴	۰/۹۹	۰/۹۸	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۵۴۹۳	۰/۰۲
سطح انرژی×سطح امولسی فایر		۰/۳۸	۰/۳۵	۰/۱۸	۰/۱۲	۰/۶۷	۰/۲۸	۰/۷۲	۰/۵۸	۰/۱۴	۰/۲۵۷۰	۰/۶۱۳۳	۰/۱۹۷۲

میانگین‌های موجود در هر ستون که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p< 0/05$)

۱. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد؛ ۲. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی پایین؛ ۳. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد + امولسی‌فایر؛ ۴. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی پایین + امولسی‌فایر

وزن نسبی ران تحت‌تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ولی هیچ‌گونه اثر معنی‌داری از سطح انرژی و یا افزودن امولسی‌فایر بر درصد وزن‌های لاشه، سینه، کبد، قلب و چربی بطنی مشاهده نشد (جدول ۵). نتایج حاصل از خصوصیات لاشه در آزمایش حاضر در توافق با نتایج آندرئوتی و همکاران (۲)، فریرا و همکاران (۷) و لارا و همکاران (۱۸) بودند. برخی پژوهشگران دیگر نیز گزارشات مشابه‌ای را در مورد جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با سطوح انرژی مختلف گزارش کردند (۱۷،۳۰). روزا و همکاران (۳۳) از جیره‌های با سطح انرژی ۲۹۵۰، ۳۲۰۰ و ۳۴۰۰ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی قابل متابولیسم استفاده کردند، ولی تاثیری بر درصد لاشه، سینه یا چربی بطنی مشاهده نکردند، هرچند، افزایش در تراکم

انرژی سبب کاهش درصد ران و افزایش چربی بطنی شد. برخلاف نتایج آزمایش حاضر، مارکو و همکاران (۲۵) و ژاو و همکاران (۴۹) گزارش کردند که وزن لاشه جوجه‌های گوشتی با افزایش سطح انرژی جیره افزایش‌یافت. همچنین وانگ و همکاران (۴۵) مشاهده کردند که جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سطوح بالاتر انرژی، چربی بطنی بیشتری داشتند ولی وزن لاشه تحت تأثیر قرار نگرفت.

جدول ۵- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲روزگی (درصدی از وزن بدن)
Table 5. Effect of experimental treatments on carcass characteristics of broilers on 42 days of age (% of body weight)

	تیمارها					
سطح انرژی	امولسی‌فایر	لاشه*	سینه**	ران ها**	چربی محوطه بطنی**	کبد*	قلب*
استاندارد	۰	۷۱/۱۲	۲۰/۸۴	۲۱/۱۸^{bc}	۱/۸۴	۱/۷۷	۰/۵۰
استاندارد	۰/۱۰	۶۹/۷۸	۲۰/۶۳	۲۱/۲۶^{bc}	۱/۵۱	۱/۷۵	۰/۴۹
پایین	۰	۷۱/۴۵	۲۰/۱۱	۲۲/۰۲^{a}	۱/۷۶	۱/۷۶	۰/۵۰
پایین	۰/۱۰	۷۰/۳۲	۲۰/۹۰	۲۱/۰۵^{c}	۱/۳۴	۱/۷۷	۰/۴۸
SEM		۰/۲۳۳	۰/۱۰۷	۰/۰۸۷	۰/۰۲۵	۰/۰۰۸	۰/۰۰۲
اثرات اصلی							
سطح انرژی							
استاندارد		۷۲/۵۵	۲۰/۸۷	۲۱/۱۲^{a}	۱/۸۳	۱/۷۸	۰/۵۰
پایین		۷۲/۴۱	۲۰/۸۱	۲۲/۹۷^{b}	۱/۷۷	۱/۷۶	۰/۵۱
SEM		۱/۴۴	۰/۴۰	۰/۴۲	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۱
سطح امولسی‌فایر							
۰		۷۱/۷۷	۲۰/۹۹	۲۱/۱۵^{a}	۱/۸۰^{a}	۱/۷۸	۰/۵۲
۰/۱۰		۷۱/۷۷	۲۰/۹۹	۲۲/۱۷^{b}	۱/۴۹^{b}	۱/۷۶	۰/۵۱
SEM		۱/۴۲	۰/۴۰	۰/۴۲	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۱
سطح احتمال							
سطح انرژی		۰/۴۷	۰/۲۸	۰/۰۲	۰/۲۹	۰/۷۳	۰/۳۸
سطح امولسی‌فایر		۰/۷۴	۰/۹۳	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۹۳	۰/۸۴
سطح انرژی×سطح امولسی‌فایر		۰/۳۸	۰/۳۵	۰/۱۸	۰/۱۲	۰/۶۷	۰/۲۸

میانگین‌های موجود در هر ستون که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p< ۰/۰۵)

۱. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد؛ ۲. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی پایین؛ ۳. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد + امولسی‌فایر ؛ ۴. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی پایین + امولسی‌فایر

*: درصد وزن زنده

**: درصد لاشه بدون امعا و احشا

نتایج مربوط به جمعیت میکروبی روده (جدول ۶) نشان داد که تعداد کلی‌فرم و اشریشیاکلی تحت تأثیر تیمارهای مختلف قرار نگرفتند (p>۰/۰۵). گزارشات اندکی در زمینه اثرات امولسی‌فایرها و سطح انرژی جیره بر جمعیت میکروبی جوجه‌های گوشتی یافت می‌شود. پورقاسمی و همکاران (۳۲) و اینیس و همکاران (۱۳) گزارش کردند که سطح انرژی جیره اثری بر جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی نداشت. یکی از دلایلی که امولسی‌فایر به‌کار گرفته شده در مطالعه حاضر اثری بر جمعیت میکروبی روده نداشت ممکن است به‌دلیل ترکیب امولسی‌فایر و فراسنجه‌های مورد بررسی قرار گرفته شده در مطالعه حاضر باشد. بسیاری از مطالعات قبلی که در شرایط آزمایشگاهی اجرا شدند پیشنهاد می‌دهند که امولسی‌فایرهای جیره‌ای ممکن است به‌صورت مستقیم و مضر بر میکروب‌های دستگاه گوارش اثرگذار باشند، که این امر سبب بروز چاقی و یا سندرم متابولیکی و بیماری‌های عفونی می‌شود (۴۳).

جدول ۶- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی ایلئوم روده جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲روزگی (Log CFU/ g)
Table 6. Effect of experimental treatments on ileum microbial population of broilers on 42 days of age (Log CFU/g content)

	تیمارها		
سطح انرژی	امولسی فایر	کلی فرم ها	اشرشیاکلی
استاندارد	۰	۷/۵۹	۶/۷۳
استاندارد	۰/۱۰	۷/۱۶	۶/۵۲
پایین	۰	۷/۵۷	۶/۶۵
پایین	۰/۱۰	۶/۸۸	۶/۲۹
SEM		۰/۱۱۸۰	۰/۱۲۰۰
اثرات اصلی			
سطح انرژی			
استاندارد		۷/۶۲	۶/۷۵
پایین		۷/۶۰	۶/۶۳
SEM		۰/۱۵	۰/۱۳
سطح امولسی‌فایر			
صفر		۷/۵۸	۶/۷۵
۰/۱۰		۷/۵۶	۶/۵۳
SEM		۰/۱۵	۰/۱۳
سطح احتمال			
سطح انرژی		۰/۳۷	۰/۹۵
سطح امولسی‌فایر		۰/۸۵	۰/۹۹
سطح انرژی×سطح امولسی‌فایر		۰/۳۸	۰/۳۵

میانگین‌های موجود در هر ستون که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p< ۰/۰۵)
۱. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد؛ ۲. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی پایین؛ ۳. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد + امولسی‌فایر؛ ۴. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی پایین+ امولسی‌فایر

جدول ۷- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم در جوجه‌های گوشتی در هفته چهارم (سن ۲۸روزگی)
Table 7. Effect of experimental treatments on digestibility of broilers at fourth week (28 days of age)

	تیمارها					
سطح انرژی	امولسی فایر	ماده خشک	ماده آلی	انرژی	چربی	پروتئین خام
استاندارد	۰	۷۴/۰۰^{b}	۷۵/۷۳^{b}	۷۸/۳۸	۷۸/۰۸^{b}	۶۸/۶۴
استاندارد	۰/۱۰	۷۲/۴۹^{b}	۷۴/۳۵^{b}	۷۵/۶۹	۷۳/۶۴^{c}	۶۹/۸۴
پایین	۰	۷۷/۸۳^{a}	۷۸/۸۳^{a}	۸۱/۶۹	۸۳/۱۹^{a}	۷۱/۱۹
پایین	۰/۱۰	۷۳/۵۴^{b}	۷۴/۵۲^{b}	۷۸/۰۸	۷۷/۷۲^{b}	۷۰/۱۶
SEM		۱/۱۶۷	۰/۹۶۸	۱/۰۴۹	۲/۰۰۵	۱/۳۰۰
اثرات اصلی						
سطح انرژی						
استاندارد		۷۵/۱۹^{b}	۷۶/۷۵^{b}	۷۹/۵۶	۷۹/۷۸^{b}	۶۷/۲۳
پایین		۷۹/۶۰^{a}	۸۰/۶۳^{a}	۸۲/۳۶	۸۵/۴۵^{a}	۷۰/۲۷
SEM		۱/۵۰	۱/۵۳	۱/۶۴	۱/۵۹	۱/۴۰
سطح امولسی فایر						
صفر		۷۸/۵۸^{a}	۷۹/۷۵^{a}	۸۲/۴۳	۸۴/۵۶^{a}	۶۹/۶۹
۰/۱۰		۷۳/۵۶^{b}	۷۵/۵۳^{b}	۷۹/۴۳	۷۸/۳۱^{b}	۷۰/۵۴
SEM		۰/۱۵	۰/۱۳	۱/۶۴	۱/۶۸	۱/۳۸
سطح احتمال						
سطح انرژی		۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۳۶	۰/۰۳	۰/۷۳
سطح امولسی فایر		۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۹۴	۰/۰۴	۰/۹۳
سطح انرژی×سطح امولسی فایر		۰/۳۸	۰/۳۵	۰/۳۴	۰/۰۵	۰/۴۷

میانگین‌های موجود در هر ستون که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p< ۰/۰۵)
۱. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد؛ ۲. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی پایین؛ ۳. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی استاندارد + امولسی‌فایر ؛ ۴. جیره شاهد حاوی روغن سویا با انرژی پایین + امولسی‌فایر

نتایج مربوط به تأثیر سطوح مختلف انرژی قابل متابولیسم و مکمل امولسی‌فایر بر قابلیت هضم ایلئومی مواد مغذی در جدول ۷ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با کاهش سطح انرژی جیره، قابلیت هضم پروتئین خام افزایش یافت. همچنین منجر به کاهش عددی قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، انرژی و چربی شد. همان‌طور که انتظار می‌رفت، با افزودن امولسی‌فایر به جیره قابلیت هضم چربی خام به‌طور چشم‌گیری افزایش یافت. این موضوع، به‌خوبی بهبود فرآیند هضم و جذب چربی‌ها توسط امولسی‌فایرها را تصدیق می‌کند. همچنین قابلیت هضم ماده آلی نیز با افزودن امولسی‌فایر به جیره افزایش یافت.

مهم‌ترین تأثیر استفاده از امولسی‌فایرها در جیره، کمک به فرآیند هضم و جذب چربی‌هاست. بهبود راندمان مصرف انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام در هنگام استفاده از مکمل امولسی‌فایر در جیره، نشان‌دهنده اثر مثبت امولسی‌فایر بر هضم و جذب چربی‌ها و سایر مواد مغذی می‌باشد (۳۵).

نتایج آزمایشات حاکی از آن است که مکمل نمودن جیره با امولسی‌فایرها قابلیت هضم چربی‌ها را به‌ویژه در جیره‌های

حاوی سطوح بالای چربی افزایش می‌دهد (۵۲). از آن‌جایی‌که چربی‌ها با ایجاد پوششی به دور مواد مغذی، از عملکرد بهینه آنزیم‌های گوارشی جلوگیری می‌کنند، لذا امولسی‌فایرها به‌طور غیرمستقیم با بهبود قابلیت هضم چربی‌ها، موجب بهبود قابلیت هضم سایر مواد مغذی نیز می‌شوند (۵۲).

در مورد صفت افزایش وزن در کل دوره، با کاهش‌یافتن سطح انرژی وزن بدن جوجه‌ها افزایش یافت. همچنین در مورد صفت افزایش وزن در دوره پایانی و کل دوره، با افزایش یافتن سطح امولسی‌فایر، وزن بدن کاهش یافت. در مورد ضریب تبدیل، در دوره‌های آغازین، رشد و کل دوره، افزایش سطح امولسی‌فایر سبب افزایش ضریب تبدیل غذایی شد. در سایر صفات آزمایشی و دوره‌های مختلف پرورش اثرات آماری معنی‌داری با تغییر انرژی و افزودن امولسی‌فایر مشاهده نشد. درصد ران در جیره‌های با سطح انرژی بالا نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. ولی سایر صفات لاشه هیچ اثر معنی‌داری را نشان ندادند. هیچ‌گونه اثری از تیمارها بر جمعیت میکروبی روده مشاهده نشد. نتایج مربوط به قابلیت هضم نشان داد که در مورد صفات ماده خشک، ماده آلی و چربی در جیره‌های استاندارد و حاوی امولسی‌فایر هضم کاهش یافت و در سایر صفات اثرات معنی‌داری مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه دوره دکترای مصوب شده در دانشکده علوم دامی و شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری استخراج شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از مسوولان پژوهشی دانشکده و هیئت داوران پایان‌نامه که ما را در انجام و ارتقاء کیفی این پژوهش یاری دادند، اعلام نمایند.

منابع

1. Aftab, U. 2009. Response of broilers to practical diets with different metabolizable energy and balanced protein concentrations. Brazilian Journal of Poultry Science, 11: 169-173.
2. Andreotti, M.O., O.M. Junqueira, M.J.B. Barbosa, L.C. Cancherini, L.F. Araujo and E.A. Rodrigues. 2004. Tempo de transito intestinal, desempenho, características de carcaçae composiçao corporal de frangos de corte alimentados com raçoes isoenergéticas formuladas com diferentes níveis de óleo de soja. Revista Brasileira de Zootecnia, 33(4): 870-879.
3. Aydin, R. and M.E. Cook. 2004. The effect of dietary conjugated linoleic acid on egg yolk fatty acids and hatchability in Japanese quail. Poultry Science, 83: 2016-2022.
4. Dersiant, L. and M. Peisker. 2005. Soybean lecithin in animal nutrition, an unmatched additive. Kraftfutter, 88(1/2): 28-34.
5. Dumiru, D.L., D. Felmeri, O. Leah and V. Lacramioara. 2002. Investigation on the effect of lecithin in the mink production performances, Buletinul Universitatii de stn te Agricole si Medicina Veterinara Cluj Napoca. Seria Zootehniesiiotehnologii, 57: 155-157.
6. Duncan, D.B. 1955. Multiple ranges and multiple F-test. Biometrics, 11: 1-42.
7. Ferreira, G.D., M.F. Pinto, M.G. Neto, E.H. Ponsano, C.A.Goncalves, I.L. Bossolani and A.G. Pereira. 2015. Accurate adjustment of energy level in broiler chickens diet for controlling the performance and the lipid composition of meat. Ciencia Rural, 45: 104-110.
8. Gaiotto, J.B. 2004. Determinação da energia metabolizável de gorduras e sua aplicação na formulação de dietas para frangos de corte [dissertação]. Piracicaba (SP): Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.
9. Ghahremani, A., A.A. Sadeghi, S. Hesaraki, M. Chamani and P. Shawrang. 2016. Effect of energy sources and levels on caecal microbial population, jejunal morphology, gene expression of jejunal transporters (SGLT1, FABP) and performance of broilers under heat stress. Kafkas Universitesi Veteriner Fakuitesi Dergisi, 23(3): 415-422.
10. Guban, J., D.R. Korver, G.E. Allison and G.W. Tannock. 2006. Relationship of dietary antimicrobial drug administration with broiler performance, decreased population levels of Lactobacillus salivarius, and reduced bile salt deconjugation in the ileum of broiler chickens. Poultry science, 85: 2186-2194.
11. Houshmand, M., K. Azhar, I. Zulkifli, M.H. Bejo and A. Kamyab. 2011. Effects of nonantibiotic feed additives on performance, nutrient retention, gut pH, and intestinal morphology of broilers fed different levels of energy. Journal of Appllied Poultry Resarch, 20: 121-128.
12. Huang, J., D. Yang and T. Wang. 2007. Effects of replacing soy-oil with soy-lecithin on growth performance, nutrient utilization and serum parameters of broilers fed corn-based diets. Asian-Australian Journal of Animal Science, 12: 1880-1886.
13. Innis, S.M., V. Pinsk and K. Jacobson. 2006. Dietary lipids and intestinal inflammatory diseases. The Journal Pediatrics, 58: 89-95.
14. Jafarnejad, S. and M. Sedegh. 2011. The effects of different levels of dietary protein, energy and using fat on the performance of broiler chicks at the end of the third weeks. Asian Journal of Poultry Science, 5: 35-40.
15. Jeason, S.E. and T.F. Kellog. 1992. Ontogeny of taurocholate accumulation in terminal ileal mucosal cells of young chicks. Poultry Science, 71: 367-372.

16. Jones, D.B., J.D. Hancock, D.L. Harmon and C.E. Walker. 1992. Effects of exogenous emulsifiers and fat sources on nutrient digestibility, serum lipids, and growth performance in weanling pigs. Journal of Animal Science, 70: 3473-3482.
17. Kim, J.S., J.T. Kwon, L. Harim, J.H. Kim, S.K. Oh, B.K. Lee, L. Zheng, M.S. Konkuk, B.K. Jung and C.W. An. 2012. Performance and carcass characteristics of two different broiler strains by different levels of metabolizable energy. Korean Journal of Poultry Science, 39: 195-205.
18. Lara, L.J.C., N.C. Baiao, C.A.L. Aguilar, S.V. Cançado, M.A. Fiuza and B.R.C. Ribeiro. 2006. Rendimento, composiçao e teor de acidos graxos da carcaça de frangos de corte alimentos com diferentes fontes lipídicas. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 58(1): 108-115.
19. Lechowski, R., W. Bielecki, E. Sawosz, M. Krawiec and W. Klucinski. 1999. The effect of lecithin supplementation on the biochemical profile and morphological changes in the liver of rats fed different animal fats. Veterinary Research Communications, 23: 1-14.
20. Leeson, S. and J.D. Summers. 2001. Scott's nutritional of the chicken. 4th edition. Army Printing Press. Sadr Cantt, 591 pp (In Persian).
21. Lesson, S. and J.O. Atteh. 1995. Utilization of fats and fatty acids by turkey poultry. Poultry Science, 74: 2003-2010.
22. Maltas, E., N. Dageri, H. Cingilli Vural and S. Yildiz. 2011. Biochemical and molecular analysis of soybean seed from Turkey. Journal of Medicinal Plant Research, 5: 1575-1581.
23. Manilla, H.A., F. Husveth and K. Nemeth. 1999. Effects of dietary fat origin on the performance of broiler chickens and on the fatty acid composition of selected tissues. Acta Agraria Kaposváriensis, 3(3): 47-57.
24. Marcu, A., I. Vacaru Opriş, A. Marcu, M. Nicula, D. Dronca and B. Kelciov. 2012. Effect of different levels of dietary protein and energy on the growth and slaughter performance at "Hybro PN+ broiler chickens. Animal Science Biotechnology, 45: 424−431.
25. Marcu, A., I. Vacaru Opris, G. Dumitrescu, A. Marcu, C.L. Petculescu, M. Nicul, D. Dronca and B. Kelciov. 2013. Effect of diets with different energy and protein levels on breast muscle characteristics of broiler chickens. Pap Animal Science Biotechnology, 46: 333−340.
26. Milosevic, N., M. Veljic, S.M. Dukic, L. Peric and S. Bjedov. 2013. Effect of lighting program and energy level in the ration on the slaughter traits of broilers. Biotechnology in Animal Husbandry, 29: 607−614.
27. Nimpf, J. and W.J. Schneider. 1991. Recepto-mediated lipoprotein transport in laying hens. Journal of Nutrition, 121: 1471-1474.
28. Nir, I., Z. Nitsan and M. Mahagua. 1993. Comparative growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler and egg type chicks after hatching. British Poultry Science, 34: 523-532.
29. NRC. 1994. Nutrient requirements of poultry. Ninth Revised Edition. National Academy Press, Washington D.C. Citation key. Datasheets.
30. Nunes, J.O., A.G. Bertechini, J.A.G. de Brito, L. Makiyama, F.R. Mesquita and C.M. Nishio. 2012. Evaluation of cysteamine associated with different energy patterns in diets for broiler chickens. Revista Brasileira de Zootecnia, 41: 1956-1960.
31. Orduna Hernandez, H.M., J. Salinas Chavira, M.F. Montano Gomez, F. Infante Rodríguez, O.M. Manríquez Nunez, M.L. Vazquez Sauceda and R. Yado Puente. 2016. Effect of frying fat substitution by vegetable oil and energy. Concentration on diets for productive performance of broilers. CienciaUAT, 10: 44−51.
32. Poorghasemi, M., A. Seidavi and A.A. Qotbi. 2012. Effects of fat source on broiler cecum total bacteria, lactobacillus bacteria, and lactic acid bacteria. Annals of Biological Research, 3(9): 4462-4465.
33. Rosa, P.S., D.E. Faria Filho, F. Dahlke, B.S. Vieira, M. Macari and R.L. Furlan. 2007. Effect of energy intake on performance and carcass composition of broiler chickens from two different genetic groups. Brazilian Journal of Poultry Science, 9: 117-122.
34. Ross, E. and W. Dominy.1985. The effect of dehydrated *Spirulina platensis* on poultry. Poultry Science, 64(1): 173.
35. Roy, A., S. Haldar, S. Mondal and T.K. Ghosh. 2010. Effects of supplemental exogenous emulsifier on performance, nutrient metabolism, and serum lipid profile in broiler chickens. Journal of Vetinary Medicine International, doi: 10.4061/2010/262604.
36. Sallam, K.I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control, 18(5): 566-575.
37. SAS Institute. 2008. SAS User's Guide Statics. SAS Institute Inc., Cary, NC., USA.
38. Tancharoenrat, P., V. Ravindran, F. Zaefarian and G. Ravindran. 2013. Influence of age on the apparent metabolisable energy and total tract apparent fat digestibility of different fat sources for broiler chickens. Animal Feed Science and Technology, 186(3): 186-192.
39. Tancharoenrat, P. and V. Ravindran. 2014. Influence of tallow and calcium concentrations on the performance and energy and nutrient utilization in broiler starters. Poultry Science, 93: 1453-1462.

40. Tooci, S., M. Shivazad, N. Eila and A. Zarei. 2009. Effect of dietary dilution of energy and nutrients during different growing periods on compensatory growth of Ross broilers. African Journal of Biotechnology, 8(22): 6470-6475.
41. Ullah, M.S., T.N. Pasha, Z. Ali, F.M. Saima Khattak and Z. Hayat. 2012. Effects of different pre-starter diets on broiler performance, gastro intestinal tract morphometry and carcass yield. Journal of Animal and Plant Sciences, 22: 570-575.
42. Vieira, S.L., A.M.L. Ribeiro, A.M. Kessler, L.M. Fernandes, A.R. Ebert and G. Eichner. 2002. Utilização da energia de dietas para frangos de corte formuladas com óleo ácido de soja. Revista Brasileira de Ciência Avícola, 4(2): 1-13.
43. Viennois, E. and B. Chassaing. 2018. First victim, later aggressor: How the intestinal microbiota drives the pro-inflammatory effects of dietary emulsifiers? Gut microbes, 9(3): 1-4.
44. Waldroup, P.W., N.M. Tidwell and A.L. Izat. 1990. The effects of energy and amino acid levels on performance and carcass quality of male and female broilers grown separately. Poultry Science, 69: 1513−1521.
45. Wang, X., E.D. Peebles and W. Zhai. 2014. Effects of protein source and nutrient density in the diets of male broilers from 8 to 21 days of age on their subsequent growth, blood constituents, and carcass compositions. Poultry Science, 93: 463−1474.
46. Wijendran, V. and K.C. Hayes. 2004. Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. Annual Review of Nutrition, 24(1): 597-615.
47. Wiseman, J., D.J.A. Cole, F.G. Perry, B.G. Vernon and B.C. Cooke. 1986. Apparent metabolizable energy values for fats for broiler chicks. British Journal of Poultry Science, 27: 1143-1144.
48. Xing, J.J., E. Van Heugten, D.F. Li, K.J. Touchette, J.A. Coalson, R.L. Odgaard and J. Odle. 2004. Effects of emulsification, fat encapsulation, and pelleting on weanling pig performance and nutrient digestibility. Journal of Animal Science, 82: 2601-2609.
49. Zhao, L.H., Q.G. Ma, X.D. Chen and X.X. Hu. 2008. Effects of dietary energy levels and lysine levels on performance and carcass characteristics in Arbor Acres Broilers. Chinese Journal of Animal Science, 44: 35−40.
50. Zollistsch, W., W. Kraus, F. Aichinger and F. Lettrer. 1997. Effects of different dietary fat sources on performance and carcass characteristics of broiler. Animal Feed Science and Technology, 66: 63-73.
51. Zosangpuii, A., A.K. Patra and G. Samanta. 2015. Inclusion of an emulsifier to the diets containing different sources of fats on performances of Khaki Campbell ducks. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, 16(2): 156-160.
52. Zhang, B., L. Haitao, D. Zhao, Y. Guo and A. Barri. 2011. Effect of fat type and lysophosphatidylcholine addition to broiler diets on performance, apparent digestibility of fatty acids, and apparent metabolizable energy content. Animal Feed Science and Technology, 163: 177-184.

Effect of Adding Emulsifier to Diet Containing Different Levels of Energy on Performance, Carcass Characteristics, Gut Microbial Population and Ilium Digestibility in Broiler Chickens

Hamed Gholipour Nozari[1], Mansour Rezaei[2] and Mohammad Kazemifard[3]

1- PhD. Student, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (Corresponding author: hamedgh10@yahoo.com)
2- Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
3- Associate Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Received: September 17, 2020 Accepted: December 31, 2020

Abstract

This study was carried out to evaluate the effect of lecithin emulsifier to diet containing different levels of energy on performance, carcass characteristics, intestinal microflora and nutrient digestibility of broiler chicken. A total of 200 day old broiler chicks (male sex) Ross 308 strain was divided in 4 treatments, 5 replicates and 10 chicks in each replicate in a completely randomized design. Experimental treatments include: diet containing soybean oil with standard energy, diet containing soybean oil with low energy, diet containing soybean oil with standard energy + emulsifier, diet containing soybean oil with low energy + emulsifier. The Results showed that in the case of weight gain throughout the period, the body weight of chickens increased with decreasing energy levels. Also in the case of weight gain in the final period and the whole period, with increasing the level of emulsifier, body weight decreased. Regarding the FCR, in the initial, and whole growth periods, increasing the emulsifier level increased the feed conversion ratio. No statistically significant effects were observed in other experimental traits and different breeding periods by changing the energy level and adding emulsifier (P>0.05). The percentage of thighs in diets with high energy level was higher than other treatments. But other carcass traits did not show any significant effect (P>0.05). No effect of treatments was observed on intestinal microbial population. The results related to digestibility showed that in the case of dry matter, organic matter and fat traits, digestion was reduced in standard diets containing emulsifier and no significant effects were observed in other traits (P>0.05). In general, it can be said that increasing energy levels caused weight loss and reduced nutrient digestion, and adding emulsifier caused weight loss, increased conversion ratio and reduced nutrient digestion.

Keywords: Broiler chicken, Energy, Emulsifier, Microbial Population, Performance

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

مقایسه اثرات تغذیه‌ای اسیدیفایر بر پایه اسید سیتریک با نمونه تجاری برعملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم، pH و ریخت‌شناسی روده جوجه‌های گوشتی

علی‌رضا حسابی نامقی[1]، علی نسری‌نژاد[2] و مرضیه افخمی[3]

۱- دانشیار پژوهشی بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز آموزش و تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، مشهد
(نویسنده مسوول: a.hessabi@areeo.ac.ir)
۲ و ۳- بخش تحقیق و توسعه شرکت تهران طیور سبز، مشهد
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۰۳
صفحه: ۴۲ تا ۴۹

چکیده

این آزمایش به‌منظور مقایسه اسیدیفایر تولیدی (بر پایه اسیدسیتریک) با نمونه تجاری در جیره جوجه‌های گوشتی بر عملکرد، متابولیت‌های خونی، ریخت‌شناسی و pH روده باریک جوجه‌های گوشتی طراحی شد. در این آزمایش از ٤٠٠ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه راس در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ٥ تیمار، ٤ تکرار و ٢٠ قطعه جوجه به‌ازاء هر تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد بر پایه‌ی ذرت- سویا و تیمارهای آزمایشی شامل جیره شاهد به اضافه ۰/۵ ، ۱ و ۱/۵٪ اسیدیفایر تولیدی و ۱٪ اسیدیفایر تجاری به‌همراه کریر در خوراک بود. نتایج نشان داد خوراک مصرفی در جیره‌های حاوی ۱ و ۱/۵٪ اسیدیفایر تولیدی به‌طور معنی‌داری در مقایسه باشاهد در دوره آغازین افزایش یافت (p<۰/۰۵).اسیدیفایر ۰/۵٪ باعث بهبود در وزن و ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با شاهد در دوره آغازین و کل دوره شد (p<۰/۰۵). استفاده از ۱٪ اسیدیفایر تولیدی منجر به کاهش وزن جوجه‌های گوشتی و افزایش ضریب تبدیل غذایی در دوره آغازین و کل دوره در مقایسه با شاهد شد (p<۰/۰۵). در حالی‌که اسیدیفایر تجاری باعث بهبود عملکرد در دوره رشد و کل دوره در مقایسه با شاهد شد (p<۰/۰۵). سطح ۱/۵ ٪ اسیدیفایر تولیدی منجر به افزایش ضریب تبدیل غذایی در دوره آغازین در مقایسه با شاهد شد (p<۰/۰۵). HDL سرم در جیره‌های حاوی اسیدیفایر اختلاف معنی‌داری با جیره شاهد نداشت ولی کمترین میزان LDL در جیره حاوی ۰/۵٪ اسیدیفایر مشاهده شد (p<۰/۰۵). کاهش در فعالیت آلکالین‌فسفاتاز سرم در جیره‌های حاوی ۱/۵ و ۱٪ اسیدیفایرهای تولیدی و تجاری مشاهده شد (p<۰/۰۵). pH دستگاه گوارش در دودنوم و ژژونوم در ۲۸ و ٤٢ روزگی در جیره‌های حاوی اسیدیفایر در مقایسه با شاهد تحت‌تاثیر قرار نگرفت. جیره‌های حاوی اسیدیفایر منجر به بهبود خصوصیات ریخت‌شناسی روده شدند (p<۰/۰۵). با توجه به نتایج به‌دست آمده سطح ۰/۵ درصد اسیدیفایر در خوراک جهت بهبود عملکرد و اثر مثبت بر متابولیت‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسیدیفایر، اسیدیته دستگاه گوارش، بافت‌شناسی روده، جوجه گوشتی، متابولیت‌های خونی

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها سبب کاهش جمعیت میکروبی دستگاه گوارش، افزایش مواد غذایی قابل دسترس و در نتیجه بهبود ضریب تبدیل غذایی و وزن جوجه‌های گوشتی می‌شوند. از طرفی به‌دلیل باقی ماندن آنتی‌بیوتیک‌ها در محصولات تولیدی و انتقال آن‌ها به انسان و بروز مقاومت، در بسیاری از کشورها استفاده از آن ممنوع شده است (۱۴). تحقیقات زیادی در رابطه با جایگزینی آنتی‌بیوتیک در جیره در سال‌های اخیر صورت گرفته است. از جمله این مواد می‌توان به اسیدهای آلی اشاره کرد. اسیدهای آلی که بیشتر برای نگهداری و محافظت خوراک از تخریب میکروبی و قارچی استفاده می‌شوند، با اسیدی کردن بیشتر محیط روده موجب مهار باکتری‌های روده‌ای شده که با میزبان در دریافت مواد مغذی رقابت می‌کنند و در نهایت منجر به بهبود عملکرد حیوان می‌شوند (۲۷). طیور نسبت به کلونیزه شدن با میکروارگانیسم‌های بالقوه مضر مانند روتاویروس، ای-کلای، گونه‌های سالمونلا و کلستریدیوم پرفرینجنس حساس هستند (۱۱). یکی از موضوعات مهم در جیره اسیدی شده، مهار رقابت باکتری‌های روده با میزبان برای مواد غذایی قابل دسترس و شاید کاهش متابولیت های سمی باکتری ها مثل آمونیاک و آمین‌ها و از این رو افزایش وزن حیوان میزبان به‌ویژه در سنین اولیه می‌باشد (۲۹). اسیدی کردن جیره، سبب غلبه باکتری‌های مفید مثل لاکتوباسیلوس‌ها بر پاتوژن‌های موجود در محتویات روده می‌شود (۱۵). در نتیجه، اسیدهای آلی در جیره از یک سو، تولید متابولیت‌های سمی توسط باکتری های مضر را کاهش داده و از سوی دیگر، مصرف مواد مغذی خوراک توسط باکتری‌ها را نیز کاهش می‌دهند (۲۹). در میان اسیدهای آلی، اسید استیک به‌عنوان یک اسید ضعیف در حلال‌های آبی بیشترین اثر باکتریوسیدی را با کاهش pH در محدوده ۴ نشان داده است (۸). سلامت دستگاه گوارش متأثر از بار میکروبی محتویات روده است و عامل مهمی در تغییر عملکرد و ضریب تبدیل جوجه‌های گوشتی است (۱۹).

اسیدهای آلی در جیره‌ی غذایی، ضمن مهار کردن رشد میکروب‌های مضر، شرایط تغذیه‌ای را به نفع باکتری‌های مفیدی، چون لاکتوباسیلوس فراهم می‌کنند. بنابراین جمعیت میکروبی روده، ریخت‌شناسی دیواره سلولی آن را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (۱۹). بنابراین هدف از این آزمایش مقایسه اثر اسیدیفایر بر پایه اسید سیتریک در جیره با نمونه تجاری بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی، ریخت‌شناسی و اسیدیته روده جوجه‌های گوشتی است.

مواد وروش‌ها

این پژوهش در سالن مرغداری مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی در اردیبهشت ماه ۱۳۹۷ به‌مدت ۴۲ روز انجام شد. در این آزمایش، از ۴۰۰ قطعه جوجه گوشتی یکروزه سویه راس در قالب یک طرح کاملا تصادفی با ۵ تیمار و۴ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه به‌ازاء هر تکرار، استفاده شد. به‌طوری که وزن اولیه و توزیع وزنی بین تکرارهای مختلف تقریبا مشابه بود. تیمارهای آزمایشی (جدول ۱) شامل تیمار شاهد بر پایه ذرت-کنجاله سویا، جیره شاهد به اضافه ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد اسیدیفایر تولیدی و ۱ درصد اسیدیفایر تجاری بیو اسید شرکت بیوشم آلمان بود. اسیدیفایر تجاری حاوی ترکیبی از اسید فرمیک /آمونیوم فرمات، اسید پروپونیک/ پروپیونات آمونیوم و اسید لاکتیک بود. اسیدیفایر تولید شده بر پایه اسید سیتریک (حداقل حاوی ۳۵ درصد اسید سیتریک و ۳۰ درصد سدیم سیترات دو آبه) به‌همراه کریرهایی مانند سبوس و کربنات بود. مقادیر فوق از مقدار ذرت جیره‌ها کسر و در جیره مخلوط گردید. پس از وزن‌کشی جوجه‌های هر قفس در سن یک روزگی، جوجه‌ها با میانگین وزنی مشابه در داخل هر تکرار (پن‌ها) توزین شدند. خوراک مصرفی و اضافه وزن جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین (۲۱-۱ روزگی)، رشد (۴۲-۲۲ روزگی) و کل دوره (۱-۴۲ روزگی) محاسبه گردید. تلفات به‌صورت روزانه جمع‌آوری شد و برای تصحیح داده‌های مصرف خوراک و اضافه وزن مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی

در سن ۴۲ روزگی یک پرنده از هر واحد آزمایشی، با میانگین وزنی نزدیک به واحد مربوطه انتخاب و پس از خونگیری و تهیه سرم غلظت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز، کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL وLDL سرم خون توسط کیت‌های تجاری (پارس آزمون) و دستگاه طیف‌سنجی خودکار (اسپکتروفتومتری اتوآنالایزر Gessan Chem 200 ساخت کشور ایتالیا) اندازه‌گیری شدند.

تعیین pH روده باریک

برای اندازه‌گیری pH روده پس از کالبد گشایی در ۲۸ و ۴۲ روزگی، ۱۵ سانتیمتر انتهای روده (ایلئوم) جدا و دو انتهای آن با نخ بسته و در داخل کیسه فریزر قرار گرفت و شماره‌گذاری شدند. سپس تمام نمونه‌ها وارد فلاسک حاوی یخ شده، به‌طوری که ارتباط مستقیم بین نمونه‌ها و یخ برقرار نباشد. ۱ گرم از هر یک از محتویات ددنوم، ژژنوم و ایلئوم در ۹ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه ریخته شد و پس از همگن کردن نمونه و آب، توسط دستگاه pH متر دیجیتال مدل pH-201 ساخت شرکت Lutron کشور تایوان، pH نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (۲).

ریخت‌شناسی روده باریک

در روزهای ۲۸ و۴۲ آزمایش از قسمت میانی دودنوم، ژژونوم و ایلئوم حدود ۱/۵ سانتی‌متر نمونه‌برداری شد و پس از شستشو با سالین ۰/۸۵ درصد، در داخل محلول تثبیت‌کننده (فرمالین ۱۰ درصد) به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و پس از ۲۴ ساعت آن محلول تعویض و تا روز آماده‌سازی نمونه‌ها داخل فرمالین قرار گرفتند. سپس مقاطع عرضی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و با روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. از هر برش روده ۵ نمونه بافتی تهیه شد (۳۱). ارتفاع پرز (از نوک پرز تا محل اتصال کریپت)، عمق کریپت، ضخامت پرز بر حسب میکرومتر (µm) با استفاده از میکروسکوپ نوری متصل به کامپیوتر و نرم‌افزار EPIX XCAP تعیین شد.

مدل آماری طرح

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. کلیه‌ی داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS (۲۸) آنالیز واریانس شده و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون توکی و در سطح ۵ درصد انجام شد. مدل آماری طرح به شرح زیر بود:

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

در این مدل Y_{ij}: مقدار مشاهده شده برای صفت مورد مطالعه، µ: میانگین جمعیت، T_{ij}: اثر گروه‌های آزمایشی و e_{ij}: اثر خطای آزمایشی می‌باشد.

نتایج و بحث

عملکرد

نتایج به‌دست آمده در جدول ۲ نشان داد خوراک مصرفی در جیره‌های حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسیدیفایر تولیدی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با سایر تیمارها در دوره آغازین افزایش یافت ($p<0/05$). اختلاف معنی‌داری در خوراک مصرفی در ۲۲ تا ۴۲ روزگی بین تیمارها وجود نداشت. استفاده از اسیدیفایر تاثیر معنی‌داری در مصرف خوراک در مقایسه با تیمار شاهد در کل دوره نداشت و خوراک مصرفی در جیره حاوی اسیدیفایر تجاری به‌طور معنی‌داری کمتر از جیره حاوی ۱/۵ درصد اسیدیفایر تولیدی بود ($p<0/05$). استفاده از ۰/۵ درصد اسیدیفایر تولیدی در مقایسه با سایر تیمارها باعث

افزایش وزن جوجه‌ها در دوره آغازین شد (P<۰/۰۵). اسیدیفایر تولیدی در سطح ۰/۵ درصد باعث افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با شاهد در دوره آغازین و کل دوره شد (p<۰/۰۵). سطح ۱ درصد اسیدیفایر تولیدی منجر به کاهش وزن جوجه‌های گوشتی و افزایش ضریب تبدیل غذایی در دوره آغازین و کل دوره در مقایسه با شاهد شد (p<۰/۰۵). در حالی‌که اسیدیفایر تجاری باعث بهبود عملکرد در دوره رشد و کل دوره در مقایسه با شاهد شد (p<۰/۰۵). سطح ۱/۵ درصد اسیدیفایر تولیدی منجر به افزایش ضریب تبدیل غذایی در دوره آغازین در مقایسه با شاهد شد (p<۰/۰۵). بر اساس نتایج به‌دست آمده از کاظم‌پور و جهانیان (۲۱) مشاهده شد سطح اسید مصرفی تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر میزان خوراک مصرفی مرغان تخم‌گذار داشت به‌طوری که صرف‌نظر از نوع اسید مصرفی (اسید سیتریک و اسید بوتیریک) با افزایش سطح اسید در جیره، میزان خوراک مصرفی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۱). همچنین اندریس و همکاران (۴) و افشارمنش و پوررضا (۲) گزارش کردند که استفاده از اسید سیتریک منجر به بهبود بازده غذایی و مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی شد. افزودن ۳ درصد اسید سیتریک موجب بهبود معنی‌دار افزایش وزن در دوره رشد گردید. با این حال افزایش وزن بدن به‌شدت تحت‌تاثیر جیره‌های حاوی ۶ درصد اسید سیتریک قرار گرفت و در تمام دوره‌های آزمایشی افزایش وزن به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (۲۵). اسید سیتریک همانند سایر اسیدهای آلی pH مناسبی برای فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک در دستگاه گوارش ایجاد می‌کند و همچنین با کاهش جمعیت میکروبی روده سبب افزایش هضم خوراک و نهایتاً افزایش رشد جوجه‌ها می‌گردد (۱۰).

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی مواد مغذی جیره‌های آزمایشی
Table 1. Ingredients and nutrient composition of experimental diets

اقلام خوراکی (کیلوگرم در تن)	۱۰-۰ روزگی	۲۴-۱۱ روزگی	۴۲-۲۵ روزگی
ذرت	۵۷۲/۹	۶۰۶/۳	۶۴۹/۵
کنجاله سویا	۳۴۳/۵	۳۳۲	۲۹۲
گلوتن ذرت ۶۱٪	۲۰	–	–
کربنات کلسیم	۱۲	۱۱/۳	۱۰/۲
روغن	۱۷/۶	۲۰	۲۱
دی کلسیم فسفات	۱۸/۷	۱۶/۳	۱۳/۹
نمک	۳/۴	۳/۳	۳/۲
مکمل ویتامینی و معدنی[1]	۵	۵	۵
متیونین	۲/۹	۲/۶	۲/۴
لیزین	۲/۸	۲/۳	۲/۳
ترئونین	۱/۲	۰/۹	۰/۵
مجموع	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
مقادیر آنالیز شده			
ماده خشک	۸۹/۲	۸۸/۶	۸۹/۱
پروتئین خام	۲۲/۳	۲۰/۴	۱۸/۴
چربی	۴/۵	۴/۱	۴/۱
خاکستر	۶/۱	۶/۳	۶/۷
کلسیم	۰/۹۵	۰/۹۱	۰/۸۱
فسفر	۰/۵۵	۰/۴۸	۰/۴۶
مقادیر محاسبه شده			
انرژی (کیلوکالری در کیلوگرم جیره)	۲۹۰۰	۲۹۶۰	۳۰۴۰
پروتئین (٪)	۲۲	۲۰/۵	۱۸/۸
کلسیم (٪)	۱	۰/۹	۰/۸
فسفر (٪)	۰/۵	۰/۴۵	۰/۴
لیزین (٪)	۱/۴۴	۱/۳	۱/۱۵
متیونین+ سیستئین (٪)	۱/۰۸	۱	۰/۸
متیونین (٪)	۰/۵۶	۰/۵۱	۰/۴۲
ترئونین (٪)	۰/۹۷	۰/۸۸	۰/۸۴
تریپتوفان (٪)	۰/۲۳	۰/۲۱	۰/۱۸

۱. مکمل ویتامینی و معدنی برای هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر را تامین می‌کند: مقادیر ۱۱۰۰۰IU ویتامین A، ۴۰۰۰IU ویتامین D_3 ، ۶۵ IU ویتامین E، ۳ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۳ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۷ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۱۵ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۵۰ میلی‌گرم اسید نیکوتینیک، ۵ میلی‌گرم ویتامین B_6، ۲میلی‌گرم اسید فولیک، ۰/۱۵ میلی‌گرم ویتامین B_{12}، ۰/۲۵ میلی‌گرم بیوتین و ۱۱۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید. ۱۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۰۰ میلی‌گرم روی، ۲۵ میلی‌گرم آهن، ۱۵ میلی‌گرم مس، ۱ میلی‌گرم ید و ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم

جدول ۲- تاثیر اسیدیفایر بر عملکرد جوجه‌های گوشتی از سن ۴۲-۱ روزگی
Table 2. The effect of acidifier on performance of broiler chicken from 1 to 42 d of age

تیمار	مصرف خوراک (کیلوگرم)			اضافه وزن (کیلوگرم)			ضریب تبدیل غذایی		
	۱-۲۱	۲۲-۴۲	۱-۴۲	۱-۲۱	۲۲-۴۲	۱-۴۲	۱-۲۱	۲۲-۴۲	۱-۴۲
شاهد	۱/۲۱^{b}	۳/۲۵	۴/۴۶^{ab}	۰/۷۹^{b}	۱/۷۲^{bc}	۲/۵۲^{b}	۱/۵۲^{b}	۱/۸۸^{ab}	۱/۷۷^{b}
۰/۵٪ اسیدیفایر تولیدی	۱/۲۱^{b}	۳/۲۰	۴/۴۲^{ab}	۰/۸۸^{a}	۱/۷۶^{ab}	۲/۶۴^{a}	۱/۴۲^{c}	۱/۸۲^{bc}	۱/۶۷^{c}
۱٪ اسیدیفایر تولیدی	۱/۳۳^{a}	۳/۱۹	۴/۵۲^{ab}	۰/۸۰^{b}	۱/۶۳^{d}	۲/۴۴^{c}	۱/۶۷^{a}	۱/۹۴^{a}	۱/۸۵^{a}
۱/۵٪ اسیدیفایر تولیدی	۱/۳۴^{a}	۳/۲۸	۴/۶۲^{a}	۰/۸۰^{b}	۱/۷۰^{c}	۲/۵۰^{bc}	۱/۶۷^{a}	۱/۹۳^{a}	۱/۸۴^{ab}
۱٪ اسیدیفایر تجاری	۱/۲۱^{b}	۳/۱۸	۴/۳۹^{b}	۰/۸۲^{b}	۱/۷۹^{a}	۲/۶۱^{a}	۱/۴۷^{cb}	۱/۷۸^{c}	۱/۶۸^{c}
SEM	۰/۰۲۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۶	۰/۰۰۷	۰/۰۱۳	۰/۰۱۶	۰/۰۱۹	۰/۰۲۳	۰/۰۱۷
P-value	<۰/۰۰۱	۰/۳۹۵	۰/۰۲۶	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱

*: حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۰/۰۵ است.
*SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

اگرچه با افزایش سطح اسیدیفایر میزان اضافه وزن بدن در مقایسه با شاهد در دوره آغازین افزایش یافت اما افزایش سطح اسیدیفایر از ۰/۵ به ۱/۵ درصد باعث کاهش اضافه وزن جوجه‌های گوشتی در دوره رشد و کل دوره در مقایسه با شاهد گردید که عدم پاسخ مناسب به اسیدیفایر با افزایش سن احتمالاً مربوط به افزایش ترشح اسید و افزایش عملکرد دستگاه گوارش می‌باشد (۲۳). استفاده از مقادیر زیاد اسیدهای آلی در جیره به‌علت کاهش خوشخوراکی سبب کاهش مصرف خوراک و در نتیجه کاهش عملکرد در جوجه‌های گوشتی می‌شود (۱۶). کیم و همکاران (۲۲) گزارش کردند پاسخ‌های متفاوت به اسیدیفایر علاوه بر سن حیوان می‌تواند مربوط به خوشخوراکی خوراک، ترکیب و منابع جیره و سطوح مکمل اسیدیفایر باشد.

فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم

نتایج به‌دست آمده در جدول ۳ نشان داد که میزان تری گلیسرید و کلسترول سرم تحت تاثیر تیمارهای مختلف قرار نگرفت. تیمارهای حاوی اسیدیفایر تاثیری بر میزان HDL سرم در مقایسه با شاهد نداشت. کمترین میزان LDL در جیره‌های حاوی ۰/۵ درصد اسیدیفایر مشاهده شد. که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت (p<۰/۰۵). کاهش در فعالیت آلکالین‌فسفاتاز سرم در جیره‌های حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسیدیفایر تولیدی و ۱ درصد اسیدیفایر تجاری مشاهده شد (p<۰/۰۵). آلکالین فسفاتازها گروهی از آنزیم‌های وابسته به روی هستند که فعالیت کاتالیکی آن‌ها تجزیه استرهای فسفات است. در پستانداران و پرندگان، آنزیم آلکالین فسفاتاز روده یک آنزیم براش بوردری (مستقر در لبه مسواکی پرزهای روده) است که نقش اساسی در بلوغ و تکامل سلول‌های جذبی روده، هموستاز و سلامت ایفا می‌کند که در نهایت منجر به بهبود عملکرد می‌شود (۱۳).

استفاده از سطوح ۳، ۶ و ۹ گرم اسیدیفایر در هر کیلوگرم جیره اثر معنی‌داری بر میزان تری گلیسیرید، کلسترول و HDL پلاسما نداشت (۷) که با نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر مبنی بر اثر اسیدیفایر بر تری‌گلیسرید و کلسترول سرم مطابقت دارد. نتایج نورمحمدی و همکاران (۲۴) نشان دادند که استفاده از اسید سیتریک منجر به کاهش معنی‌دار سطح کلسترول، LDL و نیز افزایش میزان HDL سرم شد، ولی تأثیری بر میزان تری‌گلیسرید سرم جوجه‌های گوشتی نداشت. براساس مطالعات انجام شده آنزیم لیپاز در شرایط اسیدی معده غیرفعال می‌شود. تغییر در سطح آنزیم لیپوپروتئین لیپاز می‌تواند بر سطح لیپوپروتئین‌ها و آپولیپوپروتئین‌ها موثر باشد (۳۰). مکانیسم عمل اسید سیتریک بر قابلیت دسترسی فسفر به خوبی توضیح داده نشده است. فرض شده که اسید سیتریک می‌تواند کلسیم را باند کند و هم زمان اثرات مهارکنندگی‌اش روی هیدرولیز اسیدفایتیک روده را کاهش دهد. استفاده از ۳۰ گرم اسید سیتریک در هر کیلوگرم جیره اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آلکالین‌فسفاتاز سرم جوجه‌های گوشتی در مقایسه با شاهد نداشت در حالی‌که ۶۰ گرم اسید سیتریک در هر کیلوگرم جیره میزان فعالیت آلکالین‌فسفاتاز سرم را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد در ۴۲ روزگی کاهش داد (۲۴).

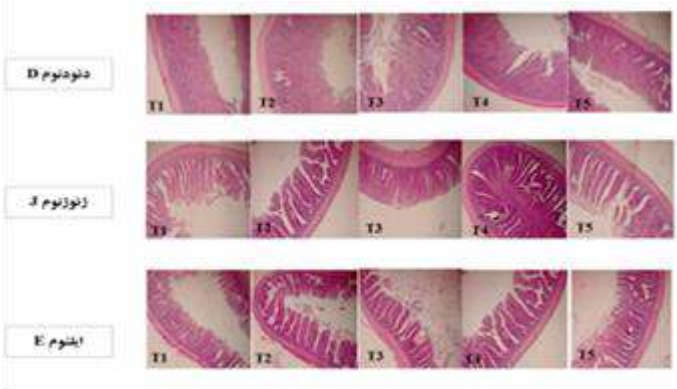
جدول ۳- تاثیر اسیدیفایر بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی
Table3. The effect of acidifier on serum biochemical parameters of broiler chicken on 42 d of age

تیمار	تری‌گلیسرید (mg/dl)	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	کلسترول (mg/dl)	آلکالین‌فسفاتاز (U/L)
شاهد	۱۴۹/۷۵	۱۸/۲۵^{a}	۶۸/۷۵^{ab}	۱۳۷/۰۰	۴۰۰۱/۸۰^{a}
۰/۵٪ اسیدیفایر تولیدی	۱۴۸/۷۵	۱۴/۰۰^{b}	۶۸/۲۵^{ab}	۱۲۹/۷۵	۳۵۷۵/۰۰^{a}
۱٪ اسیدیفایر تولیدی	۱۴۳/۰۰	۱۵/۵۰^{ab}	۷۳/۰۰^{a}	۱۲۹/۷۵	۲۸۷۳/۸۰^{b}
۱/۵٪ اسیدیفایر تولیدی	۱۴۱/۰۰	۱۸/۲۵^{a}	۶۳/۰۰^{b}	۱۲۹/۲۵	۲۸۷۷/۳۰^{b}
۱٪ اسیدیفایر تجاری	۱۴۰/۷۵	۱۵/۷۵^{ab}	۶۹/۲۵^{ab}	۱۳۲/۷۵	۲۶۱۲/۰۰^{b}
SEM	۳/۲۴۰	۰/۸۰۹	۱/۸۴۵	۲/۹۹۸	۱۰۲/۷۶۱
P-value	۰/۱۸۷	۰/۰۰۷	۰/۰۲۶	۰/۳۶۸	<۰/۰۰۱

*: حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۰/۰۵ است. *SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

ریخت‌شناسی روده باریک

نتایج بافت‌شناسی روده در جدول ۴ و شکل ۱ نشان می‌دهد که طول پرز و عمق کریپت در دودنوم و ایلئوم اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها نشان نداد. افزایش در طول پرز و کاهش عمق کریپت ژژونوم در گروه‌های دریافت‌کننده اسیدیفایر در مقایسه با شاهد وجود داشت ($p<۰/۰۵$). ضخامت پرز در بخش‌های مختلف روده در تیمارهای حاوی اسیدیفایر در مقایسه با شاهد کاهش یافت. هر چند، این کاهش در ژژونوم معنی‌دار نبود. کاهش در ضخامت پرز دودنوم در گروه‌های دریافت‌کننده ۰/۵ و ۱درصد اسیدیفایر تولیدی و در ایلئوم در گروه‌های دریافت‌کننده ۱درصد اسیدیفایر تولیدی و اسیدیفایر تجاری در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). بررسی ساختار بافتی قسمت ژژونوم روده باریک از این‌نظر می‌تواند مهم باشد که طبق گزارش‌های انجام شده این قسمت از روده باریک به‌عنوان ناحیه عمده جذب از دستگاه گوارش در نظر گرفته می‌شود (۱۸). بهبود سلامت دستگاه گوارش برای دستیابی به حداکثر رشد و بازده مصرف خوراک در صنعت طیور از اهمیت بالایی برخوردار است (۱۲). افزایش ارتفاع پرز و کاهش عمق کریپت سبب ممانعت از عبور سریع‌تر مواد غذایی، افزایش ضریب جذب و در نتیجه کاهش ضریب تبدیل خوراک می‌شود (۲۰). چن و همکاران (۹) گزارش کردند که سلول‌های انتروسیت روده در قسمت اپیکال اپی‌تلیال مسئول جذب مواد مغذی هستند. هر چند، آزمایش‌هایی بدون مشاهده اثر معنی‌دار اسیدهای آلی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی وجود دارد (۳،۱۷). برای مثال، گونال و همکاران (۱۷) نشان دادند که جیره‌هایی با مخلوط اسیدهای آلی باکتری‌های گرم منفی روده جوجه‌های گوشتی را کاهش داد، اما باعث بهبود اضافه وزن و ضریب تبدیل غذایی نشد.



شکل ۱- ریخت‌شناسی روده باریک: پرزهای روده باریک جوجه‌های گوشتی (دودنوم D، ژژونوم J، ایلئوم I) با بزرگنمایی ۱۰X و مقیاس ۱۰۰µm تحت تیمارهای آزمایشی (شاهد T_1، ۰/۵ درصد اسیدیفایر تولیدی T_2، ۱ درصد اسیدیفایر تولیدی T_3، ۱/۵ درصد اسیدیفایر تولیدی T_4 و ۱ درصد اسیدیفایر تجاری T_5).

Figure 1. Small intestine morphology: the villus of small intestine (D: duodenum, J: jejunum, I: ileum) With 10X magnification and 100 µm scale under experimental diets (control: T_1; 0.5% produced acidifier: T_2; 1%produced acidifier: T_3; 1.5% produced acidifier: T_4 and 1% commercial acidifier: T_5).

جدول ۴- تاثیر اسیدیفایر بر بافت شناسی روده باریک جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

Table4. The effect of acidifier on small intestine histology of broiler chicken on 42 d of age

تیمار	طول پرز (میکرومتر)			ضخامت پرز (میکرومتر)			عمق کریپت (میکرومتر)		
	دودنوم	ژژونوم	ایلئوم	دودنوم	ژژونوم	ایلئوم	دودنوم	ژژونوم	ایلئوم
شاهد	۱۲۵۲	۱۱۰۵/۵۰^{b}	۸۷۴	۲۱۵^{ab}	۱۵۷/۵۰	۲۵۰^{a}	۱۵۷/۵۰	۲۲۰^{a}	۱۵۵
۰/۵٪ اسیدیفایر تولیدی	۱۱۵۵	۱۰۸۱/۵۰^{b}	۷۹۴	۱۴۶^{d}	۱۴۳/۲۵	۱۷۲^{abc}	۱۵۴/۰۰	۱۶۰^{b}	۱۵۲
۱٪ اسیدیفایر تولیدی	۱۱۹۸	۱۱۸۷/۰۰^{a}	۸۱۰	۱۵۰^{dc}	۱۳۵/۰۰	۱۱۷^{c}	۱۶۵/۰۰	۱۷۲^{b}	۱۶۰
۱/۵٪ اسیدیفایر تولیدی	۱۲۴۸	۱۲۰۳/۷۵^{a}	۸۹۲	۱۹۴^{bc}	۱۴۵/۷۵	۲۱۷^{ab}	۱۵۷/۵۰	۱۵۹^{b}	۱۵۲
۱٪ اسیدیفایر تجاری	۱۲۵۰	۱۲۰۵/۰۰^{a}	۹۶۸	۲۴۲^{a}	۱۵۲/۵۰	۱۵۰^{bc}	۱۶۰/۰۰	۱۶۸^{b}	۱۵۵
SEM	۶۱/۶۱۰	۱۶/۱۲۰	۸۷/۵۳۰	۱۰/۴۶۰	۹/۵۲۰	۱۹/۶۳۰	۴/۳۹۰	۹/۸۴۰	۹/۱۹۰
P-value	۰/۷۴۰	<۰/۰۰۱	۰/۴۹۰	<۰/۰۰۱	۰/۵۳۰	۰/۰۰۲	۰/۴۹۰	۰/۰۰۳	۰/۹۸۰

*: حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۰/۰۵ است.

*SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

تعیین pH در بخش‌های مختلف روده کوچک

بر اساس نتایج به‌دست آمده در جدول ۵ نشان داده شد که pH دستگاه گوارش در دودنوم و ژژونوم در ۲۸ و ۴۲ روزگی به‌صورت عددی در جیره‌های حاوی اسیدیفایر در مقایسه با شاهد کاهش یافت. اسیدیفایرها می‌توانند pH خوراک و دستگاه گوارش حیوان را تغییر دهند و می‌توانند عملکرد نرمال

سلول و سنتز پروتئین میکروارگانیسم‌های مختلف دستگاه گوارش را مختل کنند (۶). کاهش در pH دستگاه گوارش توسط اسیدهای آلی با افزایش فعالیت پپسین همراه است (۱). علاوه بر این، افزایش پپتیدها از فعالیت پروتئولیز پپسین موجب آزادسازی هورمون‌ها مثل گاسترین و کوله سیستوکینین می‌شوند که هضم و جذب پروتئین‌ها را تنظیم می‌کند (۲۴). کاهش pH توسط اسیدهای آلی جذب مواد مغذی را بهبود می‌دهد (۵).

جدول ۵- تاثیر اسیدیفایر بر میزان pH روده باریک جوجه‌های گوشتی در ۲۸ و ۴۲ روزگی
Table 5. The effect of acidifier on small intestine pH values of broiler chicken in 28 and 42 d of age

تیمار	pH در ۲۸ روزگی	pH در ۴۲ روزگی		
	دودنوم	دودنوم	ژژونوم	ایلئوم
شاهد	۵/۹۳	۷/۸۰	۶/۸۰	۶/۹۷
۰/۵٪ اسیدیفایر تولیدی	۵/۷۸	۶/۹۱	۶/۳۷	۶/۹۴
۱٪ اسیدیفایر تولیدی	۶/۰۳	۶/۸۸	۶/۴۳	۷/۱۱
۱/۵٪ اسیدیفایر تولیدی	۵/۸۰	۶/۹۵	۶/۵۲	۷/۲۱
۱٪ اسیدیفایر تجاری	۵/۷۹	۶/۸۴	۶/۰۰	۷/۱۲
SEM	۰/۰۸۰	۰/۱۹۰	۰/۱۸۰	۰/۱۸۰
p-value	۰/۱۴۰	۰/۰۱۰	۰/۰۹۰	۰/۸۳۰

نتیجه‌گیری کلی

سطح ۰/۵ درصد اسیدیفایر تولیدی و ۱ درصد اسیدیفایر تجاری در خوراک منجر به اضافه وزن و بهبود ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های گوشتی در دوره آغازین (۱-۲۱ روزگی) و کل دوره (۱-۴۲ روزگی) در مقایسه با شاهد شد ($p<0/05$) و استفاده از ۰/۵ درصد اسیدیفایر تولیدی به‌طور معنی‌داری وزن بدن جوجه‌های گوشتی را در دوره آغازین در مقایسه با سطح ۱ درصد اسیدیفایر تجاری افزایش داد ($p<0/05$). همچنین، کمترین میزان LDL سرم و کاهش عمق کریپت در ژژونوم در جوجه‌های دریافت کننده سطح ۰/۵ درصد اسیدیفایر تولیدی در مقایسه با شاهد مشاهده شد ($p<0/05$). بنابراین با توجه به نتایج عملکردی و اثر مثبت بر میزان LDL سرم و ریخت‌شناسی روده کوچک سطح ۰/۵ درصد اسیدیفایر تولیدی در خوراک جوجه‌های گوشتی پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Afsharmanesh, M. and J. Pourreza. 2005. Effects of calcium, citric acid, ascorbic acid, vitamin D3 on the efficacy of microbial phytase in broiler starters fed wheat-based diets I. Performance, bone mineralization and ileal digestibility. International Journal of Poultry Science, 4: 418-424.
2. Al-Natour, M.Q. and K.M. Alshawabkeh. 2005. Using varying levels of formic acid to limit growth of Salmonella gallinarum in contaminated broiler feed. Asian-Austal Journal of Animal Science, 18: 390-395.
3. Alp, M., N. Kocabagli, R. Kahraman and K. Bostan. 1999. Effects of dietary supplementation with organic acids and zinc bacitracin on ileal microflora, pH and performance in broilers, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23(5): 451-456.
4. Andrys, R., D. Klecker, L. Zeman and E. Marecek. 2003. The effect of changed pH values of feed in isophosphoric diets on chicken broiler performance. Czech Journal of Animal Science, 48(5): 197-206.
5. Boling-Frankenbach, S.D., J.L. Snow, C.M. Parsons and D.H. Baker. 2001. The effect of citric acid on the calcium and phosphorus requirements of chicks fed corn-soybean meal diets. Poultry Science, 80(6):783-788.
6. Bonos, E., E. Christaki, A. Abrahim, N. Soultos and P. Florou-Paneri. 2011. The influence of mannan oligosaccharides, acidifiers and their combination on caecal microflora of Japanese quail (Coturnix japonica). Anaerobe, 17(6): 436-439.
7. Brozka, F., B. Sliwinski and O. Michalik-Rutkowska. 2013. Effect of dietary acidifier on growth, mortality, post-slaughter parameters and meat composition of broiler chickens. Annals of Animal Science, 13(1): 85-96.
8. Chaveerach, P., D.A. Keuzenkamp, H.A. Urlings, L.J. Lipman and F. Van Knapen. 2002. In vitro study on the effect of organic acids on Campylobacter jejuni/coli populations in mixtures of water and feed. Poultry Science, 81(5): 621-628.
9. Chen, J., G. Tellez, J.D. Richards and J. Escobar. 2015. Identification of potential biomarkers for gut barrier failure in broiler chickens, Frontiers in Effect of dietary acidifier on growth, mortality, post-slaughter parameters and meat composition of broiler chickens. Veterinary Science, 2: 14.
10. Chowdhury, R., K.M.S. Islam, M.J. Khan, M.R. Karim, M.N. Haque, M. Khatun and G.M. Pesti. 2009. Effect of citric acid, avilamycin, and their combination on the performance, tibia ash, and immune status of broilers. Poultry Science, 88(8): 1616-1622.

11. Deschepper, K., M. Lippens, G. Huyghebaert and K. Molly. 2003. The effect of aromabiotic and GALI D'OR on technical performances and intestinal morphology of broilers. In Proccedings of 14th European Symposium on Poultry Nutrition August. Lillehammer, Norway, 169-175.
12. Dibner, J.J. and P. Buttin. 2002. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. Journal of Applied Poultry Research, 11(4): 453-463.
13. Estaki, M., D. DeCoffe and D.L. Gibson. 2014. Interplay between intestinal alkaline phosphatase, diet, gut microbes and immunity. World Gastroenterology, 20(42): 15650-15656.
14. Garcia, V., P. Catala´-Gregori, F. Hernandez, M.D. Megıas and J. Madrid. 2007. Effect of Formic Acid and Plant Extracts on Growth, Nutrient Digestibility, Intestine Mucosa Morphology and Meat Yield of Broilers. Applied Poultry Research, 16(4): 555-562.
15. Ghazalah, A.A., A.M. Atta, K. Elkloub, M.E.L. Moustafa and F.H.S. Riry. 2011. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, nutrients digestibility and health of broiler chicks. International Journal of Poultry Science, 10(3): 176-184.
16. Gheisari, A.A., M. Heidari, R.K. Kermanshahi, M. Togani and S. Saraeian. 2007. Effect of dietary supplementation of protected organic acids on ilealmicroflora and protein digestibility in broiler chickens. In: Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition, Strasbourg, France, 519-522.
17. Gunal, M., G. Yayli, O. Kaya, N. Karahan and O. Sulak. 2006. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. International of Poultry Science, 5(2): 149-155.
18. Horn, N.L., S.S. Donkin, T.J. Applegate and O. Adeola. 2009. Intestinal mucin dynamics: response of broiler chicks and White Pekin ducklings to dietary threonine. Poultry Science, 88(9): 1906-1914.
19. Izat, A.L., N.M. Tidwell, R.A. Thomas, M.A. Reiber, M.H. Adams, M. Colberg and P.W. Waldroup. 1990. Effects of a buffered propionic acid in diets on the performance of broiler chickens and on microflora of the intestine and carcass. Poultry Science, 69(5): 818-826.
20. Kandelosi, M. and F. Mirzaii-Aghshelagh. 2010. Effect of Saccharomyces cervesie and organic acid on performance and intestinal morphology in broiler. Pajoheshhaie Tolidate Dami, 3(6): 25-34 (In Persian).
21. Kazempour, F. and R.. Jahanian. 2010. Effect of different levels of organic acids on performance and immunological responses in leghorn laying hens. The 5th Congress on Animal Science, Isfahan University of Technology, 110-114 (In Persian).
22. Kim, Y.Y., D.Y. Kil, H.K. Oh and I.K. Han. 2005. Acidifier as an alternative material to antibiotics in animal feed. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 18(7): 1048-1060.
23. Kirchegessner, M., B. Eckel, F.X. Roth and U. Eidelsburger. 1992. Influence of formic acid on carcass composition and retention of nutrients: 2. Nutritive value of organic acids in piglet rearing. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 67: 101-110.
24. Nourmohammadi, R. and H. Khosravinia. 2015. Acidic stress caused by dietary administration of citric acid in broiler chickens. Archives Animal Breeding, 58: 309-315.
25. Nourmohammadi, R., S.M. Hosseini and M. Vakili. 2012. Effect of citric acid and microbial phytase on ileal digestibility and serum enzyme activity in blood of broiler chickens, Iranian Journal of Animal Science Researches, 23(1): 57-71 (In Persian).
26. Nourmohammadi, R., S.M. Hosseini and H. Farhangfar. 2010. Effect of dietary acidification on some blood parameters and weekly performance of broiler chickens. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(24): 3092-3097.
27. Ritz, C.W., R.M. Hulet, B.B. Self and D.M. Denbow. 1995. Growth and intestinal morphology of male turkeys as influenced by Dietary supplementation of amylase and xylanase. Poultry Science, 74(8): 1329-1334.
28. SAS Institute. 1996. SAS User's Guide: Statistics. Cary, NC: SAS Institute.
29. Thompson, J.L. and M. Hinton. 1997. Antibacterial activity of formic and propionic acids in the diet of hens on Salmonellas in the crop. British Poultry Science, 38(1): 59-65.
30. Wang, Y., J. Yan, X. Zhang and B. Han. 2018. Tolerance properties and growth performance assessment of Yarrowia lipolytic lipase in broilers. Journal of Applied Animal Research, 46(1): 486-491.
31. Xu, Z.R., C.H. Hu, M.S. Xia, X.A. Zhan and M.Q. Wang. 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microbiota and morphology of male broilers. Poultry Science, 82: 1030-1036.

Comparison of the Nutritional Effects of Citric Acid-Based Acidifiers Produced with a Commercial Acidifier on Performance, Blood Metabolites, Small Intestine pH Values and Morphology in Broiler Chickens

Alireza Hesabi Nameghi[1], Ali Nasari Nejad[2] and Marzieh Afkhami[3]

1- Research Associate of Animal Science Research Department, Razavi Khorasan Agricultural Research and Education Center, Mashhad, Iran (Corresponding author: Alireza Hsabi Nameghi)
2, 3- Research and Development Center of Tehrantoyur Company, Mashhad, Iran
Received: July 26, 2020 Accepted: January 22, 2021

Abstract

This experiment was conducted to the comparison of produced acidifier (based on citric acid) with commercial type in the broiler diets on performance, blood metabolites, intestinal morphology and the small intestine pH values of broilers. A total of 400 one-day-old Ross broiler chicks were used in this experiment. A completely randomized design with 5 treatments, 4 replicate and 20 chicks per replicate was performed. Experimental treatments included a control diet with adding 0.5%, 1% and 1.5% produced and 1% commercial acidifiers. The results indicated that feed intake (FI) increased at broiler chickens received 1 and 1.5% acidifier in comparison with the control group at the starter period ($p<0.05$). The body weight gain (BWG) and feed conversion ratio (FCR) improved by the 0.5% acidifier in comparison with control groups at the starter and the entire rearing periods ($p<0.05$). The inclusion of 1% produced acidifier decreased BWG and increased FCR compared to the control at the starter and whole periods ($p<0.05$). Whereas, commercial acidifier improved performance during the grower and whole periods compared to the control ($p<0.05$). The 1.5% level of produced acidifier increased FCR compared to the control at the starter period ($p<0.05$). The serum HDL of broiler chicken received acidifier was not significantly different from the control group. But, the lowest LDL was found in the 0.5% acidifier. There was a decrease in serum activity of alkaline phosphatase (ALP) in diets containing 1.5 and 1% of produced and commercial acidifiers compared with control groups ($p<0.05$). Gastrointestinal pH was not affected in duodenum and jejunum in acid-containing diets compared with controls at 28 and 42 days of age. Also, acidifier improved the traits of intestinal morphology ($p<0.05$). According to the results of this experiment 0.5% acidifier in feed of broiler chicken to improve performance and positive effect on blood metabolite is recommended.

Keywords: Acidifier, Broiler Chicken, Blood Metabolite, Intestinal Morphology, Gastrointestinal Acidity

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

اثر افزودنی‌های تنظیم‌کننده pH شکمبه بر برخی از فراسنجه‌های کیفی گوشت بره‌های پرواری تغذیه شده با جیره پرکنسانتره

امید خراسانی[۱]، مرتضی چاجی[۲] و فرشاد باغبان[۳]

۱- دانش‌آموخته دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، (نویسنده مسوول: chaji@asnrukh.ac.ir)
۳-استادیار گروه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۵
صفحه: ۵۰ تا ۶۰

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر افزودنی‌های تنظیم‌کننده‌ی pH بر فراسنجه‌های کیفی گوشت انجام گرفت. در آزمایش حاضر از ۲۴ رأس بره نر عربی ۱ ± ٤ ماهه با وزن ۳/۱۵kg ± ۲۳/۹ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۸ تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره‌ی شاهد ۲- جیره شاهد + بافر بی‌کربنات سدیم ۳- جیره شاهد + باکتری *مگاسفرا السدنی* و مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* (باکتری-مخمر) بودند. در پایان آزمایش ۵ بره از هر تیمار که به میانگین وزن نزدیک‌تر بودند انتخاب، وزن‌کشی و ذبح شدند، سپس اجزای لاشه جداسازی و وزن شد. نمونه‌ای از راسته بین دنده‌های ۱۲ و ۱۳ جهت تعیین الگوی اسیدهای چرب لاشه، فراسنجه‌های رنگ‌سنجی گوشت تهیه شد. غلظت اسید لینولنیک، مجموع اسیدهای چرب ω3 اسید استئاریک، اسید دکوزاهگزاانوئیک (DHA) و نسبت ω6/ω3 در تیمارهای حاوی تنظیم کننده‌های pH نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود (p<۰/۰۵). غلظت اسید ایکوزاپنتاانوئیک (EPA) در تیمار باکتری-مخمر به‌صورت عددی بیشتر از تیمار شاهد و تیمار بافر بی‌کربنات سدیم بود. غلظت اسید لینولئیک و نسبت PUFA/SFA در تیمار شاهد از تیمارهای حاوی تنظیم کننده‌ی pH بیشتر بود (p<۰/۰۵). درصد پروتئین گوشت، زاویه هیو (H^*)، وزن لاشه گرم و بازده لاشه در تیمار دریافت‌کننده‌ی باکتری-مخمر از سایر تیمارها بیشتر بود (p<۰/۰۵). شاخص قرمزی گوشت (a^*) و اشباعیت رنگ (C^*) در تیمار دریافت‌کننده‌ی بافر و شاهد بیشتر بود (p<۰/۰۵). بنابراین، افزودنی‌های تنظیم کننده‌ی pH به‌ویژه تیمار باکتری-مخمر می‌تواند روشی در جهت بهبود برخی از فراسنجه‌های مفید گوشت برای تغذیه انسان باشد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد افزودنی‌هایی که برای تنظیم pH و دستکاری تخمیر شکمبه در حین تغذیه بره‌ها با جیره‌های پرکنسانتره استفاده می‌شوند، نه تنها بر ترکیب شیمیایی و کیفیت گوشت تأثیر منفی ندارند، بلکه می‌توان این شاخصه‌ها را به نفع سلامت دام و مصرف کننده‌ی محصولات دامی بهبود بخشید.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب لاشه، بی‌کربنات سدیم، *ساکرومایسیس سرویسیه*، کیفیت گوشت، *مگاسفراالسدنی*

مقدمه

از جمله راه‌های بهبود بازده غذایی به ویژه در دام‌های پرواری و اقتصادی کردن پرواربندی، استفاده بیشتر از مواد متراکم در جیره‌ی دام‌ها می‌باشد. این مهم در صورتی امکان پذیر است که عوارض سوء ناشی از مصرف زیاد مواد متراکم در جیره‌ی دام‌های پرواری با اضافه کردن افزودنی‌های مناسب به حداقل برسد تا شرایط تخمیر در شکمبه و بازده خوراک بهبود یابد (۲۹). بررسی‌های انجام‌شده همبستگی بالایی بین باکتری‌های شکمبه، فراسنجه‌های شکمبه و پروفیل اسیدهای چرب گوشت را نشان می‌دهند، به علاوه سطح انرژی جیره بر تنوع و ترکیب باکتریایی شکمبه و ترکیب اسیدهای چرب گوشت مؤثر است (۴۴). در واقع جیره‌های دارای کنسانتره‌ی بالا، علاوه بر افزایش سرعت عبور، با کاهش pH شکمبه و کنترل بیوهیدروژناسیون شکمبه، می‌توانند مقدار اسیدهای چرب غیراشباع ذخیره شده در گوشت را افزایش دهند (۲۲). مطالعات متعددی گزارش کرده‌اند که محتوی اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه (PUFA) نشخوار کنندگان را می‌توان با مدیریت تغذیه اصلاح کرد (۴۲). در این میان اسیدهای چرب بلند زنجیر ω3 (اسید ایکوزاپنتاانوئیک (EPA) اسید دکوزاهگزاانوئیک (DHA)) دارای اثرات بیولوژیکی وسیعی بوده و برای سلامت انسان مفید می‌باشند؛ با وجود نقش اسیدهای چرب شاخه‌دار در سلامت انسان و خواص ضد سرطان و ضد التهاب آن‌ها و این‌که گوشت نشخوارکنندگان یک منبع اصلی اسیدهای چرب شاخه‌دار در رژیم غذایی انسان است، متأسفانه تحقیقات در مورد تأثیر رژیم غذایی بر غلظت آن‌ها در گوشت محدود است (۴۲).

با مصرف مستقیم باکتری در جیره‌ی پرکنسانتره توسط گوساله‌های گوشتی (۱۱) یا با تغذیه اختیاری قارچ *آسپرژیلوس* به بزهای آفریقایی (۴) و نیز با خوراندن مستقیم باکتری در جیره‌های پرکنسانتره به تلیسه‌ها (۱۵) بهبود وزن لاشه گزارش شده است. بر این اساس توصیه شده که جهت بهبود محصولات غذایی از روش تغذیه مستقیم میکروبی[۱] (DFM) استفاده شود (۱۱). تغذیه مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* در نشخوار کنندگان با بهبود محیط شکمبه برای رشد میکروارگانیسم‌ها، فراسنجه‌های رشد را نیز بهبود داده و باعث ارتقاء کیفیت تولیدات می‌شوند؛ در بیشتر پژوهش‌هایی که از افزودنی‌های میکروبی استفاده شده است، تمرکز بر فراسنجه‌های تخمیری شکمبه معطوف شده است (۱۳) و ارتباط آن با کیفیت گوشت بررسی نشده است؛ اگرچه

1- Direct fed microbes (DFM)

مطالعات زیادی درباره‌ی تأثیر مخمر بر کیفیت تولیدات نشخوار کنندگان انجام شده است اما این موضوع بیشتر در گاوهای شیری بوده است و طبق این گزارشات مخمر تأثیر خاصی بر درصد چربی و پروتئین شیر دارند (۳۵) و نشان داده‌اند که مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* می‌تواند بر متابولیسم چربی و پروتئین در نشخوار کنندگان تأثیر گذاشته و بیشترین تأثیر را بر کیفیت تولیدات داشته باشد (۱۴). پیشنهاد شده است که مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* می‌تواند مصرف کنندگان لاکتات به ویژه باکتری *مگاسفرا السدنی* را توسعه و استفاده از لاکتات را افزایش دهد (۱۰،۶). یک تئوری قابل قبول نیز این است که باکتری *مگاسفرا السدنی* در یک جیره‌ی با کنسانتره‌ی بالا باعث جریان بیشتر گلوکز به سلول‌ها در بافت‌های اسکلتی می‌شود و می‌تواند بر خصوصیات گوشت تأثیرگذار باشد (۹).

بی‌کربنات سدیم می‌تواند نسبت اسیدهای چرب فرار را در شکمبه به وسیله‌ی تغییر تنوع یا افزایش در جمعیت باکتری‌ها، پروتوزوآ یا نرخ تجزیه خوراک در شکمبه، تحت‌تأثیر قرار دهد که این تغییرات بر الگوی اسیدهای چرب گوشت نیز مؤثر است (۱۷).

رنگ گوشت یکی از عوامل اساسی تأثیرگذار بر تصمیم مصرف کنندگان برای خرید گوشت است (۲۱). رنگ گوشت نشخوار کنندگان تحت تأثیر جیره قرار دارد، به‌عنوان مثال دام‌های تغذیه شده با درصد بالاتر از علوفه، گوشت تیره‌تر، قرمزتر و چربی زردتری نسبت به دام‌های مصرف‌کننده‌ی جیره بر پایه‌ی کنسانتره دارند که علت آن غلظت بیشتر کاروتنوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌های موجود در علوفه می‌باشد (۳۷). pH شکمبه نیز با رنگ گوشت و صفات بافت آن در ارتباط است. بنابراین به‌کار بردن بی‌کربنات سدیم و مواد بیولوژیکی مؤثر بر pH شکمبه، باعث کاهش اسیدوز و بیماری‌های مرتبط با آن می‌شود و با ایجاد یک تخمیر آهسته‌تر اثرات مطلوبی بر کیفیت گوشت خواهد داشت (۳۸).

در کل، پژوهشگران به‌دنبال شناسایی میکروارگانیسم‌های مسئول بیوهیدروژناسیون و یافتن افزودنی‌هایی هستند که ضمن حفظ سلامت دام، شکمبه و بازده تخمیر، فعالیت آن‌ها را به نحوی تغییر دهند که با کنترل بیوهیدروژناسیون، کیفیت تولیدات نشخوار کنندگان را از نظر سلامت تولیدات بهبود بخشند (۲۳). از طرفی، استفاده از جیره‌های پرکنسانتره باعث کاهش بیوهیدروژناسیون و در نتیجه عبور بیشتر اسیدهای چرب غیراشباع از شکمبه و افزایش جذب آنها در روده می‌شود (۳۹). لذا، این سوال پیش می‌آید که آیا استفاده از افزودنی‌هایی که باعث تنظیم و تعدیل تغییرات pH در این جیره‌ها می‌شوند و شرایط را برای گونه‌های میکروبی اشباع‌کننده (سلولولتیک‌ها) مساعد می‌کنند (۲۵)، اثر منفی بر کیفیت اسیدهای چرب جذبی از روده و به‌دنبال آن کیفیت گوشت آنها خواهد داشت یا خیر؟ به‌علاوه، مطالعات بسیار کمی در زمینه تأثیر تغذیه مستقیم باکتری و مخمر بر صفات لاشه و کیفیت گوشت انجام شده است (۳۶). بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر افزودنی‌های تنظیم‌کننده pH شکمبه شامل: بافر شیمیایی بی‌کربنات سدیم و ترکیب باکتری مصرف‌کننده اسید لاکتیک (*مگاسفرا السدنی*) و مخمر *ساکرومایسیس سروویسیه* (باکتری-مخمر) به‌عنوان یک تنظیم کننده بیولوژیک بر برخی از فراسنجه‌های کیفی گوشت بره‌های پرواری در جیره با کنسانتره بالا انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در فاصله زمانی سال‌های ۱۳۹۷ تا ۱۳۹۸ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. از ۲۴ بره نر عربی با میانگین سن ۱ ± ۴ ماه با وزن اولیه‌ی ۳/۱۵ ± ۲۳/۹ کیلوگرم استفاده شد. طول دوره آزمایش ۷۷ روز (۱۱ هفته) شامل ۱۴ روز دوره‌ی عادت‌دهی به جیره‌های آزمایشی و ۶۳ روز (۹ هفته) دوره اصلی آزمایش بود. قبل از آغاز پژوهش همه‌ی بره‌ها برای انگل‌های خارجی (۱ میلی‌لیتر آزانتول ۱۰ درصد در ۷ لیتر آب به‌روش اسپری؛ شرکت بایر آلمان)، انگل‌های داخلی (تریکل ابندازول با لوامیزل، ۱۲ میلی‌لیتر برای هر گوسفند؛ شرکت دارو پخش ایران) و برای مقابله با آنتروتوکسمی (۳ میلی‌لیتر برای هر بره، مؤسسه‌ی تحقیقاتی واکسن و سرم‌سازی رازی- ایران) واکسینه شدند. بره‌ها جداگانه نگهداری شدند و به‌صورت تصادفی به یکی از سه تیمار شامل ۱- جیره شاهد (فاقد افزودنی) ۲- جیره شاهد+ بافر بی‌کربنات سدیم (۱ درصد جیره روزانه به‌صورت سرک در دو وعده غذایی) ۳- جیره شاهد+ باکتری *مگاسفرا السدنی* و مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* اختصاص یافتند. باکتری *مگاسفرا السدنی* به مقدار ۳ میلی‌لیتر به‌ازاء هر دام (حاوی $۴/۵ \times ۱۰^{۸}$ cfu/ml) به‌همراه ۲ گرم مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* هر روز صبح به‌صورت استفاده مستقیم از میکروب به دام‌ها خورانده شد (۹). جیره‌های آزمایشی (جدول ۱) طبق جدول احتیاجات نشخوارکنندگان کوچک (۳۱) تنظیم شدند و به‌صورت کاملاً مخلوط[1] به نسبت ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد کنسانتره در دو نوبت (ساعت ۸ و ۱۶) در حد اشتها به‌همراه دسترسی آزاد به آب در اختیار بره‌ها قرار گرفت. تغییرات وزن بره‌ها به‌صورت هر سه هفته ثبت شدند و برای محاسبه وزن نهایی، استفاده شدند.

1- Total mixed ration (TMR)

جدول ۱- اجزای خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه آزمایشی تغذیه شده به بره‌ها
Table 1. Feed ingredients and chemical composition of the experimental basal diet fed to lambs

اقلام ماده خوراکی	مقدار (درصد ماده خشک)
یونجه	۲۰/۱
کاه گندم	۹/۹
دانه جو	۳۰
دانه ذرت	۲۱
کنجاله‌ی سویا	۱۲/۳۵۰
سبوس گندم	۵/۵
کربنات کلسیم	۰/۴
نمک	۰/۲۵۰
مکمل ویتامین- مواد معدنی[۱]	۰/۵
ترکیبات شیمیایی	
ماده خشک	۸۹/۱
ماده آلی	۹۴/۸
خاکستر	۵/۱۷
پروتئین خام	۱۶/۱
عصاره اتری	۲/۷
انرژی قابل متابولیسیم (مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک[۲])	۲/۶۵
الیاف نامحلول در شوینده خنثی[۳]	۲۹
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی[۳]	۱۶/۵
کربوهیدارت‌های غیر الیافی[۵]	۴۷/۰۳

[۱] هر کیلوگرم مکمل ویتامین – مواد معدنی حاوی ۵۰۰ هزار واحد بین المللی ویتامینA، ۱۰۰هزار واحد بین المللی ویتامینD_3، ۱۰۰میلی‌گرم ویتامینE، ۱۸۰گرم کلسیم، ۶۰هزار میلی‌گرم، فسفر، ۶۰هزار میلی‌گرم سدیم، ۱۹هزار میلی‌گرم منیزیم، ۳هزار میلی‌گرم روی، ۳هزار میلی‌گرم آهن، ۱۹هزار میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰میلی‌گرم مس، ۱۰۰میلی‌گرم کروم، ۱میلی‌گرم سلنیوم، ۱۰۰میلی‌گرم ید، ۴۰۰ میلی‌گرم آنتی اکسیدانت.
[۲] محاسبه‌شده از اجزاء تشکیل‌دهنده جیره

بافر بی‌کربنات سدیم مورد استفاده در پژوهش حاضر از شرکت کیمیا سپاهان (اصفهان-ایران) و مخمر *ساکارومایسیس سرویسیه* (۷×۱۰^{۹} cfu/g) از شرکت خمیر مایه خوزستان (دزفول-ایران) تهیه شد. باکتری‌های *مگاسفرا السدنی* ($۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ cfu/ml) از بز نجدی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان (ملاثانی-اهواز-ایران) جداسازی و تهیه شد (۲۶). جهت تعیین ترکیب شیمیایی گوشت، نمونه‌ای از گوشت در آون (MEMMERT- UF 450- Germany) در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد و ماده خشک از طریق اختلاف میزان رطوبت گوشت محاسبه شد. خاکستر با کوره الکتریکی (شرکت آزما گستر-FM 8P – ایران، دمای ۵۵۰°C به‌مدت ۳ ساعت، چربی خام با روش سوکسله (شرکت صنایع آزمایشگاهی بخشی - V40 – ایران) پروتئین خام به‌روش کجلدال (FOSS 2033 - Sweden) اندازه‌گیری شدند (۲).

در پایان آزمایش ۵ بره از هر تیمار که به میانگین وزن نزدیک‌تر بودند انتخاب و پس از ۱۶ ساعت محرومیت از غذا و با دسترسی به آب، وزن‌کشی و ذبح شدند. پس از خروج کامل خون، پوست دام‌ها جدا شدند و اندام‌های خارجی (پوست، سر و پاها) جداسازی و وزن شدند. همه‌ی اندام‌ها یا بافت‌های داخلی شامل (قلب، کبد، کلیه‌ها، طحال، ریه‌ها، چربی قلب، کلیه، لگن و روده (چربی داخلی) و دستگاه گوارش جداسازی و وزن شدند. لاشه بره‌ها وزن شده و با دقت نصف شد سپس طرف راست به شش بخش عمده شامل (گردن، شانه، قفسه سینه، راسته، ران و دنبه) تقسیم و وزن شد (۱۲،۲۰). نمونه‌ای از راسته بین دنده‌های ۱۲ و ۱۳ جهت تعیین الگوی اسیدهای چرب لاشه تهیه و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان آنالیز نگهداری شد.

استخراج چربی راسته طبق روش دیوید و همکاران (۷) انجام شد. آنالیز نمونه‌ها جهت تعیین الگوی اسیدهای چرب با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent Technologies GC Model 7890 A CO. USA) انجام گرفت. ستون دستگاه HP-88 به‌طول ۱۰۰ متر بود. آشکارساز FID با دمای ۲۸۰ درجه سلسیوس و دمای محل تزریق ۲۹۰ درجه سلسیوس که گاز هلیوم به‌عنوان حامل با شدت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود (۷).

فراسنجه‌های رنگ گوشت با استفاده از دستگاه رنگ‌سنجی (Konica Minolta, CR-400- Japan) براساس شاخصه‌های L^* (روشنایی)، a^* (قرمزی) و b^* (زردی) ماهیچه راسته (بین دنده‌ی ۱۲-۱۳) پس از گذشت ۲۴ ساعت از کشتار دام با ۳ بار اندازه‌گیری برای هر نمونه انجام شد. قبل از انجام رنگ‌سنجی، کالیبراسیون دستگاه با استفاده از یک صفحه‌ی سفید کالیبراسیون که حسب دستورالعمل گروه بین‌المللی شاخص‌های رنگ a, L و b بر آن تعریف شده بود انجام گرفت و شاخص اشباعیت (Chroma) و زاویه هیو (Hue) به‌ترتیب از فرمول $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ و Arctag (b^* / a^*)*57.29 محاسبه شد (۳۳،۱۲).

آزمایش حاضر در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۸ تکرار انجام شد. داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS (نسخه‌ی ۹/۴) با رویه خطی GLM مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها برای اختلاف معنی‌دار، توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۵ درصد انجام شد:

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

که در این مدل، Yij مقدار مشاهده شده، μ میانگین جامعه، T_i اثر تیمار i ام، ε_{ij} اثر خطای آزمون است.

نتایج و بحث

ترکیب اسیدهای چرب راسته برههای مورد آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است. غلظت اسیدهای چرب اشباع اسید تریدیسایلیک (C13:0) و اسید استئاریک (C18:0) نمونههای عضلهی راسته در تیمارهای حاوی باکتری–مخمر و بافر بیکربنات سدیم بیشتر از شاهد بود (p <۰/۰۵). غلظت اسید اولئیک (C18:1n9 cis)، اسید پالمیتولئیک (C16:1)، اسید لینولئیک (C18:2n 6 cis)، اسید γ– لینولنیک (C18:3n 6) و اسید دیهوموگامالینولین (C20:3n6)، مجموع اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه[1] (MUSFA) و اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه، اسیدهای چرب امگا–۶ (ω6)، نسبت اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه به اسیدهای چرب اشباع[2] (MUFA/SFA)، نسبت اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه به اسیدهای چرب اشباع (PUFA/SFA) و نسبت اسیدهای چرب امگا–۶ به امگا–۳ (ω6/ω3) عضلهی راسته در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود (p<۰/۰۵). برای غلظت اسید پالمیتولئیک تفاوتی بین شاهد با تیمار باکتری–مخمر وجود نداشت، اما نسبت به تیمار بافر بیکربنات سدیم بهطور معنیداری بیشتر بود (p<۰/۰۵).

جدول ۲– ترکیب اسیدهای چرب گوشت در برههای پرواری تغذیه شده با جیرههای آزمایشی

Table 2. The composition of meat fatty acids in fattening lambs fed with the experimental diets

الگوی اسیدهای چرب	تیمارهای آزمایشی			انحراف استاندارد میانگین	سطح معنیداری
	شاهد	بافر	باکتری – مخمر		
اسید کاپروئیک (C10:0)	۱/۱۰	۱/۹۳	۱/۸۵	۰/۲۲۹	۰/۳۲۴۱
اسید اندسیلیک (C11:0)	۶/۷۰^{b}	۸/۶۵^{b}	۱۳/۶۰^{a}	۱/۳۲۷	۰/۰۰۸۹
اسید لوریک (C12:0)	۱/۸۱	۴/۰۴	۲/۹۵	۰/۴۶۶	۰/۱۱۳۹
اسید تریدسیلیک (C13:0)	۲/۱۱^{b}	۵/۴۴^{a}	۵/۷۱^{a}	۰/۷۸۰	۰/۰۴۰۲
اسید مریستیک (C14:0)	۳/۵۲	۲/۵۸	۲/۶۱	۰/۲۹۴	۰/۴۲۴۹
اسید پنتادکانوئیک (C15:0)	۱/۸۶	۳/۹۳	۴/۰۵	۰/۵۲۷	۰/۱۳۹۸
اسید پالمیتیک (C16:0)	۱۲/۶۱	۱۲/۷۱	۱۲/۳۵	۰/۱۰۷	۰/۴۶۲۳
اسید مارگاریک (C17:0)	۲/۲۹	۳/۸۹	۳/۳۹	۰/۳۴۱	۰/۱۰۹۰
اسید استئاریک (C18:0)	۷/۸۷^{b}	۹/۶۱^{a}	۹/۲۶^{a}	۰/۳۴۱	۰/۰۰۵۶
اسید آراشیدیک (C20:0)	۱/۳۰	۲/۴۰	۲/۳۵	۰/۲۹۵	۰/۲۶۳۱
اسید هنیکوسیلیک (C21:0)	۰/۳۴^{b}	۰/۴۹^{ab}	۰/۸۰^{a}	۰/۰۹۱	۰/۰۳۹۳
اسید تریکوزانوئیک (C23:0)	۱/۱۲	۲/۲۴	۱/۳۰	۰/۲۵۲	۰/۱۱۵۰
اسید لیگنوسریک (C24:0)	۰/۳۸^{b}	۰/۸۱^{a}	۰/۵۱^{b}	۰/۰۸۵	۰/۰۲۸۵
اسید مریستولیک (C14:1)	۱/۳۲	۰/۱۱	۰/۵۲	۰/۲۶۰	۰/۱۲۷۵
اسید پنتادسیلیک (C15:1)	۳/۲۸^{a}	۰/۹۱^{b}	۱/۸۱^{b}	۰/۴۵۶	۰/۰۲۴۳
اسید پالمیتولیک (C16:1)	۳/۷۱^{a}	۲/۴۸^{b}	۳/۰^{ab}	۰/۱۹۸	۰/۰۳۹۴
اسید هپتادکانوئیک (C17:1)	۳/۹۴	۱/۵۷	۲/۹۴	۰/۵۲۰	۰/۱۶۵۰
اسید نرونیک (C24:1)	۱/۱۸	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۲۰۰	۰/۱۸۸۲
اسید ایکوزادیانوئیک (C20:2)	۰/۶۷^{a}	۰/۲۹^{ab}	۰/۰۷^{b}	۰/۱۱۸	۰/۰۲۵۸
اسید اولئیک (C18:1n9 *cis*)	۲۸/۰۲^{a}	۲۵/۲^{b}	۲۱/۰۱^{c}	۱/۳۰۸	۰/۰۰۴۹
اسید الائیدیک (C18:1n9 *transe*)	۱/۲۷	۱/۲۰	۰/۹۱	۰/۰۹۰	۰/۲۵۱۶
اسید لینولائیدیک (C18:2n6 *transe*)	۱/۹۰	۰/۸۹	۰/۹۵	۰/۳۳۵	۰/۴۸۱۱
اسید لینولئیک (C18:2n6 *cis*)	۵/۷۷^{a}	۳/۹^{b}	۱/۴۵^{c}	۰/۷۹۷	۰/۰۰۰۸
اسید γ -لینولنیک (C18:3n6)	۲/۱۱^{a}	۰/۳۱^{b}	۰/۸۰^{b}	۰/۳۶۶	۰/۰۰۵۱
اسید α- لینولنیک (C18:3n3)	۰/۲۳^{c}	۰/۸۱^{b}	۰/۹۲^{a}	۰/۱۳۶	۰/۰۰۰۴
اسید ایکوزاترینوئیک (C20:3n3)	۰/۳۷^{c}	۰/۵۳^{b}	۰/۸۸^{a}	۰/۰۹۶	۰/۰۰۲۰
اسید دیهوموگامالینولین (C20:3n6)	۲/۲۴^{a}	۰/۷۸^{b}	۰/۴۷^{b}	۰/۳۴۸	۰/۰۰۱۷
اسید آراشیدونیک (C20:4n6)	۰/۴۱^{c}	۰/۷۳^{b}	۰/۹۷^{a}	۰/۱۰۳	۰/۰۰۳۷
اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA=C20:5n3)	۰/۳۶	۰/۵۱	۱/۴۸	۰/۲۷۰	۰/۱۸۲۴
اسید دکوزاهگزاانوئیک (DHA= C22:6n3)	۰/۰۷^{b}	۰/۳۸^{a}	۰/۵۶^{a}	۰/۰۹۲	۰/۰۰۸۰
SFA	۴۳/۰۶^{b}	۵۸/۷۹^{a}	۶۰/۷۸^{a}	۳/۷۹۱	۰/۰۴۴۳
MUSFA	۴۲/۷۵^{a}	۳۱/۹۶^{b}	۳۰/۶۴^{b}	۲/۵۸۱	۰/۰۳۹۲
PUSFA	۱۴/۱۸^{a}	۹/۲۴^{b}	۸/۵۷^{b}	۱/۲۱۳	۰/۰۰۵۱
ω6	۱۲/۴۵^{a}	۶/۷۰^{b}	۴/۶۴^{b}	۱/۵۵۷	۰/۰۳۱۱
ω3	۱/۰۴^{b}	۲/۲۴^{ab}	۳/۸۵^{a}	۰/۵۴۴	۰/۰۳۳۷
MUFA/SFA	۱/۰۱^{a}	۰/۵۴^{ab}	۰/۵۰^{b}	۰/۱۱۵	۰/۰۸۱۷
PUFA/SFA	۰/۳۳^{a}	۰/۱۵^{b}	۰/۱۴^{b}	۰/۰۴۰	۰/۰۰۳۱
ω6/ω3	۱۳/۲۱^{a}	۳/۰۰^{b}	۱/۲۴^{a}	۲/۵۰۴	۰/۰۳۷۱
ω3/ω6	۰/۰۷۶^{c}	۰/۳۳۳^{b}	۰/۸۰۶^{a}	۰/۰۴۰	۰/۰۰۳۵

شاهد= فاقد هر گونه افزودنی، بافر = بیکربنات سدیم، باکتری – مخمر= باکتری *مگاسفرا السدنی + مخمر ساکرومایسیس سرویسیه*

[a-d] حروف غیر مشابه در هر ردیف نشاندهندهی وجود تفاوت معنیدار (P<۰/۰۵) بین میانگینها میباشد.

اسیدهای چرب اشباع (SFA) = C10:0 + C11:0 + C12:0 + C13:0 + C14:0 + C15 + C16 + C17:0 + C18:0 + C20 + C21 + C23 + C24

اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه (MUFA) = C14:1 +C15:1 + C16:1 + C17:1 + C24:1 + C18:1n9 *cis* + C18:1n9 *transe*

اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه (PUFA) = C20:2 + C18:2n6 *transe* + C:18:2n6 *cis* + C18:3n6 + C18:3n3 + C20:3n3 + C20:3n6 + C20:4n6 + C:18:3n3 + C20:3n3 + C20:5n3 + C22: 6n3، امگا –۶ (ω6) = C18:2n6 *transe* + C:18:2n6 *cis* + C:18:3n6 + C20:3n6 + C20:4n6; ، امگا – ۳ (ω3) = C20:5n3 + C22:6n3

غلظت اسیدهای چرب اسید α–لینولنیک (C18:3n3)، اسید آراشیدونیک (C20:4n 6)، اسید ایکوزاترینوئیک (C20:3n3)، DHA، مجموع اسیدهای چرب اشباع (SFA)، خانواده امگا–۳ (ω3)، نسبت امگا–۳ به امگا–۶ (ω3/ω6) در تیمار باکتری– مخمر بیشترین مقدار بود (p<۰/۰۵). از آنجایی که جیرهی آزمایشی در تمام گروههای تیماری مشابه بود

1- Monounsaturated fatty acids

2- Saturated fatty acids

(جدول ۱)، بنابراین تفاوت در غلظت اسیدهای چرب لاشه را کم‌تر می‌توان به اجزای جیره‌ها نسبت داد، اما مصرف خوراک مؤثر است.

در پژوهشی، افزایش سطح انرژی جیره باعث کاهش غلظت DHA, C18:1 trans, C18:0 و SFA و افزایش غلظت اسید لینوللایدیک (C18:2n6 transe)، C18:1n9 cis و MUSFA شد و همبستگی بالایی بین باکتری‌های شکمبه، فراسنجه‌های شکمبه و پروفیل اسیدهای چرب گوشت نشان داده شد؛ این پژوهشگران بیان داشتند که سطح انرژی جیره بر تنوع و ترکیب باکتری‌های شکمبه و ترکیب اسیدهای چرب گوشت مؤثر است (۴۴) مخالف با نتایج این پژوهشگران، در آزمایش حاضر با به‌کار بردن افزودنی‌های تنظیم‌کننده‌ی pH، تغییر در غلظت اسیدهای چرب فوق بالعکس بود (جدول ۲). به‌طوری‌که، غلظت اسید لینولنیک (C18:3n-3) در تیمارهای حاوی تنظیم‌کننده‌های pH یعنی تیمار باکتری– مخمر و بافر بی‌کربنات سدیم، به‌ترتیب ۷۵ و ۷۱/۶ درصد نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود (p<۰/۰۵). غلظت DHA در تیمار باکتری– مخمر ۸۷/۵ درصد و در تیمار بافر بی‌کربنات سدیم ۸۱/۵ درصد بیشتر از شاهد بود (p<۰/۰۵). استفاده از مونسین و اسید آلی به عنوان تنظیم کننده‌های pH در جیره‌های پرکنسانتره‌ی بره‌های پرواری، نیز باعث افزایش غلظت DHA, EPA و اسیدهای چرب ω3 در مقایسه با شاهد شد (۱). به‌نظر می‌رسد در آزمایش حاضر، از جمله دلایل افزایش غلظت DHA و اسیدهای چرب ω3 در تیمارهای باکتر– مخمر و یا بافر، تأثیر این افزودنی‌ها بر فعالیت و جمعیت میکروارگانیسم‌های شکمبه، افزایش پیش سازهای گلوکوژنیک مانند پروپیونات و تأثیر آن بر کاهش بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب و عبور بیشتر آنها از شکمبه و در نتیجه افزایش آن‌ها در گوشت باشد (۱۷،۱) با به‌کار بردن بی‌کربنات سدیم در جیره‌ی کنسانتره‌ای بره‌های پرواری نیز، عامل افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع دارای چند پیوند دوگانه‌ی خانواده ω3 گوشت را به‌همین تغییرات در تخمیر نسبت داده‌اند (۱۷).

با مصرف مستقیم مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* توسط گاوهای بومی غلظت بالاتر DHA و EPA، اسیدهای چرب ω3 و اسید استئاریک نسبت به تیمار شاهد گزارش شد (۲۷) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. مخالف با نتایج آزمایش حاضر، با به‌کاربردن مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* در جیره‌ی پرکنسانتره اختلاف معنی‌داری در غلظت C18:3n-3 و EPA گوشت عضله راسته گاوهای نر مشاهده نشد (۱۳). اسید لینولنیک که به‌عنوان پیش‌ساز اصلی اسیدهای چرب ω3 نظیر DHA, EPA می‌باشد (۸) طیف گسترده‌ای از اثرات بیولوژیکی دارد که برای سلامتی انسان مفید است (۱۷). از آنجایی‌که pH بر کاهش میزان بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب در شکمبه تأثیر می‌گذارد، بنابراین عوامل تنظیم‌کننده‌ی pH با افزایش pH می‌توانند باعث کاهش بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب غیراشباع و افزایش آن‌ها در گوشت شوند (۲۲). پژوهشگران افزایش اسیدهای چرب ω3 چربی درون ماهیچه‌ای را به بیوهیدروژناسیون محدود این اسیدهای چرب بلند زنجیر غیر اشباع در اثر وجود افزودنی‌های تنظیم کننده‌ی pH در شکمبه نسبت داده‌اند (۲۸). بنابراین افزایش اسیدهای چرب ω3 در تیمارهای حاوی تنظیم‌کننده‌ی pH که نقش به‌سزایی در سلامت انسان دارند را می‌توان از نتایج مثبت این آزمایش دانست. از طرفی، اسید استئاریک از نظر کیفیت و طعم گوشت یک شاخص بسیار مهم بوده و برش‌هایی که غلظت بیشتری از این اسید چرب را داشتند بالاترین امتیاز را در مسابقات تست مزه گوشت کسب کردند (۲۲)؛ به‌علاوه، اسید استئاریک تأثیری بر کلسترول خون ندارد زیرا در بافت‌های بدن می‌تواند به اسید اولئیک تبدیل شود (۴۰). بنابراین افزایش آن در گوشت بره‌های تغذیه‌شده با تیمارهای حاوی تنظیم‌کننده‌ی pH را می‌تواند یک امتیاز مثبت برای کیفیت گوشت تلقی کرد.

غلظت اسید لینولئیک در تیمار شاهد بیشتر از سایر تیمارها بود (p<۰/۰۵). مخالف با نتایج آزمایش حاضر، با به‌کار بردن بی‌کربنات سدیم (۱۷) یا مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* (۱۳) در جیره پر کنسانتره‌ی بره‌های پرواری، اختلاف معنی‌داری در غلظت اسید لینولئیک عضله راسته‌ی تیمارها مشاهده نشد. در بیشتر جیره‌های غذایی، دامنه‌ی بیوهیدروژناسیون اسید لینولئیک بین ۷۰ تا ۹۵ درصد است، با این حال در جیره‌های پرکنسانتره بیوهیدروژناسیون مقداری کمتر است (۳)؛ که حاصل کاهش pH شکمبه و لیپولیز است (۴۳). لذا، شاید دلیل کاهش غلظت اسید چرب لینولئیک در تیمارهای حاوی تنظیم‌کننده‌های pH در مقایسه با شاهد، بیوهیدروژناسیون بیشتر اسید لینولئیک در این تیمارها باشد (۱۸) زیرا استفاده از آنها باعث بهبود pH برای فعالیت گروه بیوهیدروژناسیون کننده‌ی اسیدهای چرب (تجزیه‌کنندگان الیاف) می‌شود (۱۸).

نسبت PUFA/SFA (P/S) گوشت در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود (p<۰/۰۵). نسبت ω6/ω3 در تیمار دریافت‌کننده‌ی باکتری–مخمر و بافر بی‌کربنات سدیم کمتر از تیمار شاهد بود (p<۰/۰۵). دو شاخص تغذیه‌ای که برای ارزیابی ارزش غذایی چربی بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد، نسبت P/S و نسبت ω6/ω3 است که برای پیشگیری از بیماری‌های قلبی– عروقی و سلامت مصرف کنندگان نسبت ۰/۴ تا ۰/۴۵ برای P/S و ۴ یا کمتر از ۴ برای ω6/ω3 پیشنهاد شده است (۴۷) در آزمایش حاضر نسبت P/S در تمام تیمارها کمتر از این مقدار بود و مقدار آن در شاهد بیشتر از سایر تیمارها بود. این یافته‌ها، با نتایج پژوهشگران دیگر هنگام استفاده از مخمر در جیره‌ی گاوهای گوشتی تغذیه شده با جیره‌های پر کنسانتره (۱۳) و یا حین استفاده از بی‌کربنات سدیم در جیره بره‌های پرواری (۱۷) مطابقت دارد. نسبت P/S بیشتر تحت تأثیر ژنتیک و چربی ذخیره‌ای حیوان است و کمتر تحت تأثیر تغذیه می‌باشد (۲۸). بنابراین، کاهش قابل توجه نسبت ω6/ω3 در آزمایش حاضر، در جیره‌های حاوی تنظیم‌کننده pH در مقایسه با شاهد، از نتایج مثبت آزمایش در تولید محصول سالم و مفید برای انسان، تلقی می‌شود. در برخی از مطالعات دیگر نیز نسبت ω6/ω3 هنگام استفاده از

جیره‌ی با کنسانتره بالا افزایش یافته است (۴۶،۳۲) که مؤید نتایج آزمایش حاضر برای تیمار شاهد است؛ به‌طوری‌که، در مقایسه با شاهد، افزودنی باکتری– مخمر و بافر بی‌کربنات سدیم به‌ترتیب ۹۰/۶۱ و ۷۷/۲۹ درصد نسبت ω6/ω3 را کاهش داد (به‌ترتیب ۱/۲۴، ۳/۰ در برابر ۱۳/۲۱). با مصرف مستقیم مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* توسط گاوهای بومی (۲۷) یا مصرف بافر بی‌کربنات سدیم توسط بره‌های پرواری (۵) نیز نسبت ω6/ω3 گوشت در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت. علت کاهش این نسبت در آزمایش حاضر به افزایش اسیدهای چرب ω3 مانند اسید لینولنیک، اسید دیکوزاهگزاانوئیک و اسید ایکوزاپنتاانوئیک در تیمارهای حاوی تنظیم کننده‌ی pH مربوط می‌شود (جدول ۲).

در کل، اطلاعات محدودی در مورد ارتباط ترکیب اسیدهای چرب گوشت و میکروبیوم شکمبه دام‌های پرواری مختلف وجود دارد (۴۴) و تنها محدود به چند مطالعه درباره تأثیر مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* بر ترکیب اسیدهای چرب گوشت می‌شود. به‌علاوه، در طی سال‌های گذشته در بیشتر پژوهش‌هایی که در آن از افزودنی‌های میکروبی استفاده شده است، تمرکز مطالعات تنها به فراسنجه‌های تخمیری شکمبه معطوف شده است (۱۳) و ارتباط آن با کیفیت گوشت بررسی نشده است. بنابراین، در مورد مقایسه اثرات تیمارهای آزمایش حاضر بر کیفیت گوشت، با سایر پژوهش‌ها محدودیت وجود دارد. با این وجود، به‌طور کلی تغییرات ایجاد شده در ترکیب اسیدهای چرب گوشت راسته در آزمایش حاضر را می‌توان به اثر تیمارها بر حد و دامنه بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب غیراشباع در شکمبه نسبت داد؛ که نتیجه این تغییرات، ایجاد تأثیر بر سنتز گلوکز یا استات در کبد یا بافت‌های چربی می‌باشد (۱). به این شکل که باکتری *مگاسفرا السدنی* در یک جیره‌ی با کنسانتره‌ی بالا با افزایش غلظت و جذب پروپیونات به‌علت بهبود رشد پاپیلاهای شکمبه و تأثیر بر روند گلوکونئوژنز و تولید بیشتر گلوکز، باعث تحریک ترشح انسولین جهت بهبود جذب گلوکز سلولی و افزایش چربی داخل عضلانی می‌شود (۹). در کل، اگر تغییر در پروفیل اسیدهای چرب گوشت، کاهش محتوای اسیدهای چرب اشباع و افزایش محتوای اسیدهای چرب مفید مانند اسید لینولئیک کونژوگه و اسیدهای چرب اشباع‌نشده ω3 (۳۴) در نظر گرفته شود، نتایج آزمایش حاضر نشان می‌دهد افزودنی‌هایی که برای تنظیم pH و دستکاری تخمیر شکمبه استفاده شدند، توانسته‌اند این شاخصه‌ها را به نفع سلامت دام و انسان مصرف‌کننده محصولات آنها بهبود بدهند.

ترکیب شیمیایی و رنگ‌سنجی گوشت راسته‌ی بره‌های مورد آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است. درصد پروتئین موجود در نمونه گوشت تیمار باکتری– مخمر از سایر تیمارها بیشتر بود (p<۰/۰۵). برای سایر ترکیبات شیمیایی گوشت بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. شاخص قرمزی گوشت (a^*) و اشباعیت رنگ (c^*) در تیمارهای شاهد و بافر بی‌کربنات سدیم بیشتر بود (p<۰/۰۵). شاخص زاویه هیو (H) در تیمار باکتری– مخمر بیشتر از سایر تیمارها بود (p<۰/۰۵).

جدول ۳- ترکیب شیمیایی و رنگ سنجی گوشت بره‌های تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی
Table 3. Chemical composition and colour parameters of meat in fattening lambs fed with the experimental diets

	تیمارهای آزمایشی			انحراف استاندارد	سطح معنی‌داری
	شاهد	بافر	باکتری – مخمر	میانگین	
ترکیبات شیمیایی (درصد)					
رطوبت	۷۰/۴۹۹	۶۹/۴۲۱	۷۲/۶۰۰	۱/۲۰۶	۰/۶۱۴۸
ماده خشک	۲۹/۵۰۱	۳۰/۵۷۹	۲۷/۴۰۰	۱/۲۰۶	۰/۶۱۴۸
چربی	۲/۳۹۵۸	۲/۲۴۶۸	۲/۵۹۳۹	۰/۱۴۸	۰/۶۹۱۷
پروتئین	۱۶/۵۷۰۰^{b}	۱۶/۸۸۰^{b}	۱۷/۸۱۰۰^{a}	۰/۱۹۸	۰/۰۰۱۴
خاکستر	۱/۷۱۴۷	۱/۶۷۴۲	۲/۰۲۹۰	۰/۱۳۱	۰/۵۴۴۴
شاخص‌های رنگ					
a^*	۱۰/۸۱۰۰^{a}	۱۱/۲۴۳۳^{a}	۹/۷۱۶۷^{b}	۰/۳۳۰	۰/۰۰۲۰
b^*	۵/۲۴۶۷	۵/۲۸۳۳	۵/۵۳۳۳	۰/۱۱۹	۰/۶۲۹۴
L^*	۳۰/۹۳۰	۳۰/۵۹۷	۳۲/۷۵۰	۰/۷۰۹	۰/۴۶۹۸
c^{**}	۱۲/۰۲۱۲^{a}	۱۲/۴۲۴۱^{a}	۱۰/۷۵۵۰^{b}	۰/۲۸۰	۰/۰۰۷۰
H^{**}	۲۵/۸۶۴^{b}	۲۵/۱۶^{b}	۳۱/۰۱۵^{a}	۱/۰۵۸	۰/۰۱۳۷

شاهد= فاقد هر گونه افزودنی، بافر = بی‌کربنات سدیم، باکتری – مخمر= باکتری *مگاسفرا السدنی* + مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه*
$^{a-d}$ حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده‌ی وجود تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین میانگین‌ها می‌باشد.
a* (Redness of color), b* (Yellowness of color), L* (Lightness of color), H* (Hue angle), C* (Chroma)
** Hue: arc tangent b/a × 57.29; Croma: $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$

درصد پروتئین گوشت راسته تیمار باکتری– مخمر از سایر تیمارها بیشتر بود (p<۰/۰۵). باکتری‌های مصرف‌کننده اسید لاکتیک مانند *مگاسفرا السدنی* غلظت اسیدلاکتیک را در شکمبه کاهش داده و باعث تولید غلظت بیشتری از پروپیونات در شکمبه می‌شوند که می‌توانند از طریق چرخه‌ی کربس به گلوکز تبدیل شود؛ علاوه بر این باکتری‌های مصرف‌کننده‌ی اسید لاکتیک می‌توانند تولید متان را کاهش داده و باعث افزایش بازده خوراک شوند بنابراین تغذیه مستقیم دام با میکروارگانیسم‌ها می‌تواند باعث افزایش مصرف غذا و افزایش وزن شود (۱۹).

پژوهش‌ها نشان داده است که گاوهای تغذیه‌شده با DFM، باکتری‌های کمتری را از طریق مدفوع دفع می‌کنند که نتیجه‌ی استفاده بهتر از نیتروژن جیره و بازده بیشتر و دفع کمتر پروتئین در مدفوع است (۱۹) بنابراین افزایش غلظت پروتئین گوشت در تیمار دریافت کننده‌ی باکتری– مخمر در آزمایش حاضر را می‌توان نتیجه‌ی سنتز پروتئین میکروبی

بیشتر در شکمبه و استفاده مطلوب‌تر از نیتروژن آمونیاکی شکمبه دانست (۱۹). پژوهش‌ها در رابطه با کاربرد DFM و تأثیر آن بر ترکیبات گوشت بسیار نادر است و بیشتر آن‌ها در رابطه با تأثیر آنها بر ترکیب شیر می‌باشند؛ به‌طوری‌که مطابق با نتایج آزمایش حاضر، در آزمایشی روی گاوهای شیری با به‌کاربردن DFM حاوی مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* میزان پروتئین شیر به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد شد (۳۰). از طرفی، خوراندن مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* به گاوهای پرواری (۱۴) یا بافر بی‌کربنات سدیم به بره‌های پرواری (۵) تغذیه‌شده با جیره‌ی پرکنسانتره، تأثیری بر ترکیبات شیمیایی گوشت (ماده خشک، پروتئین و چربی) نداشت که غیر از پروتئین، با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. این پژوهشگران علت این عدم تفاوت در ترکیب شیمیایی را تشابه در میزان مصرف انرژی به پروتئین بین تیمارها بیان کرده‌اند (۵،۱۴).

شاخص قرمزی گوشت (a*) در تیمارهای شاهد و بافر بی‌کربنات سدیم بیشتر بود (P<۰/۰۵). خلیجی و همکاران (۲۱) در بررسی خود روی مصرف‌کنندگان جهت پذیرش گوشت گوسفند، مشاهده کردند که وقتی مقدار L* گوشت به‌طور میانگین بیشتر یا مساوی ۳۴ و مقدار a* برابر یا بیشتر از ۹/۵ باشد، رنگ گوشت برای مصرف‌کننده قابل قبول است که در آزمایش حاضر مقدار a* برای همه تیمارها در دامنه قابل قبول است. جنگ و همکاران (۱۴) با به‌کار بردن مخمر در جیره‌ی با کنسانتره بالا در گاوهای گوشتی اختلاف معنی‌داری در فراسنجه‌های رنگ گوشت مشاهده نکردند. اگرچه از نظر عددی مقدار L* در تیمار دریافت‌کننده‌ی مخمر (۳۵/۷۴) نسبت به شاهد (۳۴/۲۶) بیشتر بود. مقدار a* نیز در تیمار دریافت‌کننده‌ی مخمر (۲۰/۱۲) نسبت به شاهد (۲۱/۱۸) از نظر عددی کمتر بود که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. مطابق با نتایج آزمایش حاضر، بودس و همکاران (۵) با به‌کار بردن بی‌کربنات سدیم در بره‌های پرواری، اختلاف معنی‌داری بین پارامترهای رنگ گوشت مشاهده نکرد.

تأثیر تیمارها بر خصوصیات لاشه بره‌های پرواری در جدول ۴ نشان داده شده است. بجز بازده لاشه (p<۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری بین اجزاء لاشه مشاهده نشد. وزن شکمبه خالی در تیمارهای حاوی افزودنی‌های تنظیم کننده‌ی pH بیشتر از تیمار شاهد بود (p<۰/۰۵). وزن لاشه گرم و بازده لاشه در تیمار باکتری– مخمر از سایر تیمارها بیشتر و افت لاشه کم‌تر بود (p<۰/۰۵). بهبود وزن و بازده لاشه در تیمار باکتری– مخمر در آزمایش حاضر را می‌توان به حضور پروبیوتیک‌ها (مخمر- باکتری در آزمایش حاضر) نسبت داد که میکروب‌های مضر را مهار کرده و باعث بهبود هضم فیبر و به‌نوبه خود افزایش وزن شده است (۱۶).

جدول ۴- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر روی اجزاء لاشه‌ی بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی
Table 4. Effect of treatments on carcass characteristics in fattening lambs fed with the experimental diets

	تیمارهای آزمایشی			انحراف استاندارد میانگین	سطح معنی‌داری
	شاهد	بافر	باکتری- مخمر		
وزن اولیه (کیلوگرم)	۲۳/۵۰	۲۲/۹۳	۲۴/۴۶	۰/۵۴۱	۰/۵۶۹۵
وزن نهایی (کیلوگرم)	۳۵/۸۳	۳۶/۵۰	۳۷/۹۲	۰/۵۱۸	۰/۲۷۰۰
وزن لاشه (کیلوگرم)	۱۷/۰۷^{b}	۱۷/۰۵۳^{b}	۱۹/۰۳^{a}	۰/۳۳۲	۰/۰۰۸۴
بازده لاشه (درصد)	۴۷/۶۴^{b}	۴۶/۷۲^{b}	۵۰/۱۸^{a}	۰/۶۷۳	۰/۰۳۶۵
افت لاشه (درصد)	۵۲/۳۶^{a}	۵۳/۲۸^{b}	۴۹/۸۲^{b}	۰/۳۳۵	۰/۰۳۶۶
ران	۵/۰۷	۴/۷۹	۵/۰۶	۰/۰۷۵	۰/۲۴۴۹
سردست	۲/۸۴	۲/۷۹	۲/۹۸	۰/۰۷۵	۰/۶۵۹۹
گردن	۲/۸۳	۲/۷۶	۲/۹۴	۰/۰۹۰	۰/۷۶۷۰
فیله و راسته	۲/۸۵	۳/۵۹	۳/۱۴	۰/۱۶۷	۰/۱۹۲۵
قفسه سینه	۱/۱۱	۱/۲۶	۱/۳۸	۰/۰۹۰	۰/۵۴۴۹
دنبه	۲/۳۲	۲/۵۸	۲/۸۵	۰/۱۳۶	۰/۳۱۸۴
سر	۲/۰۳۶	۲/۰۹۲	۲/۱۵	۰/۰۳۳	۰/۳۷۴۴
جگر	۰/۵۴	۰/۵۴	۰/۵۳	۰/۰۱۶	۰/۹۳۳۸
جگر سفید	۰/۵۱	۰/۴۸	۰/۴۴	۰/۰۱۵	۰/۲۲۶۲
قلب	۰/۱۲	۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۰۰۳	۰/۳۸۳۶
کلیه‌ها	۰/۰۸۶	۰/۰۹۶	۰/۱	۰/۰۰۳	۰/۰۵۰۶
طحال	۰/۰۵۰	۰/۰۴۷	۰/۰۵۶	۰/۰۰۲	۰/۳۱۷۱
بیضه‌ها	۰/۱۶^{b}	۰/۱۷^{ab}	۰/۲۵^{a}	۰/۰۱۹	۰/۰۰۶
پوست	۴/۳۹	۵/۱۶	۵/۱۳	۰/۱۷۰	۰/۰۹۷۸
چهار قلم	۰/۸۰	۰/۷۹	۰/۸۲	۰/۰۱۵	۰/۸۱۵۷
شاخ	۰/۰۹۸	۰/۰۹۶	۰/۱۱	۰/۰۰۶	۰/۳۱۹۸
شکمبه پر	۳/۷۸	۳/۸۰	۴/۳۱	۰/۱۶۰	۰/۳۶۶۳
هزارلا پر	۰/۱۸	۰/۱۷	۰/۲۱	۰/۰۱۶	۰/۶۹۶۰
نگاری پر	۰/۱۷	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۰۲۵	۰/۸۳۱۸
شیردان پر	۰/۳۷	۰/۳۵	۰/۳۸	۰/۰۲۰	۰/۸۸۳۰
شکمبه خالی	۰/۵۷^{b}	۰/۷۳^{a}	۰/۷^{a}	۰/۰۲۷	۰/۰۱۰۷
هزارلا خالی	۰/۱۰	۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۰۱۱	۰/۱۶۶۴
نگاری خالی	۰/۰۸	۰/۱	۰/۱	۰/۰۰۸	۰/۵۹۸۹
کل دستگاه گوارش پر	۶/۹۷	۷/۳۸	۷/۷۳	۰/۲۱۲	۰/۳۹۹۰
چربی اطراف قلب	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۳	۰/۰۰۳	۰/۸۳۷۰
چربی اطراف کلیه‌ها	۰/۰۹	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۱۲	۰/۹۳۴۹
چربی محوطه شکمی	۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۲۸	۰/۰۲۶	۰/۵۳۰۵
چربی لگن	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۰۶	۰/۷۷۱۸

شاهد= فاقد هر گونه افزودنی، بافر = بی‌کربنات سدیم، باکتری– مخمر= باکتری *مگاسفرا السدنی+ مخمر ساکرومایسیس سرویسیه*
$^{a-d}$ حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده‌ی وجود تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین میانگین‌ها می‌باشد.

در گوساله‌های پرواری با خوراندن باکتری *مگاسفرا السدنی* در جیره‌ی پرکنسانتره افزایش عددی وزن لاشه نسبت به شاهد گزارش شد (۹). با افزودن مستقیم برخی از باکتری‌های پروبیوتیکی (*لاکتوباسیلوس*ها و *پروپیونی‌باکتریوم*) به جیره‌ی گوساله‌های پرواری (۱۱)، تلیسه‌های پرواری (۱۵) و یا افزودن قارچ *آسپرژیلوس* به جیره بزهای آفریقایی (۴) تغذیه‌شده با جیره‌های پر کنسانتره، بهبود وزن و بازده لاشه گزارش شد. از طرفی استفاده از یک پروبیوتیک تجاری در جیره‌ی پر کنسانتره‌ی بزها هیچ تغییری در وزن و نسبت اجزاء لاشه ایجاد نکرد (۴۵). مطالعات بسیار کمی تأثیر تغذیه مخمر بر صفات لاشه را بررسی کرده‌اند (۳۶). استفاده از مکمل *ساکرومایسیس سرویسیه* و یک مخلوط گیاهی، در جیره‌ی پرکنسانتره‌ی گاوهای گوشتی پرواری باعث بهبود بازده لاشه شد (۲۴) که با نتایج تیمار باکتری– مخمر آزمایش حاضر مطابقت دارد. با به‌کار بردن مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* در گوساله‌های پرواری تغذیه شده با کنسانتره‌ی بالا، تأثیری بر وزن لاشه گرم، بازده لاشه و سایر اجزاء لاشه گزارش نشد (۳۶). وزن قسمت‌های مختلف لاشه مانند پا، قفسه سینه، گردن و سردست، با مصرف مخمر در گوساله‌های نر نژاد شیری (۴۱) و یا بزهای (۴۵) تغذیه شده با جیره‌ی کنسانتره‌ای تحت تأثیر قرار نگرفتند که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

در آزمایش حاضر افزودن مکمل باکتری–مخمر و یا بافر بی‌کربنات سدیم به جیره‌ی بره‌های پرواری که دارای کنسانتره‌ی بالایی بودند، باعث افزایش اسیدهای چرب خانواده ω3، اسیدهای چرب اشباع (SFA)، کاهش مناسب نسبت ω6/ω3 و افزایش مؤثر غلظت اسید دیکوزاهگزاانوئیک (DHA) و اسید ایکوزا پنتاانوئیک (EPA) در گوشت شد که از نتایج مثبت آزمایش حاضر در تولید محصول مفید برای سلامت انسان تلقی می‌شود. به‌علاوه، درصد پروتئین گوشت در تیمار باکتری– مخمر افزایش معنی‌داری داشت و رنگ گوشت از نظر بازارپسندی و کیفی در وضعیت مطلوبی قرار داشت. بنابراین، نتایج آزمایش حاضر نشان‌داد، افزودنی‌هایی که برای تنظیم pH و دستکاری تخمیر شکمبه در حین تغذیه بره‌ها با جیره‌های پرکنسانتره استفاده می‌شوند، نه‌تنها بر ترکیب شیمیایی و کیفیت گوشت تأثیر منفی ندارند، بلکه توانسته‌اند این شاخصه‌ها را به نفع سلامت دام و انسان مصرف کننده محصولات آنها بهبود دهند.

منابع

1. Alipour, M.T., A. Azarfar, A. Kiani and M. Khaldari. 2017. Effects of of monensin supplementationalone or in combination with methafix on ruminal fermentation and fatty acids composition of longissimus dorsi muscle in farahani finishing lambs. Iranian Journal of Animal Science, 48(1): 89-99 (In Persian).
2. AOAC. 2006. Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists, 18th ed. Gaithersburgs.
3. Bauman, D.E., J.W. Perfield, M.J. De Veth and A.L. Lock. 2003. New perspectives on lipid digestion and metabolismin ruminants. Proceedings of the Cornell Nutrition Conference, 175-189.
4. Belewu, M.A. and N.O. Jimoh. 2005. Blood, carcass and organ measurements as influenced by aspergillus niger treated cassava waste in the diets of West African Dwarf goat (WAD). Global Journal of Pure and Applied Sciences, 11(3): 331-334.
5. Bodas, R., A.B. Rodríguez, S. López, B. Fernández, A.R. Mantecon and F.J. Giráldez. 2007. Effects of the inclusion of sodium bicarbonate and sugar beet pulp in the concentrate for fattening lambs on acid– base status and meat characteristics. Meat Science, 77(4): 696-702.
6. Calsamiglia, S., M. Blanch, A. Ferret and D. Moya. 2012. Is subacute ruminal acidosis a pH related problem? Causes and tools for its control. Animal Feed Science and Technology, 172: 42-50.
7. David, F., P. Sandra and A.K. Vickers. 2005. Column selection for the analysis of fatty acid methyl esters. Food Analysis Application. Palo Alto, CA: Agilent Technologies.
8. de Abreu, K.S.F., A.S.C. Veras, F.M. de Andrade, M.S. Madruga, M.I.S. Maciel, S.C.R. Felix, V.A.C.C. de Melo and S.A. Urbano. 2019. Quality of meat from sheep fed diets containing spineless cactus (Nopalea cochenillifera Salm Dyck). Meat Science, 148: 229-235.
9. DeClerck, J.C., Z.E. Wade, N.R. Reeves, M.F. Miller, B.J. Johnson, G.A. Ducharme and R.J. Rathmann. 2020. Influence of Megasphaera elsdenii and feeding strategies on feedlot performance, compositional growth, and carcass parameters of early weaned, beef calves. Translational Animal Science, 4(2): 031.
10. Didarkhah, M. and E. Dirandeh. 2018. The effect of probiotic and prebiotic supplements on performance and health of Baluchi growing lambs. Research on Animal Production, 9(21): 36-45 (In Persian).
11. Elam, N.A., J.F. Gleghorn, J.D. Rivera, M.L. Galvean, P.J. Defoor, M.M. Brashears and S.M. Younts-Dahl. 2003. Effects of live cultures of Lactobacillus acidophilus (strains NP45 and NP51) and propionibacterium freudenreichii on performance, carcass, and intestinal characteristics, and Escherichia coli strain O157 shedding of finishing beef steers. Journal of Animal Science, 81(11): 2686-2698.

12. Eynipour, P., M. Chaji and M. Sari. 2019. Use of post-harvest common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) residues in diet of lambs and its effect on finishing performance, rumen fermentation, protozoa population and meat characteristics. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 103(6): 1708-1718.
13. Geng, C.Y., Q.X. Meng, L.P. Ren, Z.M. Zhou, M. Zhang and C.G. Yan. 2018. Comparison of ruminal fermentation parameters, fatty acid composition and flavour of beef in finishing bulls fed active dry yeast (Saccharomyces cerevisiae) and yeast culture. Animal Production Science, 58(5): 841-847.
14. Geng, C.Y., L.P. Ren, Z.M. Zhou, Y. Chang and Q.X. Meng. 2016. Comparison of active dry yeast (Saccharomyces cerevisiae) and yeast culture for growth performance, carcass traits, meat quality and blood indexes in finishing bulls. Animal Science Journal, 87(8): 982-988.
15. Huck, G.L., K.K. Kreikemeier and G.A. Ducharme. 2000. Effects of feeding two microbial additives in sequence on growth performance and carcass characteristics of finishing heifers. Kansas State Research Exchange, 32-34.
16. Inyang, U.A and U.H. Udoh. 2019. Carcass characteristics of West African Dwarf (Bucks) Fed yeast and lactic acid bacteria fortified diets. Asian Journal of Research in Animal and Veterinary Sciences, 1-8.
17. Jallow, D.B. and L.C. Hsia. 2014. Effect of sodium bicarbonate supplementation on fatty acid composition of lambs fed concentrate diets at different ambient temperature levels. International Journal of Animal and Veterinary Advances, 6(6): 162-168.
18. Jenkins, T.C. and W.C. Bridges Jr. 2007. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. European Journal of Lipid Science and Technology, 109(8): 778-789.
19. Kalebich, C.C. and F.C. Cardoso. 2017. Effects of direct-fed microbials on feed intake, milk yield, milk composition, feed conversion, and health condition of dairy cows. In: Nutrients in Dairy and their Implications on Health and Disease. Academic Press, Illinois, United States, 111-121.
20. Karami, M. 2018. Effect of diets with different levels of metabolizable energy on physical and chemical carcass characteristic of male kids. Research on Animal Production, 9(22): 83-91 (In Persian).
21. Khliji, S., R. Van de Ven, T.A. Lamb, M. Lanza and D.L. Hopkins. 2010. Relationship between consumer ranking of lamb colour and objective measures of colour. Meat Science, 85(2): 224-229.
22. Ladeira, M.M., L.C. Santarosa, M.L. Chizzotti, E.M. Ramos, O.M. Neto, D.M. Oliveira, J.R.R. Carvalho, L.S. Lopes and J.S. Ribeiro. 2014. Fatty acid profile, color and lipid oxidation of meat from young bulls fed ground soybean or rumen protected fat with or without monensin. Meat Science, 96(1): 597-605.
23. Lourenço, M., E. Ramos-Morales and R.J. Wallace. 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. Animal, 4: 1008-1023.
24. Mahyuddin, P. and M. Winugroho. 2010. Effect of combination of yeast (Saccharomyces cerevisae+ Candida utilis) and herbs supplementation in finishing diet on carcass characteristics of beef cattle. Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture, 35(4): 251-256.
25. Miller-Webster, T., W.H. Hoover, M. Holt and J.E. Nocek. 2002. Influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. Journal of Dairy Science, 85(8): 2009-2014.
26. Mohammadabadi, T., M.A. Bakhtiari and P. Alimirzaei. 2018. Isolation and identification of lactate-producing and utilizing bacteria from the rumen of Najdi goats. Indian Journal of Small Ruminants, 24(2): 276-280.
27. Muhlisin, C.S.S., Y.J. Rhee, Y.H. Song and S.K. Lee. 2016. Effects of direct-fed microbial and pine cone extract on carcass traits and meat quality of Hanwoo (Korean native cattle). Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 29(5): 722.
28. Najafi, M.H., S. Zeinoaldini, M. Ganjkhanlou and H. Mohammadi. 2013. Effect of dietary N-6 and N-3 fatty acid sources on the quality and fatty acid profile of longissimus muscle in goat kids. Iranian Journal of Animal Science, 43(4): 553-560 (In Persian).
29. Nikkhah, A., B. Babapoure, M. Moradishahrbabak and R. Asadi moghaddam. 2002. The use of clinoptilolite-rich tuff in ration of finishing varamin male lambs and its effects on their performance. Iranian Journal of Agriculture Science, 33(3): 543-551 (In Persian).
30. Nocek, J.E., W.P. Kautz, J.A.Z. Leedle and E. Block. 2003. DFM supplementation on the performance of dairy cattle during the transition period. Journal of Dairy Science, 86: 331-335
31. NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small ruminants: sheep, goats, cervids and New World Camelids. National Academy Press, Washington DC.
32. Nuernberg, K., G. Nuernberg, K. Ender, S. Lorenz, K. Winkler, R. Rickert and H. Steinhart. 2002. N-3 fatty acids and conjugated linoleic acids of longissimus muscle in beef cattle. European Journal of Lipid Science and Technology, 104(8): 463-471.
33. Omidi, S., M. Ebrahimi, H. Janmohammadi, H. Taghipour, S.H. Peighambardust and H. Ghassemzadeh. 2019. The effect of in ovo injection with different L-Arginine levels on hatchability, growth, performance and meat quality of ross 308 broiler chickens. Research on Animal Production, 10(25): 69-78.

34. Ponnampalam, E.N., D.L. Hopkins and J.L. Jacobs. 2018. Increasing omega-3 levels in meat from ruminants under pasture-based systems. Revue scientifique et technique, International Office of Epizootics, 37(1): 57-70.
35. Poppy, G.D., A.R. Rabiee, I.J. Lean, W.K. Sanchez, K.L. Dorton and P.S. Morley. 2012. A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of Saccharomyces cerevisiae on milk production of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 95(10): 6027-6041.
36. Ran, T., Y. Shen, A.M. Saleem, O. AlZahal, K.A. Beauchemin and W. Yang. 2018. Using ruminally protected and nonprotected active dried yeast as alternatives to antibiotics in finishing beef steers: growth performance, carcass traits, blood metabolites, and fecal escherichia coli. Journal of Animal Science, 96(10): 4385-4397.
37. Ripoll, G., P. Albertí and M. Joy. 2012. Influence of alfalfa grazing-based feeding systems on carcass fat colour and meat quality of light lambs. Meat Science, 90(2): 457-464.
38. Rossi, C.A.S., R. Compiani, G. Baldi, S.J. Taylor, F. Righi, M. Simoni and A. Quarantelli. 2019. Replacing sodium bicarbonate with half amount of calcareous marine algae in the diet of beef cattle. Revista Brasileira de Zootecnia, 48.
39. Santos-Silva, J., A. Francisco, S.P. Alves, P. Portugal, T. Dentinho, J. Almeida, D. Soldado, E. Jerónimo and R.J. Bessa. 2019. Effect of dietary neutral detergent fibre source on lambs growth, meat quality and biohydrogenation intermediates. Meat Science, 147: 28-36.
40. Smith, S.B., D.K. Lunt, D.R. Smith and R.L. Walzem. 2020. Producing high-oleic acid beef and the impact of ground beef consumption on risk factors for cardiovascular disease: A review. Meat Science, 108076.
41. Titi, H.H., A.Y. Abdullah, W.F. Lubbadeh and B.S. Obeidat. 2008. Growth and carcass characteristics of male dairy calves on a yeast culture-supplemented diet. South African Journal of Animal Science, 38(3): 174-183.
42. Vahmani, P., E.N. Ponnampalam, J. Kraft, C. Mapiye, E.N. Bermingham, P.J. Watkins, S.D. Proctor and M.E. Dugan. 2020. Bioactivity and health effects of ruminant meat lipids. Invited Review. Meat Science, 108114.
43. Van Nevel, C.J. and D.I. Demeyer. 1996. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents in vitro. Reproduction Nutrition Development, 36: 53-63.
44. Wang, H., Y. He, H. Li, F. Wu, Q. Qiu, W. Niu, Z. Gao, H. Su and B. Cao. 2019. Rumen fermentation, intramuscular fat fatty acid profiles and related rumen bacterial populations of Holstein bulls fed diets with different energy levels. Applied Microbiology and Biotechnology, 103(12): 4931-4942.
45. Whitley, N.C., D. Cazac, B.J. Rude, D. Jackson-O'Brien and S. Parveen. 2009. Use of a commercial probiotic supplement in meat goats. Journal of Animal Science, 87(2): 723-728.
46. Yang, A., M.C. Lanari, M. Brewster and R.K. Tume. 2002. Lipid stability and meat colour of beef from pasture-and grain-fed cattle with or without vitamin E supplement. Meat Science, 60(1): 41-50.
47. Yousefi, A.R., A. Sadeghipanah, H. Kohram, A.Z. Shahneh, N.D. Davachi, Aghashahi, A and E.N. Ponnampalam. 2019. Determination ofoptimum carcass weight for meat quality and fatty acid composition in fat-tailed male and female Chall lambs. Tropical Animal Health and Production, 51(3): 545-553.

The Effect of Ruminal pH Adjusting Additives on Some Meat Quality Parameters in Fattening Lambs Fed a High Concentrate Diet

Omid Khorasani[1], Morteza Chaji[2] and Farshad Baghban[3]

1- Graduate Ph.D., of Animal Nutrition Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran (Corresponding author: chaji@asnrukh.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Veterinary Medicine, Azad University of Yasoj, Yasij, Iran
Received: June 26, 2020 Accepted: February 13, 2021

Abstract

The present experiment investigated the effect of pH adjusting additives on meat quality. Twenty-four Arabi male lambs with four months old and initial body weight of 23.9±3.15 kg were used in a completely randomized design with three treatments and eight replicates. The lambs were randomly assigned to one of three treatments: 1-control (no additive) 2-control + Sodium bicarbonate (1% daily diet in two meals) 3-control + Megasphaera elsdenii and Saccharomyces cerevisiae (bacterial-yeast). At the end of the experiment, five lambs from each treatment that was closer to the average weight were selected, weighed, and slaughtered. The carcass components were separated and weighed. A sample of the Longissimus dorsi muscle between ribs 12 and 13 was prepared to determine the pattern of carcass fatty acids, meat colorimetric measurements. The concentrations of linolenic acid, total W3 fatty acids, stearic acid, docosahexenoic acid (DHA), and W6/W3 ratio were higher in treatments containing pH-adjusting additives than in control treatments ($P<0.05$). The concentration of eicosapentaenoic acid (EPA) in bacterial-yeast treatment was numerically higher than in control and sodium bicarbonate buffer. The concentration of linoleic acid and the ratio of PUFA/SFA in the control treatment were higher than the treatments containing pH-adjusting additives ($P<0.05$). The meat protein percentage, Hu angle (H*), carcass weight, and dressing percentage in bacterial-yeast recipient treatment were higher than other treatments ($P<0.05$). The redness index of meat (a*) and Chroma (C*) were higher in Sodium bicarbonate and control treatments ($P<0.05$). Therefore, pH adjusting additives, especially bacterial-yeast treatment, could be a way to improve some of the meat beneficial parameters for human nutrition. Because the results of the present experiment show that the additives used to adjust the pH and manipulate ruminal fermentation while feeding the lambs with high concentration diets not only do not adversely affect the chemical composition and quality of the meat but can also benefit the animal and human health that consume the product of these animals.

Keywords: Carcass fatty acids, Meat quality, *Megasphaera elsdenii, Saccharomyces cerevisiae,* Sodium bicarbonate

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

بررسی و مقایسه ارزش تغذیه‌ای، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های هضم برون‌تنی دانه و کنجاله پسته کوهی

فاطمه گنجی[۱]، مسلم باشتنی[۲]، سیّد همایون فرهنگ‌فر[۲]، سیّد احسان غیاثی[۳] و حسین نعیمی‌پور یونسی[۳]

۱- پژوهشگر پسادکتری، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، (نویسنده مسوول: f.ganji@birjand.ac.ir)
۲- استاد، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند
۳- استادیار، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند
تاریخ ارسال: ۹۹/۰۸/۰۶ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۱۷
صفحه: ۶۱ تا ۷۱

چکیده

به‌منظور بررسی کینتیک تولید گاز در دانه و کنجاله پسته کوهی (بنه)، تولید گاز متان و تجزیه‌پذیری ظاهری ماده خشک از آزمایش‌های تولید گاز و Batch culture استفاده شد. تولید گاز نمونه‌ها در زمان‌های ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ۲٤، ٤۸، ۷۲، ۹٦ و ۱۲۰ ساعت پس از انکوباسیون اندازه‌گیری و فراسنجه‌های تولید گاز، دی‌اکسید کربن، متان، زمان متناظر با نصف بیشینه تولید گاز ($t_{0.5}$) و فراسنجه‌های محاسباتی نظیر پروتئین میکروبی، تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و انرژی متابولیسمی آن‌ها برآورد شد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده بین دانه و کنجاله بنه به‌لحاظ ترکیب شیمیایی اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت (p<۰/۰۵). هرچند در رابطه با ترکیبات فنولی کل اختلاف معناداری مشاهده نشد، ولی میزان تانن متراکم دانه بالاتر از کنجاله به‌دست آمد (p < ۰/۰۰۰۱). کنجاله بنه بالاترین نرخ تولید گاز را داشت (p<۰/۰۰۸). تعداد مول متان تولیدی در ۲٤ ساعت انکوباسیون دارای تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی بود. در مقایسه با کنجاله بنه، دانه بنه کمترین میزان متان تولیدی را به‌خود اختصاص داد (p<۰/۰۰۱). غلظت کل اسیدهای چرب فرار در دانه بنه نسبت به کنجاله بنه کاهش یافت (p<۰/۰۰۸). بالاترین میزان توده میکروبی در دانه بنه مشاهده شد (p<۰/۰۰۰۳). ضریب تفکیک در دانه و کنجاله بنه به‌ترتیب برابر با ٦/٤۸ و ۲/۹۲ بود. نتایج تحقیق بیانگر آن است که دانه و کنجاله بنه از پتانسیل هضمی نسبتاً خوبی برخوردار هستند و در صورت داشتن یک برنامه‌ریزی مناسب می‌توان از آن در جیره حیوانات نشخوارکننده استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تخمیر شکمبه، تولید گاز، دانه بنه، کنجاله بنه

مقدمه

در دو دهه گذشته استفاده از محصولات فرعی کشاورزی و بقایای صنایع غذایی به‌عنوان یکی از منابع تأمین خوراک دام مورد توجه قرار گرفته است (۲۸). با توجه به شرایط آب و هوایی و کمبود منابع آب در ایران، کشت ذرت و سویا که از مهمترین اقلام خوراکی مورد نیاز در تغذیه دام و طیور است، دارای محدودیت بوده و در آینده نزدیک با مشکلات بیشتری روبرو خواهد شد. لذا استفاده از سایر منابع پروتئینی موجود کمک قابل توجهی در رفع بخشی از مشکلات صنعت دامپروری خواهد کرد. کیفیت منابع پروتئینی تابعی از ترکیب اسیدهای آمینه، قابلیت هضم آنها و وجود مواد ضد تغذیه‌ای در آنها می‌باشد. مهمترین تامین‌کننده پروتئین جیره‌ها، کنجاله دانه‌های روغنی است که تحت تأثیر فرآیند روغن‌کشی، ترکیبات آن‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۳۷). نتایج حاصل از تحقیقات پیشین بیانگر این موضوع است که که میوه درخت بنه دارای ۲۵ درصد روغن و ۷۵ درصد کنجاله می‌باشد (۱۳). در این راستا استفاده از کنجاله پسته کوهی (بنه) به‌عنوان یک منبع پروتئینی می‌تواند کارایی لازم را داشته باشد.

بنه درختی مرتفع با ارتفاع ۲ تا ۷ متر و عمری طولانی از جمله گونه‌های وحشی پسته می‌باشد که انتشار آن از جزایر قناری و کشورهای ساحل دریای مدیترانه شروع می‌شود و تا آسیای صغیر، سوریه، قفقاز، ایران، افغانستان و پاکستان امتداد می‌یابد. بنه در ایران در حد فاصل استان‌های فارس و کردستان به‌صورت انبوه و در بقیه نقاط کشور به‌صورت پراکنده دیده می‌شود. در مناطق کوهستانی ایران، به‌ویژه دامنه‌های زاگرس درخت بنه به وفور یافت می‌شود. به‌طوری که حدود ۲/۵ میلیون هکتار از جنگل‌های ایران، جنگل‌های بنه هستند. این درخت به‌طور معمول مقاومت بالایی در شرایط نامناسب و سخت اقلیمی را داراست که ویژگی خاصی برای آن محسوب می‌گردد. سه واریته برای بنه شناسایی شده است که عبارتند از موتیکا، کردیکا و کابولیکا. رایج‌ترین واریته بنه در ایران موتیکا است که بیش از ۹۵ درصد درختان بنه را بخود اختصاص داده است (۱۴).

مغز بنه بیش از ۶۵ درصد میوه بنه را شامل می‌شود و عمده روغن موجود در بنه از نوع اسیدهای چرب غیراشباع است که نزدیک به ۵۰ درصد از نوع دارای یک پیوند دوگانه، ۳۰ درصد دارای دو پیوند دوگانه و نزدیک به ۲ درصد دارای بیش از دو پیوند دوگانه هستند. مقدار کمی اسید چرب اشباع نیز در روغن بنه موجود است. مهمترین اسید چرب اشباع موجود در روغن بنه اسید پالمیتیک است که حدود ۱۰ درصد کل روغن بنه را شامل می‌شود. همچنین مقادیر ناچیزی اسید استئاریک (حدود ۲/۵ درصد) نیز در این روغن وجود دارد. نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع نزدیک به ۶ است (۱۴).

تأثیر روغن‌ها بر متانوژناسیون در مطالعات مختلف به‌طور چشمگیری متفاوت بوده است که به غلظت، نوع و ترکیب اسیدهای چرب در چربی مورد استفاده و همچنین به ترکیب

مواد مغذی جیره بستگی داشته است. مطالعات مختلف نشان دادند که وقتی اسیدهای چرب متوسط زنجیر مثل اسید کاپریک (C10:0)، اسید لوریک (C12:0) و اسید میریستیک (C14:0) به شکل خالص یا توسط ترکیباتی که غنی از این اسیدهای چرب هستند به محیط کشت (۱۱) افزوده شده و یا در شرایط درون‌تنی استفاده شده‌اند احتمالاً به‌دلیل اتصال این اسیدهای چرب به دیواره سلولی باکتری‌های شکمبه باعث کاهش متانوژنزها و فعالیت سلولولایتیک‌ها شده‌اند. علاوه‌بر این افزودن اسیدهای چرب بلند زنجیر غیراشباع مانند روغن ماهی و اسید دکوزاهگزاانوئیک به جیره نیز باعث کاهش تولید متان و کاهش بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای شده‌اند (۱۶).

میوه بنه بسته به شرایط محیطی و ژنتیکی غنی از ترکیبات فنلی می‌باشد. ترکیبات فیتوکمیکال موجود در بعضی از انواع پسته گالوتانین، فنل، فلاوونوئید، ترپینوئید، روغن‌های ضروری و رزین‌ها می‌باشند که خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به‌خاطر وجود این ترکیبات فیتوکمیکال گزارش شده است (۴۸). مقدار ترکیبات پلی فنلی در روغن پسته موتیکا ۸۱/۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم است که نسبت به مقادیر گزارش‌شده برای روغن‌های کردیکا، زیتون و کانولا با مقادیر به‌ترتیب ۵۶/۵۱، ۱۵/۶۵ و ۴۵/۲۳ بیشتر است. مقدار این ترکیبات در روغن بنه موتیکا بیشتر از بنه کردیکا، روغن زیتون و کانولا است. بررسی خواص فیزیکوشیمیایی روغن مغز بنه نشان داده است مقادیر توکوفرول و فنل روغن مغز بنه فراتر از سایر روغن‌های گیاهی است (۱۴). هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه ترکیبات شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و تولید توده میکروبی دانه و کنجاله پسته کوهی (بنه) در شرایط آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش دانه بنه از کوهپایه‌های اطراف شهرستان بیرجند جمع‌آوری و خشک گردید. کنجاله بنه مورد استفاده شامل پوسته نرم رویی، مقدار جزئی مغز و پوسته استخوانی بود که از کارخانه روغن‌کشی فرابکر بیرجند تهیه شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در درجه حرارت محیط و بدون تابش مستقیم نور خورشید خشک شد. سپس نمونه‌های هواخشک، آسیاب و با غربال ۱ میلی‌متری الک شد و برای انجام مراحل بعدی از این نمونه‌ها استفاده شد. تجزیه تقریبی مواد خوراکی برای ماده خشک، پروتئین خام، دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی‌سلولز، چربی خام و انرژی خام بر طبق روش‌های پیشنهادی AOAC (۲۰۰۵) و کل ترکیبات فنلی و کل تانن‌های قابل استخراج (TT) با استفاده از روش ماکار (۳۴) مورد ارزیابی قرار گرفتند. به‌منظور بررسی کنتیک تولید گاز در دانه و کنجاله بنه، تولید گاز متان و تجزیه‌پذیری ظاهری ماده خشک (۴) از آزمایش تولید گاز به روش نیمه‌اتوماتیک (۳۶) با ۱۲ تکرار استفاده شد. سپس بر اساس روش اصلاح‌شده Blummel و همکاران (۴) معادل ۵۰۰ میلی‌گرم از هر ماده خوراکی و ۵۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی در شیشه‌های ۱۲۰ میلی‌لیتری بی‌هوازی قرار داده شد. فشار ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت از آغاز انکوباسیون بر اساس کیلوپاسکال اندازه‌گیری شده و معادل حجمی در فشار و دمای استاندارد (۲۴ درجه سانتی‌گراد و ۱ اتمسفر) تبدیل شد. برای اندازه‌گیری ماده خشک هضم‌شده حقیقی و میزان متان تولیدی از محیط کشت و شرایط روش تولید گاز به شیوه Batch culture با سه تکرار برای هر فراسنجه استفاده شد. بدین منظور در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نمونه‌گیری از محیط کشت به‌عمل آمد.

گاز تولیدی در زمان‌های۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت برای اندازه‌گیری گاز متان توسط سرنگ‌های ایزوله نمونه‌برداری شده و توسط سیستم الکترونیکی مجهز به حسگر استاندارد گاز متان به‌منظور تعیین غلظت گاز مذکور مورد آزمایش قرار گرفت و گاز تولیدی مجتمع به‌صورت متوالی تخلیه شد (۱۹).

معادلات و روش‌های آماری

از مدل نمایی شفولد (۴۲) $P=v(1-exp(-k(t-lag)))$ برای برازش داده‌های تولید گاز با به‌کارگیری روش مقایسات گوسن–نیوتن در رویه Nlin نرم‌افزار آماری SAS به روش رگرسیون غیرخطی (۴۵) استفاده گردید. در این مدل P گاز تولیدی، V گاز مرتبط با سوبسترای دارای پتانسیل تخمیر، K نرخ تولید گاز در زمان و Lag با مفهوم زمان مربوط به فاز تأخیر به‌کار رفت. همچنین میزان اسیدهای چرب فرار بر اساس گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون از معادله Getachew و همکاران (۱۸) با ضریب تبیین $R^2=0.935$ نیز سنتز پروتئین میکروبی بر اساس گاز تولیدی در زمان متناظر با تولید نصف بیشینه گاز تولیدی ($t_{0.5}$) یعنی زمانی که نرخ تجزیه میکروارگانیسم‌ها کمینه می‌باشد (۴) از روابط زیر محاسبه شد.

(رابطه ۱)

$$VFA= (GP_{24/0.5} \times 0.0239) - 0.0601$$

$GP_{24/0.5}$= گاز تولیدی (میلی‌لیتر در ۲۴ ساعت به ازاء نیم‌گرم ماده خشک)

VFA= کل اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول)

(رابطه ۲)

پروتئین میکروبی= $t_{0.5}$ × (فاکتور تسهیم ظاهری –۲/۳۴)

فاکتور تسهیم ظاهری به‌صورت نسبت سوبسترای تجزیه‌شده ظاهری (میلی‌گرم) به حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان بیان می‌شود (۴).

مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، قابلیت هضم ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم با استفاده از رابطه‌های ذیل برآورد شدند (۳۸).

(رابطه ۳)

اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول) =
۰/۰۲۲۲Gas − ۰/۰۰۴۲۵

(رابطه ۴)

$$ME=1/06+ 0/157\ GP + 0/008\ CP + 0/0022\ EE + 0/0081\ Ash$$

(رابطه ۵)

$$OMD = 9 + 0/991\ GP + 0/0595\ CP + 0/0181\ Ash$$

ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم)، OMD: قابلیت هضم ماده آلی (درصد)، CP: پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، OM: ماده آلی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، Ash: خاکستر (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، EE: چربی خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، Gas: تولید گاز در ۲۴ ساعت تخمیر پایه.

مقایسه تیمارها بر اساس ارزیابی میانگین اندازه‌گیری‌های مکرر در طول زمان در قالب طرح‌های کاملاً تصادفی فراسنجه‌های مدل‌های غیرخطی و مقادیر محاسبه‌شده در زمان ثابت با مدل آماری زیر و با رویه GLM و نرم‌افزار SAS و آزمون توکی استفاده شد (۴۵).

(رابطه ۶)

$$Y_{ijk}=\mu+T_i+t_k+\delta_{ij}+(T*t)_{ik}+e_{ijk}$$

در مدل فوق Y_{ijk} مشاهده ijk ام، μ میانگین و T_i، t_k، δ_{ij}، $(T*t)_{ik}$ و e_{ijk} به‌ترتیب شامل اثر تیمار، اثر زمان، کوواریانس بین اندازه‌گیری‌ها در هر تیمار، اثرات متقابل زمان k و تیمار i و خطای تصادفی یا واریانس بین اندازه‌گیری‌های j در هر تیمار i در زمان k بود.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

میانگین ترکیب شیمیایی دانه و کنجاله بنه مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده کنجاله بنه مورد استفاده در این آزمایش حاوی ۱۱/۸۹ درصد پروتئین خام و ۷/۷۳ درصد چربی خام بود. میزان پروتئین خام دانه بنه ۸/۹۳ به‌دست آمد. همسو با این نتایج، در مطالعه‌ای دیگر میزان پروتئین خام دانه بنه ۸/۲۰ درصد گزارش شد (۴۷)؛ با این حال مشایخی و همکاران (۳۵) میزان پروتئین خام دانه بنه را ۱۴/۶۲ درصد گزارش کردند که با نتایج این آزمایش مغایرت دارد. در آزمایشی دیگر میزان پروتئین خام پوسته پسته را ۰/۵۵± ۱۶/۲۱ درصد گزارش شد (۳). همچنین سلیمان بیگی و ارزه‌گر (۴۷) در بررسی خواص شیمیایی و شاخص‌های غذایی بنه در مقایسه با زیتون، آفتابگردان و کانولا، میزان چربی خام بنه را در محدوده ۲۳/۳ تا ۳۰/۳ درصد گزارش کردند. نتایج مشایخی و همکاران (۳۵) میزان چربی خام دانه بنه را ۲۳/۵۴ درصد نشان داد. میزان چربی خام دانه بنه در این آزمایش ۲۵/۴۰ درصد بود که با نتایج به‌دست‌آمده از تحقیقات پیشین همخوانی دارد. در مطالعه‌ای دیگر، میانگین چربی خام پوسته پسته ۰/۸۸± ۶/۳۲ درصد گزارش گردید (۳). میزان خاکستر دانه و کنجاله بنه به‌ترتیب ۲/۳۹ و ۹/۲۸ درصد به‌دست آمد. طی آزمایش هایی میزان خاکستر دانه بنه ۲/۰۷ درصد (۴۷) و ۳/۵ درصد (۳۵) و میزان خاکستر پوشش مغز پسته ۶/۲۲ درصد (۱۲) گزارش شده است. وجود مغایرت بین نتایج به‌دست‌آمده از آزمایشات مختلف می‌تواند به‌دلیل تفاوت در شرایط محیطی، واریته و ویژگی‌های خاک و رسیدگی محصول باشد (۳۲).

میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی دانه بنه به‌ترتیب ۵۴/۳۸ و ۳۲/۴۲ درصد و کنجاله ۴۱/۰۴ و ۳۱/۰۸ درصد به‌دست آمد. میزان NDF و ADF پوشش مغز پسته را به‌ترتیب ۴۵/۱۴ و ۴۰/۷۲ درصد گزارش شد (۱۲). در بررسی دیگری، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی پوسته پسته به‌ترتیب ۰/۱± ۲۵ و ۰/۳± ۲۰/۳۷ درصد گزارش شده است (۳). محتوی انرژی خام دانه بنه بیشتر از کنجاله بنه به‌دست آمد (۵۶۶۶/۰۵ در مقابل ۴۳۵۹/۰۲ کالری بر گرم) که ارتباط مستقیمی با درصد بالای چربی خام در دانه بنه دارد.

ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج مربوط به ترکیبات فنولی کل، تانن کل، ترکیبات فنولی غیرتانینی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دانه و کنجاله بنه در جدول ۲ آمده است. بین دانه و کنجاله بنه به‌لحاظ ترکیبات فنولی کل اختلاف معنادار آماری مشاهده نشد. کنجاله بنه بیشترین غلظت تانن قابل هیدرولیز ($p<0/0001$)، تانن کل ($p<0/0001$) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ($p<0/036$) را داشت. با وجود پایین‌تر بودن میزان تانن کل در دانه بنه ($p<0/0001$) ولی میزان تانن متراکم دانه بنه بالاتر از کنجاله بنه به‌دست آمد ($p < 0/0001$). دانه بنه نزدیک به ۱/۶۲ درصد تانن کل داشت که نزدیک به ۸۱/۵ درصد آن به فرم تانن متراکم بود. در مطالعه‌ای که توسط میرحیدری و همکاران (۴۰) انجام شد، بخش عمده (حدود ۶۳ درصد) از تانن موجود در پسماند پسته پاک‌کنی از نوع تانن قابل هیدرولیز بود. بررسی‌ها نشان داده است که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مواد خوراکی با محتوی پلی‌فنول‌های آن‌ها مرتبط است (۲۱ و ۵۱). دانه بنه بسته به شرایط محیطی و ژنتیکی غنی از ترکیبات فنلی است (۸). ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد (تانن‌ها) توانایی زیادی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد دارند و این توانایی بیشتر بستگی به تعداد حلقه‌های آروماتیک و ماهیت گروه‌های جابجا شونده هیدروکسیل دارد (۳۱). افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند اثرات مثبتی بر سلامت دام‌ها به‌ویژه در شرایط تنش (تنش‌های متابولیکی و گرمایی) داشته باشد (۲۸).

جدول ۱- ترکیب شیمیایی دانه و کنجاله بنه (درصد ماده خشک)

Table 1. Chemical compositions of Pistacia atlantica seed and meal (% DM)

تیمار	ترکیب شیمیایی						
	ماده خشک	پروتئین خام	چربی خام	خاکستر	الیاف نامحلول در شوینده خنثی	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	انرژی خام
کنجاله بنه	۹۹/۰۲^{a}	۱۱/۸۹^{a}	۷/۷۳^{b}	۹/۲۸^{a}	۴۱/۰۴^{b}	۳۱/۰۸	۴۳۵۹/۰۲^{b}
دانه بنه	۹۷/۲۹^{b}	۸/۹۳^{b}	۲۵/۴۰^{a}	۲/۳۹^{b}	۵۴/۳۸^{a}	۳۲/۴۲	۵۶۶۶/۰۵^{a}
SEM*	۰/۱۰۲	۰/۱۹۹	۰/۴۶۸	۰/۱۹۲	۰/۹۴۷	۰/۷۲۸	۱/۵۳۱
P-value**	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۵	۰/۰۸۸	۰/۰۰۰۱

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) است.
* اشتباه معیار میانگین ** احتمال معنی‌داری

جدول ۲- ترکیبات فنولی کل و تانن کل و ترکیبات فنولی غیرتانینی دانه و کنجاله بنه (درصد)

Table 2. Total phenols (TP), total tannins (TT) and non-tannin phenols (NTP) of Pistacia atlantica seed and meal (%)

تیمار	ترکیبات فنولی (٪)					
	کل فنول	کل تانن	تانن متراکم	تانن قابل هیدرولیز	فنول‌های غیرتانینی	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
کنجاله بنه	۲/۱۷	۱/۷۳^{a}	۱/۱۵^{b}	۰/۵۷^{a}	۰/۴۴^{b}	۷۰/۸۷^{a}
دانه بنه	۲/۰۸	۱/۶۲^{b}	۱/۳۲^{a}	۰/۳۰^{b}	۰/۴۶^{a}	۶۱/۳۸^{b}
SEM*	۰/۰۳۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۲/۱۷۳
P-value**	۰/۱۲۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۷	۰/۰۳۶

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) است.
* اشتباه معیار میانگین ** احتمال معنی‌داری

تولید گاز

روند تولید گاز تیمارهای آزمایش طی ساعت‌های مختلف انکوباسیون در شکل ۱ نشان داده شده است. نمودار الگوی گاز تولیدشده نشان‌دهنده تولید گاز بیشتر کنجاله بنه در زمان‌های مختلف انکوباسیون در مقایسه با دانه بنه است. منحنی تولید گاز شامل سه بخش است؛ بخش اول مرحله بطئی خیس‌خوردن و چسبیدن میکروب‌ها. بخش دوم مرحله نمایی که بیانگر هضم آنزیمی است و بخش سوم که مرحله کاهش تولید گاز است که همزمان با کاهش سوبسترا صورت می‌گیرد. تولید مقدار اندکی گاز در مراحل پایانی می‌تواند مربوط به مورد استفاده قرار گرفتن لاشه میکروارگانیسم‌های مرده باشد (۳۹). در این آزمایش نیز منحنی تولید گاز از الگوی فوق تبعیت می‌کند. روند تولید گاز نشان داد که این روند تا زمان ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون با شیب تندی صورت گرفت، اما از زمان ۲۴ به بعد افزایش تولید گاز با شیب کمتری صورت گرفت.

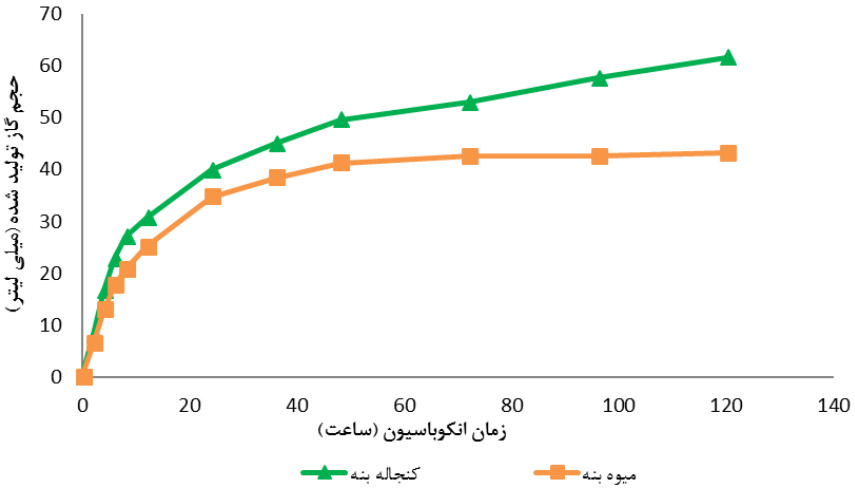
فراسنجه‌های تولید گاز

فراسنجه‌های تخمینی مدل نمایی شفولد (۴۶) بر اساس داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش تولید گاز و فراسنجه‌های محاسباتی مرتبط با زمان $t_{0.5}$ (نیمه عمر تولید گاز که کشت میکروبی در شرایط بسیار بهینه قرار دارد)، در جدول ۳ گزارش شده است. براساس این نتایج تفاوت الگوی تخمیر از دیدگاه نرخ و پتانسیل تولید گاز بین تیمارهای آزمایشی به‌لحاظ آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). کنجاله بنه نرخ تولید گاز بالاتری نسبت به دانه بنه داشت (p<۰/۰۰۰۱).

تفاوت در میزان فراسنجه‌های تخمیر به‌دست‌آمده برای مواد خوراکی مورد آزمایش ناشی از تفاوت در ترکیب شیمیایی آن‌ها و تأثیری است که بر جمعیت میکروبی و شرایط کشت می‌گذارند. نتایج حاصل از آنالیز ترکیب شیمیایی دانه و کنجاله بنه حاکی از بالابودن مقدار چربی خام در دانه بنه در مقایسه با کنجاله بنه می‌باشد (۲۵/۴ درصد در مقایسه با ۷/۵۸ درصد). بر این اساس دانه بنه با دارابودن ۲۵/۴ درصد چربی خام تولید گاز کمتری در مقایسه با کنجاله بنه داشت. تحقیقات مختلفی در رابطه با تأثیر منفی روغن‌های غیراشباع بر تخمیر شکمبه‌ای به‌خصوص بخش فیبری جیره غذایی و جمعیت باکتریایی انجام شده است (۲۷). نتایج صفری و همکاران (۴۴) نشان داد کل گاز تولیدی و تولید گاز در ۲۴ ساعت اول انکوباسیون در شرایط آزمایشگاهی در اثر افزودن روغن ماهی محافظت‌نشده به جیره کاهش معنی‌داری یافت. تاثیر نامطلوب روغن ماهی محافظت‌نشده بر تخمیر شکمبه‌ای ماده آلی به‌صورت معنی‌داری نمایان شد. استفاده از ۶ درصد روغن انار میزان تولید متان را به‌طور معنی‌داری کاهش داد در حالی که مقادیر کمتر آن تاثیر معنی‌داری بر تولید گاز متان نداشت (۲۹). تفاوت‌ها در نتایج آزمایشات مختلف ناشی از تفاوت در منبع چربی مورد استفاده، درصد چربی استفاده‌شده، گونه نشخوارکننده، شرایط آزمایشی، جیره مورد استفاده برای دام فیستولاگذاری‌شده و سوبسترای پایه می‌باشد.

نرخ تولید گاز (c) مربوط به نرخ تجزیه ماده خشک است. افزایش نرخ به‌وجودآمده در گاز تولیدی در واحد زمان برآیندی از سلسله وقایع بیوشیمیایی رخ داده در محیط کشت ثابت تولید گاز می‌باشد.

با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۳ زمان $t_{0.5}$ تولید گاز در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۰۰۱). در محیط حاوی کنجاله بنه $t_{0.5}$ یا نقطه عطف کاهشی منحنی تولید گاز افزایش یافت. این افزایش می‌تواند به‌معنای حفظ شرایط بهینه محیط کشت به‌لحاظ بافری به‌مدت طولانی‌تری باشد که احتمالاً به‌دلیل پایین‌بودن میزان روغن و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کنجاله نسبت به دانه بنه بوده است. گزارش شده است که اسیدهای چرب غیراشباع دارای اثر ضدمیکروبی بر عملکرد شکمبه در شرایط in vivo و in vitro می‌باشند (۲۵).



شکل ۱- نمودار الگوی تولید گاز تیمارها در زمان‌های مختلف انکوباسیون (به ازای ۵۰۰ میلی‌گرم نمونه)
Figure 1. Gas production profile for treatments during different incubation times (500 mg sample)

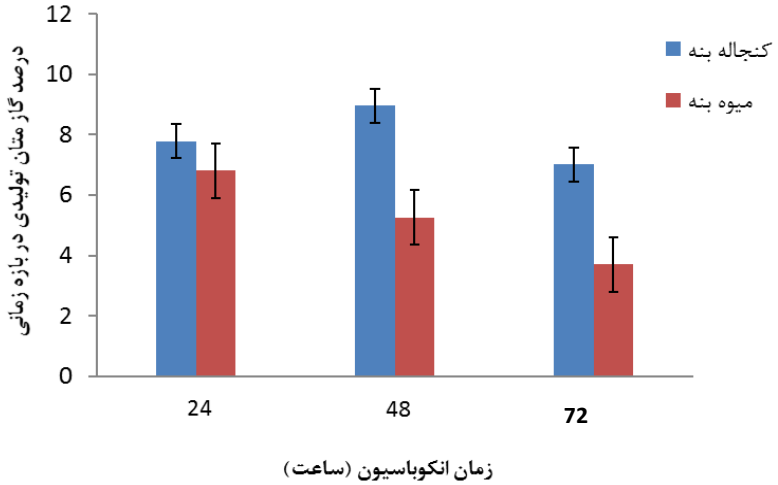
جدول ۳- فراسنجه‌های برآورد شده در تولید گاز و مجموع گاز تولیدی (میلی‌لیتر در ۵۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)
Table 3. Gas production parameters and cumulative gas production (ml/500 mg DM)

تیمار	b	c	$T_{0.5}$	$G_{0.5}$	Gas120 (ml/g incubated DM)
کنجاله بنه	۵۲/۹۳^{a}	۰/۰۷^{b}	۹/۶۸^{a}	۲۷/۴۰^{a}	۶۱/۳۸^{a}
دانه بنه	۴۲/۱۶^{b}	۰/۰۸^{a}	۸/۵۸^{b}	۲۱/۰۸^{b}	۴۳/۱۲^{b}
SEM*	۰/۴۸۲	۰/۰۰۰۹	۰/۱۱۷	۰/۲۴۱	۲/۰۲۵
P-value**	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲

b= پتانسیل تولید گاز c= نرخ تولید گاز در ساعت $T_{0.5}$: زمان $t_{0.5}$ (ساعت) $G_{0.5}$: کل گاز تولیدی در زمان $t_{0.5}$
حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) است. * اشتباه معیار میانگین ** احتمال معنی‌داری

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد گاز متان تولیدی در بازه‌های زمانی مختلف

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد گاز متان تولیدی در بازه‌های زمانی در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد گاز متان تولیدی در بازه‌های زمانی
Figure 2. Effect of treatments on percentage of methane production in time periods

در ساعات ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت دانه بنه کمترین میزان تولید متان را به‌خود اختصاص داد و بیشترین متان تولیدی در کنجاله بنه مشاهده شد (p<۰/۰۵).

تولید گاز متان در نشخوارکنندگان محصول نهایی تخمیر شکمبه‌ای بوده که علاوه بر هدرروی انرژی خوراک هضم‌شده، باعث افزایش این گاز در جو می‌شود. نشخوارکنندگان در هر روز می‌توانند ۲۵۰ تا ۵۰۰ لیتر گاز متان تولید کنند که به‌تبع آن نزدیک به ۲ تا ۱۲ درصد از انرژی خام مصرفی را به‌صورت متان از دست می‌دهند در نتیجه راندمان تولید در این دام‌ها به‌طور نزدیکی با تولید متان در ارتباط است (۲۶).

در نشخوارکنندگان دو مکانیسم اصلی برای تولید گاز متان وجود دارد، مقدار کربوهیدرات تخمیرشده در حفره‌نگاری–شکمبه‌ای که بر تعادل بین نرخ کربوهیدرات تخمیری و نرخ عبور آن تاثیر می‌گذارد و مقدار ذخیره هیدروژن قابل دسترس که نسبت اسیدهای چرب فرار تولیدی را برای تولید متان تنظیم می‌کند (۲۶).

پنج احتمال برای کاهش تولید متان در اثر افزودن چربی به جیره بیان شده است: ۱) کاهش هضم الیاف (خصوصا اسیدهای چرب بلند زنجیر)، ۲) کاهش مصرف خوراک (در صورتی که چربی کل جیره از ۷–۶ درصد تجاوز کند)، ۳) کاهش متانوژنزها، ۴) کاهش جمعیت پروتوزوآهای شکمبه و ۵) افزایش فرآیند بیوهیدروژناسیون (۳۳).

دانه بنه مورد استفاده در این آزمایش حاوی ۱۶/۵۹ درصد اسید چرب اشباع، ۷۱/۰۸ درصد اسید چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه، ۱۱/۲۲ درصد اسید چرب غیراشباع با دو پیوند دوگانه و ۰/۸۸ درصد اسید چرب غیراشباع با سه پیوند دوگانه بود (۱۷). تحقیقات پیشین نشان داده است که مکمل‌سازی جیره با روغن‌های گیاهی و روغن ماهی که غنی از اسیدهای چرب غیراشباع هستند منجر به کاهش DMI[1] در نشخوارکنندگان می‌شوند (۵۰). اسیدهای چرب غیراشباع دارای چند پیوند دوگانه، بیشتر از اسیدهای چرب غیراشباع حاوی یک پیوند دوگانه برای میکروب‌های شکمبه سمی هستند و تاثیر کاهشی چربی بر میزان تولید متان با افزایش درجه غیراشباعیت اسیدهای چرب افزایش می‌یابد (۲۰) چربیهای غیراشباع نسبت به چربی‌های اشباع در کاهش تولید متان بسیار قویتر هستند. Dohme و همکاران (۱۱) تاثیر اسیدهای چرب مختلف را بر میزان تولید متان مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که افزودن اسیدهای چرب C 16:0 و C 18:0تاثیر معنی‌داری بر تولید گاز متان در شکمبه نداشت. مقدار متان آزادشده در تیمارهای حاوی اسیدهای چرب C 16:0 و C 18:0 حدود ۲۵ درصد بیشتر از تیمار حاوی اسید چرب C 18:2بود و در تیمارهای حاوی اسیدهای چرب C 14:0 و C 12:0تولید متان ۱۸ درصد بیشتر از تیمارهای حاوی اسیدهای چرب C16:0 و C18:0 بود. سزرکاوسکی (۷) نیز نشان داد که استفاده از اسیدهای چرب در جیره موجب مهار تولید متان می‌گردد. Glasser و همکاران (۲۲) نشان دادند کاهش در متان تولیدی با افزودن اسیدهای چرب غیراشباع می‌تواند به‌دلیل پذیرش الکترون این اسیدهای چرب در حین عمل بیوهیدروژناسیون باشد.

علاوه بر تاثیر چربی‌ها در کاهش تولید گاز متان، تحقیقات زیادی تأثیر ترکیبات فنلی و تانن را بر کاهش میزان تولید گاز متان (۲ تا ۵۸ درصد) را گزارش کرده‌اند. این اختلاف بیشتر مربوط به نوع تانن و منبع گیاهی مورد استفاده ذکر شده است (۶). صفائی و همکاران (۴۳) افزایش حدود ۵ برابری مقدار تولید گاز متان در تفاله لیموترش در مقایسه با تفاله انگور را به بالابودن میزان کربوهیدرات‌های غیرالیافی و کمترشدن ترکیبات فنلی به‌ویژه تانن‌های متراکم در تفاله لیموترش مرتبط می‌دانند. Tavendale و همکاران (۴۹) مهار رشد باکتری‌های متانوژنز را به خاصیت باکتریواستاتیکی و باکتریوسیدی تانن‌های متراکم مربوط می‌دانند (۴۹). درحالیکه Goel و همکاران (۲۳) بیان کردند که تانن‌های قابل هیدرولیز نسبت به تانن متراکم منجر به کاهش بیشتر جمعیت باکتری‌های متانوژن و یا میکروارگانیسم‌هایی که تولید بیشتر یون هیدروژن می‌کنند، می‌شوند (۲۳). Jayanegara و همکاران (۲۴) نیز بیان کردند که تانن‌های متراکم تولید گاز و قابلیت هضم ماده آلی را بیشتر از تانن‌های قابل هیدرولیز کاهش می‌دهند. درحالیکه در همان زمان تانن‌های قابل هیدرولیز گاز متان را بیشتر از طریق کاهش هضم الیاف کاهش می‌دهد (اثر غیرمستقیم)، تانن‌های متراکم بیشتر از طریق مهار رشد و یا فعالیت متانوژن‌ها و یا میکروب‌های تولیدکننده هیدروژن عمل می‌کنند (اثر مستقیم) (۱۰). Patra and Saxena (۴۱) کاهش گاز متان تولیدی را علاوه‌بر اثر مستقیم تانن‌های متراکم بر باکتری‌های متانوژن، بر تأثیر مستقیم آنها بر پروتوزوآها بیان کردند. این مطلب توسط Cieslak و همکاران (۶) نیز تایید شده است؛ آنها از تانن متراکم گیاه *vaccinnium vitis idaea* به‌میزان ۲ گرم در کیلوگرم ماده خشک در جیره گاوهای شیری استفاده کرده و بیان کردند که کاهش تولید گاز متان در نتیجه کاهش تولید پروتوزوآ بوده بدون اینکه تأثیر منفی بر قابلیت هضم ماده آلی و تولید VFA داشته باشد. بین پروتوزوئرهای شکمبه با متانوژن‌ها رابطه همزیستی مفیدی وجود دارد، لذا مهار پروتوزوآ منجر به مهار متانوژن‌ها و کاهش تولید گاز متان می‌شود (۶). بنابراین با توجه به مطالب فوق، بالابودن مقدار تانن متراکم در دانه بنه (با توجه به جدول ترکیبات فنولی) در مقایسه با کنجاله بنه نیز دلیل دیگری برای کاهش تولید گاز متان در این تیمار است.

فراسنجه‌های تخمیری تولید گاز

با توجه به اینکه ارزش تغذیه‌ای مواد خوراکی همبستگی بسیار بالایی با میزان تولید گاز در ۲۴ ساعت ابتدایی انکوباسیون دارد (۳۸) لذا سعی شد تا اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های تخمیری تولید گاز پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون مورد بررسی قرار گیرد. نتایج حاصله در جدول ۴ نشان داده شده است.

بر اساس این نتایج کنجاله بنه بالاترین نرخ تولید گاز را داشت (p<۰/۰۰۸). تعداد مول متان تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون دارای تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی بود. در مقایسه با کنجاله بنه، دانه بنه کمترین میزان متان تولیدی را به‌خود اختصاص داد (p<۰/۰۰۱). تعداد مول‌های

1- Dry Matter Intake

اسیدهای چرب فرار کل محاسباتی بر اساس گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون در محیط حاوی دانه بنه نسبت به کنجاله بنه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۰۸$). از آنجایی که تغییر در تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر انعکاسی از تغییر در تولید گاز است کاهش کل اسیدهای چرب فرار نیز با کاهش گاز تولیدی همراه بود. تولید گاز در شرایط برون‌تنی می‌تواند نشان‌دهنده تخمیر کربوهیدرات‌های موجود در نمونه باشد که این کاهش گاز دلیلی بر کاهش فرآیند تخمیر و کاهش در تجزیه ماده آلی است. کاهش تولید گاز سبب کاهش تولید اسیدهای چرب فرار و کاهش انرژی قابل متابولیسم می‌شود (جدول ۴). کاهش انرژی قابل متابولیسم می‌تواند به کاهش در گاز تولیدی، کاهش غلظت کل اسیدهای چرب فرار و کاهش ماده آلی تجزیه‌شده در محیط تخمیر مربوط باشد. همچنین همبستگی منفی بین تولید گاز و انرژی قابل متابولیسم با دیواره سلولی گزارش شده است. کاهش انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ممکن است به‌علت تفاوت در ترکیب شیمیایی از جمله پایین‌بودن کربوهیدرات‌های غیرالیافی و بالاتر بودن دیواره سلولی و دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز در دانه بنه باشد. تولید گاز با دیواره سلولی همبستگی منفی بالایی دارد (۹).

بالاترین میزان توده میکروبی در دانه بنه مشاهده شد ($p<۰/۰۰۰۳$). بر اساس مطالعات قبلی انجام‌شده می‌توان اینطور نتیجه گرفت که احتمالاً دلیل بالابودن توده میکروبی در دانه بنه علی‌رغم کاهش تولید گاز، می‌تواند کاهش تولید متان و در نتیجه کاهش هدررفت انرژی و به‌دنبال آن افزایش راندمان تولید توده میکروبی باشد. در مطالعه‌ای (۴) افزایش شاخص ضریب تفکیک‌پذیری به‌عنوان بهبود در راندمان تخمیر معرفی شد. رابطه عکس بین شاخص ضریب تفکیک‌پذیری و متان در این آزمایش مشاهده شد. یک خوراک با ضریب تفکیک بالاتر نشان‌دهنده این است که بیشتر سوبسترای تجزیه‌شده در تولید پروتئین میکروبی شرکت کرده است و بازده سنتز پروتئین میکروبی بالاتری داشته است. خوراک با ضریب تفکیک بالاتر مصرف بالاتری نیز دارد. همچنین بالاتر بودن ضریب تفکیک در شرایط برون‌تنی بازگوکننده سنتز پروتئین میکروبی اندازه‌گیری‌شده به‌وسیله مشتقات پورینی در شرایط درون‌تنی باشد (۵). بنابراین نتایج نشان می‌دهند که ضریب تفکیک محاسبه‌شده در شرایط برون‌تنی اطلاعات ارزشمندی برای پیش‌بینی خوراک مصرفی دام و تولید توده میکروبی در شکمبه ارائه می‌دهد. ضریب تفکیک در دانه و کنجاله بنه به‌ترتیب برابر با ۶/۴۸ و ۲/۹۲ بود. ضریب تفکیک برای کنجاله نارگیل و کنجاله تخم پنبه به‌ترتیب ۳/۹۲ و ۳/۸۶ و برای سبوس گندم و دانه ذرت ۳/۷۸ و ۳/۳۸ و برای کاه یولاف و کاه برنج به‌ترتیب ۳/۲۰ و ۲/۹۳ گزارش شده است (۳۰). همچنین در پژوهشی دیگر ضریب تفکیک برای اسانس گونه‌های مختلف گیاه دارویی آویشن در دامنه ۳/۸ تا ۴/۰۴ گزارش شد (۱۵). بنابراین ضریب تفکیک برای دانه بنه بالاتر از موارد ذکر شده بود. یک همبستگی منفی بالایی بین اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تولیدشده در شکمبه و سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه گزارش شده است (۴) که پژوهش حاضر نیز چنین روندی را نشان می‌دهد.

دی‌اکسید کربن در نتیجه تخمیر شکمبه‌ای تولید و میزان تولید دی‌اکسید کربن در شکمبه بیشتر بسته به فعالیت‌های متابولیکی (مانند میزان تولید دام) است و تغییرات در میزان تولید گازهای شکمبه‌ای (نسبت دی‌اکسید کربن به متان) به حالت‌های متفاوت تخمیر در شکمبه مرتبط است. بنابراین انتظار می‌رود تولید گاز دی‌اکسید کربن تابعی از تخمیر و تولید کل گازها باشد که با نتایج تحقیق حاضر موافق است (۲۹).

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های تخمیری تولید گاز در ۲۴ ساعت انکوباسیون
Table 4. The effect of experimental treatments on Fermentation parameters of gas production after 24 hours of incubation

فراسنجه	تیمار		SEM*	P-value**
	کنجاله بنه	دانه بنه		
گاز تولیدی (میلی‌لیتر به ازای هر گرم ماده خشک انکوبه‌شده)	۴۰/۵۲^{a}	۳۲/۸۶^{b}	۱/۱۲۸	۰/۰۰۸
متان تولیدی (میلی‌مول)	۰/۱۴^{a}	۰/۰۹^{b}	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱
دی‌اکسید کربن کل(میلی‌مول)	۱/۶۶^{a}	۱/۳۶^{b}	۰/۰۵۱	۰/۰۱۴
دی‌اکسید کربن ناشی از تخمیر(میلی‌مول)	۰/۷۶^{a}	۰/۶۴^{b}	۰/۰۲۴	۰/۰۲۶
کل اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول)	۰/۹۰^{a}	۰/۷۲^{b}	۰/۰۲۶	۰/۰۰۸
اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول)	۰/۸۹^{a}	۰/۷۲^{b}	۰/۰۲۵	۰/۰۰۸
توده میکروبی (میلی‌گرم به ازای هر گرم ماده خشک انکوبه‌شده)	۱۵/۹۹^{b}	۸۷/۳۹^{a}	۴/۱۹۲	۰/۰۰۰۳
ضریب تفکیک ((partitioning factor (mg/ml))	۲/۹۲^{b}	۶/۴۸^{a}	۰/۱۷۳	۰/۰۰۰۱
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول به ازای هر کیلوگرم ماده خشک)	۸/۳۳^{a}	۷/۱۷^{b}	۰/۱۵۳	۰/۰۰۶
ماده آلی قابل هضم (درصد)	۵۰/۰۴^{a}	۴۲/۱۳^{b}	۱/۱۱۸	۰/۰۰۷

حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) است.
* اشتباه معیار میانگین
** احتمال معنی‌داری

نتایج این تحقیق نشان داد دانه بنه به‌عنوان یک دانه روغنی با مهار تولید گاز متان در شکمبه و افزایش ضریب تفکیک‌پذیری، این پتانسیل را دارد که در تخمیر شکمبه تغییرات مثبتی ایجاد کند. همچنین به‌نظر می‌رسد مصرف دانه و کنجاله بنه به‌دلیل دارابودن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مناسب می‌تواند اثرات مثبتی بر سلامت دام در شرایط تنش‌های متابولیکی و گرمایی داشته باشد که البته مستلزم تحقیقات بیشتری در این زمینه است. با توجه به نتایج آنالیز تقریبی کنجاله بنه نیز از پتانسیل هضمی نسبتاً خوبی برخوردار است و در صورت وجود اطلاعات بیشتر می‌تواند به‌عنوان یک محصول فرعی در جیره نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

1. AOAC. 2005. Assogiation of Offigial Analytical Chemist.15th edition. Washinton. DC.
2. Behgar, M., R. Valizadeh, M. Mirzaee, A.A. Naserian and M.R. Nasiri. 2009. Correlation between the phisical and chemical properties of some forages and non-forage fiber source. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8 (11): 2280-2285.
3. Blümmel, M., H. Makkar and K. Becker. 1997. In vitro gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 77(1- 5): 24-34.
4. Blümmel, M. 2000. Predicting the partitioning of fermentation products by combined in vitro gas volume-substratedegradability measurements: opportunities and limitations. In: Gas Production: Fermentation Kinetics forFeed Evaluation and to Assess Microbial activity. British Society of Animal Science, Penicuik, Midlothian, pp: 48-58.
5. Cieslak, A., P. Zmora, E. Pers-Kamczyc and M. Szumacher-Strabel. 2012. Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation in vivo. Animal feed science and technology, 176(1): 102-106.
6. Czerkawski, J.W. 1986. An Introduction to Rumen Studies. Pergamon Press, Oxford (UK)/New York (NY, USA.
7. Daneshrad, A. and Y. Aynechi. 1980. Chemical studies of the oil from pistacia nuts growing wild in Iran. Journal of American Oil Chemistry Society, 57: 248-9.
8. De Boever, J.L., J.M. Aerts, J.M. Vanacker and D.L. De Brabander. 2005. Evaluation of the nutritive value of maize silages using a gas production technique. Animal Feed Science and Technology, 255: 123-124.
9. Delavar, M., A. Tahmasbi, M. Danesh-Mesgaran and R. Valizadeh. 2013. In vitro rumen fermentation and gas production: influence of different by-product 2 feedstuffs 3. Methodology.
10. Dohme, F., A. Machmuller, A. Wasserfallen and M. Kreuzer. 2001. Ruminal methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. Letters in Applied Microbiology, 32(1): 47-51.
11. Esmaeili-Seirchi, N., O. Diani, R. Tahmasebi. 2015. Determination of chemical Compounds and nutritive value of seed coat Pistachios by using Gas production. 1th National Congress on Advanced Research in Animal Science with Focus Environmental Stress (NCARAC 2015). 27, 28 May. University of Birjand, Birjand, I.R. Iran
12. Esmaeilkhanian, S.A. and M.H. Emadi. 1995. Use of Pistacia atlantica meal in feeding Iranian sheep. Proceedings of the National Pistacia atlantica Seminar. Animal Science and Natural Resources Research Center. Ilam. pp: 140-148.
13. Farhoosh, R., J. Tavakoli and M.H. Haddad Khodaparast. 2008. Chemical composition of kernel oils from two current subspecies of Pistacia atlantica in Iran. Journal of American Oil Chemistry Society, 85: 723-729.
14. Fereydoonpoor, M., J. Bayatkouhsar, E. Gholamali Pour and P. Ebrahimi. 2016. The Effects of Various Species of Thymus Essence on Gas Production Parameters, Dry Matter and Organic Matter Digestibility and Ruminal Fermentation Parameters in in vitro. Research on Animal Production, 7(14): 109-117.
15. Fievez, V., C. Boeckaert, B. Vlaeminck, J. Mestdagh and D. Demeyer. 2007. In vitro examination of DHA-edible micro algae: 2. Effect on rumen methane production and apparent degradability of hay. Animal Feed Science and Technology, 136(1-2): 80-95.
16. Ganji, F., M. Bashtani, H. Farhangfar and S.E. Ghiasi. 2017. Effect of different growth stages on the chemical composition, antioxidant properties and rumen-intestinal digestion of Pistacia atlantica with nylon bags method. Journal of Animal Science Researches, 27(3): 185-200.
17. Getachew, G., H. Makkar and K. Becker. 1998. The in vitro gas coupled with ammonia measurement for evaluation of nitrogen degradability in low quality roughages using incubation medium of different buffering capacity. Journal of the Science of Food and Agriculture, 77(1): 87-95.
18. Ghiasi, S.E., R. Valizadeh and A.A. Naserian. 2015. Effect of Oxidized Soybean Oil against Pomegranate Seed as Antioxidant on the in vitro Rumen Fermentation Parameters. Iranian Journal of Animal Science Research, 7(3): 244-256.
19. Giger-Reverdin, S., P. Morand-Fehr and G. Tran. 2003. Literature survey of the influence of dietary fat composition on methane production in dairy cattle. Livestock Production Science, 82: 73-79.

20. Gil, M.I., F.A. Tomas Barbean, B. Hess-Pierce, D.M. Holcroft and A.A. Kader. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 4581-4589.
21. Glasser, F., A. Ferlay and Y. Chilliard. 2008. Oilseed supplements and fatty acid composition of cow milk: a meta-analysis. Journal of Dairy Science, 91: 4687-4703.
22. Goel, G., A. Puniya, C. Aguilar and K. Singh. 2005. Interaction of gut microflora with tannins in feeds. Naturwissenschaften, 92(11): 497-503 .
23. Jayanegara, A., G. Goel, H. Makkar and K. Becker. 2010. Reduction in methane emissions from ruminants by plant secondary metabolites: effects of polyphenols and saponins. Sustainable Improvement of Animal Production and Health. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy, 151-157.
24. Jenkins, T.C., R.J. Wallace, P.J. Moate, E.E. Mosley. 2008. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. Journal of Animal Science, 86: 397-412.
25. Johnson, K.A. and D.E. Johnson. 1995. Methane emissions from cattle. Journal of Animal Science, 73: 2483-2492.
26. Jordan, E., D. Kenny, M. Hawkins, R. Malone, D.K. Lovett and F.P. Omara. 2006. Effect of refined soy oil or whole soybeans on intake, methane output, and performance of young bulls. Journal of Animal Science, 84: 2418-2425.
27. Khorsandi. S., A. Riasi and M. Khorvash. 2019. Evaluating chemical composition, fatty acid profiles, antioxidant activity and nutritive value of pomegranate by product using in vitro gas production technique. Research on Animal Production, 9(22): 92-100.
28. khosravi, F., M.H. Fathi, A.R. Vakili and H. Farhangfar.2019. In vitro study of pomegranate by-products on methane production. Iranian Journal of Animal Science Research, 29 (1): 89-105.
29. Kiran, D. and U. Krishnamoorthy. 2007. Rumen fermentation and microbial biomass synthesis indices of tropical feedstuffs determined by the in vitro gas production technique. Animal feed science and technology, 134(1): 170- 179.
30. Lagouri, V. and D. Boskou. 1996. Nutrien antioxidants in oregano. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 47: 493-497.
31. Lopez-Feria, S., S. Cardenas, J.A. Garc-Mesa and M.V. Alcarcel. 2008. Classification of extra virgin olive oils according to the protecteddesignation of origin, olive Variety and geographical orgin. Talanta, 75: 937-943.
32. Machmuller, A. 2006. Medium-chain fatty acids and their potential to reduce methanogenesis in domestic ruminants. Agriculture, Ecosystems and Environment, 112: 107-114.
33. Makkar, H.P.S. 2000. A Quantification of Tannin I Tree Foliage. A Laboratory Manual for the FAO/IAEA co-ordinated Research Project on use of Nuclear and Related techniques to Develope Simple Tannin Assay for Predicting and Improving the safety and Efficiency of Feedin Ruminants on Tanniniferous Tree Foliage. Joint FAO/IAEA, FAO/IAEA of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Animal Production and Health sub-programme, FAO/IAEA Working Document. IAEA, Vienna, Austria.
34. Mashayekhi Mazar, M.A., T.S. Vafa, S.M. Qureshi and H. Sepehri moghadam. 2016. Determination of chemical composition and digestibility of pistacia atlantica with gas production method. The Seventh Congress on Animal Sciences of Iran. 17-18 August. College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj. (In Persian)
35. Mauricio, R.M., F.L. Mould, M.S. Dhanoa, E. Owen, K.S. Channa and M.K. Theodorou. 1999. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. Animal Feed Science and Technology, 79(4): 321-330.
36. Mcdonald, P., R.A. Edwards, J.F. Greenhalgh and C.A. Morgan. 2002. Animal Nutrition. 6th edn. UK: Prentice Hall, 838 p.
37. Menke, K.H. and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Animal research and development, 28: 7-55.
38. Michalet-Doreau, B. and M.Y. Ould Bah. 1992. In vitro and in sacco methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen: a review. Animal feed Science and Technology, 40: 57-86.
39. Mirheidari, A., Y. Rouzbahan and H. Fazaeli. 2020. Effects of Different Levels of Pistachio by-Product on in vitro Ruminal Fermentation and Performance of Rayini Goats. Research on Animal Production, 11(27): 18-26.
40. Patra, A.K. and J. Saxena. 2009. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. Antonie van Leeuwenhoek, 96(4): 363-375.
41. Rajesh, M., A. Nagarajan, S. Perumal and M. Sellamuthu. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of Camellia sinensis, Ficus bengalensis and Ficus racemosa. Food Chemistry, 107: 1000-1007.

42. Safaei, A.R., N.M. Torbatinejad, H. Mansouri and S. Zerehdaran. 2014. Effects of Adding Poly-Ethylene-Glycol on Methane Production in Rumen, Digestion and Metabolic Energy of Grape and Lime Pomaces. Research on Animal Production, 5(9): 83-95.
43. Safari, R., R. Valizadeh, R. Kadkhodayi, H. Alamolhada, A. Tahmasbi and A. Naserian. 2012. Investigation of the resistance of fish oil microcapsules in ruminal conditions and their effect on gas production and digestibility in invitro. Iranian Journal of Animal Science Research, 4(3): 265-273 (In Persian).
44. SAS. 2009. SAS User's Guide: Statistics. Ver 9.2. USA.: SAS Institute. Cary. N.C.
45. Schofield, P., R. Pitt and A. Pell. 1994. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. Journal of animal science, 72(11): 2980-2991.
46. Soleiman-Beigi, M. and Z. Arzehgar. 2013. A review Study on Chemical Properties and Food Indexes of Mastic Oil Compared with Olive, Sunflower and Canola oils. The Ilamian Traditional Uses of Mastic. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences, 21(5): 1-13.
47. Taran, M., M. Sharifi, E. Azizi and M. Khanahmadi. 2010. Antimicrobial activity of the leaves of Pistacia khinjuk. Journal of Medicinal Plants, 9: 81-5.
48. Tavendale, M.H., L.P. Meagher, D. Pacheco, N. Walker, G.T. Attwood and S. Sivakumaran. 2005. Methane production from in vitro rumen incubations with Lotus pedunculatus and Medicago sativa, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. Animal feed science and technology, 123: 403-419.
49. Toral, P.G., P. Frutos, G. Hervas, P. Gomez-Cortes, M. Juarez and M.A. de la Fuente. 2010. Changes in milk fatty acid profile and animal performance in response to fish oil supplementation, alone or in combination with sunflower oil, in dairy ewes. Journal of Dairy Science, 93: 1604-1615. doi: 10.3168/jds.2009-2530 PMID: 20338438
50. Tzulker, R., I. Glazer, I. Bar-Ilan, D. Holland, M. Aviram and R. Amir. 2007. Antioxidant activity, polyphenol content, and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(23): 9559-9570.

Evaluation of Nutritional Value, Antioxidant Activity and Invitro Digestion Parameters of *Pistacia atlantica* Seed and Meal

Fatemeh Ganji[1], Moslem Bashtani[2], Seyed Homayun Farhangfar[2], Seyed Ehsan Ghiasi[3] and Hossein Naeeimipour[3]

1- Postdoc Researcher, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran, (Corresponding author: f.ganji@birjand.ac.ir)
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran
3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran
Received: October 27, 2020 Accepted: December 7, 2020

Abstract

This study was intended to evaluate the nutritional value, antioxidant activity and digestibility coefficients of *Pistacia atlantica* seed and meal. The gas production experiment and batch culture degradability test were carried out to investigate the effects of *Pistacia atlantica* seed and meal on microbial fermentation characteristics, kinetics of gas production, methane and carbon dioxide production, $t_{0.5}$, and lag time. Also, the calculated parameters e.g. microbial protein, molar proportion of volatile fatty acids, metabolizable energy (ME), short chain fatty acid (SCFA) and organic matter digestibility (OMD %), were evaluated for different treatments. The parameters were analyzed through the completely randomized design with repeated measurements. In this experiment, there was a significant difference in chemical composition (P <0.05). Although no significant difference was observed with respect to phenolic compounds, the amount of condensed tannin in seed was higher than that of meal (P <0.0001). *Pistacia atlantica* meal had the highest gas production rate (P <0.008). The number of moles of methane produced in 24 hours of incubation had a significant difference between the experimental treatments. Compared to meal, *Pistacia atlantica* seed had the lowest amount of methane produced (P <0.001). The total concentration of volatile fatty acids in seed decreased. The highest microbial mass was observed in seed (P <0.0003). The separation coefficient in the seed and meal were 6.48 and 2.92, respectively. Research shows that *Pistacia atlantica* seed and meal have a relatively good digestive potential and can be used in the diet of ruminants if properly planned.

Keywords: Gas production, *Pistacia atlantica* seed and meal, Rumen fermentation

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

اثر استفاده از مونسین بر عملکرد تولیدی و تولید مثلی و سلامت گاوهای هلشتاین در دوره قبل و بعد از زایش

بهرام محتشمی[۱]، حمیدرضا الموتی[۲] و حامد خلیلوندی بهروزیار[۳]

۱- دانشجوی دکتری دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسوول: bahram.mohtashami@yahoo.com)
۲- دانشیار دانشگاه زنجان
۳- استادیار دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۰۹
صفحه: ۷۲ تا ۷۹

چکیده

به‌منظور بررسی اثر استفاده از مونسین (مونسین سدیم ۱۰ درصد؛ ۳۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر رأس گاو در روز) بر عملکرد تولیدی و تولید مثلی و همچنین سلامت گاوهای هلشتاین در دوره انتقال، آزمایشی با استفاده از ۱۰۰ رأس گاو هلشتاین ۲۱ روز مانده به زایش تا یک ماه بعد از زایش انجام شد. گاوها براساس تاریخ زایش به دو گروه کنترل و دریافت کننده مونسین تقسیم شدند (هر گروه شامل ۵۰ رأس گاو). گاوها دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند. مصرف مونسین بر ماده خشک مصرفی اثر معنی‌دار نداشت. تولید شیر گاوهای گروه مونسین نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. از لحاظ روزهای باز گروه دریافت کننده مونسین تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشت (p = ۰/۰۲۱۱). به این ترتیب روزهای باز گروه دریافت‌کننده مونسین ۱۶ روز کمتر از گروه کنترل بود. درصد گیرایی اسپرم گاوهای تلقیح شده در گروه شاهد و گروه مونسین به‌ترتیب ۴۳/۲ و ۸۱/۵ درصد بود (p = ۰/۰۱۱۳). درصد آبستنی گاوهای گروه مونسین (۳۴/۶ درصد) به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل (۲۸/۴ درصد) بود (p = ۰/۰۱۰۰). همچنین فاصله زایش تا اولین تلقیح در گروه شاهد نسبت به گروه مونسین بیشتر بود (p = ۰/۰۳۱۷). مصرف مونسین سبب کاهش غلظت سرمی بتاهیدروکسی بوتیریک اسید نسبت به گروه شاهد شد. به‌طور کلی می‌توان گفت که استفاده از مونسین در دوره انتقال می‌تواند اثرات مفیدی روی سلامت، عملکرد تولیدی و تولید مثلی گاوهای هلشتاین داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: تولید شیر، دوره انتقال، روزهای باز، زایش، مونسین

مقدمه

در طی مرحله انتقال در انتهای آبستنی (۲۱ روز مانده به زایش) تا اوایل شیردهی (۲۱ روز بعد از زایش)، به‌علت رشد بیش از حد جنین و نیاز دام برای تولید، نیاز به انرژی و گلوکز به‌شدت افزایش می‌یابد. در طی این ۴۲ روز مصرف گلوکز در گاوهای هلشتاین از ۱۰۰۰ تا ۱۱۰۰ گرم در روز به ۲۵۰۰ گرم در روز افزایش خواهد یافت. در اوایل شیردهی، میزان ماده خشک مصرفی برای تولید و نگهداری دام کفایت نمی‌کند و در نتیجه دام در (تعادل منفی انرژی) قرار می‌گیرد (۳). برای جبران این تعادل منفی انرژی، اسیدهای چرب زنجیر بلند از بافت چربی تجزیه شده و به کبد رفته و اکسیده می‌شوند و باعث تولید اجسام کتونی شده که منجر به بیماری کتوز و سندرم کبد چرب می‌گردد (۲۲).

در چنین شرایطی بکارگیری روش‌های مدیریتی سبب کاهش مشکلات اوایل زایش می شود (۱۱). در سال‌های اخیر استفاده از یونوفرها کمک‌های زیادی در جهت رفع این مشکلات کرده است. یونوفرها طبقه‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها هستند که باعث انتقال یون‌ها از غشاء باکتری‌ها می‌شوند و سبب کاهش فعالیت یا مرگ باکتری‌ها می‌شوند. مونسین یک نوع محرک رشد است و یونوفری است که از گونه باکتریایی استرپتومایسس سینومونسین تولید می‌شود. باکتری‌های گرم منفی مانع از نفوذ یونوفرها به داخل خود می‌شوند، بنابراین مونسین بطور انتخابی به‌دلیل تفاوت موجود در ساختار دیواره سلولی باکتری‌ها، سبب مهار فعالیت باکتری‌های گرم مثبت در مقابل باکتری‌های گرم منفی می‌شوند. باکتری‌های گرم مثبت موجود در شکمبه، استات، بوتیرات و آمونیاک تولید می‌کنند. ولی باکتری‌های گرم منفی موجود در شکمبه پروپیونات تولید می‌کنند که پیش‌ساز اصلی گلوکز است. در نتیجه استفاده از مونسین، باکتری‌های گرم مثبت از بین رفته و جمعیت میکروبی شکمبه به نفع باکتری‌های گرم منفی دگرگون می‌شود و باعث بالا رفتن نسبت پروپیونات به استات در شکمبه می‌گردد و تولید گاز متان کاهش یافته و گلوکز بیشتری برای سنتز لاکتوز و افزایش تولید شیر در غدد پستانی می‌شود (۱۸،۲۴).

افزودن مونسین در اوایل دوره شیردهی، به‌دلیل تولید بیشتر پروپیونات در شکمبه و تقویت فرآیند گلوکونئوژنیک می‌تواند انرژی و گلوکز بیشتری را در دسترس دام قرار دهد و از بیماری کتوز و کبد چرب پیشگیری کند و باعث تعدیل تعادل منفی انرژی در گاوهای تازه‌زا شود. مونسین با تحریک فرآیند گلیکونئوژنز و همچنین از طریق جلوگیری از دفع انرژی خام جیره بصورت متان، سبب بهبود متابولیسم انرژی در بدن دام می‌شود (۲۵). باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک نسبت به یونوفرها حساس هستند. در نتیجه استفاده از مونسین و کاهش جمعیت لاکتوباسیل‌ها در شکمبه خطر

ابتلا به اسیدوز کاهش می‌یابد. همچنین مصرف مونسین در دوره قبل از زایش سبب بهبود تعادل منفی انرژی در دوره بعد از زایش می‌شود (۴).

مونسین باعث تغییر مطلوب جمعیت شکمبه یعنی تولید اسید پروپیونیک بیشتر نسبت به اسید استیک و اسید بوتیریک می‌گردد. که این تغییرات سنتز گلوکز و بهره‌وری انرژی قابل سوخت و ساز را بهبود می‌بخشد (۲۰). همچنین مونسین خطر جابجایی شیردان (۲۸)، کتوز بالینی، و ورم پستان بالینی (۷) را کاهش داد. اثر کاهشی مونسین بر جابجایی شیردان قبلا هم در پژوهش‌های کانادایی گزارش شده بود. این منفعت مونسین به احتمال بسیار زیاد تابعی از بهبود وضعیت انرژی است که در گاوهای اوایل دوره شیردهی تغذیه‌شده با مونسین رخ می‌دهد. اثر کاهندگی آن بر روی کاهش ورم پستان (هر چند که کوچک است) ولی قبلا گزارش نشده است. به احتمال بسیار زیاد این اثر مونسین بازتابی از بهبود وضعیت سیستم ایمنی است (۱۹).

با توجه به اثرات مثبت مونسین در جهت بهبود وضعیت دام، هدف از این آزمایش بررسی اثرات استفاده از مونسین روی عملکرد تولیدی و تولید مثلی و همچنین سلامت گاوهای هلشتاین طی دوره قبل و بعد از زایش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش از دی ماه ۹۷ تا فروردین ۹۸ در مجتمع دامپروری شرکت کشت و صنعت و دامپروری مغان واقع در شهرستان پارس‌آباد مغان انجام گردید. ۱۰۰ رأس گاو خشک هلشتاین ۲۱ روز مانده به زایش تا یک ماه بعد از زایش در قالب ۲ تیمار و هر کدام با ۵۰ تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. گاوها به‌طور تصادفی در تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) گروه شاهد بدون دریافت مونسین، ۲) گاوهایی که ۳۵۰ میلی‌گرم مونسین سدیم ۱۰ درصد در روز دریافت کردند، قرار گرفتند. همه گاوها دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند.

جیره‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار NRC[1] گاو شیری (۱۶) و براساس احتیاجات غذایی گاو خشک و با توجه به ترکیب شیمیایی مواد خوراکی موجود تنظیم شد. ترکیب شیمیایی مواد خوراکی (پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، خاکسترخام، کلسیم و فسفر) مورد استفاده در تنظیم جیره‌های آزمایشی در آزمایشگاه تغذیه دام شرکت کشت و صنعت و دامپروری مغان با استفاده از روش‌های توصیه‌شده (۲) AOAC[2] و ون‌سوست (۲۷) تعیین گردید. اجزای تشکیل‌دهنده جیره‌های آزمایشی دوره خشک در جدول ۱ و برای دوره بعد از زایش (شیردهی) در جدول ۲ گزارش شده است.

جدول ۱- ترکیب مواد تشکیل دهنده جیره گاوهای خشک

Table 1. Ingredient composition of the dry cow diets

اقلام خوراکی (درصد جیره)	درصد
علوفه یونجه	۲۱
سیلاژ ذرت	۵۶
کلش	۶/۵
تفاله چغندر قند	۲/۵
دانه جو	۸/۲
کنجاله تخم پنبه	۵/۶
مکمل معدنی[1] و نمک	۰/۶
ماده خشک (درصد)	۴۸/۷
پروتئین خام (درصد ماده خشک)	۱۵/۴
الیاف محلول در شوینده اسیدی (درصد ماده خشک)	۲۵/۷
الیاف محلول در شوینده خنثی (درصد ماده خشک)	۴۱/۲
کلسیم (درصد ماده خشک)	۰/۸
فسفر (درصد ماده خشک)	۰/۵
انرژی خالص شیردهی (مگا کالری در کیلوگرم)	۱/۵

هر کیلوگرم مکمل معدنی شامل ۶۴/۵ گرم منگنز، ۳۳/۸ گرم روی، ۱۰۰ گرم آهن، ۸ گرم مس، ۶۴۰ میلی‌گرم ید، ۱۹۰ میلی‌گرم کبالت و ۸ گرم سلنیوم

1- Nutrient Requirements of Dairy Cattle
2- Association of Official Analytical Chemists

جدول ۲- ترکیب مواد تشکیل‌دهنده جیره گاوهای شیری

Table 2. Ingredient composition of the lactating cow diets

اقلام خوراکی (درصد جیره)	درصد
علوفه یونجه	۱۵
سیلاژ ذرت	۴۵
دانه ذرت	۶/۱
تفاله چغندر قند	۵
دانه جو	۷/۲
کنجاله سویا	۶/۳
کنجاله تخم پنبه	۵
سبوس گندم	۳/۵
کربنات کلسیم	۰/۵
مکمل ویتامینه[۱]	۰/۵
مکمل معدنی[۲] و نمک	۰/۶
ماده خشک (درصد)	۴۴/۱
پروتئین خام (درصد ماده خشک)	۱۷/۳
الیاف محلول در شوینده اسیدی (درصد ماده خشک)	۲۲/۲
الیاف محلول در شوینده خنثی (درصد ماده خشک)	۳۵/۷
کلسیم (درصد ماده خشک)	۱
فسفر (درصد ماده خشک)	۰/۵
انرژی خالص شیردهی (مگا کالری در کیلوگرم)	۱/۸

۱- هر کیلوگرم مکمل ویتامینه شامل ۴۴۰۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۷۲۰۰۰ واحد ویتامین D، ۱۴۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین K، ۶۴۰ میلی‌گرم کوبالامین، ۶۱۲ میلی‌گرم تیامین، ۳۰۰۰ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۴۸۹۶ میلی‌گرم اسیدپانتوتنیک، ۱۲۱۶۰ میلی‌گرم نیاسین، ۶۱۲ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۲۰۰۰ میلی‌گرم بیوتین و ۲۶۰ میلی‌گرم کولین کلراید

۲- هر کیلوگرم مکمل معدنی شامل ۶۴/۵ گرم منگنز، ۳۳/۸ گرم روی، ۱۰۰ گرم آهن، ۸ گرم مس، ۶۴۰ میلی‌گرم ید، ۱۹۰ میلی‌گرم کبالت و ۸ گرم سلنیوم

جیره گاوها به‌صورت کاملاً مخلوط و ۲ بار در روز در ساعت‌های ۷ و ۱۴ در اختیار گاوها قرار گرفت. خوراک باقیمانده هر روز صبح وزن گردید تا مقدار خوراک مصرفی روزانه محاسبه شود. ماده خشک خوراک باقیمانده بوسیله خشک کردن در آون در دمای ۶۰ درجه برای ۴۸ ساعت تعیین شد. بعد از زایش گاوها جیره شیری را دریافت کردند.

شیردوشی سه نوبت در روز انجام و تولید شیر گاوها در همه وعده‌ها ثبت شد. وضعیت سلامتی حیوان از لحاظ بیماری‌ها نیز توسط دامپزشک مجتمع روزانه بررسی و ثبت شد.

خونگیری به‌ترتیب در روزهای ۲۱-، ۱۴-، ۷-، ۰، ۷، ۱۴، ۲۱ به‌وسیله لوله‌های تحت خلأ از محل سیاهرگ دمی انجام گرفت. نمونه‌ها سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. نمونه‌ها تا زمان انجام آنالیز آزمایشگاهی در دمای ۲۱- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲ تیمار و هرکدام با ۱۸۰ تکرار انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار R و رویه Freq انجام شد (۱۴). آنالیز داده‌های مربوط به متابولیت‌های سرمی و ماده خشک مصرفی با استفاده از رویه MIXED انجام گرفت. نرمال‌بودن متغیرهای آزمایش تست شده و از تبدیل لگاریتمی برای داده‌های غیرنرمال استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش توکی انجام شد. سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

ماده خشک مصرفی

استفاده از مونسین هیچ اثر معنی‌داری روی ماده خشک مصرفی گاوها در طول آزمایش نداشت. رامانزین و همکاران (۲۱) نشان دادند که استفاده از ۳۰۰ میلی‌گرم مونسین در روز در گاوهای اوایل و اواسط شیردهی تمایل به کاهش ماده خشک مصرفی داشت. علاوه بر این‌ها اضافه کردن ۲۲ میلی‌گرم در کیلوگرم مونسین به مخلوط خوراک بر اساس ماده خشک هیچ اثری روی ماده خشک مصرفی گاوها نداشت (۱۷). تفاوت در نتایج گزارش شده ممکن است به‌دلیل مقدار مصرف مونسین، تعداد حیوان، مرحله شیردهی، شرایط فیزیولوژیک حیوان و حتی نوع جیره باشد. برخی از محققین به تأثیرات مثبت مونسین بر ماده خشک مصرفی اشاره کرده‌اند، افزایش مصرف خوراک در زمان استفاده از مونسین ممکن است به‌دلیل تسریع گوارش غذا باشد (۴).

تولید شیر

استفاده از مونسین طی دوره قبل و بعد از زایش باعث افزایش تولید شیر بعد از زایش شد (p = ۰/۰۴۲۷). بر اساس مطالعات ون‌در ورف و همکاران (۲۶) استفاده از ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در روز مونسین بین ۴ تا ۲۴ هفته ابتدایی شیردهی در گاو شیری باعث افزایش تولید شیر شده است. اما در مطالعه‌ای که گرین و همکاران (۹) انجام دادند استفاده از مونسین تاثیر معنی‌داری روی تولید شیر نداشت. همچنین فیپس و همکاران (۲۰) نشان دادند که استفاده از مونسین در خوراک به‌مقدار ۱۵۰، ۳۰۰ یا ۴۵۰ میلی‌گرم در روز باعث افزایش تولید شیر شد. دافیلد و همکاران (۵) بیان کردند که تاثیر مونسین روی تولید شیر بستگی به فاکتورهای جیره‌ای دارد. علاوه بر این مرحله تولیدی حیوان، مقدار مصرف و تعداد حیوان نیز می‌تواند باعث تغییر نتایج شود. افزودن مونسین به جیره غذایی با کاهش تولید متان و افزایش نسبت مولار پروپیونات به استات در شکمبه می‌تواند بازده استفاده از انرژی را در نشخوارکنندگان بهبود بخشیده و از این طریق سبب افزایش تولیدات دام شود (۱۳).

جدول ۳- ماده خشک مصرفی و تولید شیر گاوهایی که مونسین دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد
Table 3. Dry mater intake and milk yield of cows receiving Monensin compared to control group

متغیر	تیمارها		SEM[1]	*p*-value[2]
	شاهد	مونسین		
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز)				
قبل از زایش	۱۱/۳۱	۱۱/۶۴	۱/۳۳۷	۰/۸۳۰۱
بعد از زایش	۱۷/۶۵	۱۷/۷۳	۱/۷۱۹	۰/۱۴۷۲
شیر تولیدی (کیلوگرم در روز)	۲۶/۵۵[b]	۲۹/۱۸[a]	۲/۶۶۱	۰/۰۴۲۷

حروف غیرمشترک در هر ردیف نشانه معنی‌داری است.
۱- Standard Error Means: خطای استاندارد میانگین
۲- Probability Value: احتمال معنی‌داری

سلامتی

براساس نتایج به‌دست‌آمده ابتلا به بیماری در گاوهایی که مونسین دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد کمتر بود. مونسین به‌طور معنی‌داری درگیری با کتوز، جفت ماندگی و جابجایی شیردان را کاهش داد. بر اساس مطالعات مولینس و همکاران (۱۵) نیز استفاده از مونسین باعث کاهش بروز بیماری‌های متابولیکی و سایر بیماری‌های اوایل زایش می‌شود. احتمالاً یکی از دلایل کاهش درگیری با کتور در گاوهایی که مونسین دریافت کرده بودند این است که مونسین در کاهش غلظت اسیدهای چرب غیر استریفیه، بتاهیدروکسی بوتیریک اسید و استواستات خون و کاهش خطر ابتلا به کتوز مفید بوده است. همچنین مونسین باعث افزایش غلظت گلوکز پلاسما نیز می‌شود. شدت این اثرات مفید مونسین در دوره انتقال بیشتر از سایر مراحل تولیدی گاو بوده است. این اثرات مونسین به‌واسطه تغییر الگوی تخمیر شکمبه به سمت تولید پروپیونات و در نتیجه افزایش غلظت گلوکز خون و بهبود وضعیت متابولیکی حیوان رخ می‌دهد (۶). براساس آزمایشات دافیلد و همکاران استفاده از ۲۰۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم مونسین به ازای هر رأس دام در روز در دوره خشکی باعث افزایش تولید پروپیونات می‌شود.

جدول ۴- میزان بروز بیماری در گاوهایی که مونسین دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد
Table 4. Incidence of the disease of cows receiving Monensin compared to control group

ناهنجاری	تیمارها	
	شاهد	مونسین
جفت ماندگی	۴	۲
کتوز	۹	۵
متریت	۱۳	۱۰
ورم پستان	۳	۳
جابجایی شیردان	۲	۲
لنگش	۳	۱
سختزایی	۶	۳
سایر بیماری‌ها *	۲	۱
دو یا چند بیماری	۴	۴

*: سایر ناهنجاری‌ها شامل: پنومونی، واژنیت، آرتریت قلبی، زخم شیردان و غیره می‌باشد

عملکرد تولید مثلی

روزهای باز، درصد گیرایی، درصد آبستنی و فاصله زایش تا اولین تلقیح در گاوهای مورد آزمایش در جدول ۴ گزارش شده است. روزهای باز در گاوهای گروه مونسین به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود (p = ۰/۰۳۴۲). مونسین به‌دلیل تولید بیشتر پروپیونات در شکمبه و تقویت فرآیند گلوکونئوژنیک می‌تواند انرژی و گلوکز بیشتری را در دسترس دام قرار دهد و تعادل منفی انرژی را کاهش دهد، که این امر می‌تواند به کاهش روزهای باز در دام کمک بکند (۲۵). در مطالعه‌ای که قندهاری و همکاران (۸) انجام دادند مصرف مونسین طی دوره انتظار زایش اثرات معنی‌داری روی روزهای باز نداشت. گاوهای دریافت کننده مونسین دارای درصد گیرایی بهتری نسبت به گروه شاهد بودند به‌طوری‌که درصد گیرایی گروه مونسین تقریباً دو برابر گروه شاهد بود (p = ۰/۰۰۴۲). درصد آبستنی در گاوهای گروه شاهد و گروه مونسین به‌ترتیب برابر با ۲۸/۴ و ۳۴/۶ درصد بود (p = ۰/۰۱۰۰) که نشان می‌دهد گاوهایی که مونسین دریافت کرده بودند دارای درصد آبستنی بالایی نسبت به گروه شاهد بودند که می‌توان این بهبود را به دسترسی گاوهای گروه مونسین به انرژی بالا نسبت به گروه شاهد ربط داد. از لحاظ فاصله زایش تا اولین تلقیح نیز گاوهای گروه مونسین نسبت به گروه شاهد دارای فاصله کمتری بودند (p= ۰/۰۳۰۱). احتمالاً عملکرد تولیدمثلی خوب گروه مونسین را می‌توان به دسترسی بیشتر آنها به انرژی در اثر تولید پروبیوتیک بالا در شکمبه مرتبط دانست.

جدول ۵- روزهای باز، درصد گیرایی، درصد آبستنی و فاصله زایش تا اولین تلقیح گاوهایی که مونسین دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد

Table 5. Open days, conception rate, pregnancy rate and calving to first insemination distance of cows receiving Monensin compared to control group

متغیر	تیمارها		SEM1	p-value2
	شاهد	مونسین		
روزهای باز	۹۱/۷۱[a]	۷۶/۱۱[b]	۳/۲۷۱	۰/۰۳۴۲
درصد گیرایی	۴۳/۰۴[b]	۸۰/۵۳[a]	۰/۱۲۱	۰/۰۰۴۲
درصد آبستنی	۲۸/۹۲[b]	۳۴/۰۰[a]	۰/۰۲۲	۰/۰۱۰۰
فاصله زایش تا اولین تلقیح	۸۵/۲۵[a]	۶۲/۱۷[b]	۴/۷۷۴	۰/۰۳۰۱

حروف غیرمشترک در هر ردیف نشانه معنی‌داری است.
۱- Standard Error Means : خطای استاندارد میانگین ۲- Probability Value : احتمال معنی‌داری

متابولیت‌های خونی

اسیدهای چرب غیراستریفه (NEFA)[1]، بتهیدروکسی بوتیریک اسید، گلوکز، اوره و انسولین خون مربوط به تیمارهای آزمایشی قبل و بعد از زایش در جدول ۶ گزارش شده است. غلظت سرمی اوره قبل از زایش کمتر از دوره پس از زایش بود و همچنین در هنگام زایش دارای بالاترین مقدار بود. به‌علاوه دام‌های شکم اول به‌طور معنی‌داری غلظت سرمی اوره پایین‌تری در مقایسه با دام‌های چند شکم داشتند. افزودن مونسین تأثیر معنی‌داری روی غلظت سرمی اسیدهای چرب غیراستریفه (NEFA) و گلوکز نداشت. غلظت سرمی انسولین تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. گاوهای تیمار شده با مونسین به‌طور عددی غلظت سرمی بالاتری نسبت به گروه شاهد در زمان زایش داشتند ولی این تفاوت معنی‌دار نبود. اثر متقابل بین گروه آزمایشی و زمان آزمایش که شامل قبل و بعد از زایش می‌باشد، برای غلظت سرمی بتاهیدروکسی بوتیریک اسید (BHBA)[2] معنی‌دار بود. در هنگام زایش و بعد از آن گروه شاهد دارای بالاترین غلظت سرمی بتاهیدروکسی بوتیریک اسید بود و همچنین به‌طور عددی قبل از گوساله‌زایی کمتر از زمان بعد از زایش بود.

تغذیه مونسین به گاوهای انتقالی ۳ هفته قبل از زایش تا زمان زایش، غلظت سرمی بتاهیدروکسی بوتیریک اسید را هنگام زایش در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد (p= ۰/۰۳۰۱). این نتایج همسو با مطالعات دافیلد و همکاران (۵) و پترسون–وولف و همکاران (۱۹) می‌باشد. پس از زایش غلظت سرمی بتاهیدروکسی بوتیریک اسید افزایش یافت که همسو با مطالعات دافیلد و همکاران (۵) و پترسون–وولف و همکاران (۱۹) می‌باشد که گزارش کردند تغذیه مونسین به‌صورت کپسول آهسته رهش، غلظت سرمی بتاهیدروکسی بوتیریک اسید طی سه هفته پس از زایش حدود ۲۰ درصد کاهش داد. گرین و همکاران (۹) کاهش در غلظت سرمی بتاهیدروکسی بوتیریک اسید را گزارش کردند، اما این کاهش نسبت به مطالعه حاضر قابل توجه‌تر می‌باشد. هیوئر و همکاران (۱۰) گزارش کردند که تیمار مونسین غلظت سرمی بتاهیدروکسی بوتیریک اسید را هنگامی‌که ۲ هفته مانده به زایش به جیره اضافه گردید، به‌طور معنی‌داری کاهش داد. همچنین قندهاری و همکاران (۹) گزارش کردند که غلظت بتاهیدروکسی بوتیریک اسید در گاوهای دریافت کننده کروم و کروم–مونسین در زمان قبل از زایش نسبت به جیره شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. چندین مطالعه (۱،۹،۱۹،۲۳) نشان دادند که افزودن مونسین به جیره گاوهای دوره انتقال تأثیر معنی‌داری روی غلظت سرمی گلوکز نداشته است.

جدول ۶- متابولیت‌های خونی گاوهایی که مونسین دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد

Table 6. Blood metabolites of cows receiving Monensin compared to control group

متغیر	تیمارها		SEM[1]	p-value[2]
	شاهد	مونسین		
اسیدهای چرب غیراستریفه (میکرومول در لیتر)				
۲۱ روز قبل زایش	۲۰۰	۲۰۵	۷/۴۳۳	۰/۲۱۴۱
روز زایش	۳۶۰	۳۵۰	۶/۹۵۲	۰/۱۷۴۸
۲۱ روز بعد از زایش	۵۰۰	۴۶۰	۸/۶۱۶	۰/۳۲۴۱
بتاهیدروکسی بوتیریک اسید (میکرومول در لیتر)				
۲۱ روز قبل زایش	۵۵۰	۵۷۰	۱۱/۳۲۴	۰/۱۱۶۱
روز زایش	۷۱۰[a]	۶۵۰[b]	۱۳/۶۶۷	۰/۰۳۰۱
۲۱ روز بعد از زایش	۹۰۰[a]	۶۸۰[b]	۱۳/۵۹۷	۰/۰۰۱۰
انسولین (نانوگرم در میلی‌لیتر)				
۲۱ روز قبل زایش	۰/۸۱	۰/۷۶	۰/۰۱۷	۰/۵۷۱۲
روز زایش	۰/۲۰	۰/۲۱	۰/۰۲۲	۰/۶۶۴۹
۲۱ روز بعد از زایش	۰/۲۰	۰/۲۵	۰/۰۰۹	۰/۱۱۴۲
اوره (میکرومول در لیتر)				
۲۱ روز قبل زایش	۳/۳۰	۳/۴۴	۰/۴۲۱	۰/۲۷۷۷
روز زایش	۴/۷۰	۴/۹۲	۰/۳۳۹	۰/۳۰۱۴
۲۱ روز بعد از زایش	۳/۴۱[b]	۴/۵۷[a]	۰/۱۷۴	۰/۰۳۳۰
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)				
۲۱ روز قبل زایش	۶۳	۶۳	۱۱/۱۲۱	۰/۱۵۱۹
روز زایش	۶۲	۵۹	۹/۵۴۷	۰/۲۵۱۱
۲۱ روز بعد از زایش	۵۴	۵۵	۷/۵۴۱	۰/۱۰۱۷

حروف غیرمشترک در هر ردیف نشانه معنی‌داری است.
۱- Standard Error Means : خطای استاندارد میانگین ۲- Probability Value : احتمال معنی‌داری

1- Non-Esterified Fatty Acids 2- β-hydroxybutyric acid

استفاده از مونسین روی ماده خشک مصرفی گاوها تاثیر معنی‌داری نداشت، ولی تولید شیر گاوهایی که مونسین دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد بیشتر بود. همچنین استفاده از مونسین باعث کاهش بروز بیماری در اوایل زایش شد. مونسین خطر جابجایی شیردان، کتوز بالینی و اکثر ناهنجاری‌ها را کاهش داد. اثر کاهشی مونسین بر جابجایی شیردان قبلاً هم در پژوهش‌های کانادایی گزارش شده بود. این منفعت مونسین به احتمال بسیار زیاد تابعی از بهبود وضعیت انرژی است که در گاوهای اوایل دوره شیردهی تغذیه شده با مونسین رخ می‌دهد. همچنین مکمل مونسین سبب کاهش غلظت سرمی بتاهیدروکسی بوتیریک اسید و علاوه بر این سبب کاهش غلظت سرمی کتون‌ها پس از زایش گردید. در کل می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از مونسین در طی دوره انتقال با بهبود وضعیت انرژی حیوان اثرات سودمندی روی سلامت و تولید حیوان داشته باشد. روزهای باز گروه مونسین نسبت به گروه شاهد پایین‌تر بود. به این ترتیب که گروه مونسین به‌طور میانگین ۱۶ روز از لحاظ روزهای باز کمتر از گروه کنترل بود. درصد گیرایی گاوهای تلقیح شده در گروه مونسین تقریباً دو برابر گروه شاهد بود. درصد آبستنی گاوهای گروه مونسین نیز به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود. همچنین فاصله زایش تا اولین تلقیح در گروه شاهد نسبت به گروه مونسین بیشتر بود.

منابع

1. Abe, N., I.J. Lean, A. Rabiee, J. Porter and C. Graham. 1994. Effects of sodium Monensin on reproductive performance of dairy cattle. II. Effects on metabolites in plasma, resumption of ovarian cyclicity and oestrus in lactating cows. Australian Veterinary Journal, 71: 277-282.
2. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
3. Drackley, J.K. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? Journal of Dairy Science, 82: 2259-2273.
4. Duffield, T.F., S. LeBlanc, R. Bagg, K. Leslie, J. Ten Hag and P. Dick. 2003. Effect of a Monensin controlled release capsule on metabolic parameters in transition dairy cows. Journal of Dairy Science, 86: 1171-1176.
5. Duffield, T.F., D. Sandals, K.E. Leslie, K. Lissemore, B.W. McBride, J.H. Lumsden, P. Dick and R. Bagg. 1998b. Efficacy of Monensin for the prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 81: 2866-2873.
6. Duffield, T.F., A.R. Rabiee and I.R. Lean, A meta-analysis of the impact of Monensin in lactating dairy cattle. 2008c. Part 3. Health and reproduction. Journal of Dairy Science, 91: 2328-2341.
7. Dyk, P.B., R.S. Emery, J.L. Liesman, H.F. Bucholtz and M.J. VandeHaar. 1995. Prepartum non-esterified fatty acids in plasma are higher in cows developing periparturient health problems. Journal of Dairy Science, 78(l.1): 264.
8. Ghandehari, M., M. Khodaei-Motlagh and M. Kazemi-Bonchenari. 2018. Effects of Supplementation of Chromium, Monensin and Their Combination on Some Blood Metabolites, Liver Enzymes and Insulin in Close-Up Holstein Dairy Cows. Research on Animal Production, 9(20).
9. Green, B.L., B.W. McBride, D. Sandals, K.E. Leslie, R. Bagg and P. Dick. 1999. The impact of a Monensin controlled-release capsule on subclinical ketosis in the transition dairy cow. Journal of Dairy Science, 82: 333-342.
10. Heuer, C., Y.H. Schukken, L.J. Jonker, J.I.D. Wilkinson and J.P.T.M. Noordhuizen. 2001. Effect of Monensin on blood ketone bodies, incidence and recurrence of disease and fertility in dairy cows. Journal of Dairy Science, 84: 1085-1097.
11. Kashfi, H., A.R. Yazdani and M. Latifi. 2011. Economical study of effective management strategies on prevention of displaced abomasum in transition period in commercial dairy farms in Shahroud. Research on Animal Production, 2(4): 70-81.
12. Khorrami, B., S.A. Vakili and M. Danesh-Mesgaran. 2013. The Effect of Monensin, Thyme and Cinnamon Essential Oils on Nutrient Digestibility, Ruminal Dry Matter and Crud Protein Degradability of Some Feedstuff and Plasma Metabolites in Holstein Steers. Research on Animal Production, 6(11): 71-82.
13. McGuffey, R.K., L.F. Richardson and J.D. Wilkinson. 2001. Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. Journal of Dairy Science, 84: 194-203.
14. Mohtashami, B. and A. Hashemi. 2018. Experimental design and statistical analysis in agricultural science with R. 1, 1, Urmia University. Urmia, Iran, 292 pp. (Book)
15. Mullins, C.R., C.E. Moore, H.B. Green and K.L. Perfeld. 2011. Effects of Monensin on metabolic profile and feeding behavior of transition dairy cows. Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports, (2).
16. NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.

17. Osborne, J.K., T. Mutsvangwa, O. Alzahal, T.F. Duffield, R. Bagg, P. Dick, G. Vessie and B.W. McBride. 2004. Effects of Monensin on ruminal forage degradability and total tract diet digestibility in lactating dairy cows during grain-induced subacute ruminal acidosis. Journal of Dairy Science, 87: 1840-1847.
18. Oyoune, N., B. Mohtashami and H. Khalilvandi Behroozyar. 2018. Effect of different levels of Monensin on growth performance and rumen volatile fatty acid in weaning Holstein male calves. Animal Science journal (Pajouhesh and Sazandegi), 123: 47-58 (In Persian).
19. Petersson-Wolfe, C.S., K.E. Leslie, T. Osborne, B.W. McBride, R. Bagg, G. Vessie, P. Dick and T.F. Duffield. 2007. Effect of Monensin Delivery Method on Dry Matter Intake, Body Condition Score, and Metabolic Parameters in Transition Dairy Cows. Journal of Dairy Science, 90: 1870-1879.
20. Phipps, R.H., J.I. Wilkinson, L.J. Jonker, M. Tarrant, A.K. Jones and A. Hodge. 2000. Effect of Monensin on milk production of Holstein-Friesian dairy cows. Journal of Dairy Science, 83: 2789-2794.
21. Ramanzin, M., L. Bailoni, S. Schiavon and G. Bittante. 1997. Effect of Monensin on milk production and efficiency of dairy cows fed two diets differing in forage to concentrate ratios. Journal of Dairy Science, 80: 1136-1142.
22. Sovani, S., C. Heuer., W.M. Van Straalen and J.P.T.M. Noordhuizen. 2000. Disease in high producing dairy cows following post parturient negative energy balance. In Soc. Vet. Epid. Prev. Med. Proc. Edinburgh, UK, March 29-31. Soc. Vet. Epidemiol. Prev. Med., UK, pp: 33-50.
23. Thomas, E.E., S.E. Poe, R.K. McGuffey, D.H. Mowrey and R.D. Allrich. 1993. Effect of feeding Monensin to dairy cows on milk production and serum metabolites during early lactation. Journal of Dairy Science, 76(l): 280.
24. Tyler, J.W., D.F. Wolfe and R. Maddox. 1992. Clinical indications for dietary ionophores in ruminants. Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian -North American Edition- (COMP CONT EDUC PRACT), 14: 989-993.
25. Vallimont, J.E., G.A. Varga, A. Arieli, T.W. Cassidy and K.A. Cummins. 2001. Effects of prepartum somatotropin and Monensin on metabolism and production of periparturient Holstein dairy cows. Journal of Dairy Science, 84: 2607-2621.
26. Van der Werf, J.H., L.J. Jonker and J.K. Oldenbroek. 1998. Effect of Monensin on milk production by Holstein and Jersey cows. Journal of Dairy Science, 81: 427-433.
27. Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharide in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583-3597.
28. Van Winden, S.C.L., R. Jorritsma, K.E. Muller and J.P.T.M. Noordhuizen. 2003. Feed intake, milk yield and metabolic parameters prior to left displaced abomasums in dairy cows. Journal of Dairy Science, 86: 1465-1471.

Effects of Monensin on Dry Matter Intake, Milk Production and Healthy of Transition Holstein Dairy Cows

Bahram Mohtashami[1], Hamidreza Mirzaei Alamouti[2] and Hamed Khalilvandi-Behroozyar[3]

1- PhD Candidate Urmia University (Corresponding author: bahram.mohtashami@yahoo.com)
2- Associate Professor Zanjan University
3- Assistant Professor Urmia University
Received: November 8, 2020 Accepted: January 28, 2021

Abstract

Effects of the Monensin (Monensin sodium 10%, 350 mg/cow daily) on dry matter intake, milk production and healthy during the transition period and early lactation were determined in 360 Holstein cows. Cows were divided into groups of 2 depending on calving date. A total of 100 Holstein cows and heifers were assigned to a control group (n = 50) and administered 350 mg/cow daily of Monensin (n= 50). Cows had unlimited access to fresh water. However, no differences in dry matter intake between treatment groups were noted. Monensin significantly affected daily milk yield ($p< 0.05$). Significant effects of Monensin supplementation were observed on disease incidence. The open days of Monensin group had a significant difference with the control group ($p= 0.0211$). The Monensin group, on average, was 16 days in open days less than the control group. The conception rate in the control and Monensin groups was 43.2% and 81.5% respectively ($p= 0.0113$). The pregnancy rate of Monensin group (34.6%) was significantly higher than the control group (28.4%) ($p= 0.0100$). Also on the calving to first insemination distance was higher in the control group compared with Monensin ($p= 0.0317$). Monensin supplementation decreased postpartum BHBA concentration. Results suggest that prepartum and postpartum administration of Monensin increase milk production and healthy and can have beneficial effects on reproductive performance during early lactation.

Keywords: Milk Production, Monensin, Open days, Partum, Transition period

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

بررسی اثر عصاره ساپونین بر عملکرد تولیدی، برخی فراسنجه‌های خونی و پروتوزوای شکمبه‌ای گاوهای شیری هلشتاین

فریبا رضائی سرتشنیزی[۱]، مهدی بابائی[۲] و جمال سیف دواتی[۳]

۱- دانش‌آموخته دکترای تغذیه دام دانشگاه محقق اردبیلی، (نویسنده مسوول: Faribarezaei38@yahoo.com)
۲- گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳- دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۶
صفحه: ۸۰ تا ۸۷

چکیده

هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر عصاره ساپونین بر عملکرد تولیدی، برخی فراسنجه‌های خونی و پروتوزوای شکمبه در گاوهای شیری هلشتاین بود. در این مطالعه از ۲۰ رأس گاو هلشتاین ۲ شکم زایش کرده که یک گروه با میانگین تولید ۳۷/۹٤ کیلوگرم در روز و روزهای شیردهی ۹۸/٦۲ و گروه دوم با میانگین تولید شیر ۳۸/۹٦ و روزهای شیردهی ۹۸/٤٥ بودند، در یک دوره آزمایشی ۳۰ روزه (۲ دوره ۱۵ روزه) استفاده شد. تیمارها شامل ۱- شاهد (گروهی که عصاره ساپونین مصرف نکردند) و گروه دوم که ۸ میلی‌لیتر عصاره ساپونین استخراج شده از گیاهان نعنا، شیرین‌بیان و جنسینگ استفاده کردند. بعد از یک دوره استفاده، به منظور حذف اثر تیمارهای قبلی ۲۰ روز از جیره پایه استفاده شد و در دوره دوم جای تیمارها تغییر کرد. مصرف خوراک به صورت روزانه در هفته آخر هر دوره آزمایش ثبت شد. تولید شیر در هر وعده شیردهی در روزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ آزمایش ثبت شد. به منظور تعیین ترکیبات شیر، در روز ۱۵ آزمایش یک نمونه ۵۰ میلی‌لیتری از دوشش صبح هر گاو گرفته شد. جهت ارزیابی فراسنجه‌های خون، نمونه‌گیری در هر دوره در روز ۱۵ آزمایش صورت گرفت. نتایج نشان‌داد ماده خشک مصرفی، تولید شیر، درصد چربی شیر، درصد پروتئین شیر، تعداد سلول‌های سوماتیک شیر و نیتروژن اوره‌ای شیر تحت‌تأثیر افزودن عصاره ساپونین قرار نگرفت (p>۰/۰۵). غلظت تری‌گلیسرید با افزودن عصاره ساپونین به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (p<۰/۰۵). همچنین با افزودن عصاره ساپونین غلظت استات، کل اسیدهای چرب فرار و تعداد پروتوزوای شکمبه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p<۰/۰۵). به طور کلی عصاره ساپونین تأثیر منفی بر عملکرد گاوهای شیری هلشتاین نداشت.

واژه‌های کلیدی: تولید شیر، ساپونین، گاوهای شیری هلشتاین، نیتروژن اوره خون، نیتروژن اوره‌ای شیر

مقدمه

افزایش بازده شکمبه سبب بهبود تولید در نشخوار کنندگان پر تولید شده که یکی از اهداف مدیریت صحیح تغذیه در نشخوار کنندگان می‌باشد. روش‌های بهبود بازده شکمبه، منجر به کاهش اتلاف منابع انرژی و پروتئین از طریق کاهش تولید گاز متان و آمونیاک می‌شود. تخمیر در جهت افزایش تولید متان باعث کاهش بهره‌وری ۱۰ تا ۲۰ درصدی بازده شکمبه می‌گردد (۳۶). آنتی‌بیوتیک‌ها بیش از چندین سال است که در خوراک حیوانات، برای بهبود عملکرد و جلوگیری از بعضی از عوامل بیماری‌زای اختصاصی و افزایش میکروارگانیسم‌های مفید در میکروفلور روده استفاده می‌شوند، اما در حال‌حاضر استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد به‌دلیل توسعه عوامل میکروبی مقاوم در انسان ممنوع شده است و امروزه تلاش برای یافتن جایگزین‌های جدید برای آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره حیوانات افزایش یافته است (۳۷). بنابر دلایل ذکرشده دانشمندان علاقه‌مند شده‌اند تا افزودنی‌های دیگر از جمله اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی را به منظور تعدیل تخمیر در شکمبه و افزایش عملکرد تغذیه‌ای مورد ارزیابی قراردهند (۳۸). ساپونین‌ها جزو مهم‌ترین ترکیبات گلیکوزیدی گیاهی بوده که عملکردهای متفاوتی دارند و به‌عنوان یک سیستم دفاعی و ضد باکتریایی در خود گیاه عمل کرده، همچنین نقش‌های مؤثری بر الگوی تخمیر شکمبه دارند (۳۲). در شرایط برون‌تنی مصرف ساپونین به طور معنی‌داری شمار پروتوزوا را کاهش داد (۱۶،۱۹). پروتوزوای موجود در شکمبه با شکار باکتری‌ها موجب کاهش باز چرخ پروتئین در شکمبه می‌شوند. بنابراین پروتوزوا زدایی موجب افزایش بازدهی استفاده از نیتروژن و افزایش سنتز پروتئین میکروبی و متعاقباً افزایش ورود پروتئین میکروبی به دوازده می شود که پیامد آن افزایش رشد، تولید شیر و تولید پشم می‌باشد (۴۸) و می‌تواند از افزایش نیتروژن اوره‌ای خون در گاوهای شیری پس از زایش و افزایش غلظت ازت اوره و آمونیاک در مایعات سیستم تولید مثلی حیوان و به‌دنبال آن کاهش pH محیط رحمی و اثرات سو آن بر کیفیت اووسیت و جنین تشکیل شده در رحم مادر جلوگیری کند (۱۴). ساپونین علاوه بر باند شدن با آمونیاک و جلوگیری از افزایش بیش از حد آمونیاک در شکمبه، هنگام کاهش غلظت آمونیاک شکمبه آن را آزاد می‌کند و به ساخت پروتئین میکروبی کمک کند. البته ساپونین در شرایطی می‌تواند نقش میانجی را ایفا کند که NH_4 به اندازه کافی و دائماً در دسترس باشد (۲۰). ساپونین‌ها به‌عنوان مکمل‌های خوراک قابلیت تنظیم تخمیر شکمبه‌ای و بهبود مورد استفاده قرار گرفتن خوراک در نشخوار کنندگان را دارا می‌باشند (۳۲).

همچنین ساپونین‌ها دارای اثرات مهاری بر فعالیت و جمعیت میکروارگانیسم‌های مسوول بیوهیدروژناسیون در شکمبه می‌باشند و با مهار آخرین مرحله بیوهیدروژناسیون اسید چرب غیر اشباع، سبب افزایش تجمع اسید واکسینک و

کاهش اسید استئاریک می‌گردند (۲۳). در تمام مراحل سوخت و ساز (از بلع تا دفع) در حیوانات نشخوار کننده و سایر حیوانات اهلی مؤثر می‌باشند (۱۰). ساپونین به اسیدهای صفراوی اولیه (اسید کولیک و کنوداکسی کولیک) متصل و آن‌ها را در مقابل فعالیت میکروبی محافظت می‌کند، به طوری که گزارش شده ساپونین سبب کاهش اسیدهای صفراوی ثانویه (لیتوکولیک، داکسی کولیک و اورسوداکسی کولیک) در موش (۳۱) خوک (۴۳) و انسان (۳۳) می شوند.

بسیاری از عوامل مانند منابع، سطوح مکمل شدن و ترکیب جیره ممکن است پاسخ نشخوار کنندگان به ساپونین را تحت تأثیر قرار دهند. افزایش در گوارش پذیری نیتروژن و ماده آلی (۵۰) گوارش پذیری نشاسته، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (۴)، مصرف ماده خشک، تولید شیر و تولید چربی (۲۷) با افزودن روغن‌های اسانسی در گاوهای شیری مشاهده شده است. اگرچه اثرات گیاهان دارویی در گاوها به‌خصوص گاو گوشتی به‌طور گسترده‌ای مطالعه شده است ولی اثرات عصاره‌هایی مانند ساپونین که باعث بر تولید و ترکیبات شیر در گاوهای شیری دارند، مطالعه نشده است، بنابراین این تحقیق اثر عصاره ساپونین را بر عملکرد تولیدی، برخی فراسنجه‌های خونی و پروتوزوای شکمبه بررسی می‌کند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مجتمع کشت و دام شیر استان اصفهان در تابستان ۱۳۹۴ انجام شد. به‌منظور بدست آوردن عصاره ساپونین از گیاهان نعنا، شیرین بیان و جنسینگ استفاده شد. گیاهان مورد نظر آسیاب شدند و از الک شماره ۴۰ عبور داده شدندو از روش سوکسله با دو حلال متانول و استون به‌طور جداگانه استفاده شد. به این‌ترتیب که حدود ۳۰ گرم نمونه پودر شده درون کارتوش انتقال داده شد و در بخش استخراج‌کننده دستگاه قرار گرفت. حدود ۳۰۰ میلی‌لیتر حلال مورد نظر درون بالن ریخته شد و به منظور عمل استخراج از دمای ۵۰ به‌مدت ۴ تا ۵ ساعت استفاده شد. سپس فیلتراسیون در مرحله اول با استفاده از کاغذ صافی با پمپ خلأ انجام شد و در مرحله بعد از دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. به منظور حذف حلال، عصاره‌های حاصل در دستگاه روتاری تحت عملیات تقطیر در خلأ قرار گرفتند. از خلأ ۲۵ میلی‌متر جیوه در دمای ۵۰- ۵۵ استفاده شد تا میزان آسیب ترکیبات فنولیک به حداقل برسد. در نهایت، باقی‌مانده حلال با کمک گاز ازت حذف شد و عصاره‌های حاصل در ظروف شیشه‌ای تیره رنگ در یخچال نگهداری شدند (۳۹).

در این آزمایش از تعداد ۲۰ رأس گاو دو شکم زایش کرده نژاد هلشتاین در دو گروه ۱۰ تایی در ۲ دوره ۱۵روزه استفاده شد. گروه اول با میانگین تولید شیر ۳۷/۹۴ کیلوگرم و فاصله تلقیح ۱۲/۶۳ روز و روزهای شیردهی ۹۸/۶۳ بودند. گروه دوم با میانگین شیر ۳۸/۹۶ و فاصله تلقیح ۱۴/۰۹ روز و روزهای شیردهی ۹۸/۴۵ بودند. هر دو گروه از نظر وزن و شکم زایش یکسان انتخاب شدند تیمارها شامل گروه اول به‌عنوان شاهد و گروه دوم که ۸ میلی‌لیتر عصاره ساپونین را به‌صورت دهانی دریافت کردند. به منظور همانند سازی دو گروه، به گروه شاهد نیز ۸ میلی‌لیتر آب به‌صورت دهانی داده شد. بعد از ۱۵ روز استفاده از تیمارها گاوها به مدت ۲۰ روز به‌حال خود رها شدند که این دوره منظور حذف تیمارهای قبلی بود. گاوها در این بیست روز از جیره پایه استفاده کردند. سپس جای دو گروه عوض شد و در ۱۵ روز بعد گروهی که آب مصرف کردند عصاره ساپونین استفاده کردند و گروهی که عصاره ساپونین مصرف کردند آب مصرف کردند. جیره پایه بر اساس NRC (۲۹) تنظیم شد. اجزای خوراک و ترکیب شیمیایی جیره پایه در جدول ۱ آورده شده است. هر روز مقدار مشخصی خوراک متناسب با مصرف خوراک گاوهای شیری هر گروه به‌صورت جیره کاملاً مخلوط شده (TMR) تهیه و به‌صورت آزاد در ساعات ۸ صبح، ۱۲ ظهر و ۱۶ بعد از ظهر در اختیار آن‌ها قرار گرفت. آب نیز به صورت آزاد در اختیار گاوها قرار گرفت.

مصرف خوراک به‌صورت روزانه در هفته آخر آزمایش ثبت شد. گاوها ۳ مرتبه در ساعت ۹ صبح، ۱۷ عصر و ۱ بامداد مورد دوشش قرار گرفتند. تولید شیر در هر وعده شیردهی در روزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ آزمایش ثبت شد. به منظور تعیین ترکیبات شیر، در روز ۱۵ آزمایش یک نمونه ۵۰ میلی‌لیتر از دوشش صبح هر گاو گرفته شد و درصد پروتئین و درصد چربی شیر با استفاده از دستگاه میلکواسکن (فوسوماتیک ۵۰۰۰، فوس الکتریک هیلرود، دانمارک) و سلول‌های سوماتیک با استفاده از دستگاه Somatos (روسیه) و مطابق با استاندارد کشور روسیه (Gost 23453-90) تعیین شدند. جهت ارزیابی فراسنجه‌های خون، نمونه‌گیری در هر دوره در روز ۱۵ آزمایش، ۴ ساعت بعد از خوراک دهی صبح صورت گرفت. نمونه‌های خون به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد (با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه) و سرم آن‌ها جدا شد و تا زمان اندازه‌گیری، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تعیین گلوکز، پروتئین کل، ازت اوره‌ای خون، تری‌گلیسیرید با استفاده از کیت‌های پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر انجام شد.

مایع شکمبه به‌روش لوله مری از گاوها گرفته شد. pH مایع شکمبه با استفاده از دستگاه pH متر (هانا، مدل HI8318، رومانی) تعیین شد. برای تعیین اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه، نمونه‌های مایع شکمبه از پارچه متقال دو لایه عبور داده شد و جهت توقف فعالیت میکروبی و همچنین تثبیت ترکیبات فرار با نسبت ۵ به ۱ با متافسفریک اسید مخلوط شد (۱۱) و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (کرومپک، مدل CP-9002، هلند) نگهداری شد. به‌منظور تثبیت پروتوزوآ در نمونه‌های گرفته‌شده، از محلول فرمالدئید ۱۸/۵ درصد (فرمالدئید ۳۷ درصد رقیق شده به نسبت ۵۰:۵۰ با آب مقطر) به نسبت ۵۰:۵۰ (فرمالدئید: مایع شکمبه) استفاده شد. شمارش پروتوزوا با استفاده از لام مخصوص انجام گرفت. یک میلی‌لیتر از مایع شکمبه فرم آلدئیدی با چند قطره محلول رنگ‌آمیزی مخلوط گردید، لام در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۱۰ قرار گرفت، لامل روی آن گذارده شد. متوسط

تعداد پروتوزوا در ۵ مربع متوسط (N) شمارش گردید، تعداد در ۲۵ مربع (یعنی در حجم ۰/۱ میلی‌مترمکعب) محاسبه شد (N×۲۵). سپس غلظت در ۱ میلی‌مترمکعب (N×۲۵×۱۰) محاسبه شد. غلظت پروتوزوا در هر میلی‌لیتر از رابطه زیر محاسبه شد (۲۱).

غلظت پروتوزوا در هر میلی لیتر=رقت×N×۲۵×۱۰

داده‌های آزمایش در قالب طرح چرخشی با رویه Mixed، توسط نرم‌افزار SAS نسخه (۹/۲) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مدل آماری طرح به‌صورت زیر است. (رابطه ۱)

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

در این مدل Y_{ijk} متغیر وابسته، μ میانگین کل مشاهدات برای صفت مورد نظر، Ti اثر تیمار، P_j اثر دوره، S_k اثر تصادفی حیوان و e_{ijk}= اثر خطای آزمایشی است.

جدول ۱- اجزای جیره خوراکی پایه بر اساس درصد ماده خشک

Table 1. Ingredient and composition of basic diet based on dry matter

اقلام خوراکی	درصد از ماده خشک جیره
یونجه	۴۳/۳
دانه جو آسیاب شده	۴۳/۶
کنجاله سویا	۸/۷۵
سبوس گندم	۳/۳۵
مکمل معدنی و ویتامینی[1]	۰/۵
دی‌کلسیم فسفات	۰/۳
جوش شیرین	۰/۱
ترکیبات شیمیایی خوراک	
انرژی خالص شیردهی (مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک)	۱/۵۳
پروتئین خام (مگاکالری در کیلوگرم ماده‌خشک)	۱۴/۶۳
فیبر نامحلول در شوینده خنثی	۲۹/۸۰
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی	۱۸/۷۳
عصاره اتری	۰/۵۷

یک کیلوگرم مکمل ویتامینی و معدنی دارای ۲ میلیون واحد بین‌المللی ویتامین A، ۵۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین D، ۳۰۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۲۵۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان، ۱۲۵۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰۰ میل‌گرم ید، ۳۰۰ میلی‌گرم آهن، ۱۰ هزار میلی‌گرم منگنز، ۵۶۰۰ میلی‌گرم روی و ۱۰ میلی‌گرم سلنیوم

نتایج و بحث

عملکرد تولیدی

در این مطالعه اثر افزودن عصاره ساپونین بر عملکرد تولیدی در جدول ۲ گزارش شد. با افزودن عصاره ساپونین ماده خشک مصرفی نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار نگرفت (p> ۰/۰۵). نتایج ما با یافته‌های خدابخشی و همکاران (۲۵) که با تغذیه Rumex Sc (مخلوطی از ساکارومایسز سرویسیه، ساپونین و روغن‌های اسانسی) هیچ تفاوتی در مصرف ماده‌خشک بین تیمارها در گاوهای شیری مشاهده نکردند و با نتایج کومار و همکاران (۲۶) که با افزودن عصاره ساپونین چای در بزهای گادی مصرف ماده خشک تحت تأثیر قرار نگرفت در توافق بود. مشابه به این نتایج محققان دیگر ثابت کردند که ساپونین‌ها از منابع مختلف شامل۲۴۰ میلی‌گرم *Y.Schidigera* در کیلوگرم ماده خشک جیره (۳۵) و ۰/۹۶ گرم ساپونین‌های خام از فندوق صابونی غربی در کیلوگرم وزن بدن (۲) در جیره‌های گوسفند هیچ اثری بر مصرف خوراک نداشت.

در این مطالعه تولید شیر، درصد چربی شیر، درصد پروتئین شیر، تعداد سلول‌های سوماتیک شیر و غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر افزودن عصاره ساپونین قرار نگرفت (p>۰/۰۵). در توافق با نتایج ما، در گزارش ویلسون و همکاران (۴۸) تولید و ترکیبات شیر در گاوهای چند شکم زایش با افزودن عصاره یوکا (حاوی ساپونین) تحت تأثیر قرار نگرفت، همچنین در این تحقیق درصد پروتئین شیر کاهش یافت. در گزارش بیود و همکاران (۵) افزودن عصاره گیاهان (فلفل سرده، سینامالدهید، اوژنول) به‌صورت پلت و به‌میزان ۲/۲۷ کیلوگرم به‌ازای هر گاو تولید شیر تحت تأثیر قرار نگرفت. اما کاهش چربی شیر با افزودن عصاره گیاهان دارویی مشاهده شد.

در تحقیق خدابخشی و همکاران (۲۵) با تغذیه Rumex Sc (مخلوطی از ساکارومایسز سرویسیه، ساپونین و روغن‌های اسانسی) تولید و ترکیبات شیر به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر قرارگرفت که علت را به کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین جیره نسبت دادند که جریان پروتئین محافظت شده را افزایش داده و بنابراین راندمان تولید را افزایش می‌دهد. همچنین این محققین گزارش کردند که ترکیبات حاوی ساپونین با تغییر جمعیت پروتوزوا می‌توانند عملکرد تولیدی حیوان را افزایش دهند.

در مطالعه رودیس و همکاران (۳۴) تولید شیر و درصد چربی شیر با افزودن عصاره گیاهان دارویی بهبود یافت. در این مطالعه کاهش چربی شیر به تغییر اسیدهای چرب فرار نسبت داده شد که نسبت‌های استات به پروپیونات و سطوح بوتیرات با افزودن عصاره گیاهان دارویی تغییر کرد (۸،۷). همچنین کاهش نسبت استات به پروپیونات با استفاده از عصاره گیاهان دارویی مشاهده شده است (۹) که با نتایج ما متناقض بود. مطالعات انجام‌شده در مورد افزودن عصاره گیاهان دارویی و بویژه ساپونین بر تولید و ترکیبات شیر اندک می‌باشد و با افزودن گیاهان دارویی نیز نتایج متناقصی به‌دست آمده است که به تحقیقات بیشتر نیاز دارد.

جدول ۲- اثر افزودن عصاره ساپونین بر مصرف خوراک، تولید شیر و ترکیبات آن در گاوهای شیری هلشتاین
Table 2. Effect of Saponine extract on feed intake, milk production and its compounds in Holstein dairy cows

صفات	تیمارها		SEM	P-Value
	شاهد	عصاره ساپونین		
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز)	۲۲/۸۵	۲۳/۶۷	۰/۵۱	۰/۱۶
تولید شیر (کیلوگرم)	۳۷/۷۰	۳۸/۸۶	۰/۸۴	۰/۳۳
چربی شیر (درصد)	۳/۴۸	۳/۸۷	۰/۳۶	۰/۲۵
پروتئین شیر (درصد)	۲/۹۵	۲/۹۸	۰/۰۸	۰/۷۳
سلول‌های سوماتیک شیر (تعداد)	۳۵۶۸۴۹	۳۶۰۶۸۲	۵۳۳۶/۲۹	۰/۶۱
نیتروژن اوره‌ای شیر (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	۱۲/۹۰	۱۳/۲۴	۰/۵۸	۰/۳۶

فراسنجه‌های خونی

همانطور که درجدول ۳ ملاحظه می شود با افزودن عصاره ساپونین بر غلظت گلوکز خون، نیتروژن اوره‌ای خون و پروتئین تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0/05$). غلظت تری گلیسرید خون با افزودن عصاره ساپونین به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار گرفت ($p<0/05$) و در گروهی که عصاره ساپونین داده شد نسبت به گروه شاهد کاهش یافت.

نتایج متناقصی با افزودن عصاره ساپونین و گیاهان دارویی دیگر در نشخوار کنندگان مشاهده شده است. در مطالعه اعظمی و همکاران (۱) ساپونین افزوده شده در مقادیر صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم /کیلوگرم در جیره غلظت کلسترول را در گوسفندان بلوچی دریافت‌کننده ساپونین به‌طور معنی‌داری کاهش داد، اما غلظت نیتروژن اوره خون، گلوکز و تری‌گلیسرید به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار نگرفت که کاهش کلسترول را به توانایی آن‌ها برای تشکیل کمپلکس نامحلول با استرول‌هایی مانند کلسترول در روده نسبت دادند (۱۰). به‌علاوه ساپونین‌ها می‌توانند از جذب کلسترول و باز جذب نمک‌های صفراوی در روده باریک ممانعت کنند (۳۱). استفاده از جیره مکمل شده با ساپونین در بزغاله‌های سانن غلظت کلسترول را کاهش داد. همچنین در این آزمایش غلظت متابولیت‌های دیگر پلاسما مانند گلوکز، نیتروژن اوره‌ای خون تحت‌تأثیر قرار نگرفتند. غلظت تری‌گلسیرید در بزغاله‌ها در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. تحت‌تأثیر قرار نگرفتن گلوکز پلاسما و نیتروژن اوره‌ای خون را در این مطالعه به‌علت سطوح کم ساپونین‌های تجویز شده به بزهای سانن نسبت دادند.

واناپات و همکاران (۴۵) با افزودن ترکیب بوته گیاهان به‌مقدار ۱۰۰ گرم در روز در گاو گوشتی، کاهش نیتروژن اوره‌ای خون را مشاهده کردند که با یافته‌های آندو و همکاران (۳) و بوسکیت و همکاران (۷) موافق بود. چون غلظت نیتروژن اوره‌ای خون به‌مقدار زیادی به تولید آمونیاک در شکمبه بستگی دارد و نشان‌دهنده این است که رشد میکروبی و تخمیر با افزودن ساپونین تحت تأثیر قرار گرفته است. کاهش در نیتروژن اوره خون و نیتروژن اوره‌ای شیر نشان دهنده راندمان بهتر مورد استفاده قرار گرفتن پروتئین در جیره است و غلظت‌های بالای این دو فاکتور نشان‌دهنده اتلاف نیتروژن است (۴۸). کومار و همکاران (۲۶) با مکمل کردن عصاره ساپونین درخت چای هیچ اثری روی اکثر پارامترهای خون و PCV، هموگلوبین، گلوکز، نیتروژن اوره‌ای خون، پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، کراتینین و بیلی روبین مشاهده نکردند و همه پارامترهای خون در دامنه نرمال بودند. در تحقیق نصیری و همکاران (۲۸) نیز هیچ اثری روی پارامترهای خون در گوسفند با دادن ساپونین مشاهده نشد که نشان دهنده این است که ساپونین برای تغذیه در نشخوار کنندگان بی‌خطر است.

جدول ۳- اثر افزودن عصاره ساپونین بر فراسنجه‌های خونی گاوهای هلشتاین
Table 3. The effect of adding saponin extract on the blood parameters of Holstein cows

صفات	تیمارها		SEM	P-value
	شاهد	عصاره ساپونین		
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴۷/۶۲	۴۲/۸۰	۱/۹۵	۰/۰۹
نیتروژن اوره‌ای خون (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۶/۱۴	۱۴/۷۲	۱/۱۴	۰/۱۴
پروتئین کل خون (گرم در دسی‌لیتر)	۷/۲۸	۷/۱۵	۰/۲۴	۰/۶۵
تری کلیسرید خون (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۴/۸۲[a]	۱۱/۳۹[b]	۱،۰۶	۰،۰۰

pH مایع شکمبه‌ای، میکروارگانیسم‌های شکمبه و تعداد پروتوزوا

همانطور که در جدول ۴ نشان داده شده است، در این تحقیق تفاوت آماری معنی‌داری در pH مایع شکمبه‌ای با افزودن عصاره ساپونین مشاهده نشد ($p> 0/05$). ساپونین‌ها هم اثرات افزایشی (۱۳)، کاهشی (۳۰) و گاهی بدون اثر (۲۸) بر pH مایع شکمبه‌ای داشتند. تفاوت در نتایج مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت در جیره‌های آزمایشی، سطوح ساپونین استفاده شده باشد.

با افزودن عصاره ساپونین غلظت استات و غلظت کل اسیدهای چرب فرار به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<0/05$) و غلظت پروپیونات و بوتیرات به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر افزودن عصاره ساپونین قرار نگرفت ($p> 0/05$). نتایج تحقیقات در زمینه تأثیر ساپونین بر الگوی اسیدهای چرب تولید شده در شکمبه یکسان نیست، به‌طوری که وانگ و همکاران (۴۷) گزارش کردند ساپونین اثر معنی‌داری بر الگوی تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ندارد. در حالی‌که اراسموس و همکاران (۱۲) افزایش در مقدار اسیدهای چرب فرار شکمبه‌ای را به افزایش در فعالیت میکروبی نسبت دادند.

افزایش در تعداد میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ای و فعالیت آن‌ها منجر به تخمیر سریع‌تر خوراک در شکمبه که باعث افزایش تولید اسیدهای چرب فرار بیشتری در شکمبه نسبت به جذب توسط شکمبه می‌شود. همچنین در مطالعه گول و همکاران (۱۵) افزایش در غلظت پروپیونات در اثر کاربرد ساپونین در جیره گزارش شده است. افزایش تولید پروپیونات، فراهمی هیدروژن جهت تولید متان را کم می‌کند و موجب کاهش غلظت بوتیرات و استات که از محصولات نهایی عمل پروتوزوا می‌باشند، می‌شود. بنابراین پروتوزوا زدایی، الگوی تولید اسیدهای چرب فرار را به‌سمت تولید پروپیونات بیشتر و استات و بوتیرات کمتر سوق می‌دهد (۴۹). ولی در این مطالعه نتیجه معکوسی مشاهده شد. والاس و همکاران (۴۶) گزارش کردند مصرف ساپونین یوکا اثری بر رشد باکتری سلنوموناس که مهم‌ترین باکتری مولد پروپیونات است، نداشت، در حالی که رشد برخی دیگر از باکتری‌های شکمبه را تحت تأثیر قرار داد. در عین حال لورینکو و همکاران (۲۲) گزارش کردند که ساپونین گیاه کویلا اثری بر کل توده زنده و فعالیت میکروب‌های شکمبه ندارد. البته سازگاری سریع جمعیت میکروبی به ساپونین و تبدیل آن به ساپوژنین (۴۲) می‌تواند از اثرات منفی آن بر محیط شکمبه بکاهد. در شرایط برون‌تنی نیز عصاره گیاهی دارای ساپونین، تأثیر به‌سزایی بر الگوی تخمیر شکمبه‌ای نداشت (۲۳). نتایج متناقصی در گاوها با افزودن عصاره و روغن‌های اسانسی گیاهان دارویی مشاهده شده است. در گزارش واناپات و همکاران (۴۵) با افزودن ترکیب بوته چند گیاه به‌مقدار ۱۰۰ گرم در روز در گاوهای گوشتی هیچ تفاوت معنی‌داری در غلظت اسیدهای چرب فرار کل و غلظت بوتیرات مشاهده نشد، در حالی‌که غلظت استات کاهش یافت و غلظت پروپیونات با افزودن بوته گیاهان افزایش یافت. همچنین آندو و همکاران (۳) وواناپات و همکاران (۴۴) گزارش کردند که مکمل کردن عصاره گیاهان دارویی در جیره‌های مختلف غلظت اسیدهای چرب فرار را تغییر نداد. اما در تحقیق بوسکیت و همکاران (۶) مکمل روغن سیر استات را کاهش داد اما پروپیونات را افزایش داد.

در مطالعات مختلف درون‌تنی (۲۴،۴۶) و برون‌تنی (۱۶،۱۹،۴۷) ویژگی پروتوزوا زدایی ساپونین به اثبات رسیده است که با نتایج آزمایش اخیر همخوانی دارد، اما در مطالعه‌ای مشخص شد ساپونین موجب افزایش تعداد پروتوزوا می‌گردد(۴۹). از بین رفتن پروتوزوا موجب کاهش شکارگری باکتری‌ها توسط آن‌ها شده (۴۰) و در نتیجه کاهش دگرساخت پروتئین میکروبی از طریق بازیابی باکتری‌ها را به‌دنبال داشته که متعاقباً باعث افزایش جریان پروتئین میکروبی به روده خواهد شد (۱۸) یوکاریوت‌ها (مانند پروتوزوآ) به علت حضور کلسترول در ساختار غشایی نسبت به پرویوکاریوت‌ها (مانند باکتری‌ها) به ساپونین حساس‌ترند (۲۴). با این‌حال اثر پروتوزوآزدایی ساپونین در شکمبه سازگار می‌شوند و با تولید آنزیم‌های تجزیه کننده، ساپونین را به بخش سازنده‌اش (قند و ساپونین) تجزیه می‌کنند (۴۷). ساپوژنین حاصل از تجزیه ساپونین توانایی پروتوزوا زدایی ندارد (۱۷). وینا و همکاران (۴۹) گزارش کردند حضور ساپونین موجب کاهش نیتروژن آمونیاکی در شکمبه می‌شود و پیشنهاد کردند این کاهش در غلظت آمونیاک شکمبه می‌تواند به‌طور غیرمستقیم به واسطه کاهش پروتوزوآ در حضور ساپونین باشد.

جدول ۴- اثر افزودن عصاره ساپونین بر pH مایع شکمبه‌ای، میکروارگانیسم‌های شکمبه و تعداد پروتوزوای گاوهای هلشتاین
Table 4. The effect of adding saponin extract on rumen fluid pH, rumen microorganisms and protozoa number of Holstein cows

صفات	تیمارها		SEM	P-Value
	عصاره ساپونین	شاهد		
pH مایع شکمبه‌ای	۶/۴۶	۶/۴۱	۰/۰۵	۰/۶۲
استات (مول/۱۰۰ مول)	۷۱/۳۸^{a}	۶۷/۳۸^{b}	۰/۸۲	۰/۰۰
پروپیونات (مول/۱۰۰مول)	۸/۵۳	۸/۱۷	۰/۲۳	۰/۲۷
بوتیرات (مول/ ۱۰۰ مول)	۱۴/۶۵	۱۴/۸۵	۰/۳۲	۰/۸۷
غلظت کل اسیدهای چرب (مول/۱۰۰ لیتر)	۹۴/۶۵^{a}	۹۰/۲۰^{b}	۰/۸۹	۰/۰۰
شمارش پروتوزوا	۳/۹۳^{a}	۳/۱۵^{b}	۰/۱۳	۰/۰۰

افزودن عصاره ساپونین مصرف خوراک، تولید شیر، درصد چربی شیر، درصد پروتئین شیر، تعداد سوماتیک شیر و نیتروژن اوره‌ای شیر را در گاوهای شیری هلشتاین تحت تأثیر قرار نداد. این نشان‌دهنده این است که عصاره ساپونین هیچ اثر منفی بر عملکرد گاوهای هلشتاین نداشت. در میان فاکتورهای خونی غلظت تری‌گلیسرید به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر افزودن ساپونین کاهش یافت. همچنین غلظت استات، غلظت کل اسیدهای چرب فرار و تعداد پروتوزوای شکمبه نیز با افزودن عصاره ساپونین کاهش یافتند. بنابراین با توجه به نتایج مشاهده شده، نیاز به مقادیر و سطوح بیشتر عصاره ساپونین برای گرفتن یک پاسخ منطقی است.

منابع

1. Aazami, M.H., A.M. Tahmasbi, M.H. Ghaffari, A.A. Naserian, R. Valizadeh and A.H. Ghaffari. 2013. Effects of saponins on rumen fermentation, nutrients digestibility, performance, and plasma metabolites in sheep and goat kids. Annual Research and Review in Biolog, 596-607.
2. Abreu, A., J.E. Carulla, C.E. Lascano, T.E. Diaz, M. Kreuzer and H.D Hess. 2004. Effects of Sapindus saponaria fruits on ruminal fermentation and duodenal nitrogen flow of sheep fed a tropical grass diet with and without legume. Journal of Animal Science, 82(5): 1392-1400.

3. Ando, S., T. Nishida, M. Ishida, K. Hosoda and E. Bayaru. 2003. Effect of peppermint feeding on the digestibility, ruminal fermentation and protozoa. Livestock Production Science, 82(2-3): 245-248.
4. Benchaar, C., H.V. Petit, R. Berthiaume, T.D. Whyte and P.Y. Chouinard. 2006. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. Journal of Dairy Science, 89(11): 4352-4364.
5. Boyd, J., J.W. West, J.K. Bernard and S.S. Block. 2012. Effects of plant extracts on milk yield and apparent efficiency of lactating dairy cows during hot weather. The Professional Animal Scientist, 28(3): 338-343.
6. Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, P.W. Cardozo and C. Kamel. 2005. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. Journal of Dairy Science, 88(7): 2508-2516.
7. Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret and C. Kame. 2006. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science, 89(2): 761-771.
8. Cardozo, P.W., S. Calsamiglia, A. Ferret and C. Kamel. 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. Journal of Animal Science, 83(11): 2572-2579.
9. Cardozo, P.W., S. Calsamiglia, A. Ferret and C. Kamel. 2006. Effects of alfalfa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentrate diet. Journal of Animal Science, 84(10): 2801-2808.
10. Cheeke, P.R. 2000. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and Quillaja saponaria saponins in human and animal nutrition, In: Saponins in food, feedstuffs and medicinal plants. Springer, Dordrecht, 241-254
11. Coverdale, J.A., H.D. Tyler, J.D. Quigley and J.A. Brumm. 2004. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. Journal of Dairy Science, 87(8): 2554-2562.
12. Erasmus, L.J., P.M. Botha and A. Kistner. 1992. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. Journal of Dairy Science, 75(11): 3056-3065.
13. Eryavuz, A. and B.A. Dehority. 2004. Effect of Yucca schidigera extract on the concentration of rumen microorganisms in sheep. Animal Feed Science and Technology, 117(3-4): 215-222.
14. Garcia-Bojalil, C.M., C.R. Staples, C.A. Risco, J.D. Savio and W. Thatcher. 1998. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: productive responses. Journal of Dairy Science, 81(5): 1374-1384.
15. Goel, G., H.P.S. Makkar and K. Becker. 2008. Effect of Sesbania sesban and Carduus pycnocephalus leaves and fenugreek seeds and their extracts on partitioning of nutrient from roughage and concentrate based feeds to methane. Animal Feed Science Technology, 147: 72-89.
16. Guo, Y.Q., J.X. Liu, Y. Lu, W.Y. Zhu, S.E. Denman and C.S. McSweeney. 2008. Effect of tea saponin on methanogenesis, microbial community structure and expression of mcrA gene, in cultures of rumen micro-organisms. Letters in Applied Microbiology, 47(5): 421-426.
17. Gutierrez, J., R.E. Davis and I.L. Lindahl. 1959. Characteristics of saponin-utilizing bacteria from the rumen of cattle. Applied Microbiology, 7(5): 304.
18. Hess, H.D., R.A. Beuret, M. Lötscher, I.K. Hindrichsen, A. Machmüller, J.E. Carulla and M. Kreuzer. 2004. Ruminal fermentation, methanogenesis and nitrogen utilization of sheep receiving tropical grass hay-concentrate diets offered with Sapindus saponaria fruits and Cratylia argentea foliage. Animal Science, 79(1): 177-189.
19. Hu, W.L., J.X. Liu, J.A. Ye, Y.M. Wu and Y.Q. Guo. 2005, Effect of tea saponin on rumen fermentation in vitro. Animal Feed Science and Technology, 120(3-4): 333-339.
20. Hussain, I. and P.R. Cheeke. 1995. Effect of dietary Yucca schidigera extract on rumen and blood profiles of steers fed concentrate-or roughage-based diets. Animal Feed Science and Technology, 51(3-4): 231-242.
21. Ivan, M., P.S. Mir, K.M. Koenig, L.M. Rode, L.Neill, T. Entz and Z. Mir. 2001. Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep. Small Ruminant Research, 41(3): 215-227.
22. Lourenço, M., P.W. Cardozo, S. Calsamiglia and V. Fievez. 2008. Effects of saponins, quercetin, eugenol, and cinnamaldehyde on fatty acid biohydrogenation of forage polyunsaturated fatty acids in dual-flow continuous culture fermenters. Journal of Animal Science, 86(11): 3045-3053.
23. Khiaosa-Ard, R., S.F. Bryner, M.R.L. Scheeder, H.R. Wettstein, H.R. Leiber and M. Kreuzer. 2009. Evidence for the inhibition of the terminal step of ruminal α-linolenic acid biohydrogenation by condensed tannins. Journal of Dairy Science, 92(1): 177-188.
24. Klita, P.T., G.W. Mathison, T.W. Fenton and R.T. Hardin. 1996. Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep. Journal of Animal Science, 74(5): 1144-1156.
25. Khodabakhshi, R., M. Rezaeian, A. Khadem and M.A. Norouzian. 2013. Effect of Rumex Sc on ruminal fermentation, blood metabolites and performance of lactating dairy cow. Iranian Journal of Applied Animal Science, 3(3).
26. Kumar, M., A. Kannan, R. Bhar, A. Gulati, A. Gaurav and V.K. Sharma. 2017. Nutrient intake, digestibility and performance of Gaddi kids supplemented with tea seed or tea seed saponin extract. Asian-Australasian journal of Animal Sciences, 30(4): 486.
27. Kung Jr, L., P. Williams, R.J. Schmidt and W. Hu. 2008. A blend of essential plant oils used as an additive to alter silage fermentation or used as a feed additive for lactating dairy cows. Journal of Dairy science, 91(12): 4793-4800.

28. Nasri, S., H.B. Salem, V. Vasta, S. Abidi, H.P.S. Makkar and A. Priolo. 2011. Effect of increasing levels of Quillaja saponaria on digestion, growth and meat quality of Barbarine lamb. Animal Feed Science and Technology, 164(1-2): 71-78.
29. NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th review ed. National Academy of Sciences, Washington, D.C.
30. Mao, H.L., J.K. Wang, Y.Y. Zhou and J.X. Liu. 2010. Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. Livestock Science, 129(1-3): 56-62.
31. Oakenfull, D.G., D.E. Fenwick, R.L. Hood, D.L. Topping, R.L. Illman and G.B. Storer. 1990. Effects of saponins on bile acids and plasma lipids in the rat. British Journal of Nutrition, 42(2): 209-216.
32. Patra, A.K. and J. Saxen. 2009. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. Antonie van Leeuwenhoek, 96(4): 363-375.
33. Potter, J.D., R.J. Illman, G.D. Calvert, D.G. Oakenfull and D.L. Topping. 1980. Soya saponins, plasma lipids, lipoproteins and fecal bile acids: a double blind cross-over study. Nutrition Reports International, 22(4): 521-528.
34. Rhoads, R.P., M.V. Skrzypek, S.S. Block and L.H. Baumgard. 2010. The effects of dietary Thermal Care-R (TCR) on body temperature indices, production and metabolism in heat-stressed lactating cows. Journal of Dairy Science, 93: 413-416.
35. Santoso, B., A. Kilmaskossu and P. Sambodo. 2007. Effects of saponin from Biophytum petersianum Klotzsch on ruminal fermentation, microbial protein synthesis and nitrogen utilization in goats. Animal Feed Science and Technology, 137(1-2): 58-68.
36. Safaei A.R., N.M. Torbatinejad, H. Mansouri and S. Zerehdaran. 2014. Effects of Adding Poly-Ethylene-Glycol on Methane Production in Rumen, Digestion and Metabolic Energy of Grape and Lime Pomaces. Research on Animal Production, 5(9): 83-95 (In Persian).
37. Safamehr, A.R., F. Chavooshi and A. Nobakht. 2017. The effects of *Saturea* and *Thyme* medicinal plants with or without enzyme on performance, blood parameters in broiler chickens. Research on Animal Production, 8(16): 70-78 (In Persian).
38. Shahabi, S.H., Y. Chashnidel, A. Teimori Yansari and A. Jafarpour. 2016. Effect of Oregano essential oil and Canola oil on apparent digestibility, ruminal pH and ammonia and carcass quality characteristics of fattening Dalagh lambs. Research on Animal Production, 7(13): 127-135 (In Persian).
39. Su, L., J.J. Yin, D. Charles, K. Zhou, J. Moore and L.L. Yu. 2007. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. Food Chemistry, 100(3): 990-997.
40. Takahashi, J., B. Mwenya, B. Santoso, C. Sar, K. Umetsu, T. Kishimoto and O. Hamamoto. 2005. Mitigation of methane emission and energy recycling in animal agricultural systems. Asian-australasian journal of animal sciences, 18(8): 1199-1208.
41. Tassoul, M.D. and R.D. Shaver. 2009. Effect of a mixture of supplemental dietary plant essential oils on performance of periparturient and early lactation dairy cows. Journal of Dairy Science, 92(4): 1734-1740.
42. Teferedegne, B., F. McIntosh, P.O. Osuji, A.Odenyo, R.J. Wallace and C.J. Newbold. 1999. Influence of foliage from different accessions of the sub-tropical leguminous tree, Sesbania sesban, on ruminal protozoa in Ethiopian and Scottish sheep. Animal Feed Science and Technology, 78(1-2): 11-20.
43. Topping, D.L., G.B. Storer, G.D. Calvert R.J. Illman, D.G. Oakenfull and R.A. Weller. 1980. Effects of dietary saponins on fecal bile acids and neutral sterols, plasma lipids, and lipoprotein turnover in the pig. The American Journal of Clinical Nutrition, 33(4): 783-786.
44. Wanapat, M., A. Cherdthong, P. Pakdee and S. Wanapat. 2008. Manipulation of rumen ecology by dietary lemongrass (Cymbopogon citratus Stapf.) powder supplementation. Journal of Animal Science, 86(12): 3497-3503.
45. Wanapat, M., S. Kang, P. Khejornsart and S. Wanapat. 2013. Effects of plant herb combination supplementation on rumen fermentation and nutrient digestibility in beef cattle. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 26(8): 11-27.
46. Wallace, R.J., L. Arthaud and C.J. Newbold. 1994. Influence of Yucca shidigera extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. Applied and Environmental Microbiology, 60(6):1762-1767.
47. Wang, Y., T.A. McAllister, C.J. Newbold, L.M. Rode, P.R. Cheek and K.J. Cheng. 1998. Effects of *Quillaja Saponaria* extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the rumen simulation techniqus (rusitec). Animal Feed Science and Technology, 74: 143-153.
48. Wilson, R.C., T.R. Overton and J.H. Clark. 1998. Effects of Yucca shidigera extract and soluble protein on performance of cows and concentrations of urea nitrogen in plasma and milk. Journal of Dairy Science, 81(4): 1022-1027.
49. Wina, E., S. Muetzel, E. Hoffmann, H.P.S. Makkar and K. Becker. 2005. Saponins containing methanol extract of Sapindus rarak affect microbial fermentation, microbial activity and microbial community structure in vitro. Animal Feed Science and Technology, 121(1-2): 159-174.
50. Yang, W.Z., C. Benchaar, B.N. Ametaj, A.V. Chaves, M.L. He and T.A. McAllister. 2007. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. Journal of Dairy Science, 90(12): 5671-5681.

The Effect of Saponin Extract on Production Performance, Some Blood Parameters and Rumen Protozoa in Holstein Dairy Cows

Fariba Rezaei Sarteshnizi[1], Mehdi Babaai[2] and Jamal Seifdavati[3]

1- Ph.D. in Animal Nutrition, Mohaghegh Ardabili University,
(Corresponding author: Faribarezaei38@yahoo.com)
2- Department of Animal Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
3- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
Received: December 11, 2020 Accepted: March 16, 2021

Abstract

The aim of this research was to investigate the effect of saponin extract on production performance, some blood parameters and ruminal protozoan in Holstein dairy cows. In this study, out of 20 Holstein cows in second calving, two groups including, one group with an average milk production of 37.94 kg per day and lactation days was 98.62 and the second group with an average milk production of 38.96 kg per day and lactation days was 98.45, for a 30-day trial period (Two 15-day periods) was used. Treatments included 1- control (the group that did not use saponin extract) and the second group used 8 ml of saponin extract extracted from mint, licorice and gensing plants. After one period of use, in order to eliminate the effect of the previous treatments, the base diet was used for 20 days and in the second period, the place of the treatments was changed. Feed intake was recorded daily in the last week of each experiment. Milk production per lactation was recorded on days 5, 10 and 15 of the experiment. In order to determine the milk composition, on day 15 of the experiment, a 50 ml sample was taken from the milk of each cow in the morning. To evaluate blood parameters, sampling was performed on day 15 in each period. The results showed that dry matter intake, milk production, milk fat percentage, milk protein percentage, milk somatic cell count and milk urea nitrogen were not affected by the addition of saponin extract ($p<0.05$). Triglyceride concentration was significantly reduced compared to the control group with the addition of saponin extract ($p<0.05$). Also, with the addition of saponin extract, acetate concentration, total volatile fatty acids and the number of ruminal protozoa were significantly reduced ($p<0.05$). In general, saponin extract had no negative effect on the performance of Holstein dairy cows.

Keywords: Blood urea nitrogen, Holstein dairy cows, Milk production, Milk urea nitrogen, Saponin

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

اثر بازدارنده روغن ماهی بر تمایز سلول‌های مزانشیمی به سلول چربی در گوسفند

آرش وشکینی[۱]، فاطمه کوهکن[۲]، علی اسدی‌الموتی[۳]، عبدالرضا صالحی[۴] و عبدالله محمدی سنگ‌چشمه[۳]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران (نویسنده مسوول: arash.veshkini@yahoo.com)
۲- استادیار، گروه مولکولی، مرکز تحقیقات فناوری بن‌یاخته، تهران، ایران
۳- استادیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران
۴- دانشیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۱
صفحه: ۸۸ تا ۹۵

چکیده

در این مطالعه، بیان ژن‌ها و میرهای (miRNA) مرتبط با تمایز، چرخه سلولی و متابولیسم در سلول‌های بنیادی مزانشیمی گوسفند زندی تحت تیمار روغن ماهی به‌عنوان منبع اسیدهای چرب امگا ۳ بررسی شد. سلول‌های بنیادی مزانشیمی گوسفند پس از جداسازی به‌منظور اثبات پرتوانی بررسی شدند. سلول‌ها در حضور و یا عدم حضور ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روغن ماهی تیمار شدند و چرخه سلولی و القا مرگ برنامه‌ریزی شده در هر گروه از سلول‌ها به کمک فلوسایتومتری اندازه‌گیری شد (سه تکرار مستقل). در طراحی آزمایشی مشابه، این بار بیان میرها و ژن‌های پایین دست در مرحله رشد و تمایز به چربی در هر دو گروه مقایسه شد. سلول‌های مزانشیمی تیمار شده با روغن ماهی درصد آپوپتوز ثانویه بالاتری داشتند درحالی که چرخه سلولی تحت تاثیر قرار نگرفت. بیان میرهای تمایزی تحت تاثیر تیمار قرار نگرفتند، با این حال، بیان نسبی میر let-7a به‌طور معنی‌داری در گروه روغن ماهی کاهش یافت. تیمار روغن ماهی بیان نسبی ژن peroxisome proliferator-activated receptor را کاهش (۰/۳۹) و بیان Interleukin 1 beta را افزایش (۱/۸۵) داد. در سلول‌های تمایز یافته به چربی بیان PPARG کاهش یافت. روی هم‌رفته، نتایج این مطالعه خواص بازدارنده روغن ماهی بر تمایز سلول‌های مزانشیمی به سمت چربی را از طریق تاثیر مستقیم یا غیر مستقیم بر مسیر تنظیمی PPAR نشان داد، با این حال تفاوت معنی داری در بیان میرهای انتخاب شده، مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوز، اسیدچرب امگا ۳، تمایز، چرخه سلولی، سلول چربی، عوامل رونویسی هسته‌ای

مقدمه

سلول‌های مزانشیمی مشتق از بافت چربی، سلول‌های بنیادی پرتوانی هستند که قادر به تمایز به سلول‌های چربی، غضروف و استخوانی می باشند (۲۳). از سلول‌های مزانشیمی به‌عنوان مدل‌های مناسبی برای مطالعات متابولیکی و مخصوصاً ناهنجاری‌های متابولیکی مانند چاقی یاد می‌شود (۲۱،۲۲). تعادل نامناسب رژیم غذایی از لحاظ انرژی باعث اختلال در متابولیسم سلول‌های مزانشیمی از نظر چربی زایی و لیپوژنسیس می‌شود که در نتیجه می‌تواند به پیشرفت چاقی کمک کند (۲۸). از جمله عوامل مؤثر در کنترل نرخ چربی‌زایی میزان فعالیت فاکتورهای رونویسی، شامل peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ) و sterol regulatory element (SREBP-1) binding protein-1 می‌باشد (۱۰،۳۰). تنظیم بیان عوامل رونویسی هسته‌ای تحت‌تاثیر مستقیم RNAهای غیرکدکننده به‌نام miRNA (میر) قرار دارد. به‌عبارت دیگر، میرها همراه با عوامل رونویسی هسته‌ای نقش اصلی در تمایز سلول‌های مزانشیمی دارند (۲۴،۲۵).

پیش از این نشان داده شده است که اسیدهای چرب امگا ۳ از منبع روغن‌ماهی فعالیت ضد چربی‌زایی/لیپوژنسیس (۳۵،۷). دارند، با این‌حال مسیرهای درگیر هنوز به‌طور کامل شناخته نشده‌اند. اسیدهای چرب امگا ۳ به‌عنوان اسیدهای چرب ضروری شناخته می شوند و قابلیت سنتز از ابتدا را در بدن ندارند (۲۲). روغن ماهی به‌عنوان یک منبع غنی از اسیدهای چرب بلند زنجیر امگا ۳ مانند اسید ایکوزاپنتائنوئیک (C20:5 n-3) و اسید دکوزهگزائنوئیک (C22:6 n-3) شناخته می‌شود (۱۳،۲،۲۰). اسیدهای چرب بلندزنجیر اثر متقابل بر مجوعه واکنش‌های تنظیمی میرها (۵) و عوامل رونویسی هسته‌ای (۱۵) دارند که در نهایت سرنوشت پیچیده تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی را تعیین می‌کنند. در این رابطه، گزارش شده است که بیان حداقل ۱۵ میر در بافت‌های چربی زیر جلدی و احشایی گوسفند تحت‌تأثیر رژیم غذایی مکمل سازی شده با اسیدهای چرب امگا ۳ قرار گرفت (۱۶). همچنین، مطالعات آزمایشگاهی به‌وضوح نشان‌داد که مکمل امگا ۳ می‌تواند بیان (۲۳) miR-16 و miR-21(۹) در سلول‌های بنیادی را تغییر دهد.

در دهه‌های اخیر علاقه زیادی به استفاده از مکمل‌های چربی بر پایه اسیدهای چرب امگا ۳ در تغذیه دام به‌خصوص در دوره انتقال شده است، با این‌حال اطلاعات کافی در زمینه نقش این چربی‌ها بر چربی‌زایی و بروز بیماری‌هایی مثل چاقی وجود ندارد.

با این‌حال، مطالعات پیشین قادر به ارائه شواهد کافی در مورد چگونگی ایجاد ارتباط سلول‌ها بین عوامل رونویسی هسته‌ای و میرها و اسید های چرب نشده است، از این‌رو، در مطالعه حاضر سلول‌های مزانشیمی گوسفند به‌عنوان مدلی برای مطالعه اثر مکمل‌سازی روغن ماهی بر بیان ژن‌ها و میرهای تنظیمی مسیر لیپوژنسیس و چربی‌زایی استفاده شد.

مواد و روش‌ها

سلول‌های مزانشیمی از قطعات بافت چربی احشایی جمع‌آوری شده از سه میش بالغ نژاد زندی (در کشتارگاه پوریای شرق تهران) استخراج شدند. بافت چربی احشایی در لوله آزمایش ۵۰ سی‌سی حاوی محیط‌کشت DMEM (مکمل‌سازی شده با سه‌درصد پنی‌سیلین/ استرپتومایسین (Sigma-Aldrich) و سه درصد ماده ضدقارچ (Sigma-Aldrich) و روی یخ به آزمایشگاه منتقل شد. به‌محض ورود، نمونه‌ها به بافر نمکی منتقل و سانتریفوژ (۱۲۰۰ دور به‌مدت پنج دقیقه) شدند تا گلبول‌های قرمز و سفید حذف شوند. این مرحله سه بار تکرار شد. نمونه‌ها به لوله آزمایش جدید حاوی DMEM همراه با ۱۰ میلی‌گرم کلاژناز نوع یک (Invitrogen) منتقل شدند و به‌مدت ۶۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد و پنج درصد CO_2 روی شیکر انکوبه شدند. سلول‌های جدا شده در اثر نیروی فیزیکی و فعالیت کلاژناز به‌کمک سانتریفیوژ (۱۲۰۰ دور به‌مدت پنج دقیقه) رسوب داده شدند و پلیت سلول‌ها به محیط DMEM جدید مکمل‌سازی شده با ۱۵درصد سرم گاوی، سه‌درصد پنی‌سیلین/استرپتومایسین و سه‌درصد ماده ضدقارچ منتقل شدند. سلول‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد و پنج‌درصد CO_2 تا زمان رسیدن به جمعیت مطلوب برای پاساژ دادن کشت داده شدند. پس از رسیدن تعداد سلول‌ها به حد مناسب سلول‌ها پاساژ داده شدند و گروهی از سلول‌ها برای آزمایشات بعدی فریز شدند.

اثبات مزانشیم بودن سلول‌های جدا شده در درجه اول با بررسی واکنش به آنتی‌بادی اختصاصی سطحی سلول‌های مزانشیمی شامل CD45، CD73 و CD166 توسط فلوسایتومتری (BD FACSCalibur، USA) مورد تایید قرار گرفت. علاوه بر این، پتانسیل چند توانی سلول‌ها با تمایز به چربی و استخوان اثبات شد. محیط تمایز چربی حاوی محیط DMEM پایه همراه با دگزامتازون یک میلی‌مولار، انسولین 1/7 میلی‌مولار، ایندومتاسین ۲۰۰ میلی‌مولار، isobutylmethylxanthine ۵۰۰ میلی‌مولار و ۱۰ درصد سرم گاوی بود. سلول‌ها به‌مدت ۲۱ روز و متوسط هر سه روز یکبار تعویض محیط تحت تمایز بودند. پس از روز ۲۱ سلول‌های تمایز یافته با پارفورمالدئید چهار درصد تثبیت و با رنگ‌آمیزی oil red رنگ شدند. برای تمایز به استخوان، سلول‌ها با محیط DMEM مکمل سازی شده با ۱۰۰ میلی‌مولار دگزامتازون، ۱۰ میلی‌مولار بتا گلیسرول فسفات، ۵۰ میلی‌مولار اسید اسکوربیک و ده درصد سرم گاوی کشت شدند. بعد از گذشت ۱۴ و ۲۱ روز سلول‌ها با پارارافرمالدئید چهاردرصد تثبیت شدند و سپس با رنگ Alizarin red (بهنوژن، ایران) طبق دستورالعمل سازنده رنگ‌آمیزی شدند.

در این مطالعه از روغن‌ماهی تجاری (شماره محصول F8020، مرک، آلمان) مناسب برای کشت‌سلولی استفاده شد. روغن‌ماهی در غلظت نهایی روغن ۱۵میلی‌گرم در میلی‌لیتر (مستخرج از مطالعه قبلی (۸)) به‌کمک پنج درصد (وزنی وزنی) فسفاتیدیل کولین تخم‌مرغ (سیگما) امولسیفه شد و به‌همراه ۰/۰۳ درصد (وزنی وزنی) butylated hydroxytoluene (به‌عنوان آنتی‌اکسیدان داخل سلولی) در محیط کشت استفاده شد. در کلیه آزمایشات در هر ۲۴ ساعت محیط‌کشت سلول‌ها و روغن‌ماهی تعویض شد. آزمایشات اولیه زیستایی و چرخه سلولی اثر ناچیزی از فسفاتیدیل کولین بر روی سلول‌ها نشان داد. سلول‌های مزانشیم پاساژ چهارم (در تراکم ۲۰۰۰ سلول در هر خانه) در ظرف ۲۴ خانه کشت داده شدند و بعد از ۲۴ ساعت، سلول‌ها به دو گروه تقسیم شدند: گروهی از سلول‌ها با محیط کشت (شاهد) و گروه دیگری با ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از روغن‌ماهی تیمار شدند. زیستایی سلول‌ها با روش MTT در روزهای ۲، ۳، ۴ و ۵ بعد از تیمار در هر دو گروه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری (Beckman Coulter، USA) در موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

سلول‌های مزانشیمی پاساژ سوم در ظرف شش خانه کشت شدند، سلول‌ها در مرحله رشد با و یا بدون روغن‌ماهی برای مدت ۴۸ ساعت تیمار شدند. پس از ۴۸ ساعت سلول‌ها به آزمایشگاه سلول بافت آزما (سبز) جهت آنالیز چرخه سلولی و آپوپتوز فرستاده شد.

به‌منظور بررسی تأثیر روغن ماهی بر تمایز سلول‌های مزانشیمی به‌سمت چربی، سلول‌های پاساژ چهارم به‌مدت ۲۱ روز در محیط تمایزی سلول‌های چربی قرار گرفتند. در ۴۸ ساعت اول تمایز، گروهی از سلول‌ها با ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر روغن‌ماهی تیمار شدند. در پایان تمایز، گروهی از سلول‌ها با استفاده از oil red به‌منظور تأیید تشکیل چربی رنگ‌آمیزی شدند. بقیه سلول‌ها برای تجزیه و تحلیل بیان میرها و ژن‌ها استفاده شدند. پس از تمایز، محیط به‌طور کامل برداشته شد، سلول‌ها سه‌بار با بافر فسفات سالین شسته شدند و یک میلی‌لیتر بافر لیز کننده به آنها اضافه شد. استخراج کل RNA، از سلول‌های چربی با استفاده از کیت GeneAll (RiboExTM LS، Korea) و بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده انجام شد. خلوص RNA سپس با استفاده از اسپکتروفوتومتری NanoDrop™ 2000c (Thermo Scientific، USA) بررسی شد. RNA استخراج شده به‌کمک کیت مخصوص بن‌میر شرکت بن‌یاخته به cDNA تبدیل شد. بررسی بیان میرها let-7a ، let-7g، miR-17، miR-27b، miR-33a، miR-101، miR-103، miR-122، miR-125b، miR-142، miR-143، miR-146 ، miR-195، miR-200a، miR-200b و miR-2368 و ژنهای ACSL6، SREBF1، PPARG، PTGS2، IL1B، NF-kB و TNFα به‌روش RT Real-time PCR و در دستگاه ABI 157 PRISM 7500 real-time PCR system (Applied Biosystems، USA) انجام گرفت. شرایط دمایی و زمانی واکنش Real-time PCR برای تکثیر میرها و ژن‌ها شامل دو مرحله واسرشت اولیه با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به‌مدت ۱۲۰ ثانیه و سپس واسرشت ثانویه شامل چرخه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت پنج ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه برای ۴۰ مرتبه بود. در پایان، سیکل‌های آستانه‌ای (CT) خام مربوط به بیان ژن‌های مرجع و هدف در نمونه‌های گروه‌های شاهد و تیمار ثبت شد. بیان

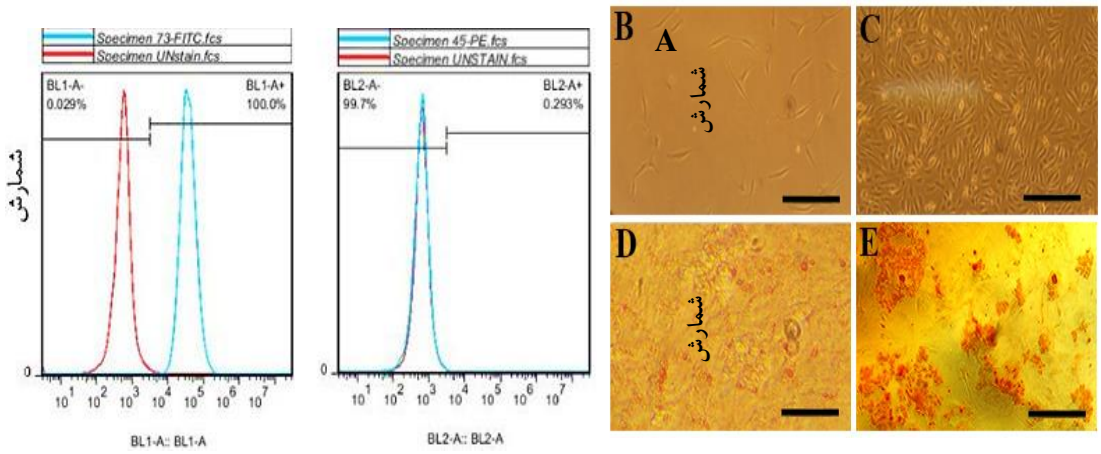
نسبی ژن‌های هدف نسبت به میانگین بیان ژن‌های مرجع β-actin و SNORD به‌روش 2-ΔΔCt محاسبه شد.

سه تکرار مستقل برای هر آزمایش انجام شد. داده‌های حاصل از چرخه سولی و آپوپتوز به‌کمک استودنت t و داده‌های حاصل از بیان ژن‌ها به‌کمک روش 2–ΔΔCt آنالیز شدند.

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین بیان شد و p<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹,۰ (SPSS، شیکاگو، ایالات متحده) انجام شد.

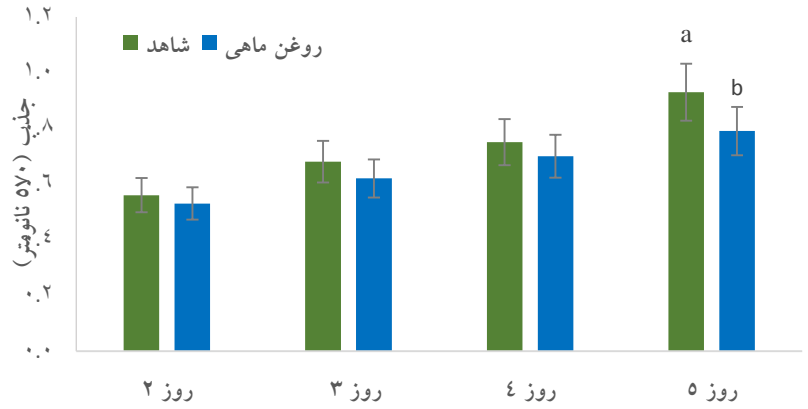
نتایج و بحث

بیان نشانگرهای اختصاصی سلول‌های مزانشیمی شامل CD166 وCD73 در سلول‌های مزانشیمی جدا شده مثبت و بیان نشانگرهای غیر اختصاصی CD45 منفی بود. همچنین تمایز به چربی و تمایز به استخوان با کمک رنگ‌آمیزی قطرات چربی تشکیل یافته و کانی‌سازی کلسیم در روز ۲۱ تمایز تأیید شد (شکل ۱). این نتایج مطابق با مطالعات قبلی است که نشانگرهای سطحی مثبت و منفی را در سلول‌های مزانشیمی معرفی کردند (۲۷،۱۹). علاوه بر این، قابلیت چندتوانی سلول‌ها با تمایز به‌سمت استخوان و چربی تایید شد (شکل ۱). این نتایج به‌وضوح صحت استخراج سلول‌های بنیادی پرتوان مزانشیمی را تایید کرد. مکمل‌سازی ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر روغن ماهی به سلول‌های مزانشیمی پاساژ سوم به‌مدت پنج روز باعث کاهش تدریجی قدرت بقا سلول‌ها شد، با این‌حال این اثر تنها در روز پنجم مکمل‌سازی معنادار بود (شکل ۲). غلظت موثر روغن ماهی از مطالعه قبلی (۸) انتخاب شد و نتایج آزمون زیستایی نشان داد که دوز انتخابی برای سلول‌ها کشنده نیست، اگرچه در روز پنجم کاهش رشد سلول‌ها نشان داده شد. ۴۸ ساعت پس از تیمار سلول‌ها با روغن ماهی، میانگین سلول‌ها در فاز G0-G1 به‌طور معنی‌داری در گروه روغن ماهی افزایش یافت با این حال میانگین سلول‌ها در فاز S چرخه سلولی کاهش یافت. همچنین تیمار روغن ماهی درصد سلول‌ها در فاز M را افزایش داد. نتایج آزمایش آپوپتوز القا آپوپتوز ثانویه در سلول‌های تیمار شده با روغن ماهی را نشان داد (شکل ۳).



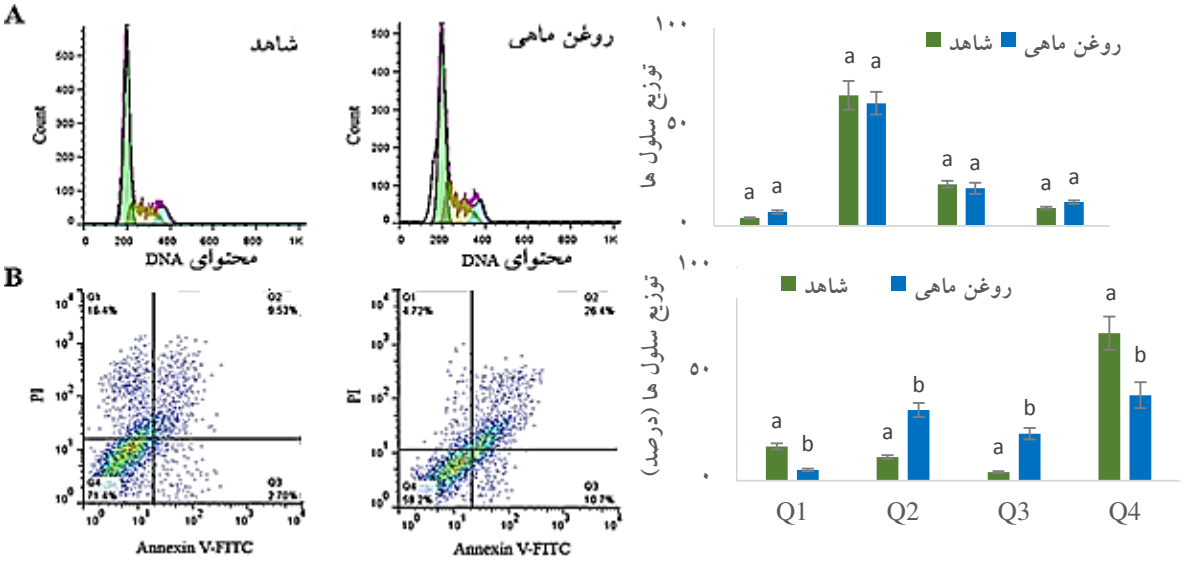
شکل ۱– A) بیان نشانگرهای اختصاصی و غیراختصاصی سلول‌های مزانشیمی، B و C) مورفولوژی سلول‌های مزانشیمی (مقیاس ۰/۱)، D) رنگ‌آمیزی E oil red) رنگ‌آمیزی alizarin red (مقیاس ۰/۵ میلی‌متر)

Figure 1. A) Expression of specific and nonspecific mesenchymal cells markers, B and C) Morphology of mesenchymal cells (scale 0.1 Mm), D) oil red staining E) alizarin red staining (scale 0.5 mm)



شکل ۲- اثر روغن ماهی (۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر زیستایی سلول‌های مزانشیمی گوسفند در روزهای مختلف اندازه‌گیری پس از اعمال تیمار، ستون‌های با حروف متفاوت تفاوت معنادار (p<۰/۰۵). دارند. نوار خطا نشان دهنده انحراف استاندارد از میانگین با حداقل سه تکرار مستقل است.

Figure 2. Effect of fish oil administration (15 mg / ml) on the viability of sheep mesenchymal cells on different days of measurement after treatment, columns with different letters represent significant difference (p <0.05). The error bar indicates the standard deviation from the mean (three independent replicate).



شکل ۳- اثر روغن ماهی (۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر A) چرخه سلولی B) القا آپوپتوز در سلول‌های مزانشیمی، ستون‌های با حروف متفاوت تفاوت معنادار (p<۰/۰۵). دارند. نوار خطا نشان دهنده انحراف استاندارد از میانگین با حداقل سه تکرار مستقل است.

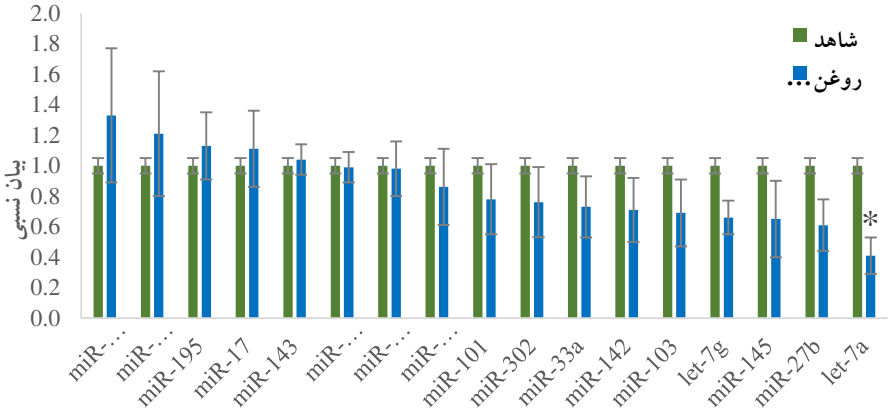
Figure 3. Effect of fish oil administration (15 mg / ml) on A) cell cycle B) apoptosis induction in mesenchymal cells, columns with different letters represent significant difference (p <0.05). The error bar indicates the standard deviation from the mean (three independent replicate).

القاء آپوپتوز در سلول‌های تحت تیمار روغن‌ماهی با توجه به آسیب‌پذیری باندهای غیر اشباع در برابر اکسیداسیون (۴) و احتمال تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن قابل توجیه است. همچنین، سوخت‌وساز اسیدهای چرب در میتوکندری و پروکسیزوم باعث افزایش تولید رادیکاهای فعال اکسیژن می‌شود. در تطابق با مطالعات قبلی، تیمار سلول‌ها با منابع مختلف اسیدهای چرب امگا ۳ باعث القا آپوپتوز و توقف چرخه سلولی شد (۳۲،۱۹،۱). هرچند سیکل سلولی در این آزمایش تحت تاثیر تیمار قرار نگرفت، با این‌حال به سمت وارسی گرایش داشت، که تا حدودی مؤید نتایج بخش آپوپتوز است. با این حال، در آزمایش بعدی بیان ژن‌های آپوپتوزیس اندازه مورد مطالعه قرار گرفت.

به منظور بررسی اثر روغن ماهی بر تمایز چربی، سلول‌های مزانشیم گوسفندی به‌سمت سلول چربی تمایز داده شد و در دو روز اول تمایز، گروهی از سلول‌ها با روغن ماهی تیمار شدند. ۲۱ روز پس از تمایز، بیان میرها و ژن‌های تمایزی مورد بررسی قرار گرفت. مکمل‌سازی محیط تمایزی با روغن ماهی بیان let-7a را کاهش داد (شکل ۴).

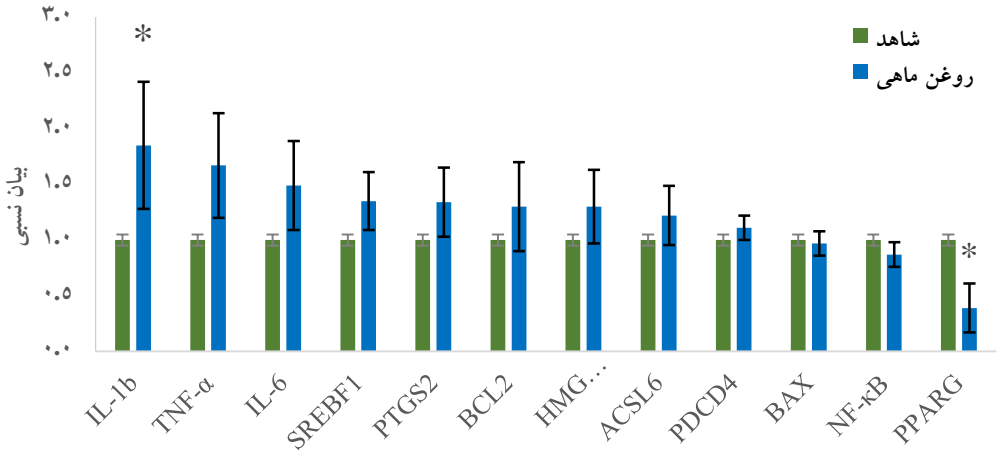
همچنین در بحث ژن‌ها، مکمل سازی محیط تمایزی با روغن ماهی بیان PPARG را کاهش و بیان IL-1β را افزایش داد (شکل ۵).

در فرآیند چربی‌زایی، برخی میرها مثل miR-17، miR-21، miR-122، miR-125b، miR-143، miR-103 و miR-200a به‌عنوان القا کننده چربی‌زایی عمل می‌کنند، در حالی‌که برخی دیگر مانند miR-17، miR-21، miR-122 و miR-125b به‌عنوان ضدچربی درنظر گرفته می‌شوند (۳،۳۷،۳۸). بیان میرهای انتخاب شده تحت‌تاثیر تیمار قرار نگرفت، به‌جز میر let-7a که به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. پیش از این گزارش شده است که بیان let-7a در خلال ادیپوژنیز کاهش می‌یابد (۳۱،۲۸)، همچنین محور Let-7/HMGA2 به‌عنوان یک سیگنال قوی در تنظیم مسیرهای استخوان‌سازی و چربی‌زایی شناخته شده است (۳۳،۳۶).



شکل ۴- اثر روغن ماهی (۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر بیان میرهای منتخب در سلول‌های مزانشیمی گوسفند در مرحله رشد، ستون‌های با اندیس ستاره تفاوت معنادار($p<۰/۰۵$) با گروه شاهد دارند. نوار خطا نشان‌دهنده انحراف استاندارد از میانگین است. بیان میرها در گروه شاهد توسط نرم‌افزار Rest یک با انحراف استاندارد صفر فرض شد و بیان میرها در گروه تیمار به‌صورت افزایش یا کاهش نسبت (ratio) به شاهد می‌باشد.

Figure 4. Effect of fish oil administration (15 mg/ml) on the microRNA expression of sheep mesenchymal cells during the growth phase, the column with a star index indicates a significant difference ($p < 0.05$) to the control group. The error bar indicates the standard deviation from the mean. The microRNA expression in the control group was assumed to one with a standard deviation of zero by the Rest software, and microRNA expression in the treatment group was represented by a ratio (increase or decrease) to the control.



شکل ۵- اثر روغن ماهی (۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر بیان ژن‌های منتخب در سلول‌های مزانشیمی گوسفند در مرحله تمایز به چربی، ستون‌های با اندیس ستاره تفاوت معنادار ($p<۰/۰۵$) دارند. نوار خطا نشان دهنده انحراف استاندارد از میانگین است. بیان ژن‌ها در گروه شاهد توسط نرم‌افزار Rest یک با انحراف استاندارد صفر فرض شد و بیان ژن‌ها در گروه تیمار به‌صورت افزایش یا کاهش نسبت (ratio) به شاهد می‌باشد.

Figure 5. Effect of fish oil administration (15 mg/ml) on the gene expression of sheep mesenchymal cells during the adipocyte differentiation, the column with a star index indicates a significant difference ($p < 0.05$) to the control group. The error bar indicates the standard deviation from the mean. The gene expression in the control group was assumed to one with a standard deviation of zero by the Rest software, and gene expression in the treatment group was represented by a ratio (increase or decrease) to the control.

مکمل روغن ماهی به طور قابل توجهی بیان PPARG را کاهش داد و بیان IL-1β را افزایش داد (شکل ۵)، درحالیکه بیان نسبی ASCL6 تحت‌تاثیر تیمار قرار نگرفت. اعضای خانواده ASCL مسیرهای مختلفی از جمله تشکیل و بازسازی قطرات لیپیدها، سنتز تری‌گلیسیرید و تمایز سلولی را تنظیم می‌کنند. اعضای خانواده ASCL مسیرهای مختلفی از جمله تشکیل و بازسازی قطرات لیپیدها، سنتز تری‌گلیسیرید و تمایز سلولی را تنظیم می‌کنند (۸) در تطابق با یافته‌های حاضر پیش از این نشان داده شد، که فراوانی نسبی ACSL در طی چربی‌زایی ثابت است. PPARγ به‌عنوان یکی از عوامل رونویسی به‌عنوان تنظیم کننده اصلی تمایز سلول‌های چربی شناخته می‌شود (۳۹). در حقیقت، میرها و ژن با خاموش یا فعال کردن PPARγ نقش تنظیمی خود را ایفا می‌کنند (۳۹). نتایج مطالعات دیگر به نوعی بحث برانگیز است. گروهی از محققین از اثر مهاری اسیدهای چرب امگا ۳ بر تمایز سخن گفته‌اند و این اثر را به کاهش بیان PPARG نسبت داده‌اند (۱۴،۳۴). در طرف مقابل تعدادی از مقالات، القا تمایز را از اثرات تیمار اسیدهای چرب امگا ۳ بر سلول‌های 3T3-L1 عنوان کرده‌اند (۹،۱۸) که این تناقض عمدتاً به‌دلیل تنوع در منبع، نوع و نسبت اسیدچرب استفاده شده برمی‌گردد. میرهای انتخاب‌شده در این آزمایش، بیان متفاوتی در هیچ‌یک از مراحل رشد و تمایز نداشتند که این امر ما را از بیان مسیرهای دقیق تمایز و ارتباط آنها با دیگر عوامل مؤثر در تمایز را عاجز می‌سازد.

در مجموع، روغن ماهی به‌عنوان منبع اسیدهای چرب امگا ۳ تمایز سلول‌های مزانشیمی به‌سمت سلول‌های چربی را از طریق مسیر PPARγ مهار کرد، هرچند بیان میرهای منتخب چه در مرحله رشد چه در مرحه تمایز، تحت تأثیر تیمار روغن ماهی قرار نگرفت. در این زمینه پیشنهاد می‌شود تکنولوژی‌های با بازده بالا (Omics) در سطح مولکولی و پروتئین می‌توانند مسیرهای تنظیمی تمایز به‌سمت چربی یا استخوان را بیش از پیش نمایان سازند.

منابع

1. Abdi, J., J. Garssen, J. Faber and F.A. Redegeld. 2014. Omega-3 fatty acids, EPA and DHA induce apoptosis and enhance drug sensitivity in multiple myeloma cells but not in normal peripheral mononuclear cells. Journal of Nutritional Biochemistry, 25(12): 1254-1262.
2. Abdollahi, A., A. Akhlaghi, M.J. Zamiri, A. Niazi, S. Kargar and Z. Ansari Pirsaraei. 2020. The Effects of Different Fish Oil Levels on Productive and Reproductive Performance and Blood Attributes In Female Chukar Partridges (Alectoris Chukar). Research on Animal Production, 11(29).
3. Arner, P. and A. Kulyte. 2015. MicroRNA regulatory networks in human adipose tissue and obesity. Nature Reviews: Endocrinology, 11(5): 276-288.
4. Awada, M., C.O. Soulage, A. Meynier, C. Debard, P. Plaisancie, B. Benoit and M.C. Michalski. 2012. Dietary oxidized n-3 PUFA induce oxidative stress and inflammation: role of intestinal absorption of 4-HHE and reactivity in intestinal cells. Journal of Lipid Research, 53(10): 2069-2080.
5. Davidson, L.A., N. Wang, M.S. Shah, J.R. Lupton, I. Ivanov and R.S. Chapkin. 2009. n-3 Polyunsaturated fatty acids modulate carcinogen-directed non-coding microRNA signatures in rat colon. Carcinogenesis, 30(12): 2077-2084.
6. Ellis, J.M., L.O. Li, P.C. Wu, T.R. Koves, O. Ilkayeva, R.D. Stevens and R.A. Coleman. 2010. Adipose acyl-CoA synthetase-1 directs fatty acids toward beta-oxidation and is required for cold thermogenesis. Cell Metabolism, 12(1): 53-64.
7. Green, C.J., C. Pramfalk, C.A. Charlton, P.J. Gunn, T. Cornfield, M. Pavlides and L. Hodson. 2020. Hepatic de novo lipogenesis is suppressed and fat oxidation is increased by omega-3 fatty acids at the expense of glucose metabolism. BMJ open diabetes research and care, 8(1): e000871.
8. Han, S., X. Sun, J.D. Ritzenthaler and J. Roman. 2009. Fish oil inhibits human lung carcinoma cell growth by suppressing integrin-linked kinase. Molecular Cancer Research, 7(1): 108-117.
9. Hanada, H., K. Morikawa, K. Hirota, M. Nonaka and Y. Umehara. 2011. Induction of apoptosis and lipogenesis in human preadipocyte cell line by n-3 PUFAs. Cell Biology International, 35(1): 51-59.
10. Huang, Q., C. Ma, L. Chen, D. Luo, R. Chen and F. Liang. 2018. Mechanistic Insights Into the Interaction Between Transcription Factors and Epigenetic Modifications and the Contribution to the Development of Obesity. Frontiers in Endocrinology, 9: 370.
11. LeMay-Nedjelski, L., J.K. Mason-Ennis, A. Taibi, E.M. Comelli and L.U. Thompson. 2018. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Time-Dependently Reduce Cell Viability and Oncogenic MicroRNA-21 Expression in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer Cells (MCF-7). International Journal of Molecular Sciences, 19(1): 244.
12. Li, J.Z., H. Qu, J. Wu, F. Zhang, Z.B. Jia, J.Y. Sun and K. Kang. 2018. Metabolic profiles of adipose-derived and bone marrow-derived stromal cells from elderly coronary heart disease patients by capillary liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry. International Journal of Molecular Medicine, 41(1): 184-194.
13. Lorente-Cebrian, S., A.G. Costa, S. Navas-Carretero, M. Zabala, J.A. Martinez and M.J. Moreno-Aliaga. 2013. Role of omega-3 fatty acids in obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases: a review of the evidence. Journal of Physiology and Biochemistry, 69(3): 633-651.
14. Manickam, E., A.J. Sinclair and D. Cameron-Smith. 2010. Suppressive actions of eicosapentaenoic acid on lipid droplet formation in 3T3-L1 adipocytes. Lipids in Health and Disease, 9: 57.
15. Martinez-Fernandez, L., L.M. Laiglesia, A.E. Huerta, J.A. Martinez and M.J. Moreno-Aliaga. 2015. Omega-3 fatty acids and adipose tissue function in obesity and metabolic syndrome. Prostaglandins and Other Lipid Mediators, 121(Pt A): 24-41.

16. Meale, S. J., J.M. Romao, M.L. He, A.V. Chaves, T.A. McAllister and L.L. Guan. 2014. Effect of diet on microRNA expression in ovine subcutaneous and visceral adipose tissues. Journal of Animal Science, 92(8): 3328-3337.
17. Moustaka, K., E. Maleskou, A. Lambrianidou, S. Papadopoulos, M.E. Lekka, T. Trangas and E. Kitsiouli. 2019. Docosahexaenoic acid inhibits proliferation of EoL-1 leukemia cells and induces cell cCycle arrest and cell differentiation. Nutrients, 11(3): 574.
18. Murali, G., C.V. Desouza, M.E. Clevenger, R. Ramalingam and V. Saraswathi. 2014. Differential effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in promoting the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids, 90(1): 13-21.
19. Music, E., K. Futrega and M.R. Doran. 2018. Sheep as a model for evaluating mesenchymal stem/stromal cell (MSC)-based chondral defect repair. Osteoarthritis and Cartilage, 26(6): 730-740.
20. Naderi, N., E.J. Combellack, M. Griffin, T. Sedaghati, M. Javed, M.V. Findlay and I.S. Whitaker. 2017. The regenerative role of adipose-derived stem cells (ADSC) in plastic and reconstructive surgery. Int. Wound J., 14(1): 112-124.
21. Navidshad, B. 2013. Effects of Dietary Inclusion of Fish Oil, Soybean Oil, Palm Oil or Conjugated Linoleic Acid Supplementation on Performance and Meat Fatty Acid Composition of Broiler Chickens. Research on Animal Production, 4(7): 35-46.
22. Nguyen, Q.V., B.S. Malau-Aduli, J. Cavalieri, A.A.E.O. Malau-Aduli and P.D. Nichols. 2019. Enhancing omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid content of dairy-derived foods for human consumption. Nutrients, 11(4).
23. Pittenger, M.F., A.M. Mackay, S.C. Beck, R.K. Jaiswal, R. Douglas, J.D. Mosca and D.R. Marshak. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science, 284(5411): 143-147.
24. Rodriguez-Cuenca, S., S. Carobbio, V.R. Velagapudi, N. Barbarroja, J.M. Moreno-Navarrete, F.J. Tinahones and A. Vidal-Puig. 2012. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent regulation of lipolytic nodes and metabolic flexibility. Molecular and Cellular Biology, 32(8): 1555-1565.
25. Romao, J. M., W. Jin, M.V. Dodson, G.J. Hausman, S.S. Moore and L.L. Guan. 2011. MicroRNA regulation in mammalian adipogenesis. Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.), 236(9): 997-1004.
26. Sam, M.R., M. Tavakoli-Mehr and R. Safaralizadeh. 2018. Omega-3 fatty acid DHA modulates p53, survivin, and microRNA-16-1 expression in KRAS-mutant colorectal cancer stem-like cells. Genes and Nutrition, 13(8): 1-12.
27. Sanjurjo-Rodriguez, C., R. Castro-Vinuelas, T. Hermida-Gomez, T. Fernandez-Vazquez, I.M. Fuentes-Boquete, F.J. de Toro-Santos and F.J. Blanco-Garcia. 2017. Ovine mesenchymal Stromal Cells: Morphologic, Phenotypic and Functional Characterization for osteochondral tissue engineering. PloS One, 12(1): e0171231.
28. Sethi, J.K. and A.J. Vidal-Puig. 2007. Thematic review series: adipocyte biology. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. Journal of Lipid Research, 48(6): 1253-1262.
29. Shi, C., F. Huang, X. Gu, M. Zhang, J. Wen, X. Wang and X. Guo. 2016. Adipogenic miRNA and meta-signature miRNAs involved in human adipocyte differentiation and obesity. Oncotarget, 7(26): 40830-40845.
30. Siersbaek, R., R. Nielsen and S. Mandrup. 2010. PPARgamma in adipocyte differentiation and metabolism--novel insights from genome-wide studies. FEBS Letters, 584(15): 3242-3249.
31. Skarn, M., H.M. Namlos, P. Noordhuis, M.Y. Wang, L.A. Meza-Zepeda and O. Myklebost. 2012. Adipocyte differentiation of human bone marrow-derived stromal cells is modulated by microRNA-155, microRNA-221, and microRNA-222. Stem Cells Dev, 21(6): 873-883.
32. So, W.W., W.N. Liu and K.N. Leung. 2015. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Trigger Cell Cycle Arrest and Induce Apoptosis in Human Neuroblastoma LA-N-1. Cells. Nutrients, 7(8): 6956-6973.
33. Sun, T., M. Fu, A.L. Bookout, S.A. Kliewer and D.J. Mangelsdorf. 2009. MicroRNA let-7 regulates 3T3-L1 adipogenesis. Molecular Endocrinology, 23(6): 925-931.
34. Tanabe, Y., Y. Matsunaga, M. Saito and K. Nakayama. 2008. Involvement of cyclooxygenase-2 in synergistic effect of cyclic stretching and eicosapentaenoic acid on adipocyte differentiation. Journal of Pharmacological Sciences, 106(3): 478-484.
35. Todorcevic, M. and L. Hodson. 2015. The effect of marine derived n-3 fatty acids on adipose tissue metabolism and function. J. Clin. Med., 5(1).
36. Wei, J., H. Li, S. Wang, T. Li, J. Fan, X. Liang and R.C. Zhao. 2014. let-7 enhances osteogenesis and bone formation while repressing adipogenesis of human stromal/mesenchymal stem cells by regulating HMGA2. Stem Cells Dev., 23(13): 1452-1463.
37. Yun, U.J., N.J. Song, D.K. Yang, S.M. Kwon, K. Kim, S. Kim and H. Kang. 2015. miR-195a inhibits adipocyte differentiation by targeting the preadipogenic determinator Zfp423. Journal of Cellular Biochemistry, 116(11): 2589-2597.
38. Zaiou, M., H. El Amri and A. Bakillah. 2018. The clinical potential of adipogenesis and obesity-related microRNAs. Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases, 28(2): 91-111.
39. Zhang, Y.F., H.M. Xu, F. Yu, M. Wang, M.Y. Li, T. Xu and P.F. Li. 2018. Crosstalk between microRNAs and peroxisome proliferator-activated receptors and their emerging regulatory roles in cardiovascular pathophysiology. PPAR Res., 8530371.

The Inhibitory Effect of Fish Oil on Mesenchymal Stem Cells Differentiation to Adipocytes in Sheep

Arash Vashkini[1], Fatemeh Koohkan[2], Ali Asadi Alamouti[3], Abdolreza Salehi[4] and Abdullah Mohammadi Sangcheshmeh[3]

1- PhD Student, Department of Livestock and Poultry, Abu Reihan Campus, University of Tehran, Pakdasht, Iran (Corresponding Author: arash.veshkini@yahoo.com)
2- Assistant Professor, Molecular Group, Cell Technology Research Center, Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Department of Livestock and Poultry Sciences, Abu Reihan Campus, University of Tehran, Pakdasht, Iran
4- Associate Professor, Department of Livestock and Poultry Sciences, Abu Reihan Campus, University of Tehran, Pakdasht, Iran
Received: 26 September, 2020 Accepted: 31 December, 2020

Abstract

In this study, the expression of genes and miRNAs related to differentiation, cell cycle and metabolism was investigated in Zandi sheep mesenchymal cells (ADSC) under fish oil treatment as a source of omega-3 fatty acids. Isolated sheep mesenchymal stem cells were confirmed for pluripotency. ADSCs were treated in the presence or absence of 15 mg / ml fish oil, and cell cycle and apoptosis induction were measured in each group (three independent repeat) via Flow cytometry. In a similar experiment, the expression of downstream miRNAs and genes at the growth and differentiation stages to adipocyte was compared in both groups. Mesenchymal cells treated with fish oil had a higher percentage of late apoptosis, while the percentage of cells in S phase decreased. The expression of miRNAs did not change significantly, however, let-7a was significantly decreased in the fish oil group. Fish oil treatment decreased (0.39) relative expression of peroxisome proliferator-activated receptor G (PPARG) and increased (1.85) Interleukin 1 beta expression. In adipocyte-differentiated cells, PPARG expression was decreased. The results of this study showed the inhibitory properties of fish oil on adipocyte differentiation of mesenchymal cells through direct or indirect effects on PPAR pathway. However, no significant difference was observed in the expression of selected miRNAs.

Keywords: Adipocytes, Apoptosis, Cell cycle, Differentiation, Nuclear transcription factors, Omega-3 fatty acid

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

اثرات کاهش ثابت یا تدریجی شدت نور محیط بر عملکرد، ویژگی‌های لاشه و شاخص‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی

محمدهادی ذبیح‌الهی[۱]، فرید مسلمی‌پور[۲]، شهریار مقصودلو[۳] و وحید رضایی‌پور[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشگاه گنبد کاووس، ایران
۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد، ایران، (نویسنده مسوول: farid.moslemipur@gmail.com)
۳- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد، ایران
۴- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر، ایران
تاریخ ارسال: ۹۹/۰۷/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۱۱
صفحه: ۹۶ تا ۱۰۶

چکیده

برای بررسی اثر شدت‌های مختلف نور سالن پرورش بر عملکرد، ویژگی‌های لاشه، فراسنجه‌های خون و ایمنی و شاخص‌های اقتصادی، تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس (هر دو جنس) در سه تیمار با پنج تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی استفاده شدند. تیمارها شامل سه شدت نور سالن بود؛ متعارف (۲۰ لوکس)، کم (۷ لوکس) و کاهشی (به تدریج از ۲۰ به ۷ لوکس) که از سن ۸ تا ٤۲ روزگی به‌صورت مجزا در سه سالن اعمال شد. جوجه‌ها در کل دوره به‌طور یک سان تغذیه شدند. نتایج نشان داد که خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌ها تحت تاثیر شدت نور محیط قرار نگرفت. وزن اجزای لاشه و وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال جوجه‌ها نیز تحت تاثیر شدت نور سالن قرار نگرفت. تفاوت معنی‌دار در غلظت فراسنجه‌های متابولیکی خون و همچنین فراسنجه‌های خون‌شناسی جوجه‌ها مشاهده نشد. تیتر آنتی‌بادی علیه گامبورو تحت تأثیر شدت نور سالن بود (p<۰/۰۵) به‌طوری که در گروه شدت نور کم به‌طور معنی‌دار از گروه شدت نور متعارف بیشتر بود (۱/۷٤ در مقابل ۱/۳۰ لگاریتم ۲). تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل در گروه شدت نور کم افزایش غیر معنی‌دار نسبت به گروه شدت نور متعارف نشان داد. درصد تلفات در گروه شدت نور کم (۰/۹ درصد) از گروه متعارف (۱/۵ درصد) و کاهشی (۱/٤ درصد) کمتر بود. هزینه برق در دوره پرورش در گروه شدت نور کم و کاهشی به‌ترتیب ٦٤/۷٤ و ۳۳/۳۳ درصد کمتر از گروه متعارف بود. با احتساب هزینه برق، سود مالی حاصل از پرورش هر جوجه در گروه شدت نور کم تقریبا یک درصد بیشتر از سایر گروه‌ها بود. به‌طور کلی، با توجه به عدم تفاوت در عملکرد جوجه‌های پرورش یافته در شدت نورهای مختلف و همچنین کاهش تلفات و هزینه برق مصرفی با کاهش شدت نور، استفاده از شدت نور هفت لوکس در سالن پرورش جوجه‌های گوشتی دارای توجیه اقتصادی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بازده اقتصادی، جوجه گوشتی، شدت نور، فراسنجه‌های خون، عملکرد

مقدمه

نور یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محیطی است که عملکرد و فعالیت فیزیکی جوجه‌های گوشتی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌طور مرسوم، جوجه‌های گوشتی را با شدت روشنایی بالا پرورش می‌دهند تا با مصرف خوراک بیشتر به حداکثر رشد دست یابند. اما در سیستم مدرن پرورش، برای صرفه‌جویی در مصرف انرژی و بهبود رفاه پرنده، کاهش طول دوره روشنایی و یا کاهش شدت نور حتی تا زیر پنج لوکس مورد توجه قرار گرفته است (۳۲). البته شورای رفاه حیوانات انگلستان همچنان شدت نور حداقل ۲۰ لوکس را برای سالن‌های پرورش توصیه می‌کند (۲۸). برخی برنامه‌های نوری با شدت نور کم باعث کاهش رشد اولیه و در نتیجه کاهش امکان بروز بیماری‌های متابولیک از قبیل سندرم مرگ ناگهانی و دیسکندروپلازی درشت‌نی را دارند (۶).

نور، ترشح چندین هورمون از جمله ملاتونین را کنترل می‌کند که این هورمون‌ها در مجموع بر رشد مؤثر هستند (۲۳). ملاتونین که در تنظیم ریتم‌های شبانه‌روزی و فصلی و هومئوستازی بسیاری از سیستم‌ها از جمله سیستم ایمنی بدن پرندگان نقش اساسی دارد، اغلب در ساعات تاریکی از غده صنوبری (پینه‌آل) ترشح می‌شود (۱). اثر ملاتونین بر ایمنی ممکن است مستقیماً از طریق گیرنده‌های ملاتونین موجود در بافت‌های ایمنی و گلبول‌های سفید باشد (۱۰) و یا می‌تواند به‌صورت غیرمستقیم از طریق تأثیر بر دیگر هورمون‌های اندوکرین به‌ویژه هورمون تیروئید باشد (۲۲).

مشکلات پا و آسیت از عوارض مهم رشد سریع محسوب می‌شوند. در مطالعات مشخص شد که کنترل رشد اولیه در جوجه‌های جوان، راهبردی مؤثر جهت جلوگیری از مشکلات فوق است. این وضعیت، فرصت مناسبی برای اندام‌هایی مانند قلب، ریه و سیستم اسکلتی است تا قبل از گسترش سریع و حجیم بافت عضلانی، توسعه یابند (۹). افزایش شدت نور سبب کاهش زودهنگام نرخ رشد، افزایش فعالیت، افزایش تولید برخی هورمون‌ها و تغییراتی در متابولیسم یا ترکیبات وابسته به آن‌ها در پرندگان می‌شود (۳۴،۲۰).

جوجه‌های پرورش‌یافته تحت شدت نور کم نسبت به جوجه‌های پرورش‌یافته تحت شدت نور بالا، حرارت کمتری از لحاظ حرارت افزایشی ناشی از مصرف خوراک و تحرک تولید می‌کنند (۱). یکی دیگر از اثرات سودمند شدت نور پایین، تغییر

در متابولیسم پرنده است که منجر به بازسازی مجدد بافت‌ها می‌شود (۵). فقدان خواب مکرر سبب مشکلات فیزیکی از جمله ضعف ماهیچه‌ای، جراحات بالشتک پا، کاهش عملکرد پرنده و دامنه وسیعی از بیماری‌های فیزیولوژیکی می‌شود (۳۳).

در یک پژوهش، پرورش جوجه‌ها در شدت نور پایین (۵/۴– ۶/۴۵ لوکس) سبب افزایش وزن بیشتر آن‌ها نسبت به‌شدت نور متعارف شد در حالی که استفاده از شدت نور بالا (۱۰۷/۶–۱۲۴/۷ لوکس) سبب کاهش وزن آنها گردید (۱۹). نتایج یک تحقیق در جوجه‌های گوشتی حاکی از کاهش خطی مصرف خوراک هم‌زمان با افزایش شدت نور سالن بود، به‌طوری که استفاده از شدت نور ۳/۲ لوکس سبب افزایش مصرف خوراک به‌صورت نامرتب نسبت به ۱۶ یا ۵۰ لوکس شده است (۳۹). در پژوهشی دیگر، افزایش مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی با کاهش شدت نور سالن از ۲۱/۵ لوکس به ۲/۷ لوکس مشاهده شد (۱۱).

با توجه به اهمیت اقتصادی مصرف برق در واحدهای تولیدی و همچنین، تولید حرارت بیشتر در سالن به‌واسطه مصرف شدت نور بیش از حد نیاز که در پرورش نیز اختلال ایجاد می‌کند، یافتن کمترین شدت نور لازم برای سالن‌های پرورش جوجه‌های گوشتی ضروری است. بنابراین، هدف پژوهش حاضر، بررسی تاثیر کاهش شدت نور سالن پرورش جوجه‌های گوشتی بر عملکرد رشد، ویژگی‌های لاشه، فراسنجه‌های ایمنی و خون و همچنین شاخص‌های اقتصادی تولید آن‌ها بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در یک واحد مرغداری واقع در شهرستان بابل و در تیر و مرداد ماه سال ۱۳۹۳ خورشیدی انجام شد. تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ (نر و ماده به تعداد مساوی در هر واحد آزمایشی) در قالب سه گروه تیماری با پنج پن به عنوان تکرار (۲۰ قطعه جوجه در هر پن) استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح شدت نور سالن بود و از روز هشتم پرورش تا پایان دوره (۴۲روزگی) در هر سالن اعمال شد که در جدول ۱ اشاره شده است.

جدول ۱– تیمارهای آزمایشی و نام کوتاه آن‌ها

Table 1. The experimental treatments and their abbreviations

نام کوتاه	شدت نور سالن
متعارف	۲۰ لوکس مداوم
کاهشی	کاهش تدریجی از ۲۰ تا ۷ لوکس
کم	۷ لوکس مداوم

برای تامین نور سالن از لامپ‌های تنگستنت ۱۰۰ واتی و به‌منظور کنترل شدت نور از لوکس‌متر مدل TES 1399 تولید کشور تایوان با دقت ۰/۰۱ لوکس استفاده شد که در ارتفاع سر پرنده قرار می‌گرفت. بر اساس توصیه شرکت مولد جوجه‌ها (کاتالوگ راس ۳۰۸)، شدت نور سالن‌های پرورش در هفته اول ۲۰ لوکس برای همه تیمارها یکسان بود. در هنگام اعمال تیمار از هفته دوم، جوجه‌های دو سالن تا پایان آزمایش به‌ترتیب با شدت‌های ثابت نور ۲۰ و هفت لوکس قرار داشتند و سالن سوم با شدت نور کاهش تدریجی ۲۰ لوکس به هفت لوکس قرار داشت که هر هفته به‌میزان ۲/۶ لوکس از شدت نور کاسته می‌شد. دلیل انتخاب تیمار کاهش تدریجی شدت نور این بود که بررسی‌ها نشان داده که با اعمال شدت نور پایین در چند روز ابتدایی یک کاهش موقتی در مصرف خوراک و رشد جوجه‌های جوان مشاهده می‌شود که در ادامه به‌صورت رشد جبرانی تا حدی جبران می‌گردد (۶،۱۶،۲۸). بنابراین، بررسی امکان عادت‌پذیری جوجه‌ها با کاهش تدریجی شدت نور سالن مورد ارزیابی قرار گرفت. چیدمان لامپ‌ها در سالن به‌صورت فواصل طولی ۲/۵۰ متری، عرضی ۲/۳۰ متری و ارتفاع از بستر ۲/۳۰ متر بود. طول دوره روشنایی ۲۰ ساعت بود.

برنامه واکسیناسیون جوجه‌ها و جیره‌های غذایی آن‌ها بر اساس توصیه شرکت تولید کننده جوجه یک روزه بود. اقلام خوراکی و مواد مغذی جیره‌ها در سه مرحله پرورش در جدول ۲ بیان شد. در کل دوره آزمایش، جوجه‌ها دسترسی آزاد به خوراک و آب داشتند. همچنین، تلاش بر این بود که شرایط پرورشی در سه سالن تا حد امکان مشابه همدیگر باشد.

جدول ۲- ترکیبات مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های آغازین (۱ تا ۱۴روزگی)، رشد (۱۵ تا ۲۸روزگی) و پایانی (۲۹ تا ۴۲روزگی)
Table 2. Ingredients and nutrients of starter (1-14 d), grower (15-28 d) and finisher (29-42 d) diets

اقلام خوراکی جیره (گرم در کیلوگرم)	آغازین	رشد	پایانی
ذرت	۵۷۶/۵	۶۲۵/۰	۶۷۵/۰
کنجاله سویا	۳۸۲	۳۳۰	۲۷۷
اسید چرب	۱۴	۱۸	۲۱
نمک	۲/۵	۲/۰	۲/۰
کنسانتره ۲/۵ درصد*	۲۵	۲۵	۲۵
جمع	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
مواد مغذی محاسبه شده			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوگرم/ کیلوکالری)	۲۹۰۰	۲۹۵۰	۳۰۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۰/۸۶	۱۹/۸۱	۱۸/۷۵
لیزین (درصد)	۱/۱۵	۱/۰۱	۰/۹۶
متیونین (درصد)	۰/۴۸	۰/۴۲	۰/۳۶
لینولئیک (درصد)	۲/۲۳	۲/۳۷	۲/۵۰
کلسیم (درصد)	۱/۲۳	۱/۰۴	۰/۸۴
فسفر قابل‌دسترس (درصد)	۰/۵۵	۰/۴۴	۰/۳۲
سدیم (درصد)	۰/۱۹	۰/۱۷	۰/۱۴
فیبر (درصد)	۳/۵۰	۳/۵۶	۳/۶۲

* هر کیلوگرم از کنسانتره شامل: ویتامین A: ۹۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین D_3: ۲۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E: ۱۸۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین K_3: ۲۰۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B_1: ۱۸۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B_2: ۶۶۰۰میلی‌گرم، ویتامین B_3: ۱۰۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B_6: ۳۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B_9: ۱۰۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B_{12}: ۱۵ میلی‌گرم، بیوتین: ۱۰۰ میلی‌گرم، کولین کلراید: ۵۰۰۰۰۰ میلی‌گرم، اکسید منگنز: ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم، سولفات آهن: ۵۰۰۰۰ میلی‌گرم، سولفات مس: ۱۰۰۰۰میلی‌گرم، سلنیوم: ۲۰۰۰ میلی‌گرم، یدات کلسیم: ۱۰۰۰ میلی‌گرم، اکسید روی: ۹۰۰۰ میلی‌گرم و آنتی‌اکسیدانت ۴۰۰ میلی‌گرم بود.

هزینه انرژی

کل ساعات روشنایی در هر سالن به‌طور جداگانه محاسبه شد (۷۰۰ ساعت برای مدت ۳۵ روز) و هزینه برق مصرفی هر سالن تعیین گردید. جهت محاسبه هزینه کیلووات برق مصرفی به ازای هر قطعه جوجه گوشتی در طول یک دوره پرورش، یک سالن به مساحت ۱۰۰۰ مترمربع با شدت نورهای ۲۰ لوکس، هفت لوکس و کاهشی از ۲۰ به هفت لوکس در هر مترمربع در نظر گرفته شد. همچنین با استفاده از لامپ‌های ۱۰۰ وات تنگستنت، تعداد لامپ مورد نیاز تعیین شد (۷۲ عدد به ازای هر سالن). به‌طور خلاصه، برای تامین نور ثابت ۲۰ لوکس، توان لامپ‌های ۱۰۰ واتی توسط لوکس‌متر به ۱۸/۲ وات کاهش یافت. برای تیمار شدت نور کم، توان لامپ‌ها به‌صورت ثابت به ۶/۴ وات کاهش یافت و برای اعمال تیمار کاهشی، توان لامپ‌ها از ۱۸/۲ به‌صورت هفتگی و تدریجی تا ۶/۴ کاهش یافت. به‌منظور مقایسه اقتصادی شدت‌های نوری مختلف، با فرض یک سالن به ظرفیت ۱۰ هزار قطعه جوجه گوشتی، هزینه حاصل از پرورش هر قطعه مرغ برای هرکدام از شدت‌های نور به‌شرح رابطه ۱ محاسبه شد.

(رابطه ۱): نحوه برآورد هزینه برق مصرفی به ازای هر جوجه در طول دوره پرورش

= هزینه برق مصرفی هر جوجه
÷ ساعات روشنایی × وات لامپ × تعداد لامپ) گوشتی
۱۰۰۰۰ ÷ (هزینه برق × ۱۰۰۰

سود حاصل از پرورش هر قطعه مرغ

با توجه به اینکه هزینه‌ها و درآمدهای مرغداری‌های گوشتی متغیر بوده و بسته به نوع مدیریت و سیستم پرورش متفاوت است، از موارد هزینه‌ای تنها هزینه خوراک و انرژی مصرفی بابت روشنایی و از موارد درآمدی نیز تنها فروش مرغ زنده مورد محاسبه قرار گرفت. سایر اقلام هزینه‌ای مانند استهلاک، کارگر، مالیات، تلفات، آب، سرمایه و درآمد حاصل از فروش کود در پایان دوره جهت سادگی محاسبات در نظر گرفته نشدند. سود حاصل از هر قطعه مرغ بر اساس زمان پژوهش از رابطه زیر محاسبه شد. قیمت هر کیلو مرغ زنده حدود ۴۳۰۰۰ ریال، قیمت هر کیلو خوراک مصرفی ۱۵۸۰۰ ریال و قیمت هر کیلووات برق صنعتی ۲۲۶ ریال در نظر گرفته‌شده است.

(رابطه ۲): معادله برآورد سودآوری پرورش جوجه‌های گوشتی

سودآوری = (قیمت فروش مرغ زنده × وزن نهایی) −
{(هزینه برق مصرفی هر جوجه گوشتی) +
(مقدار خوراک مصرفی × هزینه هر کیلو خوراک)}

مقدار خوراک مصرفی و وزن بدن جوجه‌ها به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری شد. در پایان ۴۲ روزگی از هر واحد آزمایشی دو قطعه پرنده (مجموعا ۳۰ پرنده) با وزنی نزدیک به میانگین واحد مربوط جهت خون‌گیری و تجزیه لاشه انتخاب و کشتار شدند. جهت تعیین غلظت فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون (گلوکز، پروتئین تام، تری‌گلیسریدها، اوره، کلسترول، لیپوپروتئین با دانسیته خیلی پایین و هموگلوبین) از کیت‌های اسپکتروفوتومتری (شرکت پارس آزمون، ایران) استفاده شد. فراسنجه‌های خون‌شناسی شامل درصد حجم متراکم سلولی (PCV)، میانگین غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC)، میانگین هموگلوبین سلولی (MCH)، میانگین حجم سلولی (MCV) و تراکم گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز و پلاکت‌های خون با روش رنگ‌آمیزی و شمارش انجام شد. برای اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی علیه بیماری‌های گامبورو و نیوکاسل جوجه‌ها از روش ممانعت از هماگلوتیناسیون استفاده گردید. وزن لاشه تهی‌شده، وزن ران‌ها، سینه، چربی حفره شکمی و روده‌ها و وزن نسبی اندام‌های داخلی (نسبت وزن اندام به وزن لاشه

تهی‌شده) سنگدان، کبد، طحال، قلب و بورس فابریسیوس و همچنین طول روده‌ها جوجه‌ها پس از کشتار اندازه‌گیری شد.

نتایج تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار (سه شدت نور سالن) و ۱۵ واحد آزمایشی (پنج تکرار در هر سالن) توسط رویه ANOVA نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) با مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح معنی‌دار پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

افزایش وزن

میانگین افزایش وزن جوجه‌ها در تیمارهای آزمایشی طی دوره آزمایش (۴۲-۸ روزگی) در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌دار بر افزایش وزن جوجه‌ها در این دوره پرورش نداشت. مقایسه میانگین‌ها تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد ($p>0/05$). از لحاظ عددی، پرنده‌هایی که با شدت نور کم (هفت لوکس) تغذیه شده بودند، افزایش وزن بیشتری نسبت به دو گروه دیگر داشتند. همچنین، پرنده‌هایی که تیمار کاهشی (از ۲۰ لوکس به هفت لوکس) دریافت کرده بودند نسبت به تیمار شاهد (شدت نور متعارف ۲۰ لوکس) افزایش وزن بیشتری داشتند. نتایج تحقیق حاضر با نتایج سایر مطالعات که بیانگر عدم تاثیرگذاری کاهش شدت نور سالن بر افزایش وزن جوجه‌ها روزانه بود، سازگار است (۶،۱۶،۲۸). نشان داده شده است که استفاده از مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی پرورش‌یافته با شدت کم نور، بهبود می‌یابد (۸). همچنین، بررسی‌ها نشان می‌دهد که اعمال کاهش شدت نور در چند روز ابتدایی پرورش، یک کاهش موقتی در مصرف خوراک و رشد جوجه‌های جوان و کم‌سن مشاهده می‌شود (۶)، اما به‌طور معمول جوجه‌ها به شرایط جدید عادت کرده و کاهش رشد آن‌ها تا حدود زیادی جبران می‌شود. بنابراین، رشد جبرانی سبب می‌شود که وزن نهایی این گروه از جوجه‌ها، در پایان دوره پرورش نسبت به وزن جوجه‌های گروه کنترل با شدت نور ثابت ۲۰ لوکس، برابر و یا نزدیک به آن باشد. با اعمال برنامه نوری متناوب (کاهش شدت نور)، بعضی از هورمون‌های پرنده مانند هورمون رشد، نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد (۸) که شاید این هورمون بر رشد جوجه موثر باشد. همچنین، در این شرایط، مقدار تستوسترون پلاسمای جوجه‌های گوشتی نر دو برابر پرندگانی بود که در گروه شاهد بودند. بنابراین احتمال دارد که آندروژن‌هایی مانند هورمون رشد و تستوسترون در رشد جبرانی جوجه دخالت داشته باشد (۲۷). شدت نور بالا سبب افزایش کورتیکوسترون پلاسما شده که آن نیز به‌نوبه خود با فعال کردن اینترلوکین ۲ و ۶ و همچنین فاکتور نکروز تومور، سبب تجزیه کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌های بافتی (کاتابولیزم) می‌شوند که در نهایت سبب کاهش رشد می‌شود (۱۷)، ولی جوجه‌های پرورش‌یافته تحت برنامه نوری با شدت نور کم، در دوره روشنایی خوراک را به‌طور کامل مصرف کرده و در دوره تاریکی از یک‌سو با کاهش مصرف خوراک سبب هضم و جذب بهتر مواد خوراکی شده و از سوی دیگر با تحرک کمتر موجب اتلاف انرژی کمتر شده که در نتیجه منجر به افزایش وزن بیشتر می‌شود (۱۵).

خوراک مصرفی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌دار بر خوراک مصرفی جوجه‌ها در کل دوره پرورش نداشت ($p>0/05$). مقایسه میانگین‌ها تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد (جدول ۳). کمترین مصرف خوراک مربوط به تیمار با نور کم و بیشترین مصرف خوراک مربوط به تیمار کاهشی بود. نتایج مربوط به‌میزان خوراک مصرفی در این تحقیق با مطالعات پیشین موافق بود (۶،۱۶). در مطالعه جالبی با اعمال متناوب شدت نور بالا (۶۰ و ۹۰ لوکس) و پایین (کمتر از ۲ لوکس) تاثیر معنی‌دار بر شاخص‌های عملکردی جوجه‌ها مشاهده نشد (۲۸).

به‌طور کلی از بین عوامل موثر بر نور در پرورش شامل طول موج (شاخص کمی)، شدت (شاخص کیفی) و رژیم نوری، شدت نور سالن بیشتر بر ویژگی‌های رفتاری و رفاه جوجه‌های گوشتی تاثیرگذار باشد. جوجه‌های گوشتی با وجود یک طلوع و غروب، قادر به پیش‌بینی دقیق‌تر پایان روز خواهند بود و این مسأله سبب افزایش تغذیه‌ای جوجه‌ها در دوره قبل از تاریکی می‌شود تا به پر بودن چینه‌دان خود در آغاز تاریکی اطمینان داشته باشند و به‌طور کلی باعث افزایش مصرف در هر وعده خوردن خوراک شود (۱۳،۳۲).

غلظت هورمون تیروکسین خون جوجه‌های گوشتی به‌میزان مصرف خوراک آن‌ها وابسته است. در شدت نور کم با مصرف مناسب خوراک، افزایش هورمون تیروکسین سبب مصرف بهتر اکسیژن به‌ویژه در پرندگان جوان می‌شود (۲). سازوکار اثر شدت نور پایین بر افزایش سطح هورمون تیروکسین جوجه‌ها بدین‌صورت است که در این شرایط، هورمون ملاتونین به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم باعث افزایش ترشح هورمون لپتین می‌شود (۲۴) که لپتین نیز به‌نوبه خود موجب افزایش ترشح هورمون محرک غده تیروئید (تیروتروپین) و به‌دنبال آن افزایش سطح تیروکسین پلاسما می‌شود (۲۱).

ضریب تبدیل غذایی

نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌دار بر ضریب تبدیل غذایی جوجه‌ها در دوره ۴۲-۸ روزگی نداشت ($p>0/05$). همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، تفاوت آماری معنی‌دار بین میانگین‌ها در گروه‌های تیماری مشاهده نشد. بهترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار کم‌نور بود. نتایج مشابه‌ای در مطالعات پیشین در جوجه‌های گوشتی مشاهده شده است (۶،۱۶،۲۸). شدت نور پایین سبب بهینه‌سازی ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با شدت‌های بالا می‌شود (۹،۳۲). این موضوع بدان معنا است که تیمار کم‌نور در مقایسه با دو تیمار دیگر با مصرف خوراک کمتر، ضریب تبدیل بهتری داشته است که سبب کاهش هزینه‌های تهیه خوراک خواهد شد. پرندگان پرورش یافته با شدت نور کم تا سن سه‌هفتگی کاهش رشد را نشان می‌دهند ولی از هفته چهارم به بعد رشد جبرانی همراه با کاهش مصرف خوراک، سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی در

مقایسه با پرندگان پرورش یافته با شدت نور بالا می‌شود که علت آن احتمالاً کاهش میزان فعالیت در شدت نور پایین است. افزایش فعالیت پرندگان سبب افزایش مصرف انرژی بدون افزایش در خوراک مصرفی و کاهش در افزایش وزن در سرتاسر دوره پرورش می‌شود (۳۱). از طرف دیگر نشان داده شده است که کاهش نور سالن باعث کاهش سطح هورمون کورتیزول خون جوجه‌های گوشتی می‌شود که می‌تواند تاثیر کاتوبولیزمی این هورمون بر بافت‌های ماهیچه‌ای را کاهش دهد (۱۶). البته در پژوهش حاضر این هورمون مورد بررسی قرار نگرفته است.

جدول ۳- میانگین افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی از سن ۸ تا ۴۲روزگی (گرم)
Table 3. Means of weight gain, feed intake and feed conversion ratio of broiler chickens in age 8-42 d (g)

متغیر	تیمار			میانگین خطای استاندارد	P-value
	متعارف	کاهشی	کم		
افزایش وزن	۲۱۸۳/۲۶	۲۱۸۳/۴۴	۲۱۸۴/۱۳	۶۰/۶۲	۰/۹۹۹
خوراک مصرفی	۳۵۳۷/۸۹	۳۵۳۹/۶۱	۳۵۳۱/۶۳	۸۸/۲۹	۰/۹۸۸
ضریب تبدیل غذایی	۱/۶۳	۱/۶۲	۱/۶۰	۰/۰۲	۰/۹۴۲

اجزای لاشه و اندام‌های داخلی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌دار بر وزن سینه، ران‌ها، لاشه تهی‌شده، چربی حفره شکمی، بورس، طحال، قلب، کبد، سنگدان، روده و طول روده‌ی جوجه‌ها در سن ۴۲روزگی نداشت. همان گونه که در جدول ۴ مشاهده می‌شود مقایسه میانگین‌های وزن سینه، ران‌ها، لاشه تهی‌شده، چربی حفره شکمی، بورس، طحال، قلب، کبد، سنگدان، روده و طول روده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد ($p>0/05$). از لحاظ عددی تیمار کم‌نور باعث بهبود وزن لاشه تهی‌شده، ران‌ها و سینه نسبت به دو گروه دیگر شد که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. عدم تحت تأثیر قرار گرفتن وزن کبد نشان می‌دهد که هیچ‌گونه هیپرتروفی جبرانی در این اندام‌ها صورت نگرفته است. در بین تیمارهای آزمایشی، تیمار شدت نور متعارف دارای بیشترین و تیمار کاهشی دارای کمترین وزن نسبی طحال بود. همچنین، وزن نسبی غدد بورس فابرسیوس در تیمار شدت نور متعارف بیشترین و در تیمار کاهشی کمترین مقدار بود (جدول ۴). به‌خوبی مشخص شده است که غدد طحال و بورس فابرسیوس به‌عنوان بخش‌های مهم سیستم ایمنی پرندگان عمل می‌کند. این سیستم‌ها با تولید آنتی‌بادی‌های اختصاصی، پرنده را از هجوم میکروارگانیسم‌ها محافظت می‌کند. بنابراین، رشد بیشتر این اندام‌ها به‌عنوان شاخصی برای بررسی میزان فعالیت سیستم ایمنی پرندگان تلقی می‌شود. در صورت سرکوب سیستم ایمنی توسط عامل درونی، فعالیت و به‌تبع آن اندازه و یا وزن این اندام‌ها کاهش می‌یابد (۱۲). به‌نظر می‌رسد که تیمار کم‌نور در این سطح نتوانسته باعث بهبود سیستم ایمنی شود ولی اثر منفی هم بر سیستم ایمنی جوجه‌ها نداشته است. وزن و طول روده‌ها جوجه‌ها در تیمار متعارف، دارای بیشترین مقدار بود.

جدول ۴- میانگین وزن اجزای لاشه و وزن نسبی اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی در ۴۲روزگی
Table 4. Means of carcass parts weights and relative weights of internal organs in broiler chickens at d 42

متغیر	تیمارها			میانگین خطای استاندارد	P-value
	متعارف	کاهشی	کم		
سینه (گرم)	۶۳۰/۲۰	۶۲۴/۷۰	۶۴۴/۱۰	۸۲/۹۹	۰/۸۶۷
ران‌ها (گرم)	۵۲۹/۳۰	۵۱۱/۳۰	۵۳۴/۱۰	۶۳/۷۱	۰/۷۰۳
لاشه تهی شده (گرم)	۱۷۹۵/۹۰	۱۷۳۶/۱۰	۱۸۲۷/۹۰	۱۹/۴۳	۰/۵۷۰
چربی حفره شکمی (گرم)	۲۶/۵۸	۲۶/۶۰	۲۱/۷۱	۳/۷۳	۰/۱۳۰
بورس فابریسیوس (درصد)*	۰/۰۹	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۰۴	۰/۸۴۵
طحال (درصد)	۰/۱۰	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۳	۰/۱۹۰
قلب (درصد)	۰/۳۴	۰/۳۱	۰/۳۰	۰/۰۶	۰/۱۶۳
کبد (درصد)	۲/۱۱	۲/۰۸	۲/۱۲	۰/۴۳	۰/۴۰۹
سنگدان (درصد)	۱/۴۳	۱/۳۱	۱/۲۸	۰/۰۹	۰/۴۷۷
روده‌ها (گرم)	۹۷/۱۰	۹۱/۹۰	۸۴/۸۰	۱۰/۳۲	۰/۳۱۸
طول روده (سانتی‌متر)	۲۰۰/۱۰	۱۹۳/۵۰	۱۹۱/۷۰	۱۰/۵۸	۰/۵۶۵

*: بر اساس درصدی از وزن لاشه تهی شده

فراسنجه‌های خون

نتایج تجزیه واریانس مربوط به تراکم سلول‌های خون نشان داد که اثر تیمارهای آزمایشی بر تراکم گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها خون جوجه‌های گوشتی معنی‌دار نبود ($p>0/05$). همچنین، مقایسه میانگین‌ها تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تیماری در تراکم سلول‌های خون جوجه‌ها نشان نداد (جدول ۵).

جدول ۵- میانگین تراکم سلول‌های خونی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲روزگی (سلول در میکرولیتر)
Table 5. Means of blood cells density of broiler chickens at d 42 (cell/µl)

متغیر	تیمارها			میانگین خطای استاندارد	P-value
	متعارف	کاهشی	کم		
پلاکت‌ها	$۲/۶۰\times ۱۰^{۴}$	$۲/۳۰\times ۱۰^{۴}$	$۲/۲۰\times ۱۰^{۴}$	$۰/۵۴\times ۱۰^{۴}$	۰/۷۶۹
گلبول‌های سفید	$۲/۰۷\times ۱۰^{۴}$	$۲/۰۴\times ۱۰^{۴}$	$۲/۰۲\times ۱۰^{۴}$	$۰/۱۰\times ۱۰^{۴}$	۰/۸۳۹
گلبول‌های قرمز	$۲/۶۷\times ۱۰^{۶}$	$۲/۶۱\times ۱۰^{۶}$	$۲/۶۶\times ۱۰^{۶}$	$۰/۰۹\times ۱۰^{۶}$	۰/۷۱۵

مطالعه‌ای درباره اثر شدت نور سالن پرورش جوجه‌های گوشتی بر تراکم سلول‌های خون انجام نشده است ولی بخشی از این عدم تاثیرگذاری می‌تواند به‌خاطر عدم تفات در شاخص‌های رشدی جوجه‌ها باشد. در واقع، میزان خوراک مصرفی جوجه‌ها و عوامل خونی مانند غلظت هموگلوبین و حجم سلول‌های خون که می‌توانند بر تراکم سلول‌های خون تاثیرگذار باشند، تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند.

نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌دار بر فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی شامل غلظت گلوکز، پروتئین تام، تری‌گلیسریدها، اوره، کلسترول، لیپوپروتئین‌ها با چگالی خیلی پایین، هموگلوبین، درصد حجم متراکم سلولی، میانگین غلظت هموگلوبین سلولی، میانگین هموگلوبین سلولی و میانگین حجم سلولی نداشت ($p>۰/۰۵$). همان‌طور که در جدول ۶ مشاهده می‌شود تفاوت معنی‌دار بین میانگین فراسنجه‌های یاد شده در گروه‌ها تیماری مشاهده نشد به‌جز اینکه میانگین غلظت اوره خون در گروه شدت نور کم به‌صورت معنی‌دار از گروه شدت نور متعارف بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). عدم تفاوت معنی‌دار در میانگین فراسنجه‌های خون جوجه‌ها در گروه‌های تیماری در درجه اول می‌تواند ناشی از عدم تفاوت در مصرف خوراک جوجه‌ها باشد. همچنین اینکه شرایط محیطی در سالن‌های پرورش کاملا یکسان بوده است.

جدول ۶- میانگین غلظت فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲روزگی
Table 6. Means of blood metabolites concentration of broiler chickens at d 42

متغیر	تیمار			میانگین خطای استاندارد	P-value
	متعارف	کاهشی	کم		
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۲۳۶/۱۸	۱۹۴/۹۳	۱۸۰/۵۶	۵۸/۶۹	۰/۶۷۷
پروتئین تام (گرم در دسی‌لیتر)	۴/۲۹	۴/۴۷	۵/۶۷	۱/۳۱	۰/۷۳۰
تری‌گلیسریدها (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴۲۳/۷۰	۴۳۶/۹۰	۴۲۶/۶۰	۱۵۸/۹۰	۰/۴۲۶
اوره (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	$۵/۵۶^{b}$	$۵/۹۱^{ab}$	$۶/۰۸^{a}$	۰/۱۹	۰/۰۸۳
کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۲۷/۲۵	۱۱۵/۰۳	۱۶۵/۱۴	۳۰/۷۹	۰/۳۳۵
لیپوپروتئین با چگالی خیلی پایین (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۸۴/۳۸	۸۷/۳۸	۴۵/۳۱	۳۱/۶۶	۰/۴۲۶
هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)	۱۰/۳۰	۹/۸۵	۹/۲۱	۱/۰۳	۰/۱۶۳
حجم متراکم سلولی (درصد)	۳۰/۳۰	۳۱/۸۱	۳۰/۱۹	۱/۱۳	۰/۱۷۸
میانگین غلظت هموگلوبین سلول (درصد)	۳۱/۱۶	۳۰/۸۲	۳۱/۳۵	۰/۳۸	۰/۱۶۷
میانگین هموگلوبین سلولی (پیکوگرم)	۳۸/۴۵	۳۷/۷۰	۳۷/۲۹	۰/۷۸	۰/۷۰۶
میانگین حجم سلولی (فمتو لیتر)*	۱۲۳/۴۹	۱۲۲/۴۵	۱۲۲/۷۳	۱/۶۵	۰/۲۰۰

*: واحد سنجش MCV بوده و معادل $۱۰^{-۱۵}$ لیتر است.

اثر تیمارهای آزمایشی بر تیتر آنتی‌بادی علیه گامبورو معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$) ولی بر تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل تاثیر معنی‌دار نداشت. همان‌طور که در جدول ۷ دیده می‌شود تیتر آنتی‌بادی علیه گامبورو در تیمار با شدت نور کم به طور معنی‌دار از تیمار شدت نور متعارف بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). همچنین، تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل در تیمار با شدت نور کم از لحاظ عددی نسبت به تیمار شدت نور متعارف بیشتر بود، هرچند که این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نشد. تاثیر مثبت شدت نور کم بر تیتر آنتی‌بادی‌ها می‌تواند به‌علت پاسخ بهتر پرنده در تولید آنتی‌بادی در شدت نور پایین پس از دریافت واکسن مذکور باشد. با انجام آزمایش‌های کالبدگشایی، آزمایش‌های سلولی و آزمایش‌های بیماری‌زایی در آزمایشگاه و همچنین با بررسی رنگ و وزن بورس فابرسیوس، نتایج حاصله نشان می‌دهد که هیچ یک از گروه‌های تیماری مورد آزمایش با بیماری گامبورو درگیر نبوده‌اند. همچنین با انجام آزمایش‌های سرمی و آزمایش‌های بیماری‌زایی در آزمایشگاه نتایج حاصله نشان می‌دهد که هیچ یک از گروه‌های تیماری مورد آزمایش با بیماری نیوکاسل درگیر نبوده‌اند.

به‌خوبی مشخص شده است که گیرنده‌های نوری در سلول‌های گانگلیون ناحیه رتینای چشم پرندگان مستقیما با ناحیه سوپراکیاسماتیک هیپوتالاموس در ارتباط است، جایی که مسوول کنترل ریتم زیستی روزانه آن‌ها می‌باشد (۱۳). به‌نظر می‌رسد افزایش ترشح ملاتونین در طول تاریکی، همزمان با کاهش فعالیت فیزیکی پرنده موجب کاهش انرژی نگهداری پرنده می‌شود (۱،۳). تحرک کافی پرنده برای استحکام پاها مفید است اما تحرک بیش از اندازه موجب به هدر رفتن انرژی می‌گردد و ممکن است منجر به افت کیفیت لاشه در حمل و کشتار شود. در شدت نور کم، تحرک پرنده تا حد زیادی مهار می‌شود به‌طوری که میزان گرمای تولید شده توسط پرنده،

حدود ۳۱/۶ درصد کمتر از شدت نور بالا است (۳). آنچه مسلم است این که شدت نور کم سبب افزایش ترشح ملاتونین می‌گردد (۲۰). ملاتونین با افزایش سنتز و آزادسازی اینترلوکین ۲، اینترلوکین ۶ و اینترفرون گاما موجب افزایش سطح ایمنی می‌شود (۳،۱۸). اینترلیوکین ۲ باعث افزایش سرعت تکثیر لنفوسیت‌های B و به‌تبع آن سبب افزایش سطح ایمنی هومورال می‌گردد (۲۰). اینترلوکین ۶ از مهم‌ترین سیتوکین‌ها است که هم در ایمنی ذاتی و هم در ایمنی اکتسابی (مجموع ایمنی سلولی و ایمنی خونی) نقش اساسی دارد. در جریان التهاب، میانجی‌های مختلفی توسط سلول‌های سیستم ایمنی ترشح می‌شود که از مهم‌ترین آن‌ها، سایتوکین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین ۶ می‌باشند که باعث تشدید پاسخ ایمنی می‌شود. همچنین، اینترلوکین ۶ به‌همراه پروتئین فعال C (CRP: C-Reactive Protein) که از سلول‌های کبدی ترشح می‌شوند به‌عنوان مولکول‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی می‌باشند (۲۹،۳۰). اینترفرون گاما نیز موجب تخریب دیواره سلول‌های آلوده به ویروس توسط لنفوسیت‌های T کشنده می‌شود. در سلول‌هایی که هنوز به ویروس آلوده نشده‌اند نیز با روش‌هایی از جمله تولید آنزیم‌هایی که رونویسی ویروس را مهار می‌کنند، از شیوع ویروس در بدن جلوگیری می‌کند (۲۰). به‌نظر می‌رسد رابط اصلی تأثیر نور بر ایمنی، وجود گیرنده‌های ملاتونین روی سلول‌های طحال، تیموس و بورس است (۳۷). احتمالاً گیرنده‌های مذکور روی لنفوسیت‌ها نیز وجود دارند چون ملاتونین تولید سایتوکین‌ها را توسط لنفوسیت‌ها افزایش می‌دهد. شدت نور کم در پرورش جوجه‌های گوشتی سبب ترشح ملاتونین می‌شود و این هورمون از ترشح هورمون‌های کورتیکوستروئیدی که در شرایط استرس ترشح می‌شوند و سرکوب‌گر سیستم ایمنی هستند جلوگیری می‌کند (۲۵). شدت نور بالا موجب افزایش سطح کورتیکوسترون پلاسما شده که آن نیز به نوبه خود سبب مرگ لنفوسیت‌ها و متلاشی‌شدن DNA سلولی و در نهایت مرگ سلول می‌شود (۷). افزایش سطح کورتیکوسترون به‌همراه تولید حرارت بیشتر موجب کاهش معنی‌دار در پارامترهایی چون لنفوسیت‌های CD3، CD4 و CD8 در خون می‌شود (۳۸).

مطالعات نشان داده که ملاتونین موجب افزایش سلول‌های B و T می‌شود که افزایش سلول‌های B می‌تواند دلیلی برای افزایش سطح ایمنوگلوبولین‌های سرم باشد و افزایش سلول‌های B و T مجموعاً می‌توانند با تحریک واسطه‌های سیستم کمپلمان موجب افزایش سطح پروتئین‌های کمپلمان شوند (۱۸).

جدول ۷- میانگین تیترآنتی بادی خون جوجه‌های گوشتی علیه بیماری‌های نیوکاسل و گامبرو در ۴۲روزگی (بر حسب لگاریتم ۲)
Table 7. Means of antibody titer against Newcastle and Gumboro diseases in broiler chickens at d 42 (log 2)

متغیر	تیمار			خطای معیار میانگین	P-value
	متعارف	کاهشی	کم		
تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل	۱/۳۷	۱/۵۰	۱/۵۶	۰/۱۸	۰/۳۸۰
تیتر آنتی‌بادی علیه گامبورو	۱/۳۰^{b}	۱/۵۴^{ab}	۱/۷۴^{a}	۰/۱۹	۰/۰۰۷

تلفات

درصد تلفات جوجه‌ها در تیمارهای آزمایشی طی دوره آزمایش (۴۲-۸ روزگی) در جدول ۸ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، درصد تلفات در تیمار با شدت نور کم از نظر عددی کمتر از دو گروه دیگر بود که با نتایج پژوهشی مشابه سازگار است (۲۶). نور با شدت بیشتر سبب تشویق فعالیت‌های حرکتی می‌شود و میزان تلفات را افزایش می‌دهد (۲۶). علت این امر ممکن است این باشد که در شدت نور کم، میزان رشد در طول دوره پرورش آهسته‌تر است در نتیجه، وقوع سندرم مرگ ناگهانی نیز کمتر خواهد بود. دادن شدت نور کم سبب بهبود سیستم ایمنی به‌واسطه افزایش پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال می‌شود که این‌ها نیز فاکتورهای اصلی در کاهش میزان مرگ و میر هستند (۳۵).

جدول ۸- درصد تلفات جوجه‌های گوشتی طی ۸ الی ۴۲روزگی در گروه‌های تیماری
Table 8. Mortality percentage of broiler chickens during d 8-42 in treatment groups

متغیر	تیمارها		
	متعارف	کاهشی	کم
تلفات (جوجه)	۱/۵	۱/۴	۰/۹

ارزیابی اقتصادی شدت‌های نوری

هزینه برق مصرفی به ازای هر جوجه گوشتی و سود حاصل از پرورش هر قطعه مرغ در تیمارهای آزمایشی طی دوره آزمایش (۴۲-۸ روزگی) در جدول ۹ نشان داده شده است. هزینه برق مصرفی به ازای هر جوجه در گروه شدت نور کم و گروه کاهشی به‌ترتیب ۶۴/۷۳ و ۳۳/۳۳ کمتر از گروه شدت نور متعارف بود. در اثر تغییر ولتاژ اعمال شده به لامپ، مقاومت رشته، جریان لامپ، توان لامپ، درجه حرارت رشته، نور خروجی، بهره نوری و بالاخره عمر لامپ تغییر می‌کند (۱۴). در نتیجه با کاهش ولتاژ، کاهش در مقاومت رشته، جریان لامپ، توان لامپ، درجه حرارت رشته و نور خروجی و افزایش بهره‌وری و عمر لامپ را خواهیم داشت. با توجه به هزینه‌های برق مصرفی در تیمارهای آزمایشی در کل دوره، چنین استنباط می‌شود که کاهش شدت نور در سطح هفت لوکس سبب کاهش هزینه‌های برق مصرفی تا حدود ۶۵ درصد می‌شود. با توجه به این مطلب که یک لامپ ۱۰۰ واتی

با ولتاژ ۲۲۰ ولت، دارای حدود ۱۰۰۰ ساعت عمر اسمی است، در نتیجه با کاهش ولتاژ ۶۷ درصدی (۲۰ لوکس در برابر ۷ لوکس) می‌توان عمر اسمی یک لامپ ۱۰۰ واتی را تا حدود ۳۰۰۰ ساعت اسمی افزایش داد که این امر نیز به‌نوبه خود سبب کاهش هزینه‌های خرید لامپ جهت تعویض با لامپ‌های سوخته تا حدود ۶۷ درصد می شود.

با اعمال کاهش شدت نور، کاهش در تولید حرارت توسط لامپ را خواهیم داشت که آن نیز به‌نوبه خود سبب کاهش هزینه، جهت دفع حرارت تولیدی توسط تهویه هوا و همچنین سبب کاهش تصعید گازهای سمی مانند آمونیاک از بستر می‌شود. با در نظر گرفتن این موضوع که هزینه‌های مصرف برق در بخش کشاورزی به‌صورت یارانه‌ای است و تامین آن شامل هزینه‌های بسیار بالایی برای وزارت نیرو است، در نتیجه با اعمال کاهش شدت نور می‌توان هزینه‌های زیاد تولید برق توسط نیروگاه‌ها را کاهش داد.

جدول ۹- ارزیابی اقتصادی گروه‌های تیماری با شدت‌های نوری مختلف در بازه ۴۲-۸روزگی (ریال)
Table 9. Economic assessment of treatment groups with different light intensity during d 8-42 (IRR)

متغیر	تیمارها		
	متعارف	کاهشی	کم
هزینه برق مصرفی هر قطعه جوجه گوشتی	۲۰۷	۱۳۸	۷۳
سود حاصل از پرورش هر قطعه مرغ	۳۷۷۷۴	۳۷۸۲۴	۳۸۱۴۵

در پژوهش حاضر، با توجه به اینکه کاهش شدت نور سالن پرورش تاثیر معنی‌دار بر شاخص‌های عملکرد رشد، ویژگی‌های لاشه و فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی نداشت و حتی توانست سطح آنتی‌بادی خون جوجه‌ها را نسبت به‌شدت نور متعارف افزایش دهد و از سوی دیگر با در نظر گرفتن کاهش هزینه برق مصرفی و استهلاک لوازم روشنایی سالن، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از شدت نور کم (هفت لوکس) در سالن پرورش جوجه‌های گوشتی به‌علت نداشتن اثر منفی بر عملکرد رشد و سلامت پرنده و همچنین بهبود صرفه اقتصادی و بازده ناخالص تولید قابل توصیه می‌باشد.

منابع

1. Apeldoorn, E.J., J.W. Schrama, M.M. Mashaly and H.K. Parmentier. 1999. Effect of melatonin and lighting schedule on energy metabolism in broiler chickens. Poultry Science, 78: 223-229.
2. Bobek, S., M. Jastrzebski and M. Pietras. 1977. Age-related changes in oxygen consumption and plasma thyroid hormone concentration in the young chicken. General and Comparative Endocrinology, 31: 169-174.
3. Brennan, C.P., G.L. Hendricks, T.M. El-Sheikh and M.M. Mashaly. 2002. Melatonin and the enhancement of immune responses in immature male chickens. Poultry Science, 81: 371-375.
4. Beker, A., S.L. Vanhooser and R.G. Teeter. 2003. Lighting effects on broiler feed conversion and metabolic factors associated with energetic efficiency. Cobb-Vantress publication, available at: www. Cobb-vantress.com.
5. Brickett, K.E., J.P. Dahiya, H.L. Classen, C.B. Annett and S. Gomis. 2007. The impact of nutrient density, feed form and photoperiod on the walking ability and skeletal quality of broiler chickens. Poultry Science, 86: 2117-2125.
6. Bayram, A. and S. Ozkan. 2010. Effects of a 16-hour light, 8-hour dark lighting schedule on behavioral traits and performance in male broiler chickens. Journal of Applied Poultry Research, 19: 263- 273.
7. Cohen, J.J. and R.C. Duke. 1984. Glucocorticoid activation of a calcium dependent endonuclease in thymocyte nuclei leads to cell death. Journal of Immunology, 132: 38-42.
8. Classen, H.L. and C. Riddell. 1989. Photoperiod effects on performance and leg abnormalities in broiler chickens. Poultry Science, 68: 873-879.
9. Charles, R.G., F.E. Robinson, R.T. Hardin, M.W. Yu, J. Feddes and H.L. Classen. 1992. Growth, body composition, and plasma androgen concentration of male broiler chickens subjected to different regimens of photoperiod and light intensity. Poultry Science, 71: 1595-1605.
10. Calvo, J.R., M.R. El-Idrissi, D. Pozo and J.M. Guerrero. 1995. Immunomodulatory role of melatonin: specific binding sites in human and rodent lymphoid cells. Journal of Pineal Research, 18: 119-126.

11. Downs, K.M., R.J. Lien, J.B. Hess, S.F. Bilgili and W.A. Dozier. 2006. The effects of photoperiod length, light intensity, and feed energy on growth responses and meat yield of broilers. Journal Applied Poultry Research, 15: 406-415.
12. Glick, B. and I. Olah. 1981. Gut-associated lymphoid tissue of the chicken. International Journal of Scanning Electron Microscopy, Chicago, SEM, Inc., 99 pp.
13. Golombek, D.A. and R.E. Rosenstein. 2010. Physiology of circadian entrainment. Physiological review, 90: 1063-1102.
14. Henderson, S.T. and A.M. Marsden. 1972. Lamps and lighting. Edward Arnold Publication, London, UK, P. 602.
15. Ingram, D.R. and L.F. Hatten. 2000. Effects of light restriction on broiler performance and specific body weight structure measurements. Journal of Applied Poultry Research, 9: 501-504.
16. Jalili Kolavani, M., A. Mohit, M. Hassanzadeh, N. Miraalami and R. Shabazi Beni. 2015. Effects of tryptophan, melatonin and dark period on performance and blood parameters of broiler chickens in heat stress condition. Research on Animal Production, 6 (12): 70-78 (In Persian).
17. Johnson, R.W. 1997. Inhibition of growth by proinflammatory cytokines: an integrated view. Journal Animal Science, 75: 1244-1255.
18. Kliger, C.A., A.E. Gehad, R.M. Hulet, W.B. Roush, H.S. Lillehoj and M.M. Mashaly. 2000. Effects of photoperiod and melatonin on lymphocyte activities in male broiler chickens. Poultry Science, 79: 18-25.
19. Kristensen, H.H., J.M. Perry, N.B. Prescott, J. Ladewing, A.K. Ersboll and C.M. Wathes. 2006. Leg health and performance of broiler chickens reared in different light environments. Poultry Science, 101: 125-143.
20. Karaca, T., H. Ari, M. Yoruk, and S. Cinaroglu. 2010. Effects of photoperiod on number of mast cell in lymphoid organs of the Japanese quail. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9: 751-755.
21. Legradi, G., C.H. Emerson, R.S. Ahima, J.S. Filer and R.M. Lechan. 1997. Leptin prevents fasting-induced suppression of prothyrotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid in neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus. Endocrinology, 138: 2569-2576.
22. Lewis, P.D. and R.M. Gous. 2007. Broilers perform better on short or step-up photoperiods. South African Journal of Animal Science, 37: 90-96.
23. Lewis, P.D., R. Danisman and R.M. Gous. 2009. Photoperiodic responses of broilers: 1. Growth, feeding behaviour, breast yield and testicular growth. British Poultry Science, 50: 657-666.
24. Mustonen, A.M., P. Nieminen, H. Hyvarinen and J. Asikainen. 2000. Exogenous melatonin elevates the plasma leptin and thyroxine concentrations of the mink (Mustela vison). Z. Naturforsch, 55: 806-813.
25. Moore, C.B. and T.D. Siopes. 2000. Effects of lighting conditions and melatonin supplementation on the cellular and humoral immune responses in Japanese quail. General and Comparative Endocrinology, 119: 95-104.
26. Newberry, R.C., J.R. Hunt and E.E. Gardiner. 1988. Influence of light intensity on behavior and performance of broiler chickens. Poultry Science, 67: 1020-1025.
27. Ohtani, S. and S. Lessont. 2000. The effect of intermittent lighting on metabolizable energy intake and heat production of male broilers. Poultry Science, 79: 167-171.
28. Pan, J., M. Lu, W. Lin, Z. Lu, Y. Yu, Y. Yue, M. Zhang and Y. Ying. 2014. The behavioral preferences and performance of female broilers under unevenly distributed yellow LED lights with various intensities. Transactions of the ASABE, 57 (4): 1245-1254.
29. Penkowa, M., C. Keller, P. Keller, S. Jauffred, B.K. Pederson. 2003. Immuno-histochemical detection of interleukin-6 human skeletal muscle fibers following exercise. Journal FASEB, 17: 2166-2168.
30. Pedersen, B.K. 1998. The cytokine responses to strenuous exercise. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 79: 505-510.
31. Plavnik, I. and S. Hurwitz. 1991. Response of broiler chickens and turkey poults to food restriction of varied severity during early life. British Poultry Science, 32: 343-352.
32. Prescott, N.B., C.M. Wathes and J.R. Jarvis. 2013. Light, vision and the welfare of poultry. Animal welfare, 12 (2): 269-288.

33. Rechtschaffen, A., M.A. Gilliland, B.M. Bergmann and J.B. Winter. 1983. Physiological correlates of prolonged sleep deprivation in rats. Science, 221: 182-184.
34. Robinson, F.E., H.L. Classen, J.A. Hanson and D.K. Onderka. 1992. Growth performance, feed efficiency and the incidence of skeletal and metabolic disease in full-fed and feed restricted broiler and roaster chickens. Journal of Applied Poultry Research, 1: 33-41.
35. Rozenboim, I., B. Robinzon and A. Rosenstraugh. 1999. Effect of light source and regimen on growing broiler. British Poultry Science, 40: 452-457.
36. Savory, C.J. 1976. Broiler growth and feeding behavior in three different lighting regimes. British Poultry Science, 17: 557-560.
37. Skwarlo-Sonta, K. 1999. Reciprocal interdependence between pineal gland and avian immune system. Neuroendocrinology letter, 20: 151-156.
38. Trout, J.M., M.M. Mashsly and H.S. Siegel. 1996. Changes in blood and spleen lymphocyte populations following antigen challenge in immature male chickens. British Poultry Science, 37: 819-827.
39. Wathes, C.M., H.H. Spechter and T.S. Bray. 1982. The effects of light illuminance and wave length on the growth of broiler chickens. Journal of Agricultural Science, 98: 195-201.

Effect of Constant or Gradual Reducing of Light Intensity of Ambient on Performance, Carcass Characteristics and Immune Parameters in Broiler Chickens

MohammadHadi Zabihollahi[1], Farid Moslemipur[2], Shahriar Maghsoudlou[3] and Vahid Rezaeipour[4]

1- Graduated M.Sc. Student, Department of Animal Science, University of Gonbad Kavoos, Iran
2- Associate Professor, Department of Animal Science, University of Gonbad Kavoos, Iran,
(Corresponding author: farid.moslemipur@gmail.com)
3- Assistant Professor, Department of Animal Science, University of Gonbad Kavoos, Iran
4- Associate Professor, Department of Animal Science, Islamic Azad University, Ghaemshar branch, Iran
Received: October 12, 2020 Accepted: March 1, 2021

Abstract

The light intensity of saloon may affects on production, immunity and economic indices of broiler chickens production that was not enough studied. In the present study the effect of different light intensities of ambient on growth performance, carcass characteristics, blood biochemical and immune parameters as well as economic indices were studied in broiler chickens. Three hundred one-day-old Ross broiler chicks (both sexes) were randomly divided into three treatment groups having five pens as replicates (20 birds in each) in a completely randomized design. Treatments were three light intensities in rearing saloon; conventional (20 lux), low (7 lux) and decreasing (gradually from 20 to 7 lux) that discretely offered in three saloons offered from d 8 to d 42. Chickens were fed with the same starter, grower and finisher diets over the study. Feed intake and body weight gain of chickens were measured weekly. After the end of study, 10 chickens from each treatment group were slaughtered for carcass analysis and blood sampling. Results showed that feed intake, body weight gain and feed conversion ratio of chickens over the study were not affected by ambient light intensity. Carcass parts weights and relative weights of bursa of fabricius and spleen of the chickens were not significantly different among the groups. There were no significant differences in blood biochemical metabolites and hematological parameters of the chicken reared under different ambient light densities. Antibody titer against Gumboro in broiler chickens were affected by light density ($p<0.05$), where in low-density group it was significantly greater than the conventional group (1.74 vs 1.30 log 2). Antibody titer against Newcastle in low-density group non-significantly tended to be greater than the conventional group. The mortality percentages of broiler chickens in the conventional, decreasing and low light intensity were 1.4, 1.5 and 0.9 percent, respectively. The electricity cost for rearing the broiler chickens in low-density and decreasing groups was as 64.74 and 33.33 percent less than the conventional group. By inclusion of electricity cost, the monetary benefit of production per chicken was approximately 1% more than other groups. Generally, due to the absence of significant differences in the growth performance and carcass characteristics of chickens treated with different ambient light densities and in the other hand, lower mortality percentage and electricity cost in low-density group, using constant 7 lux light intensity for broilers saloon has an economic advantage.

Keywords: Blood parameters, Broiler chicken, Economic efficiency, Light density, Performance

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

مطالعه ارتباط غلظت پلاسمایی هورمون‌های لپتین و پروژسترون خون در مراحل قبل و بعد از بلوغ جنسی جوانه گاوهای ماده نجدی

مرتضی ممویی[۱]، الهام منصوری بنی[۲]، خلیل میرزاده[۳]، آرمین توحیدی[۴]، صالح طباطبایی وکیلی[۵] و امین کاظمی‌زاده[۶]

۱- استاد گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، اهواز، ایران
(نویسنده مسوول: mamouei_m@yahoo.com)
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، اهواز، ایران
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، اهواز، ایران
۴- استاد، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۵- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، اهواز، ایران
۶- دانشجوی دکتری فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۷
صفحه: ۱۰۷ تا ۱۱۳

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی ارتباط غلظت لپتین با پروژسترون پلاسمای خون در مراحل قبل و بعد از بلوغ جنسی جوانه گاوهای ماده نجدی بود. برای این منظور، از هفت رأس گوساله ماده نجدی با میانگین سنی ۸ ماه و متوسط وزن ۹/۷۲±۸۵/۰۰ استفاده شد. به منظور تعیین غلظت هورمون‌های لپتین و پروژسترون سه مرحله قبل و بعد از بلوغ خون‌گیری به عمل آمد. نتایج این مطالعه نشان داد که محدوده سن بلوغ در نژاد نجدی، ۱۶-۱۳ ماهگی و میانگین وزنی ۱۳/۵۰±۱۳۷/۸۱ کیلوگرم می‌باشد. بین غلظت لپتین و پروژسترون پلاسما در مراحل قبل (p>۰/۰۵، r=۰/۰۸۲) و پس از بلوغ جنسی (p>۰/۰۵، r=۰/۰۹۶) همبستگی معنی‌داری یافت نشد. در حالی که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت لپتین و وزن بدن (p<۰/۰۱، r=۰/۷۳) و نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت لپتین پلاسما و سن دام (p<۰/۰۱، r=۰/۸٤) یافت شد. همچنین بین غلظت پروژسترون پلاسما و سن دام همبستگی مثبت معنی‌داری (p<۰/۰۱، r=۰/٤٥) و نیز بین غلظت پروژسترون و وزن بدن همبستگی مثبت و معنی‌داری (p<۰/۰۱، r=۰/٤٤) مشاهد شد. در کل نتایج نشان می‌دهد بین غلظت لپتین و پروژسترون ارتباط معنی‌داری وجود ندارد؛ ولی همبستگی مثبتی بین لپتین، پروژسترون با وزن بدن و سن جوانه گاوهای ماده نجدی وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: بلوغ جنسی، پروژسترون، گوساله ماده نجدی، لپتین

مقدمه

فرایند تولید مثل در دام‌های مزرعه‌ای به‌عنوان یکی از مهم‌ترین بخش‌های نظام دامداری و دامپروری از جایگاهی ویژه برخوردار است؛ علت این اهمیت را در حفظ و نگه‌داری نسل، آماده نمودن بستری مناسب برای برنامه‌های اصلاح نژاد، پرواربندی و دوره‌های منظم شیرواری جستجو نمود (۱۱،۶). تولیدمثل عاملی کلیدی در تعیین بازده پرورش گاوهای شیری می‌باشد (۶). در بهترین شرایط هر ماده گاو، سالانه یک گوساله تولید خواهد کرد (۸). از نظر اقتصادی، باروری با توجه به فاصله زایش پی درپی دو گوساله ارزیابی می‌شود (۸). معیارهای اندازه‌گیری بازده تولیدمثل، شامل تعداد تلقیح به‌ازای آبستنی، مقدار آبستنی به‌ازای اولین تلقیح، تعداد روزهای باز و فاصله زایش می‌باشد (۸). فاصله زایش مطلوب در بیش تر گاوداری‌ها ۱۳-۱۲ ماه است. در بیش‌تر گاوداری‌ها درصد آبستنی با اولین تلقیح بین ۵۰ تا ۶۰ درصد است و برای ۵۵ درصد آبستنی به حدود ۱/۸ تلقیح برای هر آبستنی نیاز است. یکی از دلایل مهم اقتصادی نبودن پرورش گاو شیری، پایین بودن راندمان تولیدمثل در گله‌هاست. ضعف در تشخیص به‌موقع فحلی و آبستنی موجب می‌شود تا فحلی‌های زیادی در زمان طول عمر اقتصادی گاو از دست برود که این عمر به‌خودی خود سبب طولانی شدن فاصله دو زایمان و به‌طبع آن ضررهای مالی فراوان به دامداران می‌گردد. لذا تشخیص به‌موقع بلوغ جنسی تشخیص فحلی آشکار متناسب با رشد وزنی مناسب باعث کاهش فاصله نسل و افزایش طول عمر تولیدمثلی دام شده که از نظر اقتصادی حایز اهمیت می‌باشد (۶).

در حیوان ماده، بلوغ عبارت است از سن اولین فحلی آشکار که همراه با تخمک‌ریزی باشد. سن بلوغ تحت‌تاثیر محیط، دوره نوری، سن و نژاد والدین، درجه حرارت محیط، وزن بدن (که متاثر از تغذیه است) و سرعت رشد در قبل و بعد از شیرگیری قرار دارد (۱۱،۶). گاوهای شیری در ۳۵ تا ۴۵ درصد وزن بلوغ جسمی به مرحله بلوغ جنسی می‌رسند. بلوغ جنسی یک تطابق تدریجی است که بین فعالیت فرآینده گنادوتروپینی و قدرت جنسی در انجام همزمان استروئیدسازی و سلول جنسی‌سازی صورت می‌گیرد (۶). بلوغ هنگامی اتفاق می‌افتد که مقدار تولید گنادوتروپین (FSH و LH) به اندازه‌ای باشد که باعث رشد فولیکول، بلوغ تخمک و تخمک‌ریزی شود (۱۱).

لپتین، هورمونی است که توسط ژن ob در کروموزوم ۷ در انسان، کروموزوم ۶ در موش و کروموزوم ۴ در گاو کدگذاری شده است (۱۰). لپتین با ۱۴۶ اسیدآمینه و ۱۶ کیلو دالتون جرم مولکولی است که به‌طور عمده توسط بافت چربی سفید تولید می‌شود (۲۲،۹،۱۷). این پروتئین ابتدا از ۱۶۷ اسیدآمینه ساخته شده و پس از جدا شدن ۲۱ اسیدآمینه به داخل خون

رها می‌شود (۲۲،۱۷). لپتین از برخی قسمت‌های مختلف مثل مغز، هیپوفیز، ماهیچه‌های اسکلتی، کبد، معده و جفت نیز ترشح می‌شود. گیرنده‌های این هورمون در بسیاری از بافت‌ها ازجمله نواحی مختلف مغز، بافت چربی قهوه‌ای و سفید، معده، گنادها و ماهیچه‌ها یافت شده است (۲۲،۱۰،۱۹). این هورمون در خون توسط پروتئین مخصوصی حمل می‌شود این پروتئین می‌تواند بر نیمه‌عمر لپتین که در حالت طبیعی حدود ۳۰ دقیقه است، تاثیر گذاشته و فعالیت بیولوژیکی آن را تغییر دهد (۱۸).

در پژوهشی روی موش‌های چاق (ob/ob) که در ژن تولیدکننده لپتین دچار جهش شده و نابارور بودند، اولین نشانه‌های ارتباط لپتین در تولیدمثل به‌دست آمد. در این موش‌ها ترزیق محیطی لپتین، محور تولیدمثلی را فعال کرده و باعث بارور شدن هر دو جنس نر و ماده شد (۱۵). هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (Gonadotropin-releasing hormone) و گنادوتروپین‌ها برای شروع بلوغ ضروری می‌باشد. هورمون لپتین، هیپوتالاموس را با ترشح GnRH تحریک کرده و ترشح پالس‌های GnRH از هیپوتالاموس به‌تدریج به سطوح گنادوتروپین سرم را افزایش می‌دهد، افزایش گنادوتروپین‌ها در خون باعث ترشح هورمون‌های استروئیدی (استروژن و پروژسترون) از تخمدان می‌شوند که منجر به بالغ شدن سیستم تولیدمثلی و القای بلوغ می شود (۲۰). این پژوهش با هدف بررسی ارتباط غلظت پلاسمایی لپتین و پروژسترون پلاسمای خون در مرحله قبل و بعد از بلوغ جنسی جوانه گاوهای ماده نجدی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مکان آزمایش

این پژوهش در ایستگاه تحقیقاتی گاو نجدی استان خوزستان وابسته به سازمان جهاد کشاورزی استان خوزستان واقع در ۱۵ کیلومتری جاده شوشتر- اهواز که با هدف حفظ توده و شناسایی صفات و خصوصیات گاو نجدی ایجاد شده است انجام شد. شهرستان شوشتر در ۴۸ درجه و ۳۵ دقیقه تا ۴۹ درجه و ۱۲ دقیقه طول شرقی از نصف‌النهار گرینویچ و ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه تا ۳۲ درجه و ۲۶ دقیقه عرض شمالی از خط استوا قرار داشته و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۵۰ متر می باشد.

حیوانات

در این آزمایش از تعداد هفت رأس گوساله ماده نجدی ایستگاه اصلاح‌نژاد و پشتیبانی گاو نجدی شوشتر با میانگین سنی ۸ ماه و متوسط وزن ۹/۷۲± ۸۵/۰۰ کیلوگرم استفاده شد. در ابتدای آزمایش حیوانات از نظر وضعیت سلامت عمومی و عدم ابتلا به بیماری یا اختلال بدنی معاینه و پس از تایید سلامتی وارد جایگاه مربوطه شدند. در طول آزمایش گوساله‌ها در جایگاه جداگانه نگه‌داری شده و جیره روزانه آن‌ها براساس احتیاجات غذایی دوره رشد مندرج NRC 1996 تنظیم شدند. این گوساله‌ها در شرایط تغذیه‌ای و مدیریتی یکسان نگه‌داری شدند.

روش خون‌گیری

خون‌گیری به‌صورت ماهانه، سه ماه پیش و پس از بلوغ جنسی صورت گرفت. سپس نمونه‌های خون به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و پلاسمای آن‌ها جداشده، و در ریزلوله (میکرتیوب)های یک سی‌سی در ۲۰- درجه سلسیوس در آزمایشگاه ذخیره شد (به‌منظور تعیین غلظت هورمون‌های لپتین و پروژسترون هرماه، سه مرحله قبل و بعد از بلوغ خون‌گیری به‌عمل آمد). همزمان با خون‌گیری، دام‌ها توزین شده و سن دام‌ها نیز در هر دوره نمونه‌گیری ثبت شد.

تخمدان

فعالیت تخمدان‌ها از نظر وضعیت رشد فولیکولی و تشکیل جسم زرد به‌منظور تعیین بلوغ جنسی از طریق توش‌رکتال و دستگاه سونوگرافی با (مدل HS-1500V ساخت کشور ژاپن) و پروپ Linear بررسی شدند.

اندازه‌گیری هورمون

غلظت پلاسمای لپتین به‌روش رادیوایمنواسی دابل آنتی‌بادی (Double Antibody RIA) با استفاده از کیت تجاری ساخت میلی‌پور آمریکا (Milli pore Leptin- RIA-Kit) که برای اندازه‌گیری لپتین گاوی تهیه شده بود در آزمایشگاه فیزیولوژی گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید بهشتی اندازه‌گیری شد. همچنین غلظت هورمون پروژسترون توسط کیت پروژسترون شرکت مونوباند به‌روش رادیوایمونواسی (RIA) اندازه گیری شد.

واکاری آماری

تفاوت غلظت هورمون‌های لپتین و پروژسترون، وزن بدن، ابعاد تخمدان ثبت شده توسط سونوگرافی، به‌روش آنالیز واریانس اندازه‌گیری‌های مکرر و همبستگی بین غلظت لپتین و سایر فراسنجه‌ها از طریق آزمون همبستگی پیرسون و با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

میانگین غلظت هورمون لپتین در مراحل قبل و پس از بلوغ جنسی در جدول (۱) آمده است. نتایج پژوهش نشان می‌دهد که بین غلظت هورمون لپتین در مراحل قبل و بعد از بلوغ جنسی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<0/05$). این نتایج نشان می‌دهد که با نزدیک شدن بلوغ غلظت لپتین پلاسما افزایش می‌یابد. هورمون لپتین، هیپوتالاموس را به ترشح GnRH تحریک کرده و ترشح پالس‌های GnRH از هیپوتالاموس، به‌تدریج سطوح گنادوتروپین سرم را افزایش می‌دهد، افزایش گنادوتروپین‌ها در خون باعث ترشح هورمون‌ها استروئیدی (استروژن و پروژسترون) از تخمدان شده که منجر به بالغ‌شدن سیستم تولیدمثلی و القای بلوغ می شود (۲۰).

جدول ۱- میانگین غلظت پلاسمایی لپتین در مراحل قبل و پس از بلوغ جنسی گاوهای ماده نجدی
Table 1. The Mean plasma leptin concentration in the pre and post-pubertal stage of Najdi female calves

	قبل از بلوغ (۱۲-۸ ماهگی)	پس از بلوغ (۱۶- ۱۳ ماهگی)
غلظت پلاسمایی لپتین (ng/ml)	۲۳/۶۱±۴/۰۰[b]	۳۵/۱۵±۴/۴۱[a]

اعداد با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵). میانگین برحسب SD می‌باشد.

در مطالعه گارسیا و همکاران (۷) مقدار تولید mRNA لپتین در بافت چربی و مقدار لپتین سرم در حین بلوغ بررسی شد، نشان دادند که میان غلظت لپتین در گاوهای شیری از هفته ۱۶ قبل از تخمک‌ریزی تا هفته شروع تخمک بالغ به‌طور خطی افزایش می‌یابد؛ مقدار لپتین و IGF-1 سرم و بیان ژن لپتین در نزدیکی بلوغ افزایش می‌یابد ولی افزایش مقدار لپتین و IGF-1 سرم و بیان ژن لپتین در نزدیکی بلوغ افزایش می‌یابد. همچنین این محققین نشان دادند که مقدار لپتین سرم در حین بلوغ به‌علت افزایش فعالیت باند شدن لپتین نمی‌باشد (۷). در مطالعه‌ی روی موش‌های ماده نشان دادند، که غلظت لپتین سرم در جوندگان با نزدیک شدن بلوغ به‌صورت خطی افزایش می‌یابد (۱).

در آزمایش بلوک و همکاران (۳) با تحقیق بر تنظیم تغذیه‌ای و رشدی لپتین پلاسما در گاو شیری به این نتیجه نرسیدند و استنباط کردند که ممکن است، زمانی منابع متابولیکی کافی باشد، لپتین یک فاکتور مساعدت کننده برای شروع تشکیل تخمک بالغ است، اما ترشح لپتین به‌تنهایی برای شروع بلوغ کافی نیست. در کل مطالعه حاضر با نتایج گارسیا و همکاران (۷) و آهیما و همکاران (۱) مطابقت دارد و با نتایج بلوک و همکاران (۳) مغایر می‌باشد. میانگین غلظت هورمون پروژسترون در مراحل قبل و پس از بلوغ جنسی در جدول (۲) آمده است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده اختلاف معنی‌داری بین غلظت پروژسترون در مراحل قبل از بلوغ و پس از بلوغ دارد (p<۰/۰۵).

جدول ۲- میانگین غلظت پلاسمایی پروژسترون در مراحل قبل و پس از بلوغ جنسی گاوهای ماده نجدی
Table 2. The Mean plasma progestron concentration in the pre and post-pubertal stage of Najdi female calves

	قبل از بلوغ (۱۲-۸ماهگی)	پس از بلوغ (۱۶-۱۳ماهگی)
غلظت پلاسمایی پروژسترون (ng/ml)	۳/۰۲±۰/۷۷[b]	۴/۱۸±۱/۴۵[a]

اعداد با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵). میانگین برحسب SD می‌باشد.

نخستین تخمک ریزی و تشکیل اولین جسم زرد که نشانه بلوغ می‌باشد را می‌توان با بررسی تخمدان‌ها از طریق اولتروسونوگرافی و یا لمس آن‌ها از راه راست روده گاو، اسب و گاومیش مشخص کرد. از آنجاکه سن دقیقی برای گوساله‌های ماده نجدی ثبت نشده بود، در مطالعه حاضر برای اولین بار، سن دقیقی برای بلوغ این نژاد در شرایط تغذیه و اقلینی مشخص به دست آمد. با توجه به یافته‌های به‌دست آمده از توش رکتال و سونوگراقی تک‌تک دام‌ها، و ملامسه فولیکول‌ها در سطح تخمدان و تایید حضور جسم زرد و با در نظر گرفتن بومی‌بودن این نژاد و استعدادهای فردی هر دام و محدودیت‌های مدیریتی و تغذیه‌ای که وجود داشت، محدوده سن بلوغ در این نژاد بومی ۱۶-۱۳ ماهگی و با میانگین وزنی ۱۳۷/۸۱±۱۳/۵۰ کیلوگرم تعیین شد (نمودار۱).

غلظت پروژسترون بالای ng/ml ۱ اغلب به‌عنوان معیار بلوغ برای تلیسه‌ها استفاده می‌شود. با مطالعه غلظت پروژسترون پلاسما به‌عنوان معیار بلوغ در تلیسه‌ها تلاقی یافته برهمن بیان نمودند تلیسه‌های تلاقی یافته برهمن قبل از بلوغ ممکن است غلظت پروژسترون بیش از ng/ml ۱/۵ را نشان دهند (۴). آغاز بلوغ بیش از آن که به سن بستگی داشته باشد به وزن بدن حیوان وابسته است تغذیه، سن بلوغ را متاثر می‌کند. چناچه وزن بدن حیوان با تغذیه افزایش یابد، سن بلوغ نیز زودتر آغاز می‌شود. از سوی دیگر اگر حیوان با کمبود تغذیه مواجه شود، رشد کاهش یافته و سن بلوغ نیز به‌تعویق می‌افتد (۶). تلیسه‌ها با نمایش اولین فحلی به بلوغ می‌رسند و به‌دنبال آن مراحله رشد جسم زرد طبیعی آغاز می‌شود. مشخص شده است که بلوغ جنسی و اولین تخمک‌ریزی در اکثر تلیسه‌ها همزمان نمی‌باشد. به‌دنبال اولین تخمک‌ریزی، قبل از آن‌که دستگاه تناسلی کاملاً فعال شود؛ اغلب چرخه‌های کوتاه و فحلی‌های بدون تخمک‌ریزی اتفاق می‌افتد. اما به‌دنبال سیکل‌های فحلی، منظم‌تر شده و شبیه سیکل فحلی در گاوهای بالغ می‌شود (۱۶). همانطور که در جدول (۳) مشاهده می‌شود بین غلظت لپتین و پروژسترون پلاسما در مراحل قبل از بلوغ (p>۰/۰۵، r=۰/۰۸۲) و پس از بلوغ جنسی (p>۰/۰۵، r=۰/۰۹۶) همبستگی معنی‌داری یافت نشد.

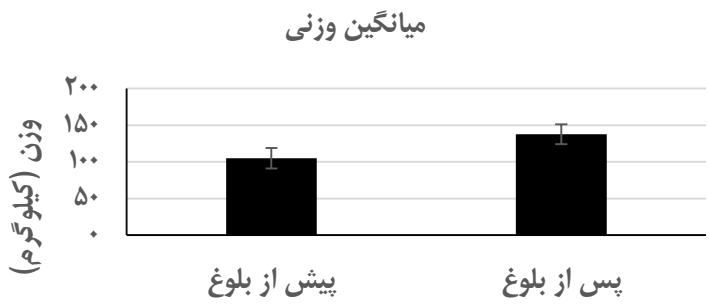
جدول ۳- همبستگی بین غلظت پلاسمایی لپتین و پروژسترون در مراحل قبل و بعد از بلوغ جنسی گاوهای ماده نجدی
Table 3. Correlation between plasma leptin concentration and progestron levels before and after pubertal stage of Najdi femal calves

	غلظت پلاسمایی پروژسترون (ng/ml)	
	قبل از بلوغ	پس از بلوغ
غلظت پلاسمایی لپتین (ng/ml)	۰/۰۸۲	۰/۰۹۶

اعداد داخل جدول بیانگر ضریب همبستگی (r) می‌باشد.

گارسیا و همکاران (۷) با مطالعه بر مقدار تولید mRNA لپتین در بافت چربی و مقدار لپتین سرم در حین بلوغ نشان دادند که تغییرات در لپتین سرم در حین بلوغ نشان دادند که تغییرات در لپتین سرم با پرژوسترون پلاسما همبستگی ندارد.

همچنین در مطالعه لودویگ و همکاران (۱۳) با بررسی غلظت لپتن سرم در طول سیکل قاعدگی، همبستگی بین غلظت لپتین و پروژسترون پلاسما را بیان نکردند. در آزمایشی با تحقیق بر روابط بین لپتین و استروزن در سلامتی زنان، همبستگی معنی‌داری را بین غلظت لپتین و پروژسترون گزارش نکردند و بیان نمودند که لپتین اثری بر ترشح لپتین ندارد (۱۴). در مطالعه‌ای با بررسی روابط لپتین و هورمون‌های جنسی با تغییرات اندوکرینی در سلامتی زنان با وزن‌های مختلف، بیان نمودند که بین غلظت لپتین و پرژسترون در چرخه قاعدگی ارتباط وجود دارد (۲). در پژوهش دیی و همکاران (۵) با مطالعه مقایسه سطوح لپتین در سرم و مایع فولیکولی در طول چرخه فحلی گاو نشان دادند که لپتین سرم همبستگی مثبتی با سطح پروژسترون مایع فولیکولی در فولیکول‌های قبل از تخمک‌ریزی دارد که با نتایج حاضر مغایرت دارد؛ علت متفاوت بودن نتایج می‌تواند به‌دلیل تفاوت در نژادهای مورد آزمایش، شرایط تغذیه‌ای و مدیریتی و تفاوت در سنتز و ترشح هورمون‌هایی است که در رشد، تولید مثل و متابولیسم لیپید و کربوهیدرات‌ها نقش دارد، باشد. نتایج مطالعه نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین وزن دام‌ها از زمان شروع مطالعه تا بلافاصله قبل از بلوغ (۱۰۴/۹۲±۱۳/۸۰kg) و پس از بلوغ (۱۳۷/۸۱±۱۳/۵۰kg) مشاهده شد (نمودار ۱).



نمودار ۱- مقایسه میانگین وزنی قبل و بعد از بلوغ جنسی گوساله های ماده
Figure 1. Comparison of average weight of female calves before and after sexual maturity

وزن بدن یک فاکتور مهم برای بلوغ جنسی می‌باشد. بلوغ زمانی آغاز می‌شود که حیوان به‌درصد معینی از وزن بزرگسالی خود رسیده باشد. بین سن بلوغ و سرعت افزایش وزن، رابطه منفی وجود دارد، یعنی تلیسه‌هایی که سرعت رشد بیشتری دارند در سن کمتری بالغ می‌شوند. بنابراین سطح تغذیه با تاثیر بر واکنش‌های متابولیکی و وزن بدن بر بلوغ اثر می‌گذارد (۲۱،۶). همبستگی بین غلظت لپتین، وزن بدن و سن در جدول (۴) آورده شده است. نتایج مطالعه نشان می‌دهد همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت لپتین و وزن بدن (r=۰/۷۳ ،p<۰/۰۱) و نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت لپتین پلاسما و سن (r=۰/۸۴ ،p<۰/۰۱) یافت شد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده با افزایش وزن بدن، وزن بافت چربی افزایش یافته و ترشح لپتین نیز از بافت چربی زیاده می‌شود. لپتین تولیدی مانع از خوردن و سنتز چربی‌ها شده و اکسیداسیون اسیدهای چرب را تحریک می‌کند. وقتی با وزن بافت چربی کاهش می‌یابد با کاهش تولید لپتین، مصرف غذا بیش‌تر شده و اکسیداسیون اسیدهای چرب کاهش می‌یابد. لئون و همکاران (۱۲) با مطالعه بر غلظت لپتین، IGF-1 و انسولین پلاسما در رابطه با تغییرات در نمره وضعیت بدنی تلیسه‌ها همبستگی معنی‌داری را بین غلظت لپتین و وزن بدن گزارش کردند. گارسیا و همکاران (۷) با مطالعه بر مقدار mRNA لپتین در بافت چربی و مقدار لپتین در حین بلوغ و ارتباط بین اندازه‌گیری با وزن بدن و چاقی و نسبت لپتین باند شده به لپتین آزاد و مقدار IGF-1 در سرم نشان دادند که وزن بدن برای افزایش فاکتورهای مؤثر در شروع بلوغ اهمیت دارد که وابستگی بالایی با مقدار لپتین در پلاسما دارد که با نتایج حاضر مطابقت داشت. همانطور که در جدول (۴) گزارش شده است، بین غلظت پروژسترون پلاسما و سن همبستگی مثبت و معنی‌داری (p<۰/۰۵، r=۰/۴۵) یافت شد. همچنین بین غلظت پروژسترون پلاسما و وزن بدن همبستگی مثبت و معنی‌داری (p<۰/۰۵، r=۰/۴۴) مشاهده شد.

جدول ۴- همبستگی بین غلظت لپتین و پروژسترون پلاسما با وزن بدن و سن
Table 4. Correlation between plasma leptin and progesterone concentration with body weight and age

	وزن بدن (کیلوگرم)	سن (ماه)
غلظت پلاسمایی لپتین (ng/ml)	۰/۷۳**	۰/۸۴**
غلظت پلاسمایی پروژسترون (ng/ml)	۰/۴۴*	۰/۴۵*

علامت یک و دو ستاره به ترتیب بیانگر معنی‌دار بون همبستگی در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ می‌باشد.
اعداد داخل جدول بیانگر ضریب همبستگی (r) می‌باشد.

تفاوت اندازه تخمدان‌های چپ و راست در جدول (۵) آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد بین طول تخمدان راست و چپ نیز اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۱). این اختلاف در اندازه تخمدان ناشی از فعال بودن تخمدان سمت راست

نسبت به تخمدان چپ در موقع اندازه‌گیری می‌باشد. ساختمان تخمدان ثابت نیست و شکل ظاهری آن‌ها به‌طور دایم در حال تغییر است که با چرخه رشد فولیکول‌ها، تخمک‌ریزی، رشد جسم زرد و تحلیل رفتن آن مرتبط می‌باشد (۹).

جدول ۵- تفاوت اندازه تخمدان راست و چپ

Table 5. Differences in the size of the right and left ovaries

	اندازه تخمدان (mm)	
	طول	عرض
تخمدان راست	۱۴/۸۰±۳/۶۰^{a}	۱۰/۱۳±۳/۳۵^{b}
تخمدان چپ	۱۰/۵۱±۲/۹۱^{b}	۶/۴۵±۱/۳۸^{a}

علامت دوستاره بیانگر معنی‌دار بون همبستگی در سطح ۰/۰۵ می‌باشد. اعداد داخل جدول بیانگر ضریب همبستگی (r) می‌باشد.

در کل نتایج این مطالعه نشان‌داد بین غلظت لپتین و پروژسترون پلاسما در مراحل قبل و پس از بلوغ جنسی همبستگی معنی‌داری وجود ندارد، ولی همبستگی مبثت و معنی‌داری بین غلظت لپتین پلاسما و وزن بدن و سن گوساله‌های ماده نجدی و همچنین، همبستگی مبثت و معنی‌داری بین غلظت پروژسترون پلاسما و وزن بدن و سن گوساله‌های ماده نجدی وجود داشت.

منابع

1. Ahima R.S., J. Dushay, S.N. Flier, D. Prabakaran and J.S. Flier. 1997. Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. The Journal of clinical investigation, 99(3): 391-395.
2. Al-Harithy R.N., H. Al-Doghaither and K. Abualnaja. 2006. Correlation of leptin and sex hormones with endocrine changes in healthy Saudi women of different body weights. Annals of Saudi medicine, 26(2): 110-115.
3. Block, S.S., J.M. Smith, R.A. Ehrhardt, M.C. Diaz, R.P. Rhoads, M.E. Van Amburgh and Y.R. Boisclair. 2003. Nutritional and developmental regulation of plasma leptin in dairy cattle. Journal of dairy science, 86(10): 3206-3214.
4. Cooke R.F. and J.D. Arthington. 2009. Plasma progesterone concentrations as puberty criteria for Brahman-crossbred heifers. Livestock science, 123(1): 101-105.
5. Dayi A., C.S. Bediz, B. Musal, O. Yilmaz, A. Comlekci, M. Celiloglu and D. Cimrin. 2005. Comparison of leptin levels in serum and follicular fluid during the oestrous cycle in cows. Acta Veterinaria Hungarica, 53(4): 457-467.
6. D'Occhio M.J., P.S. Baruselli and G. Campanile. 2018. Influence of nutrition, body condition and metabolic status on reproduction in female beef cattle: A review. Theriogenology, 125: 277-284.
7. Garcia, M.R., M. Amstalden, S.W. Williams, R.L. Stanko, C.D. Morrison, D.H. Keisler and G.L. Williams. 2002. Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. Journal of animal science, 80(8): 2158-2167.
8. Ghojoghi, S., F. Samadi and S. Hasani. 2013. Comparison of Blood Serum Biochemical Compositions and Ovarian Follicular Fluid of Different-Sized Follicles in Dairy Cows. Research On Animal Production, 4(7): 106-123.
9. Ghazi Khani Shad, A. and M.K. Sharifi Shourabi. 2018. Study of the Polymorphism of Leptin Gene and Its Association with some Growth Traits in Lori Bakhtiari and Lori Bakhtiari-Afshari Croessbreed Sheep. Research on Animal Production, 9(21): 105-112.
10. Guzman, A., C.G. Hernández-Coronado, A.M. Rosales-Torres and J.H. Hernández-Medrano. 2019. Leptin regulates neuropeptides associated with food intake and GnRH secretion. Annales d'endocrinologie, 80(1): 38-46.
11. Hafiz, E.S.A. 2001. Reproduction in farm animals. Translator. Alireza Mahmoudzadeh. Azad University Publications, Rasht Branch, 480 pp.
12. Leon, H.V., J. Hernández-Ceron, D.H. Keisler and C.G. Gutierrez. 2004. Plasma concentrations of leptin, insulin-like growth factor-I and insulin in relation to changes in body condition score in heifers. Journal of animal science, 82(2): 445-451.
13. Ludwig M., H.H. Klein, K. Diedrich and O. Ortmann. 2000. Serum leptin concentrations throughout the menstrual cycle. Archives of gynecology and obstetrics, 263(3): 99-101.
14. Mannucci E., A. Ognibene, A. Becorpi, F. Cremasco, S. Pellegrini, S. Ottanelli and C.M. Rotella. 1998. Relationship between leptin and estrogens in healthy women. European journal of endocrinology, 139(2): 198-201.
15. Mounzih, K., R. Lu and F.F. Chehab. 1997. Leptin treatment rescues the sterility of genetically obese ob/ob males. Endocrinology, 138(3): 1190-1193.
16. Nogueira, G.P. 2004. Puberty in south american bos indicus (Zebu) cattle. Animal reproduction science, 82: 361-372.
17. Price, T.O., S.A. Farr, X. Yi, S. Vinogradov, E. Batrakova, W.A. Banks and A.V. Kabanov. 2010. Transport across the blood-brain barrier of pluronic leptin. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 333(1): 253-263.

18. Robertson, S.A., G.M. Leinninger, J. Myers and G. Martin. 2008. Molecular and neural mediators of leptin action. Physiology and behavior, 94(5): 637-642.
19. Towhidi, A. 2002. Effects of energy and the lepitin hormone on the secretion of sex and metabolic hormones and egg laying in the ewe. Ph.D. thesis. Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University.
20. Yu W.H., A. Walczewska, S. Karanth, and S.M. McCann. 1997. Nitric oxide mediates leptin-induced luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) and LHRH and leptin-induced LH release from the pituitary gland. Endocrinology, 138(11): 5055-5058.
21. Zamiri M.J. 2006. Reproductive physiology. Haghshenas Publications. Rasht, 448 pp.
22. Zhao S., Y. Zhu, R.D. Schultz, N. Li, Z. He, Z. Zhang and H. Deng. 2019. Partial Leptin Reduction as an Insulin Sensitization and Weight Loss Strategy. Cell metabolism, 30(4): 706-719.

Determination the Relationship between Blood Plasma Leptin and Progesterone Concentration in Pre and Post Sexual Maturity in Najdi Female Calves

Morteza Mamoei[1], Elham Mansouri Bani[2], Khalil Mirzadeh[3], Armin Tohidi[4], Saleh Tabatabai Vakili[5] and Amin Kazemizadeh[6]

1- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran
(Corresponding author: mamouei_m@yahoo.com)
2- Graduated M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran
3- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran
4- Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
5- Ph.D. Candidate, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran
Received: 9 December, 2020 Accepted: 6 January, 2021

Abstract

The aim of this study was to determine the relationship between blood plasma leptin and progesterone concentrations in pre and post sexual maturity in Najdi female calves. For this purpose 7 female Najdi calves of Shushtar Breeding Station of Najdi cattle with average ages of 8 months and the average weight is 85/00±9/72 were used. For determination of the leptin and progesterone concentrations, multiple sampling before and after sexual maturity were performed. The results of this study indicate that in female Najdi calves, 13-16 month with 137.81±13.5 kg body weight was considered the age of sexual maturity. No significant correlation was found between plasma leptin and progesterone concentrations before ($r=0.082$, $p>0.05$) and after sexual maturity ($r=0.096$, $p>0.05$). There was a significantly positive correlation ($r=0.73$, $p<0.01$) between leptin concentration and body weight. Significantly positive correlation ($r=0.84$, $p<0.01$) were found between plasma leptin and age. The significantly positive correlation between plasma progesterone concentration and age ($r=0.45$, $p<0.01$) as well as body weight ($r=0.44$, $p<0.01$) were observed. In conclusion, the results showed that there was no significant relationship between leptin and progesterone concentration, but there was a positive correlation between leptin, progesterone and body weight and bud age of Najdi female calves.

Keywords: Leptin, Najdi female calve, Progesterone, Sexual maturity

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

بررسی اثر گیاه تشنه‌داری بر عملکرد، برخی از فراسنجه‌های خونی و بافت شناسی ژئوژنوم روده بلدرچین ژاپنی در حال رشد

محمد مشایخی[۱]، مهدی خدایی مطلق[۲]، ایمان حاج خدادادی[۳] و محمدحسین مرادی[۳]

۱ و ۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و محیط زیست دانشگاه اراک
۲- دانشیار، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و محیط زیست دانشگاه اراک، (نویسنده مسوول: mmotlagh2002@gmail.com)
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۲۲
صفحه: ۱۱۴ تا ۱۲۱

چکیده

به منظور بررسی مکمل سازی خوراکی پودر برگ گیاه سطوح مختلف گیاه تشنه‌داری (Scrophularia Striata) بر عملکرد و برخی از فراسنجه‌های خونی و بافت شناسی ژئوژنوم در بلدرچین ژاپنی در حال رشد از ۴۰۰ قطعه جوجه‌ی بلدرچین ژاپنی (Coturnix Japonica) سه روزه استفاده شد. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج گروه آزمایشی و چهار تکرار ۲۰ قطعه‌ای انجام شد. تیمارها شامل: یک) تیمارشاهد، دو) تیمار حاوی آنتی بیوتیک فلاوفسفولیپول به میزان ۰/۴۰ درصد و تیمارهای سه، چهار و پنج، به ترتیب همان جیره شاهد به‌همراه یک، دو و سه درصد پودر گیاه تشنه‌داری بودند. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی اثر معنی‌داری نداشتند، اما خوراک مصرفی را افزایش دادند (p<۰/۰۵). در بررسی بافت ژژنوم اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارها در رابطه با عمق کریپت وجود داشت (p<۰/۰۵). نتایج این پژوهش نشان داد که تغذیه سطوح مختلف پودر گیاه تشنه‌داری اثر معنی‌داری بر سطح هورمون‌های جنسی در بلدرچین ژاپنی نداشت. همچنین سطوح مختلف آن سبب تغییرات در برخی از فراسنجه‌های ریخت شناسی روده‌ای و مصرف خوراک شد. اگرچه پودر گیاه تشنه‌داری به خصوص در سطح دو درصد، صفات وزن زنده و میزان مصرف خوراک در جنس نر را در دوره‌های مختلف بهبود بخشید، اما عملکرد جنس ماده را نتوانست بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: بافت‌شناسی، بلدرچین ژاپنی، گیاه تشنه‌داری، عملکرد

مقدمه

استفاده روزافزون و مصرف مداوم داروهای آنتی‌بیوتیکی در صنعت طیور مشکلاتی حاد از قبیل پدیده خود ایمنی و عوارض جانبی برخی از داروها را به وجود می‌آورند. به‌دلیل مشکلات مرتبط با مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا به داروهای شیمیایی و عوارض جانبی ناخواسته آن‌ها، استفاده از عصاره‌های گیاهی و گیاهانی که فعالیت ضدمیکروبی دارند در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است، داروهای گیاهی در بدن انباشته نمی‌شوند و اثرات جانبی نداشته و مقاومت دارویی ایجاد نمی‌کنند و همین موارد سبب برتری آنها نسبت به داروهای شیمیایی شده است (۱).

در سامانه‌های مدرن تولید طیور برای به‌دست‌آوردن بازدهی اقتصادی بالا، پرندگان در سیستم‌های پرورشی متراکم پرورش داده می‌شوند و افزایش تراکم، تنش را در پرندگان افزایش خواهد داد. تنش سبب به‌هم‌خوردن تعادل میکروبی در دستگاه گوارش و تضعیف سازوکارهای دفاعی بدن شده و پرنده را مستعد ابتلا به بیماری می‌کند. تحت چنین شرایطی اغلب از ترکیبات خوراکی ضد میکروبی همچون آنتی‌بیوتیک‌ها برای جلوگیری و یا کاهش اثرات مضر میکروب‌ها و همچنین بهبود عملکرد و بازده غذایی استفاده می‌شود (۵).

گیاه تشنه‌داری با نام علمی *Scrophularia Striata* گیاهی خودرو، چند ساله و از تیره گل میمون است. این گیاه دارای پراکندگی جغرافیایی قابل توجهی بوده و اغلب در دامنه‌های کوهستانی و مناطق دشتی استان‌های مختلف ایران می‌روید که و بخش‌های مختلف این گیاه از کاربردهای درمانی متعددی برخوردار است (۱۹،۱۰). گونه‌های تشنه‌داری به عنوان گیاهانی غنی از گلیکوزیدهای ایریدوئید (Iridoidglicosides) به‌خصوص اکوبین (Aucubin) و کتالپول (Catalpol) شناخته شده‌اند؛ این ترکیبات از فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی برخوردار هستند که از آن جمله می‌توان به اثرات ضد میکروبی، ضدتوموری، تحریک ترشح صفرا، حفاظت کبدی و اثرات ضد التهابی آنها اشاره داشت (۱۴). در آزمایش دیگری مشخص شده است که ترکیبات فنولیکی موجود در برگ گیاه تشنه‌داری دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۳).

استفاده از گیاه تشنه‌داری مشابه آنتی‌بیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها دارای اثرات مثبتی روی بازده خوراک در جوجه‌های گوشتی می‌باشد. همچنین افزودن گیاه تشنه‌داری در سطح ۰/۸ درصد و یا افزودن یک سین‌بیوتیک به جیره مصرفی جوجه‌های گوشتی، موجب بهبود وضعیت ایمنی و سلامتی جوجه‌ها از طریق افزایش عیار پادتن علیه بیماری‌های ویروسی و همچنین کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت می‌شود (۲۲).

تاکنون پژوهشی در مورد بررسی اثر مکمل سازی گیاه تشنه‌داری در جیره‌ی جوجه‌های بلدرچین ژاپنی صورت نگرفته است بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات گیاه مذکور بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و برخی فراسنجه‌های بافت شناسی روده‌ای در بلدرچین ژاپنی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در ایستگاه تحقیقاتی مزرعه گروه علوم دامی (بخش فیزیولوژی دام) دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اراک انجام شد. بخش هوایی گیاه تشنه‌داری که مصرف دارویی دارد از مناطق اطراف شهرستان ایلام در تابستان ۱۳۹۶ جمع‌آوری و در شرایط مناسب خشک گردید و پس از خشک شدن با استفاده از آسیاب پودر شد. در این تحقیق از ۴۰۰ قطعه جوجه یک‌روزه بلدرچین ژاپنی در قالب طرح کاملا تصادفی استفاده شد. پنج تیمار آزمایشی عبارت بودند از: تیمار (۱) جیره پایه بدون هیچ افزودنی، تیمار (۲) جیره پایه + آنتی بیوتیک فلاوفسفولیپول (ساخت شرکت تولید داروهای دامی، ایران) به‌میزان ۰/۴۰ درصد، تیمار (۳) جیره پایه + یک درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار(۴) جیره پایه + دو درصد پودر گیاه تشنه‌داری و تیمار(۵) جیره پایه + سه درصد پودر گیاه تشنه‌داری.

جیره‌های آزمایشی بر اساس احتیاجات بلدرچین ژاپنی طبق توصیه NRC (۱۹۹۴) و با نرم‌افزار UFFDA تنظیم شدند. برای هر تیمار ۴ تکرار و برای هر تکرار ۲۰ جوجه در نظر گرفته شد. جوجه‌ها از یک تا پنج هفتگی (طبق توصیه NRC, ۱۹۹۴) تغذیه شدند. جوجه‌ها تا پایان دوره پرورش، به‌صورت آزادانه به آب و خوراک دسترسی داشتند. شرایط محیطی از نظر دما، رطوبت، نور و تهویه نیز یکسان بود (جدول ۱).

جدول ۱- اجزای مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره پایه آزمایشی در دوره های مختلف پرورش

Table1. Ingredients and chemical composition of the basal diet of experiment in different rearing periods

ترکیبات (درصد)	
دانه ذرت	۵۲/۷۰
کنجاله سویا (CP 42%)	۳۹
گلوتن ذرت	۳
دی‌کلسیم‌فسفات (درصد)	۱
آهک	۱
گندم	۲
نمک	۰/۵۰
ماسه بادی	۰ تا ۳
پودر گیاه	۳ تا ۰
لیزین	۰/۱۰
دی ال متیونین	۰/۲۰
مکمل ویتامین[۱]	۰/۲۵
مکمل معدنی[۲]	۰/۲۵
آنالیز شیمیایی	
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۹۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۴
کلسیم (درصد)	۰/۸۰
فسفر در دسترس (درصد)	۰/۴۰
سدیم (درصد)	۰/۲۳
لیزین (درصد)	۱/۰۲
متیونین+ سیستئین (درصد)	۰/۹۹
تریپتوفان (درصد)	۰/۲۳

۱- هر کیلوگرم مکمل ویتامینه حاوی ۴۴۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A ، ۷۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D ،۱۴۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین E ،۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامینK، ۶۴۰ میلی‌گرم کوبالامین، ۶۱۲ میلی‌گرم تیامین، ۳۰۰۰ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۴۸۹۶ میلی‌گرم پانتوتنیک اسید، ۱۲۱۶۰ میلی‌گرم نیاسین، ۶۱۲ میلی‌گرم پیرودوکسین، ۲۰۰۰ میلی‌گرم بیوتین و ۲۶۰ گرم کولین کلراید بود. ۲هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی ۶۴/۵ گرم منگنز، ۳۳/۸ گرم روی، ۱۰۰ گرم آهن، ۸گرم مس، ۶۴۰ میلی گرم ید، و ۸ گرم سلنیوم بود.

خوراک مصرفی به صورت هفتگی وزن شد و به طور روزانه در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. برای محاسبه میزان خوراک مصرفی هر واحد آزمایشی مقدار خوراک باقیمانده در پایان هر دوره زمانی از کل خوراک داده شده در طول هفته کسر می‌شد. برای محاسبه افزایش وزن هر واحد در هر دوره زمانی اختلاف وزن پرنده‌ها در انتها و ابتدای همان دوره پرورشی تعیین شد. در روزهای ۳، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸ و ۳۵ جوجه‌های هر واحد آزمایشی به‌صورت انفرادی وزن‌کشی شدند. قبل از توزین، خوراک پرندگان به‌مدت ۳ ساعت قطع شد تا از لحاظ وضعیت دستگاه گوارش یکسان باشند. ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های زمانی مختلف محاسبه گردید. ضریب تبدیل از تقسیم میانگین خوراک مصرفی بر میانگین افزایش وزن جوجه‌ها برای هر دوره محاسبه شد. در طول آزمایش، روزانه و قبل از تخصیص خوراک به هر واحد آزمایشی، تعداد تلفات در کاغذ یادداشت ثبت و یادداشت شد. در پایان آزمایش دو قطعه جوجه از هر تکرار (یک نر و یک ماده) به‌طور تصادفی انتخاب و کشتار شد (جنسیت براساس صفات ظاهری پرنده تشخیص داده شد) و پس از خونگیری، پرکنی، قطع سر و پاها و خروج امعا و احشا وزن لاشه کامل و قطعات مختلف آن (سینه، ران، بال، گردن، پشت) رکوردبرداری گردید و وزن نسبی آنها با تقسیم وزن هر بخش به وزن لاشه محاسبه شد. پس از باز کردن شکم، وزن اندام‌های احشایی از قبیل پیش معده، طحال، کبد (بدون کیسه صفرا)، سنگدان و قلب اندازه‌گیری شد. همچنین چربی بطنی به‌طور دقیق تخلیه شد و همزمان توزین گردید و وزن نسبی آنها با تقسیم وزن هر بخش به وزن لاشه محاسبه شد.

برای بررسی صفات ریخت‌شناسی، یک برش از هر نمونه ژژنوم عمود بر محور طولی روده جدا و در پارافین ثابت شد. بخش‌های عرضی با میکروتوم برش داده شد و پس از رنگ‌آمیزی به‌روش هماتوکیوسلین -ائوزین روی لام، ثابت شد (۶). تصاویری از نمونه‌های روی لام با استفاده از میکروسکوپ نوری گرفته و شاخص‌های ریخت‌شناسی ژژنوم

تعیین شدند. صفات مربوط به ریخت‌شناسی روده اندازه‌گیری شده شامل طول، عرض، مساحت خمل و عمق کریپت از هر برش مورد بررسی قرار گرفت. میانگین حاصل از ۱۰ خمل برای هر برش به‌عنوان عدد میانگین برای آنالیزهای بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری غلظت هورمون‌های جنسی (تستوسترون برای نرها و پروژسترون برای ماده‌ها) هنگام کشتار نمونه خون گرفته شد. سپس با استفاده از سانتریفیوژ با ۳۵۰۰ دور دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه، سرم خون جدا گردید. آنالیز نمونه‌های سرم به‌وسیله الایزاریدر (Awernsآمریکا مدل State fax) و با استفاده از کیت اختصاصی شرکت DRG آلمان انجام شد (۲).

داده‌های مربوط به فراسنجه‌های عملکرد (افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک، ضریب تبدیل غذایی)، ترکیبات خون، ترکیبات لاشه و ایمنی و صفات بافت‌شناسی ژژنوم پس از ثبت، در برنامه اکسل وارد شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS V9.1 با استفاده از رویه‌ی GLM در قالب طرح کاملاً تصادفی طبق مدل آماری شماره یک انجام گرفت:

$Y_{ij}=\mu+T_i+e_{ij}$ (رابطه ۱)

Y_{ij}: مقدار عملکرد صفات وابسته‌ی نمونه‌jام در تیمار iام، μ: میانگین کل تیمار، T_i: اثر iامین سطح تیمار، e_{ij}: اشتباه آزمایشی

همچنین داده‌ها قبل از تجزیه و تحلیل برای نرمال بودن در نرم‌افزار SAS v9.1 آزمون شدند و نهایتاً مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

صفات عملکردی

نتایج این تحقیق نشان داد که در وزن‌کشی‌های هفتگی (جدول ۲) اثر آنتی‌بیوتیک و سطوح مختلف پودر گیاه تشنه‌داری بر وزن زنده بدنی پرنده‌ها معنی‌دار نبود ($p>0/05$). در دوره آغازین، کمترین وزن بدن مربوط به تیمار شاهد و بیشترین وزن بدن مربوط به تیمارهای مصرف‌کننده تشنه‌داری بود که معنی‌دار نبود. در سن ۳۵روزگی اثر آنتی‌بیوتیک و سطوح مختلف پودرگیاه تشنه‌داری بر وزن بدن معنی‌دار نبود. اثر آنتی‌بیوتیک و گیاه تشنه‌داری بر مصرف خوراک معنی‌دار بود ($p<0/05$). به‌طوری‌که بیشترین خوراک مصرفی مربوط به تیمار مصرف‌کننده آنتی‌بیوتیک و تیمار ۵ (۳ درصد گیاه تشنه‌داری) و کمترین خوراک مصرفی مربوط به تیمار شاهد بود ($p>0/05$). نتایج آزمایش اختلاف آماری معنی‌داری را در ضریب تبدیل خوراک در سنین مختلف پرورش نشان نداد ($p>0/05$). به‌عبارت دیگر استفاده از سطوح مختلف تشنه‌داری و آنتی‌بیوتیک نتوانست باعث بهبود ضریب تبدیل در مقایسه با تیمار شاهد شود.

استفاده از گیاهان حاوی فلاوونوئید در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش مصرف خوراک می‌شود (۲۳) به‌نظر می‌رسد افزودنی‌های گیاهی جیره، سبب خوشخوراکی و افزایش مصرف خوراک می‌شود (۸). عصاره‌های گیاهی و چاشنی‌ها با تحریک دستگاه گوارش زمان عبور مواد غذایی را در روده کوتاه می‌کنند. افزودن گیاهان دارویی، سبزیجات و چاشنی‌ها به جیره جوجه‌های گوشتی سبب بهبود عملکرد آنزیم‌های پانکراس و آنزیم‌های غشای مخاطی روده شده و در نتیجه منجر به افزایش سرعت هضم می‌شوند (۱۷).

گزارش شده است که افزودن گیاه علف چشمه به جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش مصرف خوراک روزانه و بهبود ضریب تبدیل خوراکی می‌شود (۲۱) که با نتایج مطالعه حاضر از نظر بهبود ضریب تبدیل خوراکی همخوانی نداشت. افزودن ۲۰۰ قسمت در میلیون مخلوط روغن‌های فرار میخک، پونه و انیسون سبب شد افزایش وزن ۱۶ درصد نسبت به گروه شاهد بیشتر شود (۹) مصرف سطح بالای اسانس رزماری (۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در هفته دوم موجب افزایش مصرف خوراک بلدرچین‌های ژاپنی در مقایسه با دو سطح پایین (صفر و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) آن شد (۱۸). استفاده از قسمت‌های مختلف گیاه، روش مصرف، موقعیت جغرافیایی محل رویش، شرایط رشد و زمان برداشت گیاه می‌تواند موجب تغییر در ترکیبات شیمیایی و فعالیت بیولوژیکی گیاه دارویی شود (۴). در نتیجه تناقض موجود بین نتایج شاید مربوط به تفاوت در روش مصرف، مقدار مصرف گیاه و ترکیب شیمیایی گیاه باشد.

جدول ۲- اثرات سطوح مختلف پودر گیاه تشنه‌داری و آنتی‌بیوتیک روی صفات عملکردی بلدرچین ژاپنی
Table 2. Effects of different level of Monkey Flower powder and antibiotic on some performance traits of Japanese quail

صفات gr	تیمار۱	تیمار۲	تیمار۳	تیمار۴	تیمار۵	اشتباه معیار (SE)	سطح معنی داری
میانگین وزن زنده هفته اول	۳۸/۶۶	۴۲/۶۶	۴۱/۶۹	۴۵/۲۸	۴۵/۲۸	۳/۰۷	۰/۵۴
میانگین وزن زنده هفته دوم	۹۴/۸۰	۱۰۱/۰۶	۸۹/۰۰	۱۰۳/۸۰	۹۹/۷۳	۴/۶۵	۰/۲۵
میانگین وزن زنده هفته سوم	۱۳۸/۸۰	۱۵۱/۰۰	۱۳۷/۲۰	۱۴۸/۸۶	۱۵۰/۰۶	۶/۲۹	۰/۴۰
میانگین وزن زنده هفته چهارم	۱۶۹/۲۰	۱۷۵/۴۶	۱۵۸/۷۳	۱۷۶/۸۶	۱۸۰/۸۰	۶/۶۴	۰/۲۱
میانگین وزن زنده هفته پنجم	۲۰۳/۲۶	۲۲۰/۶۶	۲۰۶/۰۶	۲۲۳/۲۰	۲۱۹/۵۳	۵/۰۷	۰/۰۶
میانگین افزایش وزن روزانه۱تا ۱۴	۸/۰۲	۸/۳۴	۶/۷۶	۸/۳۶	۷/۷۸	۰/۶۳	۰/۴۲
افزایش وزن روزانه ۱۴ تا۲۱	۶/۲۸	۷/۱۳	۶/۸۸	۶/۴۴	۷/۱۹	۰/۴۷	۰/۵۹
افزایش وزن روزانه ۲۱ تا ۲۸	۴/۳۴	۳/۴۹	۳/۰۷	۴/۰۰	۴/۳۹	۰/۷۰	۰/۶۴
افزایش وزن روزانه ۲۸ تا ۳۵	۴/۸۷	۶/۴۵	۶/۷۶	۶/۶۲	۵/۵۳	۰/۴۳	۰/۵۶
میانگین خوراک‌مصرفی۷ تا ۱۴	۱۱/۵۸^{a}	۱۲/۰۱^{a}	۱۱/۰۴^{b}	۱۱/۶۰^{a}	۱۱/۹۴^{a}	۰/۱۱	۰/۰۰۰۹
میانگین خوراک‌مصرفی۱۴ تا ۲۱	۱۲/۹۸^{bc}	۱۳/۸۵^{a}	۱۲/۵۵^{c}	۱۳/۲۰^{b}	۱۴/۰۷^{a}	۰/۱۲	۰/۰۰۰۱
میانگین خوراک‌مصرفی۲۱ تا ۲۸	۱۵/۱۵^{ab}	۱۵/۳۶^{a}	۱۴/۲۷^{c}	۱۴/۹۲^{b}	۱۵/۳۸^{a}	۰/۰۸	۰/۰۰۰۱
میانگین خوراک‌مصرفی۷ تا ۱۴	۱۸/۳۹^{c}	۱۹/۲۹^{ab}	۱۹/۴۱^{ab}	۱۸/۷۴^{bc}	۱۹/۹۴^{a}	۰/۱۷	۰/۰۰۰۷
ضریب‌تبدیل۷ تا ۱۴	۱/۴۷	۱/۴۶	۱/۶۴	۱/۴۰	۱/۵۶	۰/۱۲	۰/۶۵
ضریب‌تبدیل۱۴ تا ۲۱	۲/۰۸	۱/۹۵	۱/۸۵	۲/۰۹	۱/۹۶	۰/۱۳	۰/۷۰
ضریب‌تبدیل۲۱ تا ۲۸	۳/۸۶	۴/۴۴	۴/۷۰	۴/۰۲	۳/۹۵	۰/۷۴	۰/۹۱
ضریب‌تبدیل۲۸ تا ۳۵	۳/۸۷	۲/۹۹	۲/۸۷	۲/۸۸	۳/۶۹	۰/۳۱	۰/۱۲

تیمار ۱: تیمار شاهد، تیمار ۲: تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک فلاوفسفولیپول، تیمار ۳: تغذیه شده با یک درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار ۴: تغذیه شده با دو درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار ۵: تغذیه شده با سه درصد پودر گیاه تشنه‌داری. خطای استاندارد میانگین. در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیریکسان دارای اختلاف معنی‌داری هستند (p<۰/۰۵).

افزودن خوراکی پودر گیاه تشته‌داری به جیره‌ی اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک نداشت (۲۰). برخی محققین (۱۲) بر این عقیده‌اند که بهبود ضریب تبدیل غذایی در جیره‌های حاوی گیاهان دارویی می‌تواند به‌دلیل اثرات ضد میکروبی ترکیبات فعال و موثر موجود آن باشد. برخی محققین (۱۲) بر این عقیده‌اند که بهبود ضریب تبدیل غذایی در جیره‌های حاوی گیاهان دارویی می‌تواند به‌خاطر اثرات ضد میکروبی ترکیبات فعال و موثر موجود آن‌ها باشد. مشابه با نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، گزارش شده است که افزودن آنتی‌بیوتیک به جیره اثر معنی‌داری بر صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی ندارد (۱۱). به‌صورت کلی آنتی‌بیوتیک‌ها با محدود نمودن رشد باکتری‌های بیماری‌زا و ممانعت از رشد باکتری‌های مصرف کننده مواد مغذی و تولید کننده آمونیاک و سایر محصولات نیتروژنی سمی در روده، سبب بهبود هضم و قابلیت دسترسی مواد مغذی شده و در نتیجه بازده غذایی را افزایش می‌دهند، اما در پژوهش حاضر چنین نتیجه‌ای مشاهده نشد.

اثرات سطوح مختلف پودر گیاه تشنه‌داری و آنتی‌بیوتیک بر صفات لاشه جوجه‌های بلدرچین نر و ماده به‌ترتیب در جدول ۳ و جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اثر آنتی‌بیوتیک و سطوح مختلف پودر تشنه‌داری بر روی صفات لاشه و وزن اندام‌های داخلی بدن معنی‌دار نبود.

با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در زمینه استفاده از این گیاه بر خصوصیات لاشه بلدرچین ژاپنی وجود ندارد، لذا به مطالعه و بررسی بیشتری نیاز می‌باشد.

عصاره‌ی گیاهی دارای مواد مختلفی است که به‌واسطه داشتن فعالیت‌های زیستی روی فیزیولوژی حیوان و متابولیسم آن‌ها تأثیر می‌گذارد. اثر عصاره آویشن بر وزن لاشه و اندام‌های داخلی به‌جز قلب معنی‌دار نبود و بالاترین وزن نسبی قلب مربوط به بلدرچین‌های تغذیه‌شده با ۲/۵ درصد پودر آویشن در مقایسه با گروه شاهد بود (۲۵). وزن نسبی لاشه در بلدرچین‌های تغذیه‌شده با آنتی‌بیوتیک در مقایسه با گروه‌های شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود.

جدول ۳- اثرات سطوح مختلف پودر گیاه تشنه‌داری و آنتی‌بیوتیک روی صفات لاشه در بلدرچین ژاپنی نر
Table 3. Effect of different level of Monkey Flower powder and antibiotic on carcass traits percentage in of male Japanese quail

صفات (گرم)	تیمار ۱	تیمار۲	تیمار۳	تیمار۴	تیمار۵	اشتباه معیار (SE)	سطح معنی‌داری
وزن زنده	۱۸۳/^{b}	۲۰۵/۳۳^{ab}	۱۹۹/۶^{ab}	۲۱۰/۳۳^{a}	۱۹۸/۶۶^{ab}	۵/۶۴	۰/۰۵
وزن لاشه	۱۴۷/۶۶	۱۵۲/۴۳	۱۴۹/۶۶	۱۵۲/۳۳	۱۴۳/۳۳	۶/۲۲	۰/۸۲
وزن نسبی ران	۳۹/۶۰	۳۶/۰۶	۳۴/۹۳	۴۱/۸۳	۳۵/۳۳	۴/۲۵	۰/۷۳
وزن نسبی سینه	۴۷/۱۶	۵۲/۶۳	۴۵/۴۶	۵۰/۶۶	۴۷/۰۰	۲/۹۲	۰/۴۴
وزن نسبی پشت	۱۳/۳۳	۱۴/۱۳	۱۴/۳۶	۱۳/۱۳	۱۳/۰۰	۱/۲۶	۰/۹۰
وزن نسبی گردن	۴/۱۰	۴/۳۳	۵/۳۶	۵/۷۶	۴/۴۰	۰/۴۷	۰/۱۲
وزن نسبی پیش‌معده	۰/۷۳	۰/۵۰	۰/۶۶	۰/۶۱	۰/۶۳	۰/۱	۰/۶۶
وزن نسبی طحال	۰/۲۱	۰/۱۵	۰/۱۳	۰/۱۷	۰/۳۲	۰/۰۷	۰/۵۴
وزن نسبی کبد	۴/۰۰	۴/۲۰	۵/۲۳	۳/۷۰	۴/۶۶	۰/۸۳	۰/۷۲
وزن نسبی سنگدان	۶/۴۰	۵/۷۰	۶/۵۰	۶/۲۰	۶/۵۳	۰/۵۱	۰/۷۷
وزن نسبی قلب	۱/۷۶	۱/۸۰	۱/۹۰	۱/۹۶	۱/۸۶	۰/۱۱	۰/۷۵
چربی‌بطنی	۳/۳۵	۱/۸۶	۲/۷۰	۱/۵۰	۱/۰۰	۰/۳۴	۰/۲۴
وزن نسبی بیضه چپ	۲/۱۳	۱/۶۰	۱/۲۴	۱/۸۰	۰/۹۰	۰/۴۸	۰/۴۶

تیمار یک: تیمار شاهد، تیمار دو: تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک، تیمار سه: تغذیه شده با یک درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار چهاردو درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار پنج: سه درصد پودر گیاه تشنه‌داری. خطای استاندارد میانگین. در هر ردیف میانگین های دارای حروف غیریکسان دارای اختلاف معنی‌داری هستند (p<۰/۰۵).

جدول ۴- اثرات سطوح مختلف پودر گیاه تشنه‌داری و آنتی‌بیوتیک روی صفات لاشه در بلدرچین ژاپنی ماده
Table 4. Effect of different level of Monkey Flower powder and antibiotic on carcass traits percentage in of female Japanese quail

صفات	تیمار۱	تیمار۲	تیمار۳	تیمار۴	تیمار۵	اشتباه معیار (SE)	سطح معنی‌داری
وزن زنده	۲۱۳/۰۰	۱۹۹/۳۳	۱۸۳/۰۰	۲۰۳/۳۳	۱۹۵/۳۳	۱۷/۹۱	۰/۸۲
وزن لاشه	۱۶۲/۳۳	۱۴۸/۸۳	۱۳۶/۰۰	۱۶۵/۶۶	۱۴۶/۳۳	۱۴/۴۵	۰/۶۰
وزن نسبی پیش معده	۰/۸۶	۰/۷۸	۰/۷۲	۰/۸۳	۰/۶۸	۰/۰۷	۰/۴۷
وزن نسبی طحال	۰/۲۰	۰/۱۷	۰/۲۴	۰/۲۲	۰/۲۰	۰/۰۵	۰/۹۳
وزن نسبی کبد	۵/۸۳	۴/۹۶	۴/۷۰	۷/۲۶	۵/۴۰	۱/۳۴	۰/۶۹
وزن نسبی سنگدان	۷/۱۳	۷/۴۶	۶/۵۶	۷/۶۷	۷/۲۶	۰/۶۴	۰/۷۹
وزن نسبی قلب	۱/۶۰	۱/۹۰	۱/۵۶	۱/۹۳	۱/۸۶	۰/۲۱	۰/۶۳
وزن نسبی چربی بطنی	۳۵/۹۰	۲۹/۰۰	۳۱/۹۰	۴۸/۰۰	۳۹/۰۰	۰/۳۴	۰/۱۷
وزن نسبی بال	۹/۲۰	۸/۱۰	۹/۰۶	۹/۶۰	۹/۰۰	۰/۷۰	۰/۶۶
وزن نسبی سینه	۵۳/۴۰	۵۰/۳۳	۴۵/۷۶	۴۹/۷۰	۴۲/۶۳	۴/۰۸	۰/۴۲
وزن نسبی پشت	۱۴/۸۸	۱۲/۳۶	۱۱/۱۶	۱۵/۵۰	۱۳/۶۶	۱/۲۶	۰/۱۷
وزن نسبی گردن	۴/۱۳	۴/۸۶	۴/۹۶	۴/۴۳	۳/۸۶	۰/۴۷	۰/۴۶
وزن نسبی تخمدان	۰/۹۰	۱/۲۱	۰/۵۴	۱/۷۰	۱/۳	۰/۴۸	۰/۵۴

تیمار یک: تیمار شاهد، تیمار دو: تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک، تیمار سه: تغذیه شده با یک درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار چهار: دو درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار پنج: سه درصد پودر گیاه تشنه‌داری. خطای استاندارد میانگین. در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیریکسان دارای اختلاف معنی‌داری هستند (p<۰/۰۵).

با توجه به جدول ۵ و ۶ نتایج آزمایش‌ها اختلاف آماری معنی‌داری را در ارتفاع پرز، نسبت ارتفاع به عمق کریپت مساحت پرزها در ژژنوم جنس نر نشان نداد. اما در جنس ماده نتیجه آزمایش در رابطه با عمق کریپت معنی‌دار بود و در تیمار سه عمق کریپت بیشتر از گروه شاهد بود (p<۰/۰۵). اعتقاد بر این است که افزایش ارتفاع خمل روده کوچک باعث افزایش سطح تماس و به‌دنبال آن افزایش سطح جذب مواد مغذی می‌گردد. در پرندگانی با عمق کریپت بالاتر، به‌دلیل تکثیر و فعالیت میتوتیک بالاتر، نرخ ترن‌آور بیشتری نیز در سلول‌های لایه مخاطی روده وجود دارد به‌علت رشد و پوسته شدن مداوم سلول‌های لایه مخاطی روده به درون لومن، ترن آور سلولی در پرندگان سبب افت عملکرد می‌شود (۱۵). عمق کریپت از نظر عددی در گروه شاهد نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود و ترن‌آور کمی در سایر تیمارها رخ داده است و انرژی صرف افزایش وزن زنده در جنس نر شده است.

طبق جدول ۷ سطوح مختلف افزودن خوراکی پودر گیاه تشنه‌داری و آنتی‌بیوتیک تأثیر معنی‌داری در پروژسترون در جنس ماده و تستوسترون در جنس نر نداشت (p<۰/۰۵).

جدول ۶- اثرات سطوح مختلف پودر گیاه تشنه‌داری و آنتی بیوتیک روی مورفولوژی روده کوچک بلدرچین ژاپنی نر
Table 6. Effect of different level of Monkey Flower powder and antibiotic on small intestinal morphology of male Japanese quail

صفات (میکرومتر)	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵	اشتباه معیار (SE)	سطح معنی‌داری
ارتفاع خمل	۴۶۴/۶۷	۴۷۰/۶۷	۴۶۶	۴۱۴	۵۰۵/۶۷	۸/۳۹	۰/۵۶
عرض خمل	۱۰۷/۶۷	۱۷۰/۳۳	۱۳۶	۱۴۸	۱۳۲	۴/۱۲	۰/۲۶
عمق کریپت	۷۵/۶۷	۷۶	۶۷/۶۷	۶۸	۸۳/۶۷	۱/۲۴	۰/۸۵
ارتفاع خمل /عمق کریپت	۶/۴۱	۶/۵۰	۶/۹۷	۶/۲۵	۶/۳۲	۰/۱۶	۰/۹۶

تیمار یک: تیمار شاهد، تیمار دو: تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک، تیمار سه: تغذیه شده با یک درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار چهار:دو درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار پنج: سه درصد پودر گیاه تشنه‌داری. خطای استاندارد میانگین. در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیریکسان دارای اختلاف معنی‌داری هستند (p<۰/۰۵).

جدول ۷- اثرات سطوح مختلف پودر گیاه تشنه‌داری و آنتی بیوتیک روی سطوح پروژسترون و تستوسترون
Table 7. Effect of different level of Monkey Flower powder and antibiotic on progesterone and testosterone levels (ng/ml)

	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵	اشتباه معیار (SE)	سطح معنی‌داری
تستوسترون (ng/ml)	۲/۵۳	۲/۵۴	۲/۴۸	۲/۵۱	۲/۵۳	۰/۹۲۴	۰/۹۲
پروژسترون (ng/ml)	۲/۰۰	۲/۰۷	۱/۸۱	۲/۱۴	۲/۱۴	۰/۱۳۵	۰/۱۳

تیمار یک: تیمار شاهد، تیمار دو: تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک، تیمار سه: تغذیه شده با یک درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار چهار:دو درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار پنج: سه درصد پودر گیاه تشنه‌داری. خطای استاندارد میانگین. در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیریکسان دارای اختلاف معنی‌داری هستند ((p<۰/۰۵).

جدول ۸- اثرات سطوح مختلف پودر گیاه تشنه‌داری و آنتی بیوتیک روی مورفولوژی روده کوچک بلدرچین ژاپنی ماده
Table 5. Effect of different level of Monkey Flower powder and antibiotic on small intestinal morphology of female Japanese quail

صفات (میکرومتر)	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵	اشتباه معیار (SE)	سطح معنی‌داری
ارتفاع خمل	۴۷۳/۳۳	۴۸۰/۶۶	۵۰۱/۳۳	۵۰۴/۳۳	۶۷۷/۳۳	۳/۳۵	۰/۳۰
عرض خمل	۱۱۴/۳۳	۱۲۲/۳۳	۱۰۹	۱۲۸	۱۵۳	۳/۴۷	۰/۱۴
عمق کریپت	۶۵/۳۳^{b}	۷۶^{ab}	۹۱/۶۷^{ab}	۷۸/۶۷^{ab}	۹۶/۶۷^{a}	۱/۱۹	۰/۰۴
ارتفاع خمل/عمق کریپت	۷/۲۶	۶/۵۴	۵/۴۷	۶/۵۳	۶/۹۹	۰/۱۱	۰/۴۵

تیمار یک: تیمار شاهد، تیمار دو: تغذیه شده با آنتی‌بیوتیک، تیمار سه: تغذیه شده با یک درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار چهار:دو درصد پودر گیاه تشنه‌داری، تیمار پنج: سه درصد پودر گیاه تشنه‌داری. خطای استاندارد میانگین. در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیریکسان دارای اختلاف معنی‌داری هستند (p<۰/۰۵).

در تضاد با پژوهش حاضر تاکی و همکاران (۲۰۱۴) گزارش نمودند که اضافه‌کردن اسانس رازیانه به جیره‌ی مرغ تخم‌گذار سبب بهبود وضعیت هورمون‌های تولید مثلی و همچنین بهبود شاخص‌های کیفیت تخم‌مرغ گردید (۲۴). در جنس نر نیز پژوهشی توسط جوهری و همکاران (۲۰۱۴) بر ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ انجام شد که گروه‌های مورد آزمایش دزهای مختلف عصاره هیدروالکلی گل بابونه به‌صورت تزریق درون صفاقی دریافت کردند (۱۳). در پایان آزمایش با بررسی میزان غلظت سرمی هورمون‌های گنادوتروپین این نتیجه حاصل شد که عصاره گل بابونه را به صورت تزریق درون صفاقی می‌تواند باعث کاهش ترشح هورمون تستوسترون در جنس نر شود.

همچنین در پژوهشی همانند مطالعه حاضر بر جنس ماده‌ی موش‌های صحرایی نشان داد که تزریق درون صفاقی عصاره‌ی آبی گیاه ثعلب تاثیر معنی‌داری بر افزایش میزان هورمون‌های محرک فولیکولی و استروژن می‌شود و عصاره‌ی آبی صعلب می‌تواند نقش مثبتی بر فولیکول‌سازی در جنس ماده داشته باشد. نتایج این بررسی نشان داد که افزودن خوراکی سطوح مختلف گیاه تشنه‌داری بر افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراکی در بلدرچین گوشتی تاثیر معنی‌داری نداشته است، ولی سطوح گیاه تشنه داری، اثر معنی داری بر مصرف خوراک و وزن زنده پایان دوره بلدرچین‌های ژاپنی نر در دوره‌های مختلف داشته است.

منابع

1. Ahmadipour, B., F. Khajali and M.R. Sharifi. 2018. Effect of guanidinoacetic acid supplementation on growth performance and gut morphology in broiler chickens. Journal of Poultry Science, 6: 19-24.
2. Amorezae, S., A. Farzinpour, A. Farshad and M. Razmkabir. 2015. The effects of dietary zinc oxide nanoparticles on some reproductive parameters of male quail. Research Journal of Science and Poultry, Urmia University, 2: 21-31 (In Persian).
3. Bahrami, A.M. and A. Valadi. 2010. Effect of scorophularia striata ethanolic leaves extracts on staphylococcus aureus. International Journal of Pharmacology, 6: 431-434
4. Burger, R.A., A.R. Torres, R.P. Warren, V.D. Caldwell and B.G. Hunghes. 1997. Echinacea induced cytokine production by human macrophages. Intennational Journal of Immunopharmacolology, 19(7): 371-379.
5. Buwjoom, T., K. Yamauchi, T. Erikawa and H. Goto. 2010. Histological intestinal alterations in chickens fed low-protein diet. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 94: 354-361.
6. Çabuk, M., M. Bozkurt, A. Alçiçek, Y. Akbaþ and K. Küçükyýlmaz. 2006. Effect of a herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. South African Journal of Animal Science, 36: 35-41.
7. Dai, S.F., F. Gao, X.L. Xu, W.H. Zhang, S.X. Song and G.H. Zhou. 2012. Effects of dietary glutamine and gamma-aminobutyric acid on meat colour, pH, composition, and water-holding characteristic in broilers under cyclic heat stress. British Poultry Science, 53: 471-481.
8. El-Tohamy, M.M. and R.I. El-Kady. 2007. Partial replacement of soybean meal with some medicinal plant seed meals and their effect on the performance of rabbits. International Journal of Agriculture and Biology, 9(2): 215-219.
9. Ertas, O., T. Guler, C. Mehmet and B. Dalkilic. 2005. The effect of an essential oil mix derived from oregano, clove and anise on broiler performance. International Journal of Poultry Science, 4(11): 879-884.
10. Ghasemi, H.A., R.Ghasemi and M. Torki. 2014. Periodic usage of low-protein methionine-fortified diets in broiler chickens under high ambient temperature conditions: effects on performance, slaughter traits, leukocyte profiles and antibody response. International Journal of Biometerology, 58: 1405-1414.
11. Gunal, M., G. Yayli, O. Kaya, N. Karahan and O. Sulak. 2006. The effect of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, instestinal microflora and tissue of broilers. International Journal of Poultry Science, 5: 149-155.
12. Jazila, E. and M. Driss. 2007. Antimicrobial activaty of elttaria cardamomum: toxicity biochemical and histological studies. Food chemistry, 140: 1560-1568.
13. Johari, H., M. Khavarian, M. Mokhtari, M. Kamali and H. Kargar Jahromi. 2014. The Effects of hydro alcoholic extract of Matricaria chamomilla flower on testosterone and gonadotropins hormone in adult male rat. Pars Journal of Medical Sciences, 12: 37-41 (In Persian).
14. Lara, L.J. and M.H. Rostagno. 2013. Impact of heat stress on Poultry Production. Animals (Basel), 3: 356-69.
15. Maiorka, A., E. Santin, F. Dahlke, I.C. Boleli, R.L. Furlan and M. Macari. 2003. Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. Journal of Applied Poultry Research, 12(4): 483-492.
16. Manafi, M. and M. Hedayati. 2018. Evaluating effect of A herbal Promoter Compound with Phosphoflavomycin Antibiotic on Performance, Biochemical Parameters, Intestinal Bacterial Load and Ileal Morphology of Layer Japanese Quails. Brazilian Journal of Poultry Science, 2: 305-316.
17. Mirzaei-Aghsaghali, A. 2012. Importance of medical herbs in animal feeding: A review. Annals of Biological Research, 3(2): 918-923.

18. Molodi, Y. and M. Daneshyar. 2018. The effects of peppermint and rosemary essential oils on performance, internal organ weights and some blood indices of Japanese quail. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 33: 915-927.
19. Mozaffarian, V. 2008. Flora of Ilam province. (1th ed.). Farhang-e Mo'aser Publishing House (In Persian).
20. Rezaei, F., T. Mohammad Abadi, M. Chaji and M.R. Mashayekhi. 2015. Evaluation of different levels of medicinal herb (Scrophularia striata Boiss) on blood metabolites of Lori-Bakhtiari lambs. In: Proceedings of First National Conference on Medicinal Plants, Traditional Medicine and Organic Agriculture, 24 Nov, Hamedan University, Hamedan, Iran, 89-92 (In Persian).
21. Roostaei-AliMehr, M., S.H. Mirbagheri and M. Haghighian Roudsari. 2014. Effect of Watercress (Nasturtium officinale L.) powder on performance and immune response of broilers. Animal Sciences Journal (Pajouhesh and Sazandegi), 101: 99-107 (In Persian).
22. Rostami, F., K. Taherpour and H.A. Ghasemi. 2015. Effect of Scrophularia striata and Ferulago angulata, as alternatives to virginiamycin, on growth performance, intestinal microbial population, immune response, and blood constituents of broiler chickens. Journal of Poultry Science, 94: 2202-2209 (In Persian).
23. Soliman, A.Z.M., M.A. Ali and M.A. Zeinab Abdo. 2003. Effect of marjoram, bacitracin active yeast as feed additives on the performance and the microbial content of the broiler's intestinal tract. Egyptian Poultry Science, 23(3): 445-467.
24. Suvarna, K.S., C. Layton and J.D. Bancroft. 2018. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques E-Book. Elsevier Health Sciences, 7: 125-177.
25. Takie, A., S. Salari, M. Bujarpour and M. Sari. 2014. Effect of different levels of fennel essential oil on production traits, quality properties of eggs and some reproductive parameters of laying broiler. Iranian Journal of Animal Science Research, 2: 140-149 (In Persian).
26. Zadehamiri, M., M. Bojarpour, S. Salari, M. Mamoueei and M. Ghorbanpour. 2014. Effect of different levels of essential oil of Satureja hortensis on performance, carcass characteristics and some immune and blood parameters of broiler chickens. Research on Animal Production, 5: 1-12.

Effect of Monkey Flower (*Scrophularia Striata*) on Performance, some Blood Parameters and Histology of Intestinal Jejunum in Growing Japanese Quail

Mohammad Mashayekhi[1], Mahdi Khodaei -Motlagh[2], Iman Haj Khodadadi[3] and Mohammad Hossein Moradi[3]

1 and 3 - Graduated M.Sc. Student, Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Environment, Arak University
2- Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Environment, Arak University
(Corresponding author: mmotlagh2002@gmail.com)
Received: March 13, 2021 Accepted: June 12, 2021

Abstract

To compare the effect of different levels of monkey flower (MF) (*Scrophularia Striata)* powder on performance, blood parameter and jejunum histology in growing Japanese quail, the experiment was carried out in a completely randomized design with 400 3d quails was assigned with five treatment and four replicates with 20 quail in each replicate. Experimental groups included: 1) basal diet. 2) basal diet with 0.04 g/kg flavophospholipol 3) basal diet with %1 MF powder, 4) basal diet with %2 MF powder, 5) basal diet with %3 MF powder. The use of MF powder had no any significant effect on avergage daily gain and feed conversion ratio, but the feed intake were increased by experimental treatments. Use of different levels of MF powder had a significant effect on jejunum crypt depth. Also, different levels of MF did not significantly affect sexual hormones, but this levels had significant effect on some intestinal histology and feeed intake in both sexes. Although MF powder especially 2 % level, improved live weight and feed intake in mal birds at different periods, but it can could not improved performance in female birds.

Keyword: Histology, Japanese Quail, Monkey Flower, Performance

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

تأثیر منابع مختلف سلنیوم و ریزپوشانی کردن سلنیوم بر فراسنجه باروری و جوجه درآوری در مرغ‌های مادر گوشتی نژاد آربوراکرز

حسام المحمود[۱]، سید رضا هاشمی[۲]، سید مهدی جعفری[۳]، محمود حیدری[۴] و احسان اسکوئیان[۵]

۱- گروه ژنتیک و اصلاح نژاد و فیزیولوژی دام، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲- گروه ژنتیک و اصلاح نژاد و فیزیولوژی دام، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، (نویسنده مسوول: hashemi711@yahoo.co.uk)
۳- گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۴- دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی گرگان، گرگان، ایران
۵- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزان ایران (ABRIL)، مشهد، خراسان مرکزی، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۶
صفحه: ۱۲۲ تا ۱۳۰

چکیده

پژوهش حاضر به‌منظور بررسی آثار منابع سلنیوم (Se) در جیره غذایی بر فراسنجه باروری و جوجه درآوری طیور مادر گوشتی تجاری انجام شد. تیمارهای این پژوهش شامل: تیمار شاهد (جیره پایه، فاقد مکمل سلنیوم)، جیره پایه + ۰/۵ میلی‌گرم سدیم سلنیت (سلنیوم معدنی) (SS)، جیره پایه + ۰/۵ میلی‌گرم سلنومتیونین (S-Met) و جیره پایه ۰/۵ میلی‌گرم سلنیوم ریزپوشانی‌شده (MS-Met) در کیلوگرم جیره بوده است. برای انجام این پژوهش تعداد ۱۰۰ قطعه مرغ و ۲۰ قطعه خروس مادر گوشتی نژاد آربوراکرز پلاس با سن ۳۸ هفتگی در نظر گرفته شد. جمع‌آوری مایع منی از خروس‌ها با استفاده از مالش شکمی انجام شد و به مرغ‌ها تلقیح شد. فراسنجه جوجه‌کشی، باروری، جوجه درآوری، جوجه درآوری از تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار، تلفات جنین و جوجه‌های درجه یک در ٥٤ و ٤٤ هفتگی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که فراسنجه درصد باروری و درصد جوجه-درآوری در پرندگانی که با منابع سلنیوم آلی (ریزپوشانی شده و سلنیومیتونین) تغذیه شدند؛ در مقایسه با پرندگانی که با سلنیوم معدنی تغذیه شدند، افزایش‌یافته است (p<۰/۰۵) و درصد باروری و جوجه‌درآوری در تیمار سلنیوم ریزپوشانی شده در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود. همچنین درصد تلفات جنینی در پرندگانی که با سلنیوم ریزپوشانی‌شده تغذیه شدند، به‌طوری قابل‌توجهی کاهش یافت (p<۰/۰۵). به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش بیان کرد که استفاده از مکمل‌های سلنیوم آلی بخصوص سلنیوم ریزپوشانی‌شده در جیره غذایی در گله مسن باعث بهبود فراسنجه باروری و جوجه درآوری نسبت به سایر ترکیبات سلنیوم، به‌خصوص سلنیوم معدنی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: جوجه درآوری، ریزپوشانی، سلنیوم، مادر گوشتی

مقدمه

سلنیوم یکی از عناصر غیرفلزی و کمیاب در جیره غذایی طیور ضروری است. سلنیوم به‌عنوان بخش جدایی ناپذیر حداقل ۲۵ نوع سلنوپروتئین، در بافت‌های انسان و حیوانات بیان می‌شود که در تنظیم فعالیت‌های فیزیولوژیکی مهم مانند رشد، ایمنی، تولید اسپرم و توسعه جنینی شرکت دارد. سلنوپروتئین‌هایی مانند گلوتاتیون پراکسیداز و تیوردوکسین ردوکتاز از اجزای مهم سیستم آنتی اکسیدان و ایمنی بدن برای از بین بردن پراکسیدهای هیدروژن و همچنین هیدروپراکسیدهای لیپیدی هستند (۳۰)، همچنین سلنیوم یک عنصر دفاعی که از آسیب به سلول‌ها و غشای سلولی ناشی از پراکسید هیدروژن و سایر پراکسیدها و از آسیب اکسیداتیو به DNA اسپرم جلوگیری می‌کند (۱۳،۱۱). نیاز پرندگان در شرایط فیزیولوژیکی به عنصر سلنیوم بسیار اندک بوده و از ۰/۰۶ (مرغ تخم‌گذار) تا ۰/۰۲ قسمت در میلیون (بوقلمون و اردک) متفاوت است (۴۱). توصیه معمول برای افزایش سطح سلنیوم در جیره جوجه‌های گوشتی طی دوره پرورش ۰/۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم است ولی در شرایط تجاری وجود تنش‌های مختلف نیاز به سلنیوم را افزایش می‌دهد. اصولا احتیاج به سلنیوم برای کارکردهای مختلف متفاوت است. برای مثال ۰/۰۸ میلی‌گرم در کیلوگرم از آن برای حفظ مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه کافی است اما برای حفظ حداکثر فعالیت گلوتاتیون‌پراکسیداز ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم از آن لازم است (۴۵). این عنصر به جیره‌های غذایی طیور به دو شکل معدنی و آلی اضافه می‌شود، سلنیوم غیرآلی در فرم‌های سلنیت، سلنات، سلنید و همچنین به فرم فلزی یافت می‌شود. محدودیت‌های استفاده از سلنیوم غیرآلی به‌خوبی شناخته شده است که شامل سمی‌بودن، اثرات متقابل با سایر عناصر، ذخیره کم، کارایی پایین انتقال به شیر، تخم مرغ و گوشت و توانایی کم برای حفظ ذخیره سلنیوم در بدن، دفع بالا و اثرات پراکسیدانی می باشد (۴۰،۲۱). سلنومتیونین[۱] و مخمر غنی‌شده با سلنیوم متداول‌ترین ترکیبات سلنیوم آلی هستند. این ترکیبات از قدرت زیستی مناسبی برخوردار هستند و کمترین سمیت را نسبت به سایر ترکیبات سلنیوم دارا هستند (۳۱).

توجه به اهمیت سلنیوم و اثرات مثبت آن در طیور، پژوهش‌های زیادی روی سلنیوم انجام شده است. عملکرد تولیدی و سایر صفات جوجه‌های گوشتی نیز در پاسخ به اضافه‌کردن سلنیم و منبع آن متغیر بوده است. پژوهش‌های زیادی نشان داده‌اند که اضافه کردن سلنیوم باعث افزایش

1- Selenomethionin

رشد می‌شود (۳۷،۲۷)، در حالی که پژوهش‌های متعدد دیگری نشان داده است که اضافه‌کردن سلنیوم تأثیر معنی داری بر عملکرد رشد نداشته است (۵، ۴۲). دنیز و همکاران (۱۲) نیز گزارش کردند که استفاده از سلنیوم آلی در مقایسه با سلنیوم معدنی و یا جیره بدون مکمل سلنیوم بهبود ضریب تبدیل غذایی را در پی داشت. نتایج مشابهی در پژوهش چاکت و همکاران (۱۰) دیده می‌شود. بو و همکاران (۶) نیز با بررسی مکمل‌سازی جیره با سلنیوم آلی و معدنی همراه با روی اعلام کردند که سلنیوم آلی به شکل مؤثرتری در مقایسه با سلنیوم معدنی در ماهیچه سینه ذخیره می‌شود. همچنین اغلب بررسی‌های قبلی در مورد اثرات سلنیم بر سیستم ایمنی نشان می‌دهد که نیاز به سلنیم در پاسخ سیستم ایمنی بدن به‌طور قابل توجهی بالاتر از نیاز عادی رشد و تغذیه است (۲۶, ۲۹)

سورای (۴۰) در پژوهش خود گزارش داد که سلنیوم آلی باروری مرغ‌های تخم‌گذار را در آخرین مراحل تخم‌گذاری بهبود بخشید. شکل‌های آلی سلنیوم به‌خصوص سلنیوم متیونین نسبت به سلنیت‌های معدنی در افزایش سطح سلنیوم خون و فعالیت‌های گلوتاتیون‌پراکسیداز خون توانایی بیشتری دارند (۱۷) در نتیجه کمپلکس‌های سلنیوم آلی به‌عنوان بیشترین زیست فراهمی برای انسان‌ها و حیوانات در نظر گرفته شده است (۴۷). مکمل‌های سلنیوم برای حفظ سلامت حیوانات، انسان و محیط زیست اهمیت دارد (۲۴) و باعث افزایش عملکرد سیستم ایمنی و کاهش بروز مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی عروقی می‌شود. همچنین افزودن مکمل سلنیوم می‌تواند سیستم ایمنی هومورال بلدرچین ژاپنی را بهبود بخشد (۵). نقش سلنیوم در سلامت انسان و بیماری بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۳۴).

از طرف دیگر با توجه به توسعه تکنولوژی، امروزه محققان به‌منظور جلوگیری از واکنش‌های شیمیایی بین ماده فعال و محیط و در نتیجه جلوگیری از عوارض جانبی ماده فعال و طولانی شدن زمان نگهداری ماده فعال، به‌طور گسترده از ریزکپسول‌ها استفاده می‌کنند (۲۰). ریزپوشانی کردن، تکنولوژی است که در آن ترکیبات هدف، توسط ترکیبات دیواره پوشش داده می شود تا ذرات ریزکپسول به‌وجود آید. این کپسول‌ها می‌توانند محتویات خود را با سرعتی کنترل شده و یا در شرایط خاص تعریف شده، آزاد نمایند. در این تکنیک انواع طعم‌ها، اسانس‌ها، روغن‌ها، آنزیم‌ها، میکروارگانیسم‌ها و عناصر کمیاب می‌توانند توسط ترکیبات بیوپلیمر مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها پوشش داده شوند. ریزپوشانی عملیاتی فیزیکوشیمیایی یا مکانیکی برای محصور نمودن یک جز در یک پوشش و تولید ذراتی با اندازه بسیار کوچک است مهم‌ترین خصوصیت ریزکپسول‌ها حفظ محتویات خود در برابر شرایط نامساعد محیط مانند دما، اسیدیته محیط، اکسایش و قابلیت رهایش هوشمندانه آنها در نقطه هدف می‌باشد. از این رو با استفاده از این فناوری می‌توان غذا و داروهایی تولید نموده که مواد پوشش داده شده بیواکتیو را دربرابر شرایط نامساعد محافظت تا پس از مصرف نقش تغذیه ای و درمانی از خود بروز دهد. برای تهیه ریزکپسول‌ها از مواد مختلف از جمله از لیپوزوم‌ها (ذرات کروی) است که از مقیاس نانو تا میکرو متغیر هستند استفاده می‌شود (۱۹). اگرچه در پژوهش‌های زیادی با استفاده از منابع مختلف سلنیوم انجام شده است، اما تاکنون پژوهشی در ارتباط با سلنیوم ریزپوشانی‌شده و تأثیرات آن بر فراسنجه باروری و جوجه درآوری گزارش نشده است. به‌همین جهت هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر افزودن منابع مختلف سلنیوم ازجمله سلنیوم ریزپوشانی شده بر باروری و جوجه درآوری در مرغ مادر گوشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه سلنیوم ریزپوشانی‌شده

سلنیوم ریزپوشانی‌شده برحسب روش سرابندی و همکاران (۳۶) تهیه گردید. در این روش عنصر سلنیوم با استفاده از کیتوزان با وزن مولکولی متوسط پوشانده می‌شوند. به‌طور خلاصه در این فرآیند، ۰/۰۹ گرم لیستین و ۰/۰۱ گرم کلسترول با استفاده از همزن برقی‌مغناطیسی در محلول اتانول حل شدند. سپس با استفاده از آپرواتور فرآیند تبخیر به‌مدت ۲ ساعت و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد انجام گردید. مخلوط ناشی از فرآیند تبخیر بانمک بافر فسفات (PBS) که دارای مقادیر مختلف از میکروسلنیوم در pH =۷ بود، به‌مدت دو دقیقه مخلوط شد.

تیمارهای آزمایشی

پژوهش حاضر در ایستگاه تحقیقات طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی واقع در مزرعه آموزشی-پژوهشی شماره ۱ انجام شد. بدین‌منظور تعداد ۲۰ قطعه خروس با وزن مشابه از نژاد آربورآکرز پلاس (Arbor Acres® Plus) با سن ۳۸ هفته به چهار گروه دسته بندی و به شیوهٔ کامل تصادفی درون قفس‌های انفرادی به ابعاد (۵۰×۳۰×۴۰) سانتی‌متر منتقل شدند و همچنین ۱۰۰ قطعه مرغ از همین نژاد و سن یکسان، به‌طور تصادفی در ۴ واحد آزمایشی توزیع شدند و در طی مدت انجام تحقیق (از ۳۹ تا ۵۴ هفته) طیور تحت تغذیه چهار تیمار به‌شرح زیر قرار گرفتند:

۱) جیره پایه (تیمار شاهد، فاقد مکمل سلنیوم).

۲) جیره پایه + ۰/۵ میلی‌گرم سدیم سلنیت (سلنیوم معدنی) (SS).

۳) جیره پایه + ۰/۵میلی‌گرم سلنومتیونین (S-Met).

۴) جیره پایه + ۰/۵ میلی‌گرم سلنیوم ریزپوشانی شده (MS-Met) در کیلوگرم جیره بود.

جیره‌های غذایی به‌صورت آردی مورد استفاده قرار گرفته شد و طبق راهنمای احتیاجات پرورش مرغ‌های مادر گوشتی نژاد آربوراکرز پلاس تهیه و تغذیه شدند (جدول ۱). دورهٔ نوری مورد استفاده شامل ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی بود و دمای سالن در محدودهٔ ۲۱ تا ۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد حفظ شد. جمع‌آوری مایع منی از ابتدای هفته ۴۴ با استفاده از مالش شکمی انجام شد (۸) و برای جلوگیری از اختلافات کمی و کیفی، مایع منی خروس‌های هر تیمار با هم مخلوط شدند، سپس مایع منی خروس‌های هر تیمار به مرغ‌های همان تیمار یک بار در هفته تلقیح شد (۳۵).

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره پایه

Table 1. Composition and chemical compounds of basal diets

اجزای تشکیل‌دهنده جیره	درصد	مواد مغذی جیره	درصد
ذرت	۵۸/۴	انرژی قابل متابولسیم (کیلوکاگری در کیلوگرم)	۲۷۳۱
کنجاله سویا	۳۰	پروتئین خام	۱۵/۸
روغن سویا	۱/۲	کلسیم	۴/۴
کربنات‌کلسیم	۷	فسفر قابل دسترس	۰/۵۲
دی کلسیم‌فسفات	۲	لیزین	۰/۹۴
نمک	۰/۲۷	متیونین+ سیستئین	۰/۷
متیونین	۰/۲	تریپتوفان	۰/۱۹
لیزین	۰/۱۲	ترئونین	۰/۷۱
مکمل معدنی (فاقد سلنیوم)[1]	۰/۲۵	متیونین	۰/۴۵
مکمل ویتامینه[2]	۰/۲۵		

جیره پایه بر اساس احتیاجات توصیه شده در دفترچه‌ی راهنمای پرورش مرغ مادر سویه آربوراکرز تهیه شده است.

۱- هر کیلوگرم از مکمل معدنی حاوی: ۵۵ میلی‌گرم آهن، ۸۸ میلی‌گرم منگنز، ۸۸ میلی‌گرم روی، ۵/۵ میلی‌گرم مس، ۱/۷ گرم ید.

۲- هر کیلوگرم از مکمل ویتامینه حاوی: ۸۸۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۳۳۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامینD_3، ۱۶۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲/۲ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۵/۵ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۲۸ میلی‌گرم ویتامین B_3، ۶/۶ میلی‌گرم ویتامین B_5، ۳/۳ میلی‌گرم ویتامین B_6، ۰/۶ میلی‌گرم ویتامین B_9، ۲۲/۱ میلی‌گرم ویتامین B_{12}، ۵۵ میلی‌گرم B_7، ۱۱۰ گرم کولین کلراید.

سپس تخم‌مرغ‌ها در سن (۴۴ هفتگی و ۵۴ هفتگی) جمع‌آوری شده به‌مدت ۱۰ روز در دمای ۱۸-۱۹ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰ تا ۷۰ در صد در اتاق ذخیره تخم‌مرغ نگهداری شدند. جهت ارزیابی فراسنجه جوجه درآوری پس از مراحل مختلف نگهداری، انتقال و ضدعفونی، در دستگاه جوجه‌کشی در دمای ۳۷/۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰ درصد قرار داده شدند. نوربینی (کندلینگ) در روز ۸ و ۱۸ بعد از خواباندن در دستگاه جوجه‌کشی برای تعیین درصد باروری و تلفات جنین انجام شد (۲۳)، پس از آن تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار به سینی‌های هچر منتقل گردیدند. درصد باروری از تعداد تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار نسبت به تعداد کل تخم‌مرغ‌ها ست شده و درصد جوجه‌درآوری از تعداد جوجه هچ شده نسبت به کل تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار ضربدر عدد ۱۰۰ محاسبه شد. در حالی که تلفات تمامی تخم‌مرغ‌های شکسته و تلفات جنینی به سه دوره تقسیم شدند. این مراحل شامل، ۱ تا ۷روزگی (تلفات ابتدای دوره)، ۸ تا ۱۸روزگی (تلفات میان دوره) و ۱۸ تا ۲۱روزگی (تلفات انتهای دوره) می‌باشد (۲۲).

آنالیز رهایش سلنیوم ریزپوشانی‌شده در شرایط شبیه‌سازی‌شده گوارشی (معده و روده)

مایع شبیه‌سازی معده و روده بر اساس روش ژانگ و همکاران (۴۸) با اندکی تغییرات تهیه شد. ابتدا محیط شبیه‌سازی‌شده معده با حل‌کردن ۳/۲ گرم پپسین (Simga Aldrich P7000) و ۲ گرم NaCl در آب دیونیزه ایجاد گردید و pH با افزودن اسید هیدرو کلرید یک مولار بر روی ۱/۵ تنظیم شد. اجزای محیط شبیه‌سازی‌شده روده شامل ۱۰ گرم پانکراتین (Simga Aldrich P15000) و ۰/۰۵ مول مونو پتاسیم فسفات (Oxoid, Basingstoke, UK) بود و سپس pH آن با محلول سود ۰/۱ مولار استریل به حدود ۷/۴ رسانیده شد. به‌طور خلاصه، ۰/۱ گرم ماده ریزکپسوله‌شده به ۹ میلی‌لیتر محیط شبیه‌سازی شده معده اضافه گردید و این مخلوط در دمای ۲ درجه با تکان دادن ثابت با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه برای ۱ ساعت انکوبه شد و نمونه‌گیری در فواصل زمانی ۲۰ دقیقه انجام گردید. به‌منظور بررسی هضم روده‌ای، ۱۷ میلی‌لیتر محیط شبیه‌سازی روده به محصول نهایی هضم معده با تنظیم pH به‌میزان ۷/۴ اضافه گردید. این مخلوط در دمای ۳۷ درجه برای ۱۲۰ دقیقه با تکان دادن ثابت با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه انکوبه گردید و در طی این مرحله نمونه‌گیری در فواصل ۳۰ دقیقه انجام گردید.

آنالیز آماری

آزمایش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۴×۲ شامل دو سطح سن (۴۴ و ۵۴ هفتگی) و ۴ سطح تیمارهای آزمایشی (کنترل، سلنیوم معدنی، سلنیوم آلی و سلنیوم آلی ریزپوشانی‌شده) و بر پایه‌ی طرح کاملا تصادفی انجام شد. واکاوی آماری داده‌ها با استفاده از رویه (GLM) با استفاده از نرم‌افزار SAS در سطح معنی‌داری ۵ درصد آنالیز شدند. میانگین حداقل مربعات گروه‌ها پس از تصحیح برای مقایسه‌های چندگانه بر اساس آزمون توکی با هم مقایسه شدند.

نتایج و بحث

تأثیر سن گله و منبع سلنیوم بر صفات باروری، درصد جوجه‌درآوری و درصد جوجه‌درآوری از تخم‌های نطفه‌دار در جدول ۱ نشان داده شده است. نتیجه این تحقیق در ارتباط با صفت باروری نشان داد که افزودن سلنیوم آلی ومعدنی به جیره غذایی گله مسن وجوان باعث بهبود درصد باروری در مقایسه با شاهد بوده است. در حالی که؛ در گله جوان (۴۴هفتگی) منبع سلنیوم تأثیر معنی‌دار بر صفت باروری نداشت، در حال که تفاوت قابل توجه بین تیمارهای سلنیوم در گله مسن وجود دارد ($p<۰/۰۵$)، و بهترین نتیجه از تیمار سلنیوم ریزکپسوله شده به‌دست آمد (جدول ۲). لازم به‌ذکر است تأثیر متقابل بین سن گله و منبع سلنیوم بر صفت باروری وجود ندارد ($p>۰/۰۵$). این نتیجه با نتایج حاصل از پژوهش الیبال و بریک (۱۵) همخوانی دارد که نتایج حاصل از پژوهش آنان بیانگر آن است که، گله‌های با سن ۲۹هفتگی در مقایسه با گله‌های با سن ۶۸هفتگی، مقادیر بهتر از صفات باروری و جوجه درآوری نشان داده است (۱۴)، همچنین با نتیجه خان و همکاران (۲۳) مطابقت دارد. بر طبق پژوهش آنان، منبع و شکل سلنیوم غذایی می‌تواند بر محیط محل لقاح تأثیر بگذارد. به‌طوری که سلنیوم آلی باعث بهبود شرایط زنده‌مانی اسپرم در لوله‌های ذخیره اسپرم (SST)[1] در مرغ‌ها مسن می‌باشد (۲۳) و این نتیجه در تحقیقات فاسنکو و همکاران (۱۶) و آگاته و همکاران (۱) تأکید شد. احتمالاً

1- Sperms Storage Tublus

نتیجه حاضر، می‌تواند بیانگر آن باشد که استفاده از سلنیوم ریزپوشانی شده از آزاد شدن سلنیوم در معده جلوگیری می‌کند و در نتیجه باعث رسیدن آن به روده به‌صورت ریزکپسول می‌باشد. در پژوهش آتیا و همکاران، (۳) گزارش شده است که سلنومتیونین و سدیم سلنیت تأثیری بر باروری نژادهای گوشتی در سن ۳۸، ۴۲ و ۴۶ هفته ندارند، به این ترتیب با نتیجه پژوهش حاضر همخوانی ندارد.

جدول ۲- تأثیر سن گله و ترکیبات مختلف سلنیوم بر درصد باروری، جوجه‌درآوری و جوجه درآوری از تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار مرغ‌های مادر گوشتی نژاد آربوراکرز

Table 2. The effect of age and different sources of selenium on fertility and hatchability in Arbor Acres broiler breeder

تیمارهای آزمایشی		باروری (٪)	جوجه درآوری (٪)	جوجه درآوری از تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار (٪)
سن ۴۴ (هفته) + تیمارهای آزمایشی	شاهد	۸۸/۵۵^{b}	۷۷/۳۳^{b}	۸۵/۶۵
	سلنیت سدیم	۸۸/۸۹^{a}	۷۹/۴۴^{a}	۸۹/۳۸
	سلنومتیونین	۹۰^{a}	۸۰/۵۶^{a}	۹۰/۱۷
	سلنیوم ریزپوشانی شده	۸۹/۴۴^{a}	۸۰^{a}	۸۹/۴۶
	P-Value	۰/۰۴	۰/۰۰۰۷	۰/۰۷
	SEM	۴/۴۲	۳/۹	۵/۷۲
سن ۵۴ (هفته) + تیمارهای آزمایشی	شاهد	۷۷/۱۴^{c}	۶۰/۷^{c}	۷۸/۷۲^{c}
	سلنیت سدیم	۸۲/۱۴^{b}	۶۸/۵۷^{b}	۸۳/۵۱^{b}
	سلنومتیونین	۸۲/۸۶^{b}	۷۲/۸۵^{a}	۸۷/۸۸^{a}
	سلنیوم ریزپوشانی شده	۸۶/۴۲^{a}	۷۵/۷۱^{a}	۸۷/۶۱^{a}
	P-Value	۰/۰۰۰۸	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱
	SEM	۵/۰۹	۷/۳۲	۶/۷۸
	سن گله (هفته)			
	۴۴	۸۸/۴۷^{a}	۷۸/۴۷^{a}	۸۸/۶۷^{a}
	۵۴	۸۲/۱۴^{b}	۶۹/۴۶^{b}	۸۴/۴۳^{b}
	تیمارهای آزمایشی			
اثر متقابل (سن+ تیمارهای آزمایشی)	شاهد	۸۱/۳۵^{c}	۶۷/۰۲^{c}	۸۲/۱۸^{b}
	سلنیت سدیم	۸۵/۵۲^{b}	۷۴/۰۱^{b}	۸۶/۴۵^{a}
	سلنومتیونین	۸۶/۴۳^{ab}	۷۶/۷۰^{a}	۸۹/۰۳^{a}
	سلنیوم ریزپوشانی شده	۸۷/۹۳^{a}	۷۷/۸۵^{a}	۸۸/۵۴^{a}
	P-Value			
	سن گله	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
	تیمارهای آزمایشی	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
	سن× تیمارهای آزمایشی	۰/۱۰	۰/۰۰۹	۰/۱۳

a و b در هر ستون تفاوت اعداد با حروف غیر مشابه معنی‌دار می‌باشد. (p<۰/۰۵)

در ارتباط با تأثیر سن گله و منبع سلنیوم بر درصد جوجه درآوری، نتیجه این تحقیق حاکی از آن است که افزودن سلنیوم آلی (سلنیوم ریزپوشانی شده و سلنومتیونین) به جیره غذایی گله مسن (۵۴ هفتگی) منجر به بالاترین درصد جوجه درآوری شده است. این در حالی است که تفاوت قابل توجه‌ای بین تیمارهای حاوی سلنیوم در گله جوان وجود ندارد (جدول ۱). لازم به‌ذکر است اثر متقابل بین سن گله و منبع سلنیوم بر درصد جوجه درآوری وجود دارد (p<۰/۰۵). در نتیجه تحقیق حاضر، درصد جوجه درآوری از تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار تحت تأثیر سن گله و منبع سلنیوم قرار گرفت و اثر متقابل بین منبع سلنیوم و سن گله وجود ندارد. در گله مسن بهترین نتیجه با استفاده از سلنیوم آلی (سلنیوم ریزپوشانی شده و سلنومتونین) به‌دست آمد، در حالی که در گله جوان تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای سلنیوم وجود ندارد (جدول ۱). این نتیجه با نتیجه خان و همکاران (۲۳) مطابقت داشت که در تحقیق آن اشاره کردند که بهبودی در درصد باروری و درصد جوجه درآوری از تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار پرندگان تغذیه شده با سلنیوم آلی در مقایسه با پرندگان تغذیه‌شده با سلنیوم معدنی در چهار نوع مرغ آسیل (۵۰ هفته) وجود دارد. همچنین عثمان و همکاران (۳۳) و لاندرو و همکاران (۲۸) با افزودن مواد مکمل آلی به جیره‌های غذایی مادر مرغ تخم‌گذار به نتیجه یکسانی رسیدند. به گفته سورای (۳۹) عناصر جیره غذایی مادر عامل اصلی در ایجاد و سازگاری سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی برای محافظت در برابر پراکسیداسیون لیپید در طی رشد جنین یا در اولین مرحله پس از جوجه هچ شده است. با توجه به این‌که سلنیوم از جمله آنتی‌اکسیدان‌ها محسوب می‌گردد، وجود سلنیوم در دوران رشد جنین و مراحل پس از جوجه‌درآوری ضروری می‌باشد.

اثر سن گله و منبع سلنیوم بر میزان تلفات جنینی و کیفیت جوجه‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. نتیجه آنالیز واریانس حاکی از آن است که علی‌رغم این‌که افزودن سلنیوم باعث افزایش درصد جوجه درجه یک در مقایسه با تیمار شاهد در گله‌های مسن بوده اما تفاوت معنی‌داری بین منابع سلنیوم مختلف در گله‌های مسن و جوان وجود ندارد یا به‌عبارت دیگر منبع سلنیوم بر صفت درصد جوجه درجه یک تأثیر ندارد. در مورد تأثیر سن گله، درصد جوجه درجه یک در گله جوان در

مقایسه با گله مسن نتایج بهتری به‌دست آمد. در حالی‌که اثر متقابل بین سن گله و منبع سلنیوم بر این صفت وجود ندارد ($p<۰/۰۵$) (جدول ۲). رژیم‌های غذایی مکمل‌شده با سلنومتیونین و سلنومتیونین ریزپوشانی‌شده باعث افزایش جوجه‌های درجه یک (کیفیت اولیه جوجه‌ها) شده است.

در ارتباط با درصد تلفات جنینی، درصد کل تلفات جنینی و درصد تلفات جنینی انتهای دوره بر خلاف درصد تلفات جنینی ابتدایی و میان دوره تحت تأثیر سن گله و منبع سلنیوم قرار گرفتند ($p<۰/۰۵$). به‌طوری‌که در گله مسن افزودن سلنیوم آلی در مقایسه با سایر تیمارها منجر به کاهش در صد کل تلفات جنینی و درصد تلفات جنینی انتهای دوره شده است. در حالی‌که تفاوت معنی‌داری بین منابع سلنیوم در گله جوان وجود ندارد (جدول ۳). همچنین اثر متقابل بین سن گله و نوع منبع سلنیوم بر صفت درصد تلفات جنینی وجود ندارد. نکته لازم به‌ذکر، ارتباط ما بین افزایش تلفات جنینی و کیفیت تخم‌مرغ (کیفیت آلبومین و کیفیت پوسته تخم‌مرغ) می‌باشد (۲ , ۱۵). به‌طوری‌که تخم‌های گله‌های مسن‌تر، در مقایسه با گله‌های جوان دارای پوسته نازک‌تر و منافذ (Pores) بیشتر می‌باشد و این امر منجر به افزایش تبادل گاز بین تخم و محیط می‌شود و درنتیجه رشد نمو جنینی و میزان جوجه‌درآوری را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴۳). همچنین الیبال و بریک (۱۴) اشاره کردند که وزن تخم‌مرغ گله‌های مسن بیشتر از وزن تخم‌مرغ گله جوان بوده و این امر، منجر به کاهش از دست دادن حرارت ناشی از فرآیند متابولیسم شده و در نتیجه جوجه‌درآوری در گله‌های مسن، کاهش می‌یابد. سلنیوم قسمت اصلی آنزیم آنتی‌اکسیدان در طی رشد جنین در دوره جوجه‌کشی به‌ویژه در چند روز قبل از جوجه هچ‌شده شامل می‌شود، بنابراین اثرات محافظتی سلنیوم آلی به‌ویژه در حالت اکسایشی در انتهای دوره جوجه‌کشی و اولین روزهای بعد از جوجه هچ‌شده مشاهده می‌شود (۱۸). عوامل زیادی بر در دسترس‌بودن سلنیوم در جیره‌های غذایی تأثیر می‌گذارد مانند شکل شیمیایی عنصر، مقدار آن، حلالیت درون روده، وضعیت فیزیولوژیکی ارگانیسم، سن و برهم‌کنش با عناصر دیگر (۴۶). گزارش شده است که سلنیوم آلی جهت رسوب داخل زرده تخم‌مرغ نسبت به سایر ترکیبات سلنیوم مناسب‌تر است (۹). اگرچه نتایج این تحقیق نشان داد که تفاوت معنی‌داری در تلفات جنینی ابتدای دوره و میان دوره بین تیمارهای سلنیوم وجود ندارد، اما بهترین مقادیر در پرندگانی که با سلنیوم آلی تغذیه شدند، به‌دست آمد. احتمالاً می‌توان بیان داشت که اثر مفید سلنیوم آلی بر کاهش تلفات جنینی در انتهای دوره، ناشی از عملکرد سلنیوم به‌عنوان آنتی‌اُکسیدان باشد. به‌طوری که در این مرحله پس از شروع تنفس ریوی جنین، اُکسیژن بیشتری جهت تنفس قرار دارد (۴۴). همچنین شی و همکاران (۳۸) بیان کردند که انواع اختلالات مختلف مانند اختلال در باروری، کاهش درصد جوجه درآوری و همچنین افزایش تلفات جنینی با کمبود سلنیوم در ارتباط است.

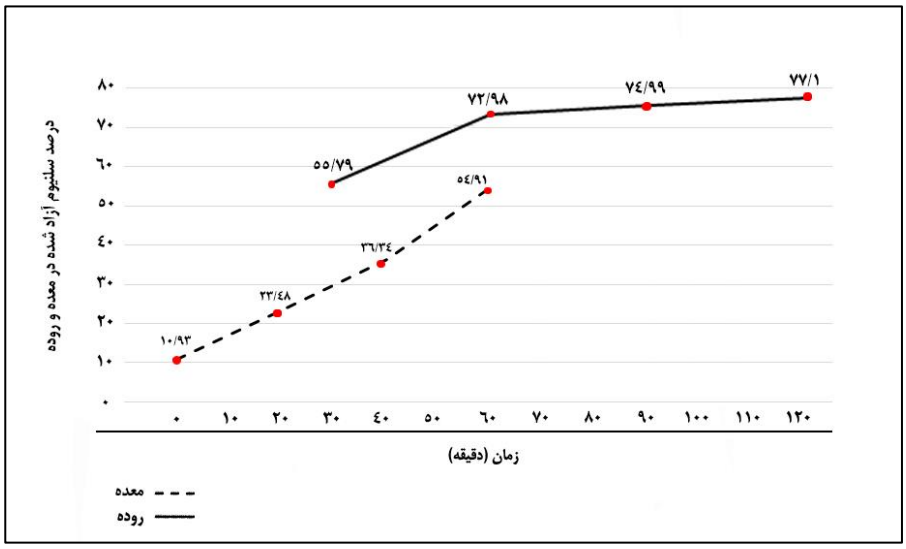
جدول ۳- تأثیر سن گله و ترکیبات مختلف سلنیوم بر تلفات جنینی در مرغ‌های مادر گوشتی نژاد آربوراکرز

Table 3. The effect of age and different sources of selenium on embryo mortality in Arbor Acres strain broiler breeder

تیمارهای آزمایشی		تلفات جنینی مرحله اول (٪)	تلفات جنینی مرحله دوم (٪)	تلفات جنینی مرحله سوم (٪)	کل تلفات جنینی (٪)	جوجه‌ها درجه یک (٪)
سن ۴۴ (هفته) + تیمارهای آزمایشی	شاهد	۶/۴۸	۳/۲۴	۴/۵۵	۱۴/۳۸^{a}	۹۷/۰۳
	سلنیت سدیم	۵/۶۳	۲/۴۷	۳/۱۲	۱۰/۶۱^{b}	۹۷/۸۹
	سلنومتیونین	۵/۵	۱/۸۱	۳/۰۶	۱۰/۴۷^{b}	۹۷/۹۶
	سلنیوم ریزپوشانی شده	۴/۹۷	۳/۰۸	۲/۴۹	۱۰/۵۴^{b}	۹۸/۵۹
	P-Value	۰/۸۶	۰/۸	۰/۲۸	۰/۰۴	۰/۷۷
	SEM	۶/۱۷	۵/۱۶	۲/۱۷	۴/۱۹	۴/۳۲
سن ۵۴ (هفته) + تیمارهای آزمایشی	شاهد	۹/۲۳^{a}	۲/۷۸	۹/۲۷^{a}	۲۱/۲۸^{a}	۹۱/۷۶^{b}
	سلنیت سدیم	۵/۲۶^{b}	۴/۲۵	۶/۹۶^{a}	۱۶/۴۸^{b}	۹۴/۷۷^{ab}
	سلنومتیونین	۶/۰۴^{b}	۱/۷۵	۴/۳۱^{b}	۱۲/۱۱^{c}	۹۶/۱^{a}
	سلنیوم ریزپوشانی شده	۵/۷۸^{b}	۲/۵	۴/۱۱^{b}	۱۲/۳۹^{c}	۹۶/۲۶^{a}
	P-Value	۰/۰۴	۰/۶۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱
	SEM	۳/۵۵	۸/۷۹	۲/۵۴	۶/۷۹	۶/۸۵
اثر متقابل (سن+ تیمارهای آزمایشی)	سن گله (هفته)					
	۴۴	۵/۶۵	۲/۶۵	۳/۳^{b}	۱۱/۵^{b}	۹۷/۶۸^{a}
	۵۴	۶/۷۹	۲/۸۲	۵/۹۵^{a}	۱۵/۵۶^{a}	۹۴/۷۵^{b}
	تیمارهای آزمایشی					
	شاهد	۷/۸۵	۳/۰۱	۶/۹۱^{a}	۱۷/۸۳^{a}	۹۴/۰۵^{b}
	سلنیت سدیم	۵/۴۵	۳/۳۶	۵/۰۴^{b}	۱۳/۵۵^{b}	۹۶/۳۳^{ab}
	سلنومتیونین	۵/۷۷	۱/۷۸	۳/۶۸^{bc}	۱۱/۴۶^{b}	۹۷/۰۵^{a}
	سلنیوم ریزپوشانی شده	۵/۳۸	۲/۷۹	۳/۳^{c}	۱۱/۲۹^{b}	۹۷/۴۲^{a}
	P-Value					
	سن گله	۰/۲۴	۰/۸۵	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲
	تیمارهای آزمایشی	۰/۱	۰/۶۶	۰/۰۰۳	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۴۷
	سن× تیمارهای آزمایشی	۰/۵۵	۰/۷۹	۰/۰۹	۰/۰۶	۰/۷

همچنین لی و همکاران (۲۵) گزارش کرده‌اند که سلنومتیونین بر سلول‌های کبدی جنین مرغ اثر محافظتی دارد. بنابراین مکمل غذایی مادر با سلنومتیونین می‌تواند با بهبود توانایی آنتی‌اکسیدان تحت استرس اکسایشی، درصد تلفات را در انتهای دوره جوجه‌کشی کاهش دهد.

در شکل ۱ نتایج آنالیز رهایش ریزکپسول‌های سلنیوم در شرایط شبیه‌سازی‌شده گوارشی (معده و روده) قابل مشاهده است. نتیجه تحقیق نشان داد که با افزایش مدت زمان، درصد سلنیوم رها شده در محیط شبیه‌سازی‌شده معده و روده افزایش می‌یابد. در میان این نتایج بعد از ۶۰ دقیقه هضم معده‌ای ۴۴ درصد از سلنیوم در ریزکپسول لیپوزومی باقی مانده است. همچنین پس از ۹۰ دقیقه هضم روده‌ای ۲۳ درصد از سلنیوم در ریزکپسول لیپوزومی باقی ماند و یا به‌عبارت دیگر، پس از ۱۵۰ دقیقه هضم گوارشی ۷۷ درصد از سلنیوم رها شده است. به نظر می‌رسد رهایش ریزکپسول سلنیوم در شرایط شبیه‌سازی‌شده گوارش نشان دهنده آن است که، نانو کپسوله لیپوزومی می‌تواند هیدرولیز معده و سرعت تخریب مواد فعال زیستی محلول در شرایط دستگاه گوارش را کاهش دهد (۴۹، ۴). مزیت نانو لیپوزوم این است که توانایی افزایش پایداری قابلیت دسترس زیستی به مواد فعال زیستی و همچنین هدف‌گیری خاص سلول در شرایط *in vitro* و *in vivo* را داشته (۳۲) و همچنین نتایج نشان داد که نانو لیپوزوم دارای سرعت ذخیره بالایی بوده است (۲۶).



شکل ۱- رهایش ریزکپسول سلنیوم در شرایط شبیه‌سازی شده گوارشی (معده و روده)
Figure 1. Release of selenium microcapsule in simulated gastrointestinal conditions (stomach and intestine)

نتیجه کلی این تحقیق نشان داد افزودن سلنیوم باعث بهبود صفات گله مسن و جوان شده است. در بین تیمارهای تحقیق حاضر، افزودن سلنیوم آلی بویژه سلنیوم ریزپوشانی شده تأثیرات مثبت بر روی گله مسن نشان داده است. به عبارت دیگر افزودن سلنیوم ریزپوشانی شده به جیره غذایی باعث افزایش و بهبود صفات باروری و جوجه‌درآوری در مقایسه با سایر تیمارها می‌شود. این در حالی است که منبع سلنیوم تأثیر قابل توجه بر صفات گله جوان وجود ندارد. لذا در تحقیقات آینده به استفاده از دیگر منابع سلنیوم و اثرات آن بر روی صفات گله‌های مسن طیور توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات جناب آقای دکتر ایمان کاتوزیان به‌جهت همکاری در راستای ساخت سلنیوم ریزپوشانی‌شده و از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌منظور در اختیار نهادن امکانات لازم برای اجرای این تحقیق تشکر به‌عمل می‌آید. همچنین از همکاری شرکت زیست فناوری آریانا که در تهیه سلنیوم و انجام برخی از آزمایشات همکاری لازم را داشتند قدردانی می‌شود.

منابع

1. Agate, D.D., E.E. O'dea and M.E. Rustad. 2000. Effects of dietary selenium on laying hen fertility as assessed by the periviteline sperm hole assay. In: Proceedings of the poultry research and production symposium, Alberta poultry research centre, pp: 1-4.
2. Almeida, J.G., S.L. Vieira, B.B. Gallo, O.R.A. Conde and A.R. Olmos. 2006. Period of incubation and posthatching holding time influence on broiler performance. Brazilian Journal of Poultry Science, 8: 153-158.
3. Attia, Y.A., A.A. Abdalah, H.S. Zeweil, F. Bovera, A.A.T. El-Din and M.A. Araft. 2010. Effect of inorganic or organic selenium supplementation on productive performance, egg quality and some physiological traits of dual-purpose breeding hens. Czech Journal of Animal Science, 55: 505-519.
4. Beltrán, J.D., C.E. Sandoval-Cuellar, K. Bauer and M.X. Quintanilla-Carvajal. 2019. *In-vitro* digestion of high-oleic palm oil nanoliposomes prepared with unpurified soy lecithin: Physical stability and nano-liposome digestibility. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 578: 123603.

5. Biswas, A., J. Mohan and K.V.H. Sastry. 2006. Effect of higher levels of dietary selenium on production performance and immune responses in growing Japanese quail. British Poultry Science, 47: 511-515.
6. Bou, R., F. Guardiola, A.C. Barroeta and R. Codony. 2005. Effect of dietary fat sources and zinc and selenium supplements on the composition and consumer acceptability of chicken meat. Poultry science, 84: 1129-1140.
7. Bramwell, R.K., C.D. McDaniel, J.L. Wilson and B. Howarth. 1996. Age effect of male and female broiler breeders on sperm penetration of the perivitelline layer overlying the germinal disc. Poultry Science, 75: 755-762.
8. Burrows, W.H. and J.P. Quinn. 1937. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. Poultry Science, 16: 19-24.
9. Cantor, A.H. 1997. The role of selenium in poultry nutrition. Biotechnology in the Feed Industry. In: Proceedings of the 13th Annual Symposium (TP Lyons and KA Jacques, Eds.). Nottingham University Press, UK.
10. Choct, M., A.J. Naylor and N. Reinke. 2004. Selenium supplementation affects broiler growth performance, meat yield and feather coverage. British Poultry Science, 45: 677-683.
11. Clark, R.F., E. Strukle, S.R. Williams and A.S. Manoguerra. 1996. Selenium poisoning from a nutritional supplement. Journal of the American Medical Association, 275: 1087-1088.
12. Deniz, G., S.S. Gezen and I.I. Turkmen. 2005. Effects of two supplemental dietary selenium sources (mineral and organic) on broiler performance and drip-loss. Revue De médecine Vétérinaire, 156: 423-426.
13. Ebeid, T.A. 2012. Vitamin E and organic selenium enhances the antioxidative status and quality of chicken semen under high ambient temperature. British Poultry Science, 53: 708-714.
14. Elibol, O. and J. Brake. 2004. Identification of critical periods for turning broiler hatching eggs during incubation. British poultry science, 45: 631-637.
15. Elibol, O. and J. Brake. 2008. Effect of egg position during three and fourteen days of storage and turning frequency during subsequent incubation on hatchability of broiler hatching eggs. Poultry Science, 87: 1237-1241.
16. Fasenko, G.M., R.T. Hardin, F.E. Robinson and J.L. Wilson. 1992. Relationship of hen age and egg sequence position with fertility, hatchability, viability, and preincubation embryonic development in broiler breeders. Poultry Science, 71: 1374-1383.
17. Faye, B., S.K. Saleh, G. Konuspayeva, A. Musaad, M. Bengoumi and R. Seboussi. 2014. Comparative effect of organic and inorganic selenium supplementation on selenium status in camel. Journal of King Saud University-Science, 26: 149-158.
18. Freeman, B.M. and M.A. Vince. 1974. Development of the avian embryo: a behavioural and physiological study. Springer.
19. Hadavi, R., S.M. Jafari and I. Katouzian. 2020. Nanoliposomal encapsulation of saffron bioactive compounds; characterization and optimization. International Journal of Biological Macromolecules, 164: 4046-4053.
20. Isailović, B., A. Kalušević, N. Žuržul, M.T. Coelho, V. Đorđević, V. Alves, I. Sousa, M.M. Martins, B. Bugarski and V. Nedović. 2012. Microencapsulation of natural antioxidants from Pterospartum identatum in different alginate and inulin systems. In: 6th Central European Congress On Food. CEFood, pp. 1075-1081.
21. Jaeschke, H. 1995. Mechanisms of oxidant stress-induced acute tissue injury. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 209: 104-111.
22. Kazemi-fard, M., Z. Ansari Pirsaraei and E. Dirandeh. 2016. Effect of different levels of dietary conjugated linoleic acid on broiler breeder hatchability and performance. Research on Animal Production, 7: 76-81.
23. Khan, M.T., A. Mahmud, I. Zahoor and K. Javed. 2017. Organic and inorganic selenium in Aseel chicken diets: Effect on hatching traits. Poultry Science, 96: 1466-1472.
24. Kitajima, T. and Y. Chiba. 2013. Selenomethionine metabolism and its toxicity in yeast. Biomolecular Concepts, 4: 611-616.
25. Li, J.L., L. Zhang, Z.Y. Yang, Z.Y. Zhang, Y. Jiang, F. Gao and G.H. Zhou. 2018. Effects of different selenium sources on growth performance, antioxidant capacity and meat quality of local Chinese Subei chickens. Biological Trace Element Research, 181: 340-346.
26. Liu, G., Y. Zhao, S. Cao, X. Luo, R. Wang, L. Zhang, L. Lu and X. Liao. 2020. Relative bioavailability of selenium yeast for broilers fed a conventional corn-soybean meal diet. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 104: 1052-1066.

27. Liu, W.L., W. Liu, C.M. Liu, S.B. Yang, J.H. Liu, H.J. Zheng and K.M. Su. 2011. Medium-chain fatty acid nanoliposomes suppress body fat accumulation in mice. British Journal of Nutrition, 106: 1330-1336.
28. Londero, A., A. Pires Rosa, F. Golin Luiggi, M. Oliveira Fernandes, A. Guterres, S. De Moura, N. Hettwer Pedroso and N. Santos. 2020. Effect of supplementation with organic and inorganic minerals on the performance, egg and sperm quality and, hatching characteristics of laying breeder hens. Animal Reproduction Science, 215: 106309.
29. Marsh, J.A., R.R. Dietert and G.F. Combs Jr. 1981. Influence of dietary selenium and vitamin E on the humoral immune response of the chick. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 166: 228-236.
30. Mehdi, Y., J.L. Hornick, L. Istasse and I. Dufrasne. 2013. Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. Molecules, 18: 3292-3311.
31. Mihajlović, M. 1992. Selenium toxicity in domestic animals. Glas. Srpska akademija nauka i umetnosti. Odeljenje Medicinskih Nauka, 42: 131-144.
32. Mozafari, M.R. 2010. Nanoliposomes: preparation and analysis. In: Liposomes. Springer, pp. 29–50.
33. Osman, A.M.R., H.M. Abdel Wahed and M.S. Ragab. 2010. Effects of supplementing laying hens diets with organic selenium on egg production, egg quality, fertility and hatchability. Egyptian Poultry Science Journal, 30: 893-915.
34. Rayman, M.P. 2000. The importance of selenium to human health. The lancet, 356: 233-241.
35. Rosa, A.P., F.J. Paganini, N.S. Vieira and J.L. Paloschi. 1995. Effect of intervals and stresses of artificial insemination on broiler breeder females production and fertility. Ciência Rural, 25: 443-447.
36. Sarabandi, K., A.S. Mahoonak, H. Hamishekar, M. Ghorbani and S.M. Jafari. 2018. Microencapsulation of casein hydrolysates: Physicochemical, antioxidant and microstructure properties. Journal of Food Engineering, 237: 86-95.
37. Ševčíková, S., M. Skřivan, G. Dlouhá and M. Koucký. 2006. The effect of selenium source on the performance and meat quality of broiler chickens. Czech Journal of Animal Science, 51: 449-457.
38. 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.
39. Surai, P.F. 2000. Effect of selenium and vitamin E content of the maternal diet on the antioxidant system of the yolk and the developing chick. British Poultry Science, 41: 235-243.
40. Surai, P.F. 2002. Selenium in poultry nutrition 2. Reproduction, egg and meat quality and practical applications. World's Poultry Science Journal, 58: 431-450.
41. Surai, P.F. and V.I. Fisinin. 2014. Selenium in poultry breeder nutrition: An update. Animal Feed Science and Technology, 191: 1-15.
42. Swain, B.K., T.S. Johri and S. Majumdar. 2000. Effect of supplementation of vitamin E, selenium and their different combinations on the performance and immune response of broilers. British Poultry Science, 41: 287-292.
43. Tona, K., F. Bamelis, W. Coucke, V. Bruggeman and E. Decuypere. 2001. Relationship between broiler breeder's age and egg weight loss and embryonic mortality during incubation in large-scale conditions. Journal of Applied Poultry Research, 10: 221-227.
44. Visschedijk, A.H.J. 1968. The air space and embryonic respiration: 3. the balance between oxygen and carbon dioxide in the air space of the incubating chicken egg and its role in stimulating pipping. British poultry Science, 9: 197-210.
45. Wang, Z.G., X.J. Pan, Z.Q. Peng, R.Q. Zhao and G.H. Zhou. 2009. Methionine and selenium yeast supplementation of the maternal diets affects color, water-holding capacity, and oxidative stability of their male offspring meat at the early stage. Poultry Science, 88: 1096-1101.
46. Wolffram, S. 1999. Absorption and metabolism of selenium: differences between inorganic and organic sources. Biotechnology in the Feed Industry. Nottingham University Press, Nottingham, 547-566.
47. Zarczynska, K., P. Sobiech, J. Radwinska and W. Rekawek. 2013. Effects of selenium on animal health. Journal of Elementology, 18: 329-340.
48. Zhang, Y., J. Gong, H. Yu, Q. Guo, C. Defelice, M. Hernandez, Y. Yin and Q. Wang. 2014. Alginate-whey protein dry powder optimized for target delivery of essential oils to the intestine of chickens. Poultry Science, 93: 2514-2525.
49. Zou, L., S. Peng, W. Liu, L. Gan, W. Liu, R. Liang, C. Liu, J. Niu, Y. Cao and Z. Liu. 2014. Improved *in vitro* digestion stability of (−)-epigallocatechin gallate through nanoliposome encapsulation. Food Research International, 64: 492-499.

The Effect of Different Sources of Selenium and Microencapsulation of Selenium on Fertility and Hatching Traits in Arbor Acres Broiler Breeder

Hussam Almahmoud[1], Seyed Reza Hashemi[2], Seyed Mahdi Jafari[3], Mahmoud Heidari[4] and Ehsan Oskoueian[5]

1- Department of Animal Physiology, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2- Department of Animal Physiology, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, (Corresponding authur: hashemi711@yahoo.co.uk)
3-Department of Food Materials and Process Design Engineering, Faculty of Food Science and Technology, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
4- Department of Biology, Faculty of science, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran
5- Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Mashhad Branch Agricultural Research, Education and Extension Organization, Mashhad, Iran
Received: April 6, 2021 Accepted: May 16, 2021

Abstract

This research was carried out to investigate the effects of dietary selenium (Se) sources on hatchability traits in commercial female broiler breeders. The experimental treatment diets were: control (basal diet, none-selenium), basal diet + 0.5 mg sodium selenite (SS), basal diet + 0.5 mg Selenomethionine (S-Meth) and basal diet + 0.5 mg microencapsulated selenium (MS-Met) per kg diet. The total of 100 female and 20 roosters broiler breeder (Arbor Acres® Plus, 38 weeks of age) were considered for present experiment. Semen was collected from roosters by using abdominal massage. Incubation parameters (fertility, hatching, hatch of fertile egg, embryonic mortality, and A-grade chick) were evaluated at 44wk (younger) and 54wk (older) of age. The results indicated that the birds fed an organic sources of selenium (MS-Meth, S-Meth) the percentage of fertility and hatchability was increased ($P<0.05$) compared to inorganic selenium (SS) and the highest result were obtained in the birds received M-S-Meth diet. Also, the results indicated that embryonic mortality was reduced ($P<0.05$) in birds fed Se supplemented diet. In conclusion, the use of organic selenium supplementation in diet of could be recommended for improving of hatchability traits in commercial broiler breeders.

Keywords: Broiler breeder, Hatchability, Microcapsulated, Selenium

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

بررسی هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی و رابطه آن با صفات میزان جمعیت و تولید عسل در جمعیت‌های زنبورعسل (*Apis mellifera meda*) استان‌های آذربایجان‌غربی و کردستان

جمال یوسفی[۱]، مهدی مخبر[۲]، علی هاشمی[۳] و عطاالله رحیمی[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسوول: m.mokhber@urmia.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۴- بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۸/۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۶
صفحه: ۱۳۱ تا ۱۳۹

چکیده

هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی به‌عنوان شاخصی از همخونی، می‌تواند عملکرد کلنی‌های زنبورعسل را تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین شناخت میزان هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی جهت ارزیابی زنبورستان‌های کشور و نیز طراحی استراتژهای اصلاح نژادی، ضروری است. به‌منظور برآورد میزان هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی در جمعیت‌های زنبورعسل استان‌های آذربایجان‌غربی و کردستان و ارتباط آن با صفات تولید عسل و جمعیت بالغین، تعداد ۳۲۰ کلنی زنبورعسل مورد بررسی قرار گرفت. صفات مورد مطالعه عبارت بودند از هموزیگوسیتی و تعداد آلل‌های جنسی، جمعیت کلنی و تولید عسل. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 انجام شد. در مطالعه حاضر، میانگین هموزیگوسیتی و تعداد آلل‌های جنسی زنبورستان‌های استان آذربایجان‌غربی به‌ترتیب برابر ۱۲/۷ درصد و ۹/۰۲ عدد و برای زنبورستان‌های استان کردستان به‌ترتیب برابر ۱۳/۸۲ درصد و ۸/۱۵ عدد به دست آمد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر عامل استان روی همه صفات مورد مطالعه معنی‌دار (p≤۰/۰۵) است. اثر عامل شهرستان فقط روی میزان تولید عسل معنی‌دار (p≤۰/۰۱) بود. همچنین، اثر تعداد آلل روی جمعیت کلنی و تولیدعسل و نیز اثر میزان جمعیت روی تولید عسل بسیار معنی‌دار (p≤۰/۰۱) بود. نتایج همچنین نشان داد هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی همبستگی منفی و بسیار معنی‌داری (p≤۰/۰۰۱) با صفات، تعداد آلل (۰/۹۲ –)، جمعیت (۰/۷۹ –) و تولید عسل (۰/۸۶ –) دارد و نیز نتایج معادلات رگرسیونی به دست آمده نشان داد، هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی تأثیر منفی و معنی‌داری روی صفات جمعیت بالغین (۰/۱۷–) و تولید عسل (۰/٤٤–) دارد. به‌طوری‌که با افزایش یک درصد هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی، جمعیت کلنی ۰/۱۷ قاب کاهش و میزان تولید عسل ۰/٤٤ واحد و یا به‌عبارتی ٤٤۰ گرم، کاهش پیدا می‌کند. بنابراین، تنها با معطوف کردن توجه زنبورداران به هموزیگوسیتی و تعداد آلل‌های جنسی، می‌توان از کاهش جمعیت و متعاقب آن کاهش تولید عسل در زنبورستان‌های کشور جلوگیری کرد.

واژه‌های کلیدی: تولید عسل، جایگاه تعیین جنسیت، زنبورعسل، همخونی، هموزیگوسیتی

مقدمه

از میان ۹ گونه‌ی زنبورعسل موجود در دنیا، زنبورعسل معمولی (*Apis mellifera*) مفیدترین و تکامل یافته‌ترین گونه است که به‌خاطر داشتن ویژگی‌هایی از قبیل زندگی اجتماعی و امکان پرورش و مدیریت آن توسط انسان، نقش اساسی و مهمی در حفظ فلور گیاهی و محیط زیست و افزایش بهره‌وری محصولات کشاورزی دارد (۲۵،۲۲). نقش گرده‌افشانی زنبورعسل به‌قدری پر رنگ است که ارزش اقتصادی تولیدات مستقیم زنبورعسل از قبیل عسل و گرده در مقایسه با نقش گرده‌افشانی آن بسیار ناچیز است. به‌طوری‌که مطالعات مختلف نقش زنبورعسل در افزایش تولیدات کشاورزی دنیا را ۶۰ تا ۱۴۳ برابر ارزش تولیدات مستقیم کندوهای زنبورعسل، برآورد کرده‌اند (۱،۱۴،۱۵،۳۵). در ایران نیز تحقیقات انجام شده حاکی از ارزش اقتصادی ۹۰ برابری زنبورعسل در گرده‌افشانی نسبت به تولیدات مستقیم آن دارد (۳۶). بنابراین با عنایت به نقش کلیدی زنبورعسل در حفظ محیط زیست و تامین غذای بشر، در کنار اهمیت دادن به مؤلفه‌هایی از قبیل بازار فروش محصولات تولیدی زنبورعسل (۴۴)، بایستی به مسائل تکنیکی پرورش زنبورعسل بسیار مهم بوده و باید مورد توجه بیشتر محققان قرار بگیرد (۱،۱۴،۳۶).

امروزه در صنعت پرورش زنبورعسل عوامل و پدیده‌های زیادی کلنی‌های زنبورعسل را تهدید و در نهایت باعث کاهش جمعیت و در نتیجه کاهش عملکرد کندوهای زنبورعسل می‌شوند. یکی از این عوامل، هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی (نرهای دیپلوئید) در کلنی‌های زنبورعسل جنسی می‌باشد (۴۲،۳۷). آمیزش‌های خویشاوندی در زنبورعسل سبب افزایش هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی در کلنی‌های زنبورعسل شده و در صورت عدم اطلاع زنبورداران از این عارضه و مدیریت غلط زنبورستان‌ها در فصل افزایش جمعیت، کلنی‌های زنبورعسل صدمات زیادی را متحمل خواهند شد و به‌تدریج قدرت سازگاری آنها با محیط کاهش یافته و در نهایت جمعیت کلنی‌های زنبورعسل و باروری و گرده‌افشانی گیاهان دچار مخاطره می‌شود (۲۶).

در اواسط قرن نوزدهم (حدود ۱۵۰ سال قبل) مشخص شد که زنبورهای عسل نر از تخم نابارور و ماده‌های آنها از تخم بارور متولد می‌شوند (۸). این مکانیسم به ظاهر عجیب برای تعیین جنسیت، سیستم تولیدمثلی هاپلودیپلوئیدی نام داشت (۹،۱۳،۱۸،۳۲). مسئله تعیین جنسیت تا قریب به یک قرن مسکوت ماند. تا اینکه در سال ۱۹۵۱ مکنسن مشاهده کرد لاروهای زنبورعسل در برخی از فامیل‌های زنبور، بدون هیچ بیماری خاصی از بین می‌روند. مکنسن با توجه به یافته‌های دانشمندان روی گونه‌های دیگر، فرض را بر این گذاشت که جنسیت توسط یک جایگاه خاص در زنبورعسل تعیین می‌شود (۱۹،۲۸). فرضیه مکنسن بعدها با مطالعات ویوک روی ملکه‌های زنبورعسل که با تلقیح مصنوعی با نرهای خویشاوندشان، مورد بررسی بیشتر قرار گرفته و تأیید شد (۴۱). این جایگاه در زنبورعسل، جایگاه مکمل تعیین جنسیت[1] (*csd*) نامیده شد و بیشتر از همه در *A. mellifera* (۳،۱۰،۱۱،۱۲) و گونه‌ای زنبور به‌نام *Nasonia vitripennis* (۳۹،۳۸) مورد مطالعه قرار گرفته است. تعیین جنسیت در این جایگاه بدین صورت است که اگر در این جایگاه آلل‌ها به‌صورت هتروزیگوت (A1A2) باشد تخم تفریخ شده تبدیل به یک فرد ماده و اگر به‌صورت همی‌زایگوت در حالت هاپلوئید (A1 یا A2) یا هموزیگوت در حالت دیپلوئید باشد، فرد متولد شده نر خواهد بود (۶). ولی در حالتی که آلل‌ها در جایگاه csd به‌صورت دیپلوئید هموزیگوت (A1A1 یا A2A2) باشد، فرد متولد شده تبدیل به یک زنبور نر و قادر به ادامه حیات نبوده و در همان مراحل لاروی (تقریبا ۶ ساعت بعد از تولد) توسط زنبوران کارگر خورده یا نابود می‌گردد در نتیجه در شان‌های نوزادان بعضی از کلنی‌ها، حجرات خالی به‌صورت پراکنده در کنار سلول‌های سربسته مشاهده می‌شوند. در بسیاری از مواقع این پدیده مشخص کننده هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی در کلنی‌های زنبورعسل می‌باشد (۲).

هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی بر میزان جمعیت و عملکرد کلنی تأثیر دارد. وجود رابطه منفی بین هموزیگوسیتی یا هموزیگوسی آلل‌های جنسی و جمعیت منطقی می‌باشد. زیرا با افزایش درصد هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی و به دنبال آن کاهش رشد جمعیت کلنی، تمایل کلنی به بچه‌دهی و تکثیر کم می‌شود و لذا تولید زنبوران کاهش می‌یابد. یکی از واضح‌ترین دلایل کاهش جمعیت با افزایش هموزیگوسیتی جایگاه مکمل تعیین جنسیت، حذف تعدادی از نوزادان متولد شده در زمان لاروی (تخم‌های دیپلوئید هموزیگوت) به‌دلیل شرایط خاص آنها است (۳۷). در جمعیت‌های زنبورعسل به‌خصوص آنهایی که دارای زندگی بسته هستند و تنوع ژنتیکی کمی دارند، تعداد آلل‌های جنسی *csd* کاهش پیدا می‌کند، به گونه‌ای که باعث کاهش زنده‌مانی نوزادان و در نتیجه کاهش جمعیت کلنی می‌شود (۴۱،۳،۱۱،۱۲). همچنین با بالا رفتن درصد هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی در کندوهای زنبورعسل به‌تدریج باعث کاهش و یا عدم مقاومت زنبورها در مقابل آفات و بیماری‌های مختلف کندو می‌شود (۳۷). این محققان نشان دادند کندوهایی که درصد هموزیگوسیتی پایین‌تری در آلل‌های جنسی خود دارند، در مقابل قارچ بیماریزای *Ascophaera apis* مقاومت بیشتر و تلفات کمتری داشتند (۳۷). ریندیر همکاران (۲۷) گزارش کردند که همخونی روی مقاومت زنبورها به کنه واروا (*Varroa*)، که یکی از مهم‌ترین و خطرناک‌ترین آفات کندو در دنیا و ایران می باشد، مؤثر است. این محققان نشان دادند که کلنی‌های با درصد هموزیگوسیتی کمتر در آلل‌های جنسی، رفتار بهداشتی بهتری از خود نشان دادند و تلفات کمتری در مقابل کنه واروا داشتند. بر اساس نتایج مطالعات لیلیا و همکاران (۱۷)، کلنی‌های با درصد هموزیگوسیتی بالا در آلل‌های جنسی، مقاومت کمتری در مقابل کنه تراشه[1] زنبورعسل دارند. همچنین، نتایج نشان داد افزایش هموزیگوسیتی روی طول عمر زنبورهای جمع‌آوری‌کننده شهد و گرده تاثیر تأثیر زیادی داشته و به‌طور غیرمستقیم باعث کاهش تولیدات کندو می‌شود (۱۷). با توجه به موارد مذکور بحث همخونی و جلوگیری از بروز فنوتیپ‌های هموزیگوت در جمعیت زنبورعسل از اقدامات اساسی و مهم در صنعت زنبوداری محسوب می می‌شود. اولین قدم در در زمینهٔ کنترل همخونی، حفظ تنوع در جمعیت‌های زنبورعسل و تدوین استراتژی‌های پرورشی و اصلاح نژادیی در صنعت زنبورعسل، بررسی و شناخت میزان تنوع نتیکی جمعیت‌های زنبورعسل است. در این راستا بررسی و تعیین میزان هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی با توجه به تنوع موجود و نیز تاثیر تأثیر قابل ملاحظه آن بر عملکرد تولید، می‌تواند بسیار راهگشا باشد. هدف از این تحقیق برآورد میزان هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی و رابطه آن با صفات تولید عسل و جمعیت در زنبورستان‌های استان آذربایجان‌غربی و کردستان است. این تحقیق به‌منظور برآورد میزان هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی و تأثیر آن بر صفات عسل تولیدی و جمعیت بالغین در دو استان واقع در شمال غرب ایران شامل استان‌های آذربایجان‌غربی و کردستان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

طرح به‌صورت عملیات صحرایی در زنبورستان‌های استان آذربایجان‌غربی که شامل شهرستان‌های ارومیه، خوی، پیرانشهر و شاهین‌دژ می‌باشد و استان کردستان که شامل شهرستان‌های سنندج، سقز، دیواندره و بانه می‌باشد، زیر نظر گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۹۸ انجام شد. از هر شهرستان ۴ زنبورستان بالای ۲۰۰ کلنی انتخاب و مورد نمونه‌برداری و مطالعه قرار گرفت. در انتخاب شهرستان‌ها و زنبورستان‌های واقع در آن به نوعی انتخاب شدند تا تنوع اقلیم استان‌های مورد مطالعه لحاظ گردد. شرایط اقلیمی شهرستان شاهین‌دژ به‌عنوان نمونه‌ای از بخش‌های مورد مطالعه در مطالعه نوروز ولاشدی در سال ۲۰۱۹ تشریح شده است (۲۱). در مطالعه همچنین در انتخاب زنبورستان‌ها سعی شد که زنبورستان‌ها، شناسنامه‌دار و زنبوردارها دفترچه زنبورداری داشته باشند و تا حد امکان اطلاعات شناسنامه کندو را هم داشته باشند. از هر کدام از زنبورستان‌های مورد مطالعه، تعداد ۱۰ کلنی مورد مطالعه قرار گرفت. کندوها در

ابتدای فصل زنبورداری و از بین کلنی‌هایی انتخاب شدند که سال قبل ملکه‌های آن‌ها توسط زنبوردار تعویض شده بود و دارای ملکه جوان بودند، به طور تصادفی انتخاب شدند. بعد از انتخاب، کلنی‌ها در صورت نیاز برای تعداد شان و جمعیت کارگر همسان شدند. به‌منظور یکسان‌سازی جمعیت، سعی شد کلنی‌ها قبل از شروع گل‌دهی در منطقه به جمعیت متعادل برسند. این کار تا رسیدن جمعیت به‌حد مطلوب (۳–۵ قاب) تا یک ماه قبل آغاز رکورد برداری ادامه یافت. نمونه‌برداری دو بار از هر زنبورستان در ماه‌های اردیبهشت و خرداد سال ۱۳۹۸ انجام و در پایان فصل و هنگام برداشت عسل میزان عسل این کلنی‌ها اندازه گیری و ثبت شد.

برای محاسبه میزان هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی، از روش روتنر (۳۰) از طریق شمارش سلول‌های خالی (به عنوان شاخصی از تعداد نرهای دیپلوئید) بین سلول‌های سربسته (شفیره) استفاده شد. به این منظور ابتدا شابلونی با زوایای ۱۲۰ و ۶۰ درجه و دارای طول ضلع ۵۳ میلی‌متر، مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به ابعاد و زوایای سلول‌های کارگری این شابلون دقیقاً یک صد سلول کارگری را در بر می‌گیرد. برای شمارش سلول‌های خالی، از هر کندو ۲ شان حاوی نوزاد سر بسته را بیرون کشیده و با قرار دادن شابلون در منطقه شفیره تعداد سلول‌های خالی در بین سلول‌های پُر شمارش شد. در هر شان محوطه‌ای به اندازه ۳۰۰ سلول در هر طرف شان (در مجموع ۶۰۰ سلول) مورد شمارش قرار گرفت و درصد سلول‌های خالی به‌عنوان شاخصی از هموزایگوسیتی آلل‌های جنسی ثبت گردید. تعداد آلل‌های جنسی با استفاده از فرمول $N = \frac{100}{100-S}$ برآورد گردید. در این فرمول N تعداد سلول‌های جنسی و S متوسط درصد قدرت زیست نوزادان در اثر عمل آلل‌های جنسی است که طی ارزیابی کلنی‌ها از طریق شمارش سلول‌های حاوی نوزاد به دست می‌آید (۴۳).

برای برآورد تعداد جمعیت بالغین از روش متداول با واحد قاب استفاده شد (۳۴). بنا به تعریف، یک شان جمعیت حاوی شانی است که از دو طرف پوشیده از زنبور باشد و شان‌های که این ویژگی را نداشتند کسری از عدد یک در نظر گرفته شدند (۳۴). میزان عسل تولیدی در انتهای فصل تولید و با توزین آن قبل و بعد اکستراکتور در فصل برداشت عسل، اندازه‌گیری شد. بدین صورت که در فصل برداشت عسل (اواخر تابستان) شان‌های حاوی عسل از کندو خارج شدند و توزین گردیدند (وزن اولیه) و سپس شان‌های حاوی عسل به داخل اکستراکتور منتقل شدند و با استفاده از نیروی گریز از مرکز عسل‌گیری انجام شد. بعد از انجام اکستراکتور شان‌های بدون عسل توزین شدند (وزن ثانویه) و از اختلاف وزن اولیه و وزن ثانویه میزان عسل تولیدی محاسبه شد. اندازه‌گیری این صفت در فصل تابستان طی یک مرحله انجام شد.

داده‌ها جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار Excell ثبت و مرتب شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 (۳۳) انجام گرفت. آنالیز تجزیه واریانس برای صفات به‌منظور بررسی اثر استان، شهرستان و زنبورستان روی متغیرهای مورد بررسی در کلنی‌ها بر اساس طرح آشیانه‌ای انجام شد. برای آنالیز درصد هموزیگوسیتی و تعداد آلل از مدل (۱)، برای میزان جمعیت کلنی مدل (۲) و برای تولید عسل از مدل (۳) استفاده گردید.

کلنی -$\boldsymbol{Y_{ijkl-n}}$ متغیر وابسته (هموزیگوسیتی، تعداد آلل، جمعیت کلنی و تولید عسل)، μ: میانگین عملکرد، S_i: اثر استان، $C(S)_{j(i)}$: اثر شهرستان درون استان، $D(C)_{k(j)}$: اثر زنبورستان درون شهرستان، $B(Homo)_l$ و $B(Pop)_m$: به ترتیب ضریب رگرسیونی مربوط به هموزیگوسیتی و جمعیت هستند و E_{ijkl-n} برابر خطای آزمایشی است.

معادله (۱)
$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + C(S)_{j(i)} + D(C)_{k(J)} + E_{ijkl}$$

معادله (۲)
$$Y_{ijklm} = \mu + S_i + C(S)_{j(i)} + D(C)_{k(J)} + B(Homo)_l + E_{ijklm}$$

معادله (۳)
$$Y_{ijklmn} = \mu + S_i + C(S)_{j(i)} + D(C)_{k(J)} + B(Homo)_l + B(Pop)_m + E_{ijklmn}$$

نتایج و بحث

آماره‌های توصیفی صفات مورد مطالعه

مقادیر مربوط به آماره‌های توصیفی داده‌های صفات مورد بررسی در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طور که در جدول مشخص است، میانگین هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی و تعداد آلل‌های جنسی زنبورستان‌های استان آذربایجان‌غربی به‌ترتیب برابر ۱۲/۷ درصد و ۹/۰۲ عدد به‌دست آمد. همچنین، میانگین هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی و تعداد آلل‌های جنسی زنبورستان‌های استان کردستان برابر ۱۳/۸۲ درصد و ۸/۱۵ عدد به‌دست آمد. سپهری در سال ۱۳۸۳ میزان هموزیگوسیتی و تعداد آلل‌های جنسی در توده‌های زنبورعسل استان مرکزی را به‌ترتیب برابر ۱۸/۸۳ درصد و ۵/۳۲ عدد گزارش کرد (۳۴). در بررسی دیگر توسط زرین و همکاران در سال ۲۰۰۳ تعداد آلل‌های جنسی در توده‌های زنبورعسل استان‌های اصفهان، مرکزی، تهران و قزوین، برابر ۷/۷۶ گزارش شد (۴۵). در سال ۱۳۷۷ صادقی در استان خوزستان در توده‌های زنبور مورد بررسی خود تعداد آلل‌های جنسی را ۱۲/۲ برآورد کرد که به‌علت باز بودن جوامع و عدم بسته و ایزوله بودن این جمعیت، تعداد آلل‌های جنسی افزایش و جفت‌گیری‌های خویشاوندی کاهش و به‌تبع هموزیگوسیتی کم بود (۳۱). در تحقیق صورت‌گرفته توسط مکنسن (۱۹) تعداد آلل‌های جنسی ۱۱ عدد برآورد شد. در تحقیق دیگر (۱۶) تعداد آلل‌های جنسی را در جمعیت مورد بررسی، ۱۲ عدد گزارش کرد. وویک (۴۳) طبق بررسی‌های که در جزیره کانگروی ایسلند بر روی ۳۴ کلنی زنبورعسل مربوط به یک

جمعیت بسته و ایزوله انجام داد، تعداد آلل‌های جنسی را ۶ آلل به‌دست آورد. روشن است که تعداد آلل‌های جنسی در هر زنبورستان و توده‌ای بسته به شرایط و ویژگی‌های ژنتیکی کلنی‌های آن زنبورستان، متفاوت می‌باشد و دامنه تغییر آن از ۲ تا۲۰ آلل می‌باشد. به‌عبارت دیگر اولاً به‌دلیل متفاوت بودن ویژگی‌های ژنتیکی، نوع تلاقی‌های انجام یافته و اندازه جوامع نمی‌توان انتظار داشت که تعداد آلل‌های جنسی در تمام جوامع زنبورعسل یکسان باشد (۲۳) و ثانیاً به‌طور کلی در پرورش سنتی زنبورعسل که از جفت‌گیری طبیعی استفاده می‌شود، در اثر انجام کوچ‌های متعدد، مواد ژنتیکی جدید به‌طور مداوم به جامعه وارد می‌شود. با توجه به اطلاعات جمع‌آوری‌شده این پژوهش، جامعه مورد مطالعه در پژوهش حاضر، جمعیت‌های باز زنبورعسل بودند که هیچ‌گونه اصلاح‌نژادی در آنها صورت نگرفته بود. همچنین مهاجرت یا وجود نداشت یا به‌صورت محدود (به این مفهوم که دفعات مهاجرت طی سال زنبورداری به یک منطقه یا حداکثر دو منطقه بود و نیز طی سال‌های متمادی زنبوردارن به نقاط ثابتی در ییلاق و قشلاق کوچ می‌کنند) انجام می‌شد. ماحصل این اطلاعات میدانی مؤید نتایج این مطالعه بوده و بیانگر این است که تعداد آلل‌های جنسی نباید در جمعیت‌های مورد مطالعه خیلی پایین باشد. از سوی دیگر عدم اطلاعات کافی زنبورداران دو استان از تأثیر همخونی روی عملکرد کلنی‌های خودشان، باعث شده است زنبورداران مقید به استفاده از ملکه‌های اصلاحی یا ملکه‌های زنبورستان‌های دیگر نباشند، و ملکه‌هایشان را از زنبورستان خودشان تهیه کنند. این امر موجب افزایش میزان آمیزش‌های خویشاوندی و هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی در نتیجه کاهش تعداد آلل‌های جنسی در این جوامع شده است.

جدول ۱- آماره‌های توصیفی مربوط به صفات درصد هموزیگوسیتی، تعداد آلل‌های جنسی، تولیدعسل و جمعیت کلنی در استان‌های آذربایجان‌غربی و کردستان

Table 1. Descriptive statistics of sex alleles homozygosity percentage, sex alleles number, honey production and colony adult traits population in West Azerbaijan and Kurdistan provinces

استان	تعداد کندو	صفات مورد مطالعه	میانگین ± خطای استاندارد	ضریب تغییرات (٪)	دامنه تغییرات	انحراف معیار
آذربایجان‌غربی	۱۵	درصد هموزیگوسیتی	۱۲/۷۰ ± ۰/۳۲	۳۲/۴۹	۴/۵۰ – ۲۴	۴/۱۲
		تعداد آلل‌های جنسی	۹/۰۲ ± ۰/۳۰	۴۲/۶۸	۴/۱۷ -۲۲/۲۳	۴/۸۰
	۸	تولید عسل	۱۷/۹۰ ± ۰/۱۵	۱۰/۶۵	۱۳/۰۱- ۲۲/۳۵	۱/۹۰
		جمعیت کلنی (قاب)	۶/۸۵ ± ۰/۰۶	۱۱/۵۴	۴/۸۰-۸/۸۰	۰/۷۹
کردستان	۱۵	درصد هموزیگوسیتی	۱۳/۸۲ ± ۰/۳۰	۲۷/۴۳	۴/۲۵ – ۲۲	۳/۷
		تعداد آلل‌های جنسی	۸/۱۵ ± ۰/۲۹	۴۵/۱	۴/۵۵-۲۳/۵۳	۳/۶۷
	۸	تولید عسل (کیلوگرم)	۱۷/۲۲ ± ۰/۱۷	۱۲/۵۹	۱۲/۹۱- ۲۴/۰۲	۲/۱۷
		جمعیت کلنی (قاب)	۶/۲۵ ± ۰/۰۶	۱۳/۴۵	۴/۵۰ – ۸/۸۰	۰/۸۴

عوامل مؤثر روی صفات مورد مطالعه

نتایج مربوط به تجزیه واریانس داده‌ها برای تعیین اثرات استان، شهرستان، زنبورستان، جمعیت و تعداد آلل روی صفات مورد مطالعه در جدول ۲ آورده شده است. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد اثر عامل استان روی میزان هموزیگوسیتی و تعداد آلل معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) بود، ولی عوامل شهرستان و زنبورستان اثر معنی‌داری روی میزان هموزیگوسیتی نداشتند. معنی‌دار شدن اثر استان روی تعداد آلل به‌دلیل وجود تفاوت معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵) بین دو شهرستان ارومیه از استان آذربایجان‌غربی و شهرستان دیواندره از استان کردستان است و در سایر موارد تفاوت معنی‌دار ($p>$۰/۰۵) نبود. اثر عوامل استان، زنبورستان درون شهرستان و نیز تعداد آلل روی صفت میزان جمعیت کلنی کاملاً معنی‌دار ($p\leq$ ۰/۰۱) بود، ولی شهرستان درون استان‌های مورد مطالعه اثر معنی‌داری روی جمعیت نداشتند. همچنین نتایج بررسی اثر عوامل مختلف روی صفت تولید عسل نشان داد که عوامل استان، شهرستان درون استان، میزان جمعیت کلنی و تعداد آلل اثر معنی‌داری ($p\leq$ ۰/۰۱) روی صفت تولید عسل داشتند، ولی اثر زنبورستان روی تولید عسل معنی‌دار ($p>$۰/۰۵) نبود.

جدول ۲- تجزیه واریانس مربوط به صفات هموزیگوسیتی آلل جنسی، تعداد آلل‌های جنسی، تولید عسل و جمعیت کلنی در استان‌های آذربایجان‌غربی و کردستان

Table 2. The variance analysis of sex alleles homozygosity percentage, sex alleles number, honey production and colony adult traits population in West Azerbaijan and Kurdistan provinces

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		هموزیگوسیتی	تعداد آلل	جمعیت کلنی	تولید عسل
استان	۱	۹۹/۴۲*	۴۶/۳۶*	۱۹/۲۲***	۱۵/۱۰***
شهرستان (استان)	۶	۷/۶۴^{ns}	۲۰/۰۵^{ns}	۰/۳۳^{ns}	۳/۲۴***
زنبورستان (شهرستان)	۲۴	۱۵/۰۸^{ns}	۲۰/ ۱۷^{ns}	۰/۶۴**	۰/۵۶^{ns}
آلل	۱	–	-	۱۰۴/۷۱***	۸۰۲/۱۴***
جمعیت	۱	–	–	–	۳۴۳/۷۰***
خطا	۲۸۱-۲۸۴	۱۵/۹۲	۲۴/۶۲	۰/۳۲	۰/۴۹
کل	۳۱۵				

*** و *: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و ns: غیر معنی‌دار ی

مقایسات میانگین حداقل مربعات صفات مورد مطالعه

نتایج مربوط به مقایسات حداقل میانگین مربعات مربوط به صفات هموزیگوسیتی، تعداد آلل، جمعیت و تولید عسل در جدول ۳ آورده شده است. نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد که اثر عامل استان روی صفات هموزیگوسیتی، تعداد آلل، جمعیت و تولید عسل معنی‌دار ($p\leq$ ۰/۰۵) بود. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد، علی‌رغم پایین‌بودن هموزیگوسیتی و بالا بودن تعداد آلل و میزان جمعیت در استان آذربایجان‌غربی، میزان عسل تولیدی در این استان کمتر از استان کردستان بود. این نتیجه می‌تواند به‌دلیل شرایط منطقه‌ای مناسب‌تر استان کردستان در سال زنبورداری ۹۸ و یا به‌دلیل تفاوت در مدیریت تغذیه‌ای زنبورداران دو استان، باشد. بررسی‌های بیشتر مقایسات میانگین مربوط به اثرات شهرستان نشان می‌دهد که اثر شهرستان درون استان روی صفات هموزیگوسیتی، تعداد آلل و جمعیت کلنی غیر معنی‌دار ($p>$۰/۵) است و شهرستان‌های درون هر استان با همدیگر تفاوت معنی‌دار ی ندارند. ولی نسبت به شهرستان‌های استان دیگر تفاوت‌ها معنی‌دار ($p\leq$۰/۵) دارند. در هر صورت بررسی‌های بیشتر حاکی از آن است که در مجموع شهرستان‌های استان آذربایجان‌غربی کمترین هموزیگوسیتی و بیشترین هموزیگوسیتی را نسبت به شهرستان‌های استان کردستان دارند. نتایج همچنین گویای آن است که شهرستان‌های استان آذربایجان‌غربی در مجموع تنوع ژنتیکی بالاتری نسبت به استان کردستان دارند. این نتیجه می‌تواند به تفاوت سبک پرورشی زنبوردارن این استان نسبت به استان کردستان باشد.

اطلاعات به‌دست آمده از زنبورستان‌های آذربایجان‌غربی نشان می‌دهد که میزان تمایل به انتقال زنبور به نقاط مختلف (کوچ فصلی) در بین زنبوردارن این استان بالاتر از استان کردستان است. همچنین زنبورداران این استان بیشتر از زنبورداران استان کردستان از ملکه‌های خریداری‌شده از ایستگاه‌های پرورش ملکه استفاده می‌کردند. به بیان دیگر ورود ماده ژنتیکی جدید به درون جمعیت از طریق خرید ملکه می‌تواند یک عامل موثر در این خصوص باشد. همچنین بیشترین درصد هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی (۱۴/۴۱) و کمترین تعداد آلل (۷/۳۷) مربوط به شهرستان دیواندره از استان کردستان می‌باشد. با توجه به اطلاعات جمع‌آوری‌شده از زنبورستان‌های تحت بررسی، علت‌های آن را می‌توان به عدم کوچ به مراتع مختلف و عدم آگاهی زنبورداران از همخونی، نسبت داد.

جدول ۳- مقایسات حداقل میانگین مربعات صفات هموزیگوسیتی آلل جنسی، تعداد آلل‌های جنسی، تولید عسل و جمعیت کلنی در استان‌های آذربایجان‌غربی و کردستان

Table 3. The least square means of sex alleles homozygosity percentage, sex alleles number, honey production and colony adult traits population in West Azerbaijan and Kurdistan provinces

منبع تغییرات		تعداد	هموزیگوسیتی	تعداد آلل	جمعیت کلنی	تولید عسل
استان			*	*	***	***
	آذربایجان‌غربی	۱۵۹	۱۲/۸۹^{a}	۹/۰۲	۶/۷۹^{b}	۱۷/۳۰^{a}
	کردستان	۱۵۸	۱۳/۸۱^{b}	۸/۱۶	۶/۳۰^{a}	۱۷/۸۰^{b}
شهرستان (استان)			ns	ns	ns	***
آذربایجان‌غربی	ارومیه	۴۰	۱۲/۷۷^{ab}	۹/۲۴^{b}	۶/۶۵^{a}	۱۷/۷۶^{c}
	خوی	۴۰	۱۲/۵۳^{a}	۹/۰۳^{ab}	۶/۸۵^{ab}	۱۷/۳۹^{b}
	پیرانشهر	۴۰	۱۲/۵۷^{a}	۹/۰۱^{ab}	۶/۷۰^{b}	۱۷/۱۷^{b}
	شاهین‌دژ	۳۹	۱۲/۸۹^{ab}	۸/۸۱^{ab}	۶/۹۰^{b}	۱۶/۸۸^{a}
کردستان	سنندج	۴۰	۱۳/۰۳^{ab}	۸/۹۹^{ab}	۶/۳۱^{a}	۱۷/۹۳^{cd}
	سقز	۳۸	۱۳/۷۱^{ab}	۸/۳۱^{ab}	۶/۴۲^{a}	۱۷/۶۱^{bc}
	بانه	۴۰	۱۴/۰۶^{ab}	۷/۹۷^{ab}	۶/۲۳^{a}	۱۷/۸۶^{c}
	دیواندره	۴۰	۱۴/۴۱^{b}	۷/۳۷^{a}	۶/۳۴^{a}	۱۷/۷۷^{c}
			۰/۶۳MSE=	۰/۶۰MSE=	۰/۰۸۸MSE=	۰/۱۱MSE=

***و *: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۱و ۵ درصد و ns : غیر معنی‌دار ی
حروف الفبای کوچک نشان‌دهنده تفاوت‌های معنی‌دار است.

ضرایب همبستگی صفات مورد مطالعه

جدول ۴ ضرایب همبستگی صفات مورد بررسی را با یکدیگر نشان می‌دهد. با توجه به نتایج، هموزیگوسیتی همبستگی منفی و معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۰۰۱) با صفات، تعداد آلل (۰/۹۲ -)، جمعیت (۰/۷۹-) و تولید عسل (۰/۸۶-) دارد. که بالاترین میزان همبستگی هموزیگوسیتی مربوط به تعداد آلل‌های جنسی (۰/۹۲-) است. در این مطالعه همبستگی درصد هموزیگوسیتی با جمعیت ۰/۷۹- محاسبه شد. پیچ (۲۴) این همبستگی را ۰/۴۵- و زرین و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۴۵) این همبستگی را ۰/۰۹-، گزارش شد. سپهری همبستگی بین جمعیت و درصد هموزیگوسیتی را ۰/۳۴- برآورد کردند (۳۳)، که با نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق (۰/۷۹-) متفاوت بود. تفاوت‌ها می‌تواند مربوط به سال پرورش، توده‌های مورد بررسی مربوط باشد. توده مورد بررسی جمعیتی بوده است که حدود ۴ نسل برای اهداف اصلاحی تحت انتخاب بودند و شرایط پرورشی آنها تقریبا حالت ایزوله داشته است. همچنین گذشته از اینکه ماده ژنتیکی دارای چه میزانی از تنوع باشد، میزان رشد جمعیت‌ها شدیدا تحت تاثیر محیط است و شاید نتوان شرایط استان‌های مرکزی کشور را با نتایج مورد بررسی در این مطالعه مورد مقایسه قرار داد. همچنین میزان رشد جمعیت، جدای از تأثیر عوامل ژنتیکی به شدیدا تحت تاثیر فصل پرورش می‌باشد و کلنی در یک فصل پرورشی، بسته به این‌که در چه زمانی از فصل پرورشی نمونه‌برداری می‌شود، می‌تواند متفاوت باشد. همچنین میزان تولید عسل نیز همبستگی منفی (۰/۸۶-) و بسیار معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۰۰۱) با درصد هموزیگوسیتی دارد. اسعدی در سال ۱۳۸۷ در شمال غرب کشور این همبستگی را (۰/۵۷-) برآورد کرد. این همبستگی توسط زرین و همکاران در سال

۲۰۰۳ (۴۵) برابر ۰/۱- برآورد شد. پیچ با استفاده از ارزیابی‌های اواخر تابستان ۰/۴۴- و بر اساس اندازه گیری‌های تجمعی ۰/۵۲- به‌دست آمد. همبستگی حاصل در این بررسی تا حدودی به‌مقدار برآورد شده توسط پیچ نزدیک می‌باشد. نتایج همچنین نشان داد که تعداد آلل‌های جنسی دارای همبستگی مثبت و معنی‌داری با جمعیت (۰/۷۰) و تولید عسل (۰/۸۱) می‌باشد. همچنین میزان جمعیت همبستگی مثبت و معنی‌داری (۰/۹۰) با تولید عسل دارد. زرین و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۴۵) همبستگی بین میزان عسل تولیدی با جمعیت بالغین را ۰/۲۴، وویک برابر ۰/۳۸ (۴۳)، این میزان توسط پیچ (۲۴) ۰/۸ گزارش شد. این نتایج نیز مطابق موارد مذکور در زمینه ارتباط درصد هموزیگوسیتی و جمعیت قابل توجیه است. با این تفاوت که در اینجا ارتباطها بالاست ولی جهت ارتباط تعداد آلل با صفات جمعیت و تولید عسل، مثبت است.

جدول ۴ - همبستگی بین صفات صفات هموزیگوسیتی آلل جنسی، تعداد آلل‌های جنسی، تولید عسل و جمعیت کلنی

Table 4. Correlation between sex alleles homozygosity percentage, sex alleles number, honey production and colony adult traits

	هموزیگوسیتی	تعداد آلل‌های جنسی	جمعیت	تولید عسل
هموزیگوسیتی	۱	-۰/۹۲***	-۰/۷۹***	-۰/۸۶***
تعداد آلل‌های جنسی	-۰/۹۲***	۱	۰/۷۰***	۰/۸۱***
جمعیت	-۰/۷۹***	۰/۷۰***	۱	۰/۹۰***
تولید عسل	-۰/۸۶***	۰/۸۱***	۰/۹۰***	۱

***: در سطح ۰/۰۰۰۱ معنی‌دار می‌باشد

ضرایب رگرسیونی صفات مورد مطالعه

جدول ۵ معادلات رگرسیونی صفات و سطح معنی‌داری هر معادله را نشان می‌دهد. باتوجه به ضرایب رگرسیونی حاصل، هموزیگوسیتی تأثیر منفی و معنی‌داری روی صفات جمعیت بالغین (۰/۱۷-) و تولید عسل (۰/۴۴-) دارد. به‌طوری که با افزایش یک درصد هموزیگوسیتی، جمعیت کلنی ۰/۱۷ قاب کاهش پیدا می‌کند. با توجه به این موضوع و این رابطه می‌توان به این صورت بیان نمود که افزایش هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی باعث تولید نرهای دیپلوئید می‌شود و به‌دنبال آن کاهش میزان نوزادان در کلنی شده و کاهش نوزادان سبب کاهش جمعیت بالغین می‌شود (۴۲). با توجه ضرایب رگرسیونی برآورد شده در تحقیق حاضر، مشخص می‌شود که با افزایش یک درصد هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی، ۰/۴۴ واحد و یا به‌عبارتی ۴۴۰ گرم از عسل تولیدی، کاهش پیدا می‌کند. این میزان کاهش در اثر افزایش یک درصد هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی توسط محققین دیگر نیز بیان شده است که توسط زرین و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۴۵) برابر ۱۰۲/۷ گرم، میرزایی (۲۰) برابر۵۲۰ گرم، صادقی (۳۱) برابر ۲۸۰ گرم، رتنر (۲۹) برابر ۴۰۰ گرم و بینفلد (۴) برابر ۶۰ گرم اعلام شده است.

عداد آلل‌های جنسی تأثیر مثبت و معنی‌داری روی جمعیت نشان داد. طبق معادلات رگرسیونی به‌دست‌آمده، با افزایش یک آلل جنسی، جمعیت ۰/۱۶ قاب افزایش پیدا می‌کند. تعداد آلل‌های جنسی همچنین تأثیر مثبت و معنی‌داری روی تولید عسل نشان داد. طبق معادلات رگرسیونی به‌دست‌آمده، با افزایش یک آلل جنسی، ۰/۴۴ کیلوگرم به تولید عسل افزوده می‌شود. نتایج همچنین نشان می‌دهد جمعیت بالغین تأثیر مثبت و معنی‌داری (۲/۱۳۵ +) روی تولید عسل دارد. طبق معادله‌ی رگرسیونی به‌دست‌آمده، با افزایش یک قاب به جمعیت بالغین، تولیدعسل به‌میزان ۲/۱۳۵ کیلوگرم افزایش می‌یابد.

جدول ۵- معادلات رگرسیونی صفات درصد هموزیگوسیتی، تعداد آلل‌های جنسی، جمعیت بالغین و تولید عسل

Table 5. Regression equations of sex alleles homozygosity percentage, sex alleles number, honey production and colony adult traits

	متغییر مستقل	متغییر وابسته	معادله رگرسیونی	R2	P-Value
۱	درصد هموزیگوستی	جمعیت	Y= -0.17x+8.80	۰/۶۲۶	۰/۰۰۰۱
۲	درصد هموزیگوستی	تولید عسل	Y= -0.44x+23.446	۰/۷۴۵	۰/۰۰۰۱
۳	تعداد آلل‌های جنسی	جمعیت	Y= 0.16x+5.174	۰/۴۹۳	۰/۰۰۰۱
۴	تعداد آلل‌های جنسی	تولید عسل	Y= 0.44x+13.79	۰/۶۴	۰/۰۰۰۱
۵	جمعیت	تولید عسل	Y= 2.135x+3.570	۰/۸۰۵	۰/۰۰۰۱

اطلاعات برآورد شده نشان داد که تعداد آلل‌های جنسی رابطه مستقیمی با بقای جمعیت بالغین دارد. کاهش میزان بقای بالغین منجر به کاهش جمعیت کندو شده و به‌تبع آن تولید عسل و سایر تولیدات کندو افت خواهد کرد. این ارتباط بالای تعداد آلل‌های جنسی با جمعیت کلنی و تولید عسل از وجود همبستگی‌های بالا و معادلات رگرسیون قابل حصول است. بنابراین توجه به‌میزان آلل‌های جنسی به‌عنوان شاخصی از همخونی جمعیت‌های زنبورعسل بسیار ضروری است و بایستی این عامل به‌طور دوره‌ای جهت شناخت وضعیت زنبورستان‌های کشور و نیز در طراحی استراتژی‌های اصلاح

نژادی، مورد توجه قرار بگیرد. بنابراین تنها با توجه به تعداد آلل‌های جنسی و معطوف کردن توجه زنبورداران به این عامل می‌توان از کاهش بخشی از جمعیت که ناشی از بالا بودن میزان هموزیگوسیتی زنبورستان‌هاست و در نهایت کاهش تولید عسل را به‌همراه خواهد داشت، جلوگیری کرد. با توجه به اینکه بخش اعظمی از زنبورعسل کشور در منطقه شمالغرب کشور پرورش داده می‌شود، لزوم توجه به تنوع ژنتیکی زنبورعسل در این منطقه، از اهمیت مضاعفی برخوردار است.

منابع

1. Allen-Wardell G., P. Bernhardt, R. Bitner, A. Burquez, S.L. Buchmann and G.P. Nabhan. 1998. The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields. Conservation Biology, 12(1): 8-17.
2. Beye, M. 2004. The dice of fate: the csd gene and how its allelic composition regulates sexual development in the honey bee, Apis mellifera. BioEssays, 26(10): 1131-1139 .
3. Beye, M., M. Hasselmann, M.K. Fondrk, R.E. Page and S.W. Omholt. 2003. The Gene csd is the primary signal for sexual development in the honey bee and encodes a SR-type protein. Cell, 114(4): 419-429 .
4. Bienfeld, K. and F. pirchner. 1992. Phenotypic correlation between efficiency and behaviour of honeybee coloines (*Apis mellifrra carnica*). Revista Brasileira de Genetica, 15(2): 351-358.
5. Charlesworth, D. 2004. Sex determination, balancing selection in honey bee. Review Article. Current Biology, 14(14): 568-569.
6. Cook, J and R.H. Crozier. 1995. Sex determination and population biology in the Hymenoptera. Trends in Ecology & Evolution, 10(7): 281-286 .
7. Crozier, R.H and P. Pamilo. 1996. Evolution of Social Insect Colonies: Sex Allocation and Kin Selection, Oxford University Press.
8. Dzierzon, J. 1861. Neue verbesserte Bienen-Zucht des Pfarrers Dzierzon zu Carlsmarkt in Schlesien, Quedlinburg: Ernst'schen.
9. Evans, J.D., D.C.A. Shearman and B.P. Oldroyd. 2004. Molecular basis of sex determination in haplodiploids. Trends in Ecology and Evolution, 19(1):1-3.
10. Gempe, T., M. Hasselmann, M. Schioett, G. Hause, M. Otte and M. Beye. 2009. Sex determination in honeybees: two separate mechanisms induce and maintain the female pathway. PLoS Biology, 7(10): e1000222.
11. Hasselmann, M. and N. Beye. 2004. Signatures of selection among sexdetermining alleles of the honey bee. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101(14): 4888-4893.
12. Hasselmann, M., T. Gempe, M. Schiott, C.G. Nunes-Silva, M. Otte and M. Beye. 2008. Evidence for the evolutionary nascence of a novel sex determination pathway in honeybees. Nature, 454(7203): 519-522 .
13. Heimpel, G.E. and J.G. de Boer. 2008. Sex determination in the Hymenoptera. Annual Review of Entomology, 53: 209-230.
14. Klein, A.M., B.E. Vaissiere, J.H. Cane, I. Steffan-Dewenter, S.A. Cunningham, C. Kremen and T. Tscharntke. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. Proceedings of the royal society B: Biological Sciences, 274(1608): 303-313 .
15. Kremen, C., N.M. Williams, M.A. Aizen, B. Gemmill-Herren, G. LeBuhn, R. Minckley and D.P. Vázquez. 2007. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. Ecology Letters, 10(4): 299-314 .
16. Laidlow, H.H. and R.E. Page. 1986. Mating designs. Bee genetics and breeding, 323: 344.
17. Lilia, D.G., T.E. Rinderer, G.T. Delatter, J.N. Stelzer, L. Beaman and V. Kuznetsor. 2002. Resistance to Acarapis woodi by honey bees from far-eastern Russia. Apidologie, 33(4): 411-415.
18. Mable, B.K. and S.P. Otto. 1998. The evolution of life cycles with haploid and diploid phases. BioEssays, 20(6): 453-462.
19. Mackensen, O. 1951. Viability and sex determination in the honey bee (*Apis mellifera* L.). Genetics, 36(5): 500-509.
20. Mirzaee, H., GH.H. Tahmasebi, J. Poorasghar, M. Moghadam and M. Araghi. 2005. Determination of sex alleles homozygosity and study on their relation ships with migration and production of honeybee colonies (Apis Mellifera) in east Azerbayjan province. Pajohesh-Va-Sazandegi, 17(1): 53-59 (In Persian).
21. Norooz Valashedi, R. and H. Bahrami Pichaghchi. 2019. Investigation of bioclimatology factors on prediction of honeybee performance in climate change conditions (Case Study: Shahindej). Research on Animal Production (Scientific and Research), 10(25): 120-128.
22. Oldroyd, B.P. and S. Wongsiri. 2009. Asian honey bees: biology, conservation, and human interactions. Harvard University Press .
23. Page, R.E. and H.H. Laidlow. 1985. Closed population honey bee breeding. Bee world, 66(2): 63-72.
24. Page, R.E., H.H. Laidlow and E.H. Erickson. 1985. Closed population honey bee breeding. 4. The distribution of sez alleles with top crossing. Journal of Apicultural Research, 24(1): 38-42.

25. Pattamayutanon, P., S. Angeli, P. Thakeow, J. Abraham, T. Disayathanoowat and Chantawannakul, P. 2015. Biomedical activity and related volatile compounds of Thai honeys from 3 different honeybee species. Journal of Food Science, 80(10): 2228-2240 .
26. Rahimi, A., M. Asadi and K. Nabati. 2010. Sex alleles homozygosity percent of honey bee colonies (Apis mellifera meda) (Hymenoptera: Apidae) in Kordestan province (west of Iran). Nature Montenegro, 10: 183-185.
27. Rinderer, T.E., J.H. Harris, G.J. Hunt and L.I. De Guzman. 2010. Breeding for resistance to Varroa destructor in North America. Apidologie, 32: 381- 394.
28. Roberts, W.C. and O. Mackensen. 1951. Sex determination and bee breeding. American Bee Journal, 91(9): 382-384.
29. Ruttner, F. 1976. Isolated populationof honey bee in Australia. Journal of Apicultural Research, 15(2): 68-79.
30. Ruttner, F. 1988. Breeding Techniques and Selection for Breeding of the Honey bee. British Isles Bee Breeders Association, 151.
31. Sadeghi. M. 1998. Study of relationship of honeybee in Khuzestan province. MS thesis, Tabriz Univesity (In Persian).
32. Sánchez, L. 2004. Sex-determining mechanisms in insects. International Journal of Developmental Biology, 52(7): 837-856.
33. SAS Institute Inc. 2013. SAS® 9.4 Statements: Reference. Cary, NC: SAS Institute. Inc.
34. Sepehri, R., GH.H. Tahmasebi and M.J. Jalali-Zonouz. 2007. Estimating the number of sex alleles in honeybee colonies in central region of Iran and it's relationship with stored pollen, colony population and honey yield. Journal of science and technology of agriculture and natural resourses, 11(41B): 321-331 (In Persian).
35. Somerville, D. 2005. Best practise in a honeybee pollination service. MSc Theses, University of Goulburn.
36. Tahmasbi, GH.H., M. Moharrami and P. Valizadeh. 2019. Biological threat management and genetic resources conservation of Iranian honeybee Apis mellifera meda. Iranian Journal of Bee Science and Technology, 10(18): 44-51 (In Persian).
37. Tarpy, D.R. and R.E. Page. 2002. Sex determination and the evolution of polyandry in honey bees (Apis mellifera). Behavioral Ecology and Sociobiology, 52: 143-150.
38. Van De Zande, L. and E.C. Verhulst. 2014. Genomic imprinting and maternal effect genes in haplodiploid sex determination. Sexual Development, 8(1-3): 74-82 .
39. Verhulst, E.C., J.A. Lynch, D. Bopp, L.W. Beukeboom and L. van de Zande. 2013. A new component of the Nasonia sex determining cascade is maternally silenced and regulates transformer expression. Plos One, 8(5): e63618.
40. Wang, Z., Z. Liu, X. Wu, W. Yan and Z. Zeng. 2012. Polymorphism analysis of csd gene in six Apis mellifera subspecies. Molecular Biology Reports, 39(3): 3067-3071 .
41. Woyke, J. 1963. What happens to diploid drone larvae in a honeybee colony. Journal of Apicultural Research, 2(2): 73-75 .
42. Woyke, J. 1980. Genetic background of sexuality in the diploid drone honey bee. Journal of Apicultural Research, 19(2): 89-95.
43. Woyke, J. 1988. Brood survival in productive bee Apiaries in Austalia as a test for breeding honey bees in closed population. Journal of Apicultural Research, 27(1): 30-34.
44. Yarahmadi, B., K. Ghorbani and R. Pahlevani. 2020. Efficiency determination of ppiculture units using as frontiera (SFA) method in Lorestan Province (Case Study of Khorramabad City). Research on Animal Production (Scientific and Research), 11(27), 126-135.
45. Zarrin, F., A.A. Gharah-Daghi, GH.H. Tahmasebi, S. Yar-Ahmadi and Talebi-Esfandarani. 2003. Estimation of homozygosity and it's correlation with honey production in the honey bee population of Tehran, Markazi, Isfahan and Qazvin provinces. Pajohesh-Va-Sazandegi, 16(2): 2-6 (In Persian).

Homozygosity of Sex Determination Locus and It's Correlation with Population and Honey Production of Honeybee (*Apis Mellifera Meda*) Populations in West-Azerbaijan and Kurdistan Provinces

Jamal Usefi[1], Mahdi Mokhber[2], Ali Hashemi[3] and Ataollah Rahimi[4]

1- Graduted M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources Urmia University, Urmia, Iran
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources Urmia University, Urmia, Iran. (Corresponding author: m.mokhber@urmia.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources Urmia University, Urmia, Iran
4- Assistant Professor, Department of Animal Science Research, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Sanandaj, Iran
Received: October 23, 2020 Accepted: May 16, 2021

Absract

Sex allele homozygosity as an indicator of inbreeding could effects on the performance of honey bee colonies. Then sex allele homozygosity is essential to evaluate apiaries situation in the country, as well as designing breeding strategies. In order to investigation of sex alleles homozygosity percentage and number of allele in honey bee populations of West-Azerbaijan and Kurdistan provinces and its correlations with honey production and adult population, 320 honeybee colonies were used. Data analysis was performed using SAS software (Version 9.4). The results showed that sex alleles homozygosity and number were 12.7 % and 9.02 for West Azerbaijan province for apiaries of Kurdistan province were 13.82% and 8.15, respectively. The results of variance analysis showed that the province had significant ($p<0.05$) effect on all studied traits. The county in provinces had significant ($p<0.01$) effect just only honey production. The sex alleles number effects on colony population and honey production, and also effect of colony population on honey production were significant ($p<0.01$). The results of correlation analysis showed negative and significant ($p<0.001$) between sex alleles homozygosity percentage with sex alleles number (-0.92), honey production (-0.79) and colony adult population (-0.86). Also, regression analysis results showed that sex alleles homozygosity percentage had negative and significant ($P<0.001$) effect on colony adult population (-0.17) and honey production (-0.44). Thus, with an increase of one percent homozygosity, the colony adult population decreases about 0.17 frame (units), and honey production decreases about 0.44 units, or in other words, 440 grams. Therefore, only with attention of beekeepers on the homozygosity and number of sex alleles, it is possible to prevent a decrease in honeybee population and consequently a decrease in honey production in the country's apiaries.

Keywords: Homozygosity, Honeybee, Honey production, Inbreeding, Sex Determination Locus

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

بررسی شاخص‌های تنوع ژنتیکی در یک جمعیت از گاو هلشتاین با استفاده از نشانگرهای متراکم اسنیپ

رئوف شاکری[۱]، آرش جوانمرد[۲]، کریم حسن‌پور[۳]، مختارعلی عباسی[۴]، سید مصطفی مظلوم[۵]، مجید خان‌سفید[۶] و مهران رحیمی ورپشتی[۷]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، (نویسنده مسوول: a.javanmard@tabrizu.ac.ir)
۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز
۴- دانشیار سازمان تات، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج
۵- دانشجوی دکترا گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.
۶- محقق و پژوهشگر موسسه اگرو بیوساینس، دپارتمان کشاورزی ویکتوریا، استرالیا
۷- کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام، مدیر عامل شرکت آرین دلتا ژنتیک، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۰۲
صفحه: ۱۴۰ تا ۱۴۹

چکیده

کاهش میزان تنوع ژنتیکی و به‌تبع آن افزایش تجمعی میزان هم‌خونی از جمله عوامل تهدید کننده صنعت پرورش گاو شیری محسوب می‌شوند. هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی شاخص‌های تنوع ژنتیکی (توزیع عدم تعادل لینکاژی، آماره هتروزیگوتی مشاهده‌شده و مورد انتظار، آماره F_{is}، توزیع فراوانی آلل‌های نادر، میزان اتوزیگوتی و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی) در گاو هلشتاین با استفاده از نشانگرهای متراکم اسنیپ بود. داده‌های ژنوتیپی متعلق به ۲۵ گاو ماده هلشتاین حاصل از تراشه اسنیپ گاوی ۵۰ هزارتایی، اهدایی از شرکت تجاری آلتادلتا ژنتیک تجزیه و تحلیل شد. محاسبات آماری شاخص‌های مولکولی مذکور از طریق نرم‌افزار معروف پلینک، نسخه ۱/۹تحت محیط R صورت گرفت. میانگین فراوانی آلل نادر (۰/۲۸)، میانگین فراوانی هتروزیگوتی مشاهده‌شده و هتروزیگوتی مورد انتظار به‌ترتیب (۰/۳۸، ۰/۳۷)، آماره شاخص تثبیت (F_{is}) (منفی۰/۰۳۲)، آماره Fhom (۰/۰۳۲۸-) اندازه‌گیری شد. همچنین، نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تنوع و پراکنش معنی‌دار بالایی را نشان داد که تأییدی بر مطابقت و هم‌خوانی همه آماره‌های مولکولی اندازه‌گیری شده و بالا بودن میزان تنوع ژنتیکی اندازه‌گیری شده بود. از آنجایی که، شاخص ROH، از اطلاعات توالی نوکلئوتیدی یکسان انتقال یافته به دو فرد حاصل می‌شود لذا، در مقایسه با شاخص F_{is}، معیار آماری مناسب‌تری برای مطالعه میزان هم‌خونی، می‌باشد. نتیجه‌گیری نهایی این که، بکارگیری نشانگرهای متراکم اسنپ می‌تواند، ابزاری مناسب برای ارزیابی وضعیت تنوع ژنتیکی و هم‌خونی جمعیت‌های دامی محسوب شود.

واژه‌های کلیدی: تراشه اسنیپ، تنوع ژنتیکی، گاو هلشتاین، هم‌خونی

مقدمه

جهت اصلاح ژنتیکی یک جمعیت دامی به‌طور همزمان دو ابزار تنوع ژنتیکی و انتخاب مور دنیاز است (۸،۱۳،۳۷). تنوع ژنتیکی در واقع، وجود چند شکلی نوکلئوتیدی و به‌تبع آن فروانی ترکیبی آلل‌های منحصر به‌فرد ایجاد کننده فاصله ژنتیکی در داخل و بین جمعیت‌ها می‌باشد (۳۰،۳۱،۳۴). در مباحث توسعه پایدار سیستم‌های تولیدی دام، تنوع ژنتیکی به‌عنوان ماده خام فعالیت‌های اصلاح‌نژادی محسوب می‌شود و وجود تنوع کافی برای رفع نیازهای آتی و تصمیمات اصلاح نژادی، ضروری است (۳۴).

اندازه‌گیری شاخص‌های تنوع ژنتیکی در یک جمعیت دامی می‌تواند، تاثیرات عواملی همچون اهلی‌شدن و انتخاب طبیعی، جهش، رانش ژنتیکی، نوترکیبی کروموزومی، مهاجرت، هم‌خونی و انتخاب مصنوعی بر روی ساختار ژنتیکی یک جمعیت، قابلیت سازگاری و صفات تولیدی و تولیدمثلی تحت معیارهای عددی نمایش دهد و موضع‌شناسی (توپولوژی) افراد نسبت به‌هم را به‌صورت گرافیکی نشان دهد (۱۳،۲۹،۳۵). لذا، برنامه‌ریزی مدیریت ژنتیکی یک دام در واقع محتاج تصمیماتی هستند که باید بر مبنای درک صحیحی از ساختار وضعیت تنوع ژنتیکی آن اتخاذ گردند (۳۴).

گاوهای هلشتاین، به‌عنوان یکی از نژادهای مشهور گاو شیرده در دنیا به بیشترین تولید شیر با کمترین درصد چربی شهرت یافته و منشأ پیدایش اصلی این نژاد، کشور هلند است (۴). اولین گاوهای هلشتاین در سال ۱۳۳۹ وارد کشور شده (آمار مرکز اصلاح‌نژاد دام) که اکنون با شرایط کشورمان وفق پیدا کرده‌است (۴).

اصلاح‌نژاد گاو نژاد هلشتاین در دنیا قدمت زیادی دارد. به نظر می‌رسد به‌دلیل افزایش استانداردهای تولیدی، باعث بروز یکنواختی ژنتیکی در نژاد هلشتاین شده و این مسئله باعث کاهش تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گاوهای هلشتاین امروزی، شده‌است. مدیریت ژنتیکی گاو هلشتاین ایران، نیازمند داشتن دانش کافی، درخصوص، شاخص‌های تنوع، منشا ژنتیکی، اسپرم‌های توزیع‌شده در سطح جامعه این نژاد می‌باشد (۴،۹،۱۰).

باوجود آنکه نزدیک به ۵۰ سال از پرورش و اصلاح‌نژاد گاو هلشتاین در ایران می‌گذرد و بخش قابل توجهی از اسپرم‌های مصرفی صنعت گاو شیرده منشاء خارجی دارند. با این‌حال، هنوز در مسیر اصلاح‌نژاد هلشتاین ایرانی مشکلات عدیده‌ای وجود دارد (۴،۷). برخی از راهکارهای پیشنهادی موجود برای رهایی از این معضل می‌تواند افزایش هتروزیگوتی ژنومی با

کنترل جفتگیری‌ها، حداقل نمودن فاصله نسلی (انجماد جنین)، حداکثرنمودن اندازه مؤثر جمعیت، نظارت مستمر شاخص‌های مولکولی تنوع و هم‌خونی باشد (۱۳،۲۹،۳۵).

در سال‌های اخیر استفاده از نشانگرهای چند شکلی تک‌نوکلئوتیدی (SNP) در مقایسه با سایر نشانگرها به‌میزان بیشتری گسترش یافته است. این نشانگرها دارای فراوانی بسیار زیادی در سطح ژنوم هستند و امکان استفاده همزمان از تعداد بسیار زیادی از آن‌ها در قالب تراشه‌های SNP فراهم شده‌است (۱۲،۱۳).

ریزآرایه یا تراشه (Chip) یک فناوری جهت بررسی همزمان تعداد زیادیSNP در سطح کل ژنوم می‌باشد (۴۰) که شرکت‌های افی‌متریکس۱ و ایلومینا۲ آن‌را طراحی می‌کنند (۵). با این‌حال، SNP–چیپ‌های گونه‌های اهلی نظیر خوک، گاو و گوسفند عمدتاً توسط شرکت ایلومینا عرضه شده‌اند (۱۸).

در نتیجه برنامه‌های انتخاب ژنتیکی در گاوهای شیرده، تعداد آلل‌ها و هتروزیگوتی کل ژنوم را به‌طور معنی‌داری کاهش داده است. جورج و همکاران (۱۵) میانگین هتروزیگوتی در کل ژنوم گاو را ۰/۵۶ تخمین زدند.

عدم تعادل پیوستگی در واقع ارتباط غیر تصادفی بین دو جایگاه ژنی در سطح ژنوم می‌باشد که بازده انتخاب ژنومی را به‌خود وابسته کرده است (۲). سرگلزایی و همکاران (۳۷) و همچنین کیم و همکاران (۲۳) در گاوهای هلشتاین امریکای شمالی شاخص‌های آماری مرتبط با عدم تعادل پیوستگی را با تراشه اسنیپ ۱۰K بررسی‌کردند. همچنین ختکار و همکاران (۲۲) در گاوهای هلشتاین استرالیا، به بررسی این شاخص پرداختند. قنبری و همکاران (۳۴) در گاوهای هلشتاین آلمان، توانستند ۷۱۵ بلوک هاپلوتایپی را که ۴/۵ درصد کل ژنوم را پوشش می‌داد، شناسایی کنند و اندازه‌گیری اندازه مؤثر جمعیت را وابسته به این شاخص دانستند (۳) و عواملی همچون طول عمر جهش ایجاد شده (۱۴)، ساختار ژنتیکی نژاد (۶)، تاریخچه پیدایش، رانش ژنتیکی، لایه‌بندی جمعیتی و نرخ نوترکیبی را عوامل ایجاد واریانس در این شاخص در مطالعات مختلف دانستند (۳۴).

در برنامه‌های به‌نژادی گاوهای شیرده، همواره توصیه می‌شود که بهبود صفات و پیشرفت ژنتیکی در کنار ثابت نگهداشتن میزان هم‌خونی مورد توجه قرارگیرد. با توجه به اینکه محاسبه ضریب هم‌خونی براساس اطلاعات شجره اثرات نمونه‌گیری مندلی را در نظر نمی‌گیرد نتایج آن همیشه با اریبی همراه است بنابراین استفاده از دیدگاه جایگزین قطعات هموزیگوت دست نخورده در سطح ژنوم برای محاسبه هم‌خونی واقعی محسوب شود (۱۶،۱۸،۳۱).

براساس مقالات پیشین گزارش منتشرشده در سال ۲۰۱۷، در نژاد هلشتاین کانادا میانگین ضریب هم‌خونی در گاوهای ماده متولد شده در سال در حدود ۷/۳۴ درصد است (۳). بر اساس گزارش CDN، متوسط رشد سالیانه ضریب هم‌خونی در سال‌های ۲۰۱۰ تا ۲۰۱۶ چشم‌گیر و در حدود ۰/۲۲ درصد بوده (۱)، در حالی‌که متوسط افزایش هم‌خونی در سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۰ در حدود ۰/۰۸ درصد بوده است. دادار و همکاران در سال ۲۰۱۱ ضریب هم‌خونی در جمعیت گاو هلشتاین ایران بر پایه اطلاعات شجره را در حدود ۵ درصد گزارش نمودند (۴). میانگین ضریب هم‌خونی در سال ۲۰۱۱ در آمریکا و کانادا به‌ترتیب ۵/۷۵ و ۶/۲ درصد گزارش شده است (۱۲). دادار و همکاران (۲۰۱۱) روند افزایشی ضریب هم‌خونی در جمعیت گاو هلشتاین ایران در سال‌های ۲۰۰۰ الی ۲۰۱۰ را حدود ۰/۳۳ درصد در هر سال گزارش نمودند (۳،۱۲). فروتن و همکاران (۱۲) میزان ROH در گاوهای هلشتاین آمریکای شمالی، در دامنه عددی حدود ۵۷ تا ۸۲ بین سال‌های ۱۹۹۰ تا ۲۰۱۶ تخمین زد. مارتین کنین و همکاران (۲۴) در گاوهای ایرشایر تاثیر جزایر ROH بر پسروی صفات تولید شیر و تولیدمثلی را گزارش کردند. همچنین گورگوال و همکاران (۳۹) شاخص‌های آماری مختلف ROH و همبستگی جاکم بین آنها را در گاوهای هلشتاین لهستان را تحقیق کردند (۲۵).

ملکای و همکاران (۲۶) با استفاده از تراشه‌های متراکم اسنیپ شاخص‌های تنوع ژنتیکی در سه جمعیت گاوهای نژادی جرسی، براون سوئیس و هلشتاین کانادا بررسی کردند و میزان میانگین هتروزیگوتی مشاهده‌شده را به‌ترتیب ۰/۲۶، ۰/۲۷ و ۰/۳۱ درصد گزارش کردند (۲۶).

در این راستا، هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی شاخص‌های تنوع ژنتیکی (توزیع عدم تعادل لینکاژی، آماره هتروزیگوتی مشاهده شده و مورد انتظار، آماره Fis، توزیع فراوانی آلل نادر، میزان اتوزیگوتی و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی) در گاو هلشتاین با استفاده از نشانگرهای متراکم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر، داده‌های خام از، ۲۵ گاو ماده هلشتاین بر مبنای نسخه دوم اسنیپ چیپ (تراشه) K ۵۰ کاندید از مرکز اصلاح نژاد کشور اخذ و سپس تجزیه و تحلیل شد. این جمعیت تحت پوشش برنامه تلقیح شرکت التا ژنتیک بود.

گام اول کنترل کیفیت و فیلتراسیون

فایل نقشه اسنیپ چیپ از پایگاه داده SNPchiMp v.3 دانلود شد. کلیه جایگاه‌های واقع شده روی کروموزوم جنسی X (تنوع برروی کروموزوم‌های اتوزومی ارزیابی می‌شود) و جایگاه‌ها با مکان کروموزومی نامشخص از مجموعه داده‌ها کنار گذاشته شدند. اسنیپ‌های با تعادل هاردی واینبرگ با مقدار P-value کمتر از ۶–۱۰، نرخ خوانش به‌ازای هر اسنیپ کمتر از ۰/۹۵ و SNPهای دارای فراوانی آللی مینور کمتر از ۰/۰۵، نرخ خوانش به‌ازای هر حیوان کمتر از۰/۹۰ فیلتر شدند (۸،۱۰).

شاخص‌های تنوع درون جمعیتی

مجموع شاخص‌ها و آماره‌های ژنومی، همچون: هم‌خونی ژنومی، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، آماره شاخص تثبیت Fixation-index (F_{IS})، هتروزیگوتی مشاهده‌شده و مورد انتظار، توزیع فراوانی آلل نادر و در نهایت LD با استفاده نرم‌افزار پلینک در پنجره‌های ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰۰، ۱۰۰۰۰ و ۵۰۰۰۰ تحت محیط R اجرا و اندازه‌گیری شد.

1- Affymetrix
2- Illumina

برای برآورد LD در یک جمعیت، دو معیار `D و r^2 دو آماره‌ای هستند که به‌میزان زیادی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. r^2 به‌علت حساسیت کمتر نسبت به اندازه نمونه و اختلاف در فراوانی‌های آللی، به‌عنوان معیاری باثبات بیشتر شناخته شده‌است. r^2 به‌عنوان ضریب همبستگی بین جفت SNPها تعریف شده‌است و می‌توان به‌کمک رابطه زیر برآوردی از آن بدست آورد:

$$\frac{(freqAB * freqab - freqAb * freqaB)^2}{(freqA * freqa * freqB * freqb)}$$

در رابطه بالا، freqA ,freqa ,freqB ,freqb به‌ترتیب فراوانی آلل‌های A، a، B، و b را در جمعیت نشان می‌دهند.

از آنجایی که هتروزیگوت‌ها آلل‌های متفاوتی دارند، فراوانی آنها مهم بوده و نشان‌دهندهٔ وجود تنوع می‌باشند. هتروزایگوسیتی مشاهده‌شده برای یک جایگاه با فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$H_o = \frac{\sum N_{ij}}{N}$$

که در آن Nij (i≠j) تعداد افراد هتروزیگوت و N تعداد کل افراد در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد). هتروزایگوسیتی مورد انتظار برای یک جایگاه نیز از فرمول زیر محاسبه شد:

$$H_E = 1 - \sum_{i=1}^{n} P_i^2$$

که در آن عبارت $\sum_{i=1}^{n} p_i^2$ نسبت مورد انتظار هموزیگوت‌ها می‌باشد و pi فراوانی iامین آلل در یک جایگاه معین می‌باشد. شاخص هم‌خونی F_{is} برای ارزیابی یک جمعیت منفرد بر اساس هتروزیگوتی مشاهده‌شده و موردانتظار استفاده می‌شود و جزییات فرمول آن عبارت است از:

$$F_{IS}\ [= (H_S - H_I)/H_S]$$

که اجزای داخل فرمول همان هتروزیگوتی مشاهده شده و موردانتظار می‌باشد. همچنین ارزش‌های ضریب هم‌خونی براساس نشانگرها با سه روش F_{GRM} بر اساس روش (VanRaden2008) بر پایه واریانس ژنتیک افزایشی یا F_{HOM} بر اساس روش Wright) و F_{UNI} طبق معادلات زیر برآورد شد:

$$F_{GRM}=\frac{\{X\,I-E(XI)\}2-1=}{hi}\ \frac{xi-2pi)\ 2}{hi}\text{-}1$$

که در اینجا pi برابر با فراوانی مشاهده شده از آلل اول iامین لوکوس i، (hi=2Pi(1-Pi) و xi تعداد کپی‌های آلل مرجع برای iامین SNP در رفرانس است.

$$F_{HOM}=\frac{[0(\#\,\text{hom})-E(\#\text{hom})]}{[1-E(\#\,\text{hom})]}=1-\frac{xi(2-xi)}{hi}$$

Ohom# و E#hom به‌ترتیب تعداد ژنوتیپ‌های هموزیگوت مشاهده‌شده و مورد انتظار در نمونه است.

$$F_{UNI}=\frac{Xi2-(1+2pi)xi+2pi2}{hi}$$

تجزیه به مولفه‌های اصلی

تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) جهت شناسایی ساختار جمعیتی مورد استفاده قرارگرفت. PCA یک زیرمحموعه از روش‌های آمار چندمتغیره می‌باشد که قصد دارد از روش‌های آماری مختلف برای دسته‌بندی یا کلاسترینگ افراد براساس n متغیر استفاده کند (۳۶). (PCA) موجب انعکاس‌یافتن واریانس ناشی از ساختار جمعیتی نمونه‌ها به جمعیتی می‌شود که مؤلفه‌های اصلی بزرگتر بخش بیشتری از واریانس را توجیه می‌کنند. رسم این مؤلفه‌ها در محور مختصات در مقابل یکدیگر موجب ایجاد خوشه‌های مشخصی از افراد می‌شود که نمایانگر ساختار موجود در نمونه‌هاست نمودار این شاخص تحت نرم‌افزار R رسم گردید (۳۶).

آنالیز بیوانفورماتیکی و تحلیل انوتیشن نقشه

با توجه به اینکه توزیع اسنیپ‌ها مناطق مختلفی از ژنوم و ترانسکریپتوم گاو را پوشش می‌دهند و همچنین ارزش واریانت‌های مورد بررسی برای تنوع به‌علت ماهیت متفاوت آن‌ها با یکدیگر فرق می‌کند (عدم تغییر یا تغییر کد اسیدآمینه، داخل منطقه کدشونده یا اینترونیک، روی پروموتور یا خارج پروموتور) در نتیجه برای درک تنوع واقعی بررسی پلی‌مورفیسم مشاهده‌شده با حاشیه‌نویسی جهت پیش‌بینی تأثیر یا عملکرد یک SNP منحصربه‌فرد امری اجتناب ناپذیر است. به‌عنوان مثال، SNPهای موجود در مناطق کدکننده ژنوم به دو دسته SNPهای هم‌معنی (Synonymous) و ناهم‌معنی (Non-Synonymous) تقسیم می‌شوند. SNPهای هم‌معنی اثری بر توالی‌های اسیدآمینه پروتئین ندارند، درحالیکه SNPهای ناهم‌معنی موجب تغییر توالی اسیدهای آمینه پروتئین شده و عملکرد آن‌را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. SNPهای واقع‌شده در نواحی غیر کدکننده ژنوم نیز ویرایش ژن‌ها، اتصال عوامل تنظیم کننده رونویسی، تجزیه mRNAها و توالی RNAهای غیرکدکننده را تحت تأثیر قرار می‌دهند. به‌منظور بررسی پیش‌بینی تأثیر یا عملکرد یک SNP منحصربه‌فرد در داخل نقشه اسنیپ چیپ ۵۰ کی، بر اساس هر کروموزم، در ابتدا فایل Map تبدیل به فایلی با فرمت vcf شد، و سپس از طریق نرم‌افزار VEP در پایگاه Ensembl اقدام به انجام آنالیزهای مربوطه شد.

نتایج و بحث

نتایج کنترل کیفیت و اعتبارسنجی و فیلتراسیون داده

درحالی که فایل خام ما دارای ۵۴۶۰۹ اسنیپ بود در بخش کنترل کیفیت و فیلتراسیون داده‌های خام اولیه، تعداد ۵۷۱۶ اسنیپ از MAF و ۱۵۸۹ اسنیپ با کیفیت پایین ژنوتیپ فیلتر شدند.

جدول ۱- آمار توصیفی فیلتراسیون بعد از انجام فرایند کنترل کیفیت داده‌هی خام
Table 1. Descriptive statistics for filtering process after quality control (QC) of raw data

اتیم (تعداد)	تعداد اسنیپ
کل SNP در نقشه	۵۴۶۰۹
کل SNP حذف شده در فیلتر مشترک‌ها	۱۱۷۲۸
کل SNP باقی‌مانده	۴۲۸۸۱
حذف شده از MAF	۵۷۱۶
حذف شده از MIND	۰
حذف شده از GENO	۱۵۸۹
حذف شده از HWE	۰
مجموع حذف شده از QC	۷۳۰۵
مجموع باقیمانده بعد از QC	۳۵۵۷۱

اندازه‌گیری شاخص‌های تنوع درون جمعیتی
شاخص عدم تعادل لینکاژی (LD)

میزان LD در پنجره‌های به‌طول ۵۰ و ۱۰۰ کیلو جفت باز محاسبه شده (مقالات رفرنس برای شناسایی‌ها هاپلوتایپ بلوک عمدتاً پنجره کمتر از kb۱۰۰ را توصیه کرده‌اند که امکان وقوع کراسینگ‌اوور کمتر است) که میانگین r^2 به‌ترتیب ۰/۰۸ و ۰/۰۷ به‌دست آمد (شکل ۱). نتایج این تحقیق، با مطالعات پیشین قابلیت مقایسه دارد، به‌عنوان مثال، قنبری و همکاران (۲۰۰۹) شاخص r2 در بحث LD در گاوهای هلشتاین آلمان در پنجره ۲۵ Kb را به‌طور میانگین ۰/۳۰ و طول بلوک‌های هاپلوتایپی را ۱۶۶ و ۱۴۴ kb گزارش کردند (۳۴). به‌هر حال بازدهی برنامه‌های انتخاب ژنومی در دام‌های اهلی تحت‌تأثیر مستقیم میزان LD می‌باشد. زمی یانر و همکاران (۳۸) تحت تحقیقات گسترده‌ای ثابت کردند که در جمعیت‌های مختلف گاوسانان میزان این فراسنجه متغیر می-باشد. همان‌طوری‌که، می‌دانیم، LD وابسته به عوامل مختلفی از فاصله نشانگرها، حجم نمونه ژنوتایپ، ساختار جمعیت مورد مطالعه و فراوانی داخل جایگاه می‌باشد. همچنین عدم تعادل پیوستگی در جمعیت‌های مختلف به‌دلیل تفاوت در اندازه مؤثر جمعیت، نسبت نوترکیبی، فشار انتخاب و دیگر عامل‌های دخیل در اندازه‌گیری LD متفاوت خواهدبود. داشتن اطلاعات در خصوص LD امکان محاسبه اندازه مؤثر جمعیت را میسر و دقت مناسبی را برای برآورد این آماره مهیا می‌کند.

اندازه‌گیری شاخص‌های MAF و Fis

FIS بیانگر متوسط تفاوت میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار هاردی-واینبرگ و هتروزیگوسیتی مشاهده بر اثر عدم آمیزش تصادفی در یک زیر جمعیت است که مقدار همبستگی بین موقعیت‌های دو آلل که به‌طور تصادفی از هریک از زیر جمعیت‌ها انتخاب شوند را بیان می‌دارد. فراوانی آلل نادر در جمعیت مورد مطالعه۰/۲۸۴ برآورد شد. همچنین، میانگین فراوانی هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده‌شده به‌ترتیب ۰/۳۷۴ و ۰/۳۸۶ به‌دست آمد. هم‌چنین ضریب خویشاوندی افراد (FIS) ۰/۰۳۲- برآورد شد. همچنین، میانگین فراوانی آلل کمیاب (۰/۲۸)، برای کل دیتاها برآورد گردید. تفاوت شاخص FIS با شاخص‌های محاسبه هم‌خونی ژنومی در نحوه محاسبه و فرم آن می‌باشد که شاخص‌های هم‌خونی از ماتریس هم‌خونی استفاده می‌کند ولی F-statistics از هتروزیگوتی مشاهده‌شده و مورد انتظار و تفاضل آن‌ها به‌دست می‌آید. به‌هرحال، نتایج مجدداً وجود تنوع بالا را تأیید می‌کند. میزان هتروزیگوتی و هموزیگوتی، هردو می‌تواند به‌طور غیرمستقیم تنوع را نشان دهد. قنبری و همکاران (۳۴) میزان فراوانی آلل نادر و هتروزیگوتی مشاهده شده در گاوهای هلشتاین المان را به‌ترتیب ۰/۲۸ و ۰/۳۷ گزارش کردند که با مطالعه ما همخوانی نداشت.

در تحقیقی دیگر که بر روی گاوهای بومی کشور انجام شده است، کمترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار (۰/۲۴۶) در نژاد سیستانی مشاهده شد. ازسوی دیگر بالاترین مقادیر هتروزیگوسیتی موردانتظار در نژادهای کردی (۰/۳۳۹) و سرابی (۰/۳۳۸) بیان شده است (۲۱).

در تحقیقی دیگر که بر روی گاوهای بومی و هلشتاین پاکستان انجام شده است، متوسط فراوانی آلل کمیاب برای نژاد Red sindhi و هلشتاین به‌ترتیب ۰/۱۸ و ۰/۲۲ گزارش شده‌است (۳۰). در تحقیقی که برروی گاوهای بومی ایران انجام شده است، ضریب خویشاوندی افراد (FIS) در داخل نژادهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. براین اساس بالاترین میزان خویشاوندی (۰/۰۰۹) در میان گاوهای نژاد کرمانی مشاهده شد. ضریب خویشاوندی افراد در داخل نژادهای سرابی، سیستانی و پارس به‌ترتیب ۰/۰۳-، ۰/۰۳- و ۰/۰۵- محاسبه گردید. در نهایت، کمترین میزان خویشاوندی در میان گاوهای کردی (۰/۰۷-) مشاهده شد (۲۱). در تحقیق دیگر که بر روی چهار جمعیت گاوهای آفریقای جنوبی انجام شده‌است، بیشترین مقدار فراوانی آلل کمیاب برای نژاد هلشتاین (۰/۲۲) و کمترین مقدار برای Nguni (۰/۱۷) گزارش شده است (۳۵).

اندازه‌گیری شاخص‌های تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA)

نتایج PCA نشان‌داد که ۲۵ نمونه حاضر در این تحقیق تنوع ژنتیکی داخل نژادی بسیار بالایی دارند. ۸۵ درصد واریانس توسط مؤلفه اول توجیه شد). یعنی افراد ژنوتایپ شده در داخل جمعیت، ژنوتیپ متفاوت با هم را نشان می‌دهند. علت تفاوت در PCA به ساختار ژنتیکی و تاریخچه فعالیت اصلاح نژادی در آن نژاد برمی‌گردد.

آنالیز تکمیلی بیوانفورماتیکی و تحلیل انوتیشن نقشه

در بحث تنوع ژنتیکی ژنوم، ما براساس دانستن جایگاه اسنیپ می‌توانیم از مفید بودن نتایج آگاه شویم. زیرا اسنیپی برای ما می‌تواند سودمند باشد که در مناطقی از ژن قرار داشته باشد که در فرآیند رونویسی و ترجمه حضور داشته باشد. نتایج حاصل از این بخش پژوهش حاضر اثبات کرد بر

اساس اندازه کروموزومی و معماری خود چیپ تجاری طراحی شده کروموزوم‌های مختلف حاوی توزیع و وزن متفاوتی از نقاط مختلف و واریانت‌های ژنومی هستند.

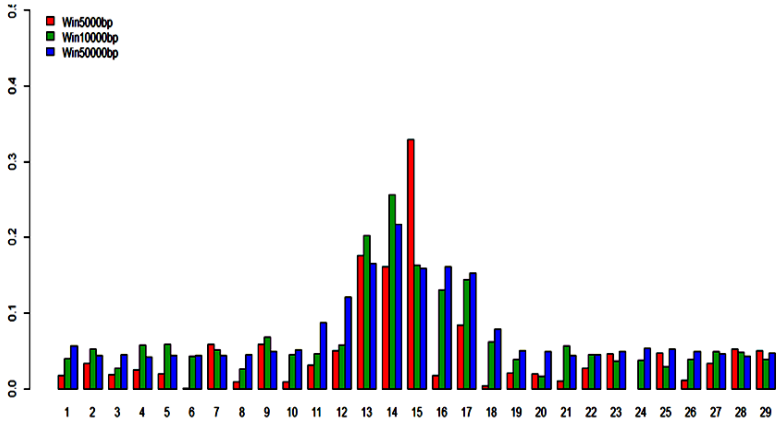
شاخص‌های معرف هم‌خونی ژنومی (ROH)

در پژوهش حاضر، از روش ماتریس برای اندازه‌گیری شاخص‌های جدید هم‌خونی (F_{GRM}، F_{HOM}) استفاده شد. شاخص F_{HOM} که میزان هموزیگوسیتی افراد را نشان می‌دهد یکی از شاخص‌های میزان هم‌خونی است. شکل زیر F_{HOM} را نشان می‌دهد. همچنین، در تحقیق حاضر ROH یا همان طول‌های به‌هم پیوسته ژنوتیپ هموزیگوت انتقال یافته از والدین به فرزندان که منعکس‌کننده نواحی ژنومی هم‌تبار است (گومز رایا و همکاران (۱۸)) صفر به‌دست آمد. توجیهات علمی که برای به‌دست‌آوردن این ارزش می‌توان بیان کرد، با توجه به‌میزان پایین ال دی که گزارش کرده‌اند و این نتایج، به‌علت کوچک بودن تعداد نمونه، فیلترینگ به‌خوبی انجام نشده است.

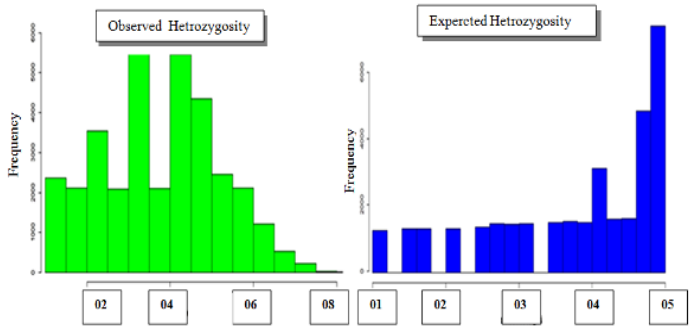
همچنین، در پژوهش حاضر، نتایج F_{GRM} مقادیر منفی را نشان داد. که دامنه آن از (۰/۱۲۱) تا (۰/۰۵۵) می‌باشد. میانگین F_{GRM} برای نمونه‌های مورد پژوهش ۰/۰۳۹۹- به‌دست آمد مفهوم شاخص ROH در واقعه بیانگر میزانی از ژنوم هست که به شکل هاپلوتیپ‌های مشابه هستند اما HOM میزانی از واریانت‌ها که هموزایگوت هستند را نشان می‌دهد و در نتیجه خروجی‌های به‌دست‌آمده می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را برای برنامه‌ریزی در خصوص انتخاب آتی اسپرم وکنترل جفتگیری‌ها و درک صحیحی از روابط خویشاوندی بین افراد را مشخص کند. جدول شماره ۲ مقادیر F_{GRM} را برای نمونه‌ها به‌صورت جداگانه نشان می‌دهد.

منفی‌بودن ضریب هم‌خونی در این تحقیق می‌تواند به‌دلیل کم‌بودن تعداد نمونه‌ها باشد. همچنین می‌تواند به‌دلیل بزرگ بودن هموزیگوسیتی مشاهده‌شده از هموزیگوسیتی موردانتظار باشد. فروتن و همکاران (۱۲) میزان ROH در گاوهای هلشتاین آمریکای شمالی در حدود ۵۷ تا ۸۲ بین سال‌های ۱۹۹۰ تا ۲۰۱۶ تخمین زد.

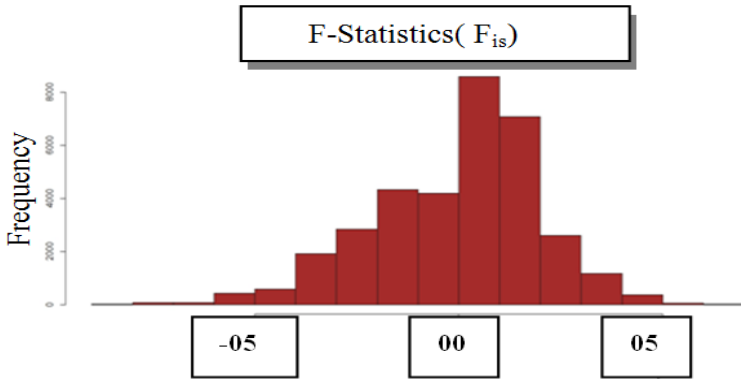
مسترانجلو و همکاران (۲۵) میزان هم‌خونی در نژاد گاو هلشتاین ایتالیایی F_{GRM}، ۰/۰۷۴ F_{HOM} را ۰/۰۱۴- و F_{ROH} را ۰/۰۴۲ گزارش کردند که با نتایج ما همخوانی نداشت که توجیه احتمالی آن می‌تواند به‌دلیل عواملی همچون عمر جهش ایجاد شده، ساختار ژنتیکی نژاد، تاریخچه پیدایش، رانش ژنتیکی، لایه‌بندی جمعیتی و نرخ نوترکیبی متفاوت در جمعیت مورد مطالعه آنها باشد.



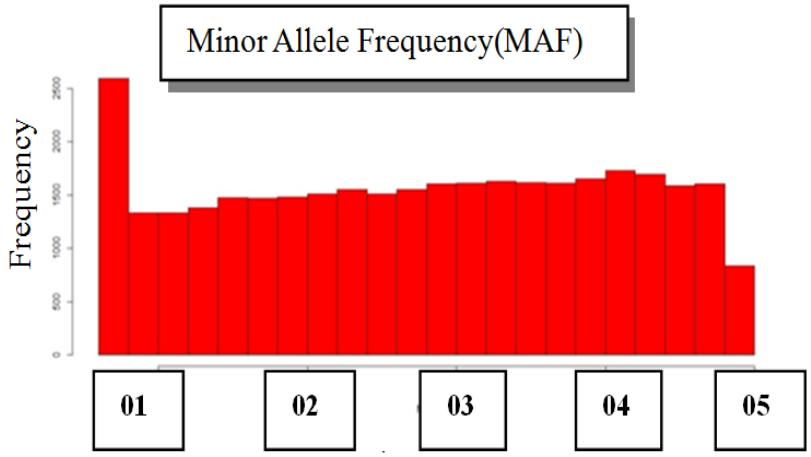
شکل ۱- توزیع عدم تعادل لینکاژی در سطح کروموزوم‌های مختلف
Figure 1 Distribution of linkage disequilibrium (r^2) in different chromosomes level



شکل ۲- توزیع هتروزیگوتی مشاهده شده (سمت چپ) و هتروزیگوتی مورد انتظار (سمت راست)
Figure 2. Distribution of observed hetrozygosity (left) and expected heterozygosity (right)



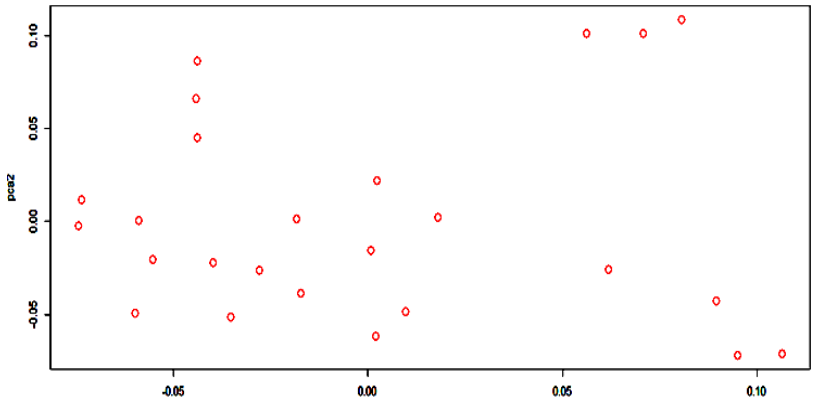
شکل ۳- توزیع شاخص تثبت (F_{is}) در مطالعه حاضر
Figure 3. Distribution of observed F-statistics (F_{is}) values in this study



شکل ۴- توزیع فراوانی آلل نادر در مطالعه حاضر
Figure 4. Distribution of Minor allele frequency in the present study

جدول ۲- میانگین و دامنه هم‌خونی ژنومیکی تخمین زده شده براساس F_{HOM}، F_{ROH}، F_{GRM}
Table 2. Mean and range of estimated genomic inbreeding based on F_{HOM}, F_{ROH}, F_{GRM} indices

ضریب هم‌خونی	میانگین	دامنه
F_{HOM}	-۰/۰۳۲۸	(-۰/۰۹۶) – ۰/۰۶۲
F_{ROH}	–	–
F_{GRM}	-۰/۰۳۹۹	(-۰/۱۲۱) – ۰/۰۵۵



شکل ۵- گراف مقایسات درون جمعیتی بر اساس شاخص تجزیه به مؤلفه‌های اصلی
Figure 5. Comparison plot for intra genetic diversity based on PCA index

جدول ۳- خلاصه حاشیه نویسی و خروجی‌های واریانت‌های مختلف به تفکیک هر کروموزوم بر اساس اسنیپ چیپ ۵۰ کیلوبازی
Table 3. Summary of annotation and output of different variants per chromosome of based on bovine 50K SNPs chip

	Chr.1	Chr.2	Chr.3	Chr.4	Chr.5	Chr.6	Chr.7	Chr.8	Chr.9	Chr.10	Chr.11	Chr.12	Chr.13	Chr.14
3_prime_UTR_variant														
5_prime_UTR_variant	۲۳	۲۱	۵۸	۸	۲۱	۱۹	۲۹	۲۳	۱۷	۱۸	۳۱	۷	۲۶	۶
Downstream_gene_variant	۰	۱۰	۱۱	۱	۱۳	۱	۸	۸	۹	۷	۵	۲	۳	۶
Intergenic_variant	۲۰۷	۱۸۷	۲۴۴	۱۵۷	۲۵۹	۱۳۱	۲۱۸	۱۲۳	۱۲۲	۱۸۱	۲۱۸	۷۹	۱۶۳	۷۹
Intron_variant	۱۶۶۲	۱۳۰۳	۱۰۴۲	۱۰۳۶	۸۳۸	۱۲۴۲	۹۸۸	۱۱۵۲	۱۰۴۰	۸۳۱	۹۱۹	۹۰۰	۷۵۸	۸۸۵
Missense_variant	۲۰۰۰	۲۰۷۴	۱۸۴۱	۲۰۳۰	۱۷۴۸	۱۵۰۰	۱۴۳۲	۱۶۳۹	۱۲۴۸	۱۶۴۸	۱۶۰۰	۷۶۴	۱۲۵۹	۱۰۸۵
Non_coding_transcript_exon_variant	۱۵	۳۰	۳۴	۷	۲۱	۹	۲۴	۳۳	۱۹	۱۴	۱۹	۷	۱۷	۱۲
Synonymous_variant	۴	۴	۱	۲	۳	۱	۲	۴	۴	۱۰	۷	۳	۲	۱
Upstream_gene_variant	۴۲	۴۹	۴۴	۴۲	۴۵	۳۷	۶۵	۵۰	۱۵	۴۳	۴۳	۱۱	۲۵	۲۸
3_prime_UTR_variant	۱۶۴	۱۴۶	۱۸۶	۱۵۸	۱۸۸	۱۰۵	۲۲۳	۱۰۵	۰	۱۶۸	۱۶۰	۶۴	۱۲۰	۶۸
Intron_variant,non_coding_transcript_variant	۵۲	۳۷	۲۹	۲۳	۳۹	۲۱	۳۹	۲۹	۳۴	۵۵	۵۶	۲۵	۲۴	۱۹
Missense_variant,splice_region_variant	۰	۱	۴	۰	۱	۰	۱	۰	۰	۰	۴	۰	۰	۱
Splice_region_variant,intron_variant	۵	۴	۳	۴	۱۱	۰	۵	۵	۰	۷	۶	۲	۹	۰
Sum	۵۷	۴۲	۳۶	۲۷	۵۱	۲۱	۴۵	۳۴	۳۴	۶۲	۶۶	۲۷	۳۳	۲۰

جدول ۳ (ادامه):

	Chr.15	Chr.16	Chr.17	Chr.18	Chr.19	Chr.20	Chr.21	Chr.22	Chr.23	Chr.24	Chr.25	Chr.26	Chr.27	Chr.28	Chr.29
3_prime_UTR_variant	۲۱	۱۸	۹	۱۶	۳۹	۸	۱۸	۱۵	۱۴	۵	۱۷	۱۲	۳	۱۴	۲۱
5_prime_UTR_variant	۴	۴	۸	۵	۹	۰	۷	۰	۹	۱	۳	۵	۲	۱	۴
Downstream_gene_variant	۱۳۸	۱۱۱	۱۴۲	۱۶۲	۲۲۳	۵۷	۱۰۳	۱۲۱	۱۳۹	۵۱	۱۴۰	۷۴	۴۴	۶۶	۹۴
Intergenic_variant	۶۷۹	۶۶۵	۶۸۰	۴۶۲	۳۷۶	۸۴۰	۶۱۴	۴۲۹	۴۱۷	۶۳۰	۳۵۸	۴۱۸	۴۸۶	۳۶۵	۴۳۰
Intron_variant	۱۲۳۸	۱۱۰۶	۱۳۱۰	۹۳۰	۱۲۸۱	۸۴۶	۸۵۸	۱۲۰۴	۷۲۴	۸۵۲	۶۶۶	۱۰۲۶	۵۵۰	۷۷۷	۸۱۴
Missense_variant	۱۱	۲۴	۸	۲۹	۱۸	۷	۹	۲۳	۱۴	۸	۹	۱۰	۱۰	۲۳	۱۹
Non_coding_transcript_exon_variant	۱	۰	۱	۳	۰	۱	۵	۲	۲	۰	۳	۱	۱	۰	۲
Synonymous_variant	۷۵	۱۸	۳۹	۴۷	۷۲	۱۷	۲۴	۲۳	۳۹	۴۳	۲۶	۱۸	۱۱	۱۱	۱۸
Upstream_gene_variant	۱۵۱	۱۱۶	۱۳۳	۱۹۶	۲۱۳	۵۷	۱۰۱	۸۹	۱۳۹	۵۷	۱۱۸	۷۶	۵۹	۷۲	۱۱۱
Intron_variant,non_coding_transcript_variant	۲۸	۲۱	۳۲	۲۷	۱۵	۱۰	۳۵	۲۵	۲۸	۲۳	۱۵	۲۱	۱۵	۶	۱۱
Missense_variant,splice_region_variant	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
Splice_region_variant,intron_variant	۱۳	۲	۲	۳	۱۸	۲	۲	۱	۵	۰	۲	۰	۳	۱	۳
Sum	۴۱	۲۳	۳۴	۳۰	۳۳	۱۲	۳۷	۲۶	۳۳	۲۳	۱۷	۲۱	۱۸	۷	۱۴

نتایج مرحله آنالیز نشان‌داد که هر ۲۵ حیوان در آنالیز باقی ماندند. اما تعداد ۵۷۱۶ اسنیپ از MAF و ۱۵۸۹ اسنیپ با کیفیت پایین ژنوتیپ فیلتر شدند. نتایج ال دی در فاصله کمتر از ۵۰k جفت باز عدم تعادل همبستگی بالا را در مناطق اشباع شده از نقشه و فاصله کم SNP در ژنوم گاو نشان می‌دهد. رویکردهای مولکولی بر اساس برآورد ضریب هم‌خونی حاصل از ROH (F_{ROH}) و بر اساس ماتریس خویشاوندی ژنومی (F_{GRM}) و میزان هموزیگوسیتی افراد (F_{HOM}) ارزش منفی را نشان می‌دهد که به‌وضوح به‌معنی بیش از حد هتروزیگوزیتی در ساختار جمعیت هلشتاین بررسی شده‌است. تجزیه و تحلیل آماری PCA و F و محاسبه هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در یک راستا و در یک ردیف از خروجی‌های هم‌نژادی ژنومی بود که تمام آنالیزها یکدیگر را در راستای یک پیام تنوع بالا تأیید کردند. نتایج انوتیشین نشان‌داد که در طراحی معماری اسنیپ‌چیپ تراکم وسیع و پوشش تمام ژنوم و ترانسکریپتوم و نواحی کدشونده و کد نشونده با نیم نگاهی بر ال دی در ساخت چیپ رعایت شده و ال دی بسته به ژنوتیپ‌ها و ساختار هر جمعیت رفتار مختص آن جمعیت به‌خصوص را نشان می‌دهد. فناوری بزرگ ژنوتایپ قادر به پوشاندن کل ژنوم گاو برای ایجاد داده‌های خام درست و دقیق برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در داخل و بین جمعیت‌ها است.

تشکر و قدردانی

از مسئولین دلسوز و کارکنان زحمتکش محترم مرکز اصلاح و شرکت آلتادلتا ژنتیک که در اجرای این طرح یاری رساندند و همچنین، از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه تبریز به‌خاطر حمایت مالی و معنوی و همکاری مجموعه دانشگاه تبریز جهت انجام این طرح در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته اصلاح‌نژاد دام، صمیمانه قدردانی می‌کنیم.

منابع

1. Anonymous. 2017. Inbreeding Update- August 2017. Canadian Dairy Network.
2. Barani, S., S.M. Moradi, J.A. Nejati, M.H. Moradi, M. Gholizadeh and M. Khansefid. 2017. The pattern of linkage disequilibrium in three native Iranian sheep breeds. Iranian Journal of Animal Science, 48: 11-18.
3. Biegelmeyer, P., C.C. Gulias-Gomes, A.R. Caetano, J.P. Steibel and F. Cardoso. 2016. Linkage disequilibrium, persistence of phase and effective population size estimates in Hereford and Braford cattle. BMC Genetics, 17(1): 1.
4. Dadar, M., S.A. Mahyari, M. Rokouei and M.A. Edriss. 2014. Rates of inbreeding and genetic diversity in Iranian Holstein Cattle. Animal Science Journal, 85(10): 888-894.
5. Dash S, A. Singh, A.K. Bhatia, S. Jayakumar, A. Sharma, S. Singh, I. Ganguly and S.P. Dixit. 2017. Evaluation of bovine high-density SNP genotyping array in indigenous dairy cattle breeds. Animal Biotechnology, 29(2): 129-135.
6. Edea, Z., H. Dadi, T. Dessie, S.H. Lee and K.S. Kim. 2015. Genome-wide linkage disequilibrium analysis of indigenous cattle breeds of Ethiopia and Korea using different SNP genotyping Bead Chips. Genes and Genomics, 37(9): 759-765.
7. Eftekhari, M., A. Mahzoon and A. Aghashahi. 2020. Study of the Status and Causes of Culling in Dairy Cattle in Qazvin Province. Research on Animal Production, 11(29): 10.
8. Falconer, D.S. and T.F.C. Mackay. 1996. An introduction to quantitative genetics, 4th edition. Longman.
9. Food and Agriculture Organization (FAO). 2013. In vivo conservation of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines, FAO, Rome, Italy, 14.
10. Food and Agriculture Organization (FAO). 2015. The second report on the state of the world's animal genetic resources for food and agriculture. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments, FAO, Rome, Italy.
11. Forogh Ameri, N. 2017. Exploring the genomes of Iranian native cows to identify selected areas. PhD. Thesis, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran, 123 (In Persian).
12. Forutan, M., S. Ansari Mahyari and C. Baes. 2018. Inbreeding and runs of homozygosity before and after genomic selection in North American Holstein cattle. BMC Genomics, 19(98): 2-12.
13. Gandini, G. and K. Oldenbroek. 2007. Strategies for moving from conservation to utilization. In: Oldenbroek, K. (ed.) Utilization and conservation of farm animal genetic resources. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.
14. García-Gámez, E., G. Sahana, B. Gutiérrez-Gil and J.J. Arranz. 2012. Linkage disequilibrium and inbreeding estimation in Spanish Churra sheep. BMC Genetics, 13(1): 43.
15. Georges, M.D., M. Nielsen, A. Mackinnon, R. Mishra, A.T. Okimoto, L. S. Pasquino, L. S. Sargeant, A. Sorensen, M. R. Steele, X. Zhao, J.E. Womack and I. Hoeschele. 1995. Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing Genetics, 139: 907-920.
16. Goddard, M.E. 2009. Genomic selection: Prediction of accuracy and maximization of long term response. Genetica (The Hague), 136: 245-252.
17. Goddard, M.E. 1992. Optimal effective population size for the global population of black and white dairy cattle. Journal of Dairy Science, 75: 2902-2911.
18. Gomez-Raya, L., C. Rodríguez, C. Barragán and L. Silió. 2015. Genomic inbreeding coefficients based on the distribution of the length of runs of homozygosity in a closed line of Iberian pigs. Genetics Selection Evolution, 47(1): 81.
19. Gomez-Romano, F., B. Villanueva, M.A.R. De Cara and J. Fernández. 2013. Maintaining genetic diversity using molecular co-ancestry: the effect of marker density and effective population size. Genetics Selection Evolution, 45: 38-45.
20. Bowman, P.J., A.C. Chamberlain, K. Verbyla and M.E. Goddard. 2009. Accuracy of genomic breeding values in multi-breed dairy cattle populations. Genetics Selection Evolution, 41(1): 51.
21. Karimi, K., K.A. Esmailizadeh and M. Asadi Fuzi. 2015. Analysis of genetic structure of Iranian indigenous cattle populations using dense single nucleotide polymorphism markers. Animal Production Research, 3: 93-104.
22. Khatkar, M.S., K.R. Zenger, M. Hobbs, R.J. Hawken, J.A. Cavanagh, W. Barris, A.E. McClintock, S. McClintock, P.C. Thomson, B. Tier, F.W. Nicholas and H. W. Raadsma. 2007. A primary assembly of a bovine haplotype block map based on a 15,036 single nucleotide polymorphism panel genotyped in Holstein Friesian cattle. Genetics, 176: 763-772
23. Kim, K.S., J.S. Yeo and C.B. Choi. 2002. Genetic diversity of North-East Asian cattle based on microsatellite data. Animal Genetics, 33: 201-204.
24. Martikainen, K., M. Koivula and P. Uimari. 2020. Identification of runs of homozygosity affecting female fertility and milk production traits in Finnish Ayrshire cattle. Science Reproduction, 10: 3804. https://doi.org/10.1038/s41598-020-60830-9
25. Mastrangelo, S., M. Tolone, R. Di Gerlando, L. Fontanesi, M.T. Sardina and B. Portolano. 2016. Genomic inbreeding estimation in small populations: evaluation of runs of homozygosity in three local dairy cattle breeds. Animal, 10(5): 746-754.
26. Melka, M.G., F.S. Schenkel. 2012. Analysis of genetic diversity in Brown Swiss, Jersey and Holstein populations using genome-wide single nucleotide polymorphism markers. BMC Research Notes, 5: 161. https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-161.

27. Meuwissen, T.H.E. 2009. Towards consensus on how to measure neutral genetic diversity? Journal of Animal Breeding and Genetics, 126: 333-334.
28. Meuwissen, T.H.E. 1997. Maximizing the response of selection with a pre-defined rate of inbreeding. Journal of Animal Science, 75: 934-940.
29. Meuwissen, T.H.E. 2009. Towards consensus on how to measure neutral genetic diversity? Journal of Animal Breeding and Genetics, 126: 333-334.
30. Mustafa, H., H. Heather, J. EuiSoo, K. Ahmad, N. Ali, A. Khan, T. Naseer Pasha, M. Zahid Farooq, K. Javed, A. Ajmal and S. Sonstegard. 2014. Comparative analysis of genome wide difference in Red Sindhi and Holstein cattle breeds using dense SNP marker. Intentional Journal Advance Research, 2: 300-4.
31. Naghavian, S., S. Davoudali and A. Mobaraki. 2018. Estimation of Inbreeding and Survey of the Pedigree Structure of Iranian Turkmen Horses Population. Research on Animal Production, 9(22): 12.
32. Oldenbroek, J.K. 2007. Utilisation and conservation of farm animal genetic resources. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.
33. Oldenbroek, K. 2007. Utilisation and conservation of farm animal genetic resources. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.
34. Qanbari, S. 2009. Study of genomic structure and signatures of recent positive selection in cattle. Doctor of Philosophy (PhD) at the Faculty of Agricultural Sciences, Georg-August University, Göttingen, Germany.
35. Qwabe, S.O., E. VanMarle-Koster, A. Maiwashe and F.C. Muchadeyi. 2013. Evaluation of the Bovine SNP 50 genotyping array in four South African cattle populations. South Africa Journal Animal Science, 43: 64-67.
36. Rahmaninia, J., S.R. Miraei-Ashtiani and H. Moradi Shahrbabak. 2015. Unsupervised clustering analysis of population and subpopulation structure using dense SNP markers. Iranian Journal of Animal Science, 46(3): 277-287.
37. Sargolzaei, M., F.S. Schenkel, G.B. Jansen and L.R. Schaeffer. 2008. Extent of linkage disequilibrium in Holstein cattle in North America. Journal of Dairy Science, 91: 2106-2117.
38. Simianer, H. 2005. Decision making in livestock conservation. Ecological Economics, 54: 559-572.
39. Urgul, A., T. Szmatoła, P. Topolski, I. Jasielczuk, K. Żukowski and M. Bugno-Poniewierska. 2016. The use of runs of homozygosity for estimation of recent inbreeding in Holstein cattle. Journal Applied Genetics, 57: 527-530.
40. Yang, W., X. Kang, Q. Yang, Y. Lin and M. Fang. 2013. Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. Journal of Animal Science and Biotechnology, 4(1): 1-6.

Assessment of Genetic Diversity Within Holstein Population using Bovine SNP Chip Data

Raoof Shakeri[1], Arash Javanmard[2], Karim Hasanpur[3], Mokhtar-Ali Abbasi[4], Seyed Mostafa Mazlom[5], Majid Khansefid[6] and Mehran Rahimi Varposhti[7]

1- Graduated M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture of Tabriz, Tabriz (Corresponding author: a.javanmard@tabrizu.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture of Tabriz, Tabriz. Iran.
4- Associated Professor, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO) Iran
5- PhD Candidate, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Ferdowsi, Mashhad
6- Researcher, Agri Bioscience, Agriculture Victoria Services, Bundoora, VIC, Australia
7- M.Sc. Animal Genetics and Breeding, CEO Arian Delta Gene Company, Tehran, Iran
Received: December 11, 2020 Accepted: February 20, 2021

Abstract

Historically, both significant decline of genetic diversity and simultaneously increasingly rate of inbreeding are two serious threaded factors in worldwide dairy industry. With this motivation, the aim of present report was to investigate the intra genetic diversity criteria (linkage disequribrium, observed and expected heterozygosity, F_{is} statistics, MAF distribution, autozygosity rate and population stratification using principal component analysis) in Holstein cattle population using dense markers. An Illumina Bovine 50k SNP Chip (V2) ready genotyped file for 25 Holstein cows obtained for further investigation. Here, we used Plink software for statistical analysis and measurement of molecular diversity indices. Observed outcomes results addressed average of MAF (0.28), mean frequency of observed and expected heterozygosity (0.38, 0.37), F_{is} statistic (– 0.032), F_{hom} statistic (-0.028-0328. In addition, PCA graph showed a significant indicating high population diversity, which was in accordance with all other calculated parameters. As a final conclusion, high-density SNP markers seems be as an accurate tool applicable for high-precision intra-diversity analyses.

Keywords: Holstein cows, Inbreeding, Intera population diversity, SNP chip technology

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی برخی مناطق ژنومی در جمعیت گوسفندان بر پایه فراتحلیل

مهدی بایری یار[۱]، سیدحسن حافظیان[۲]، امیرحسین خلت‌آبادی فراهانی[٤]، ایوب فرهادی[۳] و حسین محمدی[٤]

۱- دانشجوی دکترای، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: hassanhafezian@yahoo.com)
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۴- استادیار، گروه علوم دامی، گروه مهندسی علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک
تاریخ ارسال: ۹۹/۰۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۰۲
صفحه: ۱۵۰ تا ۱۵۹

چکیده

انتخاب برای افزایش فراوانی موتاسیون‌های جدیدی که فقط در برخی از زیرجمعیت‌ها سودمند هستند باعث باقی‌گذاشتن نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌شود. اغلب این مناطق با ژن‌ها و QTLهای مرتبط با صفات مهم اقتصادی در ارتباط هستند. هدف این مطالعه، شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با صفات عملکردی در تعدادی از گوسفندان جهان با استفاده از روش‌های نوین بود. برای این منظور فایل‌های تعیین ژنوتیپ با استفاده از تراشه‌های ژنومی مربوطه به ۱۵۹۱ رأس گوسفند از نژادهای مختلف جهان شامل ۵۲ نژاد از ۲۰ کشور تمام قاره‌ها و ۱۳ مطالعه انجام شده که در پایگاه‌های مختلف داده‌های ژنومی (Hapmap، Animal Genom، Zenodo، Frontiresin، Dryad) ذخیره شده بودند، استفاده شد. ابتدا جهت تعیین اختلاط جمعیتی بین نژادهای مختلف از مناطق با شرایط آب و هوایی متنوع آنالیز ساختار جمعیتی یا همان لایه‌بندی جمعیتی انجام گرفت. برای شناسایی نشانه‌های انتخاب از آزمون‌های Fst، hapflk، iHs، Rsb، XpEHH و در نهایت فرا تحلیل روش‌های فوق استفاده شد. جمعیت با آنالیز PCA در سه گروه جدا از یکدیگر شامل AIT: نژادهای آسیایی، ترکیه‌ای و آفریقایی، AUNZ: نژادهای استرالیایی و نیوزیلند و EU: نژادهای اروپایی قرار گرفتند. براساس آزمون فراتحلیل ۱۰ منطقه ژنگانی روی کروموزوم‌های ۲۲، ۲۰، ۱۲، ۹، ۷، ٦، ٥، ٤، ۳، ۲ شناسایی شدند. به‌طوری‌که ژن MC1R با رنگ پوست، ژن DSG2 با کیفیت و کمیت پشم و ژن AICDA با تولید ایمونوگلوبولین مرتبط هستند. تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی نشان داد که برخی از این مناطق ژنگانی به‌طور مستقیم و غیرمستقیم با ژن‌های مؤثر بر سازگاری با شرایط محیطی(ADAMTS9)، تولیدمثلی (GNAQ)، تنظیم ملانوسیت‌ها (KITLG)، تولید ایمونوگلوبولین (BATF، TNFSF13، AICDA، MZB1)، تمایز سلولی (TNFSF13، TGFB1)، فرآیند ایمنی (AGBL5، ATG7، PRDX1، CCL26، IL17RC، TNFSF12، TGFB2، PTGS1)، پاسخ سلولی به تحریکات بیرونی (PRKAA1، NFKB1، MAP3K2)، تولید اینترفرون آلفا (DDX58)، فرآیند پاسخ دفاعی (CCL24، FAM13B، LDLR، CLDN7)، هموستاز سلولی (BAMBI، DVL2)، تنظیم پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن (PLCE1) و تنظیم پاسخ به استرس (FXR2، HSPH1) همپوشانی دارند. تجزیه و تحلیل تطبیقی فراتحلیل نشانه‌های انتخاب بر اساس پایگاه داده‌های بیوانفورماتیکی می‌تواند مناطق ژنومی مورد انتخاب برای صفات با اهمیت اقتصادی و بیولوژیکی در گوسفند را شناسایی کند.

واژه‌های کلیدی: اختلاط جمعیتی، پویش ژنگانی، فراتحلیل، نشانه‌های انتخاب

مقدمه

گوسفند به‌عنوان یکی از اولین دام‌های اهلی در حدود ۱۱ هزار سال پیش در ناحیه عراق و ایران امروزی برای تولید گوشت، پشم و شیر اهلی شد (۳۵). پس از اهلی‌سازی گوسفند به‌علت قدرت تطابق‌پذیری بالا با شرایط تغذیه‌ای نامناسب، مقاومت به شرایط اقلیمی مختلف و اندازه قابل مدیریت آن این گونه در یک دامنه وسیع جغرافیایی گسترده شدند به‌طوری‌که هم‌اکنون بیش از ۲۵۰۰ نژاد از این گونه در جهان ثبت شده است (۲). در حال حاضر، تولید گوشت مهمترین دلیل پرورش گوسفند در ایران است و تولیدات دیگر مانند پشم، شیر و پوست در درجات بعدی اهمیت قرار دارند (۳۴). از زمان اهلی‌شدن تا کنون نژادهای مختلف گوسفند در سراسر جهان هدف انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی قرار گرفته‌اند که این انتخاب‌ها با ایجاد نشانه‌هایی در سطح ژنوم همراه است. چنانچه یک جهش جدید باعث افزایش شایستگی افراد حامل آن نسبت به سایر افراد جامعه شود، انتخاب باعث می‌شود افرادی که دارای شایستگی بیشتری هستند در تشکیل نسل بعد مشارکت بیشتری داشته باشند. بدین‌ترتیب فراوانی واریانت جهش یافته، بسته به سهم آن در افزایش شایستگی به سرعت شروع به افزایش خواهد کرد. بنابراین زمانی که یک آلل سودمند در طی زمان‌های مختلف، هدف انتخاب مثبت قرار می‌گیرد باعث ایجاد نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌شود که از طریق بررسی طیف فراوانی آللی و LD قابل شناسایی است (۱۵). از طرفی استفاده از نشانگرهای ژنتیکی در انتخاب و اصلاح نژاد به‌طور مهیجی پیشرفت ژنتیکی را تسریع می‌کند (۲۲) به‌طور کلی در بیشتر کشورهای جهان هدف از اصلاح نژاد گوسفند سودآوری از طریق بهبود یک یا چند صفت اقتصادی در جامعه است (۲۸). این بهبود می‌تواند از طریق انتخاب گوسفندان برتر به‌عنوان والدین نسل آینده بر اساس شایستگی ژنتیکی آنها برای صفات مورد نظر صورت گیرد. همگام با افزایش پیشرفت‌های ژنتیکی، حفظ تنوع ژنتیکی یک جمعیت برای اطمینان از پاسخ به انتخاب بلندمدت، یک وظیفه مهم برنامه‌های اصلاح نژادی است. برنامه‌های اصلاح نژادی بیشتر در جهت بهبود وضعیت

تولیدی حیوانات اهلی عمل می‌کنند که توفیق این برنامه‌ها به‌مقدار تنوع ژنتیکی موجود در گله‌ها بستگی دارد. پس از اینکه در سال ۲۰۰۹ اولین تراشه SNP در گوسفند در قالب پروژه SheepHapMap طراحی شد، در پروژه گسترده‌ای در سال ۲۰۱۲ گروهی از دانشمندان جهت شناسایی نواحی تحت انتخاب مثبت در جمعیت گوسفندان سراسر جهان شامل ۷۴ نژاد مختلف، در قالب پروژه Sheep HapMap مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند (۱۶). نتایج پویش ژنومی سیگنال‌های انتخاب، ۳۱ ناحیه مرتبط با رنگ پوست، مورفولوژی استخوان، اندازه بدن، رشد و تولید مثل را آشکار نمود. همچنین شناسایی مناطق ژنومی در نژادهای مختلف چینی با حدود ۵۴۰۰۰ نشانگر SNP و بررسی تمایز جمعیتی با استفاده از روش XP-EHH نشان داد که چندین منطقه ژنومی بر روی کروموزوم‌های ۱، ۳، ۵، ۷، ۱۲، ۱۹، ۲۰ و ۲۳ دارای شواهدی از انتخاب می‌باشند. بررسی QTLهای گزارش‌شده در مناطق کاندیدا نیز حاکی از آن بود که این مناطق با QTLهای صفات مهم اقتصادی مرتبط با لاشه، تولیدمثل و متابولیسم چربی همپوشانی دارند (۳۵). ژن‌هایی که دارای فراوانی بالا و همچنین EHH بالایی در مجاور آلل انتخابی باشند هدف انتخاب‌های مثبت بوده و به‌خصوص در دام‌ها، که علاوه بر انتخاب طبیعی تحت انتخاب مصنوعی نیز قرار دارند می‌توانند پاره‌ای از جایگاه‌های کاندیدا برای ژن‌های عمده اثر باشند (۳۵). در مطالعه دیگر کیجاس (۱۷) با کاوش نشانه‌های انتخاب روی همان ۷۴ نژاد ذکر شده در مطالعه قبلی بود ولی براساس روش‌های مبتنی بر عدم تعادل لینکاژی و طول هاپلوتیپی و آماره hapFLK، ۱۰ منطقه هاپلوتیپی شناسایی که ۵ ناحیه بر روی کروموزوم‌های ۴، ۶، ۱۰ (دو منطقه)، ۱۱ و ۱۳ قویاً حاوی ژن‌های کاندیدای تحت انتخاب مثبت تشخیص داده شد (NCAPG، COL1A2، RXFP2، LCOR1). فاریلو و همکاران (۵) طی تحقیق گسترده بر روی جمعیت گوسفندان جهان با استفاده از مجموعه داده‌های HapMap که شامل ۷۴ نژاد و با تعداد ۳۰۰۰ رأس حیوان بود، نشانه‌های انتخاب را بر پایه تنوع ژنتیکی در گوسفندان مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق حداقل سه سطح تمایز بین قاره‌ای، درون قاره‌ای و سطح داخل نژادی طراحی شد و با استفاده از روش FST مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل منجر به شناسایی ۳۱ منطقه ژنومی با تمایز شدید بین نژادها شد که شامل ژن‌های مربوط به رنگ پشم، مورفولوژیکی اسکلت، اندازه بدن، رشد و تولیدمثل است. مرادی و همکاران (۲۰) با استفاده از دو سری اطلاعاتی مستقل شامل داده‌های پروژه HapMap گوسفند و داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ دو نژاد ایرانی زل و لری بختیاری، نشانه‌های انتخاب را در نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه را با هدف شناسایی مناطق ژنومی کاندیدای مرتبط با ذخیره چربی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق سه ناحیه کروموزومی (۵، ۶ و X) را نمایان کرد که در هر دو سری اطلاعاتی مورد استفاده، ارتباط آنها با این صفت تأیید می‌شد. بررسی QTLهای گزارش‌شده در مناطق اورتولوگوس در گاوهای شیری و گوشتی نشان داد که تمامی این مناطق با QTLهای شناسایی‌شده مرتبط با صفات چربی و لاشه همپوشانی دارند. علاوه بر این منظری (۱۸) کاوش ژنومی نشانه‌های انتخاب در سه نژاد گوسفند ایرانی زل، لری بختیاری (نژادهای مورد استفاده در مطالعه بالا) و بلوچی توسط دو آماره FST و XP-EHH مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل باعث شناسایی ۴۹ منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۷، ۸، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۵، ۱۶، ۱۸ و X شد. ژن‌های کاندیدای شناسایی‌شده در این نواحی مرتبط با توسعه سیستم اسکلتی و دُم، تولیدمثل، سیتولوژی سلولی، سیستم عصبی، سیستم ایمنی، سیستم ماهیچه‌ای و متابولیسم قند و انرژی مشخص شدند. فراتحلیل عبارت است از به‌کارگیری روش‌های آماری خاص برای ترکیب و خلاصه‌نمودن نتایج مطالعات مستقل ولی مرتبط، برای یافتن دقیق‌ترین شکل ارتباط بین متغیرهای مورد بررسی. این روش‌های آماری کمک می‌کنند تا جمع‌بندی اطلاعات از مطالعات مختلف به‌صورت عینی صورت بپذیرد و نظرات شخصی تأثیری در این فرآیند نداشته باشد (۲۵). انتخاب نوع مطالعاتی که برای فراتحلیل استفاده می‌شوند اهمیت بسیاری دارد. اگرچه تمایل کلی، محدودنمودن مطالعات به تحقیقات کاملاً مشخص می‌باشد ولی در بعضی موارد، مثل وجود مشکلات در انجام مطالعات، حجم کم نمونه و مشکلات اجرایی، وارد نمودن نتایج سایر انواع مطالعات مرتبط نیز قابل قبول است (۲۹). ترکیب اطلاعات از مطالعات متعدد موجود می‌تواند قابلیت اعتماد را افزایش و همچنین نتایج را تعمیم دهد. استفاده از تکنیک‌های آماری به‌منظور ترکیب نمودن نتایج از مطالعات مستقل ولی مرتبط را فراتحلیل می‌نامند. البته اصطلاح فراتحلیل برای توصیف کل فرآیند مطالعه گفته می‌شود، نه فقط تکنیک‌های آماری استفاده شده و یک عبارت جایگزین بررسی سیستماتیک می‌باشد. فراتحلیل نسبتاً ارزان است، به‌دلیل اینکه به‌طور کلّی از اطلاعات در دسترس استفاده می‌کند. با توجه به مطالب ذکر شده، هدف از پژوهش حاضر، شناسایی QTLها و ژن‌های مؤثر برصفات عملکردی در گوسفندان جهان با استفاده از روش‌های نوین و بر پایه فراتحلیل و تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی مناطق ژنومی است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ابتدا فایل ژنوتیپ‌های تعیین‌شده با استفاده از تراشه‌های ژنومی همراه با رکوردهای فنوتیپی مرتبط با صفات تولیدمثلی که مربوط به گونه گوسفند بوده و در پایگاه‌های مختلف داده‌های ژنومی (Dryad، Frontiresin، Zenodo، Animal Genome، Hapmap) ذخیره شده بودند، استخراج شدند. ژنوتیپ نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های 50K-گوسفندی و با به‌کارگیری پروتکل استاندارد شرکت ایلومینا تعیین ژنوتیپ شده بودند. برای فیلتراسیون داده‌های تعیین ژنوتیپ شده از معیارهای فراوانی تعیین ژنوتیپ شده نمونه‌ها، نرخ تعیین ژنوتیپ شده نشانگرها در هر نمونه و حداقل فراوانی آللی (MAF) استفاده شد. در ابتدا نمونه‌هایی که فراوانی تعیین ژنوتیپ شده آنها کمتر از ۹۰ درصد بود، شناسایی و حذف شد. این نمونه‌ها احتمال بیشتری داشته که

با داده‌های گمشده همراه بوده و خطای تعیین ژنوتیپ شده در آنها بالا باشد. در مرحله بعد نشانگرهایی که حداقل فراوانی آللی در آنها کمتر از ۱ درصد بود حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ شده آنها در نمونه‌ها کمتر از ۹۰ درصد بود شناسایی و حذف شدند. مراحل مختلف فیلتراسیون با استفاده از نرم‌افزار PLINK انجام شد (۲۱). تعداد و نام نژادهای مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- نژاد و تعداد نمونه مورد استفاده در پژوهش

Table 1. Breed and number of sample used in the research

منطقه	نام نژاد	تعداد نمونه	منطقه	نام نژاد	تعداد نمونه
آسیا	Afshari	۳۷	آفریقا	Deman Alg	۴۸
	Deccani	۴۰		Hamara Alg	۴۸
	Garut	۳۵		Namaqua Afrikaner	۱۴
	Local Awassi	۳۴		O.Djellal Alg	۴۸
	Moghani	۳۵		Redmaasai	۴۸
	Qezel	۳۵		Sidaoun Alg	۴۸
	Speal-white	۲۵		Tazgezawth Alg	۴۸
	Sumatra	۲۵	آمریکا	Gulf Coast Nova	۹۶
	Tibetan	۴۲		Morada Nova	۲۱
استرالیا	Australian Coopworth	۲۴		Brazilian Creole	۲۲
	Australian Merino	۴۶		Santa Ines	۴۶
	Australian Poll Merino	۲۴		Altamurana	۲۴
	NewZealand Romney	۲۴		Border Leicester	۲۴
	Arawapa	۲۴		Castellana	۲۲
	Australian Industry Merino	۲۴		Chios	۲۴
	Australian Poll Dorset	۲۴		Comisana	۲۴
	Australian Suffolk	۲۴		EastFriesian Brown	۴۸
	NewZealand Texel	۲۴		Finnsheep	۵۴
آفریقا	African Dorper	۲۱		IrishSuffolk	۵۵
	Barbaine Alg	۴۸	اروپا	Karakas	۱۸
	Barber Alg	۴۸		Norduz	۲۰
	Egyptian Barki	۲۴		Ojalda	۲۴
	Ethiopian Menz	۳۵		Rasaaragonesa	۲۰
	Rembi Alg	۴۸		Sakiz	۲۲
اروپا	Scottish Texel	۸۰		ValaisRed sheep	۲۴
	Scottish Black Face	۲۴		German Texel	۴۸
	SwissBlack-Brown Mountain sheep	۲۴		Leccese	۲۲
	Swiss Alpaine sheep	۲۴		Rambouillet	۱۰۴
	Churra	۵۰۰	اروپا	SwissMirror sheep	۲۴
	Cyprus Fat Tail	۳۰		ValaisBlacknose sheep	۲۴
	Galway	۵۰		Wiltsheep	۴۵

یکی از شیوه‌های آماری برای آزمون ارتباط بین جوامع و اختصاص افراد به آنها با استفاده از ماتریس فاصله، استفاده از آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) است (۱۲). به‌علاوه، در این روش هر مؤلفه مستقل از مؤلفه‌های دیگر است. برای این منظور ابتدا جهت مشخص‌نمودن SNPهای مستقل جهت از بین‌بردن اریب ناشی از پیوستگی بین SNPها با استفاده از برنامه PLINK با اندازه پنجره‌های ۲۵ نشانگری و گام‌های ۵ نشانگری و r^2 بین هر یک از جفت SNPها بالاتر از ۰/۰۵ حذف شده و تنها یکی از آنها باقی ماند. سپس با استفاده از برنامه R و بسته adegenet آنالیز PCA انجام شد (۱۳). برای شناسایی نشانه‌های انتخاب در این تحقیق از روش‌های زیر استفاده شد.

روش‌های آماری بر پایه تفاوت بین جمعیت‌ها

یکی از متداول‌ترین آماره‌ها برای مطالعه انتخاب، آماره F_{ST} است که با استفاده از تفاوت بین فراوانی آللی بین یک زیرجمعیت برای یافتن مناطقی از ژنوم در ارتباط با فشار انتخاب بر روی یک زیرجمعیت در مقایسه با زیرجمعیت دیگر به‌کار می‌رود. در این پژوهش مقادیر ارزش‌های Fst به‌روش برآوردگر نااریب تتا برای کلیه نشانگرهای تک نوکلئوتیدی در محیط R محاسبه شد. برای محاسبه F_{St} از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$F_{st} = \frac{H_T - H_S}{H_T} \quad (۱)$$

که در اینجا H_T هتروزیگوسیتی مورد انتظار درکل جمعیت و H_S هتروزیگوسیتی داخل زیر جمعیت است.

روش‌های آماری بر پایه آماره hapflk

یک روش مبتنی بر هاپلوتایپ برای تشخیص انتخاب مثبت از داده‌های متعدد جمعیت با استفاده از روش hapflk پیشنهاد شده است بنابراین در این روش یک مدل عدم تعادل لینکاژی چندین نقطه استفاده شده که دوباره کروموزوم‌های

فرد داخل محل هاپلوتایپ طبقه‌بندی می‌شود. این آماره‌ها از فراوانی هاپلوتیپ به‌جای فراوانی آللی از SNP استفاده می‌کند (۸).

روش‌های مبتنی بر عدم تعادل پیوستگی

آنالیز هاپلوتیپ‌ها روش دیگری برای شناسایی سیگنال‌های انتخاب توسط روش‌های متعددی است که بیشتر بر پایه روش EHH توسعه یافته‌اند (۲۷). در واقع EHH احتمال شایع‌بودن یک هاپلوتیپ گسترده شده خاص بدون نوترکیبی است که به‌صورت زیر محاسبه می‌شود:

$$EHH_{s,t} = \frac{1}{n_{a_s}(n_{a_s}-1)} \sum_{k=0}^{k_{a_{s,t}}} n_k(n_k - 1) \qquad (۲)$$

که در اینجا n_{a_s} فراوانی هاپلوتیپ‌هایی است که حامل هاپلوتیپ مرکزی a_s هستند، $k_{a_{s,t}}$ تعداد هاپلوتیپ‌های منحصر به فردی است که حامل هاپلوتیپ مرکزی از اسنیپ S تا اسنیپ t در طول کروموزوم هستند و n_k نشانگر تعداد نمونه‌های هاپلوتیپ‌های منحصر به فرد است. یکی از متداولترین روش‌های مبتنی بر روش‌های عدم تعادل پیوستگی استفاده از آماره iHS است، این آماره یک معیار استاندارد از کاهش EHH آلل‌های مشتق‌شده در یک منطقه (برای مثال یک SNP) نسبت به آلل‌های اجدادی را فراهم می‌کند. مناطقی با روند آهسته کاهش EHH در آلل‌های مشتق‌شده به‌عنوان نشانه‌ای از انتخاب تلقی می‌گردد. در این روش انتگرال زیر منحنی EHH در تمام جایگاه‌های اطراف SNP مرکزی تا زمانی‌که EHH به ۰/۵ می‌رسد محاسبه و ارزش‌های به‌دست‌آمده برای آلل‌های اجدادی و آلل‌های مشتق‌شده با هم مقایسه می‌شوند. این روش به‌صورت موفقیت‌آمیزی در تحقیقات مختلف شامل انسان و گاو گزارش شده است (۹، ۳).

$$iHs = \frac{\ln\left(\frac{iHHA}{iHHD}\right) - Ep\left[\ln\left(\frac{iHHA}{iHHD}\right)\right]}{SDp\left[\ln\left(\frac{iHHA}{iHHD}\right)\right]} \qquad (۳)$$

که A آلل اجدادی و D آلل اشتقاقی است. انحراف استاندارد مورد انتظار ln(iHHA/iHHD) از توزیع تجربی SNP برآورد شده که p فراوانی آلل مشتق‌شده با فراوانی SNP هسته منطبق شده است. his ساخته شده تقریباً توزیع نرمال دارد و از این رو اندازه سیگنال‌های آلل‌های مختلف به‌طور مستقیم قابل مقایسه با فراوانی آللی آن با دیگر SNPها است. همچنین بعد از محاسبه EHH از نرم‌افزار R و بسته rehh برای محاسبه روش Rsb (۱۰) استفاده شد. XPEHH برخلاف دو روش iHS و EHH که سیگنال‌های انتخابی تثبیت‌نشده را شناسایی می‌کنند، شناسایی سیگنال‌هایی که در برخی زیرجمعیت‌ها نسبت به کل جمعیت به تثبیت رسیده‌اند را بر عهده دارد که در این روش برای کنترل تنوع نرخ نوترکیبی، هاپلوتیپ‌ها را بین جمعیت مقایسه می‌کنند و داده‌هایی که خارج از محدوده مورد نظر هستند به‌عنوان نشانه‌های انتخاب تعیین می‌شود (۲۷).

$$XP - EHH = \log \frac{\int EHH_{pop1}(x)dx}{\int EHH_{pop2}(x)dx} \qquad (۴)$$

در این تحقیق جهت تشکیل فازهای هاپلوتیپ از نرم‌افزار FastPHASE استفاده شد.

روش فراتحلیل

در این آزمون از ترکیب P-Valueهای به‌دست‌آمده از آزمون‌های شناسایی نشانه‌های انتخاب، استفاده شد (۳۱). نتایج به‌دست آمده از این بررسی نیز مؤید حساسیت و توانایی بالای این روش در شناسایی مناطق ژنومی که تحت انتخاب بوده‌اند، می‌باشد. برای تسهیل در شناسایی برچسب‌های آلل که ممکن است توسط کاربر، اشتباه تعیین شده باشد. METAL گزینه‌ای برای خروج از میانگین، واریانس و حداقل و حداکثر فراوانی آلل برای هر نشانگر است. METAL حتی در هنگام انجام فراتحلیل، آماره‌هایی مانند اندازه نمونه تجمعی را ردیابی می‌کند.

ژن انتولوژی و شناسایی QTLها

پس از شناسایی سیگنال‌های انتخاب، ژن‌های گزارش شده این مناطق در گوسفند و مناطق متناظر در گاو با استفاده از پایگاه اطلاعاتی ENSEMBL و بر اساس سرهمسازی آخرین نسخه ژنومی در دسترس گوسفند OAR از پایگاه اطلاعاتی NCBI و نرم‌افزار BioMart شناسایی شد (۱۹). سپس QTLهای گزارش‌شده در این مناطق در مرکز اطلاعاتیAnimal QTLdb مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت به‌منظور بررسی گروه‌های کارکردی (GO[1]) مختلف که مجموعه ژن‌های شناسایی شده از نرم‌افزار DAVID استفاده شد همچنین برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست‌آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنلاین GeneCards و UniProtKB استفاده شد.

نتایج و بحث

بعد از کنترل کیفیت اولیه (در مرحله تعیین ژنوتیپ)، ۷۷ فرد به‌خاطر ژنوتیپ از دست‌رفته بیشتر از ۱۰ درصد حذف شدند و در نتیجه ۱۵۹۱حیوان برای آنالیزهای بعدی باقی ماندند. از مجموع ۴۹۰۳۴ نشانگر به‌کار رفته در این تحقیق، ۴۷۲۵۸ نشانگر توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند.

به‌طور کلی ۱۸۴ نشانگر به‌دلیل حداقل فراوانی آللی کمتر از ۱ درصد و ۱۵۹۲ نشانگر به‌دلیل نرخ ژنوتایپینگ کمتر از ۹۰ درصد در هر نمونه حذف شدند. مراحل مختلف کنترل کیفیت در جدول ۲ نشان داده شده است.

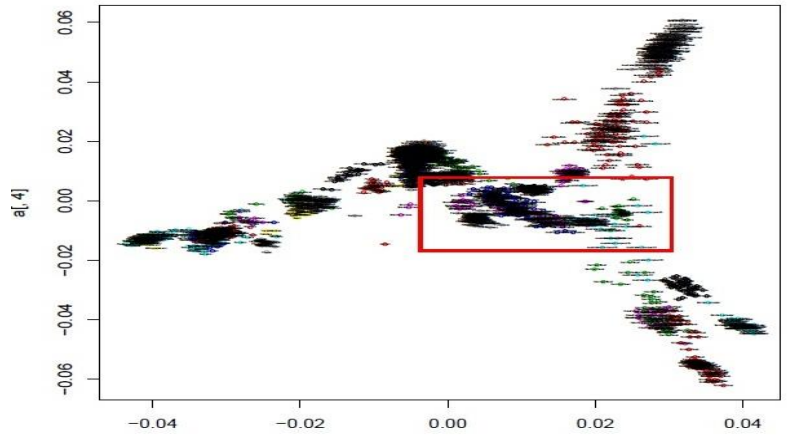
1- Gene ontology

جدول ۲- مراحل مختلف فیلتراسیون داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ
Table 2. Different stages of filtering the data obtained from genotyping

موارد	تعداد
تعداد حیوانات	۱۶۶۸
حذف نمونه‌هایی با بیش از۱۰ درصد ژنوتیپ ازدست‌رفته	۷۷
تعداد کل نمونه‌های باقی‌مانده	۱۵۹۱
تعداد کل نشانگرهای مورد بررسی	۴۹۰۳۴
حذف نشانگر با MAF <۰/۰۱	۱۸۴
حذف نشانگرهای بانرخ فراوانی کمتر از ۹۰ درصد در هر نمونه	۱۵۹۲
تعداد نشانگرهای باقی‌مانده	۴۷۲۵۸

نتایج آنالیز نشان داد که جمعیت‌های گوسفندان جهان بر اساس اطلاعات دو مؤلفه اصلی (PC2 وPC1) در سه گروه‌های جدا از یکدیگر شامل AIT: نژادهای آسیایی، ترکیه‌ای و آفریقایی، AUNZ: نژادهای استرالیایی و نیوزیلند و EU: نژادهای اروپایی قرار گرفتند.

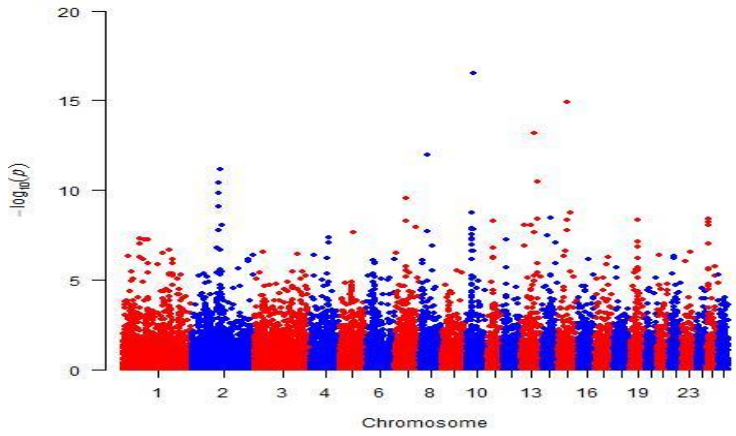
.



شکل۱- آنالیز مؤلفه‌های اصلی برای ۳ جمعیت EU، AUNZ، AIT توسط نرم‌افزار R
Figure 1. Principal component analysis for 3 populations of EU, AUNZ, AIT by R software

با توجه به شکل ۱ نتایج حاکی از این است که افرادی که دورترند نسبت به افرادی که در میانه قرار گرفته‌اند، خلوص بیشتری دارند. در این شکل سطح افقی (PC1)جمعیت‌ها را از لحاظ کشورها و سطح عمودی (PC2) جمعیت‌ها را از لحاظ قاره‌ها تفکیک کرده است. جهت بررسی الگوی ژنومی انتخاب مثبت در سه جمعیت گوسفند AIT، AUNZ و EU مقادیر ارزش‌های Fst به‌روش برآوردگر نااریب تتا برای کلیه نشانگرهای تک‌نوکلئوتیدی در محیط R محاسبه شد. برای شناسایی بهتر نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم به‌جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP میانگین ارزش عددی SNPهای مجاور تحت عنوان پنجره ۵تایی (win5) در نظر گرفته شد. مناطقی از ژنوم که در صدک بالای ۹۹/۹ درصد ارزش تتا قرار داشتند به‌عنوان کاندیدای نشانه انتخاب مشخص شدند. نشانگرهایی که پس از آزمون Fst بیشترین ارزش تتا در بین دو جمعیت AIT و AUZN بودند بر روی کروموزوم‌های ۲۵، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۸، ۶ و نشانگرهای دارای بیشترین ارزش تتا در بین دو جمعیت AIT و EU بر روی کروموزوم‌های ۲۷، ۱۰، ۸، ۲ قرارداشتند. نشانگرهایی که دارای بیشترین ارزش تتا در بین دو جمعیت AUNZ و EU بودند بر روی کروموزوم ۱۹ قرار داشت. با بررسی نقاط به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون hapflk (۵)، مشخص شد که ۶ منطقه روی کروموزوم‌های ۲۲، ۲۰، ۱۹، ۱۴، ۱۳، ۱ دارای تمایز بیشتری هستند. طبق بررسی نتایج حاصل از آنالیز Rsb نشانه‌های انتخاب بین جمعیت AIT و AUZN نشانه‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۲۵، ۲۱، ۱۵، ۱۱، ۱۰، ۷، ۶، ۲، ۱ شناسایی گردید. با انجام آنالیز Rsb برای جمعیت AIT و EU نشانه‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۱۴، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۸، ۷، ۶، ۲، ۱ شناسایی گردید، درحالیکه برای جمعیت EU و AUNZ نشانه‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۲۵، ۲۱، ۸، ۷، ۳، ۲ شناسایی شد. نتایج بررسی نشانه‌های انتخاب در درون هر جمعیت (آماره iHS) نشان داد که برای جمعیت AIT نشانه‌های انتخاب برروی کروموزوم‌های ۱۸، ۱۳، ۸، ۵، ۳ برای جمعیت EU نشانه‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۲۰، ۱۳، ۲ و برای جمعیت AUNZ نشانه‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۲۷، ۱۸، ۱۲، ۳، ۱ شناسایی شد. در بررسی آماره XP-EHH برای جمعیت AIT با AUNZ کروموزوم‌های ۲۵، ۲۱، ۱۹، ۱۸، ۱۷، ۱۵، ۱۱، ۱۰، ۸، ۱ و برای جمعیت AIT با EU کروموزم‌های ۲۳، ۲۲، ۲۱، ۱۹، ۱۸، ۱۳، ۸، ۷، ۴، ۱ و برای جمعیت AUNZ با EU کروموزوم‌های ۲۵، ۲۴، ۲۱، ۱۸، ۱۶، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۷، ۶، ۳، ۱ مورد انتخاب واقع شدند. گراف منهتن برای فراتحلیل کل داده‌های جمعیتی گوسفندان جهان در شکل ۲ ارائه شده است و به‌طور کلی بر اساس فراتحلیل، نقاط دارای تمایز بیشتر برای تمام گروه‌های این تحقیق در روی کروموزوم‌های ۲۲،

۲۰، ۱۲، ۹، ۷، ۶، ۵، ۴، ۳، ۲ شناسایی شدند که لیست کامل مکان آنها و ژن‌های اساسی هر منطقه شناسایی شده در جدول ۳ به‌طور مفصل ارائه شده است.



شکل ۲- گراف منهتن برای کروموزوم‌های مورد انتخاب کل جمعیت‌های گوسفندان با فراتحلیل
Figure 2. Manhattan graph for selected chromosomes of the world's total sheep population by meta-analysis

جدول۳- فهرست ژن‌ها و QTLهای شناسایی‌شده مربوط به نواحی تحت انتخاب بر اساس آزمون فراتحلیل در جمعیت گوسفندان جهان
Table 3. List of genes and QTLs identified in selected areas based on meta-analysis test in total sheep population

کد هستی‌شناسی	نام مسیر (براساس سلسله مراتبی)	ژن‌های موجود در Term	ژن‌های کاندیدای در هر Term	ارزش-p تصحیح‌شده
GO: 0045634	تنظیم تمایز ملانوسیت	۳	ADAMTS9, GNAQ, KITLG	۰/۰۱۲
GO: 0002200	تنوع بدنی گیرنده‌های ایمنی	۶	AICDA, ADAR, BATF, TCF3, TGFB1, TNFSF13	۰/۰۱۳
GO: 0016447	نوترکیبی بدنی قطعات ژن ایمونوگلوبولین	۵	AICDA, BATF, TCF3, TGFB1, TNFSF13	۰/۰۰۱۸
GO:0016445	تنوع بدنی ایمونوگلوبولین‌ها	۵	AICDA, BATF, TCF3, TGFB1, TNFSF13	۰/۰۲۸
GO:0071496	پاسخ سلولی به محرک خارجی	۹	KANK2, LOC101116157, ATG7, MAP3K2, MTMR3, NFKB1,PIK3C2B, PRKAA1, SLC2A1	۰/۰۳۸
GO:0002562	تنوع بدنی گیرنده‌های ایمنی ازطریق نوترکیبی خط جوانه زنی در داخل یک جایگاه ژنی	۵	AICDA, BATF, TCF3, TGFB1, TNFSF13	۰/۰۳۹
GO:0002377	تولید ایمونوگلوبولین	۶	AICDA, BATF, MZB1, TCF3,TGFB1, TNFSF13	۰/۰۴۴
GO:0032727	تنظیم مثبت تولید اینترفرون- آلفا	۳	DDX58,TBK1, MAVS	۰/۰۰۳۶
GO:0048070	تنظیم رنگدانه رشد	۳	ADAMTS9, GNAQ, KITLG	۰/۰۲۶
GO:0002252	فرآیند ایمنی	۲۰	AGBL5, DDX58, FXR2, AICDA, ADAR, ATG7, BATF, CLDN7, LOC101107430, C1S, FAM13B, JAGN1, MZB1, MAVS, PRDX1, PIK3R6, SLC35C1, TGFB1, TGFB2,TNFSF13	۰/۰۱۹
GO:0031668	پاسخ سلولی به محرک خارج سلولی	۷	KANK2, LOC101116157, ATG7, MTMR3, PIK3C2B, PRKAA1,SLC2A1	۰/۰۳۹
GO:0002208	تنوع بدنی ایمونوگلوبولین‌های درگیر درپاسخ ایمنی	۴	AICDA, BATF, TGFB1, TNFSF13	۰/۰۲۹
GO:0002204	نوترکیبی بدنی از ژن‌های ایمونوگلوبولین درگیر درپاسخ ایمنی	۴	AICDA, BATF, TGFB1,TNFSF13	۰/۰۱۹
GO:0032647	تنظیم تولید اینترفرون- آلفا	۳	DDX58, TBK1,MAVS	۰/۰۰۸۲
GO:0043406	تنظیم مثبت فعالیت MAP کیناز	۷	KITLG, DVL2, PAK1, PDE5A, PIK3R6, PLCE1, TGFB1	۰/۰۰۹۶
GO:0002376	فرآیند سیستم ایمنی	۹	AGPAT5, CCL26, BATF, IL17RC, ILF2,TGFB1, TGFB2, TNFSF12, TNFSF13	۰/۰۴۶
GO:0080134	تنظیم پاسخ به استرس	۱۲	NT5E, ARL6IP5, CCL24, DDX58, FXR2, GPS2, TBK1, CREB3, HSPH1, IL17RC, SLC35C1, TGFB2	۰/۰۰۲۰۱
GO:0032607	تولید اینترفرون- آلفا	۳	DDX58, TBK1, MAVS	۰/۰۰۲۵۱
GO:0090263	تنظیم مثبت مسیر عادی سیگنالینگ Wnt	۵	BAMBI, CTDNEP1, RSPO3, DVL2, NFKB1	۰/۰۳۷۳
GO:0002381	تولید ایمونوگلوبولین در پاسخ ایمنی واسطه ایمونوگلوبولین	۴	AICDA, BATF, TGFB1, TNFSF13	۰/۰۱۲۵
GO:0048298	تنظیم مثبت تغییر ایزوتایپ به ایزوتایپ IgA	۲	TGFB1, TNFSF13	۰/۰۲۰۳
GO:0006952	پاسخ دفاعی	۲۲	NT5E, AGBL5, CCL24, FXR2, NFKBIZ, TBK1, TMF1, ADAR, ATG7, BATF, CLDN7, FAM13B, IL17RC, JAGN1, LDLR, NFKB1, PELI1, PRDX1, PIK3R6, PARP9, PTGDR, PTGS1, SLC35C1, TGFB1, TRIM8	۰/۰۳۷۵
GO:0034714	اتصال به گیرنده‌های بتا فاکتور رشد تبدیل‌کننده نوع III	۲	TGFB1, TGFB2	۰/۰۲۴
GO:0005160	تبدیل اتصال گیرنده بتا به فاکتور رشد	۲	TGFB1, TGFB2	۰/۰۰۱۷۶

ژن *ADAMTS9* بر روی کروموزوم شماره ۳ قرارداشت که نقش سازگاری با شرایط محیطی دارد. برخی از این مناطق ژن‌ها به‌طور بالقوه در صفات مورفولوژیکی (*SOCS2*، *NCAPG/LCORL*، *MSRB3*)، رنگ پوست (*MC1R*) و سازگاری با شرایط محیطی (*ADAMTS9*) نقش دارند (۲۶). ژن *GNAQ* بر روی کروموزوم ۳ قرار داشت که نقش تولید مثلی دارد. در مطالعه‌ای که یورچنکو و همکاران (۳۳) روی ۱۵ نژاد گوسفند نژاد بومی انجام دادند مناطقی را شناسایی کردند که در بین این مناطق شناسایی‌شده، سیگنال‌های قدرتمندی از تمایز در مناطقی که حاوی ژن‌های شناخته‌شده به مورفولوژی، سازگاری و اهلی‌کردن (*KITLG*، *KIT*، *MITF*، *MC1R*)، کیفیت و کمیت پشم (*DSG2*، *DSC2*)، تولید مثل (*CMTM6*، *HTRA1*، *GNAQ*، *UBQLN1* و *IFT88*) مرتبط هستند. ژن *KITLG* بر روی کروموزوم ۳ قرار داشت که نقش تنظیم ملانوسیت‌ها را بر عهده دارد. فلاچ و همکاران (۶) بسیاری از نشانه‌های انتخاب در اطراف ژن‌های مرتبط در رنگ مو، چشم یا پوست را شناسایی کرده‌اند به‌طور خاص، چندین منطقه شناسایی‌شده شامل ژن‌های کاندیدا هستند که در رشد و مهاجرت ملانوسیت‌ها و رنگدانه‌سازی نقش دارند: *EDN3*، *KIT*، *KITLG*، *MC1R* و *MITF*. ژن‌های *BATF*، *TNFSF13*، *AICDA*، *MZB1* بر روی کروموزوم ۶ قرار داشتند و در تولید ایمونوگلوبولین نقش دارند. هیشیدا و همکاران (۱۰) در مطالعه‌ای که بر روی انسان در بیماری سرطان معده انجام دادند دریافتند که بیان ناهنجار *AICDA* تقریباً به‌عنوان یک جهش‌دهنده ژنومی عمل می‌کند که منجر به ایجاد تومور می‌شود. مکانیسم‌های بررسی شده که با استفاده از آنها *Batf* رونویسی ژن را در تکامل *CD4* سلول‌های T مؤثر انجام می‌دهد. این نتایج نقش مشارکتی *Batf*، *Ets1* و *Ctcf* را در سازماندهی مجدد کروماتین که پایه رونویسی سلول‌های *T* مؤثر است را مشخص می‌کند (۲۴). گاتیر و ویتالیس (۷) به این نتیجه رسیدند که *Mzb1* با تنظیم Ca^{2+}، ترشحات آنتی‌بادی و فعال‌سازی اینتگرین به تنوع عملکرد سلول‌های محیطی B-cell کمک می‌کند. با تجزیه و تحلیل بلات RNA، رونوشت‌های فراوان *Mzb1* می‌تواند در تمام رده‌های سلولی B تغییریافته صرف نظر از مرحله تمایز آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد. ژن‌های *TNFSF13*، *TGFB1* بر روی کروموزوم ۶ قرار داشتند و در تمایز سلولی نقش ایفا می‌کنند. در مطالعه‌ای که کلارک و همکاران (۳) انجام دادند بیان ژن‌های مورد مطالعه را در بافت‌های حاوی سلول‌های جوانه‌ای در گوسفند نشان می‌دهد که آن‌ها در میوز و تمایز سلولی نقش دارند. ژن‌های *AGBL5*، *ATG7*، *PRDX1* روی کروموزوم ۲۰ و ژن‌های *CCL26*، *IL17RC*، *TNFSF12*، *TGFB2* بر روی کروموزوم ۹ و ژن *PTGS1* بر روی کروموزوم ۲۲ قرار گرفته‌اند و در فرآیند ایمنی نقش دارند. الشاوی و همکاران (۱) دریافتند که *PARM1*، یک ژن پاسخ ایمنی ذاتی (*BTA6*)، که با فعالیت ضدآپوپتوز خصوصاً در مرحله باروری مرتبط است و *ATG7* (ژن پاسخ ذاتی *BTA22*) با فرآیند اتوفاژی مرتبط است. استرادا رییس و همکاران (۴) نشان دادند که چندین ژن از *CCL26* به‌عنوان نشانگر بالقوه برای مقاومت در برابر قرار گرفتن در معرض انگل داخلی هموناکوس کنتورتوس (نماتد) متعارف شناخته شدند. همچنین در مطالعه‌ای بیان نمودند که شناسایی سیتوکینین‌ها مانند *IL17RC* و *IL23A* ممکن است با مقاومت به انگل داخلی دستگاه گوارش همراه باشد (۲۳). ژن‌های *PRKAA1*، *NFKB1*، *MAP3K2* بر روی کروموزوم ۹ قرارداشتند و در پاسخ سلولی به تحریکات بیرونی نقش دارند. هو و همکاران (۱۱) در بین ژن‌های کاندیدای به‌دست‌آمده از داده‌های توالی‌یابی، لیستی از ژن‌ها (*SOCS2*، *NFKB1*، *CAMK2D*) را نشان دادند که به احتمال زیاد با سازگاری گوسفندان به ارتفاعات در ارتباط هستند. درمطالعه‌ای دریافتند که در صفات شیر، *PRKAA1* با درصد چربی همراه است و ممکن است در متابولیسم چربی مؤثر بر صفات تولید شیر در گاوها باشد (۳۲). ژن *DDX58* بر روی کروموزوم ۳ قرارداشت و در تولید اینترفرون آلفا نقش دارد. در پژوهش انجام‌شده محققین دریافتند که خوشه سوم ژن‌های القایی *LPS* (لیپوپلی ساکارید) در ماکروفاژها، خوشه ۶۴، حاوی زیرمجموعه‌ای از ژن‌های مؤثر ضدویروسی القایی *IFN* از جمله *DDX58*، *IFIT1*، *RSAD2* و *XAF1* است که از طریق موش و انسان القا می‌شوند (۳). ژن *CCL24*، *FAM13B*، *LDLR*، *CLDN7* بر روی کروموزوم ۲۲ قرارگرفته اند و در فرآیند پاسخ دفاعی نقش دارند در مطالعه‌ای که انجام شده مشاهده گردید که ائوزینوفیل‌های بالغ فعال‌شده و در پاسخ به شیمی درمانی مختلفی مانند *CCL11*، *CCL24* به محل عفونت مهاجرت می‌کنند (۴). ژن‌های *BAMBI*، *DVL2* بر روی کروموزوم ۵ قرارداشتند و در هموستاز سلولی نقش دارند. کانگ و همکاران (۱۴) در تجزیه و تحلیل شبکه و مسیر، برخی از مسیرهای متعارف اثبات‌شده در طی فرایند چربی‌سازی و یا فرآیند متابولیک لیپیدی را شناسایی کردند. ژن *PLCE1* بر روی کروموزوم ۷ قرارداشت که در تنظیم پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن نقش دارد. در مطالعه‌ای که محققین انجام دادند *PLCE1* با وزن کلی پروتئین در شیر همراه است و *SUFU* با سیستم پستانداران، تعداد سلول‌های سوماتیک و بقا همراه است (۳۲). ژن‌های *FXR2*، *HSPH1* بر روی کروموزوم ۱۲ قرارگرفته اند و در فرایند تنظیم پاسخ به استرس نقش دارند. در مطالعه‌ای چندین ژن را یافتند که در سازگاری حرارتی در ارتباط هستند (۳۳). نتایج تحقیق حاضر با استفاده از مجموعه متنوعی از نشانه‌های انتخاب منتشر شده در سراسر نژادهای گوسفند در سراسر جهان، رویکرد جدیدی را برای استنتاج نقاط مثبت نشانه‌های انتخاب در ژنوم گوسفند اجرا می‌کند. در مجموع، نتایج این تحقیق می‌تواند منبع اطلاعاتی باارزشی در جهت شناسایی ژن‌های متمایزکننده و شناسایی نواحی ژنومی کاندید برای بسیاری از صفات مهم اقتصادی موجود در برخی از گوسفندان جهان را فراهم آورد.

منابع

1. Alshawi, A., A. Essa, S. Al-Bayatti and O. Hanotte. 2019. Genome analysis reveals genetic admixture and signature of selection of productiviry and environment traits in Iraqi cattle. Frontiers in Genetics, 10: 609.
2. Chessa, B., F. Pereira, F. Arnaud, A. Amorim, F. Goyache, I. Mainland, R.R. Kao, J.M. Pemberton, D. Beraldi and M.J. Stear. 2009. Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations. Science, 324(5926): 532-536.
3. Clark, E., S.J. Bush, M.E.B. McCulloch, I.L. Farguhar, R. Yang, L. Lefever, C. Paridans, H.G. Tsang, C. Wu, C. Afraciabi, M. Watson, C.B. Whitelaw, T.C. Freeman, K.M. Summers, A.L. Archibald and D.A. Hume. 2017. A high resolution atlas of gene expression in the domestic sheep (ovis aries). Plos Genetics, 13(9): e1006997.
4. Estrada-Reyes, Z.M., O. Rae, C. Postley, M.B.J. Medranto, D.L. Gutierrez and R.G. Mateescu. 2019. Association study reveals th17, Treg and TH2 loci related to resistance to haemonchus controtus native sheep. Animal Science, 98(11): 1-22.
5. Fariello, M.I., S. Bertrand, T.K. Gwenola, R. Rachal, M. Carole, S.C. Magali and B. Simon. 2014. Selection signatures in worldwide sheep population. Plos one, 9(8): e103813.
6. Flach, H., M. Rosenbaum, M. Duchniewicz, S. Kim, S.L. Zhang, M.D. Cahalan, G. Mittler and R. Grosschedl. 2010. Mzb1 protein regulates calcium homeostasis antibody secretion, and integrin activation in innate like B cells. Cell Press, 33: 723-735.
7. Gautier, M. and R. Vitalis. 2012. Rehh: An R package to detect footprints of selection ingenome-wide SNP data from haplotype structure. Bioinformatics, 15(28): 1176-7.
8. Gholami, M., R. Christian, E. Malena, P. Rodolf, W. Annet, W. Stefen, S. Bertrand and S. Henner. 2015. Genome scan for selection in structured layer chicken population exploiting linkage disequilibriuminformation. Plos one, 10(7): e01300497.
9. Hayes, B.J., P.J. Bownman, A.J. Chamberlin and M.E. Goddard. 2009. Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. Journal of Dairy Science, 92(2): 433.
10. Hishida, A., K. Matsuo, Y. Goto, A. Hiraki, M. Naito, K. Wakai, K. Tajima and N. Hmajima. 2010. No association between AICDA 7888 C/T polymorphism, Helicobacter pylori seropositivity, and the risk of atrophic gastritis and gastric cancer in Japanese. Gastric Cancer, 13(1): 43-49.
11. Hu, X.J., J. Yang, X.L. Xie, F. Lv, Y.H. Cao, W.R. Li, M.J. Liu, Y.T. Wang, J.Q. Li, Y.G. Liu, Y.L. Ren, Z.Q. Shen, F. Wang, E. Hehua, J.L. Han and M.H. Li. 2018. The Genome ladscape of Tibetan sheep reveals adaptive Introgression from Argali and the history of early human settlements on the Qinghai-Tibetan plateau. Molecular Biology Evolution, 36(2): 283-303.
12. Jombart, T. and I. Ahmed. 2011. Adegenet 1.3-1: New tools for the analysis of genome-wide SNP data. Bioinformatics, 27(21): 3070-3071.
13. Jombart, T., S. Devillard and F. Balloux. 2010. Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured population. BMC genetics, 11: 94.
14. Kang, D., G. Zhou, S. Zhou, J. Zeng, X. Wang, Y. Jiang, Y. Yang and Y. Chen. 2017. Comparative transcriptome analysis reveals potentially novel roles Homeobox genes in adipose deposition in fat-tails sheep. Science Reports, 7: 14491.
15. Khanahmadi, A.R., G. Rahimi Mianji, H. Moradi Shahrbabak, S.H. Hafezian and M.B. Zandi Baghcheh Maryam. 2018. Genomic scan for detection of selective sweep in Turkmen horse Breed. Research on Animal Production, 9(19): 54-62 (In Persian).
16. Kijas, J.W., D. Townley, B.P. Dalrymple, M.P. Heaton, J.F. Maddox, A. McGrath, P. Wilson, R.G. Ingersoll, R.M.C. Culloch and S.M.C. William. 2009. A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds. PLoS One, 4(3): e4668.
17. Kijas, J.W. 2014. Haplotype-based analysis of selective sweeps in sheep. Genome, 57(8): 433-437.
18. Manzari, Z. 2016. Genomic scan of selection signatures in some sheep breeds and identification of candidate regions associated with fat deposition. MSc. Thesis. Tehran University, Karaj, Iran, 87 pp (In Persian).
19. Mohammadi, H. 2017. Genome-wide association study for identify candidate regions with some important economic related traits and genomic scan of selective sweeps in Zandi sheep breed. Ph.D. Thesis, Tabriz University, Tabriz, Iran, 151 pp (In Persian).
20. Moradi, M.H. 2012.Genomic scan of selection signatures in some sheep breeds and identification of candidate regions associated with fat deposition.Ph.D. Thesis, Tehran University, Karaj, Iran, 152 pp (In Persian).
21. MosaviKashani, S.M., G. Rahimi Mianji and H. Moradi Shahrbabak. 2018. Genome-wide scan for selection signatures in Iranian Sarabi and Taleshi Indigenous Breed. Research on Animal production, 9(20): 88-99 (In Persian).
22. Mousavizadeh, A., M.R. Mohammadabadi, A. Torabi, M.R. Nassiry and A.K. Esmailizadeh. 2009. Genetic polymorphism at the growth hormone locus in Iranian Talli goats by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). Iranian Journal of Biotechnology, 7: 51-53.

23. Onzima, R.B., M.R. Upadhyay, H.P. Doekes, L.F. Brito, M. Bosse, E. Kanis, M.A.M. Groenen and R.P.M.A. Crooijmans. 2018. Genome wide characterization of selection signatures and runs homozygosity in Ugandan goat breeds. Frontier in Genetics, 9: 318.
24. Pham, D., C.E. Moseley, D. Savic, C.J. Winstead, M. Sun, B.L. Kee, R.M. Myers, C.T. Weaver and R.D. Hatton. 2019. Batf pioneers the reorganization of chromatin in developing effector Tcells via Ets1-dependent Recruitment of Ctcf. Cell reports, 29: 1203-1220.
25. Ramasamy, A., A. Mondry, C.C. Holmes and D.G. Altman. 2008. Key issues in conducting a meta-analysis of gene expression microarray datasets. PLoS Medicine, 5(9): e184.
26. Rochus, C.M., F. Tortereau, F. Plissoon-petir, G. Restoux, C. Moreno-Romieux, G. Tosser-klopp and B. Servin. 2017. High density genome scan for selection signatures in French sheep reveals allelic heterogeneity and introgression at adaptive loci. BioRxiv, e103010.
27. Sabeti, P.C., P. Varilly, B. Fry, J. Lohmueller, E. Hostetter, C. Cotsapas and M. Faggart. 2007. Genome wide detection and characterization of positive selection in human populations. Nature, 449(7164): 913-918.
28. Soufy, B., M.R. Mohammadabadi, K. Shojaeyan, A. Baghizadeh, S. Ferasaty, N. Askari and O. Dayani. 2009. Evaluation of Myostatin gene polymorphism in Sanjabi sheep by PCR-RFLP method. Animal Science Researches, 19: 81-89.
29. Spampinato, A.G. and S. Cavallaro. 2016. Meta-analysis of genomic data: Between strengths, weaknesses and new perspective. International Journal of Biomedical Data Mining, 5(1): e1000117.
30. Tang, K., K.R. Thornton and M. Stoneking. 2007. A new approach for using genome scans to detect recent positive selection in the human genome. PLoS Biology, 5(7): e171.
31. Utsunomiya, Y.T., A.M.P. O`Brien, T.S. Sonstegard, C.P. Van Tassell, A.S. Do Carmo, G. Meszaros, J. Solkner and J.F. Garcia. 2013. Detecting loci under recent positive selection in dairy and beef cattle by combining different genome wide scan methods. PLOS One, 8(5): e64280.
32. Wang, H., L. Zhang, J. Cao, M. Wu, X. Ma, Z. Liu, R. Liu, F. Zhao, C. Wei and L. Du. 2015. Genome wide specific selection in three domestic sheep breeds. Plos one, 10(6): e0128688.
33. Yourchenko, A.A., T.E. Deniskova, N.S. Yudin, A.V. Dotsev, T.N. Khamiruev, M.I. Selinova, S.V. Egorov, H, Reyer, K. Wimmers, G. Berm, N.A. Zinovieva and D.M. Larkin. 2019. High-density genityping reveals signatures of selection related to acclimation and economically important traits in 15 local sheep breeds from Russia. BMC Genomics, 20(3): 294.
34. Zamani, P., M. Akhondi and M.R. Mohammadabadi. 2015. Associations of Inter-Simple Sequence Repeat loci with predicted breeding values of body weight in sheep. Small Ruminant Research, 132: 123-127.
35. Zhao, F.P., C.H. Wei, L. Zhang, J.S. Liu, G.K. Wang, T. Zeng and L.X. Du. 2016. A genome scan of recent positive selection signatures in three sheep populations. Journal of Integrative Agriculture, 15: 162-174.

Bioinformatics Analysis of Some Genomic Regions in Sheep Population Based on Meta-Analysis

Mehdi Bayeriyar[1], Seyyed Hasan Hafezian[2], Amir Hossein Khaltabadi Farahani[4], Ayoub Farhadi[3] and Hossein Mohammadi[4]

1- PhD. Student, Faculty of Animal and Aquatic science, Sari Agricultural Science and Natural Resources University, Sari
2- Associate Professor, Faculty of Animal and Aquatic Science, Sari Agricultural Science and Natural Resources University, Sari, (Corresponding author: hassanhafezian@yahoo.com)
3- Associate Professor, Faculty of animal and Aquatic science, Sari Agricultural Science and Natural Resources University, Sari
4- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Aatural Resources, University of Arak, Arak
Received: December 15, 2020 Accepted: February 20, 2021

Abstract

Selection to increase the frequency of new mutations useful only in some subpopulations leaves markers at the genome level. Most of these regions are related to genes and QTLs associated with significant economic traits. The aim of this study was to identify selection traits related to functional traits in the number of world's sheep using modern methods. For this purpose, genotyping files were used using genomic chips related to 1591 sheep from different breeds of the world, (Dryad، Frontiresin، Zenodo، Animal Genom، Hapmap) including 52 breeds from 20 countries on all continents, and 13 studies were stored in various genomic databases. First, to determine the population mixing between different breeds from regions with different climatic conditions, population structure analysis or population stratification was carried out. Fst, hapflk, iHs, Rsb, XpEHH tests were used to identify the selection signatures, and finally, a meta-analysis of the above methods was used. The population was divided into three groups by PCA analysis: AIT: Asian, Turkish and African breeds, AUNZ: Australian and New Zealand breeds, and EU: European breeds. Based on the meta-analysis test, 10 genus regions were identified on chromosomes 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 12, 20, 22. For example, the MC1R gene is associated with skin color, the DSG2 gene with the quality and quantity of wool, and the AICDA gene with the production of immunoglobulin. Bioinformatics analysis showed that some of these gene regions are directly and indirectly associated with genes affecting environmental adaptation (ADAMTS9), reproduction (GNAQ), melanocyte regulation (KITLG), and immunoglobulin production (BATF, TNFSF13, AICDA, MZB1), Cell differentiation (TNFSF13, TGFB1), Immune process (AGBL5, ATG7, PRDX1, CCL26, IL17RC, TNFSF12, TGFB2, PTGS1), Cellular response to external stimulation, NKK1, PRF3 (PR) Interferon alpha (DDX58), defense response process (CCL24, FAM13B, LDLR, CLDN7), cellular homeostasis (BAMBI, DVL2), regulation of mitogen-activated protein kinase (PLCE1) and regulation of stress response (FXR2, HSPH1). Comparative analysis of meta-analysis of selection cues based on bioinformatics databases can identify selected genomic regions for traits of economic and biological importance in sheep.

Keywords: Genomic scan, Meta-analysis, Population mixing, Selection signature

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

واکاوی ترانسکریپتوم بافت پستانی جهت شناسایی ژن‌های عمده اثر در فرآیند تولید شیر

سعیده اسکندری نسب[۱]، زهرا رودباری[۲] و محمدرضا محمدآبادی[۳]

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران، (نویسنده مسوول: roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir)
۳- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۲
صفحه: ۱۶۰ تا ۱۶۶

چکیده

تولید شیر یکی از مهم ترین صفات اقتصادی در صنعت پرورش گاو شیری است که توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شود و تابعی از فعالیت سلول‌های اپیتلیال می‌باشد که تحت تأثیر چندین مسیر بیولوژیکی و اثر متقابل ژن‌های مختلف و بیان ژن‌ها می‌باشند. بیان ژن فرایندی است که در آن از اطلاعات درون ژن استفاده می‌شود تا یک محصول کاربردی از آن به دست آید، همچنین یکی از مسائل بنیادی است که کمک می‌کند تا ژنوتیپ به صورت فنوتیپ ظاهر شود. هدف از این مطالعه شناسایی ژن‌های مؤثر بر تولید شیر و رسم شبکه ژنی ژن‌های مورد مطالعه جهت شناسایی ژن‌های عمده اثر برای فهم بهتر مکانیسم تولید شیر با استفاده از بررسی الگوی بیان ژن طی بررسی‌های بیوانفورماتیکی می‌باشد. در این مطالعه به منظور شناسایی ژن‌ها با بیان متفاوت در بافت پستان گاو شیری، داده‌های بیان ژن مربوط به بافت پستانی با شماره دسترسی GSE33680 از بخش GEO بانک اطلاعاتی NCBI استخراج گردید. بررسی کیفیت داده‌ها با استفاده از بسته Limma موجود در نرم‌افزار R و با استفاده از روش تحلیل مؤلفه‌های اساسی انجام شد. به منظور بررسی عملکرد ژن‌ها با بیان متفاوت از نرم‌افزار DAVID استفاده شد. پس از شناسایی ژن‌های هدف به پایگاه داده‌ای STRING ارائه شدند، جهت تبین نقش ژن‌ها از نرم‌افزار Cytoscape استفاده شد. در این مطالعه نتایج تجزیه تفاوت بیان ژن‌ها منجر به شناسایی ۱٤۰۲۰ ژن شد که بر اساس آماره Fold change و adj p-Value تعداد ٤۰۹ ژن افزایش بیان و ۳۲٦ ژن کاهش بیان داشتند. از جمله مسیرهای بیولوژیکی شناخته شده مؤثر بر تولید شیر NF-KB signaling, Glycerolipid metabolism, EGFR1, IL6, B cell receptor می‌باشند. مهم‌ترین ژن‌ها براساس درجه ارتباط با ژن‌های دیگر و مرکزیت درونی و بیرونی ژن‌های MYC، KRAS، HSPA8، ATP5B، SRC، JAK1 و FOXA2 می‌باشند که نقش آن‌ها در تنظیم تولید شیر در گزاراشات متعددی به اثبات رسیده است.

واژه‌های کلیدی: پروفایل بیانی، تولید شیر، ژن‌های کاندیدا، شبکه ژنی

مقدمه

انتخاب ژنتیکی دام‌ها به منظور بهبود عملکرد صفات اقتصادی امری زمان‌بر است و راهکار مناسب برای بهبود این صفات، جستجوی ژن‌هایی است که به طور مستقیم یا غیر مستقیم بر روی صفات تاثیر دارند تا بتوان از اطلاعات ژنومی در کنار رکوردهای فنوتیپی برای براورد دقیق ارزش‌های اصلاحی استفاده نمود (۲۳). هدف از بهبود ژنتیکی دام‌های اهلی، افزایش سطح ژنتیکی صفات مورد علاقه در جامعه از طریق اصول ژنتیکی است (۱۱)، همچنین هدف اصلی از افزایش تولید، افزایش سرمایه و سود حاصل از فروش محصولات و درآمد ناخالص بیشتر در کارهای تولیدی می‌باشد و گاوداری از این امر مستثنی نمی‌باشد (۱۱). یکی از صفات تولیدی صفت تولید شیر است که در صنعت پرورش گاو شیری مورد توجه قرار گرفته است. این صفت یک صفت کمی می‌باشد که توسط ژن‌های زیادی کنترل می‌شوند. با وجود اینکه علم ژنتیک کمی با بهره‌گیری از علوم مختلفی همچون ریاضیات، آمار، ژنتیک، کامپیوتر، اقتصاد در طی دوران متوالی در دهه‌های اخیر پیشرفت‌های زیادی در زمینه اصلاح نژاد دام آفریده است، با این حال استفاده از روشهائی که بتواند منجر به افزایش صحت و بازده انتخاب گردد، همواره مورد توجه بوده است (۸). شیر از دیرباز به عنوان غذایی کامل و تأمین‌کننده بخشی از نیازهای تغذیه‌ای روزانه انسان مورد توجه بوده و دارای ترکیبات مهمی هستند که در صنایع فرآوری شیر و تکنولوژی تولید محصولات شیری اهمیت به سزایی دارند (۳). مصرف شیر و فراورده‌های آن به ویژه فراورده‌های تخمیری، منجر به افزایش طول عمر، افزایش بازده جسمی و فکری، کاهش بیماری‌های عفونی، بیماری‌های استخوانی و رشد مطلوب کودکان و نوجوانان می‌شود (۲۶). شیر گاو ماده اساسی محصولات لبنی است و به عنوان منبع خوب کلسیم شناخته شده است و اغلب به علت نقشی که در استحکام و تراکم استخوان‌ها دارد، مورد توجه است (۳۲). شیر گاو ترکیبی از چربی‌ها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و هورمون‌هاست که همگی توسط فرآیند تکاملی طبیعت به گونه‌ای تناسب بندی شده‌اند که یک گوساله را در طول چند ماه به وزن چند صد کیلو برساند، بنابراین دور از انتظار نیست که مصرف شیر برای انسان مزایایی به همراه داشته باشد (۱۳). یکی از ابزارهای مورد استفاده در مطالعه‌ی عوامل ژنتیکی مؤثر بر صفات اقتصادی، شناسایی ژن‌های موثر بر آن‌هاست که به عنوان مارکرهای مولکولی در اصلاح نژاد اهمیت ویژه‌ای دارند (۲۰). بیان ژن همچنین فرایندی است که در آن از اطلاعات درون ژن استفاده می‌شود تا یک محصول کاربردی از آن به دست آید. ساز و کار بیان ژن

اولین بار در باکتری Ecoli کشف شد. مقدار محصولات ژن که در همان بافت و نیز در سایر بافت‌هایی که آن محصول را می‌سازند، ساخته شده سبب تنظیم بیان آن ژن می‌شود (۱۹). بیان ژن یکی از زمینه‌های اصلی برای بررسی عملکرد ژنومی هست که شامل جریان اطلاعات ژنتیکی از DNAی ژنومی و در نهایت تولید پروتئین عملکردی است و میزان فعالیت ژن‌های متعدد را به طور هم‌زمان برای ایجاد تصویری جامع از عملکرد سلول را نشان می‌دهد (۱۰). تنظیم بیان ژن به سلول این امکان را می‌دهد تا بتواند ساختار و کاربرد خود را کنترل کند و همچنین یکی از مسائل بنیادی است که کمک می‌کند تا ژنوتیپ به صورت فنوتیپ ظاهر شود. در واقع کدهای ژنتیکی که در رشته‌های DNA ذخیره شده‌اند به وسیله بیان ژن تفسیر می‌شوند و خصوصیات و نحوه بیان ژن، باعث به وجود آمدن فنوتیپ خاص در موجودات زنده خواهد شد (۱۰). اغلب آزمایش‌های پروفایل بیان ژن براساس اندازه‌گیری مقدار نسبی mRNA در شرایط محیطی متفاوت می‌باشد که این کار به دلیل تغییر توالی mRNA می‌باشد، این تغییر باعث کد کردن پروتئین مربوطه شده که نشان دهنده یک پاسخ هموستاتیکی می‌باشد (۷). شبکه‌های ژنی یکی از مهم‌ترین ابزارهای بیوانفورماتیکی در شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده صفات و مسیرهای بیولوژیکی می‌باشند. در این شبکه‌ها به کمک الگوریتم‌های مختلفی روابط بین ژن‌ها بررسی می‌شود و به این ترتیب می‌توان ژن‌هایی که در بالا دست سایر ژن‌ها قرار دارند و بیان آن‌ها را کنترل می‌کنند و یا تحت تأثیر قرار می‌دهند، را جستجو کرد (۳۱). هدف از این مطالعه شناسایی ژن‌های مؤثر بر تولید شیر و رسم شبکه ژنی ژن‌های مورد مطالعه جهت شناسایی ژن‌های هاب[1] برای فهم بهتر مکانیسم تولید شیر با استفاده از بررسی الگوی بیان ژن طی بررسی‌های بیوانفورماتیکی می‌باشد. به این ترتیب در این مطالعه با توجه به اهمیت تولید شیر به بحث و بررسی این مقوله پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر به منظور شناسایی ژن‌ها با بیان متفاوت در بافت پستان گاو شیری، پروفایل بیان ژن مربوط به بافت پستانی ۸ گاو شیری پرتولید و کم تولید با شماره دسترسی GSE33680 از بخش GEO بانک اطلاعاتی NCBI با فرمت TXT استخراج گردید. بیان ژن‌ها با استفاده از پلت فرم GPL11648 Agilent-023647 B. Taurus (Bovine) Oligo Microarray اندازه‌گیری شده بودند. در جدول ۱ شماره دسترسی نمونه استفاده شده در مطالعه حاضر آورده شده است.

جدول ۱- شماره دسترسی نمونه بافت پستانی

Table 1. Breast tissue sample access number

نوع دام	شماره دسترسی
گاو شیری کم تولید	GSM832716
گاو شیری پر تولید	GSM832717
گاو شیری کم تولید	GSM832718
گاو شیری پر تولید	GSM832719
گاو شیری کم تولید	GSM832720
گاو شیری پر تولید	GSM832721
گاو شیری کم تولید	GSM832722
گاو شیری پر تولید	GSM832723

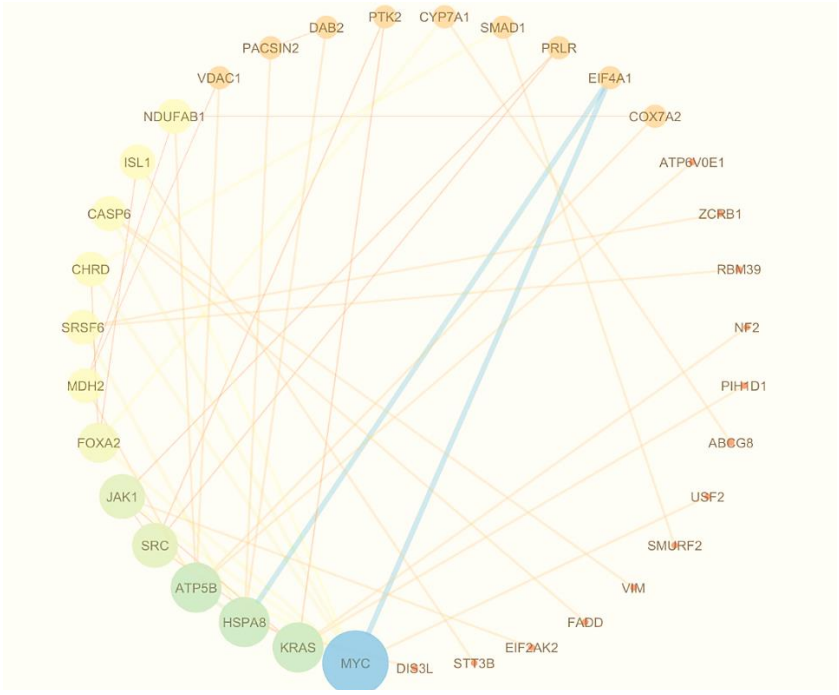
قبل از آنالیز بیان ژن‌ها کیفیت داده‌ها باید بررسی شود و برای این کنترل کیفیت داده‌ها با استفاده از بسته آماری Limma موجود در نرم‌افزار R و با استفاده از روش تحلیل مؤلفه‌های اساسی (PCA=Principle Component Analysis) انجام شد. تحلیل مؤلفه‌های اساسی روشی برای استخراج مؤلفه‌های اساسی از مجموعه بزرگی متغیرهای موجود در یک مجموعه داده است. ریزآرایه‌ها به طور معمول مجموعه‌ی شناساگری دارند که یک ژن را معرفی می‌کنند. در بسیاری از مطالعات از گرفتن میانگین اعداد بیان ژن و یا از بزرگترین عدد بیان به عنوان شاخص بیان آن مجموعه شناساگر استفاده می‌شود که معیارهای دقیقی برای انتخاب عدد بیان نیستند (۸). در مطالعه حاضر از بین شناساگرهای مختلف معرفی کننده‌ی یک شناسه‌ی ژن، شناساگری با بزرگترین و کوچکترین عدد در محدوده‌ی چارکی (IQR) به عنوان عدد بیان آن ژن انتخاب شد. به منظور کاهش خطا ژن‌هایی که بیان متوسطی داشتند حذف گردیدند. در ادامه ژن‌ها با افزایش بیان و کاهش بیان براساس پارامترهای (1< fold Chang >-1) و (Adj P-Value < 0.05) انتخاب شدند. ژن‌هایی که پس از تحلیل به صورت معنی‌داری تفاوت بیان داشتند، وارد پایگاه داده‌ای آنلاین DAVID شدند تا با طبقه‌بندی گروه‌های هستی‌شناسی ژن بتوان دید جامع‌تری از ژنومیکس عملکردی آن‌ها به دست آورد. این پایگاه با اتصال به پایگاه‌های دیگر مانند GO ، KEGG، Wikipathway به بررسی عملکردی و مسیرهای متابولیکی ژن‌های معنی‌دار می‌پردازد (۱۱). پس از شناسایی ژن‌های هدف ژن‌ها به پایگاه داده‌ای STRING ارائه شدند و با هدف دست‌یابی به آماره‌های شبکه و مصور سازی شبکه و تبیین نقش ژن‌ها در شبکه ژنی، خروجی STRING به نرم‌افزار Cytoscape ارائه شد و پس از آنالیز شبکه و مشخص شدن آماره‌های شبکه از نوار ابزار APP گزینه CYTONCA شبکه براساس درجه ارزش ژن و مرکزیت بینابینی ویرایش شد. به این ترتیب از نظر ارزش، گره‌های بزرگ نشان‌دهنده ژن‌هایی هستند که درجه کنترل کنندگی بیشتری در شبکه دارند و از نظر مرکزیت بینابینی

1- Hub Gene

گره‌های با رنگ روشن‌تر نشان‌دهنده‌ی تأثیر کمتر آن‌ها بر سایر ژن‌ها می‌باشد.

نتایج و بحث

برای افزایش تولید شیر، علاوه بر روش‌های نوین مدیریت، بهداشت و تغذیه، استفاده از روش‌های علمی اصلاح نژاد به همراه تکنیک‌های ملکولی نیز ضروری می‌باشد. هدف اصلی اصلاح نژاد گاو شیری افزایش توانایی و همچنین راندمان تولید در حیوانات گله از طریق پیشرفت ژنتیکی برای صفات مهم اقتصادی است (۱۴). صفت تولید شیر و ترکیبات آن در دام‌های شیری به وسیله تعداد زیادی ژن که اثر برخی از آن‌ها زیاد و اثر برخی دیگر کم می‌باشد، کنترل می‌شود. اگر چه تعداد ژن‌های مؤثر بر تولید شیر نامشخص است، اما تعدادی ژن عمده اثر بر روی این صفات شناسائی شده است (۲۱). مطالعه روی ژن‌های مؤثر در فرایندتولید شیر می‌تواند گامی مهم جهت توسعه انتخاب به کمک نشانگر و تدوین برنامه‌های اصلاح‌نژادی برای بهبود این صفت در صنعت تولید شیر به شمار آید (۶،۵). در مطالعه حاضر برای درک بهتر شبکه تنظیمی درگیر در تولید شیر ابتدا ژن‌هایی با بیان متفاوت در هشت نمونه بافت پستانی گاو شیری استخراج گردید داده‌های حاصل شده داده‌های خام می‌باشند، بنابراین در مرحله اول با روش مؤلفه‌های اساسی (PCA) کیفیت داده‌ها کنترل شد در این روش برای کاهش متغیرها نسبت به متغیرهای اساسی به کار می‌رود. نتایج آنالیز تفاوت بیان ژن‌ها منجر به شناسایی ۱۴۰۲۰ ژن شد که بر اساس آماره Fold change و adjp-Value تعداد ۴۰۹ ژن افزایش بیان و ۳۲۶ ژن کاهش بیان داشتند. ژن‌های شناسایی شده به نرم‌افزار DAVID معرفی شدند و سپس ژن‌هایی که بیشترین نقش بر روی تولید و ترکیب شیر داشتند براساس نتایج نرم‌افزار DAVID در بخش مسیرهای بیولوژیکی وگروه‌های هستی شناسی شناسایی شدند. جهت ترسیم شبکه ژن های شناسایی شده به پایگاه داده‌ای STRING ارائه شدند و در نهایت برای مصور سازی شبکه ترسیم شده وارد نرم‌افزار Cytoscape شد. نتایج David منجر به شناسایی مسیرهای بیولوژیکی مؤثر بر تولید شیر تحت عنوان IL6، EGFR1، B cell receptor، NF-KB signaling و Glycerolipid metabolism شد. مسیر سیگنالدهی B cell receptor لنفوسیت B از سیستم ایمنی بدن هستند که نقش اصلی آن تولید پادتن علیه آنتی ژن‌ها می‌باشد و برای رشد مناسب B، فعال‌سازی، تکثیر، تمایز و پاسخ ایمنی هومورال بسیار مهم است (۲۴). یک مسیر بیولوژیکی مرتبط با تولید شیر مسیر IL6 می‌باشد، از مهم‌ترین اینترلوکین‌های بدن است که از گلبول‌های سفید ترشح می‌شود و در ایمنی و تولید پادتن‌ها و تولید شیر نقش مهمی دارد و میزان بیان آن در اواخر دوره شیردهی بیشتر است اینترلوکین۶ در افزایش کربوهیدرات و پروتئین‌های شیر نقش مهمی دارد (۱۸). مسیر دیگرمعنی‌دار مرتبط با تولید شیر را می‌توان Glycerolipid metabolism نام برد که در مطالعات قبلی ارتباط معنی‌داری با صفات مرتبط با تولید شیر در نژادهای مختلف گوسفندان شیری داشته است (۹). از دیگرمسیرهای زیستی مهم و معنی‌دار شده, مسیر EGFR1 می‌باشد که نقش یک گیرنده برای فاکتور رشد اپیدرمی با لیگاند خارج سلولی عمل می‌کند این پروتئین نوعی تیروزین کیناز است که که در رشد و متابولیسم سلول‌های غدد پستان نقش زیادی دارد (۲۲). NF-KB signaling یک مسیر بسیار مهم در تولید شیر است که طبق آزمایش Wu و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام دادند، نشان داده شده که ۷۰ ژن روی سیگنالدهی این مسیر تأثیر دارند (۲۹). همچنین، این مسیر در فعال‌سازی مسیر MAPK هم مؤثر است که یکی از مسیرهای خیلی مهم در تولید شیر است (۴). مسیر MAPK یکی از کلیدی‌ترین تنظیم کننده‌های تمایز سلول‌های اپیتلیال پستان است. این مسیر سیگنالدهی بر تکثیر سلول‌های آلوئل تأثیرگذار می‌باشد و افزایش انشعابات را کنترل می‌کند ودر انتها سبب افزایش ترشح و تولید شیر می‌شود(۲۵). تولید شیر یکی از فرایندهای بیولوژیکی است که ژن‌های زیادی روی آن تأثیر می‌گذارند این ژن‌ها شامل ژن‌های کد کننده مولکول‌های مؤثر بر مسیرهای سیگنالدهی برون سلولی که در انتقال اطلاعات دخالت دارند (۲۷). بررسی ارتباطات این ژن‌ها به کمک مطالعات شبکه‌های ژنی، کمک می‌کند تا به ژن‌های اصلی کنترل‌کننده تولید شیر نزدیک شده و ژن‌های مؤثری را شناسایی کرد که قابلیت استفاده در اصلاح نژاد دام به منظور بهبود تولید شیر به کمک روش انتخاب بر اساس ژن‌ها و یا روش انتخاب ژنومی را دارند (۲). در این مطالعه سعی شده است ژن‌های مؤثر بر تولید شیر مورد بررسی قرار گیرد و پس از شناسایی ژن‌های کنترل کننده، این ژن‌ها به عنوان ژن‌هایی که احتمالا نقش کلیدی‌تری در تولید شیر دارند، برای بررسی فنوتیپ مورد مطالعه قرار گیرند. در شکل ۱ شبکه ژن‌های مورد مطالعه آورده شده است. روش‌های اصلی و برنامه‌های کاربردی در آنالیز شبکه به سه موضوع اصلی جهت تفسیر فنوتیپ‌های پیچیده می‌پردازند. نخستین جنبه، شناسایی اهمیت هر گره در شبکه است که مهمترین ژن‌های شبکه و همچنین کم اهمیت‌ترین ژن‌ها تعیین می‌شود. جنبه دیگر، شناسایی ژن‌های کلیدی‌تر در کل شبکه است که با اندازه‌گیری ارتباطات مستقیم یک ژن با سایر ژن‌ها و توجه به کل ارتباطات شبکه بدست می‌آید. برخی از پارامترها کمک می‌کنند تا از میان تمام ژن‌های شبکه، آن‌هایی که عامل اصلی ارتباط داخل شبکه هستند شناسایی شوند. آماره‌ای به نام مرکزیت بینابینی یا میانی در شبکه برای هر گره تعریف می‌شود. این پارامتر نشان می‌دهد گره‌هایی که دارای همسایگان نیز می‌باشد دارای رتبه بالاتری است. آماره بعدی که در تشخیص ژن‌های مؤثر در شبکه به کار می‌رود مرکزیت درونی می‌باشد. این پارامتر به تعداد گره‌هایی اشاره دارد که در نزدیکترین فاصله نسبت به گره مورد نظر قرار دارد و به سرعت می‌توانند با سایر گره‌ها ارتباط برقرار کنند (۱۲). نقش اکثر ژن‌های مذکور در تنظیم تولید شیر در گزاراشات متعددی به اثبات رسیده است که در ادامه به برخی از آن‌ها اشاره شده است.



شکل ۱- آنالیز شبکه ژنی بازسازی شده توسط ژن‌های مؤثر بر فرآیند تولید شیردر نرم‌افزار Cytoscape که اندازه گره‌ها ازبزرگ به کوچک نشان‌دهنده افزایش ارزش آن‌ها در تولید شیر می‌باشد و یال های بین گره‌ها نشان‌دهنده اثر متقابل بین ژنی می باشد.

Figure1. Analysis of gene interaction network for genes affecting in the milk production. the size of nodes from large to small indicates an increase in their value in milk production and edges between them represent the interactions between the genes.

جدول ۲- ژن‌هایی با بیشترین اثرکنترل‌کنندگی بر فرآیند بیولوژیکی تولید شیر

Table 2. Genes with the most controlling effect on the biological process of milk production

ژن‌های موثر	درجه	مرکزیت میانی	مرکزیت درونی
MYC	۹	۲۱۷۱/۲۸	۰/۷۴
KRAS	۶	۱۶۳۱/۵۶	۰/۱۴
HSPA8	۶	۷۲۵/۸۰	۰/۵۵
TP5B	۶	۴۲۴/۳۵	۰/۴۹
SRC	۵	۷۳۶/۲۴	۰/۰۵
JAK1	۵	۱۵۲/۰۸۲	۰/۰۸
FOXA2	۴	۳۶۴/۱۲۲	۰/۱۱

یکی از اقداماتی مرتبط با صفت مورد نظر مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفت اقتصادی و مطالعه آن‌ها در سطح سلولی و کروموزومی است. در پژوهش کنونی، بررسی بیشتر ژن‌های دارای اثر تنظیم شوندگی بالاتر و معنی‌دار در مسیر تولید شیر منجر به شناسایی ۷ ژن تاثیرگذار بر فرآیند بیولوژیکی تولید شیر شد که بصورت مختصر مورد بحث قرار گرفته‌اند. اولین ژن مطرح در شبکه ژن *MYC* با درجه پیوند ۹ می‌باشد که در مسیرهای سیگنالدهی استروژن و *NF-KB* فعال است این مسیرها در رشد و نمو غده پستان مؤثرند نقش دارد. *MYC* به عنوان یک فعال کننده رونویسی RNA پلیمراز II برای مجموعه بزرگی از ژن‌های هدف عمل می‌کند و از این طریق بر چرخه سلول، رشد سلول، متابولیسم، مرگ سلولی، چسبندگی سلول و سایر عملکردهای سلول تأثیر می‌گذارد با توجه به تأثیری که بر روی مسیرهای سیگنالدهی، هورمون‌ها و موارد دیگر که اشاره شد به احتمال زیاد *MYC* نقش مهمی در رشد غده پستان دارد (۲۸). ژن *KRAS* با درجه پیوند ۶ بعنوان یک GTPase معروف است و در سیگنالینگ سلولی و تکثیر سلول‌های اپیتلیال نقش دارد (۱۵). ژن دیگری که نتایج این تحقیق به مؤثر بودن آن در تولید شیر اشاره دارد، ژن *HSPA8* است که طبق آزمایشی که Li و همکاران در سال ۲۰۱۶ جهت شناسایی مهم‌ترین ژن‌های پروتئین شیر گاو هلشتاین انجام دادند، نشان داده‌اند که ژن *HSPA8* یکی از ژن‌های مهم شناخته شده مؤثر بر پروتئین شیر می‌باشد (۱۶). ژن *Src* با درجه پیوند ۵ به عنوان یکی از ژن‌های مهم تأثیرگذار بر صفت تولید شیر می‌باشد که این ژن گیرنده پرولاکتین می‌باشد که یک ژن مهم در تولید و ترکیب شیر می‌باشد. همچنین در رشد سلول‌های آلوئل، تنظیم رونویسی، بیان بتا کازئین که یک ژن اساسی در تولید شیر می‌باشد و ترجمه ژن‌های شیر نقش دارد (۱۷). این ژن بر روی تولید شیر نقش مهمی دارد در آزمایشی که Liu و

همکاران انجام دادند مشخص کردند که حذف این ژن از موش‌های ماده منجر به نارسایی تولید شیر می‌شود (۱۷). ژن *JAK1* با درجه پیوند ۵ تنظیم کننده اصلی تکثیر سلول‌های آلوئل و تمایز سلول‌های غدد پستانی می‌باشد (۱). ژن دیگری که در شبکه بیانی جزء ژن‌های اصلی قرار گرفت و آخرین ژن مطرح ژن *FOXA2* با درجه پیوند ۴ می‌باشد که در سنتز چربی شیر نقش مهمی دارد (۳۰).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به اهمیت بیان و عملکرد ژن‌های مؤثر بر تولید شیر که در بسیاری از مطالعات دیگر هم نقش آن‌ها بر تولید شیر مشخص شده است و همچنین میزان عملکرد و بیان ژن‌ها در مطالعه حاضر، خصوصا ژن‌های *MYC*، *KRAS*، *HSPA8*، *ATP5B*، *SRC*، *JAK1* و *FOXA2* که طی آنالیزهای بیوانفورماتیکی به اهمیت تنظیمی و میزان ارتباط آن‌ها در شبکه ژنی به دست آمده در این پژوهش پی برده شد، می‌توان نتیجه گرفت این ژن‌ها در فرایند تولید شیر نقش دارند و می‌توان در برنامه اصلاح نژادی از این ژن‌ها جهت افزایش تولید شیر استفاده کرد و در جهت بهبود صفت مورد نظر میزان بیان آنها را با روش‌های مناسب سلولی و مولکولی و یا با استفاده از روش‌های اپی ژنتیک تنظیم نمود.

منابع

1. Arun, S.J., P.A. Thomson, M.S. Khatkar, H.W. Raadsma and P. Williamson. 2015. Targeted analysis reveals an important role of JAK-STAT-SOCS genes for milk production traits in Australian dairy cattle. Frontiers In Genetics, 6: 342-354.
2. Bao, Z., J. Lin, L. Ye, Q. Zhang, J. Chen, Q. Yang and Q. Yu. 2016. Modulation of mammary gland development and milk production by growth hormone expression in GH transgenic goat. Frontiers in Physiology, 7: 74-79.
3. Bionaz, M. and J.J. Loor. 2008. Gene networks driving bovine milk fat synthesis during the lactation cycle. BioMedCentral Genomics, 9(1): 366.
4. Biranvad, Z., M. Ghaderi-Zefrehei, S.Z. Mirhoseini, S.H. Hosseinimoghaddam and A. Fazeli. 2019. Bioinformatics study of the role of microRNAs bta-mir-146a, bta-mir 21-5p, bta-mir-181 and bta-mir-16a in the cellular signaling pathways of mastitis in dairy cows. Agricultural Biotechnology Journal, 11(1): 1-24.
5. Buitenhuis, A., U. Sundekilde, N. Poulsen, H. Bertram, L. Larsen, P .Sørensen. 2013. Estimation of genetic parameters and detection of quantitative trait loci for metabolites in Danish Holstein milk. Journal of Dairy Science, 96(5): 3285-95.
6. Dehghanzadeh, H., S.Z. Mirhoseini, M. Ghaderi-Zefrehei, H. Tavakoli and S. Esmaeilkhaniyan. 2019. Clustering of a Number of Genes Affecting in Milk Production using Information Theory and Mutual Information. Research On Animal Production (Scientific and Research), 10(23): 117-132.
7. Gao, Y., X. Line, K. Shin, Z. Yan and Z. Wang. 2013. Bovine mammary gene expression profiling during the onset of lactation. Plost One, 8(8): e700393.
8. Gentleman, R., V. Carey, W. Huber, R. Irizarry and S. Dudoit. 2006. Bioinformatics and computational biology solutions using Rand Bioconductor. Stat Papers, 50: 453-454
9. Gerlando, R., A.M. Sutera, S. Mastrangelo, M. Tolone, B. Portolano, G. Sottile, A. Bagnato and M.T. Strillacci. 2019. Genome-wide association study between CNVs and milk production traits in valle del Belice sheep. PLoS ONE, 14: e0215204.
10. Gottesfeld, J.M. and C.F. Barbas. 2003. RNA as a transcriptional Activator. Chemistry and Biology, 10(7): 584-595.
11. Goujon, M., H. Mcwilliam, W. Li, F. Valentin, S. Squizzato, J. Peam and R. Lopez. 2010. A new bioinformatics analysis tools framework at EMBL-EBI. Nucleic acids Research, 38(2): 695-699.
12. Huang, D.W. and R.A. Sherman. 2009. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. Nature Protocols, 4: 44-57.
13. Kharrati, K.H., M.R. Mohammdabadi, M.S. Ansari, A.K. Esmailizaeh, A. Tarang and M. Nikbakhti. 2012. Effect of DGATI variants on milk composition traits in Iranian Holstein cattle population. Animal Science Paper and Report, 30(3): 231-239.
14. Kamel, K., S.H. Hafezian and M. Gholizadeh. 2019. Estimation of Genetic Parameters for Production and Reproduction Traits of Holstein Cows of Mazandaran Province using Bayesian Approach. Research On Animal Production (Scientific and Research), 10(25): 104-111.
15. Koyaljuk, N.V., V.F. Satsuk, A.E. Volchenko and E.V. Machulskaia. 2015. LEP gene allelic polymorphism in a subpopulation of Ayrshire cattle. Russian Journal of Genetics, 51(2): 214-217.
16. Li, C., W. Cai, C. Zhou, H. Yin, Z. Zhang, J.J. Loor and S. Zhang. 2016. RNA-Seq reveals 10 novel promising candidate genes affecting milk protein concentration in the Chinese Holstein population. Scientific Reports, 6: 26813.
17. Liu, W., J. Wang, Q. Li, Z. Ju, J. Huang, H. Wang and C. Wang. 2010. Correlation analysis between three novel SNPs of the Src gene in bovine and milk production traits. Molecular Reports, 37(8): 3771-3777.

18. Miles, M., S.D. Pearson, J.M. Andring, J.R. Kidd and S.L. Volpe. 2007. Effect of carbohydrate intake during recovery from eccentric exercise on interleukin-6 and muscle damage markers. Internation Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, 17(6): 507-520.
19. Mohammadabadi, M.R. and F. Tohidinejad. 2017. Charachteristics determination of Rhrb gene and protein in Raini Cashmere. Iranian Journal of Applied Animal Science, 7(2): 289-295.
20. Molinelli, E.J., W. Korkut, M.L. Wang, N.P. Miller and X. Gauthier. 2013. Perturbation biology inferring signaling networks in cellular systems PLoS Computational Biology, 9(12): 1003-1017.
21. Ogorevc, J.T. Kunej, A. Razpet and P. Dovc. 2009. Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. Animal Genetics, 40: 832-851.
22. Osinska, E., Z. Wicik, M.M. Godlewski, K. Pawlowski, A. Majewska and J. Mucha. 2014. Comparison of stem /progenitor cell number and transcriptomic profile in the mammary tissue of dairy and beef breed heifers. Journal of Applied Genetics, 55(3): 383-395.
23. Pimental, G., S. Bauersachs, M. Tietze, H. Simianer, G. Thaller, F. Reinhardt, E. Wolf and S. Konig. 2011. Exploration of relationships between production and fertility traits in dairy cattle via association studies of SNPs within candidate genes derived by expression profiling. Animal Genetics, 42(3): 251-262.
24. Sanchez, L., M. Calvo and J.H. Brock. 1992. Biological role of lactoferrin. Archive of Disease in Childhood, 67(5): 657-670.
25. Skandarynasab, S., Z. Roudbari and M.R. Bahreini Behzadi. 2019 Analysis of the expression profile of microRNA in cattle Mammary gland to identify the biological pathways involved in the milk production. Veterinary Researches and Biological Products, 128: 49-58 (In Persian).
26. Sundekilde, U.K., L.B. Larsen and H.C. Bertram. 2013. NMR-Based milk metabolomics. Metabolites, 3: 204-222.
27. Tohidi, F., M.R. Mohammadabadi, A.K. Esmailizadeh and A. Najminoori. 2015. Comparison of different levels of rheb gene expression in different tissues of Raini Cashmir goat. Agric Biotechnology Journal, 16: 35-50.
28. Wilmut, I., A.L. Archibald, M. McClenaghan, Simons, J.P.C.B. A. Whitelaw and A.J. Clark. 1991. Production of pharmaceutical proteins in milk. Experientia, 47(9): 905-912.
29. Wu, J., L. Li, Y. Sun, S. Huang, J. Tang, P. Yu and G. Wang. 2015. Altered molecular expression of the TLR4/NF-Kb signaling pathway in mammary tissue of Chinese Holstein cattle wwith mastitis. PloS one, 10(2): e0118458.
30. Yanting, C., Q. Yang, G.L. Ma, M. Du, J.H. Harrison and E. Block. 2018. Dose and type dependent effects of long-chain fatty acids on adipogenesis of bovine adipocytes. Journal of Dairy Science, 101(2): 1601-1615.
31. Zali, H., M. ReazeeTavirani, K. Haidarbegi and M. Shahriari noor. 2013. Network Analysis Method for Interpreting Complex Phenotypes in Biological Networks. Scientific Journal of Ilam University of Medical Science, 20(5): 225-233 (In Persian).
32. Zhang, J.L., L.S. Zan, P. Fang, G.L. Zhang and W.Q. Tian. 2008. Genetic variation of PRLR gene and association with milk performance traits in dairy cattle. Canadian Journal of Animal Science, 88(1): 33-39.

Transcriptome Analysis of Mammary Gland Tissue to Identify Major Genes Involved in the Milk Production

Saideh Eskandarynasab[1], Zahra Roudbari[2] and Mohamadreza Mohamadabadi[3]

1- PhD Student, Department of Animal Science, Zabol University, Zabol, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran (Corresponding author: roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir)
3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.
Received: 26 January, 2021 Accepted: 2 May, 2021

Abstract

Milk production is one of the most important economic traits in the dairy cattle industry, which is controlled by a large number of genes and is a function of the activity of epithelial cells that are influenced by several biological pathways and the interaction of different genes and gene expression. Gene expression is a process in which information within a gene is used to obtain a functional product. It is also one of the fundamental issues that helps the genotype to appear as a phenotype. The aim of this study was to identify the genes affecting milk production and to construct the gene interaction network of the studied genes to identify the major genes of the effect to better understand the mechanism of milk production using the gene expression pattern during bioinformatics studies. in this study, in order to identify genes with different expression in dairy cow breast tissue, gene expression data related to breast tissue with access number GSE33680 were download from the GEO section of the NCBI database. Data quality was assessed using the limma package available in R software and the basic component analysis method. DAVID software was used to evaluate the function of genes with different expression. After identifying the target genes, they were presented to STRING databases. Cytoscape software was used to explain the role of genes. In this study, the results of analysis of gene expression differences led to the identification of 14020 genes, which according to fold change and adj P-Value statistics, 409 gene increased expression and 326 genes decreased expression. Among the known biological pathways affecting milk production are NF-KB signaling, Glycerolipid metabolism, EGFR1, IL6, B cell receptor. The most important genes are based on the degree of association with other genes and the internal and external centrality of MYC, KRAS, HSPA8, ATP5B, SRC, JAK1 and FOXA2 genes, which play a role in regulating milk production in several reports.

Keywords: Candida Gene, Gene expression profile, Gene network Milk production

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

ارزیابی ژنتیکی و اقتصادی برنامه‌های انتخاب آزمون نتاج با سطوح مختلف تلقیح مصنوعی و رکوردگیری شیر جهت اصلاح نژاد گاومیش خوزستان

بهاره طاهری دزفولی[1]

۱- عضو هیات علمی بخش تحقیقات علوم دامی،مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایران، اهواز
(نویسنده مسوول: bahare.taheri@gmail.com)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۱۲
صفحه: ۱۶۷ تا ۱۷۹

چکیده

در این تحقیق، به‌منظور ارزیابی ژنتیکی و اقتصادی برنامه انتخاب آزمون نتاج و انتخاب معمول گاومیش‌های خوزستان، تعداد ۳۰۰۰ گاومیش مولد با استفاده از برنامه R، شبیه‌سازی گردید. در هر یک از برنامه‌های آزمون نتاج از سطوح مختلف رکوردگیری شیر (۱۰۰، ۸۰، ۵۰ و ۲۰ درصد) و تلقیح مصنوعی (۱۰۰، ۸۰، ۵۰ و ۲۰ درصد) استفاده شد و در انتخاب معمول انتخاب بر اساس اطلاعات شجره گوساله نر و تولید مادر آن صورت گرفت. در شاخص انتخاب نیز، دو صفت تولید شیر و درصد چربی درنظر گرفته شد. برنامه‌های مورد مطالعه بر اساس پیشرفت ژنتیکی، تغییرات تولید، ارزش ژنوتیپی کل و میزان درآمد و هزینه مقایسه شدند. در بررسی برنامه‌های انتخاب اعمال‌شده، مشاهده شد که با افزایش نسبت گله‌های تحت پوشش تلقیح مصنوعی، پیشرفت ژنتیکی و تغییرات ارزش ژنوتیپی کل برنامه انتخاب آزمون نتاج افزایش داشت. این افزایش برای هزینه و درآمد هر یک از برنامه‌های مذکور نیز مشاهده شد. علاوه بر تلقیح مصنوعی، سیستم رکوردگیری شیر نیز بر افزایش دو پارامتر هزینه و درآمد مؤثر بود. با این حال، هزینه‌های اضافی ناشی از به کارگیری سیستم رکوردگیری شیر و عملیات تلقیح مصنوعی، از طریق افزایش درآمد حاصل از عملکرد گاومیش‌های بهتر جبران شد. به‌طورکلی، بر اساس تغییرات ارزش ژنوتیپی کل، پیشرفت ژنتیکی صفت تولید شیر و حداقل هزینه و حداکثر میزان درآمد، برنامه انتخاب آزمون نتاج با ۲۰ درصد جمعیت تحت پوشش رکوردگیری و ۱۰۰ درصد جمعیت تحت برنامه تلقیح مصنوعی برای گله‌های گاومیش، به عنوان برنامه مناسب آزمون نتاج انتخاب شد.

واژه‌های کلیدی: آزمون نتاج، پیشرفت ژنتیکی، خوزستان، گاومیش، هزینه

مقدمه

به‌منظور تأمین تولیدات لبنی و اقتصادی کردن پرورش گاومیش، می‌توان بازده تولید گاومیش‌ها را با استفاده از روش‌های انتخاب مناسب و ارزیابی‌های ژنتیکی افزایش داد. همچنین، ساماندهی و منظم کردن برنامه‌های رکوردگیری شیر و تلقیح مصنوعی و استفاده از آزمون نتاج (PT)[1] همگی ابزارهایی هستند که در این زمینه بسیار کمک خواهند نمود. مطالعات انجام شده گزارش کرده‌اند که برای پوشش دادن تقریباً ۲۰ درصد از جمعیت گاومیش در کشور هند برای انجام برنامه تلقیح مصنوعی، به ۷۶۰۰ رأس گاومیش نر پروف شده نیاز است. اشاره شده که برای انجام این عملیات وسیع اصلاح‌نژاد، در کنار داشتن استراتژی مناسب، ایجاد زیرساخت‌های لازم و امکانات مناسب، همچنین ارائه یک برنامه به خوبی طراحی شده برای اجرای عملیات موردنظر نیز می‌بایست مورد توجه قرار گیرد (۳۷). نیگم و همکاران (۲۱)، به‌منظور بررسی برنامه اصلاح نژاد گله هسته باز در بهبود تولید شیر گاومیش‌های مصری، اثر ترکیب عواملی همچون اندازه جمعیت (z)، اندازه گله هسته (p) و نسبتی از ماده‌های گله هسته که در جمعیت پایه متولد شده‌اند (X) را بر میزان پیشرفت ژنتیکی مورد انتظار بررسی کردند. در این تحقیق، به کمک شبیه‌سازی کامپیوتری، سه جمعیت از گاومیش‌های مصری با یک رکورد برای هر گاومیش، با اندازه‌های متفاوت ۱۰، ۲۵ و ۵۰ هزار رأس، ایجاد گردید. در نتایج گزارش شده، بهبود ژنتیکی در هر نسل (G) در دامنه ۱۳۹ تا ۱۸۶ کیلوگرم و بهبود ژنتیکی سالانه (G/Y) در دامنه ۲۴/۱ تا ۳۲/۱ کیلوگرم شیر در سال به‌دست آمده است. در این مطالعه، بالاترین بهبود ژنتیکی برای اندازه جمعیت شامل ۲۵ هزار گاومیش ماده گزارش شده است. بنابر گزارش معین‌الدین و بلال (۱۹)، برای گاومیش های نیلی راوی، برنامه آزمون نتاج تحت پوشش مؤسسه تحقیقات گاومیش، (BRI)[2] پاتوکی در پاکستان در حال انجام می‌باشد. هدف مهم این برنامه پرورش گله هسته ژرم پلاسم برتر گاومیش نیلی‌راوی[3] از طریق ثبت مشخصات و رکوردگیری از گله‌های دولتی و خصوصی نیلی‌راوی و سپس ارزیابی ژنتیکی و شناسایی ژرم پلاسم برتر با هدف بهبود عملکرد شیر می‌باشد. در این طرح، ۵ گله دولتی و ۶۷۴ گله خصوصی تحت طرح انتخاب مادر گاوهای نر قرار دارند و در حال حاضر ۱۵۸۶۰ گاو ثبت‌شده، ۲۳۱ گاو نر ثبت شده با ۱۲۹ گاو تحت برنامه آزمون نتاج وجود دارد. در ایتالیا نیز، با شروع ثبت مشخصات و شجره در سال ۱۹۸۰ و تأسیس انجمن ملی پرورش دهندگان گاومیش (ANASB)[4] در سال ۱۹۷۹، استفاده از داده‌های شیر ثبت شده، استفاده از چندین چرخه آزمون نتاج و همچنین توسعه عملیات تلقیح مصنوعی با استفاده از اسپرم ارزیابی ژنتیکی شده، نژاد مدیترانه‌ای گاومیش به‌عنوان یک نژاد شیری بهبود ژنتیکی یافته گاومیش در دنیا معرفی شده است (۱۸).

بر اساس آمار منتشر شده توسط معاونت بهبود تولیدات دامی سازمان جهاد کشاورزی استان خوزستان در سال ۱۳۹۹، جمعیت گاومیش خوزستان در جنوب غرب ایران،۹۴۸۷۰ رأس است (۱۰) که در ۲۰ شهرستان این استان پراکنده می‌باشند. شیوه نگهداری و پرورش گاومیش در استان خوزستان به

1- Progeny-testing
2- Buffalo Research Institute
3- NiliRavi
4- Associazione Nazionale Allevatori Specie- Bufalina

صورت سنتی و در جایگاه‌های باز می‌باشد و گاومیش‌ها در گله‌های کوچک، بسته به شرایط اقتصادی خانوار و امکانات دامدار، نگهداری می‌شوند. به‌علت وجود رودخانه‌های بزرگ، تالاب‌های مهم و نیز دارا بودن شرایط آب و هوایی ویژه استان خوزستان، بیش از ۵۰۰۰ خانوار روستایی به پرورش و نگهداری گاومیش مشغول می‌باشند. اهمیت نسبی تولیدات گاومیش در مناطق مختلف این استان یکسان بوده و در تمامی نقاط، گاومیش در درجه اول به‌منظور تولید شیر پرورش داده می‌شود (۱۵). عملیات تلقیح مصنوعی گاومیش‌های استان از سال ۱۳۸۵، به‌طور جدی اجرایی شده است. در سال ۱۳۸۸ نیز یک ایستگاه انجماد اسپرم و اصلاح نژاد گاومیش در شهرستان اهواز (ملاثانی)، با تعداد ۱۶ رأس گاومیش نر برتر استان از نظر خصوصیات تولیدی و فنوتیپی، راه اندازی گردید (۱۵).

این پژوهش به منظور ارزیابی و تغییرات در شایستگی ژنتیکی صفات تولید شیر و درصد چربی در جمعیت گاومیش‌های استان خوزستان در نتیجه استفاده از روش‌های انتخاب متفاوت آزمون نتاج، در مقایسه با برنامه انتخاب معمول و انتخاب فنوتیپی، به‌منظور ارائه مناسب‌ترین روش انتخاب جهت برنامه اصلاح نژادی گاومیش‌های استان خوزستان انجام شد.

مواد و روش‌ها

شبیه‌سازی جمعیت و برنامه اصلاح نژادی

به‌منظور بررسی و مقایسه برنامه‌های مختلف اصلاح‌نژادی و معرفی برنامه اصلاح‌نژاد مناسب گاومیش خوزستان، یک جمعیت مجازی گاومیش در محیط برنامه نویسی R (۲۴) شبیه‌سازی گردید و برنامه‌های پیشنهادی در انتخاب اعمال شد.

در ابتدا جمعیت پایه بدون در نظر گرفتن همخونی و ایجاد شجره به‌عنوان جمعیت گاومیش‌های تحت پوشش رکوردگیری استان (شامل ۳۰۰۰ رأس مولد براساس متوسط تعداد گاومیش‌های تحت رکوردگیری در استان) شبیه‌سازی گردید. سپس برای هر حیوان صفات تولید شیر و درصد چربی با در نظر گرفتن وراثت پذیری، واریانس ژنتیکی و محیطی و همبستگی ژنتیکی میان صفات، ایجاد شد. مبنای ایجاد رکورد برای هر حیوان، نمونه‌گیری تصادفی از توزیع آماری نرمال چند متغیره می‌باشد. برای شبیه‌سازی فنوتیپ هر حیوان از توزیع نرمال استفاده شد و فرض شد حیوان به‌طور تصادفی از جمعیت غیرخویشاوند و غیر هم‌خون انتخاب شده است. در تحقیق حاضر، عناصر مورد استفاده برای شبیه‌سازی صفات شامل میانگین، اثر افزایشی ژن‌ها (اثر تصادفی) و اثرات باقیمانده بودند. مقادیر میانگین و واریانس فنوتیپی صفات بر اساس توابع نوشته شده در جریان برنامه به‌عنوان پارامترهای ورودی به برنامه شبیه‌سازی داده شد. مقادیر استفاده‌شده در برنامه در جدول ۱ ارائه شده است. این مراحل برای کلیه حیوانات در جامعه پایه تکرار شد. به‌منظور ایجاد فایل شجره برای حیوانات بعدی نیز به هر حیوان یک شماره منحصر به فرد داده شد.

براساس برآوردهای گزارش‌شده از تجزیه و تحلیل رکوردهای گاومیش‌های خوزستان برای دو صفت میزان تولید شیر و درصد چربی، میانگین و واریانس فنوتیپی برآورد شده برای گاومیش‌های خوزستان مورد استفاده قرار گرفت (۳۱). بر اساس بررسی منابع انجام‌شده در خصوص مطالعات صفات تولید شیر و درصد چربی گاومیش، از میانگین نتایج به‌دست‌آمده در این منابع برای وراثت پذیری دو صفت مذکور (۱، ۴، ۶، ۲۶، ۲۹، ۳۳، ۳۴ و ۳۵) و همبستگی بین صفات شیر و درصد چربی شیر (۱ و ۲۶) استفاده شد.

جدول ۱- میانگین و پارامترهای ژنتیکی و محیطی صفات مورد استفاده در شبیه‌سازی

Table 1. The mean and genetic and environmental parameters of traits used in simulation

صفات	میانگین	واریانس فنوتیپی	MP	FP
میزان تولید شیر MP	۱۹۳۹/۷۶	۴۰۳۷۸۵	۰/۲۲	-۰/۰۸
درصد چربی شیر FP	۶/۱	۰/۸۵۹۲۵	-۰/۱۶	۰/۱۸

*: عناصر قطری مربوط به مقادیر وراثت‌پذیری صفات، عناصر بالای قطر همبستگی ژنتیکی و عناصر زیر قطر، همبستگی‌های محیطی بین صفات می‌باشد.

در برنامه شبیه‌سازی، سن بلوغ گاومیش‌های ماده ۳سالگی و گاومیش‌های نر ۲ تا ۲/۵سالگی در نظر گرفته شد، به‌طوری‌که هر گاومیش ماده در سن ۴ سالگی اولین زایش را دارد. مدت آبستنی ۱۰ ماه و فاصله بین دو زایش ۴۶۵ روز در نظر گرفته شد (۳۰). در هر سال، گاومیش‌های ماده یک به یک توسط برنامه، کنترل می‌شدند چنانچه زمان زایش آن‌ها رسیده بود، زایمان کرده و فنوتیپ فرزند (k) حاصل از تلاقی والدنر (i) و والد ماده (j) از رابطه زیر محاسبه می‌گردید (۸):

$$y_{ijk} = 0.5(gs_i + gd_j) + gm_{ijk} + e_{ijk}$$

که در این رابطه، gs_i و gd_j، ارزش‌های ژنتیکی افزایشی پدر و مادر، gm_{ijk} سهم نمونه‌گیری مندلی فرد k و e_{ijk} اثر باقیمانده می‌باشد. gm_{ijk} و e_{ijk} برای هر فرزند نیز به مانند والدین از طریق نمونه‌گیری تصادفی از توزیع نرمال تصادفی با میانگین صفر و واریانس ۱ و ضرب کردن آن‌ها در واریانس ژنتیکی افزایشی و واریانس محیطی به‌دست آمد. واریانس نمونه‌گیری مندلی در حالت وجود همخونی نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$Var_{ms} = \frac{1}{2}\left[1 - \frac{1}{2}(F_s + F_d)\right] \times Var_g$$

در این فرمول، F_s و F_d به‌ترتیب ضریب هم‌خونی پدر و مادر حیوان می‌باشد. اثر نمونه‌گیری مندلی، متغیری با میانگین صفر و واریانس نمونه‌گیری مندلی است.

در برنامه در پایان هر سال، با استفاده از اطلاعات شجره‌ای و رکوردهای فنوتیپی، ارزیابی ژنتیکی افراد گله برای صفات تولید شیر و درصد چربی صورت گرفت و ارزش‌های اصلاحی پیش بینی شده در ضرایب اقتصادی صفات (۳۲) ضرب و مقدار شاخص انتخاب برای هر فرد محاسبه شد.

رتبه‌بندی و انتخاب دام‌های برتر (نر و ماده به‌طور جداگانه) بر اساس مقدار شاخص محاسبه‌شده صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل ژنتیکی با استفاده از معادلات مختلط و برنامه WOMBAT (۱۷) انجام شد که مدل مورد استفاده به شرح زیر است:

$$y = \mathbf{X}b + \mathbf{Z}a + e$$

که در این مدل، y: بردار مشاهدات برای صفت مورد نظر، b: بردار اثرات ثابت، a: بردار اثرات تصادفی ژنتیکی افزایشی حیوان و e بردار اثرات تصادفی باقیمانده می‌باشد. X و Z نیز ماتریس‌های طرح هستند، که به‌ترتیب مشاهدات را به اثر عوامل ثابت و تصادفی ژنتیکی افزایشی حیوان مرتبط می‌سازند.

در تحقیق حاضر، ارزش ژنوتیپی کل (H) و شاخص انتخاب (I) شامل دو صفت میزان تولید شیر و درصد چربی شیر (برنامه پیشنهادی برای بهبود شرایط کنونی) به‌صورت زیر بود (شاخص انتخاب دو صفتی، ۳۰):

$$H = v_1 \hat{a}_{Milk} + v_2 \hat{a}_{Fat\%}$$

$$I = v_1 \hat{a}_{Milk} + v_2 \hat{a}_{Fat\%}$$

که در این روابط، $\hat{a}_i$ و v_i به‌ترتیب ارزش‌های اصلاحی پیش‌بینی‌شده و ضرایب اقتصادی صفات مورد مطالعه می‌باشند. به‌منظور تعیین ضرایب جهت استفاده در شاخص انتخاب، ارزش اقتصادی دو صفت تولید شیر و درصد چربی، بر ارزش اقتصادی صفت تولید شیر تقسیم شد و از اعداد ۱ و ۱۱ به‌عنوان ضرایب (یا وزن) صفات شیر و درصد چربی در شاخص استفاده شد (۳۲).

در سال صفر و برای جمعیت پایه، به‌دلیل نبود روابط خویشاوندی و مشخص‌نبودن والدین، برای نرها انتخاب صورت نگرفت و تعدادی نر ۲ تا ۲/۵ سال (بر اساس تعداد مشخص‌شده در هر برنامه)، به‌طور تصادفی به‌عنوان نر فعال جهت اسپرم‌گیری در ایستگاه در نظر گرفته شد. انتخاب نرهای جوان در سال‌های بعد بر اساس ارزش اصلاحی از زمان تولید دختران آن‌ها صورت گرفت. طی اجرای برنامه در هر سال، بعد از مشخص شدن تعداد گاومیش‌های مولد، درصدی از آن‌ها برای برنامه آزمون نتاج و معرفی نر برتر استفاده شد. به این ترتیب که اگر تعداد گاومیش مولد ۳۵۰۰ رأس باشد، ۲۰ درصد از این تعداد یعنی حدود ۸۷۰ رأس برای برنامه آزمون نتاج در نظر گرفته شد. حال چنانچه برای آزمون نتاج هر گاومیش نر جوان، تعداد ۵۰ دختر در نظر گرفته شود، در آن صورت با توجه به نسبت جنسی ۵۲:۴۸ ماده: نر، به تعداد حدود ۱۰۰ رأس گاومیش ماده برای استفاده در تلقیح با اسپرم هر گاومیش نر جوان نیاز می‌باشد. همچنین، در این برنامه در نظر گرفته شد که از هر ۸ رأس گاومیش نر جوان، یک گاومیش به نر فعال تبدیل شود.

مراحل انتخاب در برنامه حاضر به این صورت بود که، هر گوساله نر گاومیش که به سن ۲ تا ۲/۵ سالگی می‌رسید فرض بر این شد که اسپرم قابل دسترس دارد، بنابراین بعد از این‌که در پایان هر سال در گروه نرهای جوان انتخاب شده باشد، در این سن از آن برای اسپرم‌گیری و تلقیح استفاده می‌شد تا تعداد ثابت دختر (۵۰ رأس) در گله‌ها را داشته باشد. این روال هر سال انجام می گرفت. به این صورت که هر سال گاومیش‌های ماده با عملکرد ضعیف بر اساس ارزش‌های اصلاحی مرتب شده حذف می‌گردید و باقیمانده ماده‌ها جهت تولید تعداد مورد نیاز گاومیش نر جوان مورد استفاده قرار می‌گرفتند. لازم به‌ذکر است که جمعیت مولدها تا پایان دوره ۳۰ ساله انتخاب، ثابت درنظر گرفته شد.

بعد از این‌که از هر گاومیش نر جوان، تعداد موردنظر دختر در گله‌ها ایجاد می‌شد، گاومیش‌های نر در لیست گاومیش‌های نر جوان باقی می‌ماندند[1] تا نتیجه آزمون دخترانشان معلوم گردد. بعد از کامل‌شدن تولید دختران اولین گوساله‌های نر، اولین تأیید گاومیش‌های نر انجام می‌شد، از ارزش اصلاحی پیش بینی شده آن‌ها برای انتخاب گوساله‌های نر برتر استفاده می‌شد. بنابراین، بعد از انجام اولین تأیید، لیست گاومیش‌های نر فعال مشخص شده و این لیست سالی یک بار براساس نتایج آزمون نتاج جدید، مورد بازبینی قرار می‌گرفت.

در شبیه‌سازی حاضر، نسل‌ها متداخل بود و هر شبیه‌سازی به‌مدت ۳۰ سال (۵ نسل) ادامه یافت. با توجه به تصادفی بودن شبیه‌سازی، به‌دلیل این‌که نتایج دقیق‌تری از شبیه‌سازی حاصل شود، کل فرآیند ۱۰ بار تکرار شد و از میانگین کل نتایج استفاده شد.

چگونگی انتخاب

در برنامه شبیه‌سازی شده در این تحقیق، ارزیابی و انتخاب آزمون نتاج در کنار برنامه انتخاب معمول (که برای جمعیت گاومیش‌های استان می‌باشد)، مورد بررسی قرار گرفت. در روش ارزیابی آزمون نتاج پیشنهادی، برنامه‌هایی با تغییرات اهمیت استفاده از تلقیح مصنوعی (صفر، ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد) و تعداد گله‌های مورد رکوردگیری (صفر، ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد) مطالعه شد. همچنین، تعداد نرهای ارزیابی‌شده نیز در برنامه آزمون نتاج با افزایش گله‌های مورد بررسی و گاومیش‌های تحت عملیات تلقیح مصنوعی، مورد مطالعه قرار گرفت.

برنامه‌های انتخاب شامل موارد زیر بود:

– انتخاب با آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری و ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی و با ۱، ۲، ۳ و ۴ رأس نر ارزیابی‌شده (۴ برنامه)

– انتخاب با آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی و با ۲، ۳، ۴ و ۵ رأس نر ارزیابی‌شده (۴ برنامه)

– انتخاب با آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری و ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی و با ۳، ۴، ۵ و ۶ رأس نر ارزیابی‌شده (۴ برنامه)

– انتخاب با آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری و ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی و با ۴، ۵، ۶ و ۷ رأس نر ارزیابی شده (۴ برنامه)

– انتخاب بر اساس اطلاعات شجره و تولید مادر که برنامه معمول انتخاب برای گاومیش‌های نر و تولید اسپرم می‌باشد (۱۰۰ درصد رکوردگیری با ، ۸ درصد تلقیح مصنوعی).

1- Waiting Bulls

در پایان، جهت تعیین برنامه انتخاب مناسب، پارامترهایی همچون میانگین فنوتیپی، ارزش ژنوتیپی کل، پیشرفت ژنتیکی و هم‌خونی صفات مورد نظر محاسبه شد.

ارزیابی اقتصادی

در مقایسه روش‌های ارزیابی مختلف، به‌منظور ارزیابی اقتصادی کلیه هزینه‌ها و درآمدهایی که از تغییرات در سیستم تولید و افزایش تولید حاصل از افزایش شایستگی ژنتیکی حاصل شده، به‌صورت انفرادی برای تک تک دام‌ها در نظر گرفته شد. هزینه‌ها شامل هزینه‌های متغیر تکنیک تلقیح مصنوعی، سیستم رکوردگیری شیر و ارزیابی ژنتیکی و همچنین هزینه اضافی تغذیه دام‌ها (که از افزایش شایستگی ژنتیکی در تولید شیر گاومیش‌ها حاصل می‌شود) بودند. درآمدها نیز شامل فروش شیر و چربی شیر، دام‌های حذفی (اختیاری یا غیر اختیاری) و فروش دام نر (نر تخمی) یا اسپرم درنظر گرفته شد.

اطلاعات مربوط به بخش درآمدها و همچنین هزینه تغذیه اضافی ناشی از افزایش تولید، بر اساس اطلاعات بخش تعیین ارزش اقتصادی تکمیل شد. در بخش هزینه‌ها نیز اطلاعات هزینه‌ای مربوط به رکوردگیری شیر، تلقیح مصنوعی، آنالیز ترکیبات شیر، خرید گوساله جهت ایستگاه نگهداری دام نر و اسپرم‌گیری درآویزه و هزینه تولید هر دز اسپرم، از طریق معاونت بهبود تولیدات دامی سازمان جهاد کشاورزی خوزستان تهیه شد که در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲- میانگین قیمت موارد هزینه‌ای مورد استفاده در بخش ارزیابی اقتصادی (براساس سال ۱۳۹۸)

Table 2. The average price of cost items used in economic evaluation section (based on the year of 2020)

هزینه	میانگین قیمت	هزینه	میانگین قیمت
رکوردگیری شیر (هر نمونه)	۶۰۰۰۰ ریال	خرید گوساله جهت ایستگاه	حدود ۴۰۰ هزار ریال بیشتر از قیمت گوساله پرواری*
انجام تلقیح مصنوعی (هر رأس)	۵۰۰۰۰۰ ریال	تولید هر دز اسپرم (به ازاء هر گاومیش نر)	۱۲۰۰۰۰ ریال
آنالیز ترکیبات شیر (چربی و پروتئین)	رایگان	توزیع اسپرم گاومیش (هر گاومیش ۲ دز)	رایگان

*: قیمت بر اساس سن و وزن متفاوت می‌باشد.

نتایج و بحث

ارزش ژنوتیپی کل، ارزش اصلاحی واقعی و مقادیر فنوتیپی صفات

تغییرات مقادیر ارزش ژنوتیپی کل، ضریب هم‌خونی و مقادیر تولید شیر و درصد چربی پس از اجرای برنامه‌های انتخاب معمول و آزمون نتاج با نسبت‌های مختلف سطح رکوردگیری و تلقیح مصنوعی طی یک دوره ۳۰ ساله، در جدول ۳ ارائه شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود بیشترین تغییرات برای ارزش ژنوتیپی کل برای برنامه انتخاب آزمون نتاج حاصل شده است که میزان آن در هر سطح رکوردگیری با افزایش نسبت تلقیح مصنوعی افزایش داشته است. درصد چربی بر خلاف قرار گرفتن در شاخص انتخاب، از تغییرات ثابت و مشخصی پیروی نکرده است. میزان هم‌خونی نیز با افزایش نسبت تلقیح مصنوعی افزایش نشان داده است.

در کلیه استراتژی‌های مورد مطالعه، یک شاخص انتخاب حاصل از ترکیب دو صفت تولید شیر و درصد چربی در نظر گرفته شد و نتایج آن برای هدف انتخاب که شامل دو صفت تولید شیر و درصد چربی می‌باشد، مورد مطالعه قرار گرفت.

براساس جدول ۳، تغییرات ارزش ژنوتیپی کل برای برنامه انتخاب معمول حدود ۲۴۴ برآورد شد. در برنامه‌های انتخاب آزمون نتاج (PT)، تأثیر اجرای برنامه‌های تلقیح مصنوعی روی متوسط ارزش ژنوتیپی کل کاملاً مشهود است. تغییرات ارزش ژنوتیپی کل در برنامه‌های آزمون نتاج بیشتر از برنامه انتخاب معمول می‌باشد، که اشاره می‌کند به این‌که برنامه‌های انتخاب با استفاده از آزمون نتاج بازده بیشتری خواهد داشت. نتایج به‌دست‌آمده با گزارش سنو و همکاران (۲۸) در مطالعه برنامه‌های انتخاب برای گاومیش‌های برزیل مطابقت دارد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود در شرایط برنامه آزمون نتاج، هنگامی که تعداد گله‌های تحت پوشش رکوردگیری افزایش می‌یابد، در متوسط ارزش ژنوتیپی کل و میزان تولید شیر تغییر قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشده است ($p>0/05$). برخلاف نتیجه به‌دست‌آمده، سنو و همکاران (۲۸) اثر سیستم رکوردگیری را بر مقادیر ارزش اصلاحی واقعی برای صفت تولید شیر گاومیش‌های برزیل معنی‌دار گزارش کرده‌اند. علت عدم تغییر در برنامه‌های مورد بررسی، ثبت رکورد تمامی گله‌ها (با تلقیح مصنوعی و تلقیح طبیعی) در برنامه شبیه‌سازی شده می‌باشد، زیرا در مطالعه حاضر هدف از وارد کردن این عامل بیشتر جهت بررسی اقتصادی برنامه‌های انتخاب بوده است. آنچه که مسلم است، سطح رکوردگیری بیشتر به کنترل‌های منظم و گسترده بر ثبت اطلاعات شجره و تولیدات در گله‌ها کمک خواهد کرد. افزایش تعداد گله‌های تحت برنامه رکوردگیری، اطلاعات و داده‌های جمع‌آوری شده بیشتری را فراهم خواهد کرد که در نتیجه منجر به برآورد دقیق‌تر پارامترهای ژنتیکی و ارزش‌های اصلاحی دام‌ها می‌گردد. با این وجود و از طرفی دیگر، افزایش تعداد گله‌ها در برنامه رکوردگیری، برنامه آزمون نتاج را دارای هزینه بیشتری خواهد کرد (۲۸)، که البته بر اساس گزارش میوویسن (۱۶) سود حاصل از انتخاب دام‌های نر با ارزش‌های اصلاحی بالاتر می‌تواند این افزایش هزینه‌ها را جبران کند.

در مقابل سیستم رکوردگیری، اثر تلقیح مصنوعی در برنامه انتخاب آزمون نتاج در توزیع ماده ژنتیکی برتر کاملاً مشهود است و منجر به افزایش در مقدار ارزش ژنوتیپی کل و مقدار تولید شیر گردیده است ($p<0/05$) که با نتایج سنو و همکاران (۲۸) مطابقت دارد؛ به‌طوری که با افزایش نسبت تلقیح مصنوعی در هر یک از سطوح رکوردگیری، میزان تولید افزایش داشته است (این افزایش در بین سطوح رکورگیری مورد مطالعه برای سطح رکوردگیری ۲۰ درصد بیشترین به‌دست آمده است). علت این امر را می‌توان به افزایش تعداد نرهای فعال با افزایش سطح تلقیح مصنوعی در سطوح

رکوردگیری بعدی (۵۰، ۸۰ و ۱۰۰) مرتبط دانست که منجر به کاهش شدت انتخاب و در نتیجه کاهش (البته به میزان کم) پیشرفت ژنتیکی و تولید می‌گردد. به‌طور کلی، بهبود مشاهده شده در متوسط ارزش ژنوتیپی کل تحت برنامه‌های انتخاب آزمون نتاج اشاره دارد که افزایش در تعداد ماده‌های تحت تلقیح مصنوعی بدون در نظر گرفتن برنامه رکوردگیری به افزایش شایستگی ژنتیکی برای صفت تولید شیر کمک می‌کند. بنابراین، استفاده از این استراتژی در کنار اجرای سیستم رکوردگیری در گله‌ها می‌تواند به‌طور قابل توجهی میزان تولید را افزایش دهد (۲۸).

همان‌طور که گفته شد میزان افزایش برای تولید شیر با بیشتر شدن نسبت تلقیح مصنوعی در شرایط انتخاب آزمون نتاج افزایش نشان داد. میزان پیشرفت ژنتیکی حاصل از اجرای برنامه انتخاب آزمون نتاج برای صفت تولید شیر به‌ترتیب از ۲۲ تا ۴۹ کیلوگرم در سال برای سطح رکوردگیری ۲۰ درصد، ۲۱ تا ۴۴ کیلوگرم در سال برای سطح رکوردگیری ۵۰ درصد، ۲۲ تا ۴۴ کیلوگرم در سال برای سطح رکوردگیری ۸۰ درصد و ۲۳ تا ۴۶ کیلوگرم در سال برای سطح رکوردگیری ۱۰۰ درصد، برآورد شد. همان‌طور که در جداول و نمودارها ملاحظه می‌شود تغییرات ارزش ژنوتیپی کل و مقدار فنوتیپی و همچنین پیشرفت ژنتیکی تولید شیر در هر سطح از رکوردگیری، برای شرایط ۱۰۰ درصد جمعیت مولد با تلقیح مصنوعی در بالاترین سطح و در شرایط ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی در پایین‌ترین سطح صورت گرفته است که این میزان افزایش با بیشتر شدن سطح رکوردگیری و در نتیجه افزایش تعداد نرهای فعال در تلقیح مصنوعی در نظر گرفته‌شده در برنامه شبیه‌سازی‌شده کاهش داشته است. دکرز و همکاران (۹) در مطالعه گاوهای شیری گزارش کرده‌اند که هنگامی که تعداد نرهای انتخاب‌شده و اندازه گروه‌های نتاج افزایش داشته باشد، پیشرفت ژنتیکی با یک روند رو به کاهش افزایش می‌یابد. صالحی نژاد و همکاران (۲۷) در مطالعه برنامه‌های انتخاب هسته باز و بسته برای گاومیش‌های بومی ایران در نتایج خود گزارش کرده‌اند که برنامه‌های انتخاب با میزان جابجایی بیشتر نرها از گله هسته به گله‌های تجاری پیشرفت ژنتیکی بیشتری داشته‌اند.

به‌علت استفاده از شاخص انتخاب برای دو صفت و همچنین همبستگی منفی بین دو صفت شیر و درصد چربی، برای مقدار فنوتیپی درصد چربی روند مشخصی در اختلاف مقادیر پایانی و ابتدای دوره مشاهده نشد و مرتب این صفت در حال افزایش، کاهش و یا بدون تغییر بوده است. حسن پور و همکاران (۱۱) گزارش کرده‌اند که گاومیش خوزستان به‌جهت تولید شیر روزانه بالاتر در مقایسه با نژاد آذری، دارای استعداد و توان کمتری برای درصد چربی بوده، ولی توان ژنتیکی بیشتری برای مقدار چربی روزانه دارد.

مقادیر پیشرفت ژنتیکی برای هر دو صفت تولید شیر و درصد چربی نیز با اجرای برنامه‌های مختلف مورد مطالعه در جدول ۴ آورده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود در هر سطح رکوردگیری از آزمون نتاج، با افزایش نسبت تلقیح مصنوعی میزان پیشرفت ژنتیکی برای تولید شیر افزایش داشت. برخلاف آن‌چه که از استفاده از شاخص انتخاب دو صفتی مورد انتظار بود، پیشرفت ژنتیکی برای درصد چربی کم بوده و با افزایش نسبت تلقیح مصنوعی و در نتیجه افزایش میزان تولید شیر، روند منفی نشان داد. در کلیه برنامه‌های مورد بررسی، پیشرفت ژنتیکی برای صفت تولید شیر مثبت بود اما برای صفت دیگر یعنی درصد چربی روند کاهشی و برخی موارد افزایشی مشاهده شد. در واقع، در برنامه‌های انتخاب آزمون نتاج به‌دلیل استفاده از شاخص شیر و درصد چربی انتظار می‌رفت درصد چربی نیز افزایش داشته باشد، با این وجود، همان‌طور که در نمودار و جداول ملاحظه می‌شود تغییرات ارزش ژنوتیپی کل و میزان پیشرفت ژنتیکی برای این صفت در برخی برنامه‌ها منفی و در برخی دیگر مثبت می‌باشد. نکته‌ای که مورد توجه می‌باشد، کاهش درصد چربی در هر یک از سطوح مختلف رکوردگیری با افزایش نسبت تلقیح مصنوعی بوده که برعکس نتایج تولید شیر است. ارزش ژنتیکی حاصل از انتخاب آزمون نتاج برای صفت درصد چربی به‌ترتیب برای سطح رکوردگیری ۲۰ درصد از ۰/۰۰۶ تا ۰/۰۰۶- درصد در هر سال، برای سطح رکوردگیری ۵۰ درصد از ۰/۰۰۳ تا ۰/۰۰۶- درصد در هر سال، برای سطح رکوردگیری ۸۰ درصد از ۰/۰۰۵ تا ۰/۰۰۵- درصد در هر سال و برای سطح رکوردگیری ۱۰۰ درصد از ۰۰۴/ تا ۰/۰۱- درصد در هر سال به‌دست آمد. کاهش درصد چربی را می‌توان به همبستگی منفی بین دو صفت شیر و درصد چربی مرتبط دانست. در واقع، افزایش مقدار شیر از آن‌جا که برای آن انتخاب وجود دارد، منجر به کاهش درصد چربی شده به‌طوری که افزایش این صفت علی‌رغم وجود انتخاب برای آن نمی‌تواند بروز یابد. همچنین، می‌توان گفت ضریبی که برای درصد چربی در نظر گرفته‌شده برای افزایش آن در مقابل افزایش همزمان مقدار شیر که منجر به کاهش آن می‌گردد، کافی نبوده و به درصد چربی باید ضریب بزرگ‌تری، با در نظرگرفتن ارزش بیشتری برای آن در فروش، داده شود. کلویتس (۱۲) گزارش کرده است که بازده یک شاخص انتخاب، به تغییرات کوچک در ارزش‌های اقتصادی خیلی حساس نیست. با این وجود، با تغییرات بزرگ‌تر کاهش قابل توجهی در بازده می‌تواند اتفاق بیفتد. اگر یک صفت یا تعدادی از صفات در شاخص غالب باشند (این غالب‌بودن از طریق ضرب ارزش اقتصادی و وراثت پذیری آن صفت اندازه‌گیری می‌شود)، بازده شاخص به‌میزان بسیار زیاد به تغییرات آن صفت حساس خواهد بود. به‌طور کلی، کاهش زیاد در بازده شاخص زمانی رخ می‌دهد که صفات مهم از شاخص حذف شوند و یا به صفات بی‌اهمیت وزن زیاد داده شود، و یا حتی زمانی که جهت انتخاب برای صفات مهم معکوس گردد. همچنین، هرگونه از دست‌دادن بازده شاخص به دو همبستگی فنوتیپی و ژنتیکی نیز برمی‌گردد. کاهش در بازده شاخص معمولاً در صورت وجود همبستگی‌های نامطلوب میان صفات، بیشتر بوده است. همبستگی ژنتیکی بین صفات یکی دیگر از عواملی می‌باشد که پاسخ مورد انتظار و سود حاصل از انتخاب را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۴). لینده و فیلیپسون (۱۳) نیز در مطالعه شاخص انتخاب گاوهای نر گزارش کرده‌اند که اثر

همبستگی‌های ژنتیکی منفی بین صفات بر مقادیر ضرایب در شاخص شایستگی کل گاوهای نر نسبتاً کوچک بوده، ولی اثرات آن بر پاسخ ژنتیکی برآورد شده زیاد می‌باشد.

جدول ۳- تغییرات (مقدار اولیه (سال صفر)- مقدار نهایی (آخرین سال) در ارزش ژنوتیپی کل، ضریب هم‌خونی، مقدار تولید شیر (kg) و درصد چربی تحت استراتژی‌های انتخاب متفاوت طی ۳۰ سال

Table 3. Total genotypic value, inbreeding coefficient, milk yield (kg) and fat percentage changes (year 0 - last year) under different selection strategies during 30 years

برنامه*	Δ =(مقدار اولیه -مقدار نهایی)			
	ارزش ژنوتیپی کل	مقدار درصد چربی	مقدار شیر (kg)	درصد همخونی
US_{100-8}	۲۴۴	-۰/۰۵	۲۴۱	۰/۰۱
PT_{20-20}	۶۴۰	-۰/۰۳	۶۴۵	۰/۰۶
PT_{20-50}	۱۱۲۲	۰/۱۵	۱۱۱۲	۰/۱۶
PT_{20-80}	۱۲۵۰	-۰/۱۴	۱۲۴۲	۰/۲۵
PT_{20-100}	۱۴۴۸	-۰/۲۱	۱۴۵۶	۰/۳۰
PT_{50-20}	۶۰۱	۰/۰۲	۶۰۸	۰/۰۴
PT_{50-50}	۱۰۰۴	-۰/۱۷	۹۹۸	۰/۱۷
PT_{50-80}	۱۲۳۰	-۰/۴۰	۱۲۲۶	۰/۲۱
PT_{50-100}	۱۳۱۹	-۰/۱۸	۱۳۱۵	۰/۲۱
PT_{80-20}	۶۲۲	۰/۱۴	۵۹۷	۰/۰۳
PT_{80-50}	۸۱۳	-۰/۱۰	۸۲۱	۰/۰۹
PT_{80-80}	۱۲۱۴	-۰/۱۰	۱۲۰۷	۰/۱۷
PT_{80-100}	۱۲۱۷	-۰/۱۴	۱۲۱۴	۰/۲۴
PT_{100-20}	۶۶۲	۰/۰۹	۶۷۴	۰/۰۳
PT_{100-50}	۹۵۸	-۰/۰۳	۹۵۸	۰/۱۱
PT_{100-80}	۱۱۱۳	-۰/۰۸	۱۱۱۸	۰/۱۲
$PT_{100-100}$	۱۳۲۸	-۰/۳۴	۱۳۳۳	۰/۱۹

*US_{100-8}= انتخاب معمول با ۱۰۰ درصد رکوردگیری جمعیت و ۸ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{20-20} = آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری جعیت و ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{20-50} = آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری و ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{20-80} = آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری و ۸۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{20-100} = آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ تلقیح مصنوعی، PT_{50-20} = آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{50-50} = آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{50-80} = آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۸۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{50-100} = آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{80-20} = آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری جمعیت و ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{80-50} = آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری و ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{80-80} = آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری و ۸۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{80-100} = آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{100-20} = آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری جمعیت و ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{100-50} = آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری و ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT_{100-80} = آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری و ۸۰ درصد تلقیح مصنوعی و $PT_{100-100}$ = آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی

جدول ۴- روند ژنتیکی مقدار تولید شیر (kg) و درصد چربی همراه با آزمون معنی‌داری حاصل از برنامه‌های انتخاب متفاوت برای گاومیش‌های خوزستان طی ۳۰ سال

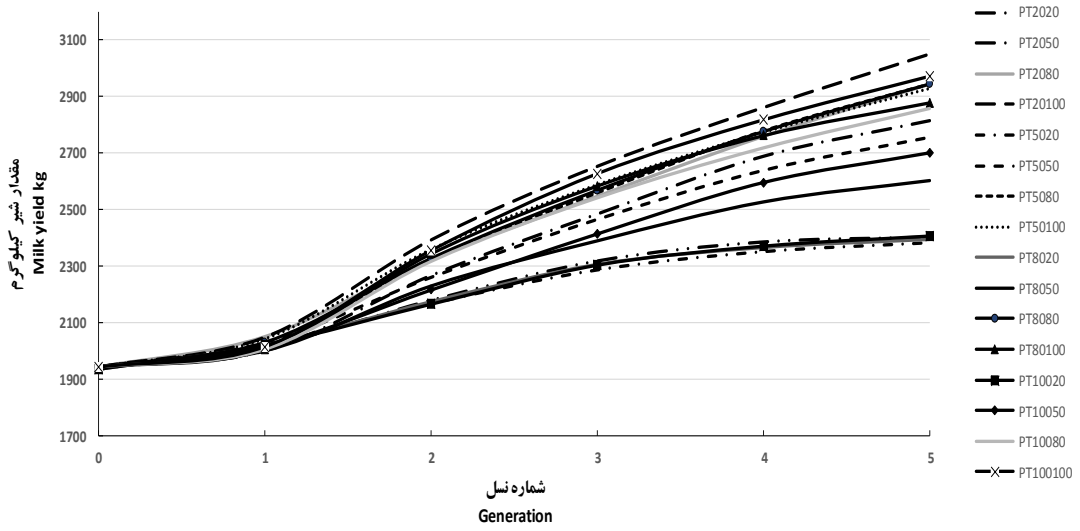
Table 4. Genetic trend of milk production (kg) and fat percentage with test of significance of different selection scenarios for buffaloes of Khuzestan during 30 years

برنامه*	روند ژنتیکی تولید شیر در سال	روند ژنتیکی درصد چربی در سال
US_{100-8}	۹/۱**	-۰/۰۰۱**
PT_{20-20}	۲۳**	۰/۰۰۰۳ns
PT_{20-50}	۴۱**	-۰/۰۰۶**
PT_{20-80}	۴۴**	-۰/۰۰۴**
PT_{20-100}	۴۹**	-۰/۰۰۶**
PT_{50-20}	۲۱**	۰/۰۰۳**
PT_{50-50}	۳۶/۲**	-۰/۰۰۶**
PT_{50-80}	۴۴**	-۰/۰۱۴**
PT_{50-100}	۴۴/۴**	-۰/۰۰۶**
PT_{80-20}	۲۲/۲**	۰/۰۰۵**
PT_{80-50}	۲۸/۳**	-۰/۰۰۳**
PT_{80-80}	۴۴/۲**	-۰/۰۰۵**
PT_{80-100}	۴۱**	-۰/۰۰۵**
PT_{100-20}	۲۳**	۰/۰۰۴**
PT_{100-50}	۳۵**	-۰/۰۰۱*
PT_{100-80}	۳۹/۳**	-۰/۰۰۴**
$PT_{100-100}$	۴۶**	-۰/۰۱**

**: معنی‌داری در سطح ۵ درصد. **: معنی‌داری در سطح ۱ درصد. ns: عدم معنی‌داری.

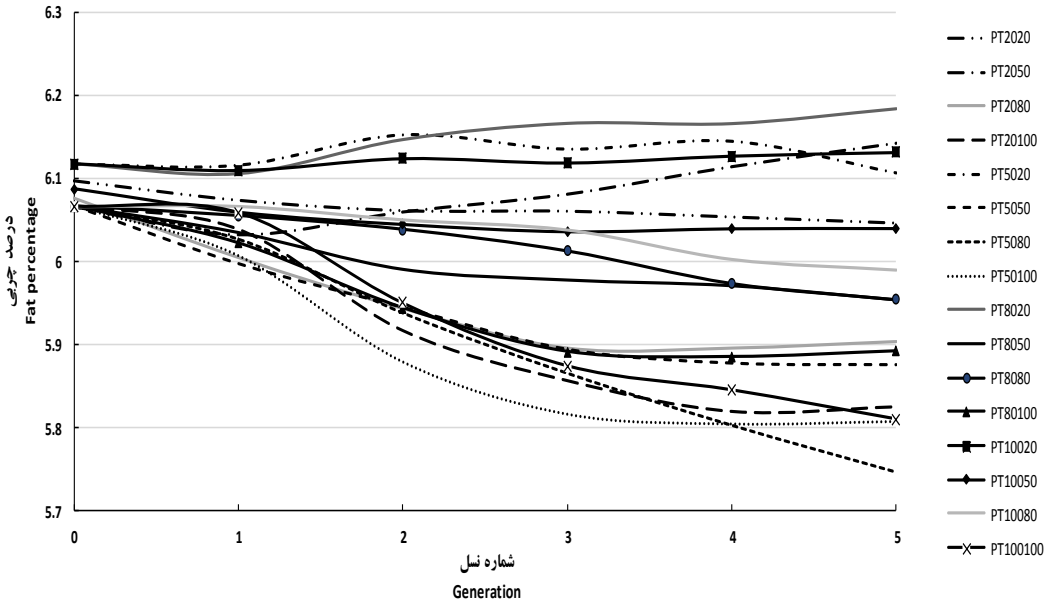
*US100-8= انتخاب معمول با ۱۰۰ درصد رکوردگیری جمعیت و ۸ درصد تلقیح مصنوعی، PT20-20 = آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری جعیت و ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT20-50 = آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری و ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT20-80 = آزمون نتاج با ۲۰ درص+د رکوردگیری و ۸۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT20-100 = آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ تلقیح مصنوعی، PT50-20 = آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT50-50 = آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT50-80 = آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۸۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT50-100 = آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT80-20 = آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری جمعیت و ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT80-50 = آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری و ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT80-80 = آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری و ۸۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT80-100 = آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT100-20 = آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری جمعیت و ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT100-50 = آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری و ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT100-80 = آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری و ۸۰ درصد تلقیح مصنوعی و PT100-100 = آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی

روند فنوتیپی مقدار تولید شیر و درصد چربی طی ۳۰ سال انتخاب (۵ نسل) برای برنامه‌های مختلف انتخاب معمول و انتخاب آزمون نتاج در نمودارهای ۱ تا ۴ نشان داده شده است.



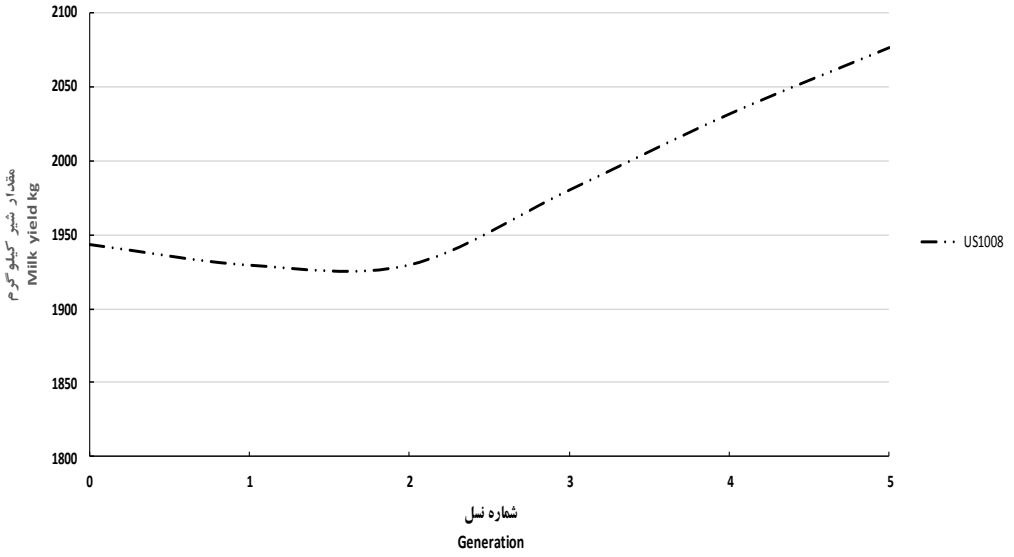
شکل ۱- روند فنوتیپی مقدارتولید شیر حاصل از برنامه‌های مختلف انتخاب آزمون نتاج (PT) طی ۵ نسل مورد مطالعه (عدد اول: سطح رکوردگیری ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد و عدد دوم: در هر سطح نسبت تلقیح مصنوعی ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد)

Figure 1. Phenotypic trend of milk production from different progeny testing selection programs (PT) during 5 studied generations (first number: milk recording percent including of 20, 50, 80 and 100% and second number: artificial insemination ratio including of 20, 50, 80 and 100 %)



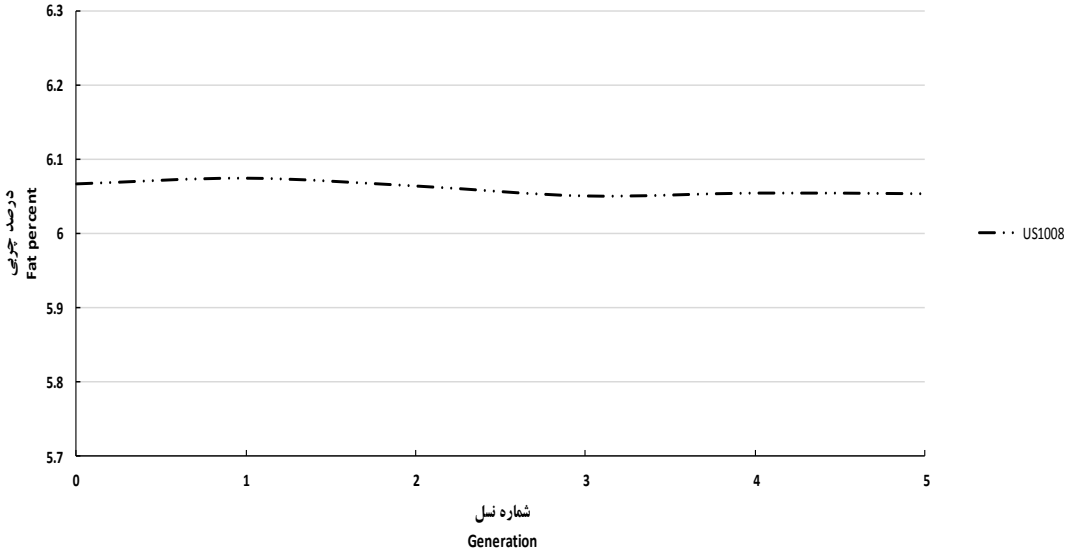
شکل ۲- روند فنوتیپی درصد چربی شیر حاصل از برنامه‌های مختلف انتخاب آزمون نتاج (PT) طی ۵ نسل مورد مطالعه (عدد اول: سطح رکوردگیری ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد و عدد دوم: در هر سطح نسبت تلقیح مصنوعی ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد)

Figure 2. Phenotypic trend of fat percentage from different progeny testing selection programs (PT) during 5 studied generations (first number: milk recording percent including of 20, 50, 80 and 100% and second number: artificial insemination ratio including of 20, 50, 80 and 100 %)



شکل ۳- روند فنوتیپی مقدار تولید شیر حاصل از برنامه انتخاب معمول طی ۵ نسل مورد مطالعه (سطح رکوردگیری ۱۰۰ درصد و نسبت تلقیح مصنوعی ۸ درصد)

Figure 3. Phenotypic trend of milk production from usual selection program during 5 studied generations (100% milk recording and 8% artificial insemination)



شکل ۴- روند فنوتیپی درصد چربی حاصل از برنامه انتخاب معمول طی ۵ نسل مورد مطالعه (سطح رکوردگیری ۱۰۰ درصد و نسبت تلقیح مصنوعی ۸ درصد)

Figure 4. Phenotypic trend of fat percentage from usual selection program during 5 studied generations (100% milk recording and 8% artificial insemination)

ضریب همخونی

ضریب همخونی در سه سال اول مطالعه برای تمامی برنامه‌ها و برنامه‌های انتخاب برابر صفر بود و میزان ضریب همخونی طی ۳۰ سال در کلیه برنامه‌های انتخاب روند افزایشی داشت. لازم به ذکر است که در برنامه شبیه‌سازی شده، ثبت شجره فقط برای دام‌های شرکت‌کننده در عملیات تلقیح مصنوعی صورت می‌گرفت و در نتیجه ضریب همخونی فقط برای این دام‌ها محاسبه شده است. به‌طورکلی، در دام‌های تحت انتخاب، به مرور یک تفاوت سیستماتیک بین حیوانات ضعیف و برتر به وجود خواهد آمد (۲). به‌طوری که، بعد از چند نسل افراد برتر مرتب در ساختار شجره حیوانات دیده می‌شوند در حالی که دام‌های ضعیف

به‌ندرت وجود دارند. این تفاوت در توزیع اجداد، اثر بالایی بر میزان همخونی دارد (۲). در این برنامه اولین گروه نرهای جوان، در سال سوم مورد آزمون قرار می‌گرفتند که در نتیجه مثبت‌بودن، جایگزین نرهای فعال می‌شدند و در سال‌های بعد گروه‌های بعدی از نرهای جوان مورد آزمون قرار می‌گرفتند که ممکن بود جایگزین نرهای فعال فعلی گردند و یا به گروه نرهای فعال اضافه شوند. به‌طور کلی، استفاده از یک تعداد مشخص از نرهای فعال انتخاب شده از جمعیت پایه، سبب ایجاد ارتباط ژنتیکی بین نسل‌ها شده که این عمل سبب افزایش تعداد فرزندان ناتنی می‌شود و به‌تبع آن میزان همخونی افزایش پیدا کرده است. اثر همخونی بر صفات تولیدی و تولیدمثلی در گاوهای شیری و گاومیش‌ها توسط محققان بسیاری در کشورهای مختلف گزارش شده است (۲۲ و ۳۶). همچنین، واسکنسلوز و تونهاتی (۳۶) در مطالعه گاومیش‌های مورا گزارش کرده‌اند که شیردهی تحت تأثیر همخونی می‌باشد. در خصوص گاومیش‌های مصری نیز عامر (۲۲) گزارش نمود که تولید شیر اولین دوره شیردهی، تولید شیر ۳۰۵روزه و دوره شیردهی به‌طور معنی‌داری با افزایش سطح همخونی کاهش داشته است ($p<0/01$).

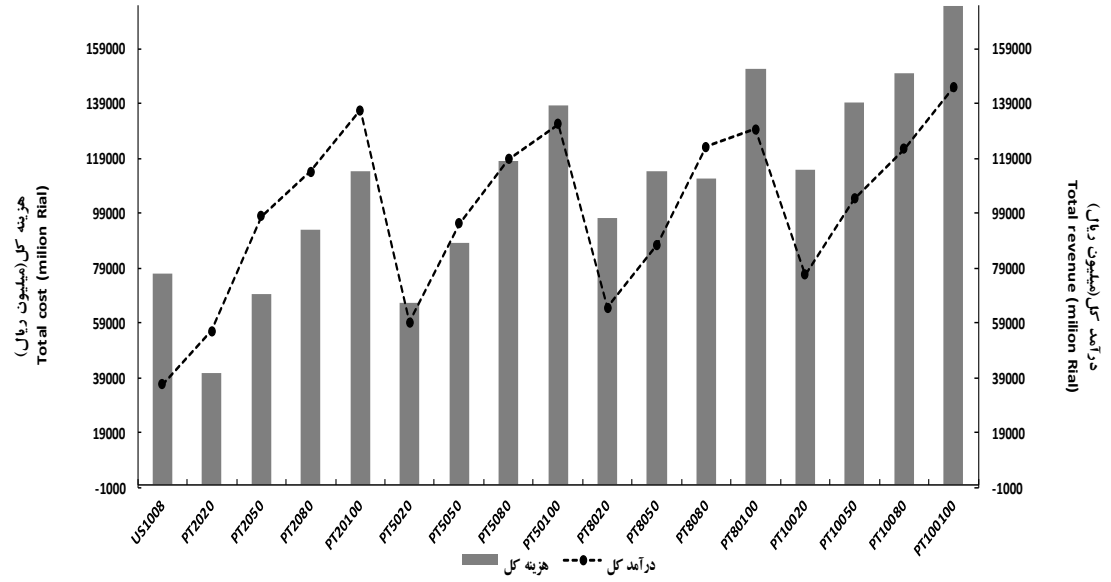
بعد از ۳۰ سال انتخاب، بیشترین ضریب همخونی برای $PT_{20\text{-}100}$ مشاهده شد (۰/۳۰). به‌طور کلی در برنامه‌های انتخاب آزمون نتاج، میزان ضریب همخونی در هر یک از سطوح رکوردگیری با افزایش نسبت تلقیح مصنوعی افزایش داشته است. علت این امر را می توان به این شکل توضیح داد که با افزایش نسبت تلقیح مصنوعی، تعداد نرهای فعال و به‌دنبال آن تعداد نرهای جوان برای معرفی نرهای فعال افزایش داشته است. از آن جا که نرهای جوان تا رسیدن به تعداد ۵۰ دختر در تلقیح‌ها شرکت داده می‌شدند، لذا با افزایش تعداد نرهای جوان و محدود بودن جمعیت مولدها، مدت زمان بیشتری صرف تلقیح آن‌ها شده و در نتیجه آن جایگزینی نرهای فعال در فاصله زمانی بیشتری صورت گرفته است. بنابراین، از نرهای فعال مدت زمان بیشتری در گله‌ها استفاده شده است. در واقع، تعداد نر مورد نیاز در یک دوره زمانی مشخص تأمین نمی‌شود و در نتیجه لازم است مدت زمان بیشتری صبر شود تا تعداد نر تأمین شود. ضمن اینکه استفاده از اسپرم نرهای فعال و نرهای جوان نیز برای جمعیت مولد موردنظر کاملاً تصادفی بوده است. اما در شرایط نسبت تلقیح مصنوعی یکسان ولی با تعداد نرهای متفاوت، مثلاً نسبت تلقیح مصنوعی ۲۰ درصد در سطوح رکوردگیری ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد و با تعداد نرهای فعال ۱، ۲، ۳ و ۴ رأس، جایگزینی نرهای فعال با افزایش تعداد آن‌ها زمان بیشتری گرفته ولی چون برای یک نسبت مشخص تعداد نرهای فعال افزایش یافته ضریب همخونی رو به کاهش بوده است ($PT_{20\text{-}20}$ با ۱ نر فعال ۰/۰۶، $PT_{50\text{-}20}$ با ۲ نر فعال ۰/۰۴، $PT_{80\text{-}20}$ با ۳ نر فعال ۰/۰۳ و $PT_{100\text{-}20}$ با ۵ نر فعال ۰/۰۳). رضایی و فیاضی (۲۵) با بررسی اطلاعات جمع‌آوری‌شده، میانگین ضریب همخونی در جامعه همخون گاومیش‌های ایران ۰/۵۲ درصد برآورد کرده‌اند.

میزان ضریب همخونی به‌همراه میزان پیشرفت ژنتیکی و هزینه پیاده‌سازی یک استراتژی اصلاحی یکی از فاکتورهایی است که در انتخاب برنامه انتخاب مناسب مورد استفاده قرار می‌گیرد. سنو و همکاران (۲۸) در مطالعه برنامه‌های انتخاب برای گاومیش‌های برزیل با استفاده از شبیه‌سازی کامپیوتری، بالاترین ضریب همخونی را برای انتخاب تصادفی بدون رکوردگیری و تلقیح مصنوعی برآورده کرده‌اند (۵/۶ درصد). در مطالعه این محققان افزایش نسبت تلقیح مصنوعی در انتخاب آزمون نتاج و فنوتیپی با کاهش همخونی همراه بوده است که علت را افزایش نرهای مورد استفاده در عملیات تلقیح مصنوعی گزارش کرده‌اند.

به‌طور کلی، همان‌طور که گفته شد در برنامه‌های مورد بررسی افزایش نسبت تلقیح مصنوعی همراه با افزایش تعداد نرهای فعال، به‌دلیل افزایش تعداد نرهای جوان شرکت‌کننده در امر تلقیح مصنوعی و افزایش مدت زمان استفاده از نرهای فعال بود که منجر به افزایش ضریب همخونی در روش انتخاب آزمون نتاج شده است. در واقع استفاده در مدت زمان بیشتر از نرهای فعال باعث شده که افزایش نسبت تلقیح مصنوعی را تحت تأثیر قرار دهد و کاهش ضریب همخونی مشاهده نگردد (با توجه به این‌که در برنامه‌های مورد بررسی فقط دام‌های شرکت‌کننده در عملیات تلقیح مصنوعی دارای ثبت شجره بودند و در نتیجه ضریب همخونی فقط برای این دام‌ها محاسبه شده است). در شرایط واقعی نیز استفاده از تلقیح مصنوعی، معمولاً استفاده از نرها با ارزش اصلاحی بالاتر برای صفات اقتصادی مهم را افزایش می‌دهد که در نتیجه منجر به افزایش متوسط شایستگی ژنتیکی نتاج می‌گردد (۲۰). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که برنامه‌ای اصلاح نژادی که با افزایش پیشرفت ژنتیکی همراه هستند معمولاً افزایش همخونی را نیز به‌همراه دارند (۲۳، ۷ و ۳). صالحی‌نژاد و همکاران (۲۷) در بررسی برنامه‌های اصلاح نژادی متفاوت برای گاومیش‌های بومی ایران گزارش کرده‌اند که ضریب همخونی در بزرگترین اندازه گله، بیشترین تعداد گله و بیشترین میزان انتقال در گله بسته بیشتر بوده است.

درآمد و هزینه برنامه‌های مورد مطالعه

اطلاعات مربوط به هزینه و درآمد کل برنامه‌های انتخاب پیشنهادی طی یک دوره انتخاب ۳۰ساله در نمودار ۵ ارائه شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود میزان درآمد کل و هزینه کل هر یک از برنامه‌های پیشنهادی با افزایش سطح رکوردگیری و به‌دنبال آن سطح تلقیح مصنوعی افزایش داشته است. در بین برنامه‌های پیشنهادی، بیشترین درآمد با کمترین هزینه متناسب با افزایش درآمد، برای برنامه انتخاب آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی حاصل شده است.



شکل ۵- هزینه و درآمد کل برنامه‌های انتخاب پیشنهادی* طی ۳۰ سال انتخاب
Figure 5. Total cost and revenue of proposed selection programs* during 30-year selection

*US100-8= انتخاب معمول با ۱۰۰ درصد رکوردگیری جمعیت و ۸ درصد تلقیح مصنوعی، PT20-20 = آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری جمعیت و ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT20-50 = آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری و ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT20-80 = آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری و ۸۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT20-100 = آزمون نتاج با ۲۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ تلقیح مصنوعی، PT50-20 = آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT50-50 = آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT50-80 = آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۸۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT50-100 = آزمون نتاج با ۵۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT80-20 = آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری جمعیت و ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT80-50 = آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری و ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT80-80 = آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری و ۸۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT80-100 = آزمون نتاج با ۸۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT100-20 = آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری جمعیت و ۲۰ درصد تلقیح مصنوعی،PT100-50 = آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری و ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی، PT100-80 = آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری و ۸۰ درصد تلقیح مصنوعی و PT100-100 = آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی.

نتایج به‌دست‌آمده برای افزایش درآمد حاصل از برنامه‌ها در اثر سیستم رکوردگیری و تلقیح مصنوعی برای شرایط آزمون نتاج بیشتر بود. در این برنامه انتخاب، در هر یک از سطوح رکوردگیری، بیشترین درصد افزایش درآمد از سطوح ۲۰ به ۵۰ درصد تلقیح مصنوعی بوده است که این میزان برای PT_{2020} به PT_{2050} ۷۵ درصد، از PT_{5020} به PT_{5050} ۶۰ درصد، از PT_{8020} به PT_{8050} ۳۶ درصد و از PT_{10020} به PT_{10050} ۳۶ درصد به‌دست آمده است.

افزایش حاصل‌شده در درآمد کل دوره ۳۰ساله برنامه انتخاب آزمون نتاج برای جمعیت مورد مطالعه با ۳۰۰۰ مولد، ناشی از ثبت اطلاعات و رکوردگیری و همچنین انتخابی است که در جهت بهبود عملکرد و افزایش تولید صورت گرفته است. پیشرفت ژنتیکی سالانه یک صفت تولیدی به‌دلیل موجود بودن اطلاعات دقیق‌تر و شدت‌های انتخاب نر بالاتر در برنامه‌های آزمون نتاج، می‌تواند در برنامه‌های بهبود ژنتیکی با استفاده از تلقیح مصنوعی بیشتر باشد (۵). همچنین، وارد کردن گله‌ها در هر یک از برنامه‌های رکوردگیری و یا ارزیابی ژنتیکی تولید گله را بهبود خواهد بخشید که این مقدار افزایش یافته به‌عنوان یک منبع درآمد اضافی محسوب می‌شود وقتی که دام‌های انتخاب شده و یا اسپرم آن‌ها با سایر گله‌ها فروخته می‌شود (۲۸). به‌طور کلی، می‌توان گفت که افزایش سطح رکوردگیری درآمد گله‌ها را افزایش می‌دهد اما درآمد به‌دست‌آمده برای گله‌هایی که در ارزیابی ژنتیکی شرکت داشته‌اند بیشتر از گله‌های تحت انتخاب فنوتیپی می‌باشد (۲۸).

با واردشدن سطوح تلقیح مصنوعی، هزینه‌های تلقیح نیز به هزینه‌ها اضافه شده است. اثر سیستم رکوردگیری و تلقیح مصنوعی برای برنامه‌های انتخابی پیشنهادی آزمون نتاج معنی‌دار بود، به‌طوری که با افزایش سطوح رکوردگیری و همچنین افزایش سطح تلقیح مصنوعی این افزایش در هزینه‌ها کاملاً مشهود است. همان‌طور که در شکل ۵ ملاحظه می‌شود بیشترین هزینه و بیشترین درآمد برای برنامه انتخاب آزمون نتاج با ۱۰۰ درصد رکوردگیری و ۱۰۰ درصد تلقیح مصنوعی به‌دست آمده است و پس از آن از نظر میزان درآمد، برنامه PT_{20100} (برنامه آزمون نتاج با ۲۰ درصد سطح رکوردگیری و ۱۰۰ درصد سطح تلقیح مصنوعی) می‌باشد که به‌دلیل برخورداری از هزینه بسیار کمتر، این برنامه آزمون نتاج در مطالعه حاضر به‌عنوان مناسب‌ترین برنامه از نظر ارزیابی اقتصادی شناخته شد.

به‌طور کلی، در برنامه‌های پیشنهادی انتخاب آزمون نتاج و انتخاب معمول، بر اساس نسبت‌های متفاوت رکوردگیری و تلقیح مصنوعی، نتیجه‌گیری شد که افزایش سطح تلقیح مصنوعی دارای اثر مثبت بر پیشرفت ژنتیکی گله‌های گاومیش مورد مطالعه می‌باشد. البته در خصوص برنامه آزمون نتاج، از آن جا که با افزایش تعداد نرهای فعال، تعداد نرهای جوان انتخابی موردنیاز افزایش پیدا می‌کرد مدت زمان

جایگزینی نرهای فعال نیز افزایش داشت که در نتیجه ضریب همخونی برای جمعیت تحت برنامه تلقیح مصنوعی نیز با افزایش سطح تلقیح مصنوعی افزایش داشته است. بهبود عملکرد و افزایش پیشرفت ژنتیکی با واردشدن ارزیابی ژنتیکی در برنامه آزمون نتاج و استفاده از نرهای ارزیابی ژنتیکی شده نیز نسبت به انتخاب معمول کاملاً مشهود بود. همچنین، سیستم رکوردگیری و تلقیح مصنوعی بر هزینه و درآمد برنامه‌های انتخابی آزمون نتاج تأثیر داشتند، به‌طوری که با افزایش سطوح رکوردگیری و همچنین افزایش سطح تلقیح مصنوعی این افزایش در هزینه و درآمد کل مشاهده می‌شود. در بین برنامه‌های پیشنهادی برای گروه گاومیش‌های مورد مطالعه، بر اساس تغییرات ارزش ژنوتیپی کل، پیشرفت ژنتیکی صفت تولید شیر و حداقل هزینه و حداکثر درآمد، برنامه انتخاب آزمون نتاج با ۲۰ درصد جمعیت تحت پوشش رکوردگیری و ۱۰۰ درصد جمعیت تحت برنامه تلقیح مصنوعی انتخاب شد.

در پایان، جهت تکمیل برنامه ارزیابی و انتخاب و به‌منظور ارائه یک برنامه اصلاح نژادی مناسب ضرورت دارد تا بهینه-سازی برنامه آزمون نتاج پیشنهادی از طریق بررسی تعداد نرهای جوان انتخابی و همچنین تعداد نتاج مناسب جهت تعیین نرهای فعال، بررسی همزمان نسبت‌های متفاوت تلقیح مصنوعی و استفاده از اسپرم تعیین جنس شده مورد مطالعه و تحقیق قرار گیرد.

منابع

1. Aspilcueta-Borquis, R.R., R.C. Sesana, M.H.M. Berrocal, L.D.O. Seno, A.B. Bignardi, L.El Faro, L.G. de Albuquerque, G.M.F. de Camargo and H. Tonhati. 2010. Genetic parameters for milk, fat and protein yields in *Murrah* buffaloes (Bubalus bubalis Artiodactyla, Bovidae). Genetics and Molecular Biology, 33(1): 71-77.
2. Bijma, P. and M. Rutten. 2002. Lecture notes for the Selection workshop. Animal Breeding and Genetics Group, *Wageningen* University, the Netherlands.
3. Brisbane, J.R. and J.P. Gibson. 1995. Balancing selection response and rate of inbreeding by including genetic relationship in selection decisions. Theoretical and Applied Genetics, 91: 421-431.
4. Castillo, G., B. Moioli and F. Napolitano. 2001. Estimation of genetic parameters of some productive and reproductive traits in *Italian* buffalo. Genetic evaluation with BLUP-Animal Model. Asian-Australian Journal of Animal Science, 14(6): 747-753.
5. Cunningham, E.P. 1999. The application of biotechnologies to enhance animal production in different farming systems. Livestock Production Science, 58: 1-24.
6. Da-you, F.A.N., X.U. Shang-zhong, L.I. Jun-ya, R.E.N. Hong-yan and Y.A.N.G. Xue-li. 2008. Genetic and statistical analysis between production traits and secondary traits in *Chinese Semintal*. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 39(8): 1025-1032.
7. De Boer, I.J.M. and J.A.M. Van Arendonk.1994. Additive response to selection adjusted for effects of inbreeding in a closed dairy cattle nucleus assuming a large number of gametes per female. Animal Production, 58: 173-180.
8. Dekkers, J. 2001. Economic aspects of applied breeding program. Notes for summer short course. University of Guelph. June 9-13. Available on: www.cgil.uoguelph .ca /pup /theses/Ansell /chapter5, references.pdf.
9. Dekkers, J.C.M. 1992. Structure of breeding programs to capitalize on reproductive technology for genetic improvement. Journal of Dairy Science, 75: 2880-2891.
10. Deputy of Khuzestan Animal production improvement. 2020. The statistics of livestock population in 2020., Khuzestan Agriculture Jihad Organization (In Persian).
11. Hasanpur, K., S.A. Rafat, A. Javanmard and D. Kianzad. 2019. Investigation of non-genetics factors affecting milk-fat content and milk-fat percentage curves' parameters in *Azeri* and *Khuzestani* buffalo breeds. Research on Animal Production (Scientific and Research), 10(26):113-121 (In Persian).
12. Kluyts, J.F. 2004. The development of economic selection indices for the *Simmental* breed in South Africa. Ph.D. Thesis, Faculty of Natural and Agricultural Sciences, Department of Animal, Wildlife and Grassland Sciences, University of the Free State. Bloemfontein.
13. Lindhe, B. and J. Philipsson. 1998. Genetic correlations between production with disease resistance and fertility in dairy cattle and consequences for total merit selection. Acta Agriculturae Scandinavica, 48 pp.
14. Lohuis, M.M., B. Sivanadian and J.C.M. Dekkers. 1997. Expected responses from selection indexes. Dairy Research Report, University of Guelph Publication.
15. Mashayekhi, M.R, B. Taheri Dezfuli, B. Alemzadeh, S. Shafiee and H. Badavi. 2008. Buffalo breeding in Khuzestan. Committee of Khuzestan Extension and Farming System Publication, 20-23. (In Persian).
16. Meuwissen, T.H.E. 1998. Optimizing pure line breeding strategies utilizing reproductive technologies. Journal of Dairy Science, 81: 47-54.
17. Meyer, K. 2007. Wombat-A tool for mixed model analyses in quantitative genetics by restricted maximum likelihood (REML). Journal of Zhejiang University Science B, 11: 815-21.

18. Minervino, A.H.H., M. Zava, D. Vecchio and A. Borghese. 2020. Bubalus bubalis: A Short Story. Frontiers in Veterinary Science, 7: 1-15.
19. Moaeen-ud-Din, M. and G. Bilal. 2016. Genomic selection of *Nili-Ravi* buffalo: A choice for buffalo breeders. Buffalo Bulletin, 35 (4): 595-605.
20. Nicholas, F.W. 1996. Genetic improvement through reproductive technology. Animal Reproduction Science, 42: 205-214.
21. Nigm, A.A., S.A. Abdel-Salam, M. Elsayed, R.R. Sadek and A.S. Abdel-Aziz. 2005. Preliminary results on use of the open nucleus breeding scheme for improving milk production of *Egyptian* buffalo. Egyptian Journal of Animal Production, 42(1): 1-9.
22. Omer, M.B. 1994. Effect of inbreeding coefficient and genetic parameters on productive and reproductive traits in *Egyptian* buffaloes. Ph.D. Thesis, Faculty of Alex. University, Egypt.
23. Quinton, M., C. Smith and M.E. Goddard. 1992. Comparison of selection methods at the same level of inbreeding. Journal of Animal Science, 70: 1060-1067.
24. R Development Core Team. 2019. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. https://www.R-project.org.
25. Rezaee, M. and J. Fayazi. 2017. Estimation of inbreeding in buffalo population of *Iran*. Quarterly Journal of Veterinary Histobiology, 4(1): 14-16 (In Persian).
26. Rosati, A. and L.D. Van Vleck. 2002. Estimation of genetic parameters for milk, fat, protein and *Mozzarella* cheese production for the Italian river buffalo *Bubalus bubalis* population. Livestock Production Science, 74: 185-190.
27. Salehinezhad, M., G. Asgari Jafarabadi and A.A. Sadeghi. 2016. Stochastic simulation of different breeding scenarios of open nucleus strategy for genetic improvement of *Iranian* native buffaloes. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science, 11(1): 37-41.
28. Seno, L.O., J. Fernandez, V.L. Cardoso, L.A. Garcia-Cortes, M. Toro, D.O. Santos, L.G. Albuquerque, G.M.F. de Camargo and H. Tonhati. 2012. Selection strategies for dairy buffaloes: economic and genetic consequences. Journal of Animal Breeding and Genetics, 1-13.
29. Seno, L.O., V.L. Cardoso, L. El Faro, R.C. Sesana, R.R. Aspilcueta- Borquis, G.M.F. de Camargo and H. Tonhati. 2010. Genetic parameters for milk yield, age at first calving and interval between first and second calving in milk *Murrah* buffaloes. Livestock Research for Rural Development., *Volume 22, Article #38.*, from http://www.lrrd.org/lrrd22/2/seno22038.htm.
30. Taheri Dezfuli, B., A. Nejati Javarmi, M.A. Abbasi, J. Fayazi and M. Chamani. 2012. Performance evaluation and estimation of genetic parameters for production and reproductive traits of buffaloes in Khuzestan province. Journal of Veterinary Medicine, 8(3): 45-53 (In Persian).
31. Taheri Dezfuli, B. and L. De Seno. 2016. Investigation of responses to selection for milk traits in dairy buffalo of Iran based on three sale situations. Buffalo Bulletin, 35(3): 405-415.
32. Taheri Dezfuli, B. 2019. Estimation of economic value for production, reproductive and survival traits of buffaloes of Khuzestan province in two milk sale conditions. Research on Animal Production (Scientific and Research), 10(26): 90-103 (In Persian).
33. Thevamanoharan, K., W. Vandepitte, G. Mohiuddin and K. Javed. 2002. Animal model heritability estimates for various production and reproduction traits of *NiliRavi* buffaloes. International Journal of Agriculture and Biology, 40(3): 357-361.
34. Tonhati H., F.B. Vasconcellos and L.G. Albuquerque. 2000. Genetic aspects of productive and reproductive traits in a *Murrah* buffalo herd in Sao Paulo, Brazil. Journal of Animal Breeding and Genetics, 17(5): 331-336.
35. Tonhati, H., M.F. Ceron-Munoz, J.A. de Oliveira, L. El Faro, A.L.F. Lima and L.G. De Albuquerque. 2008. Test-day milk yield as a selection criterion for dairy buffaloes (Bubalus bubalis Artiodactyla, Bovidae). Genetics and Molecular Biology, 31(3): 674-679.
36. Vasconcellos, B.F. and H. Tonhati. 1998. Inbreeding and its effects on some productive and reproductive traits in a *Murrah* buffalo herd. Journal of Animal Breeding and Genetics, 115: 299-306.
37. Yadav, M.P. 2004. Prospects of improving buffalo production in India. Proceedings of the 7th World Buffalo Congress, Invited papers, Philippines, 69-70 pp.

Genetic and Economic Evaluation of Progeny Testing Selection Programs with Different Levels of Artificial Insemination and Milk Recording for Breeding of Khuzestani Buffalo

Bahareh Taheri Dezfuli[1]

1- Scientific Board of Animal Science Research Department, Khuzestan Agricultural and Natural Recourses Research and Education Centre, AREEO, Ahwaz, Iran (Corresponding author: bahare.taheri@gmail.com)
Received: March 31, 2021 Accepted: May 2, 2021

Abstract

In this study, in order to genetic and economic evaluation of the progeny testing selection program and the usual selection program of buffaloes in *Khuzestan*, 3000 buffalo cows were simulated using R program. In each progeny test programs, different levels of milk recording (100, 80, 50 and 20%) and artificial insemination (100, 80, 50 and 20%) were used and in usual program, the selection was based on pedigree information of male calf and its mother milk production. In the selection index, two traits of milk production and fat percentage were considered. The studied programs were compared based on genetic improvement, production changes, total genotypic value and costs and revenues of programs. In study of selection programs, it was observed that with increasing the proportion of herds covered by artificial insemination, genetic progress and changes in total genotypic value were increased in progeny testing programs. This increasing was also observed for the cost and revenue of each of considered programs. In addition to artificial insemination, the milk recording system was also effective in increasing the two parameters of cost and revenue. However, the additional costs of using milk recording system and artificial insemination were offset by increased revenue from performance of better buffaloes. In general, based on changes in total genotypic value, genetic improvement of milk production and minimum cost and maximum income of the programs, the progeny testing selection program with 20% of milk recording and 100% of artificial insemination was selected for buffalo herds as the suitable progeny testing program.

Keywords: Buffalo, Cost, Genetic improvement, Khuzestan, Progeny testing

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

تعیین عوامل مدیریتی مؤثر بر میزان تلفات در مزارع پرورش جوجه‌های گوشتی (مطالعه موردی: شهرستان‌های رامیان و آزادشهر)

حسن رجبلی[۱]، فاطمه بحری بیناباج[۲]، شهریار مقصودلو[۳] و رضا راه‌چمنی[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشگاه گنبدکاووس
۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشگاه گنبدکاووس (نویسنده مسوول: fatemebahri_b@yahoo.com)
۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشگاه گنبدکاووس

تاریخ دریافت:۹۹/۶/۱۵ تاریخ پذیرش:۹۹/۱۲/۲۶
صفحه: ۱۸۰ تا ۱۸۶

چکیده

به‌منظور بررسی عوامل مدیریتی مؤثر بر میزان تلفات در مزارع پرورش جوجه‌های گوشتی در شهرستان‌های رامیان و آزادشهر در استان گلستان از ٦٥ واحد فعال مرغداری گوشتی در دوره‌های پرورش ۹۷-۹۸ اطلاعات لازم در قالب پرسشنامه جمع‌آوری شد. برای مقایسه میانگین دو صفت مورد بررسی (تلفات هفته اول و درصد تلفات کل) در سطوح مختلف عوامل مدیریتی از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در رویه GLM نرم‌افزار SAS استفاده شد. نتایج نشان داد که میزان تلفات مرغداری‌ها در شهرستان رامیان نسبت به شهرستان آزادشهر کمتر بود (p>۰/۰۵). به‌طور کلی ظرفیت بالای مرغداری و مساحت زیاد سالن‌ها باعث افزایش تلفات شدند. افزایش دفعات جوجه‌ریزی باعث افزایش تلفات شد (p<۰/۰۵). فاصله مرغداری از شهر، روستا و واحدهای مرغداری مجاور بر میزان تلفات اثرگذار نبود. همچنین سویه، فصل پرورش، سن مدیر و تجربه مدیر در این زمینه اثر معنی‌داری بر میزان تلفات نداشت. تلفات به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر میزان تحصیلات مدیر قرار گرفت و واحدهایی که مدیر آن‌ها تحصیلات دانشگاهی داشتند با تلفات کمتری روبرو شدند (p<۰/۰۵). وجود بیماری، میزان تلفات را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (p<۰/۰۵). نوع خوراک (آردی یا پلت) تأثیر معنی‌داری بر تلفات نداشت اما اثر منبع تهیه خوراک بر تلفات معنی‌دار بود واحدهایی که جیره آماده از کارخانه تهیه کرده بودند تلفات کمتری داشتند (p<۰/۰۵). درمجموع نتایج این تحقیق نشان داد که ظرفیت و مساحت مرغداری، دفعات جوجه‌ریزی، میزان تحصیلات مدیر، وجود بیماری از مهم‌ترین عوامل مدیریتی تأثیرگذار بر میزان تلفات هستند.

واژه‌های کلیدی: استان گلستان، جوجه گوشتی، عوامل مدیریتی، میزان تلفات

مقدمه

افزایش جمعیت انسانی و تقاضای فزاینده برای یک منبع تغذیه‌ای با پروتئین بالا و چربی کم و قیمت نسبتاً مناسب سبب شده است طی چند دهه‌ی گذشته، پرورش مرغ گوشتی در دنیا و ایران به یک صنعت بزرگ و سودآور تبدیل شود (۲۰). درصد تلفات کل شاخص مهمی برای ارزیابی کیفیت مدیریت در پرورش جوجه‌های گوشتی است (۱۲). در صنعت پرورش طیور، افزایش درصد تلفات کل، یکی از موانع سوددهی محسوب می‌شود. عواملی مانند تعداد جوجه در هر متر مربع و فضای دانخوری به ازای هر جوجه بر درصد تلفات کل تأثیرگذار گزارش شده است (۱۶). تلفات به‌طور غیرمستقیم با تمامی جنبه‌های مدیریتی از جمله آماده‌سازی بهداشتی و شرایط محیطی سالن‌ها و نحوه تغذیه با جیره‌های مناسب ارتباط دارد (۷، ۱۴). بحرانی‌ترین زمان برای پرورش جوجه‌های گوشتی هفته اول بعد از بیرون آمدن از تخم است. در این مقطع زمانی اهمیت استفاده از راهکارهای مدیریتی‌وبهداشتی جهت جلوگیری از تلفات بیش از هر مقطع سنی دیگری احساس می‌شود (۱۳، ۲۹). اشتباه مدیریتی که در طول اولین هفته رخ دهد، به هیچ‌وجه قابل جبران در مراحل بعدی دوره پرورش نیست (۱۲). تلفات در هفته اول به‌طور مستقیم با کیفیت جوجه یک روزه در ارتباط است (۵). در هفته اول زندگی جوجه‌ها تحت تنش‌های زیادی قرار داشته و تلاش می‌کنند با همه این چالش‌ها سازگار شده و شانس بقاء خود را به حداکثر برسانند (۲۸).

در مطالعه هئیر وهمکاران (۱۲) تلفات در گله‌های گوشتی در هفته اول ۱/۵۴ درصد و در طول دوره پرورش تلفات در هر هفته به‌طور متوسط ۰/۴۸ گزارش شد. در گله‌های گوشتی کشور تایوان تلفات هفته اول تحت تأثیر عواملی مانند نوع سیستم تهویه، ارتفاع از سطح دریا و فاصله مرغداری از شهر قرار داشت (۷). در ایران میزان تلفات مورد قبول در طول دوره پرورش (اگر ناشی از بیماری نباشد) ۴ درصد است اما اگر این مقدار بیشتر از ۱۰ درصد باشد، حاکی از شیوع بیماری در واحدهای پرورش است (۴). میزان تلفات در هفته اول در مطالعه یرپس و همکاران (۲۹) به‌طور معنی‌داری با سن پرورش‌دهندگان، نژاد جوجه و ابعاد سالن پرورش ارتباط داشت. بررسی رابطه بین میزان تلفات و ویژگی‌های عمومی و خصوصی مرغداری‌های منطقه قم، نشان داد که فصل و دفعات جوجه‌ریزی و سویه جوجه جزو عوامل مؤثر بر تلفات بودند. همچنین متوسط درصد تلفات کل مرغداری‌ها و مرغداری‌های درگیر بیماری به‌ترتیب ۲۷/۷ و ۴۶/۱ درصد بود (۶).

استان گلستان با توجه به شرایط اقلیمی خاص خود و رشد چشم‌گیر صنایع وابسته مانند کارخانجات تولید دان و کشتارگاه‌های متعدد طیور، جایگاه مهمی در تولید جوجه

گوشتی دارد. کاهش هرچه بیشتر تلفاتی که ناشی از ضعف‌های مدیریتی هستند می‌تواند بر افزایش تولید و کاهش ضرر مرغدار مؤثر باشد. لذا هدف از این تحقیق جمع‌آوری اطلاعات با توجه به مستندات موجود و بررسی علمی داده‌ها جهت تعیین علل تلفات ناشی از عوامل مدیریتی بود.

مواد و روش‌ها

جامعه آماری این تحقیق شامل مرغداری‌های گوشتی فعال شهرستان‌های آزادشهر (۲۷ واحد) و رامیان (۳۸ واحد) در شرق استان گلستان بود. جهت دستیابی به اطلاعات و آمار موردنیاز اقدام به تهیه پرسشنامه شد. روایی پرسشنامه با مشورت با اساتید و پایایی آن با استفاده از نرم‌افزار SPSS (16.0) (۲۶) و محاسبه ضریب آلفای کرونباخ[1] بالای ۰/۶ تأیید شد. سؤالات پرسشنامه شامل مواردی چون موقعیت جغرافیایی و ظرفیت واحد، اطلاعات مدیر (سن، تحصیلات، سابقه مرغداری) علت و میزان تلفات بود. صفات مورد بررسی شامل تلفات در هفته اول (قطعه) و درصد تلفات کل دوره پرورش بود. اثر عوامل مورد مطالعه بر میزان تلفات به کمک رویه GLM نرم‌افزار SAS (9.1.3) (۲۳) بررسی شد و میانگین صفات در سطوح مختلف اثرات مدیریتی به روش آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

اثر منطقه پرورش، ظرفیت، مساحت سالن‌های پرورش و فاصله مرغداری از شهر، روستا و سایر مرغداری‌ها بر تلفات در جدول (۱) ارائه شده است. میزان تلفات در شهرستان رامیان کمتر از آزادشهر امّا فاقد تفاوت معنی دار بود ($p>0/05$). منطقه جغرافیایی و شرایط آب‌وهوایی می‌تواند بر میزان تلفات و عملکرد جوجه‌ها مؤثر باشد (۱۷) و شهرستان رامیان نیز از نظر آب وهوایی معتدل‌تر از آزادشهر است. در مطالعه‌ایی که مجاهدفر (۱۸) در مورد تأثیر اقلیم استان یزد بر میزان تلفات انجام داد مشاهده کرد واحدهای پرورشی که در مناطق سرد و معتدل قرار داشتند نسبت به واحدهایی که در مناطق گرم و خشک بودند تلفات کمتری داشتند.

با افزایش مساحت و ظرفیت واحدهای پرورش، تلفات هفته اول به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ولی در مورد درصد تلفات کل، بین واحدها از این نظر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p>0/05$). محققین گزارش کردند که افزایش ظرفیت مرغداری، باعث تلفات بیشتر شد (۲۴،۱۱،۷). بر خلاف تحقیق حاضر، نتایج بیکی و همکاران (۶) نشان داد که افزایش نسبت سالن به مساحت مرغداری تاثیری در تلفات نداشت. دلیل این امر ممکن است این باشد که سالن‌های بزرگ‌تر با ظرفیت و مساحت بیشتر باید ازنظر سیستم‌های گرمایش، سرمایش و تهویه نیز مجهزتر باشند تا جوجه‌ها از آسایش لازم برخوردار شوند. این‌گونه مرغداری‌ها معمولاً برای صرفه‌جویی در هزینه‌ها از تعداد کارگران کمتری استفاده می‌کنند، که در مجموع با تلفات بیشتری مواجه می‌شوند (۲۴).

فاصله واحد پرورشی با شهر و روستا از نظر آماری اثر معنی‌داری بر میزان تلفات نداشت اگر چه با زیاد شدن فاصله مرغداری از شهر و روستا میزان تلفات افزایش پیدا کرد. اکثر مرغداری‌های موردبررسی در فاصله بیشتر از حداقل فاصله مجاز[1] از شهر قرار داشتند که احتمالاً این امر با اثر گذاشتن بر رساندن امکانات و تجهیزات به مرغداری‌ها باعث افزایش تلفات شده است. در یک تحقیق مشخص شد که درصد ماندگاری جوجه با فاصله مرغداری از اولین شهر در جاده اصلی در ارتباط است و فاصله روی درصد تلفات و ماندگاری اثر معنی‌داری دارد (۲). نتیجه تحقیق هاشمی (۱۱) نشان داد که اثر متقابل فاصله مرغداری با مرغداری‌های دیگر و حصارکشی اطراف مرغداری بر تلفات طیور گوشتی تأثیرگذار بود. بر عکس فاصله مرغداری از شهر و روستای مجاور، میزان تلفات در حالت افزایش فاصله مرغداری‌ها از یکدیگر دارای روند مشخصی نبود. آنچه مشخص است، رعایت فاصله باعث کاهش تلفات شد.

اثر دفعات و فصل جوجه‌ریزی و سویه جوجه بر میزان تلفات در جدول (۲) قابل‌مشاهده است. با افزایش تعداد دفعات جوجه‌ریزی تنها تلفات هفته اول افزایش یافت ($p<0/05$). تعداد دفعات جوجه‌ریزی در سال با رعایت مسائل بهداشتی و در نظر گرفتن توان نیروی انسانی، ۲ تا ۵ نوبت توصیه‌شده است (۲۰). زمان کوتاه بین دو نوبت جوجه‌ریزی و درنتیجه افزایش تعداد دفعات آن در سال، باعث می‌شود که هوادهی و ضدعفونی سالن به‌طور اصولی انجام نشود و درصد تلفات بالا رود (۲۰). شاه‌ولی و معینی‌زاده (۲۴) مشاهده کردند که عدم رعایت فاصله ۲ تا ۳ هفته‌ای بین دفعات جوجه‌ریزی، منجر به افزایش تلفات شد. طبق نتایج این تحقیق، سویه اثر معنی‌داری بر تلفات نداشت ($p>0/05$) هرچند که تلفات در جوجه‌های نژاد راس بیشتر بود. دلیل این امر شاید استفاده تعداد بیشتری از مرغداران از نژاد راس نسبت به دیگر نژادها بود و پراکندگی مناسبی بین نژادها دیده نمی‌شد. نتایج این مطالعه با نتایج منافی‌آذر و همکاران (۱۵)، شریعتمداری و همکاران (۲۵) و منوچهرپور و همکاران (۱۶) که اثر معنی‌دار سویه بر تلفات را مشاهده نکردند، مطابقت دارد، اما با نتایج مرادی و همکاران (۱۹) مغایرت دارد.

اثر فصل پرورش بر تلفات از نظر آماری معنی‌دار نبود گرچه در فصل گرم نسبت به فصل سرد تلفات بیشتری مشاهده شد. دلیل عدم معنی‌داری فصل بر تلفات می‌تواند این باشد که در واحدهای مورد بررسی، برای پرورش طیور از سیستم بسته استفاده شده بود که در این نوع سیستم شرایط محیطی به نحو مطلوبی کنترل می‌شود و نوسانات آب وهوایی نتوانسته است بر میزان تلفات اثر معنی‌داری داشته باشد. این نتایج با نتایج علی و همکاران (۱) مطابقت دارد. در فصل‌تابستان به‌علت کاهش رطوبت سالن، بیماری‌های عفونی و تنفسی بیشتر مشاهده می‌شود که این امر درنهایت منجر به تلفات در گله می‌گردد. در بررسی انجام‌شده بر تلفات جوجه گوشتی، در فصل تابستان و پاییز نسبت به فصل زمستان، تلفات بیشتری مشاهده شد (۳).

۱- فاصله مجاز مرغداری تا شهر ۷۰۰ متر، تا روستا و مرغداری مجاور ۴۰۰ متر (سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان)

جدول ۱- اثر شهر، مشخصات سالن و فاصله‌ها بر میزان تلفات مرغداری‌های مورد مطالعه

Table 1. The effect of city, hall characteristics and distances on mortality rate of studied poultry farms

متغیر	سطوح متغیر	تلفات هفته اول(قطعه)	درصد تلفات کل دوره
شهر	آزادشهر	۳۷۴/۲۶	۳/۳۳
	رامیان	۳۰۴/۷۸	۲/۷۶
P-value		۰/۱۰۱	۰/۱۸۲
ظرفیت سالن(قطعه)	کمتر از ۱۰۰۰۰	۱۱۷/۴[b]	۳/۱۰
	۱۰۰۰۰-۲۰۰۰۰	۲۱۰/۲[b]	۲/۹۲
	بیشتر از ۲۰۰۰۰	۶۰۹/۸[a]	۳/۰۰
P-value		۰/۰۰۷	۰/۵۸۴
مساحت سالن(متر)	کمتر از ۱۰۰۰	۱۲۹/۵[b]	۲/۹۹
	۱۰۰۰-۳۰۰۰	۲۶۰/۸[b]	۳/۰۲
	بیشتر از ۳۰۰۰	۶۴۷/۶[a]	۲/۹۷
P-value		۰/۰۲	۰/۹۳۳
فاصله از شهر مجاور (کیلومتر)	۰/۵ -۳	۲۴۸/۷	۳/۰۷
	۳/۵-۶	۳۶۸/۱	۲/۶۶
	بیشتر از ۶/۵	۴۱۵/۶	۳/۲۹
P-value		۰/۷۶۱	۰/۳۴۶
فاصله از روستای مجاور (کیلومتر)	کمتر از ۱	۲۲۵/۸	۲/۶۱
	۱-۲	۳۲۰/۲	۳/۳۰
	بیشتر از ۲	۴۱۵/۲	۲/۷۶
P-value		۰/۱۱۰	۰/۲۵۷
فاصله از مرغداری مجاور (کیلومتر)	۰/۲-۰/۴	۲۰۷/۵	۲/۸۸
	۰/۵-۰/۷	۴۰۵/۵	۳/۰۳
	۰/۸-۱	۳۳۷	۳/۱۷
	بیشتر از ۱	۳۲۸/۸	۲/۸۵
P-value		۰/۲۶۰	۰/۵۰۱

حروف متفاوت در سطوح مختلف هر متغیر نشان دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها است ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲- اثر سویه جوجه، دفعات و فصل جوجه‌ریزی در سال بر میزان تلفات مرغداری‌های مورد مطالعه

Table 2. The effect of chicken strain, frequency and season of chick breeding on mortality rate of studied poultry farms

متغیر	سطوح متغیر	تلفات هفته اول(قطعه)	درصد تلفات کل دوره
دفعات جوجه‌ریزی در سال	۴ مرحله	۲۳۲/۵[b]	۲/۹۲
	۵ مرحله	۴۵۸/۷۹[a]	۳/۰۶
P-value		۰/۰۲۲	۰/۲۸۶
فصل جوجه‌ریزی	گرم	۳۵۶/۰۵	۲/۸۸
	سرد	۳۰۱/۶۷	۳/۱۷
P-value		۰/۵۱۲	۰/۶۷۲
سویه	راس	۳۳۸/۸	۲/۹۷
	غیر راس	۲۸۹/۳۲	۳/۲۴
P-value		۰/۴۳۴	۰/۳۹۳

حروف متفاوت در سطوح مختلف هر متغیر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها است ($p<۰/۰۵$).

در جدول ۳ نتایج حاصل از اثر سن، تجربه مرغداری و میزان تحصیلات مدیران بر تلفات مرغداری‌های گوشتی ارائه‌شده است. سن و تجربه مدیر نتوانست تأثیر معنی‌داری ازلحاظ آماری بر تلفات داشته باشد. در واحدهایی که سن مدیر کمتر از ۵۰ سال بود، میزان تلفات کمتر بود، در واقع واحدهایی که مدیرانی جوان داشتند دچار تلفات کمتری شده‌اند. یکی از دلایل آن می‌تواند این باشد که افراد جوان سطح تحصیلات بالاتری دارند و از روش‌های به‌روزتری برای اداره مرغداری بهره می‌برند. این نتایج هم‌راستا با نتایج مجاهدی‌فر (۱۸) است. همچنین با افزایش تجربه و سابقه مدیر، تلفات کاهش پیدا کرد. تجربه بالای مدیران در زمینه پرورش و آگاهی و اطلاعات آن‌ها به امور اجرایی و فنی می‌تواند از دلایل کاهش تلفات باشد. نتایج این تحقیق با نتایج گلاتز و پیم (۱۰) مطابقت دارد.

در رابطه با تأثیر سطح تحصیلات بر تلفات مطالعات فراوانی صورت گرفته است. یکی از عوامل مؤثر در موفقیت

کار مرغداری، میزان دانش و آگاهی مدیران از این حرفه است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان تحصیلات مدیران بر تلفات هفته اول تأثیر معنی‌داری نداشت اما درصد تلفات در مرغداری‌هایی که مدیران آن تحصیلات دانشگاهی داشتند کاهش معنی‌داری داشت. در راستای نتایج این مطالعه، نتایج هاشمی (۱۱) و رضایی (۲۱) نشان می‌دهد که واحدهایی که توسط مدیران تحصیل‌کرده اداره می‌شد به‌دلیل داشتن توانایی و تسلط به پرورش مرغ گوشتی با تلفات کمتری روبرو بودند.

جدول ۳- اثر ویژگی‌های فردی و اجتماعی مدیر بر میزان تلفات مرغداری‌های مورد مطالعه
Table 3. The effect of individual and social characteristics of farm manager on mortality rate of the studied poultry farms

متغیر	سطوح مغیر	تلفات هفته اول (قطعه)	درصد تلفات کل دوره
سن (سال)	کمتر از ۵۰	۳۲۶/۸۱	۳/۲۸
	بیشتر از ۵۰	۳۴۱/۷۲	۲/۶۵
	P-value	۰/۸۹۹	۰/۳۵۹
سطح تحصیلات	غیر دانشگاهی	۴۰۱/۲۰	۳/۵[a]
	دانشگاهی	۲۹۱/۱۳	۲/۶[b]
	P-value	۰/۶۹۰	۰/۴۵۳
تجربه شغلی (سال)	کمتر از ۱۰	۴۲۷/۶	۳/۰۸
	۱۰- ۲۰	۳۳۵/۰	۳/۱۶
	بیشتر از ۲۰	۲۴۶/۸	۲/۶۱
	P-value	۰/۲۱۷	۰/۲۸۷

جدول ۴ نشان می‌دهد واحدهایی که درگیر بیماری بوده‌اند تلفات بیشتری داشتند و این افزایش تلفات ازلحاظ آماری معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). بروز عفونت و بیماری همیشه یکی از معضلات مهم در صنعت مرغداری بوده است. آلودگی‌های میکروبی را می‌توان با رعایت اصول پیشگیری از بیماری‌ها و کاربرد معیارهای مدیریتی مهار نمود. احتمالاً بیماری‌های متابولیکی در انتهای دوره پرورش به‌عنوان عامل مکمل در کنار بیماری‌ها، تلفات را افزایش می‌دهند ولی دلیل اصلی تلفات بیماری‌های عفونی است (۲۰). نتایج بشاشتی و همکاران (۴) نشان داد که نرخ تلفات در حدود ۴ درصد ناشی از مرگ‌ومیر طبیعی و بالای ۱۰ درصد به‌دلیل شیوع بیماری در گله می‌باشد.

جدول ۴- اثر وجود بیماری بر میزان تلفات مرغداری‌های مورد مطالعه
Table 4. The effect of disease occurrence on mortality rate of studied poultry farms

متغیر	سطوح تغییر	تلفات هفته اول (قطعه)	درصد تلفات کل دوره
بیماری	دارد	۵۳۶/۱۹[a]	۳/۶۰[a]
	ندارد	۲۴۱/۴۸[b]	۲/۷۱[b]
	P-value	۰/۰۰۱	۰/۰۰۴

حروف متفاوت در سطوح مختلف هر متغیر نشان دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها است ($p<۰/۰۵$).

شکل فیزیکی خوراک و همچنین اثر منبع تهیه جیره بر میزان تلفات در این تحقیق بررسی شد. مطابق نتایج جدول ۵، نوع و شکل فیزیکی خوراک نتوانست تأثیر معنی‌داری بر تلفات هفته اول داشته باشد، اما کمترین تلفات مربوط به واحدهایی بود که از جیره آردی استفاده کرده بودند. عدم کسب نتیجه مطلوب از مصرف جیره‌های پلت‌شده در تغذیه جوجه‌های گوشتی ناشی از عدم اعمال مدیریت و برنامه صحیح مصرف این نوع جیره‌ها و احتمالاً کیفیت نامطلوب پلت مصرفی در واحدهای مرغداری گوشتی است. همچنین رابطه‌ای بین تغذیه دان پلت و برخی از بیماری‌های متابولیکی دیده‌شده است (۲۷). افزایش میزان رشد ناشی از تغذیه جیره پلت ممکن است مرگ‌ومیر را به‌دلیل دیسکندروپلازیای درشت نی افزایش دهد (۸). تغییرات شیمیایی در حین تهیه پلت نیز بر هضم و جذب خوراک و در نتیجه بیماری‌های متابولیکی تاثیر می‌گذارد (۹). در مورد درصد تلفات کل دوره نتیجه متفاوتی مشاهده شد و واحدهای استفاده‌کننده پلت از کمترین درصد تلفات برخوردار بودند. نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج صحرایی و همکاران (۲۲) و هاشمی (۱۱) مطابق بود. آنها نشان داد که اثر نوع دان بر تلفات معنی‌دار نیست. از طرف دیگر شاه‌ولی و معینی‌زاده (۲۴) در پژوهش خود مشاهده کردند که استفاده از خوراک به‌صورت آردی تلفات را به میزان زیادی بالا برده‌است. اثر منبع تهیه جیره بر انواع تلفات موردبررسی در این مطالعه، معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$) (جدول ۵). واحدهایی که جیره خود را به‌صورت آماده تهیه کرده بودند نسبت به واحدهایی که اقدام به تهیه جیره در مزرعه کرده بودند، تلفات کمتری داشتند. دلیل این امر می‌تواند این باشد که کارخانه‌های تولید خوراک دام‌وطیور تحت نظارت و بررسی دقیق قرار دارند و در مقابل خریدار

دارای تعهد هستند و به کیفیت و مرغوبیت خوراک، بیشتر توجه می‌کنند. بااین‌وجود، نتایج مطالعه حاضر با نتایج پژوهش بیکی و همکاران (۶) در تضاد است. این پژوهشگران مشاهده کردند که مرغداری‌هایی که از خوراک تهیه‌شده در کارخانه استفاده کرده بودند تلفات بیشتری داشتند.

جدول ۵- اثر نوع دان و منبع تهیه دان بر میزان تلفات مرغداری‌های مورد مطالعه

Table 5. The effect of diet type and source of diet preparation on mortality rate of studied poultry farms

متغیر	سطوح تغییر	تلفات هفته اول(قطعه)	درصد تلفات کل دوره
نوع دان	آردی	۳۰۴/۲	۳/۱۴
	پلت	۳۴۰/۸	۲/۹۶
P-value		۰/۲۱۲	۰/۱۷۴
شیوه تهیه دان	آماده	۲۵۲/۱^{b}	۲/۷۷^{b}
	تهیه در مزرعه	۵۶۳/۲^{a}	۳/۶۴^{a}
P-value		۰/۰۳	۰/۰۲۴

حروف متفاوت در سطوح مختلف هر متغیر نشان دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها است ($p<۰/۰۵$).

به‌طورکلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در مزارع پرورش جوجه گوشتی در دو شهرستان آزادشهر و رامیان، ظرفیت و مساحت مرغداری، میزان تحصیلات مدیر، وجود بیماری و منبع تهیه خوراک از مهم‌ترین عوامل مدیریتی تأثیرگذار بر میزان تلفات هستند. بنابراین در احداث واحدهای مرغداری گوشتی جدید، باید به ظرفیت و مساحت مرغداری، دفعات جوجه‌ریزی و وجود بیماری به‌عنوان مؤلفه‌های تأثیرگذار در میزان تلفات توجه جدی شود.

منابع

1. Ali, M.Y., S.S. Jahan, A.K. Das and M.A. Islam. 2015. Seasonal Influence on Productivity and Profitability of Small and Medium Scale Broiler Farming in Bangladesh. International Journal Livestock Research, 5: 21-29.
2. Arian, A., R. Vakili and M. Mazhari. 2009. Study of broiler management and its relation with economic performance in Sabzevar city. M.Sc Thesis. Islamic Azad University of Kashmar, Iran (In Persian).
3. Azizzadeh, M., Gh.A. Kalidari, J. Razmyar, H. Varasteh Moghaddam and M. Razheh. 2012. Mortality rate and it's risk factors in broiler flocks inclusive of insurance payment in Mashhad, Iran. Veterinary Journal (Pajouhesh and Sazandegi), 99: 44-49 (In Persian).
4. Bashashati, M., P.H. Khoshkhoo, A. Bahonar, A. Kazemiand and F. Sabouri. 2010. Poultry diseases in Iran: An epidemiological study on different causes of mortality in broilers. International Journal of Veterinary Research, 4(3): 177-182.
5. Bassett, A. 2011. Mortality in Poultry. Animal Welfare Approved. Available at: https://animalwelfareapproved.us/wp-content/uploads/2013/07/TAFS-8-Mortality-in Poultry-v3.pdf.
6. Beiki, M., A. Tayebi, M. Hashemi, M. Ebdali and M. Zafari. 2015. Evaluation of primary mortality rates of broiler farms in Qom district in agricultural year 2012-13. Journal of Livestock and Poultry Research, 4(1): 25-34 (In Persian).
7. Chou, C.C., D.D. Jiang and Y.P. Hung. 2004. Risk Factors for cumulative mortality in broiler chicken flocks in the first week of life in Taiwan. British Poultry Science, 45(5): 573- 577.
8. Decuypere, E., G. Vega, T. Bartha, J. Buyse, J. Zoons and G.A.A. Albers.1994. Increased sensivity to triiodthyronine (T3) of broiler lines with a high susceptibility to ascites. British Poultry Sciemce, 35(4): 287-297
9. Ebrahimnezhad, Y. and H. Shrabi. 2017. The effect of different levels of levamisole drug on performance and related parameters with immune system in broiler chickens. Research on Animal Production, 8(15): 105-114 (In Persian).
10. Glatz, P. and R. Pym. 2013. Poultry housing and management in developing countries. Poultry Development Review, 1-5.
11. Hashemi, A. 2005. Explain the risk factors and the effect of each in broiler farms. The Second Scientific Conference on Agricultural Insurance, Development and Investment Security. Agricultural Products Insurance Fund, Tehran (In Persian).
12. Heier, B.T., H.R. Hoqasen and J. Jarp. 2002. Factors associated with mortality in Norwegian broiler flocks. Preventive Veterinary Medicine, 53: 147-158.
13. Khodaei, H., S.H. Maghsoudlou, A.M. Garehbash and Z. Taraz. 2015. Effect of physical form of feed and dietary supplementation of probiotic and prebiotic on performance and carcass characteristics of broiler chickens. Research on Animal Production, 6(12): 20-29 (In Persian).
14. Kleyn, R. 2005. Strategies for managing expensive feed on farm. Spesfeed (Pty) Ltd, South Africa.

15. ManafiAzar, G.H., M. H. Akhavan, M. Amini and M. Faraji. 2008. Comparison of growth and carcass traits of different strains of broilers in Iran. Journal of Research and Construction on Livestock and Aquaculture, 78: 88-94 (In Persian).
16. Manouchehrpour, M., K. Karimi and K. Zand. 2012. Investigating the relationship between some management indicators and the parameters of the internal environment of broiler farms in Mazandaran province. Conference on Agricultural Opportunities, Food Security and Healthy Products. Islamic Azad University, Varamin Branch, 199 (In Persian).
17. Mohiti-Asli, M., N. Ghavi Hossein-Zadeh, H. Darmani-Kuhi and M. Shirali. 2015. A survey on relationship between factors affecting the performance of broiler chicks rose in two different geographical regions of Iran. Animal Production Research, 3 (4): 1-9 (In Persian).
18. Mojahedifar, A. 2000. Investigation of productivity and optimal allocation of production factors in meat poultry farms in Yazd province. M.Sc Thesis in Agricultural Economics, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (In Persian).
19. Moradi, M., A. Oryani and M. Zaghari. 2001. Comparison of performance of economic traits of meat mixtures in Iran. Journal of Research and Construction, 50: 54-57 (In Persian).
20. Rasouli, N. 2016. Determining the effective management factors on broiler losses: a case study in Zanjan province. M. Sc Thesis. Zanjan Univercity, Iran, pp 195 (In Persian).
21. Rezaii, M. 2010. Survey of health and management status of broiler farms in Tehran province. M.Sc Thesis. Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (In Persian).
22. Sahraei, M., H. Lotfullahian, A. Ghanbari, R. Karami, S.A. Hosseini, A. Abarghani and M. Bahloli. 2016. Evaluating the broiler farm management indices at Ardabil province. Animal Science Journal (Pajouhesh and Sazandegi), 114: 143-156 (In Persian).
23. SAS Institute. 2000. SAS/STAT user's guide. SAS Institute Inc, Cary.
24. Shahvali, M. and H. Moienizadeh. 2008. Investigating the effective factors on feed waste in the country's poultry industry and ways to reduce it. Journal of Research and Construction in Livestock and Aquatic Affairs, 79: 115-127 (In Persian).
25. Shariatmadari, F., M.J. Rezaei and H. Lotf allahian. 2005. Comparison of performance of production traits of commercial broiler chickens. Research and construction in livestock and aquaculture, 67: 68-75 (In Persian).
26. SPSS. 2007. Statistical Package for Social Sciences Study. SPSS for Windows, Version 17. Chicago SPSS Inc.
27. Varmaghani, S.A. 2018. Practical solutions to reduce ascites losses in broilers. Agricultural Research, Education and Extension Organization, Agricultural Education Publishing, Karaj, pp 48 (In Persian).
28. Yerpes, M., I. Hernandez and X. Manteca. 2019. Thermal stress in day- old chicks: Risk factors and effects on mortality. Animal Welfare, Under review.
29. Yerpes, M., P. Lionch and X. Manteca. 2020. Factors associated with cumulative first week mortality in broiler chicks. Animals, 10 (2): 1-13.

Determining the Effective Management Factors on Mortality Rate in Broiler Farms (Case Study: Ramyan and Azadshahr Cities)

Hasan Rajabli[1], Fateme Bahri Binabaj[2], Shahriyar Maghsoudloo[3] and Reza Rahchamani[3]

1- Graduated M.Sc. Student, Department of Animal Sciences, Gonbad Kavous University
2- Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Gonbad Kavous University
(Corresponding author: Fatemebahri_b@yahoo.com)
3- Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Gonbad Kavous University
Received: 5 Sep, 2020 Accepted: 16 Mar, 2021

Abstract

In order to investigate the management factors affecting the mortality rate in broiler farms in Ramyan and Azadshahr cities in Golestan Province, Iran, the necessary information was collected in form of questionnaire from 65 active broiler farms between years 2018 to 2019 breeding period. To compare the means of studied traits (first week mortality and whole breeding period mortality) at different levels of management factors GLM procedure of SAS software was used. The results showed that the mortality rate in broiler farms in Ramyan was lower than Azadshahr city ($p<0.05$). Large hall area, high density of chickens and times of breeding per year increased mortality rate. The distance of the broiler farm from the nearest city, village and other poultry farms did not affect the mortality rate. Also, chick strain, breeding season, manager age and experience had no significant effect on mortality rate. Farms that their managers had higher educational level experienced lower mortality ($p<0.05$). The presence of any kind of disease significantly increased the mortality rate ($p<0.05$). Diet type (mash or pellets) had no significant effect on mortality but the effect of feed preparation source on mortality was significant and farms that prepared food from the factory had lower mortality rate ($p<0.05$). Generally, the results of this study showed that chicken density, farm area, breeding frequency during a year, manager educational level and disease are the most important managerial factors affecting mortality rate and should be considered to increase the survival of chicks.

Keywords: Broiler Chicken, Golestan Province, Managerial Factors, Mortality Rate