



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

پژوهشهای تولیدات دامی (علمی)

ISSN 2251-8622

سال چهاردهم، شماره ۳۹، بهار ۱۴۰۲

مندرجات:

- ۱ مقایسه اسیدیفایر تولیدی بر پایه اسیدسیتریک با نمونه تجاری در آب آشامیدنی بر عملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم، pH و مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی
علیرضا حسایی نامقی، علی نسری‌نژاد و مرضیه افخمی
- ۱۰ اثر پپتیدهای زیست فعال سوپرورم بر عملکرد، ریخت‌شناسی و جمعیت میکروبی روده و پاسخ‌های ایمنی در جوجه‌های گوشتی
سیده پردن بزرگ‌نیا، محمد کاظمی‌فرد، منصور رضایی و پویان مهربان
- ۲۱ اثرات طول مدت، محل و وضعیت نگهداری تخم‌مرغ‌های خوراکی در یخچال‌های خانگی بر صفات کیفی، صفات پوسته و شاخص‌های بیوشیمیایی زرده تخم‌مرغ
علی نوبخت
- ۲۸ پیامد کاربرد میوه بلوط ایرانی در جیره جوجه‌های گوشتی: ارزیابی برخی ویژگی‌های گوشت
هاجر غریب اردکانی، محمد هوشمند، رضا نقی‌ها و سیامک پارسایی
- ۳۷ بررسی اثر مصرف اسانس ریز پوستانی شده در شرایط تراکم گله بر عملکرد، ریخت‌شناسی روده باریک و اسیدیته دستگاه گوارش جوجه گوشتی
زهرآ تهامی و احسان اسکویان
- ۴۸ تأثیر تغذیه متناوب پروتئین خام جیره بر عملکرد رشد در بره‌های نر پرواری
ظاهر یلچی
- ۵۶ بررسی اثر اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ روی عملکرد رشدی، متابولیت‌های خونی و شاخص‌های سلامتی گوساله‌های شیرخوار هلستاین بهرام محتشمی و حامد خلیوندی بهروزیان
- ۶۶ مقایسه اثر استفاده از یافر شیمیایی و باکتری‌های مصرف‌کننده اسید بر قابلیت هضم و تخمیر، عملکرد رشد و کیفیت گوشت بره‌های تغذیه شده با جیره‌های پرکنسنتره
فرشته وفا، مرتضی چاچی و امید خراسانی
- ۷۸ تأثیر استفاده از سطوح مختلف دانه کامل و آسیاب شده کتان بر عملکرد، گوارش‌پذیری، فراسنجه‌های خونی و پروتئین میکروبی بره‌های کیبده شیرازی
سیده حمیده حسینی، محمد رضا دهقانی، عبدالحمد کریمی، مصطفی یوسف الهی و محمد جواد ابرقویی
- ۸۶ تأثیر تغذیه علوفه کامل ریحان بر قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های خون و عملکرد بره‌های پرواری زندگی گلنور کوثری، محمدعلی نوروزیان، بهزاد خرمی و غلامعباس اکبری
- ۹۴ تأثیر علف کش رانداپ بر بیان نسبی ژن‌های تنظیم‌کننده استروئید سازی و متیلاسیون جایگاه پرموتور ژن STAR در تکامل برون تنی اووسایت بز
مایده غلامی، حمید دلدار، زریخت انصاری پیرسرایی و علی بزرگر
- ۱۰۲ ارزیابی مقایسه‌ای عملکرد ملکه‌های اصلاح شده زنبورعسل ایرانی (*Apis mellifera meda* Skorikov 1929) در شرایط اقلیمی استان کردستان
عماله رحیمی، غلامحسین طهماسبی، حمیدرضا بهمنی، صالح صالحی، بدرالدین زارع، عبدالستارپارسانسب و بابک رخزاد
- ۱۱۲ کمی‌سازی تأثیر تغییر اقلیم بر تولید شیر در یکی از دامداری‌های صنعتی در بابلسر
شمیمه شیخی ارجنکی، مهدی نادری، جواد رحمانی‌نیا و بهروز محمدنظری
- ۱۲۱ پویش ژنومی برای شناسایی رشته‌های هموزیگوت و ژن‌های موجود در این نواحی در ژنوم گوسفندان بومی ایرانی
عباس میرزاپور آبی‌گللو، نعمت هدایت، رضا خلخالی ایوبی، رضا سیدشرفی و حسین عبدی‌بنمار
- ۱۳۱ مقایسه برخی نرم‌افزارهای مکان‌یابی در آنالیز داده‌های RNA-Seq گاو شیری
قربان الیاسی زین‌قبایی، مصطفی صادقی و سیدرضا میرایی آشتیانی
- ۱۳۹ اثر خطای شجره بر وراثت‌پذیری و صحت پیش‌بینی ارزش اصلاحی در صفات آستانه‌ای
میثم لطیفی و یوسف نادری
- ۱۴۵ بررسی میزان تأثیر اثرات ژنتیکی غالبیت بر صحت ارزیابی ژنومی
مسلم کریمی، فرهاد غفوری کسبی و پویا زمانی
- ۱۵۴ تجزیه داده‌های ژنومی حاصل از 70 k SNP chip جهت شناسایی جایگاه‌های مرتبط با تمایز دو نژاد اسپ کرد و کاسپین با استفاده از جاروب انتخاب مחדنه نصیریور، محمد مرادی شهر بابک، حسین مرادی شهر بابک، حسن مهربانی یگانه و یونس دوستی

«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.



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

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

پژوهشهای تولیدات دامی

سال چهاردهم، شماره ۳۹، بهار ۱۴۰۲

مندرجات:

- ۱ مقایسه اسیدیفایر تولیدی بر پایه اسیدسیتریک با نمونه تجاری در آب آشامیدنی بر عملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم، pH و مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی
علیرضا حسینی نامقی، علی نسری‌نژاد و مرضیه افخمی
- ۱۰ اثر پیتیدهای زیست فعال سوپروروم بر عملکرد، ریخت‌شناسی و جمعیت میکروبی روده و پاسخ‌های ایمنی در جوجه‌های گوشتی
سیده پرند بزرگ‌تبار، محمد کاظمی‌فرد، منصور رضایی و پویان مهربان
- ۲۱ اثرات طول مدت، محل و وضعیت نگهداری تخم‌مرغ‌های خوراکی در یخچال‌های خانگی بر صفات کیفی، صفات پوسته و شاخص‌های بیوشیمیایی زرده تخم‌مرغ
علی نوبخت
- ۲۸ پیامد کاربرد میوه بلوط ایرانی در جیره جوجه‌های گوشتی: ارزیابی برخی ویژگی‌های گوشت
هاجر غریب اردکانی، محمد هوشمند، رضا نقی‌ها و سیامک پارسایی
- ۳۷ بررسی اثر مصرف اسانس ریز پوشانی شده در شرایط تراکم گله بر عملکرد، ریخت‌شناسی روده باریک و اسیدپتید دستگاه گوارش جوجه گوشتی
زهره تهامی و احسان اسکوییان
- ۴۸ تأثیر تغذیه متناوب پروتئین خام جیره بر عملکرد رشد در بره‌های نر پرواری
طاهر یلچی
- ۵۶ بررسی اثر اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ روی عملکرد رشدی، متابولیت‌های خونی و شاخص‌های سلامتی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین
بهرام محتشمی و حامد خلیلوندی بهروزیار
- ۶۶ مقایسه‌ی اثر استفاده از بافر شیمیایی و باکتری‌های مصرف‌کننده اسید بر قابلیت هضم و تخمیر، عملکرد رشد و کیفیت گوشت بره‌های تغذیه شده با جیره‌های پرکنسانتره
فرشته وفایی، مرتضی چاچی و امید خراسانی
- ۷۸ تأثیر استفاده از سطوح مختلف دانه کامل و آسیاب شده کتان بر عملکرد، گوارش‌پذیری، فراسنجه‌های خونی و پروتئین میکروبی بره‌های کبوده شیرازی
سیده حمیده حسینی، محمد رضا دهقانی، عبدالحمید کریمی، مصطفی یوسف الهی و محمد جواد ابرقویی
- ۸۶ تأثیر تغذیه علوفه کامل ریحان بر قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های خون و عملکرد بره‌های پرواری زندی
گلنور کوثری، محمدعلی نوروزیان، بهزاد خرمی و غلام‌عباس اکبری
- ۹۴ تأثیر علف کش راندآپ بر بیان نسبی ژن‌های تنظیم‌کننده‌ی استروئید سازی و متیلاسیون جایگاه پروموتور ژن StAR در تکامل برون تنی اووسایت بز
مایده غلامی، حمید دلدار، زربخت انصاری پیرسرای و علی بزرگر
- ۱۰۲ ارزیابی مقایسه‌ای عملکرد ملکه‌های اصلاح شده زنبورعسل ایرانی (*Apis mellifera meda* Skorikov 1929) در شرایط اقلیمی استان کردستان
عطاله رحیمی، غلامحسین طهماسبی، حمیدرضا بهمنی، صالح صالحی، بدرالدین زارع، عبدالستارپارسانسب و بابک رخزاد
- ۱۱۲ کمی‌سازی تأثیر تغییر اقلیم بر تولید شیر در یکی از دامداری‌های صنعتی در بابلسر
شمیمه شیخی ارجنکی، مهدی نادی، جواد رحمانی‌نیا و بهروز محمدنظری
- ۱۲۱ پویش ژنومی برای شناسایی رشته‌های هموزیگوت و ژن‌های موجود در این نواحی در ژنوم گوسفندان بومی ایرانی
عباس میرزاپور آبی‌گللو، نعمت هدایت، رضا خلخالی ایوریق، رضا سیدشرفی و حسین عبدی‌بنمار
- ۱۳۱ مقایسه برخی نرم‌افزارهای مکان‌یابی در آنالیز داده‌های RNA-Seq گاو شیری
قربان الیاسی زرین‌قبایی، مصطفی صادقی و سیدرضا میرایی آشتیانی
- ۱۳۹ اثر خطای شجره بر وراثت‌پذیری و صحت پیش‌بینی ارزش اصلاحی در صفات آستانه‌ای
میثم لطیفی و یوسف نادری
- ۱۴۵ بررسی میزان تأثیر اثرات ژنتیکی غالبیت بر صحت ارزیابی ژنومی
مسلم کریمی، فرهاد غفوری کسبی و پویا زمانی
- ۱۵۴ تجزیه داده‌های ژنومی حاصل از 70 k SNP chip جهت شناسایی جایگاه‌های مرتبط با تمایز دو نژاد اسب کرد و کاسپین با استفاده از جاروب انتخاب
محدثه نصیرپور، محمد مرادی شهر بابک، حسین مرادی شهر بابک، حسن مهربانی یگانه و یونس دوستی

- دکتر فاطمه بحری**
استادیار دانشگاه گنبد کاووس
- دکتر جواد احمد پناه**
استادیار پژوهشی مرکز تحقیقات ایلام
- دکتر حبیب اقدم شهریار**
دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر
- دکتر سجاد بادبرین**
استادیار مرکز تحقیقات کرمانشاه
- دکتر آزاده ترابی**
استادیار، دانشگاه پیام نور
- دکتر اسداله تیموری**
استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
- دکتر فریبرز خواجهلی**
استاد دانشگاه شهرکرد
- دکتر علیرضا خان احمدی**
استادیار، دانشگاه گنبد کاووس
- دکتر قدرت رحیمی میانجی**
استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
- دکتر فرجاده رفیعی**
استادیار دانشگاه گیلان
- دکتر رحیمه سپهری**
استادیار دانشگاه زنجان
- دکتر کمال سحرخیز**
دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
- دکتر پروین شورنگ**
دانشیار پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای
- دکتر همایون فرهنگفر**
استاد دانشگاه بیرجند
- دکتر فرید فیروزبخش**
دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
- دکتر مانده فیض**
دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
- دکتر خلیل قربانی**
دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
- دکتر فرزاد قنبری**
استاد دانشگاه گنبد کاووس
- دکتر محمد کاظمی فرد**
دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
- دکتر مهدی مخبر**
استادیار دانشگاه ارومیه
- دکتر فرید مسلمی پور**
دانشیار دانشگاه گنبد کاووس
- دکتر حسین محب‌الدینی**
استادیار دانشگاه محقق اردبیلی
- دکتر بهرام محتشمی**
دکتری دانشگاه ارومیه
- دکتر اعظم میرحیدری**
دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
- دکتر ابودر نجفی**
استادیار، دانشگاه تهران
- دکتر محمود نظری**
دانشیار دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
- دکتر رضا نوروز ولاشدی**
استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
- دکتر وجیهه نیکوفرد**
استادیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه
- دکتر شیدا و رکوهی**
استادیار دانشگاه رازی
- دکتر سید رضا هاشمی**
استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
- دکتر محمد هوشمند**
استادیار دانشگاه یاسوج
- دکتر مرتضی یوسفی**
استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه
- دکتر سارا یوسفیان**
دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

هیئت تحریریه:

- انصاری پیرسرای، زربخت
بلداجی، فتح الله
تربتی نژاد، نورمحمد
تیموری، اسدالله
جعفری آهنگری، یوسف
حافظیان، سیدحسین
رحیمی میانجی، قدرت
رضائی، منصور
شیوازاد، محمود
مرادی شهر بابک، محمد
نصیری مقدم، حسن
- دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
استاد، دانشگاه تهران
استاد، دانشگاه فردوسی مشهد

ویراستار علمی: قدرت رحیمی میانجی

صفحه آرای: دفتر پژوهشنامه - فاطمه اسماعیلی، خاطره اسدی

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.

۴-۱- عنوان

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

۴-۲- چکیده مبسوط

نویسندگان باید چکیده‌ای به صورت مبسوط (در بخش فارسی و لاتین) شامل تمامی اجزاء مقاله [مقدمه (با ذکر هدف)، مواد و روش‌ها، یافته‌ها، نتیجه گیری و واژه‌های کلیدی] (حداقل ۳۵۰ و حداکثر ۴۵۰ کلمه با فاصله خطوط یک). چکیده مبسوط باید به روشنی ارائه‌گر محتویات مقاله، بدون استفاده از علائم اختصاری، شکل یا جدول، بوده و به تفکیک دارای ساختار زیر باشد:

مقدمه و هدف (Introduction and Objective):

مواد و روش‌ها (Material and Methods):

یافته‌ها (Results):

نتیجه‌گیری (Conclusion):

۴-۳- واژه‌های کلیدی

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

۴-۴- مقدمه

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

۴-۵- مواد و روش‌ها

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

۴-۶- نتایج و بحث

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

۴-۷- تشکر و قدردانی

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

۴-۸- منابع

منابع مورد استفاده باید شامل جدیدترین اطلاعات در زمینه کار مورد نظر باشند. استناد به منابع در متن مقاله به سبک APA 7th (APA System: Author -) EndNote انجام گیرد. کلیه منابع در مقالات می‌بایست به زبان انگلیسی اشاره شود و چنانچه از منابع فارسی در نگارش مقاله استفاده گردید، فقط برگردان انگلیسی آن منبع در متن و در قسمت فهرست منابع ذکر شود. در انتهای منبع حتماً عبارت (In Persian) قید گردد. برای کسب اطلاعات بیشتر می‌توانید از راهنمای رفرنس‌دهی نسخه APA 7th استفاده نمایید.

لینک راهنما: <https://apastyle.apa.org/style-grammar-guidelines/references/examples>
منابع با قلم Times New Roman 10 و فاصله بعد از هر منبع ۸pt انتخاب شود. تورفتگی منابع به صورت Hanging و ۰/۵ لحاظ گردد.

* تمام منابع فارسی و انگلیسی مورد استفاده در داخل متن باید به انگلیسی نوشته شود.

* سال‌های شمسی به میلادی تبدیل شوند.

* در برگردان اسامی افراد اطمینان حاصل شود که املاء آن‌ها و سال انتشار درست باشد. در غیر این صورت در شمارش استنادات مجله که برای نمایه

شدن در ISI لازم است، لحاظ نخواهد شد. **لازم است برای برگردان**

صحیح اسامی و عنوان مقالات و دیگر منابع به پایگاه‌های

اطلاعاتی مثل SID، Scencedirect arandoc و غیره مراجعه شود

و یا رأساً با شخص مورد نظر تماس گرفته شود.

* نحوه رجوع منابع در متن به صورت اسم نویسنده (نویسندگان) و تاریخ انتشار منبع باشد.

* **تمامی ارجاعات داخل متن باید به رفرنس مربوطه لینک شوند**

(در انتهای این فایل توضیح داده شده است).

* مثال برای ارجاع به منبعی که فقط یک نویسنده دارد: (Loghavi, 2008)

برای منبعی با دو نویسنده از کلمه "and" بین آن‌ها به صورت زیر استفاده شود: (Aghkhani and Abbaspour-Fard, 2009)

برای مقاله‌ای با بیشتر از دو نویسنده از کلمه ایتالیایی "et al." به صورت زیر استفاده شود: (Abbaspour-Fard et al., 2008)

هنگام ارجاع همزمان به چند منبع از علامت ";" به صورت زیر استفاده شود: (Smith, 1999; Samuel et al., 2008; Smith and Samuel, 2009)

* زمان ارجاع به رفرنس در ابتدا یا وسط جمله مشابه مثال زیر استفاده شود:

* لغوی و همکاران (Loghavi et al., 2010)

* کلیه منابع فارسی و انگلیسی به زبان انگلیسی و با قلم Times New Roman اندازه ۱۲ در فهرست منابع نوشته شوند.

- * همواره در نوشتن نام نشریات و منابع اسم، کامل آن‌ها آورده شود و از اسامی کوتاه شده آن‌ها استفاده نشود.
- * از ذکر منابع بی‌نام و غیر قابل دسترس خودداری شود.

درج شناسه DOI (در صورت وجود) در انتهای هر رفرنس الزامی است.

۱- نشریات علمی

Guardeno, L.M., I. Hernando, E. Llorca, M. Hernández-Carrión and A. Quiles. 2012. Microstructural, physical, and sensory impact of starch, inulin, and soy protein in low-fat gluten and lactose free white sauces. *Journal of Food Science*, 77(8): 859-865. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02798.x>.

۲- انتشارات ویژه

Rice, K. (1992). Theory and conceptual issues. In: Gall, G. A. E., Staton, M. (Eds.), *Integrating Conservation Biology and Agricultural Production*. *Agricultural Ecosystems Environment*: 9-26.

۳- کتاب تألیف شده

Gaugh, H.G. 1992. *Statistical Analysis of Regional Yield Trials*. Elsevier. Amsterdam.

۴- مقاله یا یک فصل از کتاب تدوین شده (Edited Book)

Mettam, G.R. and L.B. Adams. (1999). How to prepare an electronic version of your article. pp: 281-304 in B. S. Jones and R. Z. Smith eds. *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York.

۵- رساله‌های تحصیلی (استفاده از این نوع منبع به جز در شرایط خیلی ضروری مناسب نیست)

Abbaspour-Fard, M. H. (2001). The dynamic behavior of particulate biomaterials using discrete element method (DEM). Faculty of Agriculture. Newcastle University, Newcastle Upon Tyne.

۶- کنفرانس‌های علمی

Hemmat, A., V. I. Adamchuk, & P. Jasa. (2007). On-the-go soil strength sensing using an instrumented disc coupler. *International Agricultural Engineering Conference (IAEC)*. Asian Association for Agricultural Engineering, Bangkok, Thailand.

۷- مقالات و منابع الکترونیکی

Britton, A. (2006). How much and how often should we drink British Medical Journal, 332: 1224-1225. Available at: <http://bmj.bjournals.com/cgi/content/full/332/7552/1224>. Accessed 2 June 2006.

۸- برای درج کلیه منابع فارسی به زبان انگلیسی (اعم از کتاب، مقاله و غیره که به صورت تألیف یا ترجمه هستند) در لیست منابع ضمن دقت در ترجمه و برگردان صحیح اسامی افراد و نشریات، مطابق الگوهای فوق عمل شود.

Arjmand, A., and A., Hassanzadeh Ghourtapeh. (2004). Evaluation of Energy consumption in Potato Cultivation, case study: Eastern Agronomy and Plant Breeding Conf., Shahid Azarbayegan. 8th Chamran University of Ahvaz.

مؤکداً توصیه می‌شود برای تهیه لیست منابع و ارجاع به منابع در داخل متن از پایگاه‌های اطلاعاتی مربوط و همراه با نرم‌افزار EndNote استفاده شود تا از ایجاد خطای نگارشی به خصوص برای اسامی اشخاص و اسامی خاص جلوگیری شود. این امر برای صحت استنادات ضروری است.

۴-۹- شیوه نگارش

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

- برای سایر بخش‌های مقاله نوع و اندازه قلم‌های زیر استفاده شود: (۱) عنوان فارسی 2 Mitra 14 و برجسته (Bold)، (۲) نام نویسنده(گان) 2 Mitra 11 و برجسته (Bold)، (۳) وابستگی سازمانی نویسنده(گان) 2 Mitra 9، (۴) متن چکیده فارسی 2 Mitra 10 و برجسته (Bold) و کلمات انگلیسی داخل متن چکیده Times New Roman 10 و برجسته (Bold)، (۵) سرتیتر بخش‌ها 2 Mitra 8

برجسته (Bold) و زیر تیتیر هر بخش 2 Mitra 11 و برجسته (Bold) که شماره-گذاری 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، تیتیر چکیده و واژه‌های کلیدی Times New Roman 11 و برجسته (Bold).

- جداول و شکل‌ها بعد از توضیحات مربوطه **بصورت غیرستونی** در متن آورده شود و عناوین فارسی جداول با اندازه قلم 2 Mitra 11 در بالای آنها و عناوین انگلیسی جداول با اندازه قلم Times New Roman 9 و هم چنین عناوین فارسی شکل‌ها با اندازه قلم 2 Mitra 11 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.

۵- ارسال مقاله

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

۶- هزینه چاپ

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

۷- اشتراک مجله

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



"مقاله پژوهشی"

مقایسه اسیدیفایر تولیدی بر پایه اسیدسیتریک با نمونه تجاری در آب آشامیدنی بر عملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم، pH و مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی

علیرضا حسابی نامقی^۱، علی نسری‌نژاد^۲ و مرضیه افخمی^۳

۱- بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان آموزش، تحقیقات و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران، (نویسنده مسوول: a.hessabi@areeo.ac.ir)

۲ و ۳- واحد تحقیق و توسعه شرکت تهران طیور سبز اندیشان برتر، مشهد، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۰

صفحه: ۱ تا ۹

چکیده مسوط

مقدمه و هدف: آنتی‌بیوتیک‌ها سبب کاهش جمعیت میکروبی دستگاه گوارش، افزایش مواد غذایی قابل دسترس و در نتیجه بهبود ضریب تبدیل غذایی و وزن جوجه‌های گوشتی می‌شوند. به دلیل باقی ماندن آنتی‌بیوتیک‌ها در محصولات تولیدی و انتقال آن‌ها به انسان و بروز مقاومت، استفاده از آن‌ها در بسیاری از کشورها ممنوع شده است. لذا استفاده از جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک در صنعت دام و طیور مورد توجه قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به اسیدهای آلی اشاره کرد. اسیدهای آلی با از بین بردن باکتری‌های مضر و ایجاد شرایط تغذیه‌ای برای باکتری‌های مفید منجر به تعدیل فلور میکروبی روده و بهبود عملکرد حیوان می‌شوند. این آزمایش به منظور بررسی مقایسه اثرات اسیدیفایر بر پایه اسید سیتریک با نمونه تجاری در آب آشامیدنی بر عملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم، pH و مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این آزمایش از ۴۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یکروزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه به‌ازاء هر تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد دریافت‌کننده آب آشامیدنی بدون افزودن اسیدیفایر و گروه‌های مصرف‌کننده آب آشامیدنی دارای سطوح مختلف ۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۰۷۵ درصد اسیدیفایر تولیدی و ۰/۲ درصد اسیدیفایر تجاری بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی طی دوره رشد با افزودن ۰/۰۵ درصد اسیدیفایر تولیدی در مقایسه با شاهد کاهش یافت (۰/۰۵ < p). افزایش وزن جوجه‌های گوشتی در سطح ۰/۰۷۵ درصد اسیدیفایر تولیدی در دوره آغازین و در گروه‌های تحت تیمار با نمونه تجاری در کل دوره در مقایسه با شاهد افزایش یافت (۰/۰۵ < p). کاهش عددی و معنی‌دار تری‌گلیسرید سرم به ترتیب در تیمارهای حاوی ۰/۰۵ درصد و سطوح ۰/۰۲۵ و ۰/۰۷۵ درصد اسیدیفایر و افزایش HDL سرم در تیمار حاوی اسیدیفایر تجاری (۰/۰۵ < p) در مقایسه با شاهد مشاهده شد. تیمارهای حاوی اسیدیفایر آلکالین فسفاتاز سرم کمتری در مقایسه با شاهد داشتند (۰/۰۵ < p). کاهش pH دوازده و ژژونوم در ۴۲ روزگی، همچنین کاهش عمق کریبت و افزایش ارتفاع پرز ژژونوم در تیمارهای حاوی ۰/۲ و ۰/۰۵ درصد به‌ترتیب از اسیدیفایرهای تجاری و تولیدی در مقایسه با شاهد مشاهده شدند (۰/۰۵ < p).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده سطح ۰/۰۵ درصد اسیدیفایر تولیدی در آب آشامیدنی جهت بهبود عملکرد و مورفولوژی روده و کاهش pH دستگاه گوارش در جوجه‌های گوشتی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسیدیفایر، اسیدیته دستگاه گوارش، جوجه گوشتی، فراسنجه‌های خونی، مورفولوژی روده

مقدمه

امروزه پرورش متراکم حیوانات به‌ویژه طیور سبب شده تا حساسیت آن‌ها نسبت به بیماری‌های روده‌ای افزایش یابد. طیور نسبت به کلونیزاسیون میکروارگانیزم‌های بالقوه مضر مانند روتاویروس، اشرشیاکلی، گونه‌های سالمونلا و کلستریدیوم پرفرینجنس حساس هستند (۹). به‌منظور کنترل بعضی از این مشکلات، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در خوراک هم در سطح درمانی (برای درمان بیماری‌ها) و هم در سطوح پایین‌تر از دز درمانی (به‌عنوان محرک رشد) گسترش زیادی یافته است. علی‌رغم نتایج مطلوب استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، مصرف آن‌ها در پرورش دام و طیور به‌دلیل پیدایش سویه‌های مقاوم باکتری‌ها و قابلیت انتقال ژن مقاومت به باکتری‌های حساس در بسیاری از کشورها ممنوع شده است (۱۴). امروزه مواد زیادی به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارند که عبارتند از: پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها و اسیدهای آلی. در بین این جایگزین‌ها، اسیدهای آلی اثر مهارکنندگی قابل توجهی بر رشد باکتری‌ها دارند. استفاده از اسیدهای آلی یا ترجیحاً املاح آن‌ها با کاهش تولید ترکیبات سمی توسط باکتری‌ها باعث کاهش تجمع عوامل بیماری‌زا در دیواره روده شده است، بنابراین در پیشگیری از آسیب به سلول‌های

پی‌تلیال روده مؤثر هستند (۲۴). اسیدهای آلی ضمن مهار رشد باکتری‌های مضر، شرایط تغذیه‌ای را برای باکتری‌های مفید مانند لاکتوباسیل‌ها فراهم می‌کنند (۱۶). یکی از موضوعات مهم در جیره اسیدی شده، مهار رقابت باکتری‌های روده با میزبان برای مواد غذایی قابل دسترس و شاید کاهش متابولیت‌های سمی باکتری‌ها مانند آمونیاک، آمین‌ها و از این رو افزایش وزن حیوان میزبان بالأخص در سنین اولیه است (۳۶). همچنین افزودن اسیدهای آلی به جیره طیور با حفظ سلامت دستگاه گوارش موجب بهبود عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک می‌شوند (۳۲). براساس مطالعات انجام شده (۳) استفاده از اسیدهای آلی در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی منجر به بهبود معنی‌دار وزن بدن، ضریب تبدیل خوراک و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریبت مخاط روده در ۳۵ روزگی شد. همچنین، افزایش وزن بدن و نرخ ماندگاری مواد معدنی و بهبود راندمان خوراک و پاسخ ایمنی در جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده آب آشامیدنی حاوی اسید سیتریک مشاهده شد (۲۳). متداول‌ترین اسیدهای آلی مورد استفاده در تغذیه طیور اسید فرمیک، اسید سیتریک و اسید پروپیونیک می‌باشند (۳۰). در میان اسیدهای آلی می‌توان از اسید سیتریک به‌عنوان فراوان‌ترین و در دسترس‌ترین اسید آلی در کشور نام برد. در

کیت‌های اختصاصی مطابق دستورالعمل شرکت سازنده (پارس آزمون، تهران، ایران) و دستگاه طیف‌سنجی خودکار (اسپکتوفتومتری اتوانالایزر Gessan Chem 200 ساخت کشور ایتالیا) اندازه‌گیری شدند.

تعیین pH روده کوچک

برای تعیین pH روده پس از کالبدگشایی در ۲۸ و ۴۲ روزگی، ۱ گرم از هر یک از محتویات دوازدهه، ژژونوم و ایلئوم در ۹ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه ریخته شد و پس از همگن کردن نمونه و آب، pH نمونه‌ها با روش ال-ناتور و همکاری (۴) توسط دستگاه pH متر دیجیتال مدل pH-201 ساخت شرکت Lutron کشور تایوان، اندازه‌گیری شد.

مورفولوژی روده باریک

در ۴۲ روزگی از قسمت میانی دوازدهه، ژژونوم و ایلئوم حدود ۱/۵ سانتی‌متر نمونه برداری شد و پس از شستشو با محلول سالین ۰/۸۵ درصد، در داخل محلول تثبیت‌کننده (فرمالین ۱۰ درصد) به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. سپس، محلول تعویض و تا روز آماده‌سازی نمونه‌ها داخل فرمالین قرار گرفتند. سپس، محلول تعویض و تا روز آماده‌سازی نمونه‌ها داخل فرمالین قرار گرفتند. برای آماده‌سازی از اتانول برای آب‌گیری، از گزبل برای شفاف‌سازی و از پارافین برای آغشتگی استفاده شد. سپس نمونه‌های آماده شده، با قالب‌های لوکهارت، قالب‌گیری شدند و در ادامه از بلوک‌های پارافینی به‌وسیله میکروتوم دوار، برش‌های عرضی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و با هماتوکسیلین-انوزین رنگ‌آمیزی شدند. از هر برش روده ۵ نمونه بافتی تهیه شد (۳۶). ارتفاع پرز (از نوک پرز تا محل اتصال کریپت)، عمق کریپت و ضخامت پرز بر حسب میکرومتر با استفاده از میکروسکوپ نوری المپیوس (Olympus corporation, BX41, 2-XC Model U-TV) 0.5 با بزرگنمایی ۱۰X متصل به کامپیوتر و نرم‌افزار EPIX XCAP تعیین شد.

مدل آماری

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. کلیه داده‌ها وارد رایانه شدند و توسط نرم‌افزار SAS (۳۱) با رویه GLM آنالیز واریانس انجام شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون توکی و در سطح ۵ درصد انجام گرفت. 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.

این آزمایش از اسیدیفایر تولیدی بر پایه اسید سیتریک استفاده شد که قیمت تمام شده محصول در مقایسه با سایر اسیدیفایرهای وارداتی مقرون به صرفه‌تر است. بنابراین هدف از انجام این آزمایش مقایسه اثرات اسیدیفایر تولیدی بر پایه اسید سیتریک با نمونه تجاری در آب آشامیدنی بر عملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم، pH و مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سالن مرغداری مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی به مدت ۴۲ روز انجام شد. در این آزمایش، از ۴۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک‌روزه سویه راس در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه به ازا هر تکرار، با میانگین وزنی مشابه 43 ± 2 گرم استفاده شد. تمام گروه‌های آزمایشی تا پایان دوره آزمایش (۴۲ روزگی) جیره‌های استاندارد مطابق با جدول احتیاجات راس ۳۰۸ را دریافت کردند (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی از یک روزگی اعمال شدند. ۵ تیمار آزمایشی بدین ترتیب بودند که تیمار شاهد آب آشامیدنی بدون افزودن اسیدیفایر را دریافت کردند و سایر گروه‌های آزمایشی دارای سطوح مختلف اسیدیفایر تولیدی (۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۰۷۵ درصد) بر پایه اسید سیتریک (حداقل حاوی ۳۵ درصد اسید سیتریک و ۳۰ درصد سدیم سیترات دو آبه به همراه کریرها و ۰/۲ درصد اسیدیفایر تجاری (اسیدیفایر Aqa acid مربوط به شرکت انتراکو هلند که ترکیبی از لاکتیک، فرمیک و پروپیونیک اسید است) در آب مصرفی بودند. پس از وزن‌کشی جوجه‌های هر واحد آزمایشی در سن یک‌روزگی، خوراک مصرفی و اضافه وزن جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین (۱-۲۱ روزگی)، رشد (۲۲-۴۲ روزگی) و کل دوره (۴۲-۱ روزگی) محاسبه شد. 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 از هر واحد آزمایشی، یک پرنده با میانگین وزنی نزدیک به واحد مربوطه انتخاب و از ورید بال آن‌ها ۲ میلی‌لیتر خون گرفته شد. سرم نمونه‌ها پس از ارسال به آزمایشگاه، توسط سانتریفوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۱۰ دقیقه جدا شد. غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز، کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL و LDL سرم خون با استفاده از

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی مواد مغذی جیره‌های آزمایشی

| روزگی ۲۵-۴۲ 25-42 d | روزگی ۱۱-۲۴ 11-24 d | روزگی ۰-۱۰ 0-10 d | اجزای جیره Components of diet |
|-------------------------------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| 649.5 | 606.3 | 572.9 | ذرت Corn |
| 292 | 332 | 343.5 | کنجاله سویا Soybean meal |
| - | - | 20 | گلوتن ذرت ۶۱٪ Corn gluten (61%) |
| 10.2 | 11.3 | 12 | کربنات کلسیم Calcium carbonate |
| 21 | 20 | 17.6 | روغن گیاهی Vegetable oil |
| 13.9 | 16.3 | 18.7 | دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate |
| 3.2 | 3.3 | 3.4 | نمک NaCl |
| 5 | 5 | 5 | مکمل ویتامینی و معدنی ^۱ Vitamin and Mineral premix |
| 2.4 | 2.6 | 2.9 | دی-ال-متیونین DL-methionine |
| 2.3 | 2.3 | 2.8 | ال-لیزین L-lysine |
| 0.5 | 0.9 | 1.2 | ال-تریونین L-threonine |
| 1000 | 1000 | 1000 | مجموع Total |
| مقادیر آنالیز شده (درصد) Analysis values (%) | | | |
| 89.1 | 88.6 | 89.2 | ماده خشک Dry matter |
| 18.4 | 20.4 | 22.3 | پروتئین خام Crude protein |
| 4.1 | 4.1 | 4.5 | چربی Ether extract |
| 6.7 | 6.3 | 6.1 | خاکستر Ash |
| 0.81 | 0.91 | 0.95 | کلسیم Calcium |
| 0.46 | 0.48 | 0.55 | فسفر Phosphorus |
| مقادیر محاسبه شده Calculated values | | | |
| 3040 | 2960 | 2900 | انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم جیره) Metabolizable energy (kcal/kg) |
| 18.8 | 20.5 | 22 | پروتئین (%) Protein (%) |
| 0.8 | 0.9 | 1 | کلسیم (%) Calcium (%) |
| 0.4 | 0.45 | 0.5 | فسفر قابل دسترس (%) Available phosphorus (%) |
| 1.15 | 1.3 | 1.44 | لیزین (%) Lysine (%) |
| 0.8 | 1 | 1.08 | متیونین + سیستین (%) Methionine + cystine (%) |
| 0.42 | 0.51 | 0.56 | متیونین (%) Methionine |
| 0.84 | 0.88 | 0.97 | تریونین (%) Threonine (%) |
| 0.18 | 0.21 | 0.23 | تریپتوفان (%) Tryptophan (%) |

۱- مکمل ویتامینی و معدنی برای هر کیلوگرم جیره مقادیر زیر را تأمین می‌کند: مقادیر ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۴۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۶۵ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۳ میلی‌گرم ویتامین K₃، ۳ میلی‌گرم ویتامین B₁، ۷ میلی‌گرم ویتامین B₂، ۱۵ میلی‌گرم اسید پانتوتینیک، ۵۰ میلی‌گرم اسید نیکوتینیک، ۵ میلی‌گرم ویتامین B₆، ۲ میلی‌گرم اسید فولیک، ۰/۱۵ میلی‌گرم ویتامین B₁₂، 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

1- Each kg vitamin and mineral premix was contained: 11000 IU vitamin A; 4000 IU vitamin D₃; 65 IU vitamin E; 3 mg vitamin K₃; 3 mg vitamin B₁; 7 mg vitamin B₂; 15 mg pantothenic acid; 50 mg nicotinic acid; 5 mg vitamin B₆; 2 mg folic acid; 0.15 mg vitamin B₁₂; 0.25 mg biotin and 11000 mg choline chloride; 100 mg Mn; 100 mg Zn; 25 mg Fe; 15 mg Cu; 1 mg I and 0.2 mg Se

نتایج و بحث عملکرد

باعث هضم بهتر خوراک شده و نیازمندی‌های حیوان به‌طور مناسب‌تری تأمین می‌شود که نتیجه آن کاهش خوراک مصرفی است. براساس یافته‌های برخی محققین، بهبود در وزن و ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده اسید سیتریک در آب آشامیدنی ($p < 0.05$) در مقایسه با شاهد مشاهده شد (۱) که منطبق با نتایج مطالعه حاضر است. بهبود در اضافه وزن بدن پرندگان دریافت‌کننده اسید سیتریک ممکن است به‌دلیل بهبود در استفاده از مواد معدنی (۶،۸)، هضم پروتئین و اسیدهای آمینه (۱۹) باشد که به‌دلیل سلامت دستگاه گوارش ایجاد می‌شود. براساس گزارشات هدایتی و همکاران (۱۷) ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های گوشتی که سطوح مختلف اسیدیفایر را دریافت کردند کمتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$). همچنین، علی و همکاران (۲۰۲۰) دریافتند که جوجه‌های گوشتی تحت تیمار با ۱ درصد اسیدسیتریک در آب آشامیدنی وزن بدن بیشتر و ضریب تبدیل غذایی کمتری در ۳۵ روزگی در مقایسه با گروه شاهد داشتند (۳). که مطابق با یافته‌های مطالعه حاضر است. محققین دلیل افزایش عملکرد در هنگام استفاده از اسیدسیتریک را ناشی از بهبود قابلیت هضم پروتئین، انرژی قابل متابولیسم و سایر مواد مغذی عنوان کرده‌اند (۱۸). همچنین، گزارش شده است که اسیدی کردن خوراک با تعادل جمعیت میکروبی، سبب بهبود واکنش‌های هضمی، بهبود فعالیت فیتاز میکروبی، افزایش ترشح پانکراس و رشد مخاط روده و نهایتاً بهبود عملکرد رشد می‌شود (۱۳).

براساس نتایج به‌دست آمده در این مطالعه (جدول ۲) اسیدیفایر موجود در آب آشامیدنی تأثیری بر میزان خوراک مصرفی در دوره آغازین و کل دوره نداشت. در حالی که، خوراک مصرفی در جوجه‌های دریافت‌کننده سطح ۰/۰۵ درصد اسیدیفایر تولیدی کاهش یافت ($p < 0.05$). پرندگان دریافت‌کننده اسیدیفایر تجاری و سطح ۰/۰۷۵ درصد اسیدیفایر تولیدی افزایش وزن بیشتری در مقایسه با شاهد در دوره آغازین داشتند ($p < 0.05$). اضافه وزن جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده ۰/۰۵ درصد بیشتر از گروه دریافت‌کننده ۰/۰۷۵ درصد اسیدیفایر تولیدی در دوره رشد بود ($p < 0.05$). افزودن اسیدیفایر تجاری به آب آشامیدنی منجر به افزایش وزن جوجه‌های گوشتی در مقایسه با شاهد شد ($p < 0.05$). کمترین ضریب تبدیل غذایی در دوره رشد در گروه‌های دریافت‌کننده ۰/۰۵ درصد اسیدیفایر تولیدی مشاهده شد ($p < 0.05$) در حالی که اختلاف معنی‌داری برای این شاخص بین تیمارهای حاوی اسیدیفایر و شاهد در کل دوره وجود نداشت. براساس یافته‌های ابراهیم نژاد و همکاران (۱۲)، استفاده از اسیدهای آلی (۳- ۱/۵ درصد) یا نمک‌های آن‌ها از طریق کاهش pH پیش‌معدنه موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک شده و مدت زمان ماندگاری خوراک در دستگاه گوارش را افزایش می‌دهند. در نتیجه، زمان بیشتری جهت هضم خوراک فراهم می‌شود. تخلیه کندتر دستگاه گوارش

جدول ۲- تأثیر اسیدیفایر در آب آشامیدنی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین (۲۱-۱ روزگی)، رشد (۴۲-۲۲ روزگی) و کل دوره (۴۲-۱ روزگی)

Table 2. The effect of acidifier in drinking water on performance of broiler chicken at the starter (1-21d), grower (22-42d) and total (1-42d) periods

| تیمار Treatment | مصرف خوراک (گرم/پرند/روز) | | | افزایش وزن (گرم/پرند/روز) | | | ضریب تبدیل غذایی | | |
|-------------------------------------------------------------------|---------------------------|---------------|---------------|---------------------------|-------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|---------------|
| | Feed intake (g/b/d) | | | Weight gain (g/b/d) | | | Feed conversion ratio | | |
| | ۲۲-۴۲ روزگی | ۱-۲۱ روزگی | ۱-۴۲ روزگی | ۲۲-۴۲ روزگی | ۱-۲۱ روزگی | ۱-۴۲ روزگی | ۲۲-۴۲ روزگی | ۱-۲۱ روزگی | ۱-۴۲ روزگی |
| | 22-42 d | 1-21 d | 1-42 d | 22-42 d | 1-21 d | 1-42 d | 22-42 d | 1-21 d | 1-42 d |
| شاهد Control % ۰/۰۲۵ | 3250 ^a | 1210 | 4460 | 1720 ^{ab} | 790 ^c | 2520 ^b | 1.88 ^a | 1.52 ^{ab} | 1.77 |
| اسیدیفایر تولیدی 0.025% of produced acidifier % ۰/۰۰۵ | 3210 ^a | 1220 | 4430 | 1740 ^{ab} | 800 ^{bc} | 2550 ^{ab} | 1.84 ^a | 1.52 ^{ab} | 1.74 |
| اسیدیفایر تولیدی 0.05% of produced acidifier % ۰/۰۰۷۵ | 3080 ^b | 1280 | 4260 | 1760 ^a | 790 ^c | 2560 ^{ab} | 1.74 ^b | 1.62 ^a | 1.70 |
| اسیدیفایر تولیدی 0.075% of produced acidifier % ۰/۰۰۲ | 3130 ^{ab} | 1300 | 4430 | 1690 ^b | 850 ^a | 2540 ^{ab} | 1.85 ^a | 1.52 ^{ab} | 1.74 |
| تجاری 0.2% of commercial acidifier | 3180 ^{ab} | 1240 | 4380 | 1750 ^{ab} | 840 ^{ab} | 2600 ^a | 1.82 ^{ab} | 1.41 ^b | 1.69 |
| SEM ¹ | 30 | 30 | 49 | 15 | 8 | 18 | 0.021 | 0.036 | 0.021 |
| P-value | 0.008 | 0.087 | 0.619 | 0.024 | <0.001 | 0.080 | 0.004 | 0.024 | 0.100 |

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۰/۰۵ است

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

¹ خطای استاندارد میانگین‌ها

¹ Standard error of the means

فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم

تشکیل آلبومین‌های داخل سلولی می‌شود (۲۶). از آنجایی که گروه‌های دریافت‌کننده اسید سیتریک میزان هورمون‌های تیروئیدی را افزایش می‌دهند و هورمون تیروکسین تجزیه را بیشتر از سنتز تحت تأثیر قرار می‌دهد در نتیجه منجر به لیپولیز در بافت چربی شده که نهایتاً میزان کلسترول پلاسما کاهش می‌یابد (۲۷). نتایج به دست آمده در این آزمایش با نتایج فوق در رابطه با تری‌گلیسرید و HDL مطابقت دارد اما با نتایج حاصل از کلسترول و LDL سرم مغایرت دارد. که احتمالاً به دلیل تفاوت در سطح و نوع اسیدهای آلی مورد مطالعه باشد. نور محمدی و همکاران (۲۴) گزارش کردند که اسید سیتریک فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش داد. لیم و همکاران (۲۳) دریافتند افزودن اسید سیتریک به جیره‌های بر پایه ذرت-سویا موجب ابقای فسفر کل و افزایش قابلیت هضم ایلئومی آن می‌گردد. به نظر می‌رسد اثر اسیدهای آلی بر قابلیت استفاده از فسفر فیتاتی به دلیل تغییر در pH دستگاه گوارش باشد که علاوه بر آن موجب کارایی آنزیم فیتاز در هیدرولیز فیتات می‌شود. کاهش سطح فسفر قابل دسترس جیره، موجب افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز می‌شود. آنزیم فیتاز و اسید سیتریک به واسطه مکانیسم مذکور موجب تسهیل در رهاسازی فسفر فیتاتی و همچنین افزایش غلظت فسفر پلاسما شده که نهایتاً منجر به کاهش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز می‌گردد (۳۵،۷).

نتایج به دست آمده از فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم (جدول ۳) نشان داد که اختلاف معنی‌داری در میزان LDL و کلسترول سرم در بین تیمارها وجود ندارد. تری‌گلیسرید سرم در گروه‌های دریافت‌کننده اسیدیفایر تولیدی در آب آشامیدنی در سطوح ۰/۰۲۵ و ۰/۰۷۵ درصد و اسیدیفایر تجاری در مقایسه با شاهد کاهش یافت (p<۰/۰۵). میزان HDL سرم در تیمار حاوی اسیدیفایر تجاری در مقایسه با شاهد افزایش یافت (p<۰/۰۵). در حالی که، کاهش آلکالین فسفاتاز سرم در تمامی تیمارهای حاوی اسیدیفایر در مقایسه با شاهد مشاهده شد (p<۰/۰۵). عبدالرازک و همکاران (۱) گزارش کردند استفاده از اسیدهای آلی در آب آشامیدنی میزان HDL سرم را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد. یافته‌های ساد و همکاران (۲۸) نشان داد که میزان تری‌گلیسرید و کلسترول سرم در جیره‌های حاوی پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و اسیدهای آلی در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت. که با نتایج به دست آمده از HDL و تری‌گلیسرید در یافته‌های حاضر مطابقت دارد. هر چند، در این مطالعه کلسترول تحت تأثیر اسیدسیتریک قرار نگرفت. نقش اسیدهای آلی در کاهش چربی خون ممکن است به دلیل تأثیر آن بر کاهش میکروبی‌های داخل سلولی از طریق جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های میکروبی و وادار ساختن باکتری‌های سلولی به استفاده از انرژی برای انتشار پروتون‌هایی باشد که موجب

جدول ۳- تأثیر اسیدیفایر در آب آشامیدنی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

Table 3. The effect of acidifier in drinking water on serum biochemical parameters of broiler chicken on 42 d of age

| آلکالین فسفاتاز (واحد بین‌المللی/لیتر) Alkaline (U/L) phosphatase | کلسترول (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Cholesterol (mg/dl) | لیپوپروتئین با چگالی بالا (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) High density lipoprotein (mg/dl) | لیپوپروتئین با چگالی پایین (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Low density lipoprotein (mg/dl) | تری‌گلیسرید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Triglyceride (mg/dl) | تیمار Treatment |
|----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 4001.8 ^a | 137.0 | 68.8 ^b | 18.3 | 149.8 ^a | شاهد Control |
| 2803.5 ^b | 136.0 | 71.8 ^{ab} | 18.8 | 99.3 ^c | ۰/۰۲۵٪ اسیدیفایر تولیدی 0.025% of produced acidifier |
| 2891.8 ^b | 139.8 | 76.3 ^{ab} | 20.0 | 147.5 ^a | ۰/۰۵٪ اسیدیفایر تولیدی 0.05% of produced acidifier |
| 3155.8 ^b | 133.8 | 74.0 ^{ab} | 19.3 | 121.5 ^b | ۰/۰۷۵٪ اسیدیفایر تولیدی 0.075% of produced acidifier |
| 3774.8 ^b | 136.8 | 80.3 ^a | 18.0 | 122.0 ^b | ۰/۲٪ اسیدیفایر تجاری 0.2% of commercial acidifier |
| 111.495 <0.001 | 2.504 0.580 | 2.141 0.020 | 1.018 0.650 | 4.242 <0.001 | SEM ¹ P-value |

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

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

¹خطای استاندارد میانگین‌ها

¹Standard error of the means

شاهد کاهش یافت (p<۰/۰۵). هرچند، عرض پرز تنها در تیمارهای حاوی ۰/۰۷۵ درصد اسیدیفایر تولیدی و همچنین نمونه تجاری در ژژونوم و در سطح ۰/۰۵ درصد اسیدیفایر تولیدی در ژژونوم و ایلئوم در مقایسه با شاهد کاهش یافت (p<۰/۰۵). عمق کریپت در دوازدهه در آب حاوی اسیدیفایر در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. عمق

مورفولوژی روده باریک

اسیدیفایر تأثیری بر ارتفاع پرز در دوازدهه و ایلئوم نداشت در حالی که ارتفاع پرز در ژژونوم پرندگان تحت تیمار با آب آشامیدنی حاوی ۰/۰۵ درصد اسیدیفایر تولیدی و اسیدیفایر تجاری، در مقایسه با شاهد بیشتر بود (p<۰/۰۵). عرض پرز در دوازدهه در تمامی تیمارهای حاوی اسیدیفایر در مقایسه با

به افزایش بهره‌وری دستگاه گوارش به منظور جذب بهتر مواد مغذی خواهد شد (۲۰). در توافق با یافته‌های ما، اسیدیفایر باعث افزایش ارتفاع پرز و کاهش عمق کریپت در ژژونوم در مقایسه با گروه شاهد شد (۱۱). همچنین، ادیل و همکاران (۲) گزارش کردند که اسیدهای آلی موجب افزایش ارتفاع و کاهش عرض پرز در ژژونوم شد در حالی که تفاوت معنی‌داری در ارتفاع و عرض پرز در ایلیوم در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد. براساس گزارشات شلائی و حسینی (۳۲)، عرض پرز در ژژونوم جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده اسید آلی اورگاسید در مقایسه با شاهد کاهش یافت که مطابق با یافته‌های حاضر است اما برخلاف نتایج ما، تأثیری بر عرض پرز در ژژونوم مرغان تخم‌گذار نداشت. وجود ترکیبات ضد میکروبی، نوع و غلظت اسید آلی، ترکیب جیره و شرایط آزمایشگاهی فاکتورهایی هستند که پاسخ پرندگان به اسیدهای آلی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱۰).

کریپت در ژژونوم در آب حاوی ۰/۰۵ درصد اسیدیفایر تولیدی و نمونه تجاری در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$). همچنین، کاهش معنی‌داری در عمق کریپت در ایلیوم گروه‌های دریافت‌کننده اسیدیفایر تجاری در مقایسه با شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$) (جدول ۴). پلیکانو و همکاران (۲۶) گزارش کردند که اسیدهای آلی سبب افزایش ارتفاع پرز و کاهش عمق کریپت شده که این امر می‌تواند به دلیل تأثیر بر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، جلوگیری از جایگزینی آن‌ها در دیواره روده و کاهش تولید ترکیبات سمی حاصل از آن‌ها باشد، که موجب تغییر در بافت‌شناسی روده شده و در نتیجه از تخریب سلول‌های مخاطی دیواره روده جلوگیری می‌کند. کاهش واکنش‌های التهابی در مخاط روده، باعث افزایش ارتفاع پرز و جذب بهتر مواد مغذی می‌گردد، همچنین اسیدهای آلی منجر به کاهش عمق کریپت شده که با ضخیم شدن لایه مخاطی روده همراه است و نهایتاً منجر

جدول ۴- تأثیر اسیدیفایر در آب آشامیدنی بر مورفولوژی روده باریک جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

| عمق کریپت (میکرومتر) Crypt depth (μm) | | | عرض پرز (میکرومتر) Villus width (μm) | | | ارتفاع پرز (میکرومتر) Villus height (μm) | | | تیمار Treatment |
|------------------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------------------|-------------------|---------------------|---------------------------------------------|-------------------|---------------------|---------------------------------------------------------------|
| ایلیوم Ileum | ژژونوم Jejunum | دوازدهه Duodenum | ایلیوم Ileum | ژژونوم Jejunum | دوازدهه Duodenum | ایلیوم Ileum | ژژونوم Jejunum | دوازدهه Duodenum | |
| 155 ^a | 157.5 ^a | 220 ^a | 250 ^a | 157 ^a | 215 ^a | 874 | 1105 ^b | 1252 | شاهد Control |
| 151 ^{ab} | 155.3 ^a | 161 ^b | 214 ^a | 142 ^{ab} | 151 ^b | 880 | 1112 ^b | 1294 | ۰/۰۲۵٪ اسیدیفایر تولیدی 0.025% of produced acidifier |
| 141 ^{ab} | 136.5 ^b | 157 ^b | 123 ^b | 109 ^c | 141 ^b | 907 | 1211 ^b | 1323 | ۰/۰۵٪ اسیدیفایر تولیدی 0.05% of produced acidifier |
| 135 ^{ab} | 144.0 ^{ab} | 159 ^b | 196 ^{ab} | 126 ^{bc} | 135 ^b | 908 | 1135 ^b | 1353 | ۰/۰۷۵٪ اسیدیفایر تولیدی 0.075% of produced acidifier |
| 130 ^{ab} | 134.5 ^a | 160 ^b | 211 ^a | 108 ^c | 130 ^b | 807 | 1221 ^a | 1509 | ۰/۲٪ اسیدیفایر تجاری 0.2% of commercial acidifier |
| 5.21 0.020 | 4.28 0.004 | 3.54 <0.001 | 18.82 0.004 | 4.39 <0.001 | 9.37 <0.001 | 76.13 0.880 | 11.98 <0.001 | 124.85 0.650 | SEM ¹ P-value |

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۰/۰۵ است.

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

^۱ خطای استاندارد میانگین‌ها

¹Standard error of the means

باکتری‌ها و قارچ‌ها عبور کرده و باعث آزاد شدن پروتون در سیتوپلاسم سلول شده و منجر به کاهش pH داخل سلول می‌شوند. در نتیجه این تغییرات، رشد باکتری‌های بیماری‌زای طیور مانند کلی فرم‌ها، کمپیلوباکترها و سالمونلا محدود شده که این پدیده باعث بهبود سلامت دستگاه گوارش می‌گردد (۳۴). با کاهش pH توسط اسیدهای آلی در دستگاه گوارش، شرایط برای فعالیت باکتری‌های مفید افزایش یافته و در نتیجه آسیب‌هایی که توسط باکتری‌های مضر و سموم حاصل از آن‌ها ایجاد می‌شود کاهش پیدا خواهد کرد و سبب می‌شود میزان غلظت آنزیم‌های کبدی (مانند آلکالین فسفاتاز) کاهش یابد (۲۵). اسیدهای آلی باعث کاهش pH خوراک و دستگاه گوارش، کاهش تجمع عوامل بیماری‌زا در دیواره روده، تحریک رشد فلور میکروبی مفید روده (۵) و کاهش متابولیت‌های سمی (مانند آمین‌ها و آمونیاک) تولید شده توسط باکتری‌های مضر می‌شوند (۳۴).

تعیین pH در بخش‌های مختلف روده کوچک

pH دوازدهه در ۴۲ روزگی در تیمارهای دریافت‌کننده اسیدیفایر در مقایسه با شاهد کاهش یافت ($p < 0.05$). مقدار pH دوازدهه در ۲۸ روزگی در گروه‌های دریافت‌کننده اسیدیفایر تجاری و ژژونوم در ۴۲ روزگی در تیمارهای حاوی ۰/۰۵ درصد اسیدیفایر تولیدی و نمونه تجاری در مقایسه با شاهد کاهش یافت ($p < 0.05$). در حالی که، اسیدیفایر تأثیری بر میزان pH ایلیوم نداشت. براساس یافته‌های تهمی و همکاران (۳۳)، کاهش معنی‌دار در pH دوازدهه در جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده ۰/۲ درصد اسید آلی مشاهده شد ($p < 0.05$). همچنین والدروپ (۳۶) گزارش کرد که میزان pH سکوم در گروه‌های تحت تیمار با مکمل اسید آلی حاوی اسید فرمیک و اسید پروپیونیک کاهش یافت ($p < 0.05$). مکانیسم فعالیت اسیدهای آلی از طریق کاهش pH دستگاه گوارش است. این اسیدها می‌توانند به‌آسانی از غشای لیپیدی

نتیجه گیری کلی

پرز تنها در تیمارهای حاوی ۰/۰۷۵ درصد اسیدیفایر تولیدی و همچنین نمونه تجاری در ژژونوم و در سطح ۰/۰۵ درصد اسیدیفایر تولیدی در ژژونوم و ایلئوم کاهش یافت ($p < 0.05$). بنابراین با توجه به بهبود عملکرد طی دوره رشد، کاهش pH روده باریک و بهبود مورفولوژی روده در مقایسه با گروه شاهد سطح ۰/۰۵ درصد اسیدیفایر تولیدی در آب آشامیدنی پیشنهاد می شود.

خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی طی دوره رشد با افزودن ۰/۰۵ درصد اسیدیفایر تولیدی در آب آشامیدنی در مقایسه با شاهد کاهش یافت ($p < 0.05$). کاهش pH و عمق کریپت و افزایش ارتفاع پرز در ژژونوم پرندگان تحت تیمار با آب آشامیدنی حاوی ۰/۰۵ درصد اسیدیفایر تولیدی و نوع تجاری، در مقایسه با شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$). عرض

جدول ۵- تأثیر اسیدیفایر در آب آشامیدنی بر میزان pH روده باریک جوجه‌های گوشتی در ۲۸ و ۴۲ روزگی

Table 5. The effect of acidifier in drinking water on small intestine pH values of broiler chicken in 28 and 42 d of age

| pH در ۴۲ روزگی pH(42 d) | | pH در ۲۸ روزگی pH(28 d) | | تیمار Treatment |
|----------------------------|-------------------|----------------------------|---------------------|------------------------------------------------------------|
| ایلئوم Ileum | ژژونوم Jejunum | دوازدهه Duodenum | دوازدهه Duodenum | |
| 6.97 | 6.8 ^a | 7.80 ^a | 5.93 ^a | شاهد Control |
| 7.27 | 6.2 ^{ab} | 7.15 ^b | 5.73 ^{ab} | ۰/۰۲۵٪ اسیدیفایر تولیدی 0.025% of produced acidifier |
| 7.12 | 6.0 ^b | 6.94 ^b | 5.48 ^{ab} | ۰/۰۵٪ اسیدیفایر تولیدی 0.05% of produced acidifier |
| 7.29 | 6.1 ^{ab} | 6.94 ^b | 5.85 ^a | ۰/۰۷۵٪ اسیدیفایر تولیدی 0.075% of produced acidifier |
| 7.19 | 5.9 ^b | 7.09 ^b | 5.28 ^b | ۰/۲٪ اسیدیفایر تجاری 0.2% of commercial acidifier |
| 0.11 0.260 | 0.17 0.017 | 0.12 <0.001 | 0.11 0.003 | SEM ¹ P-value |

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار در سطح خطای ۰/۰۵ است.

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

¹خطای استاندارد میانگین‌ها

¹Standard error of the means

منابع

- Abdelrazek, H.M.A., S.M.M. Abuzead, S.A. Ali, H.M.A. El-Genaidy and S.A. Abdel-Hafez. 2016. Effect of citric and acetic acid water acidification on broiler's performance with respect to thyroid hormones levels. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 4(5):271-278.
- Adil, S., T. Banday, G.A. Bhat, M.S. Mir and M. Rehman. 2010. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum-biochemistry of broiler chicken. *Veterinary Medicine International*, 2010:1-7.
- Ali, A.M., H.M. El Agrab, M.M. Hamoud, A.M. Gamal, M.R. Mousa, S.A.E. Nasr, M.A.H. El Shater, S.E. Laban, O.K. Zahran and M.M. Ali. 2020. Effect of acidified drinking water by organic acids on broiler performance and gut health. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 8(12): 1301-1309.
- 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-Austral Journal of Animal Science*, 18:390-395.
- 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.
- Boling, S.D.M., I.M. Webel, C.M. Parsons and D.H. Baker. 2000. Effect of citric acid on phytate phosphorus utilization in young chicks and pigs. *Indian Journal of Animal Science*, 78: 682-689.
- Brenes, A., A. Viveros, I. Arija, C. Centeno, M. Pizarro and C. Bravo. 2003. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*, 110(1-4): 201-219.
- 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.
- 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 *Proceedings of 14th European Symposium on Poultry Nutrition August*. Lillehammer, Norway, 169-175.
- 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.
- Dizaji, B. R., A. Zakeri, A. Golbazfarsad, S. Faramarzy and O. Ranjbari. 2013. Influences of different growth promoters on intestinal morphology of broiler chickens, *European Journal of Experimental Biology*, 3(2): 32-37.

- مقایسه اسیدیفایر تولیدی بر پایه اسیدسیتریک با نمونه تجاری در آب آشامیدنی بر عملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم ۸
12. Ebrahimnezhad, Y., N. Maheri-Sis, A. Aghajanzadeh-Golshani, J.G. Galekandi, M. Sarikhan and A. Darvishi. 2012. Effects of combination of citric acid and microbial phytase on the serum concentration and digestibility of some minerals in broiler chicks. *Asian Journal of Animal Sciences*, 6(4): 189-195.
 13. Fik, M., C. Hrnčár, D. Hejniš, E. Hanusová, H. Arpášov and J. Bujko. 2021. The effect of citric acid on performance and carcass characteristics of broiler chickens. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 54: 190-195.
 14. Garcia, V., P. Catala-Gregori, F. Hernandez, M.D. Megias 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. Gornowicz, E. and K. Dziadek. 2002. The effects of acidifying preparations added to compound feeds on management conditions of broiler chickens. *Annals of Animal Science*, 1:93-96.
 17. Hedayati, M., M. Manafi, M. Yari and P. Vafaei. 2013. Effects of supplementing diets with an acidifier on performance parameters and visceral organ weights of broilers. *European Journal of Zoological Research*, 2(6): 49-55.
 18. Khosravinia, H., R. Nourmohammadi and N. Afzali. 2015. Productive performance, gut morphometry, and nutrient digestibility of broiler chicken in response to low and high dietary levels of citric acid. *Poultry Science Association*, 24:470-480
 19. Kirchgessner, M. and F. Roth. 1988. Ergotrope Effekte durch organische Sauren in der Ferkelaufzucht und Schweinemast. *Übersichten zur Tierernahrung*, 16: 93-108.
 20. Klaver, F. A. and R. Van der Meer. 1993. The assumed assimilation of cholesterol by Lactobacilli and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjugating activity. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(4): 1120-1124.
 21. Kopecký, J., C. Hrnčár and J. Weis. 2012. Effect of organic acids supplement on performance of broiler chickens. *Animal Sciences and Biotechnologies*, 45(1): 51-54.
 22. Langhout, P. 2000. New additives for broiler chickens. *Feed Mix*, 18: 24-27.
 23. Liem, A., G.M. Pesti and Jr.H.M. Edwards. 2008. The effect of several organic acids on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chicks. *Poultry Science*, 87(4): 689-693.
 24. Nourmohammadi, R., S. 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 Research*, 1: 57-71. (In Persian).
 25. Nourmohammadi, R., S.M. Hosseini and H. Farhangfar. 2011. Effect of citric acid and microbial phytase on serum enzyme activities and plasma minerals retention in broiler chicks. *African Journal of Biotechnology*, 10(62): 13640-13650.
 26. Pelicano, E.R.L., P.A. Souza, H.B.A. Souza, D.F. Figueiredo, M.M. Boiago, S.R. Carvalho and V.F. Bordon. 2005. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 7(4): 221-229.
 27. Pucci, E., L. Chiovato and A. Pinchera. 2000. Thyroid and lipid metabolism. *International Journal of Obesity*, 24:109-112.
 28. Saad, S., M.Al. 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*, 9: 265-270.
 29. 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.
 30. Šamudovská, A.H., M. Demeterova, M. Skalicka, L. Bujňák and P. Nad. 2018. Effect of water acidification on some morphological, digestive and production traits in broiler chickens. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 21(3). 269-278.
 31. SAS. 2001. *SAS User's Guide: Statistics*. SAS Institute Cary, NC.
 32. Shalaei, M. 2017. Effect of feed additives on small intestinal morphology, mineralization and strength of tibia bone of broilers and laying hens. *Iranian Veterinary Journal*, 12(4): 52-63 (In Persian).
 33. Tahami, Z., S.M. Hosseini and M. Bashtani. 2014. Effect of organic acids supplementation on some gastrointestinal tract characteristics and small intestine morphology of broiler chickens. *Animal Production Research*, 3:1-10.
 34. 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.
 35. Viveros, A., A. Brenes, I. Arija and C. Centeno. 2002. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. *Poultry Science*, 81(8): 1172-1183.
 36. Waldroup, A., S. Kaniawati and A. Mauromoustakos. 1995. Performance characteristics and microbiological aspects of broilers fed diets supplemented with organic acids. *Journal of Food Protection*, 58(5): 482-489.



Comparison of Manufactured Acidifier Based Citric Acid with Commercial Sample in Drinking Water on Performance, Serum Biochemical Parameters, PH and Intestinal Morphology of Broiler Chickens

Alireza Hesabi Nameghi¹, Ali Nasari Nejad² and Marzieh Afkhami³

1- Department of Animal Science Research, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Khorasan Razavi Province, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Mashhad, Iran, (Corresponding author: a.hessabi@areeo.ac.ir)

2 and 3- Research and Development Department of Tehran Toyur sabz Andishan Bartar Company, Mashhad, Iran
Received: 5 March, 2022 Accepted: 31 December, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Antibiotics reduce the microbial population of the gastrointestinal tract, increase the available nutrients, and improve the feed conversion ratio (FCR) and body weight gain (BWG) of broilers. Due to the persistence of antibiotics in manufactured products and their transmission to humans, and the emergence of resistance, their use has been banned in many countries. Therefore, the use of antibiotic alternatives in the livestock and poultry industry has been considered, including organic acids. Organic acids modulate the intestinal microbial and improve animal performance by destroying harmful bacteria and providing nutritional conditions for beneficial bacteria. This study was performed to compare the effects of citric acid-based acidifiers with the commercial samples in drinking water on performance, serum biochemical parameters, pH, and intestinal morphology of broilers.

Material and Methods: In this experiment, 400 one-day-old Ross 308 male broiler chicks were allotted to 5 treatments with 4 replicates in a completely randomized design. Experimental treatments included control treatment receiving drinking water without an acidifier and groups receiving drinking water with 0.025, 0.05, and 0.075% of produced acidifier and 0.2% of commercial acidifier.

Results: The results indicated that feed intake (FI) and FCR decreased during the growth period by adding 0.05% of produced acidifier to drinking water compared to the control group ($p < 0.05$). The BWG of broiler chickens increased at the level of 0.075% of the produced acidifier at the stater period and in the groups treated with the commercial sample in the total period compared to the control group ($p < 0.05$). A numerically and significantly decrease in serum triglyceride was observed at treatments containing 0.05 and levels of 0.025 and 0.075% acidifiers respectively. The serum HDL was increased at treatments containing commercial acidifier than the control group ($p < 0.05$). Groups receiving acidifiers had lower serum alkaline phosphatase compared to the control group ($p < 0.05$). A decrease in the pH of the duodenum and jejunum in 42 days, as well as a decrease in the crypt depth and an increase in the villus height were observed in treatments containing 0.2 and 0.05% of commercial and produced acidifiers respectively ($p < 0.05$).

Conclusion: According to the results, the level of 0.05% of produced acidifier in drinking water is recommended to improve the performance, intestinal morphology, and reduce the pH of the gastrointestinal tract in broilers.

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



"مقاله پژوهشی"

اثر پیتیدهای زیست فعال سوپرورم بر عملکرد، ریخت‌شناسی و جمعیت میکروبی روده و پاسخ‌های ایمنی در جوجه‌های گوشتی

سیده پرنده بزرگ‌تبار^۱، محمد کاظمی‌فرد^۲، منصور رضایی^۳ و پویان مهربان^۳

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد تغذیه طیور، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- عضو هیات علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: mo.kazemifard@gmail.com)
۳- عضو هیات علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۲۳
صفحه: ۱۰ تا ۲۰

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه طیور علاوه بر اهمیت آن‌ها در پیشگیری از بیماری‌ها، باعث افزایش روز افزون ناهنجاری‌های مادرزادی، بیماری‌های مزمن، افزایش مقاومت میکروبی و صدها عارضه کوچک و بزرگ دیگر که به‌عنوان معضلات بهداشت کنونی جامعه بشری مطرح است، می‌باشد. تمرکز بر رفاه حیوانات، مراقبت از محیط زیست، استفاده محدود از داروها و تولید یک محصول سالم بدون باقی‌مانده‌های شیمیایی که سلامت انسان را به خطر نیاندازد همیشه مورد توجه بوده است. یکی از جایگزین‌های مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها، به پیتیدهای زیست فعال می‌توان اشاره کرد.
مواد و روش‌ها: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی در یک روزه سویه تجاری راس ۳۰۸، در شش تیمار، پنج تکرار (هشت قطعه جوجه در هر تکرار) استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: جیره پایه، جیره پایه + ۱٪ درصد ویتامین E و ۰/۰۵٪ درصد مادورامایسین، جیره پایه + ۰/۰۵٪ درصد مادورامایسین، جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم پیتید سوپرورم، جیره پایه + ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پیتید سوپرورم و جیره پایه + ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پیتید سوپرورم بودند. اثر تیمارها بر عملکرد، جمعیت میکروبی، ریخت‌شناسی روده و پاسخ سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی بررسی شد.

یافته‌ها: افزودن مادورامایسین (تیمار ۳) و پیتید سوپرورم در سطوح ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم به جیره در مقایسه با گروه شاهد توانسته است مصرف خوراک را در دوره پایانی کاهش دهد. از طرفی تیمارهایی که آنتی‌بیوتیک مصرف کردند، در مقایسه با تیمار ۵ که حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم پیتید سوپرورم بود توانسته است جمعیت باکتری‌های کل را کاهش دهد. اضافه کردن همه سطوح پیتید زیست فعال سوپرورم به جیره سبب کاهش قطر کریپت در مقایسه با گروه شاهد شد و همچنین جیره حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم از پیتید سوپرورم باعث کاهش عمق کریپت در مقایسه با گروه شاهد شد. نتایج به‌دست آمده در رابطه با فاکتورهای ایمنی می‌توان بیان کرد که با افزودن آنتی‌بیوتیک به جیره، می‌تواند فاکتورهای ایمنی از جمله ایمنوگلوبولین G در سن ۳۵ روزگی در مقایسه با گروه شاهد افزایش دهد، همچنین پیتید سوپرورم در غلظت ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم به جیره توانسته است تیترا کل SRBC در سن ۴۲ روزگی در مقایسه با گروه شاهد بهبود دهد.

نتیجه‌گیری: نتایج این آزمایش نشان داد که تیمارهای آزمایشی توانست شاخص‌های عملکردی را در سن ۱۱ تا ۴۲ روزگی و برخی از صفات ریخت‌شناسی رُزَنوم مانند: عمق و قطر کریپت را بهبود دهد. همچنین می‌توان بیان کرد که اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت باکتری کل و لاکتوباسیل و سطح ایمنوگلوبولین G (روز ۳۵) و تیترا کل SRBC (روز ۴۲) معنی‌دار بود.

واژه‌های کلیدی: پاسخ ایمنی، پیتید زیست فعال، جمعیت میکروبی، جوجه گوشتی و سوپرورم

مقدمه

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه طیور علاوه بر اهمیت آن‌ها در پیشگیری از بیماری‌ها، باعث بهبود عملکرد رشد، بهبود راندمان مصرف خوراک و کاهش مرگ و میر ناشی از بیماری‌های بالینی شده است. تخمین زده می‌شود که در صنعت طیور ۳ تا ۵ درصد از افزایش رشد و بهبود ضریب تبدیل غذایی به دلیل خواص آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها با وجود مزایای متعدد، معایبی هم به همراه دارد. برای مثال استفاده از این ترکیبات، جمعیت میکروبی طبیعی روده را تغییر می‌دهد که ممکن است سبب حساسیت حیوان نسبت به برخی عوامل بیماری‌زا شود. با مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، باکتری‌ها به آن مقاوم شده و می‌توانند این مقاومت را از راه ژنتیکی و پلاسمید به باکتری‌های نسل بعد انتقال دهند. مقاومت به‌ویژه به تتراسایکلین، اریترومایسین

آمپی‌سیلین در برخی از حیوانات نسل بعد که هیچ آنتی‌بیوتیکی را مصرف نکرده بودند، دیده شد (۴). از طرفی، باقی ماندن این ترکیبات در گوشت، تخم‌مرغ، شیر و انتقال آن‌ها به انسان از راه مصرف محصولات دام و طیور سبب می‌شود که باکتری‌های بیماری‌زا بدن انسان نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شوند به‌طوری که در مواقع بروز بیماری‌های عفونی در افراد مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها مؤثر واقع نمی‌شود (۱). تحقیقات گسترده در مورد این جایگزین‌ها از دهه قبل آغاز شده است و می‌توان به بعضی از این جایگزین‌ها از قبیل: پروبیوتیک‌ها، پریبیوتیک‌ها، سین‌بیوتیک‌ها، یونوفرها، اسیدهای آلی و در سال‌های اخیر به پیتیدهای زیست فعال اشاره کرد (۱۱،۱۰). مواد زیست فعال شامل دسته‌ای از مواد غذایی می‌باشند، که می‌توانند بر فرآیندهای بیولوژیکی یا سوبستراهای آن‌ها تأثیرگذار باشند.

نشانگر تقویت پاسخ ایمنی پرنده است (۳۸). برای شناخت اثرات بیولوژیکی پیتیدهای سوپرورم بر جایگزینی با آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد مطالعه حاضر انجام شد، تا با تحقیقات بیشتر اثر بخشی پیتیدهای زیست فعال در شرایط درون تنی نیز بررسی شده تا افق تازه‌ای از تحقیقات در زمینه جایگزین‌های جدید آنتی‌بیوتیک‌ها ایجاد شود. این تحقیق، با تولید پیتیدهای سوپرورم با استفاده از آنزیم تریپسین و بررسی تاثیر آن بر عملکرد، ریخت‌شناسی و جمعیت میکروبی روده و پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش روی ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه تجاری راس ۳۰۸ در سه دوره استارتر (۱۰-۱۷ روزگی)، رشد (۱۱-۲۴ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) به مدت شش هفته در قالب طرح کاملا تصادفی با شش تیمار، پنج تکرار و هشت قطعه در هر تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل:

۱- جیره پایه (شاهد) بر پایه ذرت و کنجاله‌ی سویا ۲- جیره پایه به همراه ۰/۱ درصد ویتامین E و ۰/۰۵ درصد مادورامایسین در جیره ۳- جیره پایه به همراه ۰/۰۵ درصد مادورامایسین در جیره ۴- جیره پایه به همراه ۲۰۰ میلی‌گرم پیتید سوپرورم در کیلوگرم جیره ۵- جیره پایه به همراه ۴۰۰ میلی‌گرم پیتید سوپرورم در کیلوگرم جیره ۶- جیره پایه به همراه ۶۰۰ میلی‌گرم پیتید سوپرورم در کیلوگرم جیره زمان شروع تغذیه جوجه‌ها با جیره‌های آزمایشی از یک روزگی بود.

تهیه پیتید از سوپرورم

پروتئین‌های سوپرورم به کمک آنزیم تریپسین هیدرولیز شد. برای شروع فرآیند هیدرولیز، مقدار مشخصی از پودر سوپرورم با نسبت ۱ به ۴ با محلول بافر فسفات سالین مخلوط شد، pH مخلوط در سطح ۸-۹ به وسیله سود یک مولار تنظیم شد. سپس آنزیم تریپسین با نسبت ۱/۵ درصد به آن اضافه شد و با دستگاه هموژنایزر به مدت ۱۰ دقیقه دور ۶۰ همگن‌سازی شد. سپس محلول در دمای ثابت ۶۰ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری شیکردار به مدت یک ساعت هیدرولیز شد. بعد از پایان هیدرولیز برای غیرفعال‌سازی آنزیم، دما تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه رسانده شد. سپس محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دور ۸۰۰۰ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت به دست آمده داخل بطری مخصوص به آزمایشگاه منتقل و پس از خشک شدن به روش انجمادی با دستگاه فریزدرایر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و در زمان شروع پرورش در مقدارهای مورد نظر در جیره استفاده شد (۲۴).

عملکرد (افزایش وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی)

وزن‌کشی جوجه‌ها در پایان روزهای ۱۰، ۲۴ و ۴۲ انجام شد. وزن‌کشی به شیوه تجمعی و توسط ترازویی با دقت ۵ گرم انجام گرفت. همچنین در صورت وقوع تلفات در هر تیمار آزمایشی، جوجه تلف شده وزن‌کشی شد و وزن و سن آن در محاسبه میانگین افزایش وزن روزانه جوجه‌ها مد نظر قرار گرفت (۳۷). مقدار مصرف خوراک هر واحد آزمایشی نیز

بنابراین، روی عملکرد بدن و وضعیت آن و در نهایت روی سلامتی مؤثر می‌باشند. در سال‌های اخیر توجه بسیاری از محققان به استفاده از پیتیدهای زیست فعال در زمینه داروسازی و تولید افزودنی‌های فراسودمند جذب شده است (۱۶). پیتیدها، زیست مولکول‌های پروتئینی کوتاه زنجیره (معمولا کمتر از ۲۰ اسید آمینه) هستند، که پس از جذب در دستگاه گوارش می‌توانند خواص فیزیولوژیکی مختلف از قبیل کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی، جلوگیری از رشد تومور و کاهش سطح قند خون اعمال کنند (۳). هدف عمده از پرورش دام و طیور، افزایش کارایی مصرف خوراک برای تولید شیر، گوشت و تخم‌مرغ می‌باشد. این رویکرد نیازمند تغذیه مطلوب برای حمایت از عملکرد روده کوچک به‌عنوان محل نهایی هضم و جذب مواد مغذی جیره می‌باشد (۳۷ و ۴۴). پیتیدهای تولید شده از هیدرولیز پروتئین‌های گیاهی و حیوانی که در جیره غذایی خوک، مرغ، ماهی و حیوانات خانگی استفاده شده است، نتایج مثبتی بر بهبود سلامت روده (از نظر ریخت‌شناسی و جمعیت میکروبی و ترشح آنزیم‌ها)، رشد و عملکرد تولید نشان داده‌اند (۲۶). پیتیدهای کوچک باعث افزایش تعداد و اندازه ویلی‌ها در روده کوچک می‌شوند. افزایش تعداد و اندازه ویلی‌ها باعث افزایش سطح جذب مواد مغذی شده که منجر به بهبود بازده و عملکرد رشد می‌شود (۱۸،۲۶). گزارش شده است که پیتیدهای استخراج شده از دانه سویا توانستند اثر معنی‌داری روی افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن و افزایش ارتفاع پرزها و عمق کریبت داشته باشند (۳۴). سوپرورم، لارو سوسک تاریکی است که در مکان‌های تاریک و ساکت زندگی می‌کنند. حدود ۵ درصد از وزن خشک لارو سوپرورم را کیتین تشکیل می‌دهد. کیتین به‌عنوان یک پلی‌ساکارید، ممکن است بستری برای تخمیر میکروبی در دستگاه گوارش مرغ‌ها فراهم سازد و از طرف دیگر می‌تواند به‌عنوان یک بستر برای تولید کیتوزان که دارای خاصیت تقویت‌کننده سیستم ایمنی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی است، محسوب شود (۶). ارزش غذایی در ۱۰۰ گرم سوپرورم خشک شامل: چربی ۳/۳۸، پروتئین ۱/۴۹، خاکستر ۱/۴۱، کربوهیدرات ۸/۵٪ می‌باشد. لارو سوپرورم دارای پتاسیم، مس، سدیم، سلنیوم، آهن و روی است که رقیب گوشت گاو محسوب می‌شود و حاوی اسید لینولئیک ضروری نیز هستند. آن‌ها همچنین دارای ویتامین بیشتری نسبت به گوشت گاو هستند (به‌جز ویتامین B12)، همچنین قادرند از پلیستایرین که از آن پلاستیک ساخته می‌شود به‌میزان ۳۴-۳۹ میلی‌گرم در روز استفاده کرده و آن را به مواد آلی قابل استفاده تجزیه کرده و سبب حفاظت محیط زیست شوند (۲۷). در تحقیقی که روی جوجه‌های گوشتی انجام شد، استفاده از حداکثر ۱۰ درصد سوپرورم خشک‌شده در جیره آغازین بر پایه سورگوم-سویا اثر منفی بر میزان خوراک مصرفی، افزایش وزن و بازده خوراک نداشت (۴۰). در پژوهشی جایگزینی کنجاله سویا با سوپرورم در دوره ۳۰ تا ۶۲ روزگی، اثر معنی‌داری بر نرخ رشد و خوراک مصرفی جوجه‌های گوشتی نداشت، ولی سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک و کاهش نسبت آلبومین به گلوبولین شد که

الکترونی اندازه‌گیری شد (۹) و همچنین سطح پرز به روش ساکاموتو و همکاران (۳۹) از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

(نصف ضخامت پرز) × (طول پرز) × 2π : سطح پرز

تیتراژ آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی^۱

در روز ۲۸ دوره پرورش به دو قطعه پرنده از هر تکرار مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون ۱۰ درصد گلبول قرمز گوسفند شسته شده در بافر فسفات استریل، به‌وسیله سرنگ به عضله سینه پرنده تزریق شد. هفت و چهارده روز بعد از تزریق (روز ۳۵ و ۴۲)، خون‌گیری از طریق ورید بال پرنده‌گان انجام گرفت و پس از جداسازی سرم‌ها، نمونه‌ها به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت و تا روز اندازه‌گیری تیتراژ آنتی‌بادی در این دما نگهداری شد (۱۲). برای تعیین عیار پادتن تولید شده در پاسخ به تزریق گلبول قرمز گوسفند از روش هم‌آگلوتیناسیون میکروتیتراژ استفاده گردید (۱۲).

تجزیه و تحلیل آماری

این مطالعه، بر پایه طرح کاملاً تصادفی (با شش تیمار و پنج تکرار و در هر تکرار ۸ قطعه جوجه گوشتی) با استفاده از نرم‌افزار اکسل شد و سپس با رویه GLM نرم‌افزار آماری (SAS, 2003) مورد ارزیابی قرار گرفت. مقایسه تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد. مدل آماری مورد استفاده در این آزمایش به‌صورت زیر بود:

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

Y_{ij} : مقدار هر مشاهده

μ : میانگین جامعه

T_i : اثر تیمارها

e_{ij} : خطای آزمایش

هم‌زمان با وزن‌کشی جوجه‌ها، در پایان روزهای ۱۰، ۲۴ و ۴۲، پس از کسر مقدار خوراک باقی‌مانده در آن روز به‌دست آمد (۳۷). ضریب تبدیل غذایی از تقسیم مصرف خوراک بر افزایش وزن در هر واحد آزمایشی در هر دوره و در کل دوره آزمایشی محاسبه شد.

جمعیت میکروبی ایلئوم

برای شمارش باکتری‌های ایلئوم، در ۴۲ روزگی، از هر تکرار یک قطعه جوجه با میانگین وزنی نزدیک به واحد آزمایش مربوطه انتخاب و پس از توزین کشتار شدند. برای این آزمایش از سه محیط کشت MRS، Nutrient agar، MacConkey agar و agar استفاده شد. پس از تهیه‌ی محیط کشت، نمونه‌های محتویات قسمت میانی ایلئوم رقیق‌سازی شد، سپس با استفاده از سمپلر ۰/۱ میلی‌لیتری از نمونه‌ها تهیه شده و به روش نقطه‌ای کشت شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت انکوبه و در نهایت کلون‌ها با استفاده از بینوکولار شمارش شد و تعداد کلن‌ها در رقت مورد استفاده (رقت سه) ضرب شد. در انتها لگاریتم تعداد کلنی در واحد وزن محاسبه شد (۲۵).

اندازه‌گیری ریخت‌شناسی ژژنوم

در ۴۲ روزگی از هر تکرار یک قطعه پرنده انتخاب و پس از توزین، کشتار شد. پس از باز کردن حفره شکمی پرنده‌گان کشتار شده قسمت ژژنوم روده باریک تفکیک، قطعه‌ای به طول ۲ سانتی‌متر جدا و پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک، با محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد. آماده‌سازی بافت شامل سه مرحله آبگیری، شفاف‌سازی و آغشته‌گری نمونه‌ها است که به ترتیب با الکل، گزین و پارافین مذاب انجام شد. پس از قالب‌گیری نمونه‌ها، برش‌هایی از بافت‌های مورد نظر تهیه شد و برای رنگ‌آمیزی از روش هماتوکسیلین و اتوزین استفاده شد، در نهایت ارتفاع پرز و عمق کریپت با میکروسکوپ

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره پایه (درصد) در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی
Table 1. Feed items and dietary chemical compounds (percentage) in the starter, grower and finisher period

| پایانی (25-42 روزگی) Finisher (25-42days) | رشد (11-24 روزگی) Grower (11-24days) | آغازین (0-10 روزگی) Starter (0-10days) | اجزا و ترکیبات Ingredient |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| 60.36 | 53.99 | 51.06 | ذرت corn |
| 30.69 | 34.72 | 36.47 | کنجاله سویا 44% Soybean meal (44%) |
| 1.50 | 3.50 | 5.00 | گلوتن ذرت Corn gluten |
| 3.20 | 3.58 | 2.56 | روغن سویا Soybean oil |
| 1.77 | 1.67 | 2.01 | دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate |
| 1.00 | 1.03 | 1.16 | کربنات کلسیم Carbonate calcium |
| 0.32 | 0.32 | 0.32 | نمک Common salt |
| 0.10 | 0.10 | 0.10 | بیکربنات سدیم NaHco3 |
| 0.25 | 0.25 | 0.25 | مکمل ویتامینه ¹ Vitamin premix |
| 0.25 | 0.25 | 0.25 | مکمل معدنی ² |
| 0.27 | 0.27 | 0.34 | دی-ال متیونین DL-methionine |
| 0.23 | 0.26 | 0.37 | ال-هیدروکلراید لیزین L-lysine-Hcl |
| 0.06 | 0.06 | 0.11 | ال-ترئونین L-threonine |
| 3130 | 3030 | 2950 | ترکیبات شیمیایی محاسبه شده انرژی قابل متابولیسم (Kcal/Kg) Calculated chemical levels |
| 219 | 225 | 231 | تبادل کاتیون و آنیون جیره (میلی اکی والان در کیلوگرم) DCAD |
| 19.11 | 21.07 | 22.62 | پروتئین خام (%) Crud protein (%) |
| 0.79 | 0.87 | 1.00 | کلسیم (%) Calcium (%) |
| 0.395 | 0.435 | 0.50 | فسفر قابل دسترس (%) A.phosphorus (%) |
| 0.21 | 0.18 | 0.18 | سدیم (%) Na (%) |
| 1.03 | 1.15 | 1.28 | لیزین (%) Lysine (%) |
| 0.8 | 0.87 | 0.98 | متیونین + سیستین (%) M+C (%) |
| 0.69 | 0.77 | 0.86 | ترئونین (%) Threonine (%) |

۱- مکمل ویتامینه مورد استفاده مقادیر ذیل را در هر کیلوگرم جیره فراهم می‌کند: ویتامین A: ۱۱۰۰۰ IU، ویتامین D₃: ۲۴۰۰ IU، ویتامین E: ۲۲ میلی‌گرم، ویتامین B₁₂: ۰/۰۱۸ میلی‌گرم، ویتامین K: ۳ میلی‌گرم، تیامین (B₁): ۲/۵ میلی‌گرم، کولین: ۱۶۰۰ میلی‌گرم، فولیک اسید: ۲ میلی‌گرم، بیوتین: ۰/۲۵ میلی‌گرم، ریوفلاوین: ۷/۵ میلی‌گرم.

۲- مکمل معدنی مورد استفاده مقادیر ذیل را در هر کیلوگرم جیره فراهم می‌کند: منگنز: ۱۲۰ میلی‌گرم، روی: ۱۱۰ میلی‌گرم، آهن: ۲۰ میلی‌گرم، مس: ۱۶ میلی‌گرم، سلنیوم: ۰/۳ میلی‌گرم، ید: ۱/۲ میلی‌گرم.

1- The vitamin supplement used provides the following amounts per kilogram of diet: Vitamin A: 11000 IU, Vitamin D₃: 2400 IU, Vitamin E: 22 mg, Vitamin B₁₂: 0.018 mg, Vitamin K: 3 mg, thiamine (B₁): 2.5 mg, choline: 1600 mg, folic acid: 2 mg, biotin: 0.25 mg, riboflavin: 7.5 mg.
2- The mineral supplement used provides the following amounts per kilogram of diet: Manganese: 120 mg, Zinc: 110 mg, Iron: 20 mg, Copper: 16 mg, Selenium: 0.3 mg, Iodine: 1.2 mg.

در مقایسه با گروه شاهد توانسته است مصرف خوراک را در دوره پایانی و کل دوره کاهش دهد. همچنین در دوره پایانی و کل دوره ضریب تبدیل غذایی در پرندگانی که تیمارهای آزمایشی را دریافت کرده بودند، بهبود معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. لاندی و همکاران (۲۳) گزارش کردند که مکمل‌سازی پپتید زیست فعال دانه کتان به جیره جوجه‌های گوشتی در دوره آغازین تاثیر معنی‌داری در رابطه با وزن بدن مشاهده نشد در صورتی‌که در دوره رشد این گونه نبود و اثر معنی‌داری داشته که با نتایج این آزمایش مطابقت

نتایج و بحث

عملکرد (افزایش وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل)

با توجه به جدول ۲، اثر تیمارهای آزمایشی بر مصرف خوراک از ۱۱ تا ۴۲ روزگی و کل دوره معنی‌دار بوده و همچنین باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی در سن ۲۵ تا ۴۲ روزگی و کل دوره نسبت به تیمار شاهد شد ($p < 0/05$). همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود افزودن مادورامایسین (تیمار ۳) و پپتید سوپرورم در سطوح ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم به جیره

شاهد بود. البته کامریدیج و همکاران (۲۰) گزارش کردند که هیدرولیز کنجاله دانه کتان سبب کاهش فاکتورهای ضد تغذیه‌ای می‌شود و از این طریق می‌تواند عملکرد را بهبود بدهد. بهبود عملکرد محصولات هیدرولیز شده و تخمیری را می‌توان به افزایش قابلیت هضم (۳۲) و افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی مانند آمیلاز، تریپسین، پروتاز و لیپاز شود که در نتیجه عملکرد را بهبود می‌بخشد (۱۵). به طور کلی سازوکارهایی که سبب بهبود عملکرد با افزودن پپتید زیست فعال می‌شود شامل: توسعه و رشد بافت روده و کاهش نفوذپذیری آن به عوامل بیماری‌زا (۳۴)، افزایش جمعیت باکتری مفید (۲۱) تقویت سیستم ایمنی (۴۳) و افزایش طول پرز و عمق کریپت (۱۴) می‌تواند نسبت داد. به‌طور کلی افزودن پپتید زیست فعال سوپرورم و آنتی‌بیوتیک همراه با ویتامین E در مقایسه با گروه شاهد توانسته است مصرف خوراک را در سن ۱۱ تا ۴۲ روزگی و همچنین ضریب تبدیل خوراک را در سن ۲۵ تا ۴۲ روزگی بهبود دهد.

داشت. عبدالهی و همکاران (۲) گزارش کردند که افزودن پپتید زیست فعال سویا در جیره جوجه‌های گوشتی سبب بهبود عملکرد و ضریب تبدیل خوراک در مقایسه با گروه شاهد شد. بهبود ضریب تبدیل خوراک در جیره جوجه‌های گوشتی که حاوی پپتید زیست فعال است به بهتر شدن میکروفلور و ریخت‌شناسی روده و افزایش فعالیت آنزیمی دستگاه گوارش مربوط می‌شود (۴۷). آنتی‌بیوتیک‌های خوراکی از طریق کاهش تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش سبب افزایش هضم و جذب و متابولیسم مواد مغذی شده و در نتیجه عملکرد را بهبود می‌بخشد (۳۲) با توجه به این مطلب در این آزمایش می‌توان گفت که تیمار حاوی آنتی‌بیوتیک سبب کاهش باکتری‌های بیماری‌زا شده و عملکرد را افزایش داده است. محمد رضایی و همکاران (۲۹) گزارش کردند که افزودن پپتید زیست فعال دانه کتان و آنتی‌بیوتیک به جیره پایه نتوانست ضریب تبدیل خوراک را بهبود بدهد و بهترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمار

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در پایان هر دوره از پرورش

Table 2. The effect of experimental treatments on broiler performance at the end of each breeding period

| سطح معنی‌داری | خطای استاندارد میانگین | تیمار 6 | تیمار 5 | تیمار 4 | تیمار 3 | تیمار 2 | تیمار 1 | |
|---------------|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------------------------------|
| P-value | SEM | Treatment6 | Treatment5 | Treatment4 | Treatment3 | Treatment2 | Treatment1 | |
| 0.2709 | 0.2533 | 205 | 208 | 213 | 216 | 213 | 210 | افزایش وزن (گرم) Wight gain(g) |
| | | | | | | | | 1-10 روزگی |
| 0.2401 | 1.1126 | 814 | 781 | 786 | 803 | 762 | 786 | 11-24 روزگی |
| 0.4862 | 4.2316 | 1825 | 1890 | 1811 | 1856 | 1864 | 1735 | 11-24days |
| 0.4863 | 4.2255 | 2845 | 2880 | 2811 | 2876 | 2840 | 2733 | 25-42days |
| | | | | | | | | کل دوره |
| | | | | | | | | The whole of experiment |
| 0.5309 | 0.3016 | 248 | 253 | 254 | 257 | 255 | 259 | مصرف خوراک (گرم) Feed intake |
| | | | | | | | | 1-10 روزگی |
| 0.0067 | 1.4122 | 1172 ^a | 1092 ^{bc} | 1128 ^{ab} | 1090 ^{bc} | 1060 ^c | 1122 ^{ab} | 11-24 روزگی |
| 0.0001 | 5.0683 | 3382 ^{cd} | 3474 ^c | 3465 ^c | 3236 ^d | 3682 ^b | 3883 ^a | 1-10 days |
| 0.0001 | 4.7482 | 4803 ^b | 4820 ^b | 4848 ^b | 4583 ^c | 4994 ^b | 5264 ^a | 25-42days |
| | | | | | | | | کل دوره |
| | | | | | | | | The whole of experiment |
| 0.5928 | 0.0399 | 1.20 | 1.21 | 1.19 | 1.18 | 1.19 | 1.22 | ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio |
| | | | | | | | | 1-10days |
| 0.2762 | 0.0630 | 1.44 | 1.39 | 1.43 | 1.35 | 1.39 | 1.42 | 11-24 روزگی |
| 0.0001 | 0.0044 | 1.85 ^{bc} | 1.83 ^{bc} | 1.91 ^{bc} | 1.74 ^c | 1.97 ^b | 2.27 ^a | 11-24days |
| 0.0001 | 0.0254 | 1.68 ^{bc} | 1.67 ^{bc} | 1.72 ^b | 1.59 ^c | 1.75 ^b | 1.94 ^a | 25-42days |
| | | | | | | | | کل دوره |
| | | | | | | | | The whole of experiment |

a b c: در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

۱- جیره پایه (شاهد)، ۲- جیره پایه به همراه ۰/۱ درصد ویتامین E و ۰/۰۵ درصد مادورامایسین در جیره، ۳- جیره پایه به همراه ۰/۰۵ درصد مادورامایسین در جیره، ۴- جیره پایه به همراه ۲۰۰ میلی‌گرم پپتید سوپرورم در کیلوگرم جیره، ۵- جیره پایه به همراه ۴۰۰ میلی‌گرم پپتید سوپرورم در کیلوگرم جیره و ۶- جیره پایه به همراه ۶۰۰ میلی‌گرم پپتید سوپرورم در کیلوگرم جیره

a b c: In each row, the averages that do not have a common Latin letter have a significant difference at the 0.05 level. 1- Basic diet (control), 2- Basic diet with 0.1% vitamin E and 0.05% maduramycin in the diet, 3- Basic diet with 0.05% maduramycin in the diet, 4- Basic diet with 200 mg of Superworm peptide, per kg of ration, 5-base ration with 400 mg of Superworm peptide per kg of ration and 6-base ration with 600 mg of Superworm peptide per kg of ration

جمعیت میکروبی ایلئوم

زیست فعال کنجاله کنجد بر جمعیت باکتری اشرشیاکلی و لاکتوباسیلوس معنی‌دار بود و زمانی که از مانان اولیگوساکاریدها و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از پیتید زیست فعال کنجاله کنجد به جیره پایه اضافه شد بهترین نتیجه را در رابطه با جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس حاصل شده بود. از طرفی اضافه کردن آنتی بیوتیک، مانان اولیگوساکاریدها و پیتید زیست فعال کنجاله کنجد سبب کاهش جمعیت باکتری اشرشیاکلی در مقایسه با گروه شاهد شد. مهم‌ترین اثر آنتی‌بیوتیک کاهش یا از بین بردن رشد باکتری‌ها بیماری‌زا و افزایش جذب مواد مغذی از طریق کاهش ضخامت اپی تلیوم روده است که می‌تواند سبب بهبود رشد و ضریب تبدیل خوراک شود. در این آزمایش تیمارهایی که آنتی‌بیوتیک مصرف کردند، در مقایسه با تیمار ۵ که حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم پیتید سوپرورم بود توانسته است جمعیت باکتری‌های کل را کاهش دهد. در توجیه با این نتایج می‌توان گفت که مادورامایسین با اتصال با یون‌ها سبب تشکیل کمپلکس مادورامایسین با کاتیون می‌دهد که در این صورت نفوذپذیری غشا را به داخل سلول فراهم می‌کند و در نتیجه سبب بهم خوردن تعادل یونی بین دو سوی غشای باکتری شده و ایجاد اختلال در متابولیسم می‌شود (۳۱). نتایج به‌دست آمده در رابطه با افزودن پیتید زیست فعال سوپرورم به جیره در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم، توانسته است که جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس را در مقایسه با تیمارهای حاوی آنتی‌بیوتیک بهبود دهد.

نتایج این آزمایش نشان داد که اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت باکتری ایلئوم معنی‌دار بود ($p < 0.05$). افزودن آنتی‌بیوتیک به‌همراه ویتامین E توانست جمعیت باکتری لاکتوباسیل در مقایسه با گروه شاهد کاهش دهد، در مقابل اضافه کردن ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از پیتید سوپرورم سبب افزایش لاکتوباسیل در مقایسه با تیمار حاوی آنتی‌بیوتیک به‌همراه ویتامین E و تیمار آنتی‌بیوتیک شد. در مقابل افزودن ۲۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم از پیتید سوپرورم به جیره در مقایسه با تیمار شاهد نتوانسته است جمعیت باکتری کل را تحت تاثیر قرار دهد. همان‌طور که انتظار می‌رفت افزودن آنتی‌بیوتیک به جیره آزمایشی سبب از بین رفتن کلیه باکتری شامل باکتری‌های مفید و مضر شده است. پیتیدها توانایی کنترل جمعیت باکتری دستگاه گوارش که به‌نوبه‌خود منجر به کنترل سطح موکوس روده و سیستم ایمنی می‌شوند را دارند (۲۵). برای مثال: پیتیدها می‌توانند در تولید متابولیت‌های میکروبی دستگاه گوارش در بیان ژن آن‌ها موثر باشند (۸). افزودن پیتید سویا سبب افزایش جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس و کاهش باکتری‌های بیماری‌زا شده است (۵). کریم‌زاده و همکاران (۲۱) گزارش کردند که با افزودن پیتید زیست فعال کانولا سبب کاهش معنی‌داری باکتری کل و گرم منفی در سکوم و ایلئوم شد و در مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از پیتید زیست فعال کانولا، بیشترین کاهش جمعیت باکتری در مقایسه با گروه شاهد در سن ۴۲ روزگی بود. صلواتی و همکاران (۴۱) گزارش کردند که اثر افزودن پیتید

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت باکتریایی ایلئوم (log cfu/g) در سن ۴۲ روزگی

Table 3. The effect of experimental treatments on the bacterial population of ileum (log cfu/g) at 42 days of age

| سطح معنی‌داری | خطای استاندارد میانگین | تیمارها | | | | | | متغیر |
|---------------|------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-----------------------------|
| | | تیمار 6 | تیمار 5 | تیمار 4 | تیمار 3 | تیمار 2 | تیمار 1 | |
| P-value | SEM | Treatment6 | Treatment5 | Treatment4 | Treatment3 | Treatment2 | Treatment1 | Parameters |
| 0.0082 | 0.0074 | 5.38 ^{bc} | 5.48 ^{abc} | 5.66 ^a | 5.35 ^{bc} | 5.32 ^c | 5.55 ^{ab} | لاکتوباسیل Lactobacillus |
| 0.0015 | 0.0055 | 6.07 ^{ab} | 6.15 ^a | 6.08 ^{ab} | 5.93 ^{bc} | 5.85 ^c | 6.02 ^{ab} | باکتری کل Total count |

a b c: در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

۱- جیره پایه (شاهد)، ۲- جیره پایه به‌همراه ۰/۱ درصد ویتامین E و ۰/۰۵ درصد مادورامایسین در جیره، ۳- جیره پایه به‌همراه ۰/۰۵ درصد مادورامایسین در جیره، ۴- جیره پایه به‌همراه ۲۰۰ میلی‌گرم پیتید سوپرورم در کیلوگرم جیره، ۵- جیره پایه به‌همراه ۴۰۰ میلی‌گرم پیتید سوپرورم در کیلوگرم جیره و ۶- جیره پایه به‌همراه ۶۰۰ میلی‌گرم پیتید سوپرورم در کیلوگرم جیره

a b c: In each row, the averages that do not have a common Latin letter have a significant difference at the 0.05 level. 1- Basic diet (control), 2- Basic diet with 0.1% vitamin E and 0.05% maduramycin in the diet, 3- Basic diet with 0.05% maduramycin in the diet, 4- Basic diet with 200 mg of Superworm peptide. per kg of ration, 5-base ration with 400 mg of Superworm peptide per kg of ration and 6-base ration with 600 mg of Superworm peptide per kg of ration

زیست فعال کنجاله کنجد بر طول پرز و عمق کریپت معنی‌دار بوده به‌طوری‌که اضافه کردن ۱۰۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم از این محصول در جیره بیشترین طول پرز را در مقایسه با گروه شاهد به خود اختصاص داد. حضور آنتی بیوتیک در جیره خوراکی سبب از بین رفتن سلول‌های پرز و افزایش تعداد سلول‌های کریپت که در نهایت منجر به افزایش عمق کریپت می‌شود (۲۹). با از بین رفتن انتروسیست‌ها در قسمت بالایی پرز نشان می‌دهد نرخ میتوز در سلول‌های کریپت افزایش یافته که در نتیجه سبب بالا رفتن عمق کریپت می‌شود. در این صورت ارتفاع پرز کم شده سطح جذب مواد مغذی کاهش

ریخت‌شناسی ژژنوم

نتایج آزمایش نشان داد که اثر تیمارهای آزمایشی بر ریخت‌شناسی ژژنوم عمق کریپت و قطر کریپت معنی‌دار بود ($p < 0/05$). تیمارهایی که پیتید زیست فعال سوپرورم دریافت کردند در مقایسه با گروه شاهد و آنتی‌بیوتیک به‌همراه ویتامین E میزان قطر کریپت کم‌تری داشتند. نتایج به‌دست آمده در رابطه با عمق کریپت می‌توان گفت که تیمار حاوی آنتی‌بیوتیک به‌همراه ویتامین E در مقایسه با تیمار حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم پیتید سوپرورم تفاوت معنی‌داری داشته است. صلواتی و همکاران (۴۳) گزارش کردند که افزودن پیتید

می‌افتد (۲۹). بنابراین با افزایش سطح پرز، فرآیند هضم و جذب مواد مغذی بیشتر می‌شود. با این حال افزودن تیمارهای آزمایشی نتوانسته است سطح پرز را تغییر دهد. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که اضافه کردن همه سطوح پپتید زیست فعال سوپرورم به جیره توانسته است قطر کریپت را در مقایسه با گروه شاهد کاهش دهد و همچنین جیره حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم از پپتید سوپرورم سبب کاهش عمق کریپت در مقایسه با گروه شاهد شد.

می‌یابد (۳۷). برخی از محققان گزارش کردند که پپتیدهای کوچک در مقایسه با پروتیین دست نخورده، شاخص‌های هیستولوژیکی مثل طول پرز و عمق کریپت در دستگاه گوارش افزایش می‌دهند که در این صورت سبب بهبود عملکرد می‌شود (۲۱). پپتیدهای زیست فعال سبب بهبود یکپارچگی دستگاه گوارش می‌شود. سطح پرز نقش حیاتی در فرآیند هضم و جذب مواد مغذی دارد به طوری که اولین برخورد مواد مغذی به روده بیشتر در ناحیه سطح پرز اتفاق

جدول ۴- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ارتفاع، عمق کریپت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ایلئوم روده باریک در ۳۹ روزگی
Table 4. The effect of experimental treatments on height, crypt depth and ratio of villi height to crypt depth in small intestine ileum at 39 days

| سطح معنی داری P-Value | خطای استاندارد میانگین SEM | تیمار | | | | | | متغیر Parameters |
|--------------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|--------------------------------------------|
| | | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | |
| 0.0517 | 13.2592 | 989.82 | 966.24 | 1002.94 | 1029.80 | 1076.47 | 1101.73 | طول پرز (میکرومتر) Villi height |
| 0.1407 | 5.9528 | 106.57 | 128.50 | 80.40 | 120.79 | 117.67 | 136.86 | ضخامت پرز (میکرومتر) Villi width |
| 0.0263 | 7.7102 | 175.86 ^{bc} | 161.39 ^c | 199.88 ^{abc} | 183.09 ^{bc} | 247.33 ^a | 230.93 ^{ab} | عمق کریپت (میکرومتر) Crypt depth |
| 0.0010 | 0.8440 | 12.836 ^b | 17.442 ^b | 17.143 ^b | 15.250 ^b | 23.833 ^a | 25.802 ^a | قطر کریپت (میکرومتر) Crypt diameter |
| 0.0599 | 19.1451 | 331603 | 390357 | 253736 | 391832 | 403695 | 471948 | مساحت پرز (میکرومتر) Villi surface area |

a b c: در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

۱- جیره پایه (شاهد)، ۲- جیره پایه به همراه ۰/۱ درصد ویتامین E و ۰/۰۵ درصد مادورامایسین در جیره، ۳- جیره پایه به همراه ۰/۰۵ درصد مادورامایسین در جیره، ۴- جیره پایه به همراه ۲۰۰ میلی‌گرم پپتید سوپرورم در کیلوگرم جیره، ۵- جیره پایه به همراه ۴۰۰ میلی‌گرم پپتید سوپرورم در کیلوگرم جیره و ۶- جیره پایه به همراه ۶۰۰ میلی‌گرم پپتید سوپرورم در کیلوگرم جیره

a b c: In each row, the averages that do not have a common Latin letter have a significant difference at the 0.05 level. 1- Basic diet (control), 2- Basic diet with 0.1% vitamin E and 0.05% maduramycin in the diet, 3- Basic diet with 0.05% maduramycin in the diet, 4- Basic diet with 200 mg of Superworm peptide, per kg of ration, 5-base ration with 400 mg of Superworm peptide per kg of ration and 6-base ration with 600 mg of Superworm peptide per kg of ration

افزودن پپتیدهای آنتی باکتریال در جیره خوک‌ها اثر معنی‌داری بر ترشح ایمونوگلوبین A در ناحیه دئودنوم و ژژنوم داشته است (۷). از طرفی ویتامین E تنظیم‌کننده پاسخ التهابی است که در این باره می‌توان گفت که آلفاتوکوفرول بر سیکلواکسیژناز دو اثر بازدارندگی دارد که می‌تواند از پروستاگلاندین‌ها ساخته شود (۲۳). جوجه‌های گوشتی که به‌مقدار ۲۲۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم ویتامین E دریافت کرده بودند سطح انترولوکین ۶ و طحال کاهش معنی‌داری داشت (۱۹). از طرفی مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که ویتامین E اثر سودمندی بر تقویت سیستم ایمنی در برابر بیماری عفونی و سرطان در انسان دارد (۳۰). از این رو ویتامین E سبب تکثیر و ساخت آنتی‌بادی در برابر آنتی‌ژن می‌شود (۴۲). هنگامی که ویتامین E به جیره جوجه‌های گوشتی اضافه شد تیتراژ آنتی‌بادی به SRBC افزایش یافت که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت (۴۲). به طور کلی می‌توان گفت که اثر افزودن تیمارهای آزمایشی حاوی آنتی‌بیوتیک همراه با ویتامین E و پپتید سوپرورم با غلظت ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم به جیره در مقایسه با گروه شاهد توانسته است سیستم ایمنی را بهبود دهد. با افزودن آنتی‌بیوتیک به جیره، توانست فاکتورهای ایمنی از جمله ایمونوگلوبین G در سن ۳۵ روزگی در مقایسه با گروه شاهد افزایش دهد همچنین پپتید سوپرورم در غلظت ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم به جیره توانسته است تیتراژ کل SRBC در سن ۴۲ روزگی در مقایسه با گروه شاهد بهبود دهد.

پاسخ سیستم ایمنی

نتایج جدول ۵ نشان می‌دهد که ایمونوگلوبولین G (روز ۳۵) در تیمار شاهد با تیمار حاوی آنتی‌بیوتیک اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). همچنین با افزودن تیمارهای آزمایشی آنتی‌بیوتیک همراه با ویتامین E غلظت تیتراژ کل (روز ۴۲) علیه گلبول قرمز گوسفندی در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد. چنگ و همکاران (۱۳) گزارش کردند که مکمل‌سازی ویتامین E توانسته است ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در جوجه‌های گوشتی که سیستم ایمنی ضعیف تری داشتند افزایش دهد در نتیجه از آسیب رساندن به بافت‌های ایمنی مثل بورس کاهش یافته است. مکانیسم ایجاد ایمنی که با افزودن پپتید زیست فعال ایجاد شده است می‌تواند در اثر افزایش و تولید TNF- α (فاکتور نکروز تومور آلفا)، IL8 (اینترولوکین ۸)، IL10 (اینترولوکین ۱۰)، IL6 (اینترولوکین ۶) باشد که در در نتیجه سبب تحریک گیرنده‌های Toll-like می‌شود (۳۳). اثر افزودن پپتید زیست فعال اوشو و همکاران (۳۳) مورد بررسی قرار دادند به صورتی که با افزودن جیره‌های آزمایشی بر بیان انترولوکین ۶- α و فاکتور نکروز آلفا معنی‌دار بود. علاوه بر آن پپتیدهای سویا همراه با آنتی‌بیوتیک عملکرد سیستم ایمنی را افزایش داده و در نتیجه سبب بهبود سلامت حیوان شد که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت (۱۸). هانکوک و ساحل (۱۷) گزارش کردند که پپتیدهای زیست فعال از طریق تحریک سیستم ایمنی می‌تواند به‌عنوان خصوصیات ضد میکروبی به حساب بیایند.

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر ایمنی عمومی (\log_2) در سن ۳۵ و ۴۲ روزگیTable 5. The effect of experimental treatments on general immunity (\log_2) at 35 and 42 days of age

| سطح معنی داری | خطای استاندارد | | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | متغیر |
|---------------|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------------------------------|-------|
| | میانگین | SEM | | | | | | | |
| P-value | SEM | Treatment6 | Treatment5 | Treatment4 | Treatment3 | Treatment 2 | Treatment 1 | Parameter | |
| 0.2870 | 0.1394 | 4.60 | 5.00 | 4.40 | 5.00 | 5.20 | 4.20 | تیترا کل (SRBC) روز 35 Total titer(35d) | |
| 0.0453 | 0.1027 | 2.60 ^{ab} | 2.60 ^{ab} | 2.60 ^{ab} | 3.40 ^a | 3.00 ^{ab} | 2.20 ^b | ایمونوگلوبین G (روز 35) IgG(35d) | |
| 0.6388 | 0.1393 | 2.00 | 2.40 | 1.80 | 1.60 | 2.20 | 2.00 | ایمونوگلوبین M (روز 35) IgM(35d) | |
| 0.0350 | 0.2013 | 6.20 ^a | 6.00 ^a | 5.20 ^{ab} | 6.40 ^a | 6.60 ^a | 4.40 ^b | تیترا کل (SRBC) روز 42 Total titer(42d) | |
| 0.1150 | 0.1178 | 3.20 | 3.20 | 3.20 | 3.60 | 3.40 | 2.40 | ایمونوگلوبین G (روز 42) IgG(42d) | |
| 0.2573 | 0.1763 | 3.00 | 2.80 | 2.00 | 2.80 | 3.20 | 2.00 | ایمونوگلوبین M (روز 42) IgM(42d) | |

a b c: در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

۱- جیره پایه (شاهد)، ۲- جیره پایه به همراه ۰/۱ درصد ویتامین E و ۰/۰۵ درصد مادورامایسین در جیره، ۳- جیره پایه به همراه ۰/۰۵ درصد مادورامایسین در جیره، ۴- جیره پایه به همراه ۲۰۰ میلی‌گرم پپتید سوپرورم در کیلوگرم جیره، ۵- جیره پایه به همراه ۴۰۰ میلی‌گرم پپتید سوپرورم در کیلوگرم جیره و ۶- جیره پایه به همراه ۶۰۰ میلی‌گرم پپتید سوپرورم در کیلوگرم جیره

a b c: In each row, the averages that do not have a common Latin letter have a significant difference at the 0.05 level. 1- Basic diet (control), 2- Basic diet with 0.1% vitamin E and 0.05% maduramycin in the diet, 3- Basic diet with 0.05% maduramycin in the diet, 4- Basic diet with 200 mg of Superworm peptide. per kg of ration, 5-base ration with 400 mg of Superworm peptide per kg of ration and 6-base ration with 600 mg of Superworm peptide per kg of ration

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش می‌توان گفت اثرات خوبی با افزودن پپتید سوپرورم و آنتی‌بیوتیک همراه با ویتامین E پس از افزودن به جیره پایه در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شده است. در رابطه با صفات عملکردی می‌توان گفت افزودن پپتید زیست فعال سوپرورم و آنتی‌بیوتیک همراه با ویتامین E در مقایسه با گروه شاهد توانسته است مصرف خوراک را در سن ۱۱ تا ۴۲ روزگی و همچنین ضریب تبدیل خوراک را در سن ۲۵ تا ۴۲ روزگی بهبود دهد. همچنین افزودن پپتید زیست فعال سوپرورم به جیره توانست برخی از صفات ریخت‌شناسی ژنوم مانند: عمق کریپت و قطر کریپت بهبود دهد به طوری که با اضافه کردن همه سطوح پپتید زیست فعال سوپرورم به جیره توانسته است

قطر کریپت را در مقایسه با گروه شاهد کاهش دهد و همچنین جیره حاوی ۴۰۰ میلی‌گرم از پپتید سوپرورم سبب کاهش عمق کریپت در مقایسه با گروه شاهد شد. همچنین درباره جمعیت باکتری ایلئوم این‌طور می‌توان بیان کرد که افزودن پپتید زیست فعال سوپرورم به جیره در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم، توانسته است جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس در مقایسه با تیمارهای حاوی آنتی‌بیوتیک بهبود دهد در رابطه با شاخص‌های ایمنی و آنتی‌اکسیدان می‌توان نتیجه گرفت که افزودن آنتی‌بیوتیک به جیره، توانست فاکتورهای ایمنی از جمله ایمونوگلوبین G در سن ۳۵ روزگی در مقایسه با گروه شاهد افزایش دهد. همچنین پپتید سوپرورم در غلظت ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم به جیره توانسته است تیترا کل SRBC در سن ۴۲ روزگی در مقایسه با گروه شاهد بهبود دهد.

منابع

1. Abdollahi, M.R., F. Zaefarian, Y. Gu, W. Xiao, J. Jia and V. Ravindran. 2017. Influence of soybean bioactive peptides on growth performance, nutrient utilization, digestive tract development and intestinal histology in broilers. *Journal of Applied Animal Nutrition*, 5: 231-260.
2. Aguilar-Toalá, J.E., L. Santiago-López, C.M. Peres, C. Peres, H.S. Garcia, B. Vallejo-Cordoba, A.F. González-Córdova and A. Hernández-Mendoza. 2017. Assessment of multifunctional activity of bioactive peptides derived from fermented milk by specific *Lactobacillus plantarum* strains. *Journal of Dairy Science*, 100(1): 65-75.
3. Alexander, T.W., L.J. Yanke, E. Topp, M.E. Olson, R.R. Read, D.W. Morck and T.A. McAllister. 2008. Effect of subtherapeutic administration of antibiotics on the prevalence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* bacteria in feedlot cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(14): 4405-4416.
4. Ashaolu, T.J. 2020. Soy bioactive peptides and the gut microbiota modulation. *Applied microbiology and biotechnology*, 104(21): 9009-9017.
5. Ballitoc, D.A. and S. Sun. 2013. Ground yellow mealworms (*Tenebrio molitor* L.) feed supplementation improves growth performance and carcass yield characteristics in broilers. *Open Sci. Repos. Agric*, e23050425.
6. Bao, H., R. She, T. Liu, Y. Zhang, K.S. Peng, D. Luo and L. Zhai. 2009. Effects of pig antibacterial peptides on growth performance and intestine mucosal immune of broiler chickens. *Poultry Science*, 88(2): 291-297.

- ۱۸ اثر پپتیدهای زیست فعال سوپرورم بر عملکرد، ریخت‌شناسی و جمعیت میکروبی روده و پاسخ‌های ایمنی در جوجه‌های گوشتی
7. Beaumont, M., K.J. Portune, N. Steuer, A. Lan, V. Cerrudo, M. Audebert and F. Blachier. 2017. Quantity and source of dietary protein influence metabolite production by gut microbiota and rectal mucosa gene expression: a randomized, parallel, double-blind trial in overweight humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 106(4): 1005-1019.
 8. Bradley, G.L., T.F. Savage and K.I. Timm. 1994. The effects of supplementing diets with *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardi* on male poult performance and ileal morphology. *Poultry Science*, 73: 1766-1770.
 9. Brenes, A. and E. Roura. 2010. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158(1): 1-14.
 10. Buchanan, N.P., J.M. Hott, S.E. Cutlip, A.L. Rock, A. Asamer and J.S. Moritz. 2008. The effects of a natural antibiotic alternative and a natural growth promoter feed additive on broiler performance and carcass quality. *The Journal of Applied Poultry Research*, 17(2): 202-210.
 11. Cheema, A., F. Bari and O. Saddique. 2003. Corporate governance in Pakistan: Ownership, control and the law. *Lahore University of Management Sciences*, Lahore, 5.
 12. Cheng, K., Z.H. Song, X.C. Zheng, H. Zhang, J.F. Zhang, L.L. Zhang and T. Wang. 2017. Effects of dietary vitamin E type on the growth performance and antioxidant capacity in cyclophosphamide immunosuppressed broilers. *Poultry Science*, 96(5): 1159-1166.
 13. Choi, S.C., S.L. Ingale, J.S. Kim, Y.K. Park, I.K. Kwon and B.J. Chae. 2013. An antimicrobial peptide-A3: effects on growth performance, nutrient retention, intestinal and faecal microflora and intestinal morphology of broilers. *British Poultry Science*, 54(6): 738-746.
 14. Feng, J., X. Liu, Z.R. Xu, Y.Z. Wang and J.X. Liu. 2007. Effects of fermented soybean meal on digestive enzyme activities and intestinal morphology in broilers. *Poultry Science*, 86(6): 1149-1154.
 15. Gauthier, S.F. and Y. Pouliot. 2003. Functional and biological properties of peptides obtained by enzymatic hydrolysis of whey proteins. *Journal of Dairy Science*, 86: E78-E87.
 16. Hancock, R.E. and H.G. Sahl. 2006. Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nature Biotechnology*, 24(12): 1551-1557.
 17. Hosseini, S.J., H. Kermanshahi, H. Nassirimoghaddam, A. Nabipour, M.T. Mirakzeh, H. Saleh and M. Kazemifard. 2016. Effects of 1.25-dihydroxycholecalciferol and hydroalcoholic extract of *Withania coagulans* fruit on bone mineralization and mechanical and histological properties of male broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 18: 73-86.
 18. Hou, Y., Z. Wu, Z. Dai, G. Wang and G. Wu. 2017. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides and functional significance. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(1): 1-13.
 19. Kaiser, M.G., S.S. Block, C. Ciraci, W. Fang, M. Sifri and S.J. Lamont. 2012. Effects of dietary vitamin E type and level on lipopolysaccharide-induced cytokine mRNA expression in broiler chicks. *Poultry Science*, 91(8): 1893-1898.
 20. Kamnerdpetch, C., M. Weiss, C. Kasper and T. Scheper. 2007. An improvement of potato pulp protein hydrolyzation process by the combination of protease enzyme systems. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(4): 508-514.
 21. Karimzadeh, S., M. Rezaei and A. Teomouri Yansari. 2016. Effects of bioactive peptides derived from canola meal on performance, digestive enzyme activities, nutrient digestibility, intestinal morphology and gut microflora in broiler chickens. *Poultry Science Journal*, 4: 27-36.
 22. Landy, N., F. Kheiri and M. Faghani. 2020. Evaluation of cottonseed bioactive peptides on growth performance, carcass traits, immunity, total antioxidant activity of serum and intestinal morphology in broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1): 1375-1386.
 23. Lewis, E.D., S.N. Meydani and D. Wu. 2019. Regulatory role of vitamin E in the immune system and inflammation. *IUBMB life*, 71(4): 487-494.
 24. Lin, S., Y. Jin, M. Liu, Y., Yang, M. Zhang, Y. Guo and Y. Yin. 2013. Research on the preparation of antioxidant peptides derived from egg white with assisting of high-intensity pulsed electric field. *Food Chemistry*, 139(1): 300-306.
 25. Ma, N. and Ma, X. 2019. Dietary amino acids and the gut-microbiome-immune axis: physiological metabolism and therapeutic prospects. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(1): 221-242.
 26. McCalla, J., T. Waugh and E. Lohry. 2010. Protein Hydrolysates/Peptides in Animal Nutrition. *Protein Hydrolysates in Biotechnology*, 179-190.
 27. Melis, R., A. Braca, G. Mulas, R. Sanna, S. Spada, G. Serra and R. Anedda. 2018. Effects of freezing and drying processes on the molecular traits of edible yellow mealworm. *Innovative food science and emerging technologies*, 48: 138-149.
 28. Mohamadrezaei, M., B. Navidshad, A. Gheisari and M. Toghyani. 2021. Cottonseed meal bioactive peptides as an alternative to antibiotic growth promoters in broiler chicks. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 27(1): 329-340.

29. Montagne, L., J.R. Pluske and D.J. Hampson. 2003. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Animal Feed Science and Technology*, 108(1-4): 95-117.
30. Moriguchi, S. and M. Muraga. 2000. Vitamin E and immunity. *Vitamins and hormones*, 59(2000): 305-336.
31. Motarjemi, Y., G. Moy and E. Todd (Eds.). 2013. *Encyclopedia of food safety*. Academic Press.
32. Nie, C., W. Zhang, W. Ge, Y. Wang, Y. Liu and J. Liu. 2015. Effects of fermented cottonseed meal on the growth performance, apparent digestibility, carcass traits, and meat composition in yellow-feathered broilers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39(3): 350-356.
33. Osho, S.O. W.W. Xiao and O. Adeola. 2019. Response of broiler chickens to dietary soybean bioactive peptide and Coccidia Challenge. *Poultry Science*, 98(11): 5669-5678.
34. Osho, S.O., W.W. Xiao and O. Adeola. 2019. Response of broiler chickens to dietary soybean bioactive peptide and coccidia challenge. *Poultry Science*, 98(11): 5669-5678.
35. Pasupuleti, V.K. and S. Braun. 2008. State of the art manufacturing of protein hydrolysates. V: Protein hydrolysates in Biotechnology, 11-32.
36. Pirsaraei, Z.A., A.A. Saki, M. Kazemi Fard and H. Saleh. 2011. Effect of dietary tallow level on broiler breeder performance and hatching egg characteristics. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(2011): 1287-1291.
37. Pietras, M., S. Orczewska-Dudek, W. Szczurek and M. Pieszka. 2021. Effect of dietary lupine seeds (*Lupinus luteus* L.) and different insect larvae meals as protein sources in broiler chicken diet on growth performance, carcass, and meat quality. *Livestock Science*, 250: 104-537.
38. PourReza, J., G.A. Sadeghi, and M. Mehri. 2006. *Scott's Nutrition of the chicken* (translator), Publisher: Ardakan Danesh.
39. Ramos-Elorduy, J., E., Avila Gonzalez, A. Rocha Hernandez and J.M. Pino. 2002. Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. *Journal of Economic Entomology*, 95: 214-220.
40. Rezaei, M., M.K. Torshizi and Y. Rouzbehan. 2011. The influence of different levels of micronized insoluble fiber on broiler performance and litter moisture. *Poultry Science*, 90(9): 2008-2012.
41. Sakamoto, K., H. Hirose, A. Onizuka, M. Hayashi, N. Futamura, Y. Kawamura and T. Ezaki. 2000. Quantitative study of changes in intestinal morphology and mucus gel on total parenteral nutrition in rats. *Journal of Surgical Research*, 94(2): 99-106.
42. Salavati, M.E., V. Rezaeipour, R. Abdollahpour and N. Mousavi. 2020. Effects of graded inclusion of bioactive peptides derived from sesame meal on the growth performance, internal organs, gut microbiota and intestinal morphology of broiler chickens. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26(3): 1541-1548.
43. Shojadoost, B., A. Yitbarek, M. Alizadeh, R.R. Kulkarni, J. Astill, N. Boodhoo and S. Sharif. 2021. Centennial Review: Effects of vitamins A, D, E, and C on the chicken immune system. *Poultry Science*, 100(4): 930-1000.
44. Tang, J.W. H. Sun, X.H. Yao, Y.F. Wu, X. Wang and J. Feng. 2012. Effects of replacement of soybean meal by fermented cottonseed meal on growth performance, serum biochemical parameters and immune function of yellow-feathered broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(3): 393-399.
45. Tang, Z., Y. Yin, Y. Zhang, R. Huang, Z. Sun, T. Li and Q. Tu. 2008. Effects of dietary supplementation with an expressed fusion peptide bovine lactoferricin-lactoferrampin on performance, immune function and intestinal mucosal morphology in piglets weaned at age 21 d. *British Journal of Nutrition*, 101(7): 998-1005.
46. Wu, G., F.W. Bazer and H.R. Cross. 2014. Land-based production of animal protein: impacts, efficiency, and sustainability. *Annals of the New York Academy of sciences*, 1328(1): 18-28.

Effect of Superworm Bioactive Peptides on Performance, Morphology and Microbial Population of Intestine and Immune Responses in Broiler Chickens

Seyyedeh Parand Bozorgtabar¹, Mohammad Kazemifard², Mansour Rezaei³ and Pooyan Mehraban³

1- Master student of poultry nutrition, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2- Faculty member of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources,
(Corresponding author: mo.kazemifard@gmail.com)

3- Faculty member of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Received: 3 May, 2022 Accepted: 13Jun, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: The use of antibiotics in poultry nutrition, in addition to their importance in preventing diseases, causes an increase in congenital anomalies, chronic diseases, increased microbial resistance and hundreds of other small and large complications, which is attributed to the current health problems of human society. The focus has always been on animal welfare, environmental care, limited use of medicines and the production of a healthy product without chemical residues that do not endanger human health. One of the suitable alternatives to antibiotics is bioactive peptides.

Material and Methods: This experiment was used in a completely randomized design with 240 one-day old male commercial Ross 308 broilers in six treatments, five replications (eight chickens per replication). Experimental treatments include: basal diet, basal diet + 0.1% of vitamin E and 0.05% of maduramicin, basal diet + 0.05% of maduramicin, basal diet + 200 mg / kg superworm peptide, basal diet +400 mg / kg were superworm peptide and the basal diet was + 600 mg / kg superworm peptide. The effect of treatments on performance, microbial population, intestinal morphology and immune system response of broilers was investigated.

Results: Addition of maduramicin (treatment 3) and superworm peptide at the levels of 200, 400 and 600 mg to the diet compared to the control group was able to reduce feed intake in the final period. On the other hand, treatments that used antibiotics, compared to treatment 5, which contained 400 mg of superworm peptide, were able to reduce the total bacterial population. Adding all levels of bioactive superworm peptide to the diet reduced the crypt diameter compared to the control group and also the diet containing 400 mg of the superworm peptide reduced the crypt depth compared to the control group. The results obtained in relation to immune factors can be stated that by adding antibiotics to the diet, it can increase immune factors such as immunoglobulin G at the age of 35 days compared to the control group, as well as the superworm peptide. At a concentration of 400 and 600 mg per diet, it was able to improve the total SRBC titer at 42 days of age compared to the control group.

Conclusion: The results of this experiment showed that the experimental treatments were able to improve the performance indices at the age of 11 to 42 days and some morphological features of the jejunum such as: crypt depth and diameter. Also, it can be said that the effect of experimental treatments on the total bacterial and lactobacilli population and the level of immunoglobulin G (day 35) and total SRBC titer (day 42) was significant.

Keywords: Bio active peptide, Broiler chicken, Immune response, Microbial population, Superworm



"مقاله پژوهشی"

اثرات طول مدت، محل و وضعیت نگهداری تخم مرغ های خوراکی در یخچال های خانگی بر صفات کیفی، صفات پوسته و شاخص های بیوشیمیایی زرده تخم مرغ

علی نوبخت

دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه، (نویسنده مسول: anobakht20@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۷

صفحه: ۲۱ تا ۲۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تخم مرغ یک ماده غذایی کامل برای تغذیه گروه های مختلف سنی است که با دارا بودن طیف گسترده ای از مواد مغذی مورد نیاز، حاوی ترکیبات شیمیایی حساس در مقابل عوامل نامساعد محیطی از قبیل حرارت، ماندگاری و شرایط و محل نگهداری می باشد. در آزمایش حاضر طول مدت، محل و وضعیت نگهداری تخم مرغ های خوراکی در یخچال های خانگی و اثرات آنها بر صفات کیفی، صفات پوسته و شاخص های بیوشیمیایی زرده تخم مرغها مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این آزمایش تعداد ۲۱۶ عدد تخم مرغ سالم تولید یک روز مرغ های سویه های لاین W36، با سن ۷۷ هفته گی تهیه و به صورت آرایش فاکتوریل ۳×۳×۲ شامل ۳ هفته، ۳ طبقه و دو وضعیت نگهداری تخم مرغ (نوک تیز به طرف پایین و یا برعکس) در ۱۸ تیمار، ۷۲ تکرار و ۳ عدد تخم مرغ در هر تکرار، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته ها: طول مدت زمان نگهداری، محل و نحوه نگهداری تخم در یخچال اثرات معنی داری بر کیفیت داخلی، صفات پوسته و شاخص های بیوشیمیایی زرده تخم ها داشت ($p < 0.05$). نگهداری تخم مرغ ها در طبقات بالایی یخچال نسبت به طبقه پایین، شاخص زرده و رنگ زرده را افزایش داد ($p < 0.05$). با افزایش مدت زمان نگهداری تخم مرغ ها به سه هفته در یخچال، درصد زرده، واحد هاو، ضخامت پوسته تخم مرغ ها و نیز غلظت کلسترول زرده کاهش، در حالی که درصد سفیده و رنگ زرده افزایش یافت ($p < 0.05$). وضعیت نگهداری تخم مرغ ها در یخچال (نوک تیز پایین و یا بالعکس)، اثرات معنی داری بر کیفیت داخلی، صفات پوسته و شاخص های بیوشیمیایی زرده تخم مرغ ها نداشت ($p > 0.05$).

نتیجه گیری: با توجه به ارزش غذایی، ترکیبات متعدد و نیز ماهیت بعضی از مواد مغذی موجود در تخم مرغ و بالخصوص زرده تخم ها (نظیر اسیدهای-چرب غیراشباع)، به عنوان یک دغدغه برای متخصصین تغذیه و نیز خانم های خانه دار، مدت زمان، محل نگهداری و وضعیت نگهداری تخم مرغ ها در یخچال مطرح است. در آزمایش حاضر مشاهده شد که اولاً طبقه پایین یخچال محل مناسبی برای نگهداری تخم مرغ ها نیست، ثانیاً با افزایش طول مدت زمان نگهداری تخم مرغ ها به بیش از دو هفته، کیفیت داخلی، کیفیت پوسته و محتوی زرده تخم مرغ ها دچار افت و نقصان می شوند، لیکن وضعیت نگهداری تخم مرغ های خوراکی در یخچال (نوک تیز تخم مرغ به سمت پایین و یا برعکس)، اثرات معنی داری بر صفات فوق الذکر نداشت. با توجه به یافته های بالا توصیه می شود، تخم مرغ مورد نیاز خانوارها در مقادیر زیاد خریداری نشوند و به مدت بیش از ۲ هفته و همچنین در طبقات پایین یخچال های خانگی نگهداری نشوند.

واژه های کلیدی: تخم مرغ خوراکی، شاخص های بیوشیمیایی، صفات پوسته، کیفیت داخلی، وضعیت نگهداری

مقدمه

حساس می باشند (۵). با افزایش طول مدت نگهداری تخم مرغ، از کیفیت سفیده تخم کاسته می شود (۱۵) لذا، مدت، نحوه و شرایط نگهداری تخم مرغ ها بعد از تولید، می تواند کیفیت خارجی، داخلی و محتویات مواد مغذی آنها را تحت تأثیر قرار دهد (۱۷). از طرف دیگر، در صورت افزایش مدت زمان نگهداری تخم مرغ در یخچال، می توان با ذخیره سازی بیشتر آنها مخصوصاً در فصول گرم، از خسارات اقتصادی ناشی از نگهداری تخم مرغ های تولیدی در انبارها و در شرایط حرارتی نامناسب جلوگیری کرد (۶). گزارش شده است که طول مدت و درجه حرارت ذخیره سازی در کیفیت تخم مرغ ها موثر است (۴). نگهداری تخم مرغ های خوراکی به مدت زمان های ۲، ۵ و ۱۰ روز در حرارت یخچال (۵ درجه سانتی گراد)، حرارت اتاق (۲۵ درجه سانتی گراد) و حرارت بالا (۲۹ درجه سانتی گراد)، باعث شد که با افزایش طول مدت نگهداری و درجه حرارت، وزن تخم مرغ ها، درصد آلبومین، واحد هاو و رنگ زرده کاهش یافت. به علاوه وزن و درصد پوسته و درصد سفیده با افزایش طول مدت نگهداری کاهش یافتند. در حالی که، وزن و درصد زرده با افزایش درجه حرارت محل نگهداری افزایش یافت (۵). در آزمایش دیگری تخم مرغ های خوراکی در دو دوره ۲ و ۳۰ روزه در حرارت های ۲، ۱۲ و ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند، در پایان

از جمله منابع مهم غذایی با منشاء حیوانی جهت تأمین نیازمندی های پروتئینی انسان، تخم مرغ می باشد و در طبقه بندی، جزء منابع با ارزش غذایی بالا تلقی می شود و بالاترین ارزش بیولوژیکی یعنی (۱۰۰) را در بین منابع غذایی، تخم مرغ به خود اختصاص داده است. مواد مغذی موجود در زرده تخم مرغ با ارزش ترین منابع برای رشد و توسعه اندامها مخصوصاً در سنین پایین و نیز ترمیم و محافظت از سلول ها در سنین بالاست (۱۶). فسفولیپیدهای زرده ترکیبات منحصر به فردی در رشد سلول های مغز و اعصاب به شمار می روند (۷). سفیده تخم مرغ کمترین درصد چربی را داشته در حالی که غنی از پروتئین است. پوسته تخم مرغ می تواند در تأمین نیازمندی های کلسیمی مفید باشد. تخم مرغ جدا از نیازهای پروتئینی فرد، می تواند نیازهای دیگر از جمله ویتامین ها، مواد معدنی، اسیدهای چرب مفید و تقریباً تا ۳۵ ماده مغذی دیگر را در بهترین و کم خطرترین شکل ممکن تأمین نماید (۱۱). کیفیت سفیده با جنس مرغ ارتباط مستقیم دارد، به طوری که با افزایش سن مرغ، از کیفیت زرده به سرعت بعد از گذاشته شدن تخم ها کاسته می شود (۱۴). زرده تخم مرغ دارای محتوی چربی بالا بوده که بخش عمده ای از اسیدهای چرب آن از نوع اشباع نشده هستند که در مقابل اکسیداسیون

طول مدت نگهداری در محیط یخچال، توزین، بعد از آن هر یک از تخم‌ها به طور انفرادی در یک بشقاب پهن با زمینه سفید از وسط شکسته شده و پوسته‌ها بعد از تخلیه محتویات داخلی، جهت خشک شدن در شانه تخم و در دمای معمولی اتاق به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شده و بعداً با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شده و وزن پوسته‌های خالی یادداشت می‌گردید، در خصوص صفات داخلی تخم‌مرغ‌ها، ابتدا بعد از شکستن تخم‌مرغ‌ها، رنگ زرده توسط نوار ارزیابی رنگ مخصوص موسوم به نوار بادبزی (Color Fan) مورد ارزیابی و تعیین گردید، بعد از آن، ارتفاع سفیده غلیظ، با استفاده از ارتفاع‌سنج مخصوص سه پایه‌دار با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر (در محل چسبیدن سفیده غلیظ به زرده) مشخص گردید تا در مرحله بعد با جاگذاری در فرمول مربوطه در تعیین واحد هاو مورد استفاده قرار گیرد. جهت تعیین شاخص زرده، نیاز به اندازه‌گیری ارتفاع و طول بزرگ زرده بود که این کار نیز توسط کولیس انجام گردید (۸). از تقسیم ارتفاع زرده به طول بزرگ آن، شاخص زرده بدست آمد. بعد از تعیین مختصات طول و ارتفاع، زرده با دقت از سفیده جدا و توزین گردید. بعد از توزین زرده، جهت تعیین محتویات شیمیایی زرده، (کلستروکل و تری‌گلیسرید) نمونه‌ای از آن تهیه و تا زمان انجام آزمایش، در حرارت ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری میزان کلستروکل و تری‌گلیسرید زرده تخم‌مرغ، از روش آنزیمی کورتیس و همکاران (۲) استفاده شد.

برای تعیین ضخامت پوسته، بعد از توزین آن، سه نمونه از وسط پوسته انتخاب و توسط ریزسنج با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری و متوسط سه نمونه به عنوان ضخامت نهایی پوسته در نظر گرفته شد. وزن سفیده با کسر نمودن وزن زرده و پوسته از وزن تخم‌مرغ مشخص گردید. در پایان، با مشخص شدن وزن تمامی اجزای تخم، جهت وارد نمودن آنها در اکسل، درصد اجزای تخم‌مرغ تعیین گردیدند. واحد هاو به عنوان یکی از ملاک‌های ارزیابی کیفیت داخلی تخم‌مرغ‌ها با استفاده از فرمول زیر تعیین گردید (۲):

$$HU=100 \text{ LOG } (H + 7.75 - 1.7W)^{.37}$$

HU: واحد هاو، H: ارتفاع سفیده غلیظ برحسب میلی‌متر، W: وزن تخم‌مرغ برحسب گرم (۱۰).

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (SAS Institute, 2006) نسخه ۹/۱۲ تجزیه و تحلیل آماری و میانگین‌ها توسط آزمون توکی مقایسه گردیدند (۱۳).

نتایج و بحث

اثرات محل، طول مدت و وضعیت نگهداری و اثرات متقابل آنها در یخچال خانگی بر صفات داخلی و ترکیبات شیمیایی تخم‌مرغ‌های خوراکی مرغ‌ها در جدول شماره ۱ آورده شده است. محل و طول مدت نگهداری، دارای اثرات معنی‌داری بر صفات داخلی و ترکیب شیمیایی تخم‌مرغ‌ها بود ($p < 0.01$). کیفیت زرده تحت تأثیر محل نگهداری تخم‌مرغ‌ها در یخچال قرار گرفت. به طوری که شاخص زرده و رنگ زرده در زمان نگهداری تخم‌مرغ‌ها در طبقه اول (پایین‌ترین طبقه) یخچال کاهش یافت، در حالی که در طبقه ۳ بهبود یافتند. درصد

آزمایش مشاهده شد که وزن تخم‌مرغ، پوسته، ارتفاع سفیده و واحد هاو با افزایش طول مدت زمان نگهداری و حرارت محیط کاهش یافتند، اثرات متقابل حرارت و طول مدت نگهداری بر روی وزن پوسته، استحکام پوسته، وزن تخم، ارتفاع سفیده، واحد هاو و رنگ زرده معنی‌دار بود (۱۰). اتافک هوایی محل تبادل گازها و بخارات بین محیط داخلی تخم‌مرغ با خارج از آن است (۱۴). در صورتی که در چینه تخم‌مرغ‌ها، اتافک هوایی به طرف پایین باشد، امکان محبوس شدن گازها در داخل تخم‌مرغ و کاهش pH آن و در نتیجه اسیدی شدن محیط داخلی تخم‌مرغ‌ها وجود دارد، از طرف دیگر، در شرایط چینه تخم‌مرغ‌ها در وضعیتی که نوک پهن آن در موقعیت پایین است، احتمال دارد با فشار محتویات داخلی تخم، اتافک هوایی پاره و سفیده با زرده مخلوط و با بالا رفتن درصد چربی کل محتویات تخم، ضمن کاهش طول مدت نگهداری، احتمال خراب شدگی تخم‌ها نیز افزایش یابد (۳). هرچند که در یخچال‌های معمولی درجه حرارت در کل محیط یخچال یکسان است، ولی احتمال داده می‌شود، شرایط نگهداری در طبقات مختلف از قبیل نزدیکی یا دوری از قسمت فریزر، متفاوت باشد (۱۲).

با توجه به ارتقاء فرهنگ تغذیه‌ای، افزایش مصرف و خرید تخم‌مرغ توسط خانوارها و لزوم نگهداری تخم‌مرغ‌ها برای مدت زمان نسبتاً طولانی در یخچال‌های خانگی، آزمایش حاضر جهت ارزیابی مدت زمان، محل نگهداری (طبقات یخچال) و وضعیت نگهداری (نوک پهن تخم‌مرغ در موقعیت بالا و یا برعکس) بر صفات پوسته، کیفیت داخلی و ترکیب شیمیایی تخم‌مرغ‌های خوراکی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، تعداد ۲۱۶ عدد تخم‌مرغ سالم ۳ ساعت بعد از تولید از یک گله مرغ تخم‌گذار سویه های لاین -W36، مسن با سن ۷۷ هفتگی تهیه و به صورت آرایش فاکتوریل $3 \times 3 \times 2$ شامل ۳ هفته (یک، دو و سه)، ۳ طبقه یخچال (طبقه اول، دوم و سوم) و دو وضعیت نگهداری تخم‌مرغ (نوک باریک در موقعیت پایین و یا برعکس) در ۱۸ تیمار، ۷۲ تکرار و ۳ عدد تخم‌مرغ در هر تکرار، در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد استفاده قرار گرفتند. تخم‌مرغ‌ها بعد از حمل به محل آزمایش و اطمینان از سلامتی پوسته و آلوده نبودن آن، بلافاصله به صورت تصادفی به واحدهای آزمایشی که از قبل تعیین شده بودند، با توزین انفرادی و نوشتن مشخصات تیمار، تکرار و نمونه با مداد بر روی تمامی تخم‌مرغ‌ها، و توزین با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم، و اندازه‌گیری طول و عرض تخم‌مرغ‌ها با کولیس با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر، جهت تعیین شاخص شکل، به تیمارها اختصاص داده شدند. شاخص شکل با تقسیم نمودن عرض تخم‌مرغ‌ها به طول آنها بدست آمد. تخم‌مرغ‌ها در شانه‌های تخم‌مرغ (هر ردیف به عنوان یک تکرار)، در طبقات یخچال خانگی معمولی (با حرارت ۵ درجه سانتی‌گراد)، با قرعه‌کشی قرار داده شدند. بعد از یک هفته، تخم‌مرغ‌هایی که بایستی یک هفته در یخچال نگهداری می‌شدند، از یخچال خارج، قبل از شکستن جهت تعیین صفات داخلی، به منظور ملاحظه مقدار کاهش وزن در

درصد سفیده تخم‌مرغ‌ها مشاهده نشد، لیکن درصد زرده نسبت به هفته دوم کاهش پیدا کرد. وضعیت نگهداری تخم‌مرغ‌ها در یخچال (نوک باریک در موقعیت پایین و یا بر عکس)، اثرات معنی‌داری بر صفات داخلی و ترکیبات شیمیایی زرده تخم‌مرغ‌های خوراکی نداشت ($p > 0.05$). در بررسی اثرات متقابل، تفاوت جهت‌داری در خصوص صفات مورد اندازه‌گیری مشاهده نگردید.

سفیده، درصد زرده، واحد هاو و مقدار کلسترول زرده تحت تأثیر مدت زمان نگهداری تخم‌مرغ‌های خوراکی در یخچال قرار گرفت ($p < 0.05$). به طوری که بیشترین درصد سفیده تخم‌مرغ، بالاترین واحد هاو و بیشترین محتوی کلسترول زرده در هفته اول نگهداری تخم‌مرغ‌ها در یخچال مشاهده شد، با افزایش مدت زمان نگهداری تخم‌مرغ‌های خوراکی در یخچال به ۳ هفته، واحد هاو و غلظت کلسترول زرده تخم‌مرغ‌ها کاهش یافت، در حالی که تغییر معنی‌داری در

جدول ۱- اثرات محل، مدت زمان و وضعیت نگهداری در یخچال بر صفات داخلی و ترکیبات شیمیایی زرده تخم‌مرغ‌های خوراکی
Table 1. The effects of location, duration and condition of storage in the refrigerator on the internal characteristics and chemical composition of the yolk of edible eggs

| تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Triglyceride | کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Cholesterol (mg.dl) | شاخص رنگ زرده Yolk color index | واحد هاو Haugh unit | درصد زرده Yolk (%) | شاخص زرده Yolk index | درصد سفیده Albumin (%) | صفات Traits |
|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Floor Storage | | | | | | | |
| 431.45 | 40.95 | 4.25 ^b | 84.63 | 30.15 | 40.35 ^b | 60.27 | 1 |
| 445.18 | 43.84 | 4.00 ^c | 84.57 | 30.39 | 43.11 ^a | 61.67 | 2 |
| 429.11 | 42.39 | 4.78 ^a | 86.12 | 30.00 | 43.53 ^a | 61.21 | 3 |
| 11.64 | 1.64 | 0.11 | 1.09 | 0.27 | 0.59 | 0.25 | SEM |
| 0.5734 | 0.4657 | 0.0001 | 0.5230 | 0.5900 | 0.0008 | 0.1128 | P value |
| Storage Length (Week) | | | | | | | |
| 446.23 | 43.72 ^a | 3.89 ^b | 86.36 ^a | 29.95 ^b | 42.87 | 60.95 ^a | 1 |
| 445.28 | 44.72 ^a | 4.69 ^a | 86./32 ^a | 30.76 ^a | 42.27 | 59.76 ^b | 2 |
| 441.23 | 38.72 ^b | 4.45 ^a | 82.64 ^b | 29.18 ^b | 41.85 | 60.87 ^a | 3 |
| 11.65 | 1.64 | 0.11 | 1.09 | 0.27 | 0.59 | 0.33 | SEM |
| 0.0988 | 0.0293 | 0.0011 | 0.0035 | 0.0009 | 0.4711 | 0.0433 | P value |
| Storage Condition The Narrow Tip of Eggs (Bottom or Up) | | | | | | | |
| 433.56 | 42.58 | 4.30 | 85.05 | 30.05 | 42.08 | 60.87 | Narrow tip bottom (1) |
| 37.00 | 42.19 | 4.38 | 85.17 | 30.30 | 42.58 | 60.19 | Narrow tip up (2) |
| 9.51 | 1.34 | 0.09 | 0.89 | 0.43 | 0.48 | 0.27 | SEM |
| 0.7991 | 0.8303 | 0.5079 | 0.9224 | 0.4245 | 0.4692 | 0.0885 | P value |
| هفته × طبقه | | | | | | | |
| 444.84 | 43.84 | 4.50 | 86.57 | 31.09 | 42.15 | 60.27 | Floor 1 × Week 1 |
| 418.34 | 37.67 | 4.39 | 83.61 | 29.14 | 39.58 | 61.67 | Floor 1 × Week 2 |
| 471.34 | 45.00 | 3.39 | 85.26 | 30.34 | 44.42 | 61.21 | Floor 1 × Week 3 |
| 445.34 | 47.00 | 4.62 | 87.19 | 30.42 | 41.77 | 59.81 | Floor 2 × Week 1 |
| 419.17 | 39.50 | 4.00 | 81.28 | 30.41 | 43.13 | 60.26 | Floor 2 × Week 2 |
| 436.17 | 44.84 | 4.45 | 89.10 | 29.33 | 44.85 | 61.06 | Floor 2 × Week 3 |
| 446.00 | 43.34 | 4.95 | 85.33 | 30.79 | 42.19 | 59.22 | Floor 3 × Week 1 |
| 405.17 | 39.00 | 4.95 | 84.04 | 29.89 | 42.86 | 60.69 | Floor 3 × Week 2 |
| 431.17 | 41.40 | 3.84 | 84.72 | 30.21 | 39.32 | 60.58 | Floor 3 × Week 3 |
| 20.17 | 2.83 | 0.19 | 1.89 | 0.46 | 1.02 | 0.58 | SEM |
| 0.8190 | 0.9447 | 0.3558 | 0.4852 | 0.1767 | 0.0762 | 0.4051 | P value |
| Floor × Condition | | | | | | | |
| 436.56 | 41.56 | 4.12 | 86.62 ^a | 30.19 | 41.05 | 60.85 ^a | Floor 1 × Narrow Tip Bottom |
| 426.34 | 40.34 | 4.38 | 82.65 ^c | 30.10 | 39.66 | 60.82 ^a | Floor 1 × Narrow Tip Up |
| 441.78 | 43.56 | 4.04 | 84.93 ^b | 30.08 | 42.65 | 61.53 ^a | Floor 2 × Narrow Tip Bottom |
| 447.78 | 44.12 | 3.97 | 84.22 ^b | 30.70 | 43.56 | 59.34 ^c | Floor 2 × Narrow Tip Up |
| 422.34 | 42.67 | 4.75 | 83.59 ^{bc} | 29.89 | 42.55 | 60.25 ^b | Floor 3 × Narrow Tip Bottom |
| 435.89 | 42.12 | 4.82 | 88.65 ^a | 30.12 | 44.51 | 60.41 ^b | Floor 3 × Narrow Tip Up |
| 116.47 | 2.31 | 0.16 | 1.55 | 0.38 | 0.84 | 0.47 | SEM |
| 0.7578 | 0.9276 | 0.5814 | 0.0191 | 0.6416 | 0.1323 | 0.0284 | P value |
| وضعیت × هفته | | | | | | | |
| 445.78 | 43.67 | 3.97 | 86.98 | 29.84 | 43.49 | 61.73 | Week 1 × Narrow Tip Bottom |
| 446.78 | 43.78 | 3.82 | 85.74 | 30.08 | 42.24 | 60.17 | Week 1 × Narrow Tip Up |
| 438.45 | 43.78 | 4.63 | 86.36 | 30.47 | 41.39 | 60.02 | Week 2 × Narrow Tip Bottom |
| 452.34 | 45.67 | 4.75 | 86.30 | 31.07 | 43.15 | 59.50 | Week 2 × Narrow Tip Up |
| 416.45 | 40.34 | 4.30 | 81.80 | 29.86 | 41.37 | 60.85 | Week 3 × Narrow Tip Bottom |
| 412.00 | 37.12 | 4.60 | 83.48 | 29.77 | 42.35 | 60.90 | Week 3 × Narrow Tip Up |
| 116.47 | 2.31 | 0.16 | 1.55 | 0.38 | 0.84 | 0.47 | SEM |
| 0.8493 | 0.5384 | 0.3802 | 0.6404 | 0.6888 | 0.1848 | 0.2399 | P value |

a تا c: در هر ستون اعداد دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار دارند ($p < 0.05$).

a to c: in each column, numbers with different letters have a statistically significant difference ($p < 0.05$).

اثرات طول مدت، محل و وضعیت نگهداری تخم‌مرغ‌های خوراکی در یخچال‌های خانگی بر صفات کیفی ۲۴

اثرات محل، طول مدت و وضعیت نگهداری و اثرات متقابل آنها در یخچال خانگی بر صفات ظاهری و کیفیت پوسته تخم‌مرغ‌های خوراکی مرغ‌ها در جدول شماره ۲ آورده شده است. طول مدت نگهداری، دارای اثرات معنی‌داری بر ضخامت پوسته تخم‌مرغ‌ها بود ($p < 0.01$). نگهداری تخم‌مرغ‌ها به مدت زمان بیش از ۱ هفته، باعث کاهش ضخامت پوسته تخم‌مرغ‌ها شد. بقیه صفات ظاهری و درصد پوسته تخم‌مرغ‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($p > 0.05$).

جدول ۲- اثرات محل، مدت زمان و وضعیت نگهداری در یخچال بر صفات ظاهری و کیفیت پوسته تخم‌مرغ‌های خوراکی
Table 2. The effects of location, duration and condition of storage in the refrigerator on the appearance and shell quality of edible eggs

| ضخامت پوسته (میلی‌متر) Shell Thickness (mm) | درصد پوسته Shell Percent | شاخص شکل Shape Index | وزن ثانویه تخم مرغ (گرم) Secondary Egg Weight (g) | وزن اولیه تخم مرغ (گرم) Initial Egg Weight (g) | صفات Traits |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------|
| Floor Storage | | | | | |
| 0.329 | 9.46 | 78.74 | 62.35 | 63.80 | 1 |
| 0.327 | 9.47 | 78.80 | 61.09 | 62.06 | 2 |
| 0.329 | 9.57 | 79.61 | 61.80 | 62.78 | 3 |
| 0.004 | 0.09 | 0.39 | 0.57 | 0.55 | SEM |
| 0.9116 | 0.6590 | 0.2217 | 0.3035 | 0.0935 | P value |
| Storage Length (Week) | | | | | |
| 0.334 ^a | 9.61 | 78.58 | 62.04 | 62.72 | 1 |
| 0.336 ^b | 9.56 | 79.03 | 62.01 | 63.05 | 2 |
| 0.316 ^c | 9.33 | 79.55 | 61.18 | 62.86 | 3 |
| 0.004 | 0.09 | 0.39 | 0.58 | 0.55 | SEM |
| 0.0001 | 0.0805 | 0.2142 | 0.4812 | 0.9149 | P value |
| Storage Condition The Narrow Tip of Eggs (Bottom or Up) | | | | | |
| 0.397 | 9.44 | 79.33 | 62.05 | 63.28 | Narrow tip bottom (1) |
| 0.330 | 9.55 | 78.76 | 61.43 | 62.48 | Narrow tip up (2) |
| 0.003 | 0.07 | 0.33 | 0.46 | 0.45 | SEM |
| 0.4991 | 0.2997 | 0.2100 | 0.3529 | 0.2141 | P value |
| Floor × Week | | | | | |
| 0.338 | 9.69 | 78.71 | 63.15 | 64.71 | Floor 1 × Week 1 |
| 0.316 | 9.29 | 78.45 | 62.05 | 64.28 | Floor 1 × Week 2 |
| 0.348 | 9.65 | 78.05 | 62.10 | 62.71 | Floor 1 × Week 3 |
| 0.321 | 9.43 | 79.18 | 60.41 | 61.34 | Floor 2 × Week 1 |
| 0.314 | 9.34 | 79.17 | 60.77 | 62.13 | Floor 2 × Week 2 |
| 0.350 | 9.79 | 78.61 | 62.54 | 63.05 | Floor 2 × Week 3 |
| 0.320 | 9.56 | 79.19 | 62.12 | 63.11 | Floor 3 × Week 1 |
| 0.318 | 9.36 | 81.02 | 60.72 | 62.18 | Floor 3 × Week 2 |
| 0.326 | 9.32 | 78.26 | 62.11 | 61.21 | Floor 3 × Week 3 |
| 0.1188 | 0.16 | 0.67 | 0.98 | 0.96 | SEM |
| 0.7078 | 0.4885 | 0.2097 | 0.3802 | 0.3393 | P value |
| Floor × Condition | | | | | |
| 0.330 | 9.44 | 78.57 | 62.71 | 64.30 | Floor 1 × Narrow Tip Bottom |
| 0.330 | 9.48 | 78.90 | 61.98 | 63.31 | Floor 1 × Narrow Tip Up |
| 0.327 | 9.37 | 78.78 | 62.09 | 63.15 | Floor 2 × Narrow Tip Bottom |
| 0.328 | 9.58 | 78.83 | 60.09 | 60.97 | Floor 2 × Narrow Tip Up |
| 0.325 | 9.52 | 80.65 | 61.35 | 62.40 | Floor 3 × Narrow Tip Bottom |
| 0.335 | 9.61 | 78.57 | 62.24 | 63.16 | Floor 3 × Narrow Tip Up |
| 0.005 | 0.13 | 0.55 | 0.81 | 0.79 | SEM |
| 0.7082 | 0.8105 | 0.0670 | 0.2090 | 0.1777 | P value |
| Week × Condition | | | | | |
| 0.340 | 9.49 | 78.79 | 62.49 | 63.20 | Week 1 × Narrow Tip Bottom |
| 0.348 | 9.75 | 78.35 | 61.67 | 62.25 | Week 1 × Narrow Tip Up |
| 0.326 | 9.56 | 73.39 | 62.52 | 63.57 | Week 2 × Narrow Tip Bottom |
| 0.328 | 9.56 | 78.68 | 61.51 | 62.54 | Week 2 × Narrow Tip Up |
| 0.316 | 9.30 | 79.83 | 61.23 | 63.08 | Week 3 × Narrow Tip Bottom |
| 0.316 | 9.37 | 79.28 | 61.13 | 62.65 | Week 3 × Narrow Tip Up |
| 0.005 | 0.13 | 0.55 | 0.80 | 0.78 | SEM |
| 0.7321 | 0.5841 | 0.9117 | 0.8429 | 0.9163 | P value |

a تا c: در هر ستون اعداد دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).
a to c: in each column, numbers with different letters have a statistically significant difference ($P < 0.05$).

و کاهش محتوی چربی زرده که کلسترول نیز بخشی از زرده را شامل می‌شود. بر اساس گزارش جین و همکاران (۲۰۱۱)، و لی و همکاران (۲۰۱۶) با افزایش طول مدت نگهداری تخم‌مرغ‌ها، ارتفاع سفیده، رنگ زرده و واحد هاو و درصد سفیده کاهش یافت. اختلافات مشاهده شده در آزمایش حاضر با نتایج آزمایش‌های بالا در خصوص درصد سفیده و رنگ زرده می‌تواند ناشی از نوع آزمایش، مدت زمان انجام آن و تفاوت‌های مربوط به خصوصیات تخم‌مرغ‌ها و گله‌ای که تخم‌مرغ‌ها از آنها جمع‌آوری شده‌اند، باشد. در نگهداری تخم‌مرغ‌ها در موقعیتی که نوک تیز به طرف بالا است، انتظار می‌رود که با فشار وارده از طرف محتویات داخلی تخم به محوطه کیسه هوایی و پاره شدن آن، مخلوط شدن سفیده و زرده بیشتر گردد که خوشبختانه در آزمایش حاضر این مشکل مشاهده نگردید و می‌توان اظهار داشت که وضعیت نگهداری تخم‌مرغ‌های خوراکی در یخچال (نوک باریک به سمت پایین و یا برعکس)، اثرات معنی‌داری بر کیفیت داخلی تخم‌مرغ‌ها ندارد. اثرات متقابل معنی‌داری در رابطه با محل، زمان و وضعیت نگهداری تخم‌مرغ‌ها در یخچال بر کیفیت داخلی آن‌ها مشاهده نشد. افزایش طول مدت نگهداری تخم‌مرغ‌ها به بیش از یک هفته، ضخامت پوسته را کاهش داد. کاهش در ضخامت پوسته می‌تواند با تجزیه دی‌کلسیم فسفات پوسته در طول مدت نگهداری و آزاد شدن گاز کربنیک ارتباط داشته باشد که گاز کربنیک تولیدی موجب کاهش ضخامت پوسته می‌گردد. کاهش ضخامت پوسته با افزایش میزان تیخیر آب محتویات داخلی تخم‌مرغ‌ها و کاهش درصد زرده، واحد هاو و غلظت کلسترول زرده ارتباط داشته باشد (۹ و ۱۸).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان اظهار داشت که اولاً طبقه پایین (طبقه ۱) یخچال‌های خانگی محل مناسبی جهت نگهداری تخم‌مرغ‌های خوراکی نیست و طبقه سوم (در یخچال‌های کوچک) و طبقات بالا (در یخچال‌های بزرگ) برای نگهداری تخم‌مرغ‌های خوراکی توصیه می‌گردد. در رابطه با مدت زمان نگهداری تخم‌مرغ‌های خوراکی در یخچال، نگهداری تخم‌مرغ‌ها به مدت زمان ۲ هفته (۱۴ روز) مناسب است و با افزایش مدت زمان نگهداری تخم‌مرغ‌ها به ۳ هفته، کیفیت داخلی تخم‌مرغ‌ها کاهش می‌یابد. وضعیت نگهداری تخم‌مرغ‌ها در یخچال (نوک باریک پایین و یا برعکس) اثرات معنی‌داری بر کیفیت داخلی، صفات پوسته و ترکیبات بیوشیمیایی زرده تخم‌مرغ‌ها نداشت. با توجه به محدود بودن آزمایش‌های اینجینی، برای اظهار نظر قطعی در خصوص نحوه، مدت زمان و وضعیت نگهداری تخم‌مرغ‌های خوراکی در یخچال، توصیه می‌شود آزمایش‌های متعددی با در نظر گرفتن شرایط و وضعیت‌های گوناگون انجام گردند تا با کسب اطلاعات بیشتر، نسبت به اظهار نظرات و پیشنهادات دقیق کاربردی اقدام کرد.

بهبود صفات مربوط به زرده (شاخص زرده و رنگ زرده در طبقه بالای یخچال (طبقه سوم)، نسبت به طبقه پایین (اول)، احتمالاً ناشی از اختلاف دمای طبقات و بروز تبخیر محتویات آبی و تغییر ارتفاع زرده و نیز افزایش نسبت رنگدانه‌ها (شاخص رنگ زرده) در طبقه سوم یخچال نسبت به طبقات دیگر باشد. با ملاحظه وزن تخم‌مرغ‌ها در زمان شروع آزمایش در طبقات مختلف یخچال و مقایسه آن با وزن تخم‌مرغ‌ها در بعد از شروع آزمایش، ملاحظه می‌گردد، هر چند که تفاوت آماری در وزن ثانویه تخم‌مرغ‌های طبقات مختلف وجود ندارد، لیکن تخم‌مرغ‌های طبقات، درصدهای متفاوتی از محتوی رطوبتی خود را از دست داده‌اند. به طوری که این کاهش درصد وزنی تخم‌مرغ‌ها در طبقه اول یخچال حدود ۲/۳۳ درصد، در حالی که در طبقه سوم حدود ۱/۵۶ درصد بوده است. کاهش بیشتر رطوبت در طبقه اول، می‌تواند ارتفاع زرده و رنگ زرده را نیز کاهش دهد. کاهش متفاوت رطوبت در طبقات مختلف یخچال می‌تواند با فاصله طبقه از فریزر یخچال، منبع تولید سرما و وجود مقادیر متفاوت و نیز اقلام غذایی با محتوی آبی مختلف در طبقات، متغیر باشد. آزمایشی که در آن اثرات طبقات مختلف یخچال‌های خانگی را بر صفات کیفی تخم‌مرغ نشان دهد، یافت نشد، لیکن نگهداری تخم‌مرغ‌های خوراکی در دماهای مختلف، موجب گردید که با افزایش درجه حرارت، رنگ زرده کاهش یابد که از جمله دلایل کاهش رنگ زرده، تبخیر محتوی آبی زرده بیان شده است (۴ و ۶).

با افزایش طول مدت نگهداری تخم‌مرغ‌های خوراکی در یخچال، درصد زرده، واحد هاو و غلظت کلسترول زرده تخم‌مرغ‌ها کاهش یافت، در حالی که درصد سفیده و رنگ زرده افزایش یافت. با افزایش طول مدت نگهداری تخم‌مرغ‌ها در یخچال، تبخیر محتویات آبی تخم‌مرغ‌ها ادامه یافته و موجب شده درصد زرده کاهش یابد، کاهش واحد هاو می‌تواند با کاهش درصد زرده و نیز افت ارتفاع سفیده غلیظ ارتباط داشته باشد، که با بروز تبخیر، این پدیده صورت گرفته و کیفیت تخم‌مرغ کاهش یافته است. افزایش درصد سفیده می‌تواند ناشی از کاهش سهم درصد زرده باشد که احتمالاً حاکی از حساسیت بالای زرده در از دست دادن محتویات رطوبتی خود نسبت به سفیده به دلیل غلظت، ماهیت و ترکیبات شیمیایی باشد. افزایش رنگ زرده با بالا رفتن طول مدت نگهداری تخم‌مرغ‌ها در یخچال، احتمالاً با بروز پدیده‌هایی مثل اکسیداسیون در اثر ماندگاری زیاد و در نتیجه تغییر رنگ زرده ارتباط داشته باشد. از آنجایی که محتوی چربی و بالخصوص چربی‌های غیراشباع زرده زیاد است، لذا با گذشت زمان، احتمال بروز اکسیداسیون نیز بیشتر شده و احتمال داده می‌شود این پدیده موجب افزایش رنگ زرده شده است. کاهش محتوی کلسترولی تخم‌مرغ‌ها در یخچال احتمالاً ناشی از دو علت بوده است، اولی مرتبط با بروز تبخیر و افزایش غلظت مواد خشک زرده و دومی وقوع اکسیداسیون

منابع

1. Beejmohun, V., O. Fliniaux. E. Grand. F. Lamblin, L. Bensaddek, P. Christen and F. Mesnard. 2007. Microwave-assisted extraction of the main phenolic compounds in flaxseed. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 18(4): 275-282.
2. Curtis, P.A., F.A. Gardner and D.B. Mellor. 1986. A comparison of selected quality and compositional characteristics of brown and white shell eggs. III. Composition and nutritional characteristics. *Poultry Science*, 65: 501-507.
3. Ibrahim, A.A., M.Y. Abare, I.B. Salisu and A. Abdulkarim. 2020. Effects of strain and storage period on some quality characteristics of chicken eggs. *Nigerian Journal of Animal Science and Technology*, 3 (2): 52-65.
4. Izat, A.L., F.A. Gardner and D.B. Mellor, 1986. The effects of age of bird and season of the year on egg quality. II. Haugh units and compositional attributes. *Poultry Science*, 65: 726-728.
5. Jin, Y.H., K.T. Lee, W.I. Lee. and Y.K. Han. 2011. Effects of storage temperature and time on the quality of eggs from laying hens at peak production. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 24: 279-284.
6. Jones, D.R. 2006. Conserving and monitoring shell egg quality. *Proceedings of the 18th Annual Australian Poultry Science Symposium*, pp: 157-165.
7. Jones, D.R. 2007. Egg functionality and quality during long-term storage. *International Journal of Poultry Science*, 6:157-162.
8. Jones, D.R. and M.T. Musgrove. 2005. Effects of extended storage on egg quality factor. *Poultry Science*, 84:1774-1777.
9. Kirunda, D.F.K. and S.R. McKee. 2000. Relating quality characteristics of aged eggs and fresh eggs to vitelline membrane strength as determined by a texture analyzer. *Poultry Science*, 79: 1189-1193.
10. Lee. M.H., E.J. Cho, E.S. Choi and S.H. Sohn. 2016. The effect of storage period and temperature on egg quality in commercial eggs. *Korean Journal of Poultry Science*, 43(1): 31-38.
11. Mine, Y. 2002. Recent advances in egg protein functionality in the food system. *World's Poultry Science Journal*, 58: 31-39
12. Samli, H.E., A. Agha and N. Senkoylu. 2005. Effects of storage time and temperature on egg quality in old laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 14: 548-553.
13. SAS Institute Inc. SAS/Stat User's Guide .2006. Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.
14. Scott, T.A. and F.G. Silversides. 2000. The effect of storage and strain of hen on egg quality. *Poultry Science*, 79: 1725-1729.
15. Silversides, F.G. and T.A. Scott. 2001. Effect of storage and layer age on quality of eggs from two lines of hens. *Poultry Science*, 80:1240-1245.
16. Stadelman, W.J. and O.J. Cotterill, Ed. 1995. *Egg Science and Technology*, fourth edition. Haworth Press, Inc., Binghamton, New York.
17. Tona, K., O. Onagbesan, B. De Ketelaere, E. Decuyper and V. Bruggeman. 2004. Effects of age of broiler breeders and egg storage on egg quality, hatchability chick quality, chick weight and chick post hatch growth to 42 days. *Journal of Applied Poultry Research*, 13:10-18.
18. Toussant, M.J. and J.D. Latshaw. 1999. Ovomucin content and composition in chicken eggs with different interior quality. *Science and Food Agriculture*, 79: 1666-1670.



The Effects of Duration, Location and Storage Status of Edible Eggs in Home Refrigerators on Quality Traits, Shell Traits and Biochemical Indicators of Yolk Eggs

Ali Nobakht

Associate Professor Islamic Azad University, Maragheh Branch, (Corresponding author: anobakht20@yahoo.com)

Received: 25 April, 2022 Accepted: 6 February, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Egg is a complete food for feeding different age groups, which has a wide range of required nutrients, contains chemical compounds sensitive to adverse environmental factors such as temperature, shelf life and storage conditions. In the present experiment, the duration, location and storage status of edible eggs in home refrigerators and their effects on quality traits, shell traits and biochemical characteristics of egg yolks were evaluated.

Material and Methods: In this experiment, 216 healthy eggs produced one day of hens of W36 line strains, aged 77 weeks, were prepared and in the form of 2 * 3 * 3 factorial arrangement, including 3 weeks, 3 floors and two egg storage conditions (sharp to Bottom or vice versa) in 18 treatments, 72 replications and 3 eggs per replication were used in a completely randomized design.

Results: Duration of storage, location and storage of eggs in the refrigerator had significant effects on internal quality, shell traits and biochemical parameters of egg yolks ($p < 0.05$). Storage of eggs in the upper floors of the refrigerator compared to the lower floor increased the yolk index and yolk color ($p < 0.05$). With increasing the storage time of eggs to three weeks in the refrigerator, the percentage of yolk, units, egg shell thickness and yolk cholesterol concentration decreased, while the percentage of white and yolk color increased ($p < 0.05$). Egg storage conditions in the refrigerator (bottom sharp or vice versa) did not have significant effects on internal quality, shell traits and biochemical characteristics of egg yolks ($p < 0.05$).

Conclusion: Due to the nutritional value of various compounds and the nature of some nutrients in eggs and especially egg yolks (such as unsaturated fatty acids), as a concern for nutritionists and housewives, duration, location and the storage status of the eggs in the refrigerator is important. In the present experiment, it was observed that, firstly, the lower floor of the refrigerator is not a suitable place for storing eggs, and secondly, by increasing the the duration of keeping eggs to more than two weeks, the internal quality, the quality of the shell and the yolk content of the eggs will decrease, but the storage condition of eddible eggs in the refrigerator (sharp egg point down or vice versa) had no significant effects on the aforementioned traits. According to the above findings, it is recommended, that the eggs needed by households not to be purchased in large quantities and not to be stored for more than 2 weeks, as well as in the lower floors of home refrigerators.

Keywords: Biochemical indicators, Edible egg, Internal quality, Shell traits, Storage status



"مقاله پژوهشی"

پیامد کاربرد میوه بلوط ایرانی در جیره جوجه‌های گوشتی: ارزیابی برخی ویژگی‌های گوشت

هاجر غریب اردکانی^۱، محمد هوشمند^۲، رضا نقی‌ها^۳ و سیامک پارسایی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، (نویسنده مسوول: Hooshmand@yu.ac.ir)
۳- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
۴- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۰
صفحه: ۲۸ تا ۳۶

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: در سال‌های اخیر، کاربرد افزودنی‌های طبیعی و ایمن همانند گیاهان و فرآورده‌های گیاهی به دلیل اثرات سودمند آنها بر سلامت و در نتیجه تولید حیوانات، افزایش یافته است. یکی از ترکیبات مهم طبیعی موجود در گیاهان، ترکیبات پلی‌فنلی بوده که به دلیل داشتن اثرات ضد اکسیداسیونی و ضد باکتریایی مورد توجه فراوان قرار گرفته و بررسی‌های زیادی در مورد اثرات مختلف آنها بر جوجه‌های گوشتی انجام شده است. این پژوهش به منظور بررسی اثر کاربرد جیره‌های میوه بلوط ایرانی (*Quercus brantii* L.)، به عنوان یک خوراک غنی از ترکیبات فنلی، بر برخی ویژگی‌های گوشت سینه جوجه‌های گوشتی در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد)، انجام شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۶۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه مخلوط نر و ماده در قالب یک طرح کاملاً تصادفی بین دو تیمار آزمایشی (هر یک با ۴ تکرار ۲۰ قطعه‌ای) توزیع و با جیره شاهد (بدون استفاده از میوه بلوط) و یا جیره حاوی ۲۰ درصد میوه بلوط تغذیه شدند. در طول دوره پرورش، جوجه‌ها به ترتیب با جیره‌های آغازین (۱-۱۰ روزگی)، رشد (۱۱-۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) تغذیه شدند. در پایان دوره پرورش، از هر تکرار دو قطعه جوجه کشتار شده و از ماهیچه سینه نمونه‌برداری و در یخچال نگهداری شد. فراسنجه‌های مختلف (جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها، باکتری‌های سرمدوست، انتروباکتریاسه‌ها، کل باکتری‌های هوازی، میزان اکسیداسیون لیپید، ظرفیت نگهداری آب و کاهش در اثر پخت) در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ نگهداری اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان‌داد استفاده از میوه بلوط جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها را در روز ششم و جمعیت کل باکتری‌های هوازی را در روزهای ششم و هشتم نگهداری به طور معنی‌داری کاهش داد ($p < 0.05$). میزان اکسیداسیون لیپید در گوشت سینه گروه دریافت‌کننده میوه بلوط در روز دوم نگهداری در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود ($p < 0.05$) اما در سایر روزها، اختلاف معنی‌داری بین دو تیمار مشاهده نشد. تغذیه جوجه‌ها با میوه بلوط بر ظرفیت نگهداری آب گوشت سینه مرغ در روزهای مختلف نگهداری اثر معنی‌داری نداشت. در جوجه‌های تغذیه شده با میوه بلوط، کاهش در اثر پخت گوشت سینه در روز چهارم نگهداری کم‌تر اما در روز دهم، بیش‌تر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: به طور کلی، تحت شرایط انجام این پژوهش، تغذیه جوجه‌ها با میوه بلوط بر اغلب فراسنجه‌های مورد بررسی، اثر ثابت و معنی‌داری نداشت.

واژه‌های کلیدی: بلوط ایرانی، پایداری اکسیداتیو، جمعیت باکتریایی، جوجه گوشتی، گوشت سینه

مقدمه

مدت زمان نگهداری گوشت مرغ یکی از نگرانی‌های مهم در صنعت غذایی است چرا که در طول دوره نگهداری، خصوصیات کیفی گوشت در اثر فساد باکتریایی و اکسیداتیو کاهش می‌یابد. فساد اکسیداتیو سبب ایجاد بوی نامطبوع، طعم نامطلوب، تغییر در ساختار مواد مغذی و کاهش ارزش غذایی فرآورده می‌شود. فساد و آلودگی میکروبی منجر به هدر رفتن فرآورده و ایجاد خطرات جدی در سلامت غذایی مصرف‌کنندگان می‌شود (۹، ۱۴). به طور معمول، در جیره‌های طیور جهت افزایش پایداری جیره و بهبود کیفیت گوشت و تخم‌مرغ، از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی (مصنوعی) همانند بوتیل‌هیدروکسی‌تولون و اتوکسی‌کوئین استفاده می‌شود. اما کاربرد این گونه افزودنی‌ها، به دلیل احتمال بروز برخی خطرات و از جمله ماهیت سرطانی آنها مورد تردید قرار گرفته است (۱۵).

امروزه تقاضا برای غذاهای حیوانی سالم و ایمن در حال افزایش است و این مورد یکی از چالش‌های متخصصین علوم دامی محسوب شده و سبب افزایش تمایل به کاربرد افزودنی‌های غذایی طبیعی گردیده است. در همین راستا، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، سالم‌تر (ایمن‌تر) بوده، برای مصرف‌کنندگان قابل قبول‌تر بوده، سبب خوش خوراکی بهتر و پایداری بیشتر فرآورده‌های گوشتی در دوره نگهداری می‌شوند (۱۸). یک گروه از ترکیبات طبیعی گیاهی، ترکیبات فنلی هستند که به دلیل داشتن ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتری، ضدالتهابی و ضدسرطانی بر سلامت حیوان و انسان

اثرات سودمندی دارند (۱). گزارش شده که ترکیبات فنلی به طور مستقیم و یا غیرمستقیم می‌توانند بر کیفیت گوشت اثرگذار باشند (۲۴). پلی‌فنول‌های گیاهی مانند تانن‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی و ویژگی‌های ضد میکروبی بوده و می‌توانند به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی استفاده شوند (۴). در همین زمینه، گزارش شده که کاربرد گیاهان و عصاره‌های گیاهی غنی از ترکیبات پلی‌فنلی و از جمله تانن‌ها، سبب بهبود پایداری اکسیداتیو گوشت در گونه‌های مختلف حیوانات مزرعه‌ای (۲۲) و همچنین کمک به حفظ تازگی تخم‌مرغ و افزایش دوره ذخیره‌سازی آن می‌شود (۱). اگرچه تانن‌ها در گذشته و به‌طور سنتی به عنوان عوامل ضدتغذیه‌ای در جیره تک معده‌ای‌ها محسوب می‌شدند، اما یافته‌های اخیر نشان‌می‌دهند که استفاده از مقادیر مناسب این ترکیبات به دلیل داشتن ویژگی ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌تواند سلامت و عملکرد طیور را بهبود دهد (۱۷). به‌عنوان نمونه، گزارش شده‌است که افزودن یک درصد اسید تانیک (نوعی ترکیب تاننی) به جیره جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی می‌تواند همانند یک آنتی‌اکسیدان بیولوژیک عمل نموده و سبب بهبود ساختار اسیدهای چرب ماهیچه سینه و بهبود کیفیت گوشت شود (۱۲).

یکی از منابع گیاهی غنی از ترکیبات فنلی، میوه درخت بلوط ایرانی می‌باشد. مقدار ترکیبات فنلی و تانن‌های کل این میوه بترتیب برابر ۸/۰۵ و ۶/۰۷ درصد ماده خشک گزارش شده است (۲۶). به دلیل بالا بودن مقادیر بالای ترکیبات فنلی در این میوه، این ماده

مواد و روش‌ها

شمار ۱۶۰ قطعه جوجه یک روزه مخلوط نر و ماده از سویه تجاری (Ross 308) راس ۳۰۸ با میانگین وزن ۴۲ گرم از یک مجتمع تجاری طیور خریداری و به سالن پرورش انتقال یافت. جوجه‌ها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی بین دو تیمار و چهار تکرار (هر تکرار شامل ۲۰ قطعه) توزیع شدند. جوجه‌های گروه شاهد با جیره بر پایه ذرت (بدون استفاده از میوه بلوط) اما گروه دوم با جیره حاوی ۲۰ درصد میوه بلوط، تغذیه شدند. در طول دوره پرورش، جوجه‌ها بر پایه سفارش سویه راس با جیره‌های آغازین (۱۰ تا ۱ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) تغذیه شدند. ترکیب این جیره‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. جیره‌ها با استفاده از برنامه UFFDA تنظیم شدند.

خوراکی می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی قابل توجهی داشته باشد (۳). در همین راستا، ویژگی ضدباکتری تان‌های میوه بلوط ایرانی در چندین پژوهش انجام شده در شرایط آزمایشگاهی نشان داده شده است (۳۰، ۱۹، ۳). با وجود تولید مقادیر زیادی از میوه بلوط در کشور و انجام پژوهش‌هایی در زمینه بررسی امکان استفاده از این ماده خوراکی در جیره طیور، در مورد اثرات احتمالی این ماده خوراکی بر ویژگی گوشت طیور و یا سایر گونه‌ها، گزارشی یافت نشد اما با توجه به اثرات سودمند ترکیبات فنلی بر کیفیت گوشت (۱۲)، انتظار می‌رود به دلیل وجود مقادیر بالای این ترکیبات سودمند در میوه بلوط، کاربرد آن در جیره بتواند بر ماندگاری گوشت در دوره نگهداری اثر مطلوب داشته باشد. بنابراین، هدف از انجام این پژوهش، بررسی کارایی احتمالی این ماده خوراکی در جهت حفظ و یا بهبود ویژگی‌های گوشت مرغ در طول دوره نگهداری بود.

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی

| Table 1. Feed ingredients and nutrient composition of the experimental diets | | | | | | |
|------------------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------------------------------|-----------------|-----------------------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------|
| پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) Finisher (d 25-42) | | رشد (۱۱-۲۴ روزگی) Grower (d 11-24) | | آغازین (۱-۱۰ روزگی) Starter (d 1-10) | | ترکیبات جیره (درصد) Diet components (%) |
| حاوی بلوط Containing Oak acorn | شاهد Control | حاوی بلوط Containing Oak acorn | شاهد Control | حاوی بلوط Containing Oak acorn | شاهد Control | |
| 43.03 | 64.44 | 33.76 | 57.16 | 25.25 | 48.64 | ذرت Corn |
| 20 | - | 20 | - | 20 | - | میوه بلوط (Oak acorn) |
| 30.70 | 28.95 | 37.13 | 35.38 | 43.62 | 41.87 | کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین خام) Soyabean meal (44% cp) |
| 0.84 | 0.94 | 0.94 | 1.04 | 1.02 | 1.12 | کربنات کلسیم Calcium carbonate |
| 1.41 | 1.47 | 1.58 | 1.64 | 1.87 | 1.93 | دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate |
| 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | مکمل ویتامینه ^۱ Vitamin premix |
| 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | 0.25 | مکمل معدنی ^۲ Mineral premix |
| 4.68 | 2.91 | 5.22 | 3.45 | 6.76 | 4.99 | روغن گیاهی Vegetable oil |
| 0.35 | 0.34 | 0.38 | 0.37 | 0.40 | 0.40 | نمک salt |
| 0.20 | 0.16 | 0.22 | 0.19 | 0.26 | 0.23 | دی ال- متیونین DL- methionine |
| 0.29 | 0.29 | 0.27 | 0.27 | 0.32 | 0.32 | ال لیزین هیدروکلراید L-Lsine Hydrochloride |
| ترکیب مواد مغذی جیره‌ها Nutrients composition of diets | | | | | | |
| 3050 | 3050 | 3000 | 3000 | 3000 | 3000 | انرژی قابل سوخت و ساز (Kcal/Kg) Metabolizable energy (Kcal/kg) |
| 18.29 | 18.29 | 20.8 | 20.8 | 23 | 23 | پروتئین خام (%) Crude protein (%) |
| 0.76 | 0.76 | 0.85 | 0.85 | 0.96 | 0.96 | کلسیم (%) Calcium (%) |
| 0.38 | 0.38 | 0.42 | 0.42 | 0.48 | 0.48 | فسفر قابل دسترس (%) Available phosphorus (%) |
| 0.15 | 0.15 | 0.16 | 0.16 | 0.17 | 0.17 | سدیم (%) Sodium (%) |
| 0.45 | 0.45 | 0.50 | 0.50 | 0.56 | 0.56 | متیونین (%) Methionine (%) |
| 1.11 | 1.11 | 1.25 | 1.25 | 1.44 | 1.44 | لیزین (%) Lysine (%) |

^۱ مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم جیره، این مقادیر را تأمین می‌کرد: ۱۸۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۴۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۷۲ میلی‌گرم ویتامین E، ۴ میلی‌گرم ویتامین K₃، ۵۵٫۳ میلی‌گرم ویتامین B₁، ۲/۱۳ میلی‌گرم ویتامین B₂، ۸۸٫۵ میلی‌گرم ویتامین B₆، ۲ میلی‌گرم ویتامین B_{۱۲}، ۰٫۳۰ میلی‌گرم ویتامین B_{۱۲}، ۶/۱۹ میلی‌گرم پانتوتنات کلسیم، ۴٫۵۹ میلی‌گرم نیاسین و ۱ گرم کولین کلراید.

^۲ مکمل معدنی در هر کیلوگرم جیره، این مقادیر را تأمین می‌کرد: ۶۵ میلی‌گرم منگنز، ۵۵ میلی‌گرم روی، ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۸ میلی‌گرم مس، ۹/۱ میلی‌گرم ید و ۴/۰ میلی‌گرم سلنیم.

^۱The vitamin premix supplied the following per kilogram of diet: 18,000 IU vitamin A, 4000 IU vitamin D₃, 72 mg vitamin E, 4 mg vitamin K₃, 55.3 mg vitamin B₁, 2.13 mg vitamin B₂, 5.9 mg vitamin B₆, 2 mg vitamin B_{۱۲}, 0.03 mg vitamin B_{۱۲}, 6.19 mg calcium pantothenate, 4.59 mg niacin, 1g choline chloride.

^۲The mineral premix supplied the following per kilogram of diet: 65 mg Mn, 55 mg Zn, 50 mg Fe, 8 mg Cu, 9.1 mg I, 4 mg Se.

۱۰ روز در یخچال نگهداری شده بود، استفاده شد. اکسیداسیون لیپید گوشت با اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde) (فرآورده حاصل از اکسیداسیون لیپیدها) و روش اسید تیوباربیتوریک (Thiobarbituric acid) انجام شد (۲۲). اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب و همچنین کاهش در اثر پخت بر پایه روش پژوهش رسولی و همکاران (۲۹) انجام شد. برای اندازه‌گیری کاهش در اثر پخت، نخست وزن نمونه گوشت تعیین شده و سپس به مدت یک شب در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شد. در مرحله اول، نمونه گوشت به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب داغ با دمای ۸۵ درجه‌سانتی‌گراد و در مرحله دوم به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه‌سانتی‌گراد پخته شده و دوباره وزن آن اندازه‌گیری شد. تفاوت بین دو وزن، نشان‌دهنده کاهش در اثر پخت است.

داده‌های آزمایش با استفاده از رویه مدل خطی عمومی (GLM) برنامه نرم‌افزاری SAS (۲۰۰۵) (۳۳) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. مدل آماری طرح به شرح زیر بود:

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

در این مدل، Y_{ij} اندازه هر مشاهده در آزمایش، μ میانگین جمعیت، T_i اثر تیمار و e_{ij} اثر اشتباه آزمایش می باشد.

نتایج و بحث

جمیت لاکتوباسیلوس‌ها و باکتری‌های سرمادوست

بر پایه یافته‌های جدول ۲، تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در روز ششم نگهداری در جوجه‌های تغذیه شده با میوه بلوط در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر بود. در سایر روزها بین این دو گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود.

میوه بلوط از جنگل‌های منطقه زاگرس پیرامون شهر یاسوج جمع‌آوری شد. نخست میوه‌ها پوست‌کنی و سپس در برابر نور آفتاب خشک شدند. میوه‌های خشک، آسیاب شده و آرد میوه بلوط برپایه تیمارهای آزمایشی به میزان لازم به جیره‌ها افزوده شد. اندازه گیری ترکیبات فنلی موجود در میوه بلوط مصرفی نشان داد این ماده خوراکی حاوی ۸ درصد فنل کل و ۶/۰۸ درصد تانن کل (بر پایه ماده خشک) بود. همچنین میزان ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام، خاکستر، عصاره بدون نیتروژن و فیبر خام در میوه بلوط مصرفی به ترتیب برابر با ۸۹/۹۱، ۶/۲۷، ۱۰/۳۱، ۱/۹۱، ۱/۰۴ و ۵/۳۹ درصد بود (۲۶).

در پایان دوره پرورش (سن ۴۲ روزگی)، از هر تکرار، دو قطعه جوجه (هشت قطعه برای هر تیمار آزمایشی) به‌طور تصادفی گزینش و پس از کشتار به آزمایشگاه منتقل شدند. به کمک اسکالیل سترون و در کنار شعله، پوست جوجه‌ها جدا شده و از سمت راست ماهیچه سینه برای بررسی میکروبی و سمت چپ برای بررسی سایر ویژگی‌ها نمونه‌برداری شد. نمونه‌های گوشت به تکه‌های دو گرمی تقسیم شده و پس از انتقال به لوله‌های آزمایش درب‌دار سترون، در کیسه‌های نایلون سیاه رنگ قرار داده شده و تا زمان انجام آزمایشات لازم در یخچال (دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد) نگهداری شدند. فراسنجه‌های مختلف به صورت یک روز در میان و به مدت ۶ روز یعنی در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ نگهداری گوشت در یخچال، اندازه‌گیری شدند.

برای کشت لاکتوباسیلوس‌ها، باکتری‌های سرمادوست و انتروباکتریاسه‌ها به ترتیب از محیط کشت‌های MRS (Man Rosoga and Sharpe, Violet Red Bile Dextrose Agar) (VRBD) استفاده شد. همچنین برای شمارش کل باکتری‌های هوازی، از محیط کشت (Violet Red Bile Dextrose Agar) (VRBD) که به مدت

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر شمار لاکتوباسیلوس‌ها و باکتری‌های سرمادوست (logCFU/g) گوشت سینه در روزهای مختلف نگهداری
Table 2. Effect of experimental treatments on the number of *Lactobacillus* and *Psychrotroph* bacteria (log CFU/g) in the breast meat at different storage days

| SEM | P value | تیمارهای آزمایشی* Experimental treatments | | فراسنجه parameter |
|------|---------|-----------------------------------------------------------------|-------------------|----------------------|
| | | میوه بلوط Oak acorn | شاهد Control | |
| | | لاکتوباسیلوس‌ها (روز) <i>Lactobacillus</i> (day) | | |
| 0.12 | 0.13 | 4.98 | 5.43 | 2 |
| 0.18 | 0.27 | 5.88 | 6.25 | 4 |
| 0.13 | 0.01 | 6.75 ^b | 7.60 ^a | 6 |
| 0.26 | 0.74 | 7.38 | 7.50 | 8 |
| 0.05 | 0.75 | 7.78 | 7.83 | 10 |
| 0.76 | 0.88 | 6.85 | 6.95 | 12 |
| | | باکتری‌های سرمادوست (روز) <i>Psychrotroph</i> bacteria (day) | | |
| 0.24 | 0.18 | 2.60 | 3.13 | 2 |
| 0.13 | 0.71 | 4.60 | 4.70 | 4 |
| 0.01 | 0.36 | 5.65 | 5.70 | 6 |
| 0.16 | 0.10 | 5.70 | 6.25 | 8 |
| 0.65 | 0.69 | 7.53 | 7.60 | 10 |
| 0.25 | 0.89 | 4.68 | 4.73 | 12 |

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد ($p < 0.05$).

*شاهد: گروه تغذیه شده با جیره شاهد (بدون میوه بلوط)، میوه بلوط: گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۲۰ درصد میوه بلوط

Means within a row with different superscript are significantly different at $P < 0.05$.

* Control: group fed with a control diet (without oak acorn), oak acorn: group fed with a diet containing 20% oak acorn

جمعیت/انتروباکتریاسه‌ها و کل باکتری‌های هوازی
 داده‌های جدول ۳ نشان می‌دهد اگرچه شمار *انتروباکتریاسه‌ها* در روزهای مختلف نگهداری در جیره حاوی میوه بلوط نسبت به جیره شاهد از نظر عددی کاهش یافت، اما بین این دو گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود.

یافته‌های جدول ۲ نشان می‌دهد، در زمان‌های مختلف بررسی شده بین جیره حاوی میوه بلوط و جیره شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر جمعیت باکتری‌های سرمادوست وجود ندارد اما به‌طور کلی جمعیت این باکتری‌ها در جیره حاوی میوه بلوط از نظر عددی کاهش یافته است.

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر شمار *انتروباکتریاسه‌ها* و کل باکتری‌های هوازی (Log CFU/g) گوشت سینه در روزهای مختلف نگهداری
 Table 3. Effect of experimental treatments on the number of *Enterobacteriaceae* and total aerobic bacteria (logCFU/g) in the breast meat at different storage days

| SEM | P value | تیمارهای آزمایشی* Experimental treatments | | فراسنج Parameter |
|-------|---------|-------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------------|
| | | میوه بلوط Oak acorn | شاهد Control | |
| | | <i>انتروباکتریاسه‌ها</i> (روز) <i>Enterobacteriaceae</i> (day) | | |
| 0.11 | 0.84 | 5.46 | 5.50 | 2 |
| 0.22 | 0.72 | 5.78 | 5.90 | 4 |
| 0.29 | 0.57 | 6.08 | 6.30 | 6 |
| 0.06 | 0.89 | 6.78 | 6.80 | 8 |
| 0.15 | 0.73 | 6.73 | 6.83 | 10 |
| 0.33 | 0.86 | 4.65 | 4.73 | 12 |
| | | کل باکتری‌های هوازی (روز) Total aerobic bacteria (day) | | |
| 0.12 | 0.57 | 5.80 | 5.95 | 2 |
| 0.25 | 0.39 | 6.13 | 6.45 | 4 |
| 0.002 | 0.0004 | 6.92 ^b | 7.18 ^a | 6 |
| 0.55 | 0.03 | 6.73 ^b | 7.20 ^a | 8 |
| 0.63 | 0.66 | 7.70 | 8.10 | 10 |
| 0.69 | 0.79 | 6.23 | 6.28 | 12 |

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد ($p < 0.05$).

*شاهد: گروه تغذیه شده با جیره شاهد (بدون میوه بلوط)، میوه بلوط: گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۲۰ درصد میوه بلوط

Means within a row with different superscript are significantly different at $P < 0.05$.

* Control: group fed with a control diet (without oak acorn), oak acorn: group fed with a diet containing 20% oak acorn

جوجه‌های گوشتی در روزهای صفر، ۲ و ۴ ذخیره‌سازی در دامی ۴ درجه سانتی‌گراد، تحت تأثیر اسید گالیک (نوعی ترکیب تاننی) و یا اسید لینولئیک قرار نگرفت در حالی‌که افزودن مخلوط این دو اسید، تعداد کل باکتری‌های گوشت سینه را در روز ۷ ذخیره‌سازی کاهش داد که احتمالاً نشان‌دهنده ویژگی ضد میکروبی این مخلوط می‌باشد (۱۸).

در پژوهش حاضر جمعیت باکتری‌های گوشت در اغلب روزهای بررسی شده تحت تأثیر میوه بلوط قرار نگرفت. عوامل بسیار زیادی می‌توانند فعالیت ضدباکتریایی ترکیبات فنلی را تحت تأثیر قرار دهند. علت تفاوت در نتایج می‌تواند به ساختارهای متفاوت باکتری‌ها، انواع محیط کشت مورد استفاده، روش استخراج عصاره و انواع ترکیبات موجود در میوه بلوط نسبت داده شود (۳). مقایسه نتایج مطالعات مختلف در مورد اثر ترکیبات فنلی بر جمعیت باکتری‌ها پیچیده به نظر می‌رسد چرا که عواملی نظیر دما، زمان انکوباسیون، pH محیط و نوع محیط کشت، مرحله رشد میکروارگانیسم و حجم محیط کشت به کار برده، بر نتایج اثرگذار می‌باشند. همچنین، ترکیب شیمیایی، نوع و مکانیسم عمل ترکیبات فنولی موجود در گیاه از عوامل مؤثر در ایجاد اختلاف نتایج در فعالیت ضد میکروبی می‌باشند (۳۷). روش‌های متنوع اندازه‌گیری ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی نیز یکی دیگر از عوامل توجیه‌کننده اختلاف در نتایج مطالعات می‌باشد (۲).

اکسیداسیون لیپید، ظرفیت نگهداری آب و کاهش در اثر پخت

اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان مالون‌دی‌آلدئید (مهم ترین معرف فرایند اکسیداسیون لیپید) گوشت سینه در زمان‌های مختلف (جدول ۴) نشان می‌دهد تنها در روز دوم نگهداری، اکسیداسیون لیپید در گروه تغذیه شده با میوه بلوط در مقایسه با گروه شاهد، افزایش

یافته‌ها (جدول ۳) نشان می‌دهد در روز ششم و هشتم نگهداری، شمار کل باکتری‌های هوازی در جوجه‌های تغذیه شده با میوه بلوط در مقایسه با گروه شاهد، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در سایر روزهای نگهداری، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد. باکتری‌های اسید لاکتیک نقش مهمی در فساد گوشت در مرحله نگهداری دارند. باکتری‌های سرمادوست مهم‌ترین گروه از باکتری‌های ایجادکننده فساد میکروبی در فرآورده‌های گوشتی محسوب می‌شوند. باکتری‌های گرم منفی و از جمله *انتروباکتریاسه‌ها* در شرایط هوازی و سرما سرعت رشد بیشتری دارند و بنابراین جمعیت میکروبی غالب در گوشت‌هایی هستند که در یخچال و در معرض هوا نگهداری می‌شوند (۱۰).

اثرات بازدارندگی و ضد میکروبی عصاره بلوط ایرانی در شرایط آزمایشگاهی بخوبی مستند شده است (۳۱،۱۳،۳). ویژگی ضد میکروبی میوه بلوط ایرانی بستگی به ترکیبات فنولی کل، فلاونول و فلاونوئید موجود در آن دارد (۳). فعالیت ضد میکروبی تانن‌ها شامل مهار آنزیم‌های میکروبی برون سلولی، محدود کردن مواد مورد نیاز برای رشد میکروبی و یا تأثیر مستقیم بر سوخت و ساز میکروبی از راه جلوگیری از فرایند فسفوریلاسیون اکسیداتیو است (۳۴). ترکیبات فنلی ماهیت هیدروفوبیک داشته و بنابراین می‌توانند به شدت به تجزیه لیپیدهای غشایی میتوکندری و سلولی و تغییرات در نفوذپذیری غشای باکتری کمک نموده و از راه چسبیدن به گروه‌های آمین و هیدروکسیلامین‌های پروتئین به مرگ باکتری‌ها منجر شوند (۳۶).

در بررسی منابع، در مورد اثر میوه بلوط بر تعداد و جمعیت باکتری‌های گوشت طیور و سایر گونه‌های حیوانی گزارشی یافت نشد اما یافته‌هایی در زمینه اثر ترکیبات فنلی و یا گیاهان حاوی این ترکیبات بر جمعیت باکتری‌های گوشت وجود دارد. به عنوان نمونه، گزارش شده جمعیت کل باکتری‌های هوازی گوشت سینه

معنی‌داری را نشان داد و در سایر روزها، تفاوت معنی‌داری بین دو مقدار اکسیداسیون لیپید گروه حاوی میوه بلوط از نظر عددی گروه مشاهده نشد هر چند که در برخی از روزها (۸، ۱۰ و ۱۲) کاهش یافت.

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان مالون‌دی‌آلدئید، ظرفیت نگهداری آب و کاهش در اثر پخت گوشت سینه در روزهای مختلف نگهداری

Table 4. Effect of experimental treatments on the Malondialdehyde level, water holding capacity and reduction due to cooking breast meat at different storage days

| SEM | P value | تیمارهای آزمایشی [*] | | فراسنجه parameter |
|-------------------------------------------|---------|-------------------------------|--------------------|-------------------|
| | | میوه بلوط Oak acorn | شاهد Control | |
| سطح مالون‌دی‌آلدئید (نانوگرم در گرم) | | | | |
| Malondialdehyde level (nanogram per gram) | | | | |
| 0.0003 | 0.02 | 0.006 ^a | 0.005 ^b | 2 |
| 0.0004 | 0.23 | 0.007 | 0.004 | 4 |
| 0.0002 | 0.64 | 0.005 | 0.004 | 6 |
| 0.0003 | 0.91 | 0.004 | 0.006 | 8 |
| 0.0002 | 0.66 | 0.003 | 0.004 | 10 |
| 0.0002 | 0.43 | 0.004 | 0.002 | 12 |
| ظرفیت نگهداری آب (درصد) | | | | |
| Water holding capacity (%) | | | | |
| 2.80 | 0.77 | 63.7 | 64.1 | 2 |
| 1.77 | 0.07 | 64.0 | 66.1 | 4 |
| 2.23 | 0.11 | 62.9 | 64.9 | 6 |
| 1.07 | 0.45 | 63.5 | 64.1 | 8 |
| 1.65 | 0.08 | 62.8 | 64.7 | 10 |
| 8.51 | 0.54 | 60.9 | 62.2 | 12 |
| کاهش در اثر پخت (درصد) | | | | |
| Cooking loss (%) | | | | |
| 0.46 | 0.90 | 9.09 | 7.63 | 2 |
| 0.0001 | 0.37 | 5.26 ^b | 7.16 ^a | 4 |
| 0.21 | 1.21 | 6.89 | 3.73 | 6 |
| 0.14 | 0.56 | 5.78 | 7.47 | 8 |
| 0.0001 | 0.64 | 5.15 ^a | 1.79 ^b | 10 |
| 0.37 | 0.73 | 4.08 | 5.51 | 12 |

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد ($p < 0.05$).

^{*}شاهد: گروه تغذیه شده با جیره شاهد (بدون میوه بلوط)، میوه بلوط: گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۲۰ درصد میوه بلوط

Means within a row with different superscript are significantly different at $P < 0.05$.

* Control: group fed with a control diet (without oak acorn), oak acorn: group fed with a diet containing 20% oak acorn

در جیره به منظور بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گوشت، توصیه شد (۲۰).

در پژوهش دیگری که ترکیبات مختلف فنولی (تیمول، اسید تانیک و اسید گالیک) به جیره جوجه‌های گوشتی افزوده شد پایداری اکسیداتیو در بافت کبد و ماهیچه سینه جوجه‌های دریافت‌کننده اسیدتانیک بهبود یافت در حالی که افزودن اسیدگالیک سبب بهبود این فراسنجه در ماهیچه سینه شد (۳۵). بر پایه بررسی دیگری، افزودن مخلوط اسید گالیک و اسید لینولئیک به میزان یک درصد جیره میزان ترکیبات فنولی را در گوشت سینه جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد افزایش داده و سبب بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوشت در روزهای ۲، ۴ و ۷ نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد شد. احتمالاً، اسید گالیک به‌عنوان یک ترکیب پلی‌فنلی طبیعی با رادیکال‌های آزاد ترکیب و آنها را غیرفعال نموده که به نوبه خود می‌تواند غلظت رادیکال‌های آزاد را در درون سلول‌ها کاهش دهد. چنین پیشنهاد شد که افزودن مخلوط اسید گالیک و اسید لینولئیک به جیره سبب می‌شود تا گوشت بتواند نقش دهنده الکترون را برای خنثی سازی رادیکال‌های آزاد ایفا نماید. گزارش شد میزان پلی‌فنل‌ها دارای بالاترین همبستگی ($R^2=0.9773$) با فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل می‌باشد (۱۸). در یک پژوهش دیگر، تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره حاوی سورگوم (حاوی تانن بالا) سبب افزایش پایداری اکسیداتیو گوشت سینه و ران شد. ویژگی آنتی‌اکسیدانی سورگوم به تانن موجود در آن نسبت داده شد (۳۲). اثرات سودمند ترکیبات فنولی بر بهبود پایداری اکسیداتیو گوشت در سایر گونه‌ها نیز نشان داده شده است. به

یافته‌های جدول ۴ نشان می‌دهد که تغذیه جوجه‌ها با جیره حاوی میوه بلوط بر ظرفیت نگهداری آب گوشت سینه مرغ در روزهای مختلف نگهداری اثر معنی‌داری نداشت. در جوجه‌های تغذیه شده با میوه بلوط، کاهش در اثر پخت گوشت سینه در روز چهارم نگهداری به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود در حالی که در روز دهم، این ویژگی در مقایسه با گروه شاهد، افزایش معنی‌داری را نشان داد. در سایر روزها، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد. گزارش شده که کاربرد گیاهان و عصاره‌های گیاهی غنی از ترکیبات پلی‌فنلی و تانن‌ها، سبب بهبود پایداری اکسیداتیو گوشت در گونه‌های مختلف حیوانات مزرعه‌ای می‌شود (۲۳). یافته‌های اخیر نشان داده کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های حاوی تانن شاه بلوط (Chestnut)، به میزان ۵۰۰ و یا ۲۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره بهبود یافت. گوشت سینه این جوجه‌ها در مقایسه با گروه تغذیه شده با جیره بدون تانن، pH بالاتر اما افت خونابه‌ای (Drip loss) و نیروی برشی (Shear force) کم‌تری داشت. همچنین، تغذیه جوجه‌ها با تانن غلظت مالون‌دی‌آلدئید سرم را کاهش داد که نشان‌دهنده ماهیت آنتی‌اکسیدانی تانن‌ها است (۸). در پژوهش دیگری، به هر کیلوگرم جیره جوجه‌های گوشتی ۱۰۰۰ میلی‌گرم عصاره چوب شاه بلوط (غنی از اسید تانیک قابل‌هیدرولیز) افزوده شد. یافته‌ها نشان داد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و همچنین میزان آنزیم‌های گلوکوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در ماهیچه‌های سینه و ران و همچنین سرم خون جوجه‌های دریافت‌کننده عصاره در مقایسه با گروه شاهد، افزایش یافت. به همین دلایل، کاربرد این مقدار عصاره

همان‌گونه که قبلاً بیان شد عوامل بسیار زیادی می‌توانند بر کارایی ترکیبات فنلی و از جمله تانن‌ها موثر بوده و پاسخ جوجه‌ها را تحت تاثیر قرار دهند. همچنین باید توجه داشت که اگرچه تانن‌های گیاهی دارای اثرات ضدباکتری و ضدانگلی قوی در شرایط آزمایشگاهی هستند، اما اثرات مشاهده شده در داخل بدن می‌تواند بسیار متفاوت باشد (۱۷). به عنوان نمونه، گزارش شده که بسیاری از پلی‌فنل‌ها در بدن حیوان، بخشی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود را از دست می‌دهند (۱۸). فعالیت آنتی‌اکسیدانی مستقیم ترکیبات موجود در جیره، با جذب آنها از دستگاه گوارش و میزان ذخیره آنها در بافت‌ها در ارتباط است (۲۳). در بررسی منابع، در مورد قابلیت هضم پلی‌فنول‌ها در جوجه‌ها اطلاعاتی یافت نشد. همچنین در مورد جذب این ترکیبات در شرایطی که همراه با سایر اجزای جیره در روده وجود دارند، اطلاعات بسیار اندکی وجود دارد (۷). یافته‌های یک پژوهش نشان داد در بافت کبد و پلاسما بره‌های تغذیه شده با جیره حاوی تانن Quebracho ترکیبات فنلی یافت نشد اما ظرفیت آنتی‌اکسیدانی این بخش‌ها در مقایسه با گروه شاهد، بالاتر بود. بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت‌ها به اثر غیرمستقیم تانن‌ها نسبت داده شد. این اثر غیرمستقیم ممکن است از طریق افزایش ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی درونی بدن و یا به دلیل شرکت تانن‌ها در تولید مجدد سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی رخ دهد. به نظر می‌رسد تانن‌های Quebracho در دستگاه گوارش تجزیه یا جذب نمی‌شوند اما سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بافت‌های حیوانی می‌شوند. با توجه به این یافته‌ها، نتیجه‌گیری شد که اثرات آنتی‌اکسیدانی تانن‌های Quebracho به‌طور مستقیم با جذب و ذخیره آنها در بافت‌ها در ارتباط نیست. به نظر می‌رسد بهبود مشاهده شده در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کبد و پلاسما، از طریق مکانیسم‌های ناشناخته و غیرمستقیم آنتی‌اکسیدانی، اتفاق می‌افتد. به‌عنوان نمونه، شاید این اثرات به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی مستقیم تانن‌ها در دستگاه گوارش و از جمله حذف یا تشکیل کیلات با ترکیبات پرواکسیدانت و کاهش پراکسیداسیون لیپید اتفاق افتد که در نتیجه سبب بهبود کلی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی حیوان می‌شود (۲۱). در پژوهش حاضر میزان جذب و یا ذخیره‌سازی تانن‌های جیره در بافت گوشت سینه مورد بررسی قرار نگرفت اما شاید بتوان اثرات ناچیز جیره حاوی تانن بر فراسنجه‌های مورد بررسی را به عدم ذخیره‌سازی و یا ذخیره‌سازی اندک آنها در بافت ماهیچه سینه، نسبت داد. به همین دلیل انجام بررسی‌های بیشتر در زمینه میزان ذخیره‌سازی تانن‌های جیره در بافت سینه جوجه‌های گوشتی، پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، یافته‌ها نشان داد تحت شرایط انجام این پژوهش، تغذیه جوجه‌ها با جیره حاوی ۲۰ درصد میوه بلوط ایرانی بر بیشتر فراسنجه‌های گوشت ماهیچه سینه اثر سودمند و ثابتی به همراه نداشت.

عنوان نمونه، تغذیه بره‌ها با جیره‌های حاوی گیاه خرفه (غنی از ترکیبات فنلی) با کاهش اکسیداسیون گوشت، کیفیت و دوره ماندگاری گوشت را بهبود داد (۲۵). یافته دیگری نشان داد در بره‌های تغذیه شده با یک جیره حاوی پودر گیاه Quebracho (یک گیاه غنی از تانن)، پایداری رنگ گوشت بهبود یافت اما میزان اکسیداسیون لیپید گوشت تحت تاثیر قرار نگرفت (۲۲). بررسی یافته‌های قبلی نشان می‌دهد کاربرد ترکیبات فنلی اثرات متفاوتی به همراه داشته است. تفاوت‌های مشاهده شده می‌تواند به عواملی مانند میزان مصرف، منشأ این ترکیبات (طبیعی یا عصاره)، تفاوت در جیره‌های پایه و عوامل مدیریتی نسبت داده شود (۳۵). همچنین باید توجه داشت که همه ترکیبات فنلی لزوماً مفید نیستند و تأثیرات فیزیولوژیکی آنها به عوامل مختلفی بستگی دارد. منبع، بخش گیاهی مورد استفاده، درجه بلوغ، میزان مصرف، روش استخراج، الگوهای محیطی یا رژیم غذایی، متابولیسم و گونه حیوان مورد بررسی از جمله این عوامل محسوب شده و در این تنوع گسترده نقش دارند (۱۷).

ظرفیت نگهداری آب (Water Holding Capacity) به‌عنوان توانایی گوشت برای نگهداری رطوبت طبیعی و افزوده شده به آن در طول مراحل تولید، فرآوری و ذخیره‌سازی تعریف می‌شود (۶). ارزیابی این ویژگی از اهمیت بسیاری برخوردار است زیرا این ویژگی بر کیفیت گوشت خام و فرآورده‌های پخته اثر دارد (۱۶). از دست دادن آب میان بافتی نه تنها بر وزن نهایی محصول بلکه بر ارزش مواد مغذی نیز تاثیر می‌گذارد، زیرا آب میان بافتی حاوی حدود دو سوم غلظت پروتئین گوشت کامل است (۲۷). در مورد اثر جیره‌های حاوی تانن بالا بر ظرفیت نگهداری آب گوشت جوجه‌های گوشتی، گزارش‌های زیادی وجود ندارد. یافته‌های پژوهش اخیر نشان داد افزودن ۵۰۰ میلی‌گرم عصاره تاننی چوب شاه بلوط به هر کیلوگرم جیره پایانی جوجه‌های گوشتی بر ظرفیت نگهداری آب گوشت سینه اثر معنی‌داری نداشت (۲۸). در پژوهش دیگری، جوجه‌های گوشتی در دوره ۲۲ تا ۳۶ روزگی پرورش با جیره‌های شاهد (بدون افزودنی) و یا جیره‌های حاوی ۰/۵ و ۱ درصد مخلوط اسید گالیک و اسید لینولئیک تغذیه شدند. یافته‌ها نشان داد ظرفیت نگهداری آب گوشت در اثر افزودن مخلوط ۱ درصد، افزایش یافت. تصور می‌شود این افزایش به دلیل بهبود در توان آنتی‌اکسیدانی گوشت رخ داده است (۱۸).

کاهش در اثر پخت (Cooking Loss) به معنی تبخیر آب، ذوب چربی‌ها و کاهش پروتئین‌های قابل حل می‌باشد (۵). در واقع، کاهش در اثر پخت به کاهش وزن گوشت در طی فرآیند پخت و پز اشاره دارد (۱۱). بر پایه تنها گزارش یافت شده در مورد اثر تانن‌های جیره بر ویژگی کاهش در اثر پخت گوشت، تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره‌های حاوی تانن‌های شاه بلوط بر این ویژگی، اثر معنی‌داری نداشت (۸).

منابع

1. Abd El-Hack, M.E., H. M. Salem, A.F. Khafaga, S.M. Soliman and M.T. El-Saadony. 2022. Impacts of polyphenols on laying hens' productivity and egg quality: A review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 1-20.
2. Ahmadi, E., A. Abdollahi, S. Najafipour, M.H. Meshkibaf, M. Fasihi-Ramandi, N. Namdar, S. Abdollahi, S.M. Mousavi, B. SamiZadeh and G.H. Allahverdi. 2016. Surveying the effect of the Phenol compounds on antibacterial activity of herbal extracts: in vitro assessment of herbal extracts in Fasa-Fars Province. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 6(2): 210-220 (In Persian).
3. Alebrahim-Dehkordy, E., M. Rafieian-kopaei, H. Amini Khoei and S. Abbasi. 2019. In Vitro evaluation of antioxidant activity and antibacterial effects and measurement of total Phenolic and Flavonoid contents of *Quercus brantii* L. fruit extract. *Journal of Dietary Supplements*, 16(4): 408-416.
4. Alhijazeen, M., E. Mendonca, E.J. Lee and D.U. Ahn. 2018. Effect of oregano essential oil and tannic acid on storage stability and quality of ground chicken meat. *Poultry Science*, 97: 676-683.
5. Barbanti, D. and M. Pasquini. 2005. Influence of cooking conditions on cooking loss and tenderness of raw and marinated chicken breast meat. *LWT-Food Science and Technology*, 38: 895-901.
6. Bowker, B., H. Howking and H. Zhuang 2014. Measurement of water-holding capacity in raw and freeze-dried broiler breast meat with visible and near-infrared spectroscopy. *Poultry Science*, 93(7): 1834-1841.
7. Brenes A., A. Viveros, I. Goñi, C. Centeno, F. Saura-Calixto and I. Arija. 2010. Effect of grape seed extract on growth performance, protein and polyphenol digestibilities, and antioxidant activity in chickens. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8(2): 326-333.
8. Buyse, K., E. Delezie, L. Goethals, N. Van Noten, R. Ducatelle, G.P.J. Janssens and M. Lourenço. 2021. Chestnut tannins in broiler diets: performance, nutrient digestibility and meat quality. *Poultry Science*, 100(12): 101479.
9. Chouliara, I. and M.G. kontominas. 2006. Combined effect of thyme essentials oil and modification atmosphere packaging to extend shelf life of fresh chicken meat. *Studium Press, LLC, USA*. 423-441.
10. Davies, A.R. and R.J. Board. 1998. *Microbiology of Meat and Poultry*. Springer.
11. Drummond, L.S. and D.W. Sun. 2005. Feasibility of water immersion cooking of meat joints: Effect on product quality and yield. *Journal of Food Engineering*, 77(3): 289-294.
12. Ebrahim, R., J.B. Liang, M. Faseleh Jahromi, P. Shokryazdan, M. Ebrahimi, W.L. Chen and Y.M. Goh. 2015. Effects of tannic acid on performance and fatty acid composition of breast muscle in broiler chickens under heat stress. *Italian Journal of Animal Science*, 14: 572-577.
13. Ebrahimi, A., M. Khayami and V. Nejati. 2010. Evaluation of the antibacterial activity of *Quercus Persica* Jaub & Spach Fruit'S hydroalcoholic extract in disc diffusion method. *Journal of Medicinal Plants*, 9(33): 26-34 (In Persian).
14. Etemadi, H., M. Rezaei and A.M. Abedian Kenary. 2009. Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 5(4): 67-77 (In Persian).
15. Farahat, M.H., F.M. Abdallah, H.A. Ali and A. Hernandez-Santana. 2016. Effect of dietary supplementation of grape seed extract on the growth performance, lipid profile, antioxidant status and immune response of broiler chickens. *Animal*, 1-7.
16. Gorsuch, V. and C.Z. Alvarado. 2010. Postrigor tumble marination strategies for improving color and water holding capacity in normal and pale broiler breast fillets. *Poultry Science*, 89: 1002-1008.
17. Huang, Q., X. Liu, G. Zhao, T. Hu and Y. Wang. 2018. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. *Animal Nutrition*, 4: 137-150.
18. Jung, S., J.H. Choe, B. Kima, H. Yun, A. Zbigniew, Z.A. Kruk and J.O. Cheorun. 2010. Effect of dietary mixture of gallic acid and linoleic acid on antioxidative potential and quality of breast meat from broilers. *Meat Science*, 86: 520-526.
19. Khosravi, A.D. and A. Behzadi. 2006. Evaluation of the antibacterial activity of the seed hull of *Quercus brantii* on some gram negative bacteria. *Professional Medical Publications*, 22(4): 429-432.
20. Liu, H. S., S.U. Mahfuz, D. Wu, Q.H. Shang and X.S. Piao. 2020. Effect of chestnut wood extract on performance, meat quality, antioxidant status, immune function and cholesterol metabolism in broilers. *Poultry Science*, 99: 4488-4495.
21. Lo 'Pez-Andre, P.L., G. Luciano, V. Vasta, T. M. Gibson, L. Biondi, A. Priolo and I. Mueller-Harvey. 2013. Dietary quebracho tannins are not absorbed, but increase the antioxidant capacity of liver and plasma in sheep. *British Journal of Nutrition*, 110: 632-639.
22. Luciano, G., F.J. Monahan, V. Vasta, L. Biondi, M. Lanza and A. Priolo. 2009. Dietary tannins improve lamb meat colour stability. *Meat Science*, 81: 120-125.
23. Luciano, G., V. Vasta, F.J. Monahan, P. López-Andrés, L. Biondi, M. Lanza and A. Priolo. 2011. Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of longissimus dorsi muscle from lambs fed a tannin-containing diet. *Food Chemistry*, 124: 1036-1042.

24. Mahfuz, S., Q. Shang and X. Piao. 2021. Phenolic compounds as natural feed additives in poultry and swine diets: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12(48): 1-18.
25. Mayahi, S., K. Shojaeian, M. Chaji and Gh. Jalilvand. 2021. Chemical composition, quality characteristics and oxidative stability of lamb meat fed with different levels of *Portulaca oleracea*. *Iranian Journal of Animal Science*, 52(2): 79-90 (In Persian).
26. Mohammadi, F., M. Houshmand, R. Naghiha and Sh. Hossieinifar. 2021. Effects of using polyethylene glycol and sodium bicarbonate to improve the nutritional value of tannin containing diet in broilers. *Iranian Journal of Animal Science*, 52(3): 163-175 (In Persian).
27. Offer, G. and P. Knight. 1988. The structural basis of water-holding in meat. General principles and water uptake in meat processing. In: *Developments in meat science*, Elsevier Applied Science Publishing Co., Inc, New York. 163-171.
28. Perić, L., D. Žikić, M. D. Stojčić, V. Tomović, J. Leskovec, A. Levart, J. Salobir, Z. Kanački, and V. Rezar. 2022. Effect of chestnut tannins and vitamin E supplementation to linseed oil-enriched diets on growth performance, meat quality and intestinal morphology of broiler chickens. *Agriculture*, 12: 1772.
29. Rasouli, S.Z., S. Zerehdaran, M. Ahani Azari, B. Shabanpour and M. Shamse Shargh. 2013. Genetic analysis of meat quality traits in Japanese quail. *Journal of Animal Science Research*, 23(4): 1-13.
30. Sadeghian, I., M. Hassanshahian, S. Sadeghian and S. Jamali. 2012. Antimicrobial effects of *Quercus Brantii* fruits on bacterial pathogens. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 5(3): 465-469.
31. Safary, A., H. Motamedi, S. Maleki and S.M. Seyyednejad. 2009. A Preliminary study on the antibacterial activity of *Quercus brantii* against bacterial pathogens, particularly enteric pathogens. *International Journal of Botany*, 5: 176-180.
32. Saghghaei, A.R. and M.D. Shakouri. 2016. Effect of adding a microbial phytase and polyethylene glycol to sorghum based diet on growth performance and meat oxidative stability of broiler chickens. *Animal Production Research*, 5: 53-62 (In Persian).
33. SAS. 2005 . User's Guide. Version 9. SAS Institute, Cary, NC.
34. Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins- Review. *Phytochemistry*, 30(12): 3875-3883.
35. Starčević, K., L. Krstulović, D. Brozić, M. Maurić, Z. Stojević, Ž. Mikulec, M. Bajić and T. Mašek. 2015. Production performance, meat composition and oxidative susceptibility in broiler chicken fed with different phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(6): 1172-1178.
36. Tavassoli, S., S. Mousavi, Z. Emam-Djomeh and S. Razavi. 2011. Comparative study of the antimicrobial activity of *Rosmarinus oicinalis* L. essential oil and methanolic extract. *Middle -East Journal of Scientific Research*, 9(4): 467-471.
37. Wen, A., P. Delaquis, K. Stanich and P. Toivonen. 2003. Antilisterial activity of selected phenolic acids. *Food Microbiology*, 56: 305-311.



The Consequence of Using Iranian Oak Acorn in Broilers Diet: Evaluation of Some Meat Characteristics

Hajar Gharib Ardekani¹, Mohammad Houshmand², Reza Naghiha³ and Siamak Parsaei⁴

1- Master Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University

2- Associated Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University (Correspond author: Hooshmand@yu.ac.ir)

3- Associated Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University

4- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University

Received: 18 October, 2022 Accepted: 13 December, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: In recent years, application of natural and safe feed additives such as herbs and herbal products has been increased, due to their beneficial consequences on health and thereby animal production. One of the natural important compounds present in plants, is phenolic compounds which has been received high interest and many investigations have been conducted about their different effects on broilers. This study was conducted to investigate the effect of dietary inclusion of Iranian oak acorn (*Quercus brantii* L.) (OA), as a phenolic compounds-rich feedstuff, on some breast meat traits of broilers at different refrigerated (4 °C) storage times.

Material and Methods: A total of 160 one-day-old mix of male and female broiler chicks were distributed between 2 experimental treatments (with 4 replicates of 20 birds) in a completely randomized design and fed a control diet (without OA) or a diet containing 20% OA. During the rearing period, birds were fed with starter (d 1-10), grower (d 11-24) and finisher (d 25-42) diets, respectively. At the end of the rearing period, two birds were slaughtered from each replicate and samples were taken from breast muscle and kept in refrigerator. Different parameters (population of *Lactobacillus*, *Psychrotroph* bacteria, *Enterobacteriaceae*, total aerobic bacteria, lipid oxidation, water holding capacity, cooking loss) were measured at 2, 4, 6, 8, 10 and 12 d of storage.

Results: The results showed that using OA decreased population of *Lactobacillus* at 6 and population of total aerobic bacteria at 6 and 8 d of storage ($p < 0.05$). At 2 d of storage, the rate of lipid oxidation in breast meat of OA-received group was higher than the control group ($p < 0.05$) but in other days no significant difference was observed between two treatments. Feeding birds with OA had no significant effect on water holding capacity of breast meat at different storage days. In birds fed with OA, breast meat cooking loss was lower than the control group at 4 d of storage, but it was higher than the control group at 10 d of storage ($p < 0.05$).

Conclusions: In conclusion, under the conditions of this study, feeding broilers with OA had no significant and constant effect on the most of investigated parameters.

Keyword: Bacterial population, Breast meat, Broiler, Oxidative stability, *Quercus brantii* L



"مقاله پژوهشی"

بررسی اثر مصرف اسانس ریز پوشانی شده در شرایط تراکم گله بر عملکرد، ریخت‌شناسی روده باریک و اسیدیته دستگاه گوارش جوجه گوشتی

زهرا تهامی^۱ و احسان اسکویان^۲

۱- دکتری تغذیه دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران، (نویسنده مسول: tahami6690@yahoo.com)

۲- استادیار بیوتکنولوژی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شرق و شمال شرق، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۷/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۲۷

صفحه: ۳۷ تا ۴۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: امروزه صنعت پرورش طیور به افزایش تولید در واحد سطح گرایش دارد، در عین حال افزایش تراکم گله با محدودیت‌ها و موانع مدیریتی و بهداشتی رو برو می‌باشد. مصرف گیاهان داروئی می‌تواند به عنوان راهکار تغذیه‌ای موثری برای گذار از چالش تراکم بالا باشد. بنابراین آزمایشی به منظور بررسی اثرات اسانس به شکل ریز پوشانی شده در جیره بر عملکرد، ریخت‌شناسی روده و اسیدیته دستگاه گوارش جوجه گوشتی طراحی و انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از ۲۵۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ (مخلوط) در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۲، شامل ۴ تیمار و ۵ تکرار و در هر تکرار تراکم توصیه شده ۱۰ جوجه و تراکم بالا ۱۵ قطعه جوجه در هر متر مربع با میانگین وزنی یکسان استفاده شد. در این آزمایش از اسانس پوشش‌دار شده گیاهان داروئی که دارای ترکیبات موثره گیاهان آویشن، مرزه، نعناقلی و فلفل سیاه تولید شده در پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شرق و شمال شرق کشور استفاده شد. تیمارهای مورد آزمایش عبارت بودند از: تیمار اول: تراکم توصیه شده + بدون اسانس پوشش‌دار شده (شاهد)، تیمار دوم: تراکم بالا+ بدون اسانس پوشش‌دار شده، تیمار سوم: تراکم توصیه شده + ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس پوشش‌دار شده، تیمار چهارم: تراکم بالا + ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس پوشش‌دار شده. تعداد تلفات، وزن تلفات و وزن جوجه‌های حذفی به صورت جداگانه ثبت شد. میزان خوراک مصرفی و افزایش وزن به صورت هفتگی مورد اندازه‌گیری و ضریب تبدیل غذایی محاسبه شد. در پایان دوره ۲ قطعه پرنده از هر تکرار به صورت تصادفی انتخاب و پس از خون‌گیری ذبح شدند. برای مطالعه ساختار پرزهای روده باریک، نمونه‌هایی از دئودنوم، ژژنوم و ایلتوم تهیه شد. برای اندازه‌گیری ارتفاع و عرض پرز از میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۴۰ برابر و برای عمق کریپت از درشت‌نمایی ۱۰۰ برابر استفاده شد. اسیدیته روده کور، به وسیله pH متر اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد افزودن اسانس پوشش‌دار شده منجر به کاهش درصد تلفات، افزایش وزن در تراکم بالا در مقایسه با عدم مصرف شد. مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط تراکم بالا منجر به کاهش ضریب تبدیل خوراکی شد. مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط تراکم توصیه شده و تراکم بالا منجر به افزایش معنی‌دار اسیدیته دستگاه گوارش در مقایسه با تیمارهای بدون اسانس پوشش‌دار شده ($p < 0.05$)، مصرف اسانس پوشش‌دار شده در تراکم معمولی و بالا منجر به افزایش طول پرز روده شد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: می‌توان نتیجه گرفت مصرف مخلوط اسانس پوشش‌دار شده منجر به کاهش تلفات و کاهش مصرف خوراک، افزایش وزن، بهبود ضریب تبدیل خوراکی، افزایش طول و عرض پرز روده و اسیدیته دستگاه گوارش می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس پوشش‌دار شده، جوجه گوشتی، ریخت‌شناسی روده و میکروکپسوله کردن

مقدمه

امروزه صنعت پرورش طیور به افزایش تولید در واحد سطح گرایش دارد و تراکم بهینه‌ی پرورش در گله یکی از چالش‌های تولیدکنندگان است. با افزایش تراکم برخی از هزینه‌ها، نظیر هزینه‌های تاسیساتی و تجهیزاتی به ازاء هر جوجه کاهش یافته و باعث افزایش سوددهی گله می‌شود (۱۸). افزایش تراکم گله یکی از ابزارهای کارآمد مدیریتی جهت افزایش تولید و بهره‌وری در پرورش طیور است (۵). هدف نهایی در پرورش جوجه گوشتی حداکثر شدن تولید یا میزان وزن تولیدی جوجه‌ها بر حسب کیلوگرم در هر متر مربع از مساحت سالن است، طوری‌که با حداکثر شدن تولید از افت گله نیز جلوگیری شود (۱۱). در عین حال افزایش تراکم گله با محدودیت‌ها و موانع مدیریتی و بهداشتی رو برو می‌باشد؛ نشان داده شده است یکی از معایب پرورش با تراکم بالا کاهش وزن بدن جوجه‌ها در پی افزایش میزان تراکم گله است (۱۳). در اغلب موارد کاهش مصرف خوراک در پاسخ به افزایش تراکم گله گزارش می‌شود که نتیجه محدودیت خوراک است؛ تنش گرمایی ناشی از افزایش دما در داخل بستر و در بین پرندگان با تراکم بالاتر همراه با افزایش سطح آمونیاک نیز یک فاکتور موثر در کاهش مصرف خوراک است (۱۲).

مصرف گیاهان داروئی می‌تواند به‌عنوان راهکار تغذیه‌ای موثری برای گذار از چالش تراکم بالا باشد. گیاهان داروئی از هزاران سال پیش نقش مهمی در حفظ سلامتی انسان‌ها داشته‌اند و شامل اسانس‌های گیاهی و ترکیب‌های فعال آنها بوده که توسط مصرف‌کننده، به‌عنوان ترکیب‌های طبیعی و بی‌خطر شناخته می‌شوند (۱۰). گیاهان داروئی سبب افزایش ترشح بزاق و اسیدهای صفراوری شده (۴۷)، فعالیت آنزیم‌های پانکراس نظیر لیپاز، آمیلاز و پروتئاز را افزایش داده (۲۵)، با کنترل عفونت‌های روده‌ای سبب بهبود سیستم ایمنی شده (۲۰) و با تغییر جمعیت میکروبی، سبب بهبود فراسنج‌های ریخت‌شناسی مانند طول پرزها و عمق کریپت‌ها در ژژنوم و کلون می‌شود (۹،۲۱). تاثیر مثبت مصرف گیاهان داروئی، آویشن، مرزه (۲۴)، نعناقلی (۳۶) و فلفل (۲۳) بر عملکرد پرندگان گزارش شده است. نتایج بررسی‌ها نشان داده است مصرف مخلوط چند گیاه داروئی در مقایسه با مصرف تنها همان گیاهان داروئی به شکل موثرتری عملکرد پرنده را تغییر می‌دهد (۳۳). چرا که ترکیبات موثره این گیاهان با هم متفاوت بوده و با اثرگذاری جداگانه هر یک بر بخشی از دستگاه گوارش منجر به بهبود عملکرد پرنده خواهند شد. اسانس‌ها در طول زمان در حضور اکسیژن و رطوبت تغییر رنگ، عطر و طعم داده و اکسید شده و یا هیدرولیز می‌شوند.

اسانس‌ها در اثر اکسیدشدن و یا هیدرولیز شدن خواص زیستی (Biological activity) خود را از دست می‌دهند. نتایج بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که ترکیبات موثره نظیر تایمول، کارواکرول موجود در اسانس‌ها پس از تغذیه تقریباً به طور کامل در معده و قسمت‌های ابتدایی روده (دئودنوم) جذب بدن می‌شود (۳۴)؛ در نتیجه ترکیبات موثره به قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش (ژژنوم و ایلئوم) که اکثر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا وجود دارند، نخواهد رسید (۳۱). علاوه بر آن، آزادسازی اسانس‌ها در ایلئوم، سکوم و کولون حداکثر اثرگذاری را بر فعالیت میکروارگانیسم‌های مضر که در انتهای دستگاه گوارش وجود دارند خواهد داشت. کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌های مضر باعث کاهش تولید آمین‌های بیوژنیک شده و کاهش آمین‌های بیوژنیک، راندمان جذب اسیدهای آمینه محدودکننده نظیر لیزین و تریپتوفان را افزایش می‌دهد (۲۹).

امروزه ریز پوشانی کردن یکی از روش‌های موثر در افزایش ماندگاری، پایداری و حفظ کیفیت اسانس‌ها به شمار می‌رود (۱). پوشش‌دار کردن یک روش فناوری جدیدی برای بسته‌بندی مواد جامد، مایع یا گازی در کیپسول‌های بسیار کوچک شناور در آب است که محتویات آنها می‌توانند به روش‌های خاص تحت شرایطی کنترل شود (۱۶). پوشش‌دار کردن شامل مشارکت اجزا مواد خوراکی، آنزیم‌ها، سلول‌ها یا دیگر موارد در پوششی کوچک است. در این تکنیک، مواد مورد نظر، درون پوششی از جنس پلیمر، مواد آلی و معدنی احاطه می‌شوند. کاربرد این روش به خاطر اینکه مواد در پوشش قرار داده شده از رطوبت، گرما یا دیگر شرایط حفاظت می‌شوند، افزایش یافته است. از جمله مزایای این روش رهش آهسته و پیوسته نفوذ دارو و کنترل تنظیم شده مکان رهش دارو در بدن می‌باشند؛ در این روش اسانس به ذرات کوچک تبدیل شده که در مرکز هسته قرار گرفته و سپس ترکیبات دیگری به عنوان پوشش‌دهنده (coating material) ذرات اسانس را احاطه می‌کنند. همچنین این روش می‌تواند از ترکیبات اسانس در برابر اثرات متقابل با دیگر اجزای موجود در خوراک نیز محافظت کند. علاوه بر این، ریزپوشانی باعث بهبود خاصیت درمانی و سهولت دسترسی می‌شود؛ زیرا این مواد به لحاظ اندازه کوچکشان باعث افزایش مکانسیم جذب سلولی و افزایش کارایی آنها می‌شوند. لذا هدف از این آزمایش، بررسی اثر مصرف مخلوط اسانس‌های پوشش‌دار شده گیاهان آویشن، مرزه، نعناقللی و فلفل سیاه در شرایط تنش تراکم بر عملکرد، جمعیت میکروبی و اسیدیته دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۲۵۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ (مخلوط) در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۲، شامل ۴ تیمار، ۵ تکرار و در هر تکرار تراکم توصیه شده ۱۰ جوجه و تراکم بالا ۱۵ قطعه جوجه در هر متر مربع با میانگین وزنی یکسان استفاده شد. جیره‌ها بر پایه ذرت-کنجاله سویا و مطابق با احتیاجات راهنمای تغذیه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ و به وسیله نرم‌افزار جیره‌نویسی

UFFDA تنظیم شدند. در این پژوهش ۲۰ واحد آزمایشی به ابعاد ۱ متر در ۱ متر ایجاد شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو گروه تراکمی ۱۰ و ۱۵ قطعه جوجه در هر مترمربع بود. در این آزمایش اسانس پوشش‌دار شده حاوی اسانس گیاهان دارویی که دارای ترکیبات موثره گیاهان آویشن (*Thymus vulgaris*)، مرزه (*Satureja hortensis*)، نعناقللی (*Mentha piperita L.*) و فلفل سیاه (*Piper nigrum*) می‌باشد، این اسانس با نشاسته اصلاح شده (MS)، کنسانتره پروتئین آب پنیر (WPC) و مالتودکسترین کیسوله و در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شرق و شمال شرق کشور تولید شد. در این پژوهش برگ‌های خشک گیاهان برای استخراج اسانس با روش تقطیر استفاده شد. مرحله استخراج اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر برای مدت ۳ تا ۴ ساعت انجام شد. پس از جداسازی برای جذب آب و رطوبت باقیمانده، بروی اسانس سولفات سدیم بدون آب اضافه شد. اسانس‌های بدست آمده از آویشن، مرزه، نعناقللی و فلفل سیاه به ترتیب با نسبت ۵:۱۲:۵:۵:۵۰ مخلوط شدند. برای محصور کردن از مالتودکسترین استفاده شد. سپس امولسیون نهایی به روش خشک کردن پاششی و با استفاده از دستگاه اسپری به پودر میکروکیپسول تبدیل شد (۳۵).

تیمارهای مورد آزمایش عبارت بودند از: تیمار اول: تراکم توصیه شده (۱۰ عدد جوجه در هر متر مربع) + بدون اسانس پوشش‌دار شده گیاهی (شاهد)، تیمار دوم: تراکم بالا (۱۵ عدد جوجه در هر متر مربع) + بدون اسانس پوشش‌دار شده گیاهی، تیمار سوم: تراکم +۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس پوشش‌دار شده گیاهی، تیمار چهارم: تراکم بالا +۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس پوشش‌دار شده گیاهی.

شرایط محیطی برای تمام پرندگان یکنواخت بود. در تمام مراحل انجام آزمایش دسترسی به آب و خوراک برای پرندگان آزاد بود. در پایان هر هفته، پس از یک دوره گرسنگی دو ساعته وزن جوجه‌های موجود در هر تیمار آزمایشی اندازه‌گیری شد. تعداد تلفات، وزن تلفات و وزن جوجه‌های حذفی در کل دوره برای هر واحد آزمایشی به صورت جداگانه ثبت شد. درصد تلفات نیز پایان دوره به طور جداگانه محاسبه گردید. میزان خوراک مصرفی، افزایش وزن به صورت هفتگی مورد اندازه‌گیری قرار گرفته و با استفاده از نتایج آنها ضریب تبدیل غذایی محاسبه شد. در پایان دوره آزمایشی ۲ قطعه پرنده از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و پس از خون‌گیری ذبح گردید. برای مطالعه ساختار پرزهای بافت روده باریک، نمونه‌هایی از دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم تهیه و در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد. برای تهیه اسلایدهای بافتی با ضخامت کم از روش واکس پارافین استفاده شد. برای برش‌گیری از قالب پارافینی از دستگاه میکروتوم استفاده شد.

اسلایدها پس از پارافین‌زدایی و آنگیری به مدت ۱۵ دقیقه در محلول حاوی ۵ گرم در لیتر پرپودیک اسید-شیف نگهداری شدند و پس از شستشو با آب به مدت ۳۰ دقیقه در محلول شیف قرار گرفتند (۳۲) و از اتوزین برای رنگ‌آمیزی سیتوپلاسم استفاده شد برای اندازه‌گیری ارتفاع و عرض پرز از میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۴۰ برابر و برای عمق کریپت از

درشت‌نمایی ۱۰۰ برابر استفاده شد. نمونه توسط میکروسکوپ نوری مدل Leica و با استفاده از برنامه نرم‌افزاری Leica queen 550 بررسی شد و میانگین طول و عرض پرزها با قرائت ۱۰ پرز در هر نمونه محاسبه شد. در این مطالعه طول و عرض پرزها و عمق کریپت در واحد سطح با گراتیکول ۲۵ خانه اندازه‌گیری شد. برای هر یک از فاکتورهای مورد بررسی از هر نمونه ۴ لام و از هر لام ۵ شان به طور تصادفی انتخاب شد. در هر نمونه ابعاد ۸۰ عدد عمق کریپت اعم از طول و عرض کریپت‌ها با استفاده از یک میکروسکوپ دارای گراتیکول مدرج تعیین شد. شاخص‌های بافت‌شناسی مورد بررسی شامل طول پرز (نوک پرز تا محل اتصال کریپت)، عرض پرز (متوسط عرض پرز در ابتدا، وسط و انتهای پرز)، عمق کریپت (پایه پرز تا لایه زیر مخاط) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه اسیدپتته روده کور، یک گرم از محتویات روده کور برداشته و در ۹ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه ریخته شد، سپس به وسیله pH متر اندازه‌گیری شد.

داده‌های حاصل در جداول ثبت رکورد وارد گردید و پس از کنترل و انجام ویرایش لازم بر روی آنها به منظور انجام جدول ۱- اجزا و ترکیب مواد مغذی جیره آزمایشی پایه

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} : مقدار عددی هر یک از مشاهدات در آزمایش

μ : میانگین کل

A_i : اثر i امین سطح عامل A ($i=1,2$)

(دو سطح شامل اسانس بدون پوشش و پوشش دار شده گیاهی)

B_j : اثر j امین سطح عامل B ($j=1,2$)

(دو سطح شامل تراکم توصیه شده و تراکم بالا)

اثر متقابل i امین سطح عامل A j امین سطح عامل B

$(AB)_{ij}$

e_{ijk} : خطای آزمایش

Table 1. Components and nutrient composition of the basic experimental diet

| ۲۱-۲۲ روزگی 21-42 days | ۲۱-۲۷ روزگی 7-21 days | اجزاء جیره (درصد) Ingredients (%) |
|-------------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| 52.69 | 50.21 | ذرت (Corn) |
| 28.90 | 33.68 | کنجاله سویا (۴۴ درصد) (Soybean meal) |
| 8.00 | 5.00 | دانه گندم (wheat seed) |
| 4.03 | 3.47 | روغن سویا (Soybean oil) |
| 3.00 | 3.00 | پودر ماهی (Fesh meal) |
| 1.37 | 1.59 | دی‌کلسیم فسفات (DiCalcium phosphate) |
| 1.02 | 1.11 | کربنات کلسیم (Calcium carbonate) |
| 0.50 | 1.50 | مکمل معدنی-ویتامینی (Vitamin-Mineral premix) |
| 0.28 | 0.22 | دی‌ال‌متیونین (DL- methionine) |
| 0.20 | 0.20 | نمک طعام (Salt) |
| 0.01 | 0.02 | ال- لیزین (L-lysine) |
| ترکیبات شیمیایی (محاسبه شده) Nutrient Composition (calculated) | | |
| 3100 | 3000 | انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg) |
| 20.00 | 22.00 | پروتئین خام (درصد) (Crude protein (%)) |
| 0.90 | 1.00 | کلسیم (درصد) (Calcium (%)) |
| 0.45 | 0.50 | فسفر کل (درصد) (Total phosphorus) |
| 0.70 | 0.83 | ترئونین (درصد) (Threonine) |
| 0.28 | 0.31 | تریپتوفان (درصد) (Tryptophan) |
| 0.95 | 0.95 | متیونین-سیستین (درصد) (Cysteine-Methionine) |
| 0.34 | 0.37 | متیونین (درصد) (Methionine (%)) |
| 1.10 | 1.25 | لیزین (درصد) (Lysine (%)) |

هر کیلوگرم از مکمل معدنی حاوی: ۵۵ میلی‌گرم آهن، ۸۸ میلی‌گرم منگنز، ۸۸ میلی‌گرم روی، ۵/۵ میلی‌گرم مس، ۱/۷ گرم ید. هر کیلوگرم از مکمل ویتامینی حاوی: ۸۸۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۳۳۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D₃، ۱۶۵۰۰ واحد بین المللی ویتامین E، ۲/۲ میلی‌گرم ویتامین K_۳، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین B_۱، ۵/۵ میلی‌گرم ویتامین B_۲، ۲۸ میلی‌گرم ویتامین B_۳، ۶/۶ میلی‌گرم ویتامین B_۵، ۲/۳ میلی‌گرم ویتامین B_۶، ۰/۶ میلی‌گرم ویتامین B_۹، ۲۲/۱ میلی‌گرم ویتامین B_{۱۲}، ۵۵ میلی‌گرم B_۷، ۱۱۰ گرم کلین کلراید

Each kilogram of mineral supplement contains: 55 mg of iron, 88 mg of manganese, 88 mg of zinc, 5.5 mg of copper, 1.7 g of iodine. Each kilogram of vitamin supplement contains: 8,800,000 AU vitamin A, 3,300,000 AU vitamin D₃, 16,500 AU vitamin E, 2.2 mg of vitamin K₃, 2.5 mg of vitamin B₁, 5.5 mg of vitamin B₂, 28 mg of vitamin B₃, 6.6 mg of vitamin B₅, 3.3 mg of vitamin B₆, 0.6 mg of vitamin B₉, 22.1 mg of vitamin B₁₂, 55 mg of B₇, 110 grams of choline chloride

نتایج و بحث

عملکرد: جدول ۲ اثرات اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده گیاهان داروئی در شرایط پرورش تراکم بالا و

توصیه شده بر فرانسجه‌های عملکردی در جوجه گوشتی را نشان می‌دهد.

وزن نهایی: نتایج اثرات متقابل نشان می‌دهد مصرف

مقایسه با پرورش در شرایط تراکم بالا و توصیه شده بدون مصرف اسانس پوشش‌دار شده شد ($p < 0.05$)؛ همچنین ضریب تبدیل خوراکی بین تیمارهایی که اسانس پوشش‌دار شده دریافت نکرده بودند به شکل معنی‌داری متفاوت بود به طوری که تیمار تراکم معمولی ضریب تبدیل مناسب‌تری نشان داد ($p < 0.05$). از سویی نتایج نشان می‌دهد ضریب تبدیل خوراکی بین تیمارهای دریافت‌کننده اسانس پوشش‌دار شده در شرایط تراکم بالا و تراکم توصیه شده تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند.

تلفات: بررسی اثر متقابل نشان داد مصرف اسانس پوشش‌دار شده به شکل معنی‌داری منجر به کاهش درصد تلفات در تراکم بالا در مقایسه با عدم مصرف اسانس پوشش‌دار شده در تراکم بالا در پرورش جوجه گوشتی شد ($p < 0.05$). با این حال در زمان پرورش در تراکم بالا مصرف یا عدم مصرف اسانس پوشش‌دار شده تفاوت معنی‌داری بر درصد تلفات مشاهده نشد. مشابه همین نتیجه برای تراکم توصیه شده نیز مشاهده می‌شود.

اسانس پوشش‌دار شده در شرایط با تراکم بالا و تراکم توصیه شده منجر به افزایش معنی‌داری در مقایسه با عدم مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط تراکم بالا شد ($p < 0.05$)؛ با این حال افزایش وزن تیمارهای دریافت‌کننده اسانس پوشش‌دار شده در شرایط پرورش با تراکم بالا و تراکم توصیه شده تفاوت معنی‌داری با هم نداشت.

مصرف خوراک: نتایج نشان داد تیمارهای بدون اسانس و تراکم بالا و با اسانس و تراکم توصیه شده در مقایسه با تیمارهای بدون اسانس و تراکم توصیه شده و با اسانس و تراکم بالا مصرف خوراک بالاتری داشتند ($p < 0.05$)؛ با این حال مصرف خوراک بین تیمارهای بدون اسانس در تراکم توصیه شده و با اسانس در تراکم بالا تفاوت معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$)؛ همچنین تیمار بدون اسانس در تراکم توصیه شده و تیمار اسانس دار در تراکم بالا تفاوت معنی‌داری در مصرف خوراک نداشت ($p > 0.05$).

ضریب تبدیل خوراک: نتایج نشان داد مصرف اسانس پوشش‌دار شده چه در شرایط تراکم بالا و چه تراکم توصیه شده منجر به کاهش معنی‌داری ضریب تبدیل خوراکی در

جدول ۲- تاثیر مصرف اسانس پوشش‌دار شده حاوی مخلوط اسانس گیاهان دارویی در شرایط تراکم توصیه شده و تراکم بالا بر عملکرد جوجه گوشتی

Table 2. The effect of using microcapsules containing a mixture of essential medicinal plants in normal conditions and high density on the performance of broiler chickens.

| درصد تلفات The percentage of casualties | ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio | مصرف خوراک (گرم) (feed intake (grams | وزن نهایی (گرم) (Final weight (grams | اثرات اصلی Main effects |
|--------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6.5 | 1.88 | 4784.2 | 2544.8 | نوع محصول مصرفی Type of consumer product |
| 8.6 | 1.72 | 4796.1 | 2788.4 | بدون اسانس پوشش‌دار شده Without coated essential oil |
| 3.32 | 0.053 | 1464.18 | 54.92 | با اسانس پوشش‌دار شده Covered with essential oil |
| 0.430 | 0.050 | 0.321 | 0.005 | خطای استاندارد standard error |
| | | | | سطح احتمال P Value |
| 2.7 | 1.79 | 4919.5 | 2748.2 | شرایط تراکم گله Herd density conditions |
| 12.0 | 1.97 | 5092.2 | 2584.9 | تراکم توصیه شده Recommended density |
| 2.32 | 0.033 | 1345.16 | 45.66 | تراکم بالا High density |
| 0.01 | 0.09 | 0.200 | 0.004 | خطای استاندارد standard error |
| | | | | سطح احتمال P Value |
| 5.3 ^b | 1.82 ^b | 4675.9 ^b | 2569.2 ^b | نوع محصول مصرفی × شرایط تراکم گله Type of consumed product × conditions of herd density |
| 12 ^a | 2.03 ^a | 4913.6 ^a | 2420.5 ^b | بدون اسانس پوشش‌دار شده × تراکم توصیه شده Without coated essential oils × recommended density |
| 1 ^b | 1.74 ^c | 4919.0 ^a | 2827.5 ^a | بدون اسانس پوشش‌دار شده × تراکم بالا Without coated essential oils × high density |
| 12 ^a | 1.71 ^c | 4701.4 ^b | 2749.4 ^a | با اسانس پوشش‌دار شده × تراکم توصیه شده Covered with essential oil × recommended density |
| 12.2 | 0.045 | 1534.16 | 34.65 | با اسانس پوشش‌دار شده × تراکم بالا Covered with high density essential oil |
| 0.03 | 0.04 | 0.03 | 0.04 | خطای استاندارد standard error |
| | | | | سطح احتمال P Value |

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ($p < 0.05$).

The means of each column with different letters have a significant difference ($p < 0.05$).

عاملی باشد که به شکل موثری سبب بروز بهبود عملکرد در تیمارهای دریافت کننده میکروکپسول حاوی اسانس گیاهان داروئی بود. محققین معتقدند با افزایش تراکم گله، دمای محیطی اطراف پرنده افزایش یافته و قرارگرفتن پرنده در محیط‌های با دمای زیاد باعث کاهش مصرف خوراک و در نتیجه کاهش حرارت متابولیکی می‌شود (۴۳). از طرف دیگر، در سنین بالا با افزایش تراکم، میزان دسترسی پرنده به خوراک کمتر شده و پرنده‌ها خوراک کمتری مصرف می‌کنند (۴). (۶) شکل مصرف گیاهان داروئی: یکی از دلایلی که منجر تفاوت در نتایج بررسی مصرف گیاهان داروئی بر عملکرد پرندگان می‌باشد شکل مصرف گیاهان داروئی است. گیاهان داروئی به اشکال مختلفی از جمله گیاه کامل، پودر، عصاره و اسانس مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته اند. محققین به دنبال رهاکارهایی به منظور تاثیرگذاری بیشتر و موثرتر مصرف اسانس‌های گیاهان داروئی بر عملکرد پرندگان روش‌های مختلفی را بررسی کردند. یکی از این راهکارها میکروکپسوله کردن یا پوشش‌دار کردن اسانس‌های گیاهی با ترکیبات مختلف می‌باشد. بهبود عملکرد مشاهده شده در شرایط مصرف اسانس کپسوله شده در مقابل مصرف اسانس غیرکپسوله این است که کپسوله کردن موجب می‌شود که آزادسازی ترکیبات موجود در آن تا مکان و زمان مناسب در دستگاه گوارش به تاخیر بیفتد و پس از شروع آزاد سازی به صورت یکنواخت و آهسته در محیط پخش شوند (۴۲).

نتایج آزمایشات نشان داد، کارواکرول ریز پوشانی شده با آلزینات آب پنیر در جوجه های گوشتی به طور موثری مانع از کاهش غلظت کارواکرول در قسمت‌های بالای دستگاه گوارش و افزایش غلظت آن در نتیجه رهاسازی به قسمت‌های پایین تر دستگاه گوارش شود (۴۳). پوشش‌دار کردن اسانس‌های گیاهی با سیکلو دکسترین نشان داد که استفاده از این ماده به عنوان پوشش، باعث کنترل آزادسازی اسانس‌ها، در زمان و مکان خاص با تغییرات اسیدیته و رطوبت محیط وجود دارد (۲۲). لذا پوشش‌دار کردن مخلوط اسانس گیاهان داروئی می‌تواند عامل مهمی در بهبود فراسنجه‌های عملکردی باشد. به طور کلی مجموع عوامل ذکر شده می‌توانند دلایل بهبود فراسنجه‌های عملکردی گزارش شده در این بررسی باشند.

ریخت‌شناسی روده باریک: جدول ۳ اثرات اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده حاوی اسانس گیاهان داروئی در شرایط پرورش تراکم بالا و توصیه شده بر فراسنجه‌های ریخت‌شناسی روده باریک جوجه گوشتی نشان می‌دهد. نتایج بررسی اثرات اصلی نشان داد مصرف اسانس پوشش‌دار شده منجر به افزایش معنی‌دار مساحت پرز در مقایسه با جوجه‌هایی که اسانس پوشش‌دار شده دریافت نکرده بودند شد ($p < 0.05$)؛ با این حال عمق کریپت، نسبت طول پرز به عمق کریپت و سلول‌های گابلت بین پرندگان دریافت کننده اسانس پوشش‌دار شده گیاهان داروئی با پرندگانی که اسانس پوشش‌دار شده دریافت نکرده بودند تفاوت معنی‌داری نداشت. در مورد اثرات متقابل نتایج نشان داد مصرف اسانس پوشش‌دار شده در تراکم توصیه شده و بالا به شکل

گزارشات منتشر شده در مورد تأثیر مصرف ترکیبات حاوی اسانس گیاهان داروئی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی متفاوت است؛ گزارش شده مصرف گیاهان داروئی در سطح ۱ درصد به طور معنی‌داری مصرف خوراک را کاهش و ضریب تبدیل خوراکی را بهبود بخشید (۷). همچنین استفاده از عصاره نعناع فلفلی در جیره باعث افزایش وزن بدن پرنده شد (۲۷). از طرف دیگر اختلاف معنی‌داری در افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراکی در جوجه‌های گوشتی به دنبال مصرف اسانس‌های گیاهی مشاهده نشد (۲۶،۳۷). مصرف اسانس پوشش‌دار شده آویشن و دارچین نیز تاثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراکی جوجه گوشتی نداشت (۳۹). گزارش کردند پوشش‌دار کردن اسانس گیاه داروئی مرزه تاثیر بر مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی نداشت؛ با این حال به شکل معنی‌داری منجر به افزایش وزن روزانه شد، اما ضریب تبدیل خوراکی تحت تاثیر میکروکپسوله کردن اسانس قرار نگرفت (۳).

دلایلی که منجر به بهبود فراسنجه‌های عملکردی به دنبال مصرف ترکیبات حاوی اسانس گیاهان داروئی می‌شود که در نتایج این بررسی نیز مشهود می‌باشد، عبارتند از: (۱) تاثیر بر سیستم عصبی مرکزی و تحریک اشتها (۱۵): کارواکرول با تاثیر بر سیستم عصبی مرکزی بر روی مرکز اشتها تاثیر گذاشته و با تبدیل اشتها سبب کاهش مصرف خوراک می‌شود (۶). (۲) تاثیر بر ترشحات آنزیمی دستگاه گوارش: ترکیبات فرار این گیاهان می‌تواند باعث تحریک ترشحات آنزیم‌های گوارشی جهت هضم بهتر مواد مغذی در دستگاه گوارشی شود (۳۳). مواد مؤثره موجود در گیاهان داروئی اثر تحریکی بر افزایش ترشحات شیرابه‌های گوارشی از اندام‌هایی نظیر لوزالمعده و کبد داشته و ترشح کافی این شیرابه‌ها موجب هضم، جذب و سوخت و ساز بهتر مواد مغذی شده که نتیجه آن بهبود بهره‌وری در خصوص عملکرد و کیفیت لاشه می‌باشد (۶). در تحقیقی مشخص شد که ترپن‌ها و ترکیبات فنولی همانند تیمول در جوجه‌های گوشتی، ترشحات آنزیمی پانکراس نظیر آمیلاز، لیپاز، تریپسین و کیموتریپسین را افزایش می‌دهد (۴۲). (۳) تاثیر بر مورفولوژی دستگاه گوارش: افزایش سطح جذب در دستگاه گوارش سبب افزایش هضم و جذب می‌شوند که منجر به افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل خوراکی خواهد شد، تغییر در اندازه و تعداد خمل‌ها و سلول‌های انگشتی روده و در نتیجه افزایش بازده جذب مواد مغذی به دنبال مصرف گیاهان داروئی گزارش شده (۹،۸).

(۴) تاثیر بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش: مصرف اسانس کپسوله شده آویشن سبب کاهش جمعیت اشریشیاکلاهی در دستگاه گوارش بلدرچین شد (۲۸). بررسی‌ها نشان داد مصرف اسانس کپسوله شده مرزه (۳) و اسانس کپسوله شده آویشن و دارچین (۳۹) در مقایسه با مصرف اسانس غیر کپسوله، جمعیت اشریشیاکلاهی و کلی‌فرم‌های ایلئوم جوجه گوشتی را کاهش داد. (۵) عوامل محیطی و مدیریتی: مشخص شده است گیاهان داروئی و ترکیبات آنها زمانی بر عملکرد اثرگذاری خواهند داشت که پرنده در شرایط نامساعد پرورشی و تنش قرار گرفته باشد لذا تنش تراکم در این تحقیق می‌تواند

سلول‌های گابلت تفاوت معنی‌داری با هم نداشت (۳۵). سایر مطالعات نشان داد مصرف اسانس پوشش‌دار شده تأثیر معنی‌داری بر طول پرز، عمق کریپت و نسبت طول به عمق کریپت در هیچ یک از قسمت‌های دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم در جوجه گوشتی نداشت (۱۷). استفاده از اسانس پوشش‌دار شده به شکل معنی‌داری منجر به کاهش عمق کریپت شد با این حال سایر فراسنجه‌های مرتبط به ریخت‌شناسی روده باریک تحت تأثیر کپسوله کردن قرار نگرفتند (۳).

نتایج نشان داد مصرف اسانس گیاه مورد (*Myrtus communis* L.) به شکل معنی‌داری منجر به افزایش طول پرز در ایلئوم و ژژنوم شد در حالی که تأثیر معنی‌داری بر عرض پرز، عمق کریپت، نسبت طول پرز به عمق کریپت و سلول‌های گابلت مشاهده نشد و با وارد کردن گیاهان دارویی در جیره، جمعیت کل باکتری‌های مضر در دیواره روده کاهش یافت و متعاقب آن سبب کاهش تولید ترکیبات سمی و آسیب به سلول‌های بافت پوششی روده‌ای گردید به طوری که پرز بلندتر شد و کریپت عمیق‌تر گردید. این واکنش می‌تواند سبب تغییر در ریخت‌شناسی روده‌ای شود. سایر محققان مشاهده کردند که در هنگام افزایش شمار باکتری‌های بیماری‌زا در مجرای گوارش ارتفاع پرز کاهش و عمق کریپت افزایش می‌یابد که سبب جذب کمتر و سلول‌های ترش‌تری بیشتر می‌شود (۱۹).

عدم تأثیر این ترکیبات بر ریخت‌شناسی روده می‌تواند به عواملی نظیر عدم کفایت مواد فعال گیاهی مورد استفاده، کافی نبودن مدت زمان استفاده یا روش نادرست استفاده از مواد، تراکم و غلظت نامناسب مواد مورد استفاده، شرایط خاص و پاسخ‌های متفاوت حیوانات مورد آزمایش و مواردی مشابه باشد (۲۶).

معنی‌داری منجر به افزایش طول پرز روده در مقایسه با عدم مصرف میکروکپسول در هر دو تراکم توصیه شده و بالا شد ($p < 0.05$)؛ با این حال طول پرز بین تیمارهای دریافت‌کننده اسانس پوشش‌دار شده در شرایط تراکم بالا و معمولی تفاوت معنی‌داری با هم نشان نداد؛ همین نتیجه بین تیمارهایی که اسانس پوشش‌دار شده دریافت نکرده بودند در شرایط تراکم بالا و توصیه شده به دست آمد. نتایج نشان داد عدم مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط تراکم بالا منجر به کاهش عرض پرز در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد. اثرات متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده و تراکم بر روی فراسنجه‌های عمق کریپت، طول پرز به عمق کریپت، سلول‌های گابلت و مساحت پرز معنی‌دار نبود.

مخاط دستگاه گوارش اولین بافتی است که در تماس با ترکیبات تغذیه‌ای است. وضعیت مخاط و ساختار میکروسکوپی آن شاخص خوبی از پاسخ روده به مواد فعال در خوراک و تغییرات مورفولوژی روده‌ای مانند پرزهای کوتاه‌تر و عمیق شدن کریپت در حضور مواد سمی می‌باشد (۴۱). هرچه ارتفاع پرزها بیشتر و عمق آن‌ها کمتر باشد، ظرفیت جذبی روده کوچک بیشتر است. پرز بلندتر سبب ممانعت از عبور سریعتر غذا و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌شود. استفاده از گیاه دارویی آویشن سبب افزایش طول روده، عمق و تعداد پرزهای آن شد و به علت افزایش سطح تماس مواد هضم شده با روده فرصت برای جذب مواد مغذی بیشتر مهیا می‌شود (۲). محققین نشان دادند که استفاده از گیاهان دارویی در جیره سبب افزایش طول پرز در جوجه‌های گوشتی گردید (۱۴). همچنین استفاده از اسانس گیاهی کپسوله شده به شکل معنی‌داری منجر به افزایش طول پرز شد؛ با این حال عرض پرز، عمق کریپت، نسبت طول پرز به عمق کریپت و

جدول ۳- اثر اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش دار شده حاوی مخلوط اسانس گیاهان داروئی در شرایط توصیه شده و تراکم بالا بر ریخت شناسی روده باریک در جوجه های گوشتی

Table 3. The main and interaction effects of microcapsule containing a mixture of essential medicinal plants in normal conditions and high density on the morphology of the small intestine in broiler chickens.

| مساحت پرز The area of willi | طول پرز/ عمق کریپت Crypt /willi length depth | عمق کریپت Crypt depth | سلول های گابلت Goblet cells | عرض پرز will width | طول پرز willi length | اثرات اصلی Main effects |
|-----------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 214428 | 6.34 | 214.3 | 8.49 | 169.9 | 1251.9 | نوع محصول مصرفی Type of consumer product |
| 242717 | 6.26 | 206.2 | 10.41 | 180.8 | 1335.5 | بدون اسانس پوشش دار شده Without coated essential oil |
| 25804 | 0.38 | 13.17 | 0.97 | 16.31 | 67.98 | با اسانس پوشش دار شده Covered with essential oil |
| 0.04 | 0.81 | 0.54 | 0.55 | 0.04 | 0.02 | خطای استاندارد standard error |
| | | | | | | سطح احتمال P Value |
| 222218 | 6.08 | 213.5 | 10.37 | 175.5 | 1328.8 | شرایط تراکم گله Herd density conditions |
| 234927 | 6.51 | 207.0 | 8.53 | 175.2 | 1258.6 | تراکم توصیه شده Recommended density |
| 24333 | 0.43 | 12.15 | 0.67 | 14.11 | 62.68 | تراکم بالا High density |
| 0.62 | 0.26 | 0.62 | 0.16 | 0.98 | 0.03 | خطای استاندارد standard error |
| | | | | | | سطح احتمال P Value |
| 219220 | 6.14 | 213.8 | 9.76 | 190.6 ^a | 1287.0 ^b | نوع محصول مصرفی × شرایط تراکم گله Type of consumed product × conditions of herd density |
| 266114 | 6.54 | 214.8 | 11.06 | 159.8 ^b | 1273.6 ^b | بدون اسانس پوشش دار شده × تراکم توصیه شده Without coated essential oils × recommended density |
| 225116 | 6.02 | 213.2 | 7.30 | 180.0 ^a | 1384.2 ^a | بدون اسانس پوشش دار شده × تراکم بالا Without coated essential oils × high density |
| 203740 | 6.49 | 199.2 | 9.68 | 171.0 ^a | 1320.2 ^a | با اسانس پوشش دار شده × تراکم توصیه شده Covered with essential oil x recommended density |
| 26640 | 0.42 | 21.16 | 0.76 | 65.33 | 73.66 | با اسانس پوشش دار شده × تراکم بالا Covered with high density essential oil |
| 0.19 | 0.93 | 0.57 | 0.58 | 0.03 | 0.04 | خطای استاندارد standard error |
| | | | | | | سطح احتمال P Value |

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند (p<0.05).

The means of each column with different letters have a significant difference (p<0.05).

نتایج بررسی متعددی نشان داده مصرف گیاهان داروئی با کاهش جمعیت باکتری مضر سبب افزایش جمعیت باکتری های مفید نظیر لاکتوباسیلوس ها می شوند (۴۰،۱۴)؛ از آنجا که باکترهای مفید عموماً در pH اسیدی زندگی و رشد می کنند لذا افزایش جمعیت این گروه از باکتری ها منجر به کاهش اسیدیته دستگاه گوارش می شود؛ همچنین با افزایش اسیدیته دستگاه گوارش سرعت عبور مواد مغذی کاهش پیدا می کند (۱۴)؛ افزایش ماندگاری در دستگاه گوارش منجر به افزایش میزان هضم و جذب و بهبود مضاعف ضریب تبدیل خوراکی می شود (۳۲) که در نتایج این بررسی مشاهده می شود؛ لذا افزایش اسیدیته مشاهده شده در تیمار مصرف کننده اسانس پوشش دار شده حاوی گیاهان داروئی به این دلیل می باشد.

اسیدیته دستگاه گوارش: جدول ۴ اثرات اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش دار شده گیاهان داروئی در شرایط پرورش تراکم بالا و توصیه شده بر اسیدیته دستگاه گوارش جوجه گوشتی نشان می دهد.

بررسی اثرات متقابل نشان داد تیمارهای مصرف کننده اسانس پوشش دار شده در شرایط تراکم توصیه شده و تراکم بالا به شکل معنی داری اسیدیته دستگاه گوارش بالاتری در مقایسه با تیمارهایی که اسانس پوشش دار شده دریافت نکرده بودند داشت (p<0.05)؛ اسیدیته دستگاه گوارش بین تیمارهایی که اسانس پوشش دار شده دریافت نکرده بودند تحت تاثیر شرایط تراکم تفاوت معنی داری مشاهده نشد. همین نتیجه بین دو تیماری که اسانس پوشش دار شده مصرف نکرده بودند و در شرایط تراکم توصیه شده و تراکم بالا پرورش یافته بودند مشاهده شد.

جدول ۴- اثر اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده حاوی مخلوط اسانس گیاهان داروئی در شرایط تراکم توصیه شده و تراکم بالا بر اسیدیته دستگاه گوارش در جوجه گوشتی

Table 4. The main and interaction effects of microcapsules containing a mixture of essential medicinal plants in normal conditions and high density on the acidity of the digestive system in broiler chickens

| اسیدیته acidity | اثرات اصلی Main effects |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6.79 | نوع محصول مصرفی (Type of consumer product) |
| 6.11 | بدون اسانس پوشش‌دار شده (Without coated essential oil) |
| 0.02 | با اسانس پوشش‌دار شده (Covered with essential oil) |
| 0.04 | خطای استاندارد (standard error) |
| | سطح احتمال (P Value) |
| 76.6 | شرایط تراکم گله (Herd density conditions) |
| 6.45 | تراکم توصیه شده (Recommended density) |
| 0.22 | تراکم بالا (High density) |
| 0.55 | خطای استاندارد (standard error) |
| | سطح احتمال (P Value) |
| 6.92 ^a | نوع محصول مصرفی × شرایط تراکم گله Type of consumed product × conditions of herd density |
| 6.67 ^a | بدون اسانس پوشش‌دار شده × تراکم توصیه شده Without coated essential oils × recommended density |
| 6.13 ^b | بدون اسانس پوشش‌دار شده × تراکم بالا Without coated essential oils × high density |
| 6.59 ^a | با اسانس پوشش‌دار شده × تراکم توصیه شده Covered with essential oil × recommended density |
| 0.02 | با اسانس پوشش‌دار شده × تراکم بالا Covered with high density essential oil |
| 0.03 | خطای استاندارد standard error |
| | سطح احتمال P Value |

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

The means of each column with different letters have a significant difference ($p < 0.05$).

افزایش طول و عرض پرزهای روده و افزایش اسیدیته دستگاه گوارش شود؛ لذا می‌توان نتیجه گرفت مصرف این ترکیب به شکل موثری عملکرد را بهبود داده و برای مصرف در جیره جوجه‌های گوشتی بسیار مفید بوده و توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این بررسی نشان می‌دهد مصرف اسانس پوشش‌دار شده گیاهان داروئی منجر به افزایش وزن، کاهش تلفات، کاهش مصرف خوراک، کاهش ضریب تبدیل خوراک،

منابع

1. Adamiec, J. and D.J.D.T. Kalemba. 2006. Analysis of microencapsulation ability of essential oils during spray drying. *International Journal*, 24(9): 1127-32.
2. Alçiçek, A., M. Bozkurt and M. Çabuk. 2004. The effects of a mixture of herbal essential oil, an organic acid or a probiotic on broiler performance. *South African Journal of Animal Science*, 34: 217-222.
3. Azarbad, E., H. Kermanshahi, A. Yaghoobfar and A. Meimandipor. 2019. Effect of different levels of Satureja khuzistanica essential oil in conventional and microcapsulated forms on intestinal morphology and performance of broiler chickens. *Journal Animal Production*, 21(4): 87-97.
4. Barreto, M.S.R., J.F.M. Menten, A.M.C. Racanicci, P.W.Z. Pereira and P. Rizzo. 2008. Plant extracts used as growth promoters in broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 2: 109-115.
5. Basilico, M.Z. and J.C. Basilico. 1999. Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. *Letters in Applied Microbiology*, 29(4): 238-241.
6. Brenes, A. and E. Rourab. 2010. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158: 1-14.
7. Canan, B., E.M. Kuddusi, K. Sait and K. Rıdvan. 2007. Effect of dietary vitamin E on the performance, plasma and egg yolk vitamin E levels and lipid oxidation of egg in heat stressed layers. *Journal of Applied Biological Sciences*, 1(3): 19-23.
8. Caterina, M.J., M.A. Schumacher, M. Tominaga, T.A. Rosen, D. Levine, M. Ciftci, U.G. Simsek, A. Yuce, O. Yilmaz and B. Dalkilic. 2010. Effects of dietary antibiotic and Cinnamon oil supplementation on antioxidant enzyme activities, cholesterol levels and fatty acid compositions of serum and meat in broiler chickens. *Acta Veterinaria Brno*, 79: 33-40.
9. Cho, J., H. Kim and I. Kim. 2014. Effects of phytogenic feed additive on growth performance, digestibility, blood metabolites, intestinal microbiota, meat color and relative organ weight after oral challenge with *Clostridium perfringens* in broilers. *Livestock Science*, 160: 82-88.
10. Craig, J.W. 1999. Health - promoting properties of common herbs. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70: 491-499.

11. Dawkins, M.S., Ch.A. Donnelly and T.A. Jones. 2004. Chicken welfare is influenced more by housing conditions than by stocking density. *Journal Nature*, 22(427): 342-344.
12. Dozier, W.A., J.P. Thaxton, S.L. Branton, G.W. Morgan, D.M. Miles and W.B. Roush. 2005. Stocking density effects on growth performance and processing yields of heavy broilers. *Poultry Science*, 84(8): 1332-1338.
13. Farsi Jani, M. 1998. How flock density affects the production and carcass quality of broiler chickens. *Damdar*, 6(99): 55.
14. Garcia, V., P. Catala-Grogori, F. Hernandez, M.D. Megias and J. Madrid. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 16: 555-562.
15. Ghalamkari, G.H., M. Toghyani, E. Tavalaeian, N. Landy, Z. Ghalamkari and H. Radnezhad. 2011. Efficiency of different levels of *Satureja hortensis* L. (Savory) in comparison with an antibiotic growth promoter on performance, carcass traits, immune responses and serum biochemical parameters in broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 10(61): 13318-13323.
16. Gharsallaoui, A., G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley and R.J.Fri. Saurel. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview, 40(9): 1107-21.
17. Ghasemloo, V., S.A. Hosseini, H. Lotfollahian and A. Meimandipour. 2017. The effects of encapsulated oregano essential oil on microbial population and morphology of intestinal tract in broiler chickens. *Journal Animal Production*, 19(2): 467-478.
18. Ghorbani, M.R., A. Tatar, M.R. Jamali and S. Kord Zanganeh. 2017. Effect of using feed additives on performance, carcass traits, immune organs and tibia characteristics of broiler chickens reared in high stocking density. *Iranian Veterinary Journal*, 14(3): 57-69.
19. Giannenas, I., D. Tontis, E. Tsalie, E.F. Chronis, D. Doukas and I. Kyriazakis. 2010. Influence of dietary mushroom *agaricus bisporus* on intestinal morphology and micro flora composition in broiler chickens. *Research on Veterinary Science*, 89: 78-84.
20. Gong, J., F. Yin, Y. Hou and Y.J.CJoAS. Yin. 2014. Chinese herbs as alternatives to antibiotics in feed for swine and poultry production: potential and challenges in application. *Canadian Journal of Animal Science*, 94(2): 223-241.
21. Grashorn, M.A. 2010. Use of phytobiotics in broiler nutrition—an alternative to infeed antibiotics. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 19(3): 338-47.
22. Helena, M. and M. Cabral. 2010. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flavour and Fragrance Journal*, 25: 313-326.
23. Hernandez, F., J. Madrid, V. Garcia, J. Orengo and M.D. Megias. 2004. Influence of two plant extracts on broiler performance, digestibility and digestive organ size. *Poultry Science*, 83: 169-174.
24. Jaderi, N., A. Nobakht and Y. Mehman-navaz. 2011. Investigation the effects of using of *Satureja hortensis* L., *Ziziphora tenuir* L., *Urtica dioica* L. and their different mixtures on yield, egg quality, blood and immunity parameters of laying hens. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27 (1): 11-24.
25. Jang, I.S., Y.H. Ko, S.Y. Kang and C.Y. Lee. 2007. Effect of a commercial essential oil on growth performance digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 134(3-4): 304-15.
26. Kalantar, M., A.A. Saki, P. Zamani and H. Aliarabi. 2011. Effect of drinking thyme essence on performance, energy and protein efficiency and economical indices of broiler chickens. *Pajouhesh and Sazandegi. In Animal Sciences*, 92: 59-67.
27. Kazemifard, M. 2022. Effect of dietary protein lowering and supplementation of Peppermint extract on yield, carcass, blood parameters and microbial population of broiler chickens. *Research on Animal Production*, 13(37): 52-63 (In Persian).
28. Khaksar, V., M. Krimpen, H. Hashemipour and M. Pilevar. 2012. Effects of thyme essential oil on performance, some blood parameters and ileal microflora of Japanese quail. *Journal of Poultry Science*, 49: 106-110.
29. Kroismayr, A., J. Sehm, M. Pfaffl, C. Plitzner, H. Foissy and T. Etle. 2008. Effects of essential oils or Avilamycin on gut microbiology and blood parameters of weaned piglets. *Czech Journal Animal Science*, 53: 377-87.
30. Lee, K.W., H. Everts and A.C. Beyen. 2003. Dietary carvacrol lowers body gain but improves feed conversion infemale broiler chickens. *Journal of Applied Poultry research* 12: 394-399.
31. Lillehoj, H.S., D.K. Kim, D.M. Bravo and S.H. Lee. 2011. Effects of dietary plant-derived phytonutrients on the genome-wide profiles and coccidiosis resistance in the broiler chickens. *BMC proceedings. BioMed Central Ltd*.
32. Mc, J.F. 1984. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, 23: 99-108.
33. Mehdkhani, M. and A.M. Aghazadeh. 2016. Effects of using a commercial blend of the extract of medicinal plants (XTRACT CAPS XL®) and thyme and peppermint extracts eplacement of antibiotic growth promoters on performance of Ross broilers. Master (M.Sc.) Thesis in Poultry Nutrition. university of Urmia (In Persian).

34. Michiels, J., J. Missotten, N. Dierick, D. Fremaut, P. Maene and S. De Smet. 2008. In vitro degradation and in vivo passage kinetics of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde along the gastrointestinal tract of piglets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(13): 2371-81.
35. Moharreri, M., R. Vakili, E. Oskoueian and Q. Rajabzadeh. 2021. Effects of microencapsulated essential oils on growth performance and biomarkers of inflammation in broiler chickens challenged with salmonella enteritidis. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 21(5): 349-357
36. Molodi, Y. and M. Daneshyar. 2017. 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 Plant*, 33(6): 915-927.
37. Mojjani, N., M R. Sanjabi, A. Dalimi, N. Vaseji and E. Zareie Yousef Abad. 2020. Effect of probiotic and herbal extracts on performance, blood biochemistry and immune system of broiler chicks, *Research on Animal Production*, 11(28): 1-10 (In Persian).
38. Platel, K. and K. Srinivasan. 2003. Digestive stimulant action of spices: A myth or reality. *Indian Journal of Medical Research*, 167-179.
39. Rouzmehr, F., Y. Chashnidel, M. Rezaei, M. Mohiti Asli and M. Mottaghi Talab. 2017. The Effect of Thyme and Cinnamon microencapsulated essential oils on performance, some blood parameters and carcass characteristic in boiler chicks. *Research on Animal Production*, 8(17): 34-42.
40. Samik, K. P., H. Gobinda, K.M. Manas and S. Gautam. 2007. Effect of organic acid salt on the performance and gut health of broiler chicken. *Poultry Science*, 44: 389-395.
41. Viveros, A., S. Chamorro, M. Pizarro, I. Arija, C. Centeno and A. Brenes. 2011 Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. *Poultry Science*, 90: 566-578.
42. Williams, P. and R. Losa. 2001. The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. *World Poultry Science*. 17:14-15.
43. Zhang, X.X., Y.F. Fan, X.M. Tao and K.L. Yick. 2004. Fabrication and properties of microcapsules and nanocapsules containing n-octadecane. *Materials Chemistry and Physics*, 88(2-3): 300-307.
44. Zhang, Y., J. Gong, H. Yu, Q. Guo, C. Defelice, M. Hernandez, Y. Yinand 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.



Investigating the Effect of using Microcapsule Essential Oil in Conditions of Flock Density on Performance, Morphology of the Small Intestine and Acidity of the Digestive Tract of Broiler Chickens

Zahra Tahami¹ and Ehsan Oskoueian²

1- Ph.D. of Animal Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
(Corresponding author: tahami6690@yahoo.com)

2- Assistant Professor in Biotechnology Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Mashhad, Iran
Received: 22 October, 2022 Accepted: 18 December, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Today, the poultry industry tends to increase production per unit area, at the same time, the increase in flock density is faced with management and health restrictions and obstacles. Consuming medicinal plants can be an effective nutritional solution to overcome the challenge of high density. Therefore, an experiment was designed and conducted in order to investigate the effects of the essential oils of medicinal plants in two un-capsulated and microencapsulated forms in the diet on the performance, intestinal morphology and acidity of the digestive system of broiler chickens.

Material and Methods: In this research, out of 250 broiler chickens of the Ross 308 strain in the form of a completely randomized design with a factorial arrangement of 2x2, with 4 treatments and 5 repetitions, and in each repetition, normal density of 10 chickens and high density of 15 chickens with a similar weighted average was used. Microcapsules containing essential medicinal plants containing effective compounds of thyme leaf, savory leaf, peppermint leaf and black pepper seeds developed in the Agricultural Biotechnology Research Institute of East and North-East region of Iran. The tested treatments were; The first treatment: normal density (10 chickens per square meter) + no plant essential oil (control), the second treatment: high density (15 chickens per square meter) + no plant essential oil, the third treatment: normal density (10 chickens per square meter) + 500 mg/kg of un-capsulated essential oil mixture, fourth treatment: high density (15 chicks per square meter) + 500 mg/kg of encapsulated essential oil mixture. The number of casualties, the weight of the casualties and the weight of the eliminated chickens were recorded separately. The amount of feed consumed and weight gain were measured weekly and the food conversion ratio was calculated. At the end of the experiment, 2 birds were randomly selected from each repetition and slaughtered after blood sampling. To study the structure of small intestine villi, samples were obtained from duodenum, jejunum and ileum. A microscope with 40 times magnification was used to measure the height and width of the villus, and a 100 times magnification was used to measure the depth of the crypt. The acidity of the caecum was measured by a pH meter.

Results: The results showed that the addition of microcapsules led to a decrease in the percentage of losses, an increase in weight at high density compared to the absence of microcapsules. The use of microcapsules in conditions of high concentration led to a decrease in the oral conversion factor. Treatments using microcapsules in normal and high density conditions had significantly higher gastrointestinal acidity compared to treatments that did not receive microcapsules. Consumption of microcapsules in normal and high concentrations led to an increase in the length of intestinal villi.

Conclusion: It can be concluded that the addition of encapsulated essential oil improved the weight gain, feed conversion ratio, intestinal morphostructural characteristics.

Keywords: Broiler, Essential oil, Intestinal morphology, Microencapsulation



"مقاله پژوهشی"

تأثیر تغذیه متناوب پروتئین خام جیره بر عملکرد رشد در بره‌های نر پروراری

طاہر یلچی

استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی
هسته پژوهشی رفاه و تغذیه حیوانات، پژوهشکده سلامت و امنیت تولیدات کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، (نویسنده مسول: taheryalchi@uma.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۸/۲۴ صفحه: ۴۸ تا ۵۵

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: پروتئین خام یکی از گرانترین اجزای جیره غذایی و مواد مغذی مورد نیاز دام است. یکی از راهکارهای استفاده بهینه از پروتئین خام ایجاد نوسان در سطح پروتئین خام جیره و تغذیه متناوب آن در فواصل زمانی یک تا چند روز است. این پژوهش به منظور بررسی تأثیر تغذیه متناوب پروتئین خام جیره بر عملکرد رشد و برخی فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خونی در بره‌های نر پروراری انجام شد.

مواد و روش‌ها: سه جیره غذایی با پروتئین خام ۱۲، ۱۴ و ۱۶ درصد و انرژی قابل متابولیسم یکسان تنظیم شدند. از ۳۶ رأس بره نر با میانگین وزن ۲۳/۹۴±۲/۰۴ کیلوگرم در چهار تیمار در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تیمار اول جیره با سطح پروتئین خام ۱۴ درصد را به صورت ثابت دریافت کرد. تیمارهای دوم تا چهارم جیره‌های با پروتئین خام ۱۲ و ۱۶ درصد را به ترتیب با تناوب ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت دریافت کردند. مصرف خوراک، عملکرد رشد، ضریب تبدیل خوراک، قابلیت هضم و برخی فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خونی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: تفاوت معنی‌داری از نظر مصرف خوراک و عملکرد رشد در بین تیمارها مشاهده نشد هرچند ضریب تبدیل خوراک در تیمار با تناوب مصرف پروتئین خام ۴۸ ساعته بهبود یافت و نسبت به تیمار شاهد تمایل به معنی‌داری را نشان داد ($p=0/063$). بیشترین قابلیت هضم ماده آلی مربوط به تیمار با تناوب مصرف ۴۸ ساعته بود که نسبت به سایر تیمارها تمایل به معنی‌داری را نشان داد ($p=0/091$). بین تیمارهای آزمایشی از نظر قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شونده خشی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه و نیتروژن اورای خون در تیمار با تناوب مصرف پروتئین خام ۴۸ ساعته بود ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد ضریب تبدیل خوراک به هنگام استفاده از راهکار ایجاد نوسان در سطح پروتئین خام جیره و تغذیه متناوب آن تاحدودی بهبود می‌یابد، اما تأثیری در عملکرد رشد بره‌های نر و قابلیت هضم خوراک نداشت. همچنین نیتروژن آمونیاکی شکمبه و نیتروژن اورای خون افزایش یافت. لذا استفاده از این راهکار در تغذیه بره‌های نر پروراری توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پروراری، عملکرد، قابلیت هضم، گوسفند، نیتروژن اورای خون

مقدمه

پروتئین خام گران‌ترین جزء خوراک بوده و عنصر کلیدی در تنظیم جیره غذایی برای نشخوارکنندگان محسوب می‌شود (۱۶). مشخص شده است که نشخوارکنندگان در مقایسه با غیرنشخوارکنندگان نیتروژن خوراک را با بازدهی پایینی مورد استفاده قرار می‌دهند. این بازدهی پایین پیامدهای منفی از جمله عملکرد رشد کم، بازدهی اقتصادی پایین و آلودگی محیط زیست (۱۰) را به دنبال خواهد داشت. دفع بیش از حد نیتروژن در نشخوارکنندگان سبب نگرانی‌های زیادی در مورد آلودگی محیط زیست شده است که این مورد پژوهشگران را در یافتن راهکارهایی برای بهبود کارایی استفاده از نیتروژن در دام ترغیب می‌کند (۲۳). در صورت بهبود مورد استفاده قرارگیری نیتروژن در دام، دفع نیتروژن از بدن به ویژه دفع ادرای آن کاهش یافته و بنابراین ورود آن به محیط زیست به‌عنوان یک آلاینده در اشکال آمونیاک، نیترات و اکسید نیتروژن کاهش می‌یابد (۱۱،۲۲).

نوع منبع تغذیه و جمعیت میکروبی شکمبه عواملی هستند که در بازدهی استفاده از پروتئین خام در نشخوارکنندگان مشارکت دارند. از آنجا که نشخوارکنندگان دارای میکروفلور شکمبه برای هضم جیره‌های غذایی با علوفه بالا هستند، بنابراین پرورش دهندگان دام برای کاهش هزینه‌های تغذیه، تمایل بیشتری به استفاده از جیره‌های با نسبت بالای علوفه به کنسانتره دارند اما این روش سبب کاهش کیفیت جیره‌های غذایی می‌شود. زمانی که انرژی کمی در اختیار میکروب‌های شکمبه باشد، آن‌ها از اسیدهای آمینه به‌عنوان منبع انرژی

خود استفاده می‌کنند که در این صورت غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه افزایش یافته (۲۳) و به‌دنبال آن دفع نیتروژن نیز افزایش می‌یابد (۱۸). خوراک تخمیر شده در شکمبه حاوی مقادیر بالایی از نیتروژن غیرپروتئینی است، زیرا طی تخمیر، پروتئین خوراک به نیتروژن آمونیاکی تجزیه می‌شود. این مورد می‌تواند سبب استفاده ناکارآمد نیتروژن از پروتئین میکروبی شود. زیرا برخی گونه‌های باکتریایی ترجیح می‌دهند که بیشتر از منابع خاص نیتروژن مانند پپتیدها، اسیدهای آمینه و نیتروژن آمونیاکی استفاده کنند (۲۵).

سهم آلاینده‌های زیست محیطی ناشی از تولید محصولات دامی از جمله شیر و گوشت دام‌های نشخوارکننده نگران کننده است (۲۸). بنابراین افزایش بازدهی در مورد استفاده قرارگیری مواد مغذی برای به حداقل رساندن دفع آنها از بدن حیوان باید مد نظر قرار گیرد. افزایش بازدهی استفاده از پروتئین علاوه بر کاهش دفع آن در محیط و کاهش هزینه‌های مشکلات زیست محیطی می‌تواند در کاهش هزینه‌های تغذیه‌ای نیز موثر باشد. بنابراین استفاده بهینه از این ماده مغذی در جیره‌های غذایی دام‌های نشخوارکننده از اهمیت خاصی برخوردار است. راهکارهای مختلفی را برای بهبود کارایی استفاده از نیتروژن در نشخوارکنندگان می‌توان اجرا کرد. یکی از این راهکارها کاهش سطح پروتئین خام جیره است. اما این روش بر تولید حیوان اثر منفی می‌گذارد (۳). از راهکارهای دیگر، همزمان سازی ماده مغذی یا همزمانی در نرخ تخمیر منابع پروتئین و انرژی جیره است که منجر به موفقیت‌های محدودی شده است (۲۴،۳۱). رویکرد دیگر،

اول جیره‌ای شامل مخلوطی از گاه و بونجه خشک به همراه ۲۰ درصد کنسانتره دریافت کردند که نسبت کنسانتره به تدریج افزایش یافت به طوری که بعد از ۱۴ روز عادت پذیری هر گروه از بره‌ها جیره تنظیم شده مختص خود (جدول ۱) را دریافت کردند. خوراک‌دهی سه بار در روز و در ساعت‌های ۷، ۱۳ و ۱۹ در حد اشتها انجام شد. برای تعیین افزایش وزن، توزین بره‌ها هر ۱۵ روز با رعایت ۱۲ ساعت عدم دسترسی به آب و غذا انجام شد (۱) و از روی تفاوت وزن آنها و ابتدای دوره محاسبه شد. باقیمانده خوراک قبل از خوراک‌دهی روزانه جمع‌آوری شده و بعد از توزین در کیسه‌ای مخصوص هر دام ریخته شد. هر هفته یک‌بار از خوراک داده شده و باقیمانده جمع‌آوری شده، یک نمونه ۱۰۰ گرمی تهیه و برای تعیین ترکیبات شیمیایی به آزمایشگاه منتقل شد. ضریب تبدیل خوراک از نسبت خوراک مصرف شده به افزایش وزن محاسبه شد. ترکیبات شیمیایی شامل ماده خشک، ماده آلی، نیتروژن، پروتئین خام، عصاره اتری، خاکستر با روش‌های معمول (۲) و لیاف نامحلول در شوینده خنثی با روش ون سوست و همکاران (۳۰) تعیین شدند.

برای تعیین قابلیت هضم ظاهری خوراک و مواد مغذی در کل دستگاه گوارش از خاکستر نامحلول در اسید به‌عنوان نشانگر داخلی استفاده شد (۲۹). برای این منظور از روز ۶۰ دوره پرواربندی چهار رأس از هر تیمار که به میانگین وزنی گروه خود نزدیک بودند انتخاب شده و کیسه‌های پارچه‌ای مخصوص جمع‌آوری مدفوع به آن‌ها بسته شد. بعد از سه روز عادت‌پذیری به شرایط جدید نمونه‌برداری از خوراک و مدفوع هر دام به‌طور جداگانه و به‌مدت شش روز (در تیمار سه به‌مدت ۸ روز) انجام شده و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا روز انجام آزمایش (تعیین خاکستر نامحلول در اسید) نگهداری شد. در روز ۷۰ و ۸۰ دوره پرواربندی، حدود ۵۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه با استفاده از لوله معدی سه ساعت بعد از مصرف خوراک از دام‌ها دریافت شد. مایع دریافت شده با پارچه متقال دو لایه صاف شده و بلافاصله pH آن با دستگاه pH متر با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شد. برای نگهداری مایع شکمبه تا زمان اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی به هر میلی‌لیتر مایع شکمبه ۲۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۵۰ درصد اضافه شده و در ظروف پلاستیکی ۵۰ میلی‌لیتری در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۴). غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با اندکی تغییر (۳۱) در روش سوزا و همکاران (۲۷) اندازه‌گیری شد.

در روزهای ۷۲ تا ۷۵ دوره پرواربندی، دو مرحله خونگیری از بره‌ها (مرحله اول در زمان مصرف جیره کم پروتئین و مرحله دوم در زمان مصرف جیره با پروتئین بالا در تیمارهای دوم تا چهارم) قبل از خوراک‌دهی وعده صبح از سیاهرگ گردن انجام شد. نمونه‌های خون بعد از جدا شدن سرم در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری غلظت فراسنج‌های خونی شامل گلوکز و نیتروژن اوردهای خون با دستگاه اتوآنالایزر (شرکت روچ، مدل کوباس، ساخت آلمان) و کیفیت‌های شرکت پارس آزمون انجام شد.

ایجاد نوسان در غلظت‌های پروتئین خام جیره و تغذیه متناوب آن در فواصل زمانی یک تا چند روز (زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) است که این روش نسبت به خوراندن مقادیر ثابتی از پروتئین خام به‌صورت روزانه در گاو و گوسفند سبب بهبود ابقای نیتروژن و مورد استفاده قرارگیری آن در بدن می‌شود (۲۲). دورنالی و همکاران (۱۲) گزارش کردند که بره‌های تغذیه شده با جیره‌هایی حاوی غلظت‌های متفاوت پروتئین خام (۱۰/۳ و ۱۶/۱ درصد) با تناوب ۴۸ ساعته نسبت به جیره‌های با سطح پروتئین ثابت (۱۲/۷ درصد) رشد روزانه بیشتری (۳۴۰ در مقابل ۲۷۶ گرم در روز) داشتند. منرس و همکاران (۲۰) گزارش کردند که تغذیه گوساله‌های نر با جیره‌هایی حاوی غلظت‌های متفاوت در پروتئین خام (۱۰/۵ و ۱۴/۵ درصد) در فواصل زمانی ۴۸ ساعته نسبت به جیره‌های با پروتئین خام ثابت (۱۲/۵) مصرف ماده خشک، قابلیت هضم پروتئین خام و عملکرد رشد تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. کایران و موتسونگوا (۱۷) گزارش کردند که تغذیه بره‌های نر با جیره‌های متفاوت در مقدار پروتئین خام (۹/۵ و ۱۵/۵ درصد) در فواصل زمانی ۴۸ ساعته نسبت به جیره‌های با پروتئین خام ثابت (۱۲/۵) هرچند بر افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک تأثیری نداشت، اما قابلیت هضم لیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی جیره بیشتر بود.

با توجه به اینکه پژوهش‌های پیشین زمان‌های مختلفی را برای ایجاد نوسان در سطح پروتئین خام جیره در نظر گرفته بودند. لذا هدف از این پژوهش تعیین بهترین فاصله زمانی در تغذیه متناوب پروتئین خام جیره (زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) در قابلیت هضم، مصرف خوراک و عملکرد رشد در بره‌های نر پرواری بود.

مواد و روش‌ها

سه جیره غذایی برای بره‌های نر پرواری با متوسط وزن ۳۰ کیلوگرم و افزایش وزن روزانه ۲۶۰ گرم بر اساس نیازهای غذایی توصیه شده توسط انجمن ملی تحقیقات (۲۱) و با استفاده از نرم افزار SRNS^۱ با سه سطح پروتئین خام ۱۴، ۱۲ و ۱۶ درصد و انرژی قابل متابولیسم یکسان (جدول ۱) تنظیم شدند. جیره ۱ با ۱۴ درصد پروتئین خام که به‌صورت ثابت به تغذیه بره‌ها می‌رسید به‌عنوان تیمار ۱ یا شاهد در نظر گرفته شد. تیمارهای ۲ تا ۴، جیره ۲ (با ۱۲ درصد پروتئین خام) و جیره ۳ (با ۱۶ درصد پروتئین خام) را با زمان‌های متناوب ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت دریافت می‌کردند.

پرواربندی بره‌ها با استفاده از ۳۶ رأس بره نر قزل انجام شد. بره‌ها متولد اسفند و فروردین بودند که بعد از سه ماه از شیر گرفته شده و دو ماه نیز در مرتع تغذیه شدند. متوسط سن بره‌ها در شروع پرواربندی 152 ± 8 روز و وزن بره‌ها $23/94 \pm 2/04$ کیلوگرم بود. این بخش از پژوهش به مدت ۹۰ روز با ۴ تیمار و ۹ تکرار انجام شد. بره‌ها در چهار گروه ۹ رأسی به‌طور تصادفی تقسیم شدند. بره‌ها در جایگاه‌های انفرادی قرار گرفته و عملیات بهداشتی نظیر کنترل سلامت عمومی، انجام واکسیناسیون با واکسن آنروتوکسمی و خوراندن داروی ضد انگل‌البندازول انجام شد. بره‌ها در روز

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده (بر حسب درصد) و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

| Table 1. Ingredients (in percentage) and chemical composition of experimental diets | | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| جیره ۳ (۱۶ درصد پروتئین خام) Diet 3 (16% crude protein) | جیره ۲ (۱۲ درصد پروتئین خام) Diet 2 (12% crude protein) | جیره ۱ (۱۴ درصد پروتئین خام) Diet 1 (14% crude protein) | اقلام جیره (Ingredients) |
| 5 | 5 | 5 | یونجه (Alfalfa hay) |
| 10 | 10 | 10 | ذرت سیلو شده (Corn silage) |
| 10 | 10 | 10 | کاه گندم (Wheat straw) |
| 11.9 | 15 | 12.1 | پوسته بادام (Almond hull) |
| 25 | 25 | 25 | دانه جو (Barley grain) |
| 9 | 10 | 9.5 | دانه ذرت (Corn grain) |
| 4 | 4 | 4 | تفاله چغندر قند (Sugar beet pulp) |
| 14 | 14 | 16 | سبوس گندم (Wheat bran) |
| 8.1 | 5 | 5.9 | کنجاله سویا (Soybean meal) |
| 1.06 | 0.06 | 0.56 | اوره (Urea) |
| 0.70 | 0.70 | 0.70 | دی کلسیم فسفات (Di-calcium phosphate) |
| 0.24 | 0.24 | 0.24 | بی کربنات سدیم (Sodium bicarbonate) |
| 1 | 1 | 1 | مکمل معدنی - ویتامینه ^۱ (M-V supplement) |
| ترکیبات شیمیایی (Chemical compositions) | | | |
| 15.98 | 11.98 | 13.99 | پروتئین خام (درصد) (%) Crude protein |
| 2.67 | 2.67 | 2.67 | انرژی متابولیسمی (مگا کالری در هر کیلوگرم) Metabolizable energy (Mcal/kg) |
| 103 | 97 | 100 | پروتئین قابل متابولیسم (گرم در روز) Metabolizable protein (g/d) |
| 34.71 | 35.20 | 35.56 | الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) Neutral detergent fiber (%) |
| 2.70 | 2.76 | 2.80 | چربی خام (%) Ether extract |
| 6.70 | 6.69 | 6.70 | خاکستر (%) Ash |

۱- هر کیلوگرم از مکمل شامل ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۲۰ گرم فسفر، ۵۰ گرم سدیم، ۲۰ گرم منیزیم، ۳ گرم آهن، ۲ گرم منگنز، ۳ گرم روی، ۲۸۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰۰ میلی‌گرم ید و ۴ میلی‌گرم سلنیوم بود.

1- Mineral and Vitamin supplement, each kilogram contain vitamin A: 500000 IU, vitamin D₃: 100000 IU, vitamin E: 100 mg, phosphorous: 20 g, sodium: 50 g, magnesium: 20 g, iron: 3 g, manganese: 2 g, zinc: 3 g, cooper: 280 mg, cobalt: 100 mg, iodine: 100 mg and selenium: 4 mg.

آزمایش تلاش شده بود تا بره‌های هم سن و هم وزن انتخاب شوند بنابراین تفاوت آماری معنی‌داری هم بین آن‌ها مشاهده نشد. تفاوت معنی‌داری بین مصرف خوراک روزانه و کل مصرف خوراک در بین تیمارها مشاهده نشد؛ هرچند تیمارهای با تناوب مصرف ۴۸ و ۷۲ ساعته نسبت به تیمار تغذیه ثابت در مدت ۷۶ روز دوره پروار بندی حدود ۸ کیلوگرم خوراک کمتری مصرف کرده بودند. از نظر افزایش وزن روزانه، افزایش وزن کل و وزن پایان دوره پروار تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت. ضریب تبدیل خوراک در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت هرچند مقایسه تیمارهای دارای تناوب مصرف در پروتئین خام با تیمار تغذیه ثابت تمایل به بهبود ضریب تبدیل را نشان دادند (p=۰/۰۶۳) به طوری که بهترین ضریب تبدیل (۷/۶۴) در تیمار با تناوب مصرف ۴۸ ساعته مشاهده شد. پژوهش‌های پیشین در مورد عملکرد دام نشان داده‌اند که محدود کردن پروتئین خام دریافتی از طریق جیره غذایی چون سبب کاهش وزن بدن و تولید شیر می‌شود، راهکار مناسبی برای افزایش کارایی نیتروژن و کاهش دفع آن نیست (۱۳). در برخی پژوهش‌های پیشین، افزایش وزن روزانه به‌هنگام استفاده از جیره‌هایی با تناوب مصرف پروتئین خام نسبت به مصرف سطح ثابت پروتئین خام گزارش شده است (۶،۱۲) اما در پژوهش حاضر استفاده از روش تناوب مصرف پروتئین خام جیره بر افزایش وزن روزانه بره‌ها تأثیری نداشت که با مطالعات انجام شده مطابقت دارد (۱۷،۱۹). عدم تفاوت معنی‌دار در مصرف ماده

داده‌های عملکردی در قالب طرح کاملاً تصادفی با اندازه‌گیری‌های تکرار شده با رویه MIXED به همراه مقایسه‌های متعامد با نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ (۲۶) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۸). وزن اولیه بره‌ها به‌عنوان عامل کوواریت در نظر گرفته شد. در این طرح از مدل آماری زیر (رابطه ۱) استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها از LSMEANS و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

(رابطه ۱)

$$Y_{ijk} = \mu + T_j + S_{ij} + L_k + (T \times L)_{ik} + B(X_{ij} - \bar{x}_{..}) + e_{ijk}$$

در این مدل Y_{ijk} : متغیر وابسته، μ : میانگین صفت مورد آزمایش، T_j : اثر تیمار، S_{ij} : اشتباه تصادفی درون تیمار، L_k : اثر زمان، $(T \times L)_{ik}$: اثر متقابل تیمار در زمان، $B(X_{ij} - \bar{x}_{..})$: اثر متغیر کمکی یا کوواریت، e_{ijk} : اشتباه تصادفی درون حیوانات. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای و قابلیت هضم بر اساس طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM به‌همراه مقایسه‌های متعامد با نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ (۲۶) انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج و بحث

مصرف خوراک، عملکرد رشد و ضریب تبدیل

اثر تغذیه ثابت و متناوب پروتئین خام جیره بر میانگین مصرف خوراک، عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک در بره‌های نر پرواری تحت آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است. میانگین وزن ابتدای دوره پروار در بین تیمارها بین ۲۳/۷۳ تا ۲۴/۰۷ کیلوگرم متغیر بود و از آنجایی که در ابتدای

نشان ندادند. مقایسه تیمار تغذیه ثابت با تیمارهای با تناوب مصرف در پروتئین خام (زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) تفاوت معنی‌داری را در قابلیت هضم ماده خشک نشان نداد که این نتیجه با نتایج گزارش شده توسط کول (۵) به هنگام تغذیه بره‌ها با جیره‌های نوسان‌دار شده با سطح پروتئین خام ۱۰ و ۱۵ درصد در فواصل زمانی ۲۴ یا ۴۸ ساعت و لودن و همکاران (۱۹) در تغذیه بره‌ها با تناوب مصرف ۴۸ ساعته و جیره‌های نوسان دار شده با سطح پروتئین خام ۱۳ و ۱۷ درصد مطابقت دارد.

خشک توسط بره‌ها در پژوهش‌های پیشین (۱۶) نیز گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

قابلیت هضم

قابلیت هضم جیره‌های آزمایشی در جدول ۳ نشان داده شده است. قابلیت هضم ماده خشک در تیمارهای آزمایشی بین ۶۵/۱۶ تا ۷۰/۰۷ درصد بود. بیشترین قابلیت هضم ماده آلی مربوط به تیمار با تناوب مصرف ۴۸ ساعته بود که نسبت به سایر تیمارها تمایل به معنی‌داری را نشان داد ($p=0/091$). قابلیت هضم پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خشی و چربی خام تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارهای آزمایشی

جدول ۲- اثر تغذیه ثابت و تناوب پروتئین خام جیره بر مصرف خوراک، عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک در بره‌های نر پرواری.
Table 2. Effect of constant and intermittent feeding of crude protein on feed consumption, growth performance and feed conversion ratio in fattening male lambs

| سطح معنی‌داری P-value | اشتباه معیار میانگین SEM | تیمارهای آزمایشی Experimental treatments | | | تغذیه ثابت ^۱ Const ¹ | موارد Parameters |
|--------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| | | تناوب ۷۲ ساعت ^۴ Osc 72-h ⁴ | تناوب ۴۸ ساعت ^۳ Osc 48-h ³ | تناوب ۲۴ ساعت ^۲ Osc 24-h ² | | |
| 0.973 | 0.989 | 0.692 | 23.89 | 24.07 | 23.73 | وزن ابتدای دوره پروار (کیلوگرم) Initial weight (Kg) |
| 0.265 | 0.274 | 0.042 | 1.449 | 1.447 | 1.533 | مصرف خوراک روزانه (کیلوگرم) Daily feed intake (Kg) |
| 0.279 | 0.278 | 3.807 | 130.2 | 130.2 | 138.1 | کل مصرف خوراک دوره (کیلوگرم) Total feed intake (Kg) |
| 0.599 | 0.498 | 6.767 | 229 | 242 | 239 | افزایش وزن روزانه (گرم) Daily weight gain (g) |
| 0.603 | 0.503 | 0.605 | 20.61 | 21.79 | 21.54 | افزایش وزن کل (کیلوگرم) Total weight gain (Kg) |
| 0.778 | 0.812 | 1.032 | 44.51 | 45.87 | 45.28 | وزن پایان دوره پروار (کیلوگرم) Final weight (Kg) |
| 0.063 | 0.216 | 0.265 | 7.93 | 7.64 | 7.99 | ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio |

۱- تغذیه ثابت جیره حاوی ۱۴ درصد پروتئین خام به صورت روزانه؛ ۲ تا ۴: تغذیه جیره‌های حاوی ۱۲ و ۱۶ درصد پروتئین خام با تناوب ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت؛ ۵: مقایسه تغذیه ثابت با تیمارهای دارای تناوب مصرف در پروتئین خام.

1. constant feeding of diet containing 14% crude protein on a daily basis; 2 to 4: feeding diets containing 12 and 16 percent crude protein oscillating with intervals of 24, 48 and 72 hours; 5: Comparison of constant feeding with treatments with oscillating dietary crude protein.

به جیره‌های با پروتئین خام ثابت (۱۲/۵ درصد) تأثیری در قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و الیاف نامحلول در شوینده خشی نداشت که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خونی

برخی فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خونی بره‌های پرواری تحت آزمایش در جدول ۴ نشان داده شده‌اند. میانگین pH شکمبه در بین تیمارهای آزمایشی بین ۶/۱۸ تا ۶/۳۳ متغیر و بدون تفاوت معنی‌دار بود. بیشترین مقدار نیتروژن آمونیاکی شکمبه در تیمار با تناوب مصرف پروتئین خام ۴۸ ساعته بود که اختلاف معنی‌داری ($p=0/037$) را با تیمارهای تغذیه ثابت و تناوب مصرف ۷۲ ساعته نشان داد؛ هرچند که با تیمار دارای تناوب مصرف ۲۴ ساعته معنی‌دار نبود. مقایسه نیتروژن آمونیاکی شکمبه تیمار تغذیه ثابت با تیمارهای دارای تناوب در مصرف پروتئین خام (زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. گلوکز خون اندازه‌گیری شده در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. اما نیتروژن اوره‌ای خون در تیماری که دارای تناوب مصرف ۴۸ ساعته بود، بیشترین مقدار بود ($p=0/034$). غلظت نیتروژن اوره‌ای خون در تیمارهایی که دارای تناوب در مصرف پروتئین خام بودند نسبت به تیمار شاهد (تغذیه ثابت پروتئین خام)

همچنین کایران و موتسونگوا (۱۷) گزارش کردند که تغذیه بره‌ها با جیره‌های نوسان‌دار شده با سطح پروتئین خام ۹/۵ و ۱۵/۵ درصد و با تناوب مصرف ۴۸ ساعته نسبت به جیره‌هایی که سطح پروتئین خام ثابتی (۱۲/۵ درصد) داشتند تأثیری در قابلیت هضم ماده خشک نداشت.

مطابق با نتایج این پژوهش خطاب و عبدالواحد (۱۶) به هنگام تغذیه میش‌های شیرده با جیره‌های دارای نوسان در سطح پروتئین خام جیره (۱۱/۲ و ۱۷/۳ درصد) با تناوب مصرف ۷۲ ساعت نسبت به جیره‌های با سطح پروتئین خام ثابت (۱۴/۱ درصد) گزارش کردند که قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام تحت تأثیر قرار نگرفت. قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خشی در پژوهش حاضر همسو با گزارش لودن و همکاران (۱۹) تحت تأثیر تیمارهای با سطح پروتئین خام ثابت و نوسان دار شده قرار نگرفت. در مقابل خطاب و عبدالواحد (۱۶) گزارش کردند که ایجاد نوسان در سطح پروتئین خام جیره نسبت به تغذیه ثابت سبب افزایش قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خشی می‌شود. منزس و همکاران (۲۰) گزارش کردند که تغذیه گوساله‌های نر با جیره‌های دارای نوسان در سطح پروتئین خام (۱۰/۵ و ۱۴/۵ درصد) در فواصل زمانی ۴۸ ساعته نسبت

افزایش با تمایل به معنی‌داری را نشان داد ($p=0.056$). سبب عدم تفاوت معنی‌دار pH بین تیمارها در پژوهش حاضر شکمبه یک محیط با پایداری نسبی است (۹) و این پایداری شده است.

جدول ۳- اثر تغذیه ثابت و متناوب پروتئین خام جیره بر قابلیت هضم مواد مغذی (بر حسب درصد) در بره‌های نر پروراری
Table 3. Effect of constant and intermittent feeding of crude protein on the digestibility of nutrients (in percentage) in fattening male lambs

| سطح معنی‌داری p-value | اشتباه معیار میانگین SEM | تیمارهای آزمایشی Experimental treatments | | | | تغذیه ثابت ^۱ Const ¹ | قابلیت هضم Digestibility |
|--------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------|
| | | تناوب ۷۲ ساعت ^۴ Osc 72-h ⁴ | تناوب ۴۸ ساعت ^۳ Osc 48-h ³ | تناوب ۲۴ ساعت ^۲ Osc 24-h ² | تناوب ثابت ^۱ Const ¹ | | |
| 0.209 | 0.347 | 1.879 | 66.83 | 70.07 | 67.09 | 65.16 | ماده خشک (Dry matter) |
| 0.080 | 0.091 | 1.821 | 68.42 | 72.89 | 68.21 | 65.91 | ماده آلی (Organic matter) |
| 0.247 | 0.508 | 2.242 | 73.90 | 75.91 | 72.82 | 71.10 | پروتئین خام (Crude protein) |
| 0.982 | 0.878 | 2.286 | 51.87 | 54.35 | 52.28 | 52.90 | الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF |
| 0.955 | 0.880 | 2.642 | 73.66 | 76.55 | 74.31 | 75.02 | چربی خام (Crude Fat) |

۱- تغذیه ثابت جیره حاوی ۱۴ درصد پروتئین خام به صورت روزانه؛ ۲ تا ۴: تغذیه جیره‌های حاوی ۱۲ و ۱۶ درصد پروتئین خام با تناوب ۷۲، ۴۸ و ۲۴ ساعت؛ ۵: مقایسه تغذیه ثابت با تیمارهای دارای تناوب مصرف در پروتئین خام.

1. constant feeding of diet containing 14% crude protein on a daily basis; 2 to 4: feeding diets containing 12 and 16 percent crude protein oscillating with intervals of 24, 48 and 72 hours; 5: Comparison of constant feeding with treatments with oscillating dietary crude protein.

نکردند. افزایش نیتروژن اوره‌ای خون به دنبال افزایش نیتروژن آمونیاکی شکمبه گزارش شده است (۴،۱۵) که همسو با نتایج این پژوهش است. قابلیت تجزیه‌پذیری پروتئین خام خوراک در شکمبه می‌تواند در غلظت نیتروژن اوره‌ای خون تأثیر داشته باشد (۵). کولینس و پریچارد (۷) گزارش کردند که افزودن مکمل پروتئینی به جیره مانند کنجاله گلوتن ذرت که تجزیه‌پذیری پروتئین پایینی در شکمبه دارد تأثیری در افزایش نیتروژن اوره‌ای خون نداشت، اما زمانی که در مکمل سازی پروتئین خام جیره از کنجاله سویا (با تجزیه‌پذیری پروتئین بالا در شکمبه) استفاده شد، نیتروژن اوره‌ای خون افزایش یافت.

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از جیره‌های دارای نوسان در سطح پروتئین خام و تغذیه متناوب آن در فاصله یک تا سه روز می‌تواند سبب بهبود نسبی در ضریب تبدیل خوراک مصرفی، افزایش نیتروژن آمونیاکی شکمبه و نیتروژن اوره‌ای خون شود هرچند بر میزان عملکرد رشد بره‌های نر و قابلیت هضم خوراک تأثیر چندانی نداشت.

نتایج پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهند که به‌هنگام مصرف جیره‌های با سطح ثابت یا متناوب پروتئین خام pH شکمبه تفاوت معنی‌داری در بره‌های نر در حال رشد (۱۲) و میش‌های شیرده (۱۶) نداشت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. بیشتر بودن غلظت نیتروژن اوره‌ای خون در تیمارهای با مصرف متناوب پروتئین خام در مقایسه با تیمار شاهد (تغذیه با سطح ثابت پروتئین خام)، در تضاد با نتایج پژوهش‌های پیشین (۵) است. کایران و موتسوانگوا (۱۷) گزارش کردند که تغذیه بره‌ها با جیره‌های دارای نوسان در پروتئین خام (۹/۵ و ۱۵/۵ درصد) و با تناوب مصرف ۴۸ ساعته نسبت به جیره‌هایی که سطح پروتئین خام ثابتی (۱۲/۵ درصد) داشتند تأثیری در غلظت نیتروژن اوره‌ای خون نشان نداد. نتایج مشابهی توسط خطاب و عبدالواحد (۱۶) در میش‌های شیرده به‌هنگام مقایسه مصرف جیره‌های با سطح پروتئین خام ثابت و نوسان‌دار شده گزارش شد. همچنین منرس و همکاران (۲۰) به‌هنگام مقایسه مصرف جیره‌های با سطح پروتئین خام ثابت و نوسان‌دار شده تفاوت معنی‌داری را از نظر غلظت نیتروژن اوره‌ای خون در گوساله‌های نر مشاهده

جدول ۴- اثر تغذیه ثابت و متناوب پروتئین خام جیره بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خونی در بره‌های نر پروراری (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
Table 4. Effect of constant and intermittent feeding of dietary crude protein on ruminal and blood parameters in fattening male lambs (mg/dL)

| سطح معنی‌داری P-value | اشتباه معیار میانگین SEM | تیمارهای آزمایشی Experimental treatments | | | | موارد Parameters | |
|-------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------|
| | | تناوب ۷۲ ساعت ^۴ Osc 72-h ⁴ | تناوب ۴۸ ساعت ^۳ Osc 48-h ³ | تناوب ۲۴ ساعت ^۲ Osc 24-h ² | تغذیه ثابت ^۱ Const ¹ | | |
| فراسنجه‌های شکمبه‌ای (Ruminal parameters) | | | | | | | |
| 0.384 | 0.592 | 0.082 | 6.33 | 6.22 | 6.23 | 6.18 | pH |
| 0.134 | 0.037 | 0.594 | 11.60 ^b | 13.96 ^a | 13.21 ^{ab} | 11.84 ^b | نیتروژن آمونیاکی Ammonia nitrogen |
| فراسنجه‌های خونی (Blood parameters) | | | | | | | |
| 0.339 | 0.680 | 1.494 | 79.81 | 81.32 | 80.15 | 82.12 | گلوکز Glucose |
| 0.056 | 0.044 | 0.412 | 16.06 ^b | 17.39 | 16.29 ^{ab} | 15.60 ^b | نیتروژن اوره‌ای خون Blood urea nitrogen |

۱: تغذیه ثابت جیره حاوی ۱۴ درصد پروتئین خام به صورت روزانه؛ ۲ تا ۴: تغذیه جیره‌های حاوی ۱۲ و ۱۶ درصد پروتئین خام با تناوب ۷۲، ۴۸ و ۲۴ ساعت؛ ۵: مقایسه تغذیه ثابت با تیمارهای دارای تناوب مصرف در پروتئین خام. در هر سطر میانگین‌های با حروف غیرمشابه در سطح ۵ درصد معنی‌دار هستند.

1: constant feeding of diet containing 14% crude protein on a daily basis; 2 to 4: feeding diets containing 12 and 16 percent crude protein oscillating with intervals of 24, 48 and 72 hours; 5: Comparison of constant feeding with treatments with oscillating dietary crude protein. Means in a same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

منابع

1. Aminifard, Z., A. Kiani and A. Azarfar. 2022. The Effect of Lycopene supplementation on fermentation parameters , nutrient digestibility and feed intake of fattening lamb diet in vitro and in vivo. *Research on Animal Production*, 13(36): 57-65 (In Persian).
2. AOAC. 2012. International. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
3. Chibisa, G.E. and T. Mutsvangwa. 2013. Effects of feeding wheat or corn-wheat dried distillers grains with solubles in low-or high-crude protein diets on ruminal function, omasal nutrient flows, urea-N recycling, and performance in cows. *Journal of Dairy Science*, 96(10): 6550-6563.
4. Chumpawadee, S., K. Sommart, T. Vongpralub and V. Pattarajinda. 2006. Effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on ruminal fermentation, microbial protein synthesis, blood urea nitrogen and nutrient digestibility in beef cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19(2): 181-188.
5. Cole, N.A. 1999. Nitrogen retention by lambs fed oscillating dietary protein concentrations. *Journal of Animal Science*, 77(1): 215-222.
6. Cole, N.A., L.W. Greene, F.T. McCollum, T. Montgomery and K. McBride. 2003. Influence of oscillating dietary crude protein concentration on performance, acid-base balance, and nitrogen excretion of steers. *Journal of Animal Science*, 81(11): 2660-2668.
7. Collins, R.M. and R.H. Pritchard. 1992. Alternate day supplementation of corn stalk diets with soybean meal or corn gluten meal fed to ruminants. *Journal of Animal Science*, 70(12): 3899-3908.
8. Cue, R.I. 2006. Statistical methods AEMA-610. Department of Animal Science. McGill University. 281p.
9. Czerkawski, J.W. 2013. An introduction to rumen studies. Elsevier. 246 pp.
10. de Souza, M.N., C. Bayer, M. Lassalas, G.M. Michelon, L.H. Schaitz, R. Biasiolo, M. Civiero and H.M.N. Ribeiro-Filho. 2021. Effects of ground corn and Acacia mearnsii tannin extract supplementation on nitrogen excretion and nitrous oxide emissions from sheep. *Livestock Science*, 246, 104458.
11. Dijkstra, J., O. Oenema, J.W. Van Groenigen, J.W. Spek, A.M. Van Vuuren and A. Bannink. 2013. Diet effects on urine composition of cattle and N₂O emissions. *Animal*, 7(s2): 292-302.
12. Doranalli, K., G.B. Penner and T. Mutsvangwa. 2011. Feeding oscillating dietary crude protein concentrations increases nitrogen utilization in growing lambs and this response is partly attributable to increased urea transfer to the rumen. *The Journal of Nutrition*, 141(4): 560-567.
13. Erickson, G.E. and T.J. Klopfenstein. 2001. Nutritional methods to decrease N losses from open-dirt feedlots in Nebraska. *The Scientific World Journal*, 1: 836-843.
14. Kargar, S., G.R. Ghorbani, M. Alikhani, M. Khorvash, L. Rashidi and D.J. Schingoethe. 2012. Lactational performance and milk fatty acid profile of Holstein cows in response to dietary fat supplements and forage: concentrate ratio. *Livestock Science*, 150: 274-283.
15. Khalilzad, H.M., T. Ghoorchi, B. Dastar and A. Toghdory. 2022. Effect of different levels substitution of Cottonseed meal with Flax meal on the ruminal fibrolytic enzyme activity and blood parameters and immune system in ewes. *Research on Animal Production*, 13(35): 93-99 (In Persian).
16. Khattab, I.M. and A.M. Abdel-Wahed. 2018. Effect of oscillating crude protein content on nitrogen utilization, milk production and performance of sheep. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 21(2): 373-380.
17. Kiran, D. and T. Mutsvangwa. 2009. Nitrogen utilization in growing lambs fed oscillating dietary protein concentrations. *Animal Feed Science and Technology*, 152(1-2): 33-41.
18. Lapierre, H. and G.E. Lobley. 2001. Nitrogen recycling in the ruminant: A review. *Journal of Dairy Science*, 84: E223-E236.
19. Ludden, P.A., T.L. Wechter and B.W. Hess. 2002. Effects of oscillating dietary protein on nutrient digestibility, nitrogen metabolism, and gastrointestinal organ mass in sheep. *Journal of Animal Science*, 80(11): 3021-3026.
20. Menezes, A.C.B., S.C. Valadares Filho, M.V. Pacheco, P. Pucetti, B.C. Silva, D. Zanetti, M.F. Paulino, F.F. Silva, T.L. Neville and J.S. Caton. 2019. Oscillating and static dietary crude protein supply. I. Impacts on intake, digestibility, performance, and nitrogen balance in young Nellore bulls. *Translational Animal Science*, 3(4): 1205-1215.
21. NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. Natl. Acad. Press, Washington DC.
22. Rauch, R., J. Martín-Tereso, J.B. Daniel and J. Dijkstra. 2021. Dietary protein oscillation: Effects on feed intake, lactation performance, and milk nitrogen efficiency in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104(10): 10714-10726.
23. Reynolds, C.K. and N.B. Kristensen. 2008. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis. *Journal of Animal Science*, 86(suppl_14), E293-E305.

24. Richardson, J.M., R.G. Wilkinson and L.A. Sinclair. 2003. Synchrony of nutrient supply to the rumen and dietary energy source and their effects on the growth and metabolism of lambs. *Journal of Animal Science*, 81: 1332-1347.
25. Russell, J.B., J.D. O'connor, D.G. Fox, P.J. Van Soest and C.J. Sniffen. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. *Journal of Animal Science*, 70(11): 3551-3561.
26. SAS Institute. 2004. SAS 9.1 for Windows. SAS Institute, Cary, NC.
27. Souza, N.K.P., E. Detmann, S.C. Valadares Filho, V.A.C. Costa, D.S. Pina, D.I. Gomes, A.C. Queiroz and H.C. Mantovani. 2013. Accuracy of the estimates of ammonia concentration in rumen fluid using different analytical methods. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 65: 1752-1758.
28. Steinfeld, H., P., Gerber, T. Wassenaar, V. Castel, M. Rosales and C. de Haan. 2006. *Food and Agriculture Organization of the United Nations; Rome: 2006. Livestock's Long Shadow: Environmental Issues and Options.* <http://www.fao.org/3/a0701e/a0701e00.htm>.
29. Van Keulen, J.Y. and B.A. Young. 1997. Evaluation of acid insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies *Journal of Animal Science*, 44(2): 282-287.
30. Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.
31. Yalchi, T., J. Seif Davati and R. Seyyed Sharifi. 2020. Effect of nutrient synchrony on ruminal fermentation, microbial protein synthesis and nitrogen balance in sheep. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 12(1): 19-33 (In Persian).



The Effect of Oscillating Dietary Protein Concentration on Growth Performance in Fattening Male Lambs

Taher Yalchi

Assistant professor, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Animal welfare and nutrition research core, Research institute of health and safety of agricultural products, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, (Corresponding author: tahervalchi@uma.ac.ir)

Received: 23 September, 2022 Accepted: 15 November, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Crude protein is one of the most expensive components of feed and nutrients needed by animals. One of the ways to optimally use crude protein is to oscillating the level of crude protein in the diet and feeding it intermittently at intervals of one to several days. This study was conducted in order to investigate the effect of oscillating dietary protein concentration on growth performance and some rumen and blood parameters in fattening male lambs.

Material and Methods: Three diets were adjusted with crude protein of 12, 14 and 16% and with the same metabolic energy. 36 male lambs with an average weight of 23.94 ± 2.04 kg were used in four treatments in a completely randomized design. The first treatment received a diet with a crude protein level of 14%. The second to fourth treatments received diets with 12 and 16% crude protein at intervals of 24, 48 and 72 hours, respectively. Feed consumption, growth performance, feed conversion ratio, digestibility and some rumen and blood parameters were measured.

Results: No significant difference was observed in terms of feed consumption and growth performance among the treatments, although the feed conversion ratio improved in the treatment with a 48-hour crude protein consumption interval and showed a tendency to be significant compared to the control treatment ($p=0.063$). The highest digestibility of organic matter was related to the treatment with 48-hour consumption interval, which shows a tendency to be significant compared to other treatments ($p=0.091$). No significant difference was observed between experimental treatments in terms of digestibility of dry matter, crude protein and neutral detergent fiber. The highest rumen ammonia nitrogen and blood urea nitrogen were in the treatment with 48-hour crude protein consumption interval ($p<0.05$).

Conclusion: The results of this research showed that the feed conversion ratio improves to some extent when using the method of creating oscillations the crude protein level of the ration and its intermittent feeding, but it had no effect on the growth performance of male lambs and feed digestibility, as well as rumen ammonia nitrogen and blood urea nitrogen increased. Therefore, it is recommended to use this strategy in feeding fattening male lambs.

Keywords: Blood urea nitrogen, Digestibility, Fattening, Performance, Sheep



"مقاله پژوهشی"

بررسی اثر اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ روی عملکرد رشدی، متابولیت‌های خونی و شاخص‌های سلامتی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

بهرام محتشمی^۱ و حامد خلیوندی بهروزیار^۲

۱- دکتری تغذیه نشخوارکنندگان دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسوول: bahram.mohtashami@yahoo.com)

۲- دانشیار دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۹

صفحه: ۵۶ تا ۶۵

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: در گوساله‌های شیرخوار به دلیل توسعه کم شکمبه ممکن است قابلیت هضم مواد خوراکی کم باشد که از این روی می‌توان انرژی جیره را با استفاده از چربی افزایش داد. آزمایش حاضر به منظور بررسی تاثیر اسیدچرب امگا-۳ و امگا-۶ روی مصرف خوراک و فراسنجه‌های رشدی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین انجام شد.

مواد و روش‌ها: ۴۰ راس گوساله تازه متولد شده (میانگین سن ۳ روز)، به مدت ۶۰ روز، در قالب طرح تکرار شونده به ۴ تیمار شامل: (۱) خوراک آغازین گوساله بدون مکمل چربی (تیمار شاهد)، تیمار ۲) خوراک آغازین گوساله حاوی ۳ درصد مکمل چربی امگا-۶ از منشأ روغن سویا، ۳) خوراک آغازین گوساله حاوی ۳ درصد مکمل چربی امگا-۳ از منشأ روغن کتان و ۴) خوراک آغازین گوساله حاوی مکمل چربی امگا-۳ و امگا-۶ از منشأ مخلوط روغن سویا و کتان اختصاص یافتند.

یافته‌ها: مصرف استارتر طی دوره ۳۱ تا ۶۰ روزگی برای تیمار شاهد بالاتر از سایر تیمارها بود ($p=0/05$) ولی در کل دوره آزمایشی تفاوتی بین تیمارها مشاهده نشد. افزایش وزن روزانه در دوره‌های ۳۱ تا ۶۰ روزگی و کل دوره برای تیمار حاوی مکمل روغن سویا بهتر از تیمار شاهد بود ($p<0/05$). وزن بدن تیمار روغن سویا دارای بالاترین وزن در انتهای آزمایش بود. از نظر بازده خوراک تیمار مخلوط روغن‌ها دارای عملکرد بهتری نسبت به تیمار شاهد و روغن کتان بود و تفاوت معنی‌داری با تیمار روغن سویا نداشت ($p<0/05$). در همه دوره‌های آزمایشی تیمار حاوی نمک کلسیمی روغن کتان و مخلوط روغن‌ها دارای اسکور مدفوع بهتری نسبت به دو تیمار دیگر بودند ($p=0/01$). در مورد فراسنجه‌های خونی بین تیمارهای آزمایشی از لحاظ گلوکز، پروتئین کل و کلسترول و سایر فراسنجه‌ها تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. همچنین غلظت آنزیم کبدی آسپارات آمینو ترانسفراز برای تیمار حاوی روغن سویا در روز ۶۰ آزمایش نسبت به سایر تیمارها دارای کمترین مقدار بود ($p<0/01$).

نتیجه‌گیری: در کل نتایج نشان داد که استفاده از روغن سویا به‌عنوان منبع اسیدچرب امگا-۳ نسبت به روغن کتان دارای اثرات مثبت بیشتری روی عملکرد رشدی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین است.

واژه‌های کلیدی: خوراک آغازین، عملکرد، سلامتی، فراسنجه‌های خون، گوساله، مکمل چربی

مقدمه

پرورش گاو شیری در گرو موفقیت در امر پرورش گوساله است. مهم‌ترین زمان پرورش یک گوساله، از زمان تولد تا هنگام شیرگیری است. زیرا تلفات پرورش گوساله‌های شیرخوار تا سن از شیرگیری زیاد و در حدود ۸/۴ درصد گزارش شده است (۱۵). چربی موجود در خوراک مایع (شیر و جایگزین شیر) تامین کننده ۵۰ درصد از انرژی دریافتی گوساله است، اما در خوراک جامد آغازین حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد انرژی از منبع چربی تامین می‌شود (۹). مصرف چربی‌ها از لحاظ تغذیه‌ای و اقتصادی مزیت‌هایی دارد زیرا منابع چربی ارزان می‌تواند تامین کننده نیاز انرژی دام باشد و جایگزین کربوهیدرات جیره شوند. علاوه بر آن مکمل اسیدهای چرب غیر اشباع تعدیل‌کننده سیستم ایمنی گوساله‌ها خواهد بود (۱۳). در مورد نیاز گوساله‌های شیرخوار به اسیدهای چرب و تاثیر آنها بر رشد و سلامت گوساله‌ها اطلاعات گزارش نشده است. در جداول انجمن تحقیقات ملی^۱ میزان احتیاج هر یک از اسیدهای چرب برای گوساله‌ها مشخص نشده است (۵). هنگام از شیرگیری به گوساله‌ها تنش زیادی وارد می‌شود و در این زمان (سن ۴ تا ۸ هفته‌گی) با تغییر خوراک مایع به خوراک جامد، رشد و افزایش وزن روزانه برای مدتی کاهش می‌یابد. استفاده از منابع چربی در خوراک جامد احتمالاً یک راهبرد

مناسب برای جلوگیری از کاهش در عملکرد گوساله در هنگام از شیرگیری است. تغذیه چربی در شرایط تنش گرمایی به‌علت افزایش تراکم انرژی جیره و کاهش حرارت افزایشی باعث حفظ یا بهبود کارایی تولید دام می‌شود (۲۳).

روغن بذر کتان از ترکیب اسیدهای چرب مرغوب و مفیدی تشکیل شده است که به‌طور متوسط فقط ۹ درصد از آن را اسیدهای چرب اشباع تشکیل می‌دهد. بیشترین مقدار اسیدهای چرب موجود در روغن کتان مربوط به اسیدلینولیک است (۲). اسیدهای چرب امگا-۳ از لحاظ سلامتی دارای فوائد زیادی از جمله کاهش التهاب، متعادل ساختن فشار خون و همچنین کاهش سطح تری‌گلیسیرید خون می‌باشند که در جلوگیری و درمان بیماری‌های قلبی اهمیت دارد (۷). شواهد نشان می‌دهد که برخی تنش‌ها می‌تواند موجب کمبود اسیدهای چرب ضروری در بدو تولد شوند. قرار گرفتن در معرض تنش گرمایی به شدت سطح اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه را در بافت‌ها کاهش می‌دهد (۲۶). کارچر و همکاران (۱۸) گزارش کردند که گوساله‌های تغذیه شده با روغن کتان در مقایسه با گروه شاهد گرایش به افزایش وزن بیشتری داشتند.

مطالعات اندکی با اسیدهای چرب خاص در گوساله‌های نوزاد انجام شده است. کاتو و همکاران (۱۹) و گوئیپلوتو و

خوراک‌دهی گوساله‌ها به‌صورت روزانه انجام‌گرفت و باقیمانده خوراک روز قبل نیز اندازه‌گیری شد. ترکیباتی مانند ماده خشک، عصاره اتری، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی خوراک از طریق روش AOAC و ون‌سوست (۴،۲۷) اندازه‌گیری شدند.

وزن بدن در روز اول طرح، ۳۰ و ۶۰ روزگی و هنگام از شیرگیری اندازه‌گیری شد. میانگین افزایش وزن روزانه به‌صورت ماهانه و بازده خوراک نیز به‌صورت کیلوگرم افزایش وزن روزانه تقسیم‌بر کیلوگرم ماده خشک مصرفی محاسبه گردید. فراسنجه‌های رشد اسکلتی شامل ارتفاع جدوگاه، طول بدن، عمق بدن، عرض هیپ و پین و همچنین فاصله بن هیپ تا پین در روزهای ۳۰ و ۶۰ آزمایش اندازه‌گیری شد. نمره‌دهی مدفوع هرروز صبح قبل از نظافت بستر ثبت می‌شد ارزیابی مدفوع گوساله به‌عنوان یک معیار برای سلامت گوساله و همچنین اسکورهای سلامتی با استفاده از روش معرفی شده توسط دانشگاه ویسکانسین انجام شد (مک کوئیرگ، ۲۰۱۳). نمرات به‌صورت ترشحات بینی (=۰) ترشحات سروزی طبیعی؛ ۱= مقدار کمی ترشح ابری یک طرفه؛ ۲= ترشحات مخاطی دو طرفه، کدر یا بیش از حد و ۳= ترشحات مخاطی چرکی زیاد دو طرفه، امتیازات چشم (=۰) = نرمال؛ ۱= مقدار کمی ترشحات چشمی؛ ۲= مقدار متوسط ترشحات دو طرفه و ۳= ترشحات چشمی سنگین) و امتیازات گوش (=۰) نرمال؛ ۱= تکان دادن گوش یا تکان سر؛ ۲= افتادگی یک طرفه خفیف و ۳= شیب سر یا افتادگی دو طرفه) می‌باشد.

نمونه خون طی روزهای ۳۰ و ۶۰ ۳ ساعت قبل از خوراک‌دهی صبح از ورید وداج جمع‌آوری شد. نمونه خون بعد از سانتریفیوژ و جداسازی پلاسما تا انجام آنالیز در دمای ۲۰- درجه سلسیوس منجمد شد. فراسنجه‌های مورد نظر شامل گلوکز، تری‌گلیسیریدها، کلسترول، نیتروژن اورده‌ای خون، کراتینین، آلومین و پروتئین کل بودند. پس از جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار R (رویه lme) انجام گرفت (۲۲). آنالیز داده‌های مربوط به خوراک مصرفی، میانگین افزایش وزن روزانه، بازده خوراک و نمره مدفوع طی سه دوره ۳ تا ۳۰، ۳۱ تا ۶۰ و ۳ تا ۶۰ روزگی انجام گرفت. متغیرهای با اندازه‌گیری تکرار شونده شامل مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و بازده خوراک با استفاده از اثرات ثابت تیمار، زمان (روز)، جنس گوساله و اثرات تصادفی گوساله در داخل تیمار آنالیز گردید. وزن بدن و فراسنجه‌های پلاسما با استفاده از روش بالا ولی بدون اثر دوره‌های آزمایشی (اندازه‌گیری تکرار شونده) در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند. برای وزن بدن و رشد اسکلتی، اندازه اولیه به‌عنوان عامل همبسته در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی و با سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. مدل آماری به شرح زیر می‌باشد.

$$Y_{ijk} = \mu + Fat_i + T_j + (Fat \times T)_{ij} + \beta(X_i - X) + \epsilon_{ijk}$$

همکاران (۱۲) افزایش ترشحات آنزیم‌های گوارشی و افزایش وزن را هنگام تغذیه بوتیرات به گوساله‌ها گزارش کردند. کورتیس و همکاران (۸) گزارش دادند که روغن منبع امگا-۳ آنزیم‌های مرتبط با تحلیل غضروف، از جمله کاهش فاکتور نکروز تومور (TNF α)، در گوساله‌ها را کاهش می‌دهد. بالو و دپتس (۵) اثرات مکمل کردن جایگزین شیر با روغن ماهی را بررسی کردند و اثرات اندکی بر سلامت و رشد گوساله نشان دادند. زمانی که اسیدهای چرب خاص یا گروهی از اسیدهای چرب (بوتیرات، روغن نارگیل، روغن کتان) در جایگزین شیر گوساله و جیره‌های استارتر وجود داشته باشد، رشد و بازده خوراک بهبود می‌یابد (۱۴،۱۳). با افزایش روغن کتان کلسیمی شده در جیره آغازین در دوره قبل از شیرگیری، گوساله‌ها تمایل بیشتری برای مصرف خوراک داشتند، ولی در دوره‌های بعد از شیرگیری تفاوتی مشاهده نشد (۱۴). هدف از این پژوهش ارزیابی اثرات اسیدهای چرب زیست فعال طی ۶۵ روز اول زندگی روی عملکرد رشدی و سلامتی و پارامترهای خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در مجتمع دامپروری شرکت کشت و صنعت و دامپروری مغان واقع در شهرستان پارس‌آباد استان اردبیل طی ماه‌های خرداد، تیر و مرداد سال ۱۳۹۹ انجام شد. در این پژوهش از ۴۰ رأس گوساله هلشتاین تازه متولدشده (میانگین وزن ۳۹/۳ کیلوگرم) در قالب ۴ تیمار و هر تیمار شامل ۱۰ تکرار استفاده شد. گوساله‌ها در جایگاه انفرادی نگهداری شدند و برای بستر گوساله‌ها نیز از کلس استفاده گردید. بلافاصله بعد از تولد، هر گوساله ۶ لیتر آغوز را در فاصله ۱۲ ساعت در دو نوبت دریافت کردند (۳ لیتر در دو ساعت اول و ۳ لیتر در نوبت دوم). گوساله‌ها در طول دوره آزمایش دسترسی آزاد به آب و جیره استارتر داشتند. شیردهی گوساله‌ها روزانه در دو وعده صبح و عصر (۸ صبح و ۱۶ عصر) انجام گرفت. از روز ۲۱ به بعد ۱۰ درصد یونجه به جیره استارتر اضافه شد. اندازه‌گیری خوراک مصرفی گوساله‌ها به‌صورت روزانه انجام گردید. گوساله‌ها در ۳ روزگی به یکی از ۴ تیمار: ۱) استارتر گوساله بدون مکمل چربی (شاهد)، ۲) استارتر حاوی ۳ درصد نمک کلسیمی روغن سویا (امگا-۶)، ۳) استارتر حاوی ۳ درصد جیره نمک کلسیمی روغن کتان (امگا-۳) و ۴) استارتر حاوی ۳ درصد مخلوط نمک کلسیمی روغن سویا و کتان (هرکدام ۱/۵ درصد) اختصاص داده شدند. هرکدام از مکمل‌های چربی شامل ۸۳ تا ۸۵ درصد چربی و ۹ تا ۱۲ درصد کلسیم بودند.

گوساله‌ها از روز ۳ تا ۳۰ به‌مقدار ۴ لیتر شیر، از روز ۳۱ تا ۵۰ به مقدار ۶ لیتر شیر، از روز ۵۱ تا ۶۰ به مقدار ۴ لیتر شیر (روزانه دو بار) و از روز ۶۱ تا ۶۴ به مقدار ۲ لیتر شیر (یک‌بار در روز) دریافت کردند (۲۳). همه گوساله‌ها روز ۶۵ از شیرگرفته شدند. ترکیب و اجزای جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ گزارش شده است. جیره آزمایشی مورد استفاده از لحاظ پروتئین، انرژی و دیگر ترکیبات غذایی یکسان بود.

جدول ۱- ترکیب و اجزاء مواد مغذی جیره استارتر و تیمارهای آزمایشی

Table 1. Ingredient and nutrients composition of starter and experimental diets

| تیمارهای آزمایشی treatments | | | |
|----------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------|
| مخلوط روغن‌ها Mixture of oils | نمک کلسیمی روغن کتان Ca-salts of flaxseed oil | نمک کلسیمی روغن سویا Ca-salts of soybean oil | شاهد control |
| 10 | 10 | 10 | 10 |
| 40.5 | 40.5 | 40.5 | 43.2 |
| 13.3 | 13.3 | 13.3 | 13.3 |
| 26.4 | 26.4 | 26.4 | 26.1 |
| 4.5 | 4.5 | 4.5 | 4.6 |
| 1.35 | - | 2.7 | - |
| 1.35 | 2.7 | - | - |
| 0.35 | 0.35 | 0.35 | 0.35 |
| 0.9 | 0.9 | 0.9 | 1.08 |
| 0.72 | 0.72 | 0.72 | 0.72 |
| 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 |
| 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 |
| 19.7 | 19.6 | 19.7 | 19.7 |
| 5.6 | 5.6 | 5.6 | 3.0 |
| 17.9 | 17.9 | 17.9 | 18.0 |
| 10.1 | 10.0 | 10.1 | 10.0 |
| 7.9 | 7.8 | 7.7 | 7.6 |
| 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.15 |
| 0.58 | 0.57 | 0.57 | 0.58 |
| 3.14 | 3.13 | 3.12 | 3.10 |

ترکیب شیمیایی بر اساس ماده خشک
Chemical components (DM)

پروتئین خام (درصد)
Crude protein (%)

عصاره اتری (درصد)
Ether extract (%)

الیاف نامحلول در شوینده خنثی، درصد
Neutral detergent fiber (%)

الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، درصد
Acid detergent fiber (%)

خاکستر (درصد)
Ash (%)

کلسیم (درصد)
Calcium (%)

فسفر (درصد)
Phosphorus (%)

انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک)
Metabolisable energy (Mcal/kgDM)

تیمارها شامل (۱) استارتر گوساله بدون مکمل چربی (شاهد)؛ (۲) ۳ درصد نمک کلسیمی روغن سویا (امگا-۶)؛ (۳) ۳ درصد نمک کلسیمی روغن کتان (امگا-۳) و (۴) ۳ درصد مخلوط نمک کلسیمی روغن سویا و کتان.

مکمل ویتامینه و معدنی شامل: ۱۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۶۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۰/۵ گرم در کیلوگرم ویتامین B1، ۰/۵ گرم در کیلوگرم ویتامین B2، ۴۸ گرم در کیلوگرم منیزیم، ۳۵ گرم در کیلوگرم روی، ۳۰ گرم در کیلوگرم منگنز، ۲۳ گرم در کیلوگرم آهن، ۱۰ گرم در کیلوگرم مس، ۰/۶ گرم در کیلوگرم ید، ۰/۴ گرم در کیلوگرم کبالت، ۰/۱ گرم در کیلوگرم سلنیوم

¹Treatments including: (1) no supplemented fat source (control; CON), (2) 3% calcium-salts of soybean oil (Ca-SBO), (3) 3% calcium-salts of flaxseed oil (Ca-CO), and (4) 3% mixture of Ca-SBO and Ca-CO (1.5% each, DM basis; MIX).

²Vitamin and mineral supplement including: 1,000,000 international units of vitamin A, 2,000,000 international units of vitamin D3, 6,000 international units of vitamin E, 0.5 g/kg vitamin B1, 0.5 g/kg vitamin B2, 48 g/kg magnesium, 35 g per kilogram of zinc, 30 grams per kilogram of manganese, 23 grams per kilogram of iron, 10 grams per kilogram of copper, 0.6 grams per kilogram of iodine, 0.4 grams per kilogram of cobalt, 0.1 grams per kilogram of selenium.

نتایج و بحث

نتایج نشان دادند که مصرف منابع مختلف چربی تأثیر معنی‌داری روی مصرف استارتر گوساله طی دوره ۳۱ تا ۶۰ روزگی آزمایش داشت (p=۰/۰۵). تیمار شاهد نسبت به سایر

مصرف استارتر و ماده خشک مصرفی، میانگین افزایش وزن روزانه و بازده خوراک مصرفی در جدول ۲ گزارش شده است.

تأثیر کمی بر آن دارد (۲۵). در موارد زیادی مکمل چربی به دلیل افزایش ترشح هورمون سیری کوله‌سیستوکینین و کاهش حرکات شکمبه موجب کاهش مصرف خوراک می‌شود که مطابق با نتایج آزمایش حاضر می‌باشد. مک‌دائل و همکاران (۲۱) کاهش مصرف استارتر را در گوساله‌هایی که روغن ماهی را از طریق جایگزین شیر دریافت می‌کردند، گزارش کردند. نتایج بیانگر نیاز بیشتر گوساله‌ها به انرژی دریافتی است. چون در بعد از شیرگیری انرژی مورد نیاز فقط از طریق جیره آغازین تأمین می‌شود استفاده از مکمل‌های چربی سبب افزایش وزن بهتر در گوساله‌ها شد. از طرفی چون در بدن حیوانات اسیدهای چرب ضروری ساخته نمی‌شود روغن سویا باعث بهبود این صفت در گوساله‌ها در مقایسه با روغن کتان شد. با افزودن مکمل چربی به جیره، انرژی جیره افزایش یافت و به دنبال آن موجب بهبود عملکرد پروراری گوساله‌ها و بازده خوراک شد (۱۱، ۲۴).

تیمارها دارای بالاترین میانگین استارتر مصرفی بود. تیمار نمک کلسیمی روغن سویا بیشترین مقدار افزایش وزن روزانه را در کل دوره آزمایشی داشت ($p=0/04$). وزن نهایی بدن گوساله‌های دریافت کننده روغن سویا بیشتر از شاهد و تیمار مخلوط روغن‌ها بود. همچنین تیمار حاوی مخلوط روغن‌ها بازده خوراک مصرفی را بیشتر از سایر تیمارها بهبود داد ($p=0/04$). موافق با این نتایج، مصرف استارتر در گوساله‌های دریافت کننده مخلوط اسیدهای چرب ضروری با گروه شاهد یکسان بود (۲۵). در یک پژوهش، افزودن مخلوط تجاری اسیدهای چرب ضروری به استارتر گوساله‌ها سبب افزایش خوراک مصرفی و بهبود بازده خوراک گردید (۹). در پژوهشی دیگر، استارتر گوساله مکمل شده با چربی سویا سبب بهبود میانگین افزایش وزن روزانه شد (۲۴). مطالعات قبلی بیان کرده‌اند که اسیدهای چرب غیراشباع پتانسیل کاهش ماده خشک مصرفی را دارند، در حالی که اسیدهای چرب اشباع

جدول ۲- اثر اسیدچرب امگا-۳ امگا-۶ روی مصرف استارتر، وزن بدن، میانگین افزایش وزن روزانه و بازده خوراک گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 2. Effects of Omega-3 and Omega-6 fatty acids on starter intake, body weight, average daily gain and feed efficiency of weaning Holstein calves

| p-value ⁴ | | SEM ³ | | treatments تیمارهای آزمایشی ¹ | | | | |
|--------------------------|--------------|------------------|-------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------|---------------------------------|
| تیمار*زمان Treat*time | زمان Time | تیمار Treat | | مخلوط روغن‌ها Mixture of oils | نمک کلسیمی روغن کتان Ca-salts of flaxseed oil | نمک کلسیمی روغن سویا Ca-salts of soybean oil | شاهد control | متغیرها Items |
| | | | | | | | | مصرف استارتر (گرم در روز) |
| | | | | | | | | Starter intake (gr/d) |
| 0.23 | 0.02 | 0.54 | 14.88 | 66.23 | 283.5 | 186.9 | 108.6 | 0-30 d |
| 0.04 | <0.01 | 0.05 | 89.76 | 794.6 ^b | 897.1 ^{ab} | 912.8 ^{ab} | 1061.3 ^a | 31-60 d |
| <0.01 | <0.01 | 0.04 | 63.60 | 544.4 | 569.8 | 517.9 | 678.8 | 0-60 d |
| | | | | | | | | ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز) |
| | | | | | | | | Dry mater intake (kg/d) |
| 0.11 | <0.01 | 0.53 | 78.1 | 546.2 | 797.8 | 665.2 | 582.1 | 0-30 d |
| 0.19 | <0.01 | 0.03 | 151.3 | 1414.6 ^b | 1617.1 ^{ab} | 1682.3 ^a | 1787.7 ^a | 31-60 d |
| 0.28 | <0.01 | 0.04 | 108.1 | 980.4 ^b | 1093.6 ^{ab} | 1223.7 ^{ab} | 1295.7 ^a | 0-60 d |
| | | | | | | | | وزن بدن (کیلوگرم) |
| | | | | | | | | Body weight (kg) |
| - | - | 0.61 | 1.96 | 39.38 | 39.38 | 39.66 | 39.66 | 3 d |
| - | - | 0.37 | 1.83 | 50.33 | 51.50 | 52.05 | 51.16 | 30 d |
| - | - | 0.04 | 2.82 | 68.50 ^b | 70.08 ^{ab} | 73.83 ^a | 69.14 ^b | 60 d |
| | | | | | | | | افزایش وزن روزانه (گرم در روز) |
| | | | | | | | | Average daily gain (gr/d) |
| 0.11 | <0.01 | 0.70 | 0.057 | 0.361 | 0.447 | 0.380 | 0.383 | 0-30 d |
| 0.09 | <0.01 | 0.42 | 0.072 | 0.597 ^b | 0.719 ^a | 0.758 ^a | 0.469 ^b | 31-60 d |
| <0.01 | <0.01 | 0.04 | 0.041 | 0.482 ^b | 0.548 ^{ab} | 0.569 ^a | 0.492 ^b | 0-60 d |
| | | | | | | | | بازده خوراک ² |
| | | | | | | | | feed efficiency ² |
| 0.04 | <0.01 | 0.85 | 0.062 | 0.680 | 0.510 | 0.652 | 0.664 | 0-30 d |
| 0.01 | <0.01 | 0.05 | 0.065 | 0.465 ^a | 0.385 ^{ab} | 0.397 ^{ab} | 0.338 ^b | 31-60 d |
| 0.01 | <0.01 | 0.04 | 0.048 | 0.518 ^a | 0.424 ^b | 0.470 ^{ab} | 0.414 ^b | 0-60 d |

حروف غیرمشترک در هر ردیف نشانه معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

¹ تیمارها شامل شاهد: استارتر گوساله بدون مکمل چربی، نمک کلسیمی روغن سویا؛ ۳ درصد نمک کلسیمی روغن سویا (امگا-۶)، نمک کلسیمی روغن کتان؛ ۳ درصد نمک کلسیمی روغن کتان (امگا-۳) و مخلوط روغن‌ها؛ ۳ درصد مخلوط نمک کلسیمی روغن سویا و کتان.

² بازده خوراک برابر است با کیلوگرم میانگین افزایش وزن روزانه تقسیم بر کیلوگرم کل ماده خشک مصرفی.

³ SEM (Standard Error Means) اشتباه معیار میانگین

⁴ p-value سطح معنی‌داری

a,b,c, Mean values within a row with unlike superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

¹Treatments including: (1) no supplemented fat source (control; CON), (2) 3% calcium-salts of soybean oil (Ca-SBO), (3) 3% calcium-salts of flaxseed oil (Ca-CO), and (4) 3% mixture of Ca-SBO and Ca-CO (1.5% each, DM basis; MIX).

²Feed efficiency = kg of ADG to kg of total DMI.

کمتری در مقایسه با تیمار شاهد و چربی پالم بود (۱۷). استفاده از مکمل‌های دارای اسیدهای چرب غیراشباع احتمالاً به دلیل نقش آن در سیستم ایمنی باعث کاهش نمره مدفوع از روز ۳۰ به بعد آزمایش شد (۲۳). اغلب گوساله‌ها در ۲-۳ هفته اول زندگی درگیر اسهال می‌شوند. از روز ۳۰ تا ۶۰ احتمالاً به خاطر بهبود سیستم ایمنی نمره مدفوع گوساله‌ها در همه تیمارهای آزمایشی کاهش نشان داده است.

بر اساس نتایج نمره مدفوع (جدول ۳)، در همه دوره‌های آزمایشی تیمار حاوی نمک کلسیمی روغن کتان و مخلوط روغن‌ها دارای نمره مدفوع بهتری نسبت به دو تیمار دیگر بودند ($p=0/01$). تغذیه اسیدلینولنیک اثرات مثبتی روی سلامت و سیستم ایمنی گوساله‌ها داشت (۹،۱۲). گوساله‌های دریافت‌کننده روغن کتان دارای نمره مدفوع بهتری نسبت به سایر تیمارها در کل دوره آزمایشی بودند. علاوه بر این مکمل روغن کتان دارای روزهای درگیری با اسهال

جدول ۳- اثر اسیدچرب امگا-۳ و امگا-۶ روی نمره مدفوع گوساله‌های شیرخوار هلشتاین
Table 3. Effects of Omega-3 and Omega-6 fatty acids on health scores of weaning Holstein calves

| p-value ⁴ | SEM ³ | تیمارهای آزمایشی ¹ treatments | | | | متغیرها Items |
|----------------------|------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------|--------------------------------|
| | | مخلوط روغن‌ها Mixture of oils | نمک کلسیمی روغن کتان Ca-salts of flaxseed oil | نمک کلسیمی روغن سویا Ca-salts of soybean oil | شاهد control | |
| | | | | | | نمره مدفوع Fecal score |
| 0.01 | 0.02 | 0.14 ^b | 0.05 ^b | 1.04 ^a | 1.06 ^a | 0-30 d |
| 0.01 | 0.12 | 0.16 ^b | 0.16 ^b | 1.00 ^a | 1.00 ^a | 31-60 d |
| 0.01 | 0.01 | 0.05 ^b | 0.02 ^b | 1.01 ^a | 1.02 ^a | 0-60 d |
| | | | | | | ترشحات بینی Nasal discharge |
| 0.41 | 0.08 | 0.00 | 0.16 | 0.00 | 0.00 | 31-60 d |
| - | - | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0-60 d |
| | | | | | | نمره چشم Eye score |
| 0.41 | 0.08 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.16 | 31-60 d |
| 0.94 | 0.01 | 0.16 | 0.16 | 0.16 | 0.28 | 0-60 d |
| | | | | | | نمره گوش Ear score |
| 0.54 | 0.01 | 0.16 | 0.00 | 0.33 | 0.16 | 31-60 d |
| 0.34 | 0.02 | 0.00 | 0.16 | 0.00 | 0.28 | 0-60 d |

حروف غیرمشترک در هر ردیف نشانه معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

۱- تیمارها شامل شاهد: استراتر گوساله بدون مکمل چربی، نمک کلسیمی روغن سویا؛ ۳ درصد نمک کلسیمی روغن سویا (امگا-۶)، نمک کلسیمی روغن کتان؛ ۳ درصد نمک کلسیمی روغن کتان (امگا-۳) و مخلوط روغن‌ها؛ ۳ درصد مخلوط نمک کلسیمی روغن سویا و کتان.

۳ SEM (Standard Error Means) اشتباه معیار میانگین

۴ p-value سطح معنی‌داری

a,b,c, mean values within a row with unlike superscript letters were significantly different ($p < 0.05$).

1. Treatments including: (1) no supplemented fat source (control; CON), (2) 3% calcium-salts of soybean oil (Ca-SBO), (3) 3% calcium-salts of flaxseed oil (Ca-CO), and (4) 3% mixture of Ca-SBO and Ca-CO (1.5% each, DM basis; MIX).

جایگزین شیر مکمل شده با چربی نسبت به گوساله‌های تغذیه‌شده با جایگزین شیر بدون مکمل چربی تمایل به افزایش داشت (۱۲). قاسمی و همکاران با بررسی اثرات مکمل‌های چربی متفاوت در گوساله‌های شیرخوار گزارش کردند که طول بدن، عرض و ارتفاع کپل و ارتفاع جدوگاه تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفته است (۱۰). بر اساس مطالعات محققین گوساله‌های دریافت‌کننده روغن تخم کتان نسبت به سایر گروه‌ها دارای ارتفاع هیپ بالاتری بودند (۱۶). مطالعات نشان می‌دهد که مکمل چربی دارای اثرات مثبت (۹،۱۳،۱۴) و بدون اثر معنی‌دار (۳) و حتی اثرات منفی (۶) روی رشد اسکلتی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بود.

نتایج مربوط به رشد اسکلتی در جدول ۴ گزارش شده است. ارتفاع از جدوگاه، طول بدن، دور سینه و عرض هیپ و پین و همچنین فاصله هیپ تا پین در کل دوره‌های آزمایشی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. روغن‌های گیاهی که از نظر اسیدهای چرب غیراشباع زنجیر بلند غنی هستند، جهت جلوگیری از کمبود و تأمین اسیدهای نیازهای اسید لینولنیک و آلفا لینولنیک، به خصوص طی دوره دارای تنش زیاد مانند قبل از شیرگیری و تنش‌های دمایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۰). در یک پژوهش با بررسی اثرات مکمل چربی در گوساله‌های شیرخوار بیان گردید که افزودن چربی به جیره سبب افزایش طول بدن و عرض سینه شد (۱). همچنین در پژوهش دیگری عرض کپل گوساله‌های تغذیه‌شده با

جدول ۴- اثر اسیدچرب امگا-۳ و امگا-۶ روی فراسنجه‌های رشد اسکلتی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 4. Effects of Omega-3 and Omega-6 fatty acids on biometric scores of weaning Holstein calves

| p-value ⁴ | SEM ³ | تیمارهای آزمایشی ¹ treatments | | | | متغیرها Items |
|----------------------|------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------|--------------------------------|
| | | مخلوط روغن‌ها Mixture of oils | نمک کلسیمی روغن کنان Ca-salts of flaxseed oil | نمک کلسیمی روغن سویا Ca-salts of soybean oil | شاهد control | |
| | | | | | | ارتفاع جدوگاه Wither height |
| 0.88 | 1.57 | 86.50 | 88.00 | 87.83 | 88.00 | 30 d |
| 0.83 | 1.40 | 93.33 | 95.00 | 94.33 | 94.57 | 60 d |
| | | | | | | طول بدن Body length |
| 0.53 | 1.73 | 71.00 | 71.16 | 74.16 | 71.33 | 30 d |
| 0.85 | 1.57 | 81.33 | 82.33 | 83.00 | 81.42 | 60 d |
| | | | | | | عمق بدن Body barrel |
| 0.39 | 0.18 | 85.16 | 86.50 | 87.66 | 85.16 | 30 d |
| 0.52 | 1.62 | 95.66 | 99.33 | 97.00 | 97.00 | 60 d |
| | | | | | | عرض هیپ Hip width |
| 0.79 | 0.51 | 22.66 | 22.83 | 23.16 | 23.33 | 30 d |
| 0.66 | 0.63 | 25.50 | 25.16 | 26.16 | 26.00 | 60 d |
| | | | | | | عرض پین Pin width |
| 0.54 | 0.24 | 9.17 | 9.50 | 9.66 | 9.50 | 30 d |
| 0.28 | 0.36 | 10.33 | 10.83 | 11.16 | 10.28 | 60 d |
| | | | | | | هیپ تا پین Hip to Pin |
| 0.99 | 0.56 | 28.01 | 28.00 | 28.00 | 28.16 | 30 d |
| 0.54 | 0.24 | 30.00 | 31.16 | 31.00 | 31.16 | 60 d |

¹ تیمارها شامل شاهد: استراتر گوساله بدون مکمل چربی، نمک کلسیمی روغن سویا؛ ۳ درصد نمک کلسیمی روغن سویا (امگا-۶)، نمک کلسیمی روغن کنان؛ ۳ درصد نمک کلسیمی روغن کنان (امگا-۳) و مخلوط روغن‌ها؛ ۳ درصد مخلوط نمک کلسیمی روغن سویا و کنان.

³ SEM (Standard Error Means) اشتباه معیار میانگین

⁴ p-value سطح معنی داری

a,b,c, Mean values within a row with unlike superscript letters were significantly different ($p < 0.05$).

¹Treatments including: (1) no supplemented fat source (control; CON), (2) 3% calcium-salts of soybean oil (Ca-SBO), (3) 3% calcium-salts of flaxseed oil (Ca-CO), and (4) 3% mixture of Ca-SBO and Ca-CO (1.5% each, DM basis; MIX).

اما برخلاف این مطلب، در پژوهشی دیگر بیان شد که مکمل‌های مختلف چربی تأثیری روی پروتئین خون ندارد که ممکن است مربوط به ترکیب اسیدهای چرب و یا سطح چربی مصرف‌شده در آزمایش باشد (۳). تیمارهای شاهد و روغن کنان دارای غلظت سرمی بالاتری از پروتئین کل در روزهای ۳۰ و ۶۰ آزمایش نسبت به دو تیمار دیگر بودند. از لحاظ غلظت تری گلیسیرید تیمار حاوی روغن سویا به طور معنی‌داری دارای سطح بالاتری نسبت به تیمار روغن کنان و مخلوط روغن‌ها بود. اوره خون تیمار حاوی روغن کنان و مخلوط روغن‌ها نسبت به تیمار روغن سویا بالاتر بود (روز ۶۰ آزمایش، $p = 0.01$).

نتایج نشان داد که غلظت آسپاراتات آمینو ترانسفراز (ALT)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) در طول دوره آزمایش تحت تأثیر تیمارهای مختلف قرار گرفت. به این صورت که غلظت آسپاراتات آمینو ترانسفراز برای تیمار حاوی روغن سویا پایین‌ترین مقدار ($p < 0.01$) و در مورد لاکتات دهیدروژناز هم تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها دارای پایین‌ترین مقدار بود ($p = 0.03$). غلظت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) نیز دارای تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی نبود. افزایش تقاضا برای سنتز لیپوپروتئین‌ها

نتایج مربوط به فراسنجه‌های خونی در جدول ۵ گزارش شده است. پروفایل متفاوت اسیدهای چرب غلظت اکثر فراسنجه‌های خونی را تحت تأثیر قرار دادند. غلظت گلوکز سرم در انتهای دوره آزمایشی برای تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود ($p = 0.04$). غلظت کلسترول هم برای تیمار حاوی روغن سویا در روزهای ۳۰ و ۶۰ آزمایش نسبت به سایر تیمارها پایین‌تر بود ($p < 0.01$). در مورد آلبومین نیز تیمار حاوی روغن سویا در روز ۶۰ آزمایش دارای مقدار پایین‌تری بود ($p < 0.01$). پاسخ‌های متفاوتی در زمینه مصرف مکمل چربی در گوساله‌های شیرخوار گزارش شده است. محققین نشان دادند مصرف اسیدهای چرب در دوره‌ی بعد از شیرگیری باعث کاهش گلوکز شد (۱۴). کدخدایی و همکاران (۱۷) بیان دادند که مکمل کردن جیره با منابع مختلف چربی هیچ تأثیر معنی‌داری روی غلظت گلوکز خون نداشت. کاهش پروتئین سرم هنگام افزودن مکمل چربی می‌تواند به انتقال چربی خون ارتباط داشته باشد. در نشخوارکنندگان، چربی‌ها به صورت آلفا و بتا لیپوپروتئین‌ها و همچنین کالومایکرون‌های تولیدشده در دیواره روده کوچک منتقل می‌شوند. افزایش تقاضا برای سنتز لیپوپروتئین‌ها می‌تواند سبب کاهش پروتئین کل شود (۲۲).

گرمایی بسیار مهم باشد. بنابراین نتایج ما نشان می‌دهد که مکمل کردن جیره استارتر با نمک کلسیمی روغن کتان و ماهی که غنی از اسیدچرب امگا-۳ هستند، می‌تواند وضعیت ایمنی گوساله را در شرایط تنش گرمایی بهبود بخشد که این اثرات مثبت در مورد مکمل روغن کتان بیشتر می‌باشد.

می‌تواند سبب کاهش پروتئین کل شود (۱۳). اما برخلاف این مطلب، بیان کردند که مکمل‌های مختلف چربی تأثیری روی پروتئین خون ندارد که ممکن است مربوط به ترکیب اسیدهای چرب و یا سطح چربی مصرف‌شده در آزمایش باشد (۵). همانطور که در پژوهش هیل و همکاران (۱۴) اشاره شد نسبت بالا امگا-۳ می‌تواند در شرایط تنش

جدول ۵- اثر اسیدچرب امگا-۳ و امگا-۶ روی فراسنجه‌های خونی و آنزیم‌های کبدی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 5. Effects of Omega-3 and Omega-6 fatty acids blood metabolites and liver enzymes of weaning Holstein calves

| p-value ⁴ | SEM ³ | تیمارهای آزمایشی ¹ treatments | | | | متغیرها Items |
|----------------------|------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| | | مخلوط روغن‌ها Mixture of oils | نمک کلسیمی روغن کتان Ca-salts of flaxseed oil | نمک کلسیمی روغن سویا Ca-salts of soybean oil | شاهد control | |
| <0.01 | 4.71 | 84.00 ^b | 79.50 ^b | 107.3 ^a | 104.8 ^a | گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Glucose (mg/dl) |
| 0.04 | 6.36 | 56.33 ^c | 77.50 ^{ab} | 63.16 ^{ab} | 81.85 ^a | 30 d 60 d |
| <0.01 | 5.50 | 76.16 ^b | 94.66 ^a | 58.66 ^c | 84.83 ^{ab} | کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Cholesterol (mg/dl) |
| <0.01 | 7.98 | 96.33 ^a | 79.83 ^a | 38.00 ^b | 86.43 ^a | 30 d 60 d |
| 0.03 | 0.11 | 2.64 ^{ab} | 2.84 ^a | 2.48 ^b | 2.77 ^{ab} | آلبومین (گرم در دسی‌لیتر) Albumin (g/dl) |
| <0.01 | 0.12 | 2.72 ^{bc} | 3.11 ^a | 2.47 ^c | 3.07 ^{ab} | 30 d 60 d |
| 0.01 | 0.25 | 5.14 ^b | 6.06 ^a | 5.13 ^b | 5.64 ^a | پروتئین کل (گرم در دسی‌لیتر) Hip width (g/dl) |
| <0.01 | 0.22 | 5.33 ^b | 6.21 ^a | 5.39 ^b | 6.26 ^a | 30 d 60 d |
| 0.05 | 3.18 | 14.83 ^{ab} | 10.16 ^b | 19.33 ^a | 22.33 ^a | تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Dsi width (mg/dl) |
| 0.05 | 3.40 | 11.83 ^b | 12.66 ^b | 21.83 ^a | 16.85 ^{ab} | 30 d 60 d |
| 0.79 | 1.52 | 19.20 | 18.70 | 19.23 | 20.75 | اوره (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Urea (mg/dl) |
| 0.01 | 1.98 | 22.91 ^a | 18.93 ^a | 15.25 ^b | 17.18 ^b | 30 d 60 d |
| 0.67 | 5.55 | 46.00 | 40.33 | 36.83 | 38.50 | آسپارات آمینوترانسفراز (واحد در لیتر) Aspartate transaminase (U/l) |
| <0.01 | 3.62 | 36.83 ^{bc} | 44.50 ^{ab} | 29.50 ^c | 47.00 ^a | 30 d 60 d |
| 0.69 | 0.47 | 7.33 | 9.16 | 8.00 | 5.16 | آلانین آمینوترانسفراز (واحد در لیتر) Alanine transaminase (U/l) |
| 0.74 | 1.59 | 8.33 | 10.66 | 8.66 | 5.42 | 30 d 60 d |
| 0.03 | 168 | 1275 ^a | 1129 ^a | 1147 ^a | 721.1 ^b | لاکتات دهیدروژناز (واحد در لیتر) Lactate dehydrogenase (U/l) |
| 0.95 | 143 | 1020 | 1042 | 933.6 | 994.0 | 30 d 60 d |
| 0.04 | 0.07 | 0.91 ^b | 1.12 ^a | 0.98 ^a | 1.04 ^a | کراتینین (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Creatinine (mg/dl) |
| 0.48 | 0.05 | 0.87 | 0.92 | 0.98 | 0.94 | 30 d 60 d |

حروف غیرمشترک در هر ردیف نشانه معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

¹ تیمارها شامل شاهد: استارتر گوساله بدون مکمل چربی، نمک کلسیمی روغن سویا: ۳ درصد نمک کلسیمی روغن سویا (امگا-۶)، نمک کلسیمی روغن کتان: ۳ درصد نمک کلسیمی روغن کتان (امگا-۳) و مخلوط روغن‌ها: ۳ درصد مخلوط نمک کلسیمی روغن سویا و کتان.

³ SEM (Standard Error Means) اشتباه معیار میانگین

⁴ P-value سطح معنی‌داری

a,b,c. Mean values within a row with unlike superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

¹Treatments including: (1) no supplemented fat source (control; CON), (2) 3% calcium-salts of soybean oil (Ca-SBO), (3) 3% calcium-salts of flaxseed oil (Ca-CO), and (4) 3% mixture of Ca-SBO and Ca-CO (1.5% each, DM basis; MIX).

نتیجه گیری کلی

یافته‌های پژوهش حاضر پیشنهاد می‌دهد که مکمل نمک کلسیمی روغن سویا که غنی از اسیدچرب امگا-۶ می‌باشد، در جیره استارتر گوساله (۳ درصد بر اساس ماده خشک) موجب افزایش میانگین افزایش وزن روزانه و عملکرد رشدی نسبت به سایر تیمارها گردید. نمک کلسیمی روغن کتان که منشأ اسیدهای چرب امگا-۳ می‌باشد، سبب بهبود نمره مدفوع و سلامت گوساله‌ها شد.

آنزیم‌های کبدی که یکی از علائم نشان‌دهنده وضعیت سلامت حیوان است در تیمار حاوی نمک کلسیمی روغن سویا نسبت به سایر تیمارها غلظت پایین‌تری داشت که بیانگر وضعیت سلامت بهتری برای این گروه می‌باشد. درکل براساس نتایج آزمایش حاضر استفاده از مکمل امگا-۶ با منشأ نمک کلسیمی روغن سویا به میزان ۳ درصد در جیره استارتر گوساله‌ها در شرایط عادی پرورش توصیه می‌شود.

منابع

- Ahmadian, A., F. Fattahnia, G. Taasoli, M. Akbari-Gharaei and M. Kazemi-Bonchenari. 2018. Effect of fat supplementation (Ca-salts) in starter diets differed in rumen undegradable protein levels on performance, growth and blood metabolites of Holstein calves. *Iranian Journal of Animal Science*, 49: 133-143 (In Persian).
- Ambrose, D.J., J.P. Kastelic, R. Corbett, P.A. Pitney, H.V. Petit, J.A. Small and P. Zalkovic. 2006. Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in alpha-linolenic acid. *Journal of Dairy Science*, 893066-3074.
- Association of Official Analytical Chemists. 1990. Official methods of analysis. (15th ed). AOAC, Arlington, VA.
- Araujo, G., M. Terré and A. Bach. 2014. Interaction between milk allowance and fat content of the starter feed on performance of Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 97: 6511-6518.
- Ballou, M.A. and E.J. DePeters. 2008. Supplementing milk replacer with omega-3 fatty acids from fish oil on immunocompetence and health of Jersey calves. *Journal of Dairy Science*, 91: 3488-3500.
- Calder, P.C. 2008. The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function. *Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids*, 79: 101-108.
- Chan, J.M., P.H. Gann and E.L. Giovannucci. 2005. Role of diet in prostate cancer development and progression. *Journal of Clinical Oncology*, 23: 8152-8160.
- Curtis, C.L., C.E. Hughes, C.R. Flannery, C.B. Little, J.L. Harwood and B. Caterson. 2000. n-3 fatty acids specifically modulate catabolic factors involved in articular cartilage degradation. *Journal of Biological Chemistry*, 275: 721-724.
- Garcia, M., J. Shin, A. Schlaefli, L. Greco, F. Maunsell, J. Santos, C. Staples and W. Thatcher. 2015. Increasing intake of essential fatty acids from milk replacer benefits performance, immune responses, and health of preweaned Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 98: 458-477.
- Ghasemi, E., M. Azad-Shahraki and M. Khorvash. 2017. Effect of different fat supplements on performance of dairy calves during cold season. *Journal of Dairy Science*, 100: 1-10.
- Gudla, P., A. AbuGhazaleh, A. Ishlak and K. Jones. 2012. The effect of level of forage and oil supplement on biohydrogenation intermediates and bacteria in continuous cultures. *Animal Feed Science and Technology*, 171: 108-116.
- Guilloteau, P., R. Zabielski, J.C. David, J.W. Blum, J.A. Morisset, M. Biernat, J. Woliński, D. Laubitz and Y. Hamon. 2009. Sodium butyrate as a growth promoter in milk replacer formula for young calves. *Journal of Dairy Science*, 92: 1038-1049.
- Hill, T.M., J.M. Aldrich, R.L. Schlotterbeck and H.G. Bateman II. 2007a. Effects of changing the fat and fatty acid composition of milk replacers fed to neonatal calves. *The Professional Animal Scientist*, 23: 135-143
- Hill, T.M., H.G. Bateman II, J.M. Aldrich and R.L. Schlotterbeck. 2009. Effects of changing the essential and functional fatty acid intake of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 92: 670-676.
- Hill, T., H. Bateman, J. Aldrich and R. Schlotterbeck. 2011a. Effect of various fatty acids on dairy calf performance. *The Professional Animal Scientist*, 27: 167-175.
- Holt, S.D. 2014. Ambient temperature, calf intakes, and weight gains on preweaned dairy calves. MS thesis. *Animal, Dairy and Veterinary Sciences*, Utah State University, Logan. Accessed Jun. 10: 2014.
- Kadkhoday, A., A. Riasia, M. Alikhani, M. Dehghan-Banadaky and R. Kowsar. 2017. Effects of fat sources and dietary C18:2 to C18:3 fatty acids ratio on growth performance, ruminal fermentation and some blood components of Holstein calves. *Livestock Science*, 204: 71-77.
- Karcher, E.L., T.M. Hill, H.G. Bateman, R.L. Schlotterbe, N. Vito, L.M. Sordillo and M.J. VandeHaar. 2014. Comparison of supplementation of n-3 fatty acids from fish and flax oil on cytokine gene expression and growth of milk-fed Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 97: 2329-2337.

19. Kato, S., N. Asakawa, H. Mineo and J. Ushijima. 1989. Effect of short-chain fatty acids on pancreatic exocrine secretion in calves aged 2 weeks and 13 weeks. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 51:123-127.
20. Litherland, N., D. Da Silva, R. LaBerge, J. Schefers and A. Kertz. 2014. Supplemental fat for dairy calves during mild cold stress. *Journal of Dairy Science*, 97: 2980-2989
21. McDonnell R.P., V.O. John Doherty et al. 2019. Effect of supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and/or β -glucans on performance, feeding behavior and immune status of Holstein Friesian bull calves during the pre- and postweaning periods. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10: 7.
22. Mohtashami, B. and A. Hashemi. 2018. Experimental design and statistical analysis with R. Urmia university publication.
23. Mohtashami, B., H. Khalilvandi-Behroozyar, R. Pirmohammadi, M. Dehghan-Banadaky, M. Kazemi-Bonchenari, E. Dirandeh and M. Ghaffari. 2021. Effect of bioactive fatty acids on growth performance of milk-fed Holstein dairy calves under cold stress. *Research on Animal Production*, 12(33): 65-73.
24. Mohtashami, B., H. Khalilvandi-Behroozyar, R. Pirmohammadi, M. Dehghan-Banadaky, M. Kazemi-Bonchenari, E. Dirandeh and M. Ghaffari. 2021. The effect of supplemental bioactive fatty acids on growth performance and immune function of milk-fed Holstein dairy calves during heat stress. *British Journal of Nutrition*, 1-14.
25. Palmquist, D.L. 2010. Essential fatty acids in ruminant diets. In: Proceedings of the 21st Annual Ruminant Nutrition Symposium. 2-3 February, Gainesville, FL.
26. Torbatinejad, N.M. and F. Moslemipour. 2010. Fat in Animal Nutrition. Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University publication.
27. Van Soest, P.V., J. Robertson and B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.

Effect of Omega-3 and Omega-6 Fatty Acid on Growth Performance, Blood Metabolites and Health indicators of Weaning Holstein Calves

Bahram Mohtashami¹ and Hamed Khalilvandi Behrouzfar²

1- PhD of Animal Nutrition, Urmia university, (Corresponding author: bahram.mohtashami@yahoo.com)

2- Associate Professor of Urmia University

Received: 17 October, 2022

Accepted: 9 January, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: In Suckling calves, due to the low development of rumen, the digestibility of food may decrease, so the energy of the diet can be increased by adding fat sources. The present experiment was conducted to investigate the effect of omega-3 and omega-6 fatty acids on feed intake and growth parameters of Holstein calves.

Material and Methods: A total of 40 newborn calves (average age 3 days), for 60 days, in the form of a repeated design to 4 treatments including: (1) no supplemented fat source (control; CON), (2) 3% calcium-salts of soybean oil (Ca-SBO), (3) 3% calcium-salts of flaxseed oil (Ca-CO), and (4) 3% mixture of Ca-SBO and Ca-CO (1.5% each, DM basis; MIX). The study continued 66 days and the calves were gradually weaned during 61-65 days of age.

Results: The starter intake during the period of 31 to 60 days for the control treatment was higher than the other treatments ($p=0.05$), but no differences were observed among the treatments in the entire experimental period. The daily weight gain in the periods of 31 to 60 days and the whole period for the treatment containing soybean oil supplement was better than the control treatment ($p<0.05$). Regarding body weight, soybean oil treatment had the highest weight at the end of the experiment. In terms of feed efficiency, mixed oil treatment had better performance than the control and flaxseed oil treatment, and it was not significantly difference with soybean oil treatment ($p<0.05$). Regarding blood metabolites, a significant differences were observed between experimental treatments in terms of glucose, total protein, cholesterol and other metabolites. Also, the liver enzyme concentration of aspartate aminotransferase for the treatment containing soybean oil on the 60th day of the experiment was the lowest compared to other treatments ($p<0.01$).

Conclusion: In general, the results showed that the use of soybean oil as a source of omega-3 fatty acids has more positive effects on the growth performance of Holstein suckling calves than flaxseed oil.

Keywords: Blood metabolites, Calf, Fat supplement, Health, Performance, Starter feed



"مقاله پژوهشی"

مقایسه‌ی اثر استفاده از بافر شیمیایی و باکتری‌های مصرف‌کننده اسید بر قابلیت هضم و تخمیر، عملکرد رشد و کیفیت گوشت بره‌های تغذیه شده با جیره‌های پرکنسانتره

فرشته وفایی^۱، مرتضی چاجی^۲ و امید خراسانی^۳

۱- دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد 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@asnruk.ac.ir)
۳- دکتری تغذیه دام، هنرستان خوارزمی دزفول
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۸/۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۲۷
صفحه: ۶۶ تا ۷۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: جیره‌های پر کنسانتره به سرعت در شکمبه تجزیه می‌شوند و با تولید سریع و زیاد اسیدلاکتیک pH شکمبه را کاهش می‌دهند. استفاده از بافر شیمیایی یا بیولوژیکی باعث بهبود شرایط هضم و تخمیر در جیره‌ی با کنسانتره بالا می‌شود. بر این اساس این پژوهش با هدف مقایسه‌ی تاثیر استفاده از باکتری مصرف‌کننده اسید به‌عنوان تنظیم‌کننده pH (بافر بیولوژیکی) و بافر شیمیایی برای بهبود قابلیت هضم و تخمیر جیره‌های پرکنسانتره انجام شد.

مواد و روش‌ها: در آزمایش حاضر از ۲۱ رأس بره نر پرواری عربی با میانگین وزن $2/50 \pm 34/35$ کیلوگرم و میانگین سن 1 ± 8 ماه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۷ تکرار به مدت ۵۰ روز استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره شاهد (۷۰ درصد کنسانتره و ۳۰ درصد علوفه، بدون بافر و باکتری)، ۲- جیره شاهد + یک درصد بافر بیکربنات سدیم، ۳- جیره شاهد + سه میلی‌لیتر باکتری مگاسفرا السدنی به‌همراه دو گرم مخمر ساکارومایسس سرویسیه (باکتری-مخمر) بودند. مصرف خوراک، قابلیت هضم مواد مغذی، عملکرد پروار، فراسنجه‌های خونی و تخمیری شکمبه، جمعیت پروتوزوا، و برخی ویژگی‌های کیفی گوشت اندازه‌گیری شدند. در پایان دوره، بره‌ها کشتار و اجزای لاشه مورد تجزیه و وزن‌کشی قرار گرفت.

یافته‌ها: قابلیت هضم مواد مغذی و عملکرد رشد تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. جمعیت پروتوزوای شکمبه در تیمار دریافت‌کننده‌ی باکتری-مخمر نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0/05$). غلظت نیتروژن آمونیاکی و pH شکمبه تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت، به‌طوری که در تیمارهای حاوی بافر شیمیایی و یا بیولوژیکی نسبت به شاهد pH شکمبه افزایش و نیتروژن آمونیاکی کاهش یافت. اما فراسنجه‌های خونی و کبدی، ویژگی‌های لاشه نظیر اندازه و وزن قطعات لاشه، شاخص‌های رنگ سنجی گوشت تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

نتیجه‌گیری: در کل، نتایج آزمایش حاضر نشان داد که استفاده از باکتری مصرف‌کننده اسید به‌عنوان تنظیم‌کننده pH، اثراتی قابل رقابت با بافر بیکربنات حتی در مواردی بهتر دارد.

واژه‌های کلیدی: باکتری مگاسفرا السدنی، بیکربنات سدیم، پروتوزوای شکمبه، فراسنجه‌های خونی، ساکارومایسس سرویسیه، ویژگی‌های لاشه

مقدمه

تغییر می‌دهد و ممکن است باعث بروز اسیدوز شود؛ اسیدوز نوعی اختلال گوارشی است که در اثر مصرف ناگهانی کربوهیدرات‌های با قابلیت تخمیر بالا در شکمبه ایجاد می‌شود (۴). اختلال اسیدوز سالانه خسارات فراوانی را به صنعت پرورش حیوانات نشخوارکننده نظیر گاو شیری، گاو گوشتی و گوسفند وارد می‌سازد. برای جلوگیری از به‌وجود آمدن مشکلات ناشی از مصرف جیره با کنسانتره بالا راه‌کارهایی را می‌توان به‌کار برد، از جمله اینکه جیره غذایی را مدیریت کرده و بین میزان الیاف و اندازه‌ی ذرات خوراک تعادل برقرار کرد، از بافرهایی که خنثی‌کننده‌ی pH هستند برای کنترل pH شکمبه استفاده شود. مشخص شده که استفاده از بافر بی‌کربنات سدیم در جیره‌ی دام‌ها از راه‌های مختلف آسیب‌های حاصل از بروز اسیدوز حاد و تحت حاد شکمبه‌ای را برطرف کرده و یا کاهش می‌دهد (۲۲). همچنین به‌منظور کنترل فرآیند تخمیر شکمبه‌ای، جمعیت باکتری‌های تولیدکننده و مصرف‌کننده‌ی اسید کنترل شود (۷، ۲۸). گونه‌های مختلف مگاسفرا السدنی قادر به مصرف اسیدهای چرب فرار به ویژه اسید لاکتیک در شرایط اسیدوز هستند (۳۷). آن‌ها با محیط طبیعی شکمبه سازگار هستند و

در سیستم‌های مدرن تولیدی به‌منظور دستیابی به بیشینه تولید، نشخوارکنندگان از رژیم‌های غذایی با غلات بالا استفاده می‌کنند تا مصرف انرژی و بهره‌وری را به‌حداکثر برسانند، با این حال سیستم هضم و متابولیسم آن‌ها با جیره‌های غذایی که دارای علوفه زیادی هستند سازگار است (۱۷). هنگامی که از جیره‌های حاوی نسبت زیادی دانه (ذرت، جو یا سورگوم) استفاده می‌شود، این مواد به‌سرعت در شکمبه تجزیه می‌شوند و با سرعت بسیار بالایی به اسیدلاکتیک تبدیل می‌شوند که بیش از ظرفیت جذب شکمبه است و موجب کاهش pH شکمبه می‌شود (۱۷). بنابراین با تغییر در جیره‌ی غذایی و استفاده از کنسانتره زیاد، سطح اسیدلاکتیک به‌میزان غیرقابل قبولی افزایش می‌یابد؛ زیرا باکتری‌های مصرف‌کننده اسیدلاکتیک امکان افزایش سریع جمعیت را نسبت به میزان اسید تولیدشده ندارند. به این ترتیب، جمعیت باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک با مصرف جیره‌های غذایی که حاوی مقدار زیادی کنسانتره هستند افزایش می‌یابد (۲۴). جذب اسیدلاکتیک در سیستم گردش خون، فعالیت شکمبه، تعادل اسید و باز و نیز تعادل آب و مصرف غذا را

آموزشی - پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. در آزمایش حاضر از ۲۱ راس بره‌ی نر پرواری عربی 1 ± 8 ماهه با میانگین وزن اولیه‌ی $2/50 \pm$ کیلوگرم $34/35$ استفاده شد. طول دوره آزمایش ۵۰ روز شامل ۱۴ روز دوره‌ی عادت پذیری و ۳۶ روز دوره‌ی نمونه برداری و آزمایش بود. قبل از آغاز پژوهش همه‌ی بره‌ها برای پیشگیری از آلودگی با انگل‌های بیرونی (یک میلی لیتر آزانتول ۱۰ درصد در هفت لیتر آب به روش اسپری؛ شرکت بایر آلمان)، انگل‌های داخلی (تریکلاندازول با لومامیزل، ۱۲ میلی لیتر برای هر بره؛ شرکت دارو پخش ایران) و ابتلا به آنترتوکسمی (واکسن آنترتوکسمی، سه میلی لیتر برای هر بره، موسسه‌ی تحقیقاتی واکسن و سرم سازی رازی-ایران) واکسینه شدند. بره‌ها در قفس‌های متابولیکی ($1/2 \times 1/4$ متری) نگهداری شدند.

بره‌ها بصورت تصادفی گروه بندی شدند و هر گروه به یکی از سه تیمار شامل: ۱- جیره‌ی شاهد (فاقد افزودنی)، ۲- جیره شاهد + بافر بی کربنات سدیم (یک درصد جیره روزانه به صورت سرک در دو وعده غذایی)، ۳- جیره شاهد + مخمر ساکرومایسس سرویسیه (دو گرم در روز به ازاء هر دام، حاوی 10^9 cfu/g) که به صورت محلول با باکتری مگاسفرا/السدنی (سه میلی لیتر به ازاء هر دام، حاوی 10^8 cfu/ml) در $4/5$ در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر که هر روز صبح به صورت مستقیم (DFM) به هر دام خوراند می‌شد، اختصاص یافتند (۲۲، ۲۶).

بافر بی کربنات سدیم استفاده شده از شرکت کیمیا سپاهان (اصفهان-ایران)، مخمر ساکرومایسس سرویسیه از شرکت خمیر مایه خوزستان (دزفول-ایران) تهیه شد. باکتری‌های مگاسفرا/السدنی (10^8 cfu/ml) از بز نجدی جداسازی و تهیه شد (۲۹).

شرایط تغذیه و مدیریت پرورش بره‌های انتخاب شده قبل از آزمایش یکسان بود. جیره‌ی بره‌ها با استفاده از جداول احتیاجات مواد مغذی نشخوارکنندگان کوچک (۳۱) تنظیم شدند و به صورت کاملاً مخلوط به نسبت ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد کنسانتره در دو نوبت (ساعت هشت صبح و چهار عصر) در حد اشتها به همراه دسترسی آزاد به آب در اختیار بره‌ها قرار گرفت (جدول ۱).

امکان تقویت اثر آن‌ها با مخمر ساکرومایسس سرویسیه در مقایسه با بافرهای شیمیایی وجود دارد (۴۰)، لذا، استفاده از آن‌ها می‌تواند بیشتر مورد توجه قرار گیرد. مخمر ساکرومایسس سرویسیه با حذف اکسیژن محیط شکمبه و آزاد سازی برخی آنزیم‌های ضروری، ویتامین‌ها و سایر مواد مغذی و فاکتورهای رشد می‌تواند جمعیت مگاسفرا/السدنی را توسعه دهد و استفاده از لاکتات را افزایش دهد (۲۱، ۲۲، ۱۱). لذا، استفاده هم‌زمان از آن‌ها به همراه گونه‌های باکتریایی، از جمله مگاسفرا/السدنی، عمل این باکتری‌ها را تقویت خواهد کرد. از طرفی استفاده از این مخمر به همراه مگاسفرا/السدنی، در مقایسه با بافرهای شیمیایی می‌تواند در کاهش التهاب ناشی از اسیدوز نیز موثر باشد (۲۳، ۵).

با مصرف مستقیم باکتری در جیره‌ی پرکنسانتره‌ی گونه‌های مختلف بهبود وزن لاشه گزارش شده است (۱۰). در جیره‌ی با کنسانتره‌ی بالا، باکتری مگاسفرا/السدنی باعث جریان بیشتر گلوکز به سلول‌ها در بافت‌های اسکلتی شده و احتمالاً می‌تواند بر خصوصیات گوشت تاثیرگذار باشد (۲۱، ۱۵). نشان داده شده است که مخمر ساکرومایسس سرویسیه می‌تواند بر متابولیسم چربی و پروتئین در نشخوارکنندگان تاثیر گذاشته و بیشترین تاثیر را بر کیفیت تولیدات داشته باشد (۱۴).

اگر با استفاده از مصرف یک ماده قابل دسترس نظیر بافرهای شیمیایی (نظیر بی کربنات سدیم) یا مواد بیولوژیکی (نظیر باکتری‌های مصرف‌کننده‌ی اسید و غیره) با حفظ سلامت شکمبه، محیطی مناسب برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها تامین شود، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک بهبود می‌یابد و از بروز مشکلاتی نظیر لنگش و یا مشکلاتی که ممکن است تا زمان کشتار مشخص نشود جلوگیری کند (۵). بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی مقایسه‌ای تاثیر بافر بی کربنات سدیم و باکتری مصرف‌کننده اسید لاکتیک (مگاسفرا/السدنی) + مخمر ساکرومایسس سرویسیه بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی و خصوصیات لاشه در جیره با کنسانتره بالا در بره‌های پرواری عربی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش‌های حاضر در آزمایشگاه‌ها و ایستگاه

جدول ۱- اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره پایه

Table 1. Feed ingredients and chemical composition of the experimental diet

| مقدار (درصد) Amount (%) | مواد خوراکی Feed ingredients |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 20.1 | علوفه یونجه (hay Alfalfa) |
| 9.9 | کاه گندم (Wheat straw) |
| 30 | دانه جو (Barley grain) |
| 21 | دانه ذرت (corn grain) |
| 12.35 | کنجاله سویا (Soybeans meal) |
| 5.5 | سبوس گندم (Wheat bran) |
| 0.4 | کربنات کلسیم (Calcium carbonate) |
| 0.25 | نمک (Salt) |
| 0.50 | مکمل ویتامین - مواد معدنی (Vitamin and mineral supplements) ^۱ |
| | ترکیبات شیمیایی (درصد) (Chemical composition) |
| 89.1 | ماده خشک (Dry matter) |
| 94.8 | ماده آلی (Organic matter) |
| 5.17 | خاکستر (Ash) |
| 16.1 | پروتئین خام (Crude protein) |
| 2.7 | عصاره اتری (Ether extract) |
| 2.65 | انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک) ^۲ ME ^d (Mcal/kg DM) |
| 29 | الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDFom) ^۳ |
| 16.5 | الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ^۴ (ADFom) |
| 47.03 | کربوهیدرات‌های غیر الیافی ^۵ (Non-fiber carbohydrates) |

^۱هر کیلوگرم مکمل ویتامین - مواد معدنی حاوی ۵۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۱۸۰ گرم کلسیم، ۶۰ هزار میلی‌گرم فسفر، ۶۰ هزار میلی‌گرم سدیم، ۱۹ هزار میلی‌گرم منیزیم، ۳ هزار میلی‌گرم روی، ۳ هزار میلی‌گرم آهن، ۱۹ هزار میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم کروم، ۱ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۴۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان.

^۲ محاسبه شده از اجزاء تشکیل دهنده جیره

^۳Premix contained (per kg): Vitamin A, 500,000 IU/mg; vitamin D₃, 10000 IU/mg; vitamin E, 100 mg/kg; Ca, 180 g/kg; P, 60000 mg/kg; Na, 60000 mg/kg; Mg, 19000 mg/kg; Zn, 3000 mg/kg; Fe, 3000 mg/kg; Mn, 19000 mg/kg; Cu, 300 mg/kg; Co, 100 mg/kg; Se, 1 mg/kg; I, 100 mg/kg; antioxidant, 400 mg/kg; carrier, up to 1000 g.

^۴ Calculated from each feed ingredients.

^۵ NDFom, ash-free neutral detergent fibre.

^۶ ADFom, ash-free acid detergent fibre.

^۷ NFC=100 - (NDFom g/kg + crude protein g/kg + ether extract g/kg + ash g/kg).

شد. با استفاده از pH متر دیجیتالی (WTW مدل ۳۱۱۰، آلمان) pH اندازه گیری شد و سپس نمونه‌ها به‌وسیله‌ی چهار لایه پارچه نخی صاف شدند.

بخشی از مایع شکمبه با حجم مساوی با اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شد و تا زمان اندازه گیری نیتروژن آمونیاکی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بر اساس روش فنل-هیپوکلریت و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل Biochrom libra S22، انگلستان) اندازه گیری شد (۱۳).

پس از تهیه مایع شکمبه، برای ثابت کردن پروتوزوآها، مقداری از مایع شکمبه با مقدار مساوی از محلول فرمالین ۵۰ درصد مخلوط شد. برای شمارش پروتوزوآ از لام هموسایتومتر استفاده شد (۱۰).

خون‌گیری از بره‌ها در هفته آخر آزمایش در ۳ ساعت پس از مصرف خوراک از ورید وداج انجام شد. پس از خون‌گیری نمونه‌های خون در داخل لوله آزمایش حاوی ماده ضد انعقاد EDTA ریخته شد و سانتریفیوژ شد (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه)؛ پلاسما جدا شده در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد و سپس فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز، نیتروژن اوره‌ای خون و آنزیم‌های کبدی شامل آسپاراتات آمینو ترانس فراز (AST) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) با دستگاه اتوانالایزر (هیتاچی، مدل ۹۰۲، ژاپن) و با استفاده از کیت‌های دستگاهی پارس آزمون اندازه‌گیری شدند.

در طول دوره‌ی آزمایش خوراک مصرفی با توزین مقدار خوراک داده شده و باقیمانده خوراک روز قبل هر بره، اندازه گیری شد. جهت بررسی روند رشد و محاسبه افزایش وزن روزانه وزن کشتی بره‌ها قبل از خوراک و دست کم بعد از ۱۴ ساعت گرسنگی قبل از شروع آزمایش و انتهای آزمایش انجام گرفت. فراسنجه‌های رشد بره‌ها نظیر ضریب تبدیل (میانگین خوراک مصرفی به میانگین افزایش وزن دوره) و بازده خوراک (میانگین افزایش وزن دوره به میانگین خوراک مصرفی) براساس مقدار خوراک مصرفی و افزایش وزن محاسبه شدند. قابلیت هضم مواد مغذی با روش جمع‌آوری کل مدفوع روزانه، برآورد شد (۱۳). بدین منظور در هفت روز از اواخر دوره‌ی آزمایشی، هر روز صبح مقدار باقیمانده خوراک و کل مدفوع دفعی پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان تغذیه توزین شدند و هر روز درصد ثابتی از آن‌ها در سردخانه نگهداری شد. در پایان روز هفتم نمونه‌های باقیمانده‌ی خوراک و مدفوع هر بره مخلوط و یک نمونه برای اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی تهیه و نگهداری (در دمای ۲۰- درجه‌ی سلسیوس) شد. قابلیت هضم هر یک از مواد مغذی با در نظر گرفتن مقدار آن در خوراک مصرفی، باقیمانده و مدفوع محاسبه شد.

در روز ۳۵ آزمایش، مایع شکمبه در ۳ ساعت بعد از خوراک‌دهی صبح، برای تعیین pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی توسط لوله‌ی معدی از دام‌ها گرفته شد. مقدار ۵۰ میلی‌لیتر اولیه‌ی آن برای اطمینان از حذف بزاق دور ریخته

که در اين رابطه، Y_{ij} مقدار مشاهده شده، M میانگین جامعه، T_i اثر تیمار i ام، ϵ_{ij} اثرات خطای آزمایش است.

نتایج و بحث

مصرف خوراک و قابلیت هضم مواد مغذی

اثر تیمارهای آزمایشی بر مصرف و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی شامل ماده خشک، NDF، ADF، پروتئین خام و ماده آلی معنی داری نبود (جدول ۲). تیمارهای دریافت کننده ی یک درصد بیکربنات سدیم یا باکتری-مخمر، ماده خشک مصرفی و هضمی بالاتری را به لحاظ عددی نسبت به تیمار شاهد نشان دادند که منطبق با نتایج پژوهشی بود که با هدف مقایسه اثر بافرها یا قلیایی کننده های مختلف بر مصرف و قابلیت هضم مواد مغذی و عملکردی بره های پروراری تغذیه شده با جیره های پر کنسانتره (۶۰ درصد کنسانتره و ۴۰ درصد علوفه) انجام شده بود (۲۵)؛ در آزمایش آن ها تیمارهای دریافت کننده ی بافر از لحاظ مصرف و قابلیت هضم مواد مغذی اختلاف معنی داری را با شاهد نشان ندادند، اما پایین ترین مقدار مربوط به تیمار شاهد (بدون افزودنی) بود. در پژوهشی دیگر، استفاده از بافر بیکربنات سدیم، یا باکتری مخمر (مگاسفرا السدنی + مخمر ساکارومایسس سرویسیه) در جیره ی بره های پروراری دریافت کننده ۷۰ درصد کنسانتره (۲۲)، تأثیر معنی داری بر قابلیت هضم مواد مغذی از جمله ماده خشک، NDF، ADF و پروتئین خام نداشت که منطبق با نتایج آزمایش حاضر است.

درصد ماده خشک (آون ممرت، آلمان، ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس: 930.15 Method)، خاکستر (کوره الکتریکی، اکسایتون، ایران، 92.05 Method)، غلظت پروتئین خام (روش کجالدال، Method: 954.01، کجالدال اتوماتیک، مدل V50 صنایع آزمایشگاهی بخشی، ایران) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (method: 973.18) با روش های استاندارد اندازه گیری شد (۲). الیاف نامحلول در شوینده خنثی با روش ون سوست و همکاران (۳۹) سنجش شد.

بعد از اتمام دوره آزمایش با رعایت حداقل ۱۴-۱۶ ساعت گرسنگی، بره های هر تیمار برای بررسی تاثیر جیره های آزمایشی بر عملکرد لاشه ذبح شدند، سپس لاشه قطعه بندی و هر قطعه به صورت جداگانه با ترازوی دیجیتال وزن شد (۲۰). کیفیت رنگ گوشت عضله راسته که بین دنده های ۱۲ و ۱۳ واقع شده بود، بر اساس سامانه L^* (روشنایی)، a^* (قرمزی) و b^* (زردی) با دستگاه رنگ سنج (Konica Minolta CR400، ژاپن) مورد بررسی قرار گرفت (۱۳، ۳۲). داده های حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم افزار آماری SAS ویرایش ۹/۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای اثرات معنی دار، مقایسه میانگین ها با استفاده از روش دانکن در سطح احتمال خطای ۵ درصد انجام شد.

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

جدول ۲- درصد قابلیت هضم مواد مغذی در بره های پروراری تغذیه شده با جیره های آزمایشی

Table 2. Percentage of nutrient digestibility in fattening lambs fed with experimental diets

| سطح معنی داری P-value | انحراف استاندارد میانگین ها SEM | تیمارهای آزمایشی (جیره پایه + افزودنی) Experimental treatments (Basal diet + additive) | | |
|--------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------|
| | | باکتری-مخمر Bacteria-yeast | یک درصد بافر 1% buffer | شاهد Control |
| 0.4921 | 115.686 | 1466.90 | 1500.60 | 1320.27 |
| 0.7428 | 43.035 | 1333.69 | 1367.02 | 1307.00 |
| 0.8600 | 60.606 | 618.93 | 650.31 | 603.55 |
| 0.7271 | 21.923 | 357.03 | 365.66 | 382.06 |
| 0.3954 | 1.500 | 206.70 | 205.03 | 203.57 |
| 0.7286 | 4.82 | 69.85 | 70.02 | 65.11 |
| 0.6734 | 4.97 | 68.81 | 69.68 | 63.70 |
| 0.6533 | 4.68 | 70.87 | 71.08 | 65.49 |
| 0.3236 | 3.64 | 27.18 | 24.29 | 23.94 |
| 0.6443 | 4.44 | 74.80 | 76.44 | 70.53 |

تیمار شاهد: جیره پایه (حاوی ۷۰ درصد کنسانتره و ۳۰ درصد علوفه)، بافر: بیکربنات سدیم، باکتری-مخمر: سه میلی لیتر باکتری مگاسفرا السدنی + دو گرم مخمر ساکارومایسس سرویسیه

Control (Basal diet, containing 70% concentrate and 30% forage), Buffer: Bicarbonate sodium, Bacteria-yeast: 3 ml *Megasfera elsdenii* + 2g

Saccharomyces cerevisiae.

¹NDF, neutral detergent fibre.

²ADF, acid detergent fibre.

دریافت کننده جیره باکتری-مخمر و پایین ترین میانگین مصرف ماده خشک روزانه مربوط به شاهد بود. شاید عدم تغییر معنی داری در مصرف ماده خشک را بتوان به عدم تأثیر معنی دار تیمارها بر قابلیت هضم مواد مغذی نسبت داد (جدول ۲). بنابراین، افزودن بافر و مخمر-باکتری به جیره ی بره های

مصرف خوراک

میانگین مصرف ماده خشک روزانه در کل دوره بین تیمارهای آزمایشی به ترتیب عبارت از ۱۳۲۰/۴، ۱۳۹۵/۰ و ۱۴۰۱/۱ گرم در روز بود (جدول ۳) که به لحاظ عددی بالاترین میانگین مصرف ماده خشک روزانه مربوط به تیمار

يك درصد بيكربنات سدیم در جیره بره‌هاي پرواري منجر به اضافه‌وزن روزانه بيشتري در مقايسه با جیره شاهد شد (۲۷)، زیرا در آزمایش حاضر، هر چند غير معنی‌دار، تیمار بافر (با ۴/۷۳ کیلوگرم افزایش وزن)، نسبت به تیمار شاهد (۳/۸۷ کیلوگرم) افزایش وزن بيشتري را به‌خود اختصاص داد (جدول ۳) در يك مطالعه، استفاده از ۱/۵ درصد بيكربنات سدیم در جیره بره‌هاي عربي، منجر به افزایش وزن غير معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد شد که با نتایج آزمایش حاضر همخوانی دارد (۲۵). مطابق با نتایج آزمایش حاضر، در مقايسه با شاهد، حين تغذيه با جیره‌هاي پر کنسانتره، افزودن بافر بيكربنات سدیم و يا باكتري مگاسفرا السدنی + مخمر ساكارومايسس سرويسيه (باكتري-مخمر) به جیره بره‌هاي پرواري، در ضريب تبديل خوراک، میانگین افزایش وزن روزانه‌ي و کل افزایش وزن بدن اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (۲۲) و این فراسنجه‌ها از نظر عددی در تیمارهاي حاوی بافر شيميايي يا ميكروبي بهتر بودند که این بهبود به خاصیت قليايی‌کنندگی بافر برای جیره پر کنسانتره نسبت داده شد. طی پژوهشی، افزودن مخمر ساكارومايسس سرويسيه به جیره‌ي بره‌هاي بلوچی پرواري تغذيه شده با جیره‌هاي پر کنسانتره (۲۶) در مقايسه با شاهد، ضريب تبديل خوراک به‌صورت غيرمعنی‌داری بهبود یافت که منطبق با نتایج آزمایش حاضر بود. در واقع آرامش نسبی ایجاد شده برای دام در زمان مصرف افزودنی‌ها و کاهش اثرات اسيدوز در اثر بهبود pH شکمه (جدول ۵) باعث افزایش نسبی این پارامترها نسبت به تیمار شاهد شده است.

پرواري تأثير معنی‌داری بر میانگین مصرف ماده‌خشک روزانه بره‌ها نداشت (جدول ۳)، اما نسبت به تیمار شاهد افزایش عددی نشان دادند. موافق نتایج آزمایش حاضر، افزودن يك درصد بيكربنات سدیم به جیره‌هاي بره‌هاي پرواري حاوی مواد متراکم بالا (۲۵)، يا بافر بيكربنات سدیم و يا باكتري-مخمر (مگاسفرا السدنی+مخمر ساكارومايسس سرويسيه) به جیره‌ي بره‌هاي پرواري دریافت‌کننده ۷۰ درصد کنسانتره (۲۲)، در مقايسه با شاهد تأثير معنی‌داری بر مصرف خوراک نداشت و تنها باعث افزایش غير معنی‌دار مصرف خوراک شد. از طرفی مخالف با نتایج آزمایش حاضر، مصرف مخمر ساكارومايسس سرويسيه به‌همراه *Enterococcus faecium* موجب افزایش خوراک مصرفی در گاوهاي شيرده شده است (۱).

عملکرد رشد

فراسنجه‌هاي عملکرد رشد شامل وزن اولیه، وزن نهایی، میانگین افزایش وزن روزانه، ضريب تبديل و بازده خوراک در بره‌هاي تغذيه شده با جیره‌هاي آزمایشی تحت تأثير تیمارهاي آزمایشی قرار نگرفتند. برای ضريب تبديل خوراک، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بين تیمار شاهد و تیمار دریافت‌کننده بافر يا باكتري-مخمر مشاهده نشد و بدترین ضريب تبديل در جیره شاهد مشاهده شد. از نظر عددی، میانگین افزایش وزن روزانه، بازده خوراک، وزن نهایی نیز در تیمار شاهد کمترین مقدار بود. در واقع عدم تأثير معنی‌دار تیمارهاي آزمایشی بر مصرف خوراک (جدول ۲ و ۳) و قابليت هضم مواد مغذی (جدول ۲)، دلیلی برای تحت تأثير قرار نگرفتن تغييرات وزن بدن و ساير فراسنجه‌هاي عملکرد رشد می‌باشد. اضافه کردن

جدول ۳- اثر جیره‌هاي آزمایشی بر مصرف خوراک و عملکرد رشد بره‌هاي نر عربي

Table 3. The effect of experimental diets on feed intake and growth performance of Arabic male lambs

| سطح معنی داری P-value | انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM | تیمارهاي آزمایشی (جیره پایه + افزودنی) Experimental treatments (Basal diet + additive) | | | فراسنجه Parameter |
|--------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | شاهد Bacteria-yeast | يك درصد بافر 1% buffer | Control | |
| 0.7609 | 76.138 | 1401.1 | 1395.0 | 1320.4 | میانگین مصرف خوراک کل دوره آزمایشی Average feed consumption of the whole experimental period |
| 0.5870 | 2.169 | 34.94 | 35.07 | 37.87 | وزن اولیه (کیلوگرم) Initial weight, kg |
| 0.6818 | 2.092 | 39.17 | 39.80 | 41.73 | وزن نهایی (کیلوگرم) Final weight, kg |
| 0.4694 | 0.469 | 4.23 | 4.73 | 3.87 | افزایش وزن کل دوره آزمایشی Weight gain of the whole experimental period, kg |
| 0.4694 | 22.335 | 201.59 | 225.40 | 184.13 | میانگین افزایش وزن روزانه (گرم) Average daily gain, g/day |
| 0.4860 | 0.788 | 6.68 | 5.99 | 7.14 | ضريب تبديل خوراک ^۱ Feed conversion ratio ¹ |
| 0.4694 | 0.017 | 0.15 | 0.17 | 0.14 | بازده خوراک ^۲ Feed efficiency ² |

تیمار شاهد: جیره پایه (حاوی ۷۰ درصد کنسانتره و ۳۰ درصد علوفه)، بافر: بيكربنات سدیم، باكتري-مخمر: سه میلی‌لیتر باكتري مگاسفرا السدنی + دو گرم مخمر ساكارومايسس سرويسيه.

^۱ ضريب تبديل خوراک: میانگین مصرف خوراک ÷ میانگین افزایش وزن، ^۲ بازده خوراک: میانگین افزایش وزن ÷ میانگین مصرف خوراک

Control (Basal diet, containing 70% concentrate and 30% forage), Buffer: Bicarbonate sodium, Bacteria-yeast: 3 ml *Megasfera elsdenii* + 2g *Saccharomyces cerevisiae*.

¹ Feed conversion ratio: Mean feed consumption/mean weight gain, ² Mean weight gain/Mean feed consumption

در تیمار شاهد کمترین و تیمار دریافت‌کننده باكتري-مخمر بيشتري مقدار بود (جدول ۴).

مخمر ساكارومايسس سرويسيه قادر به تثبیت pH شکمه بوسيله پروتوزوآهاي جنس *انتودینومورف* می‌باشد (۱۰، ۱۴)؛ این جنس پروتوزوآ می‌تواند به سرعت گرانول‌هاي نشاسته را

جمعیت پروتوزوآی شکمه

اثر تیمارهاي آزمایشی بر جمعیت پروتوزوآهاي هلوتریش، *انتودینومورف* و سلولایتيک و کل جمعیت پروتوزوآ معنی‌داری شد ($p < 0.05$) (جدول ۴). جمعیت پروتوزوآهاي هلوتریش، *انتودینومورف* و سلولایتيک و کل جمعیت پروتوزوآی شکمه

مخمر بر پروتوزواها مى تواند متاثر از فاکتورهاي تغذيه‌اي نيز باشد (۲۲). اثر متقابل بين پروتوزوا و مخمر توسط پژوهشگران ديگر نيز گزارش شده است (۳۵)، به طوري كه آن‌ها در گوسفندان فاقد پروتوزوا (پروتوزوا زدائي شده) هيچ تاثيري از تغذيه مخمر بر pH شكليه مشاهده نكردند، اما در گوسفندان داراي پروتوزوا افزايش در pH شكليه با حضور مخمر مشاهده شد؛ كه با توجه به pH به دست آمده در آزمايش حاضر (جدول ۵) تيمار دريافت كننده‌ي مخمر نسبت به تيمار شاهد pH بالاتري را نشان داد كه نشانه‌ي فعاليت بهتر پروتوزوا در محيط شكليه دام در جيره‌ي حاوي كلسانتره بالا همراه با افزودن مخمر مي‌باشد. موافق نتايج آزمايش حاضر، افزودن بيكربنات سديم در جيره منجر به افزايش جمعيت پروتوزواها در مقايسه با تيمار شاهد شد (۲۵، ۲۷)؛ كه دليل آن را نقش احتمالي بيكربنات سديم در افزايش pH شكليه در مقايسه با تيمار شاهد ذكر كردند. در آزمايش حاضر نيز pH به دست آمده در تيمار بافر شيميايي يا باكتري-مخمر نسبت به تيمار شاهد (جدول ۵) تفاوت معني داري را نشان داد كه علت را مي‌توان اين گونه بيان كرد كه قليايي شدن شكليه شرايط مناسب براي رشد پروتوزواهاي شكليه را فراهم مي‌كند، از اين رو، تعداد پروتوزواهاي بالاتر در گروه مكمل شده با بافرها ممكن است ناشي از pH بالاتر در شكليه باشد (۲۵).

بلعند، بنا بر اين براي مصرف نشاسته با باكتري‌هاي *اميلوليتيكي* رقابت موثر دارند. علاوه بر اين پروتوزواها نشاسته را با سرعت پايين تري نسبت به باكتري‌هاي *اميلوليتيكي* تخمير مي‌كند. پروتوزواهاي جنس *انتودينومورف* همچنين قادر به مصرف مقداري لكتات هستند، در نتيجه از تجمع لكتات در شكليه جلوگیری می‌کنند (۱۰، ۱۳). لذا، مخمر ساكارومايسس سرويسيه باعث افزايش معني دار جمعيت پروتوزواهاي شكليه نظير *انتودينومورف*ها و *هلوتريش*ها شده است (۱۰، ۱۴) كه با نتايج آزمايش حاضر همخواني دارد. وقتي دانه به جيره نشخواركنندگان اضافه مي‌شود، پروتوزواي شكليه با افزايش تعداد، خود را با اين شرايط وفق مي‌دهند و به اندازه كافي نشاسته اضافي را با بلعیدن از بين مي‌برند (۱۰). رشد جمعيت پروتوزواي شكليه در pH زير ۶ مختل شده و در pH برابر ۵/۵ و كمتر از بين مي‌روند (۱۰)، بافرها با افزايش pH و جلوگیری از شرايط اسيدی در شكليه، از کاهش تعداد پروتوزوا جلوگیری می‌کنند. بنا بر اين، در آزمايش حاضر نيز افزودن هر دو بافر ميكروبي يا شيميايي به جيره باعث افزايش تعداد پروتوزوا شد. مكانيسم رابطه بين مخمر ساكارومايسس سرويسيه و پروتوزواها به طور دقيق شناخته شده نيست، اما مخمر مي‌تواند مواد مغذي مورد نياز پروتوزواها را تايمين كند و يا از طريق مصرف اكسيژن، شرايط بي‌هوازي مطلوب شكليه را براي پروتوزواها ايجاد كند (۱۴، ۳۵)؛ بعلاوه، اثر محرک

جدول ۴- جمعيت پروتوزواي شكليه (۱۰۴×) بره‌هاي پروراي تغذيه شده با جيره‌هاي آزمايشي

Table 4. Population of rumen protozoan (*104) of fattening lambs fed with experimental diets

| P-value | انحراف استاندارد ميانگين‌ها SEM | تيمارهاي آزمايشي (جيره پايه + افزودني) Experimental treatments (Basal diet + additive) | | | پروتوزواي شكليه Rumen protozoa |
|---------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------|-----------------------------------------------------|
| | | باكتري-مخمر Bacteria-yeast | شاهد Control | يك درصد بافر 1% buffer | |
| 0.0148 | 1.401 | 12.67 ^a | 4.33 ^b | 10.00 ^a | هلوتريش Holotrichia |
| 0.0194 | 1.401 | 8.00 ^a | 2.67 ^b | 7.33 ^{ab} | انتودينومورف Entidiniomorph. |
| 0.0187 | 1.503 | 10.00 ^a | 4.00 ^b | 6.67 ^{ab} | سلولاييكي ^۱ Cellulolytic ^۱ |
| 0.0093 | 2.434 | 30.00 ^a | 13.67 ^b | 22.00 ^{ab} | كل جمعيت پروتوزوا Whole Protozoa |

pH و نيتروژن آمونياكي مایع شكليه

ساز و كار باعث بهبود pH شكليه شود. مطابق با نتايج آزمايش حاضر، در گاوهاي دريافت كننده‌ي *مگاسفرا السدني*، pH بالاتري (۶/۳۸) نسبت به شاهد (۶/۳۱) گزارش شد (۳۷) كه مطابق با نتايج آزمايش حاضر در حين استفاده از باكتري-مخمر (۶/۸۷) نسبت به تيمار شاهد (۶/۵۴) است. با اندازه‌گيري pH شكليه و تراكم لكتات در مایع شكليه، مشخص شد كه افزايش pH مایع شكليه در حيوانات دريافت كننده‌ي مخمر ساكارومايسس سرويسيه در ارتباط با تراكم لكتات است به طوري كه تيمار دريافت كننده‌ي مخمر تراكم لكتات پايين تري نسبت به تيمار شاهد داشت (۱۵).

استفاده از بافر شيميايي و بيولوژيكي با بهبود شرايط pH براي ميكروارگانيسم‌هاي سلولاييكي شكليه باعث افزايش فعاليت آنها و در نتيجه مصرف بيشتري نيتروژن آمونياكي شده است (جدول ۵)، زيرا بخش زيادي از ميكروارگانيسم‌هاي شكليه به ويژه سلولاييكي‌ها، نيتروژن آمونياكي را به عنوان منبع نيتروژني ترجيح مي‌دهند. در آزمايش با گاوهاي شيرده در دو دوره‌ي عادت‌دهي و دوره‌ي اسيدوز، کاهش غلظت

بين تيمار شاهد با تيمار يك درصد بيكربنات سديم و تيمار باكتري-مخمر اختلاف معني داري مشاهده شد ($p < 0.05$). بالاترين غلظت نيتروژن آمونياكي و پايين‌ترين pH را تيمار شاهد داشت؛ اما بين باكتري-مخمر با تيمار بافر بيكربنات تفاوتی مشاهده نشد (جدول ۵). تغييرات مثبت در تيمارهاي حاوي بافرهاي شيميايي و بيولوژيكي نسبت به شاهد نشان‌دهنده‌ي اثر مفيد افزودني‌هاي تنظيم كننده pH در جيره‌هاي پر كلسانتره و جلوگیری از ايجاد اسيدوز در دام‌هاي مصرف كننده مي‌باشد. افزودن مخمر ساكارومايسس سرويسيه به جيره گوسفندان pH شكليه را افزايش داد كه مي‌تواند به دليل کاهش غلظت اسيد لكتيكي از طريق افزايش فعاليت باكتري‌هاي مصرف كننده‌ي لكتات، به ويژه *سلونوموناس رومينانتيوم* و *مگاسفرا السدني*، با تايمين عوامل رشد مانند ويتامين‌هاي گروه ب، اسيدهاي آمينه و اسيدهاي دي كربوكسيك مانند فومارات و مالات براي آنها باشد (۳۵، ۴۰)؛ پس احتمالاً مصرف هم زمان باكتري-مخمر مي‌تواند با اين

مقايسه‌ي اثر استفاده از بافر شيميايي و باكتري‌هاي مصرف‌كننده اسيد بر قابليت هضم و تخمير، عملكرد رشد و كيفيت گوشت بره‌هاي ۷۲

بيكربنات سديم به جيره تاثيري بر غلظت نيترोजن آمونياكي شكيمه در گاوهاي شيري نداشت (۲۰) كه با آزمون حاضر مطابقت ندارد. استفاده از بافر بيكربنات سديم و باكتري *مگاسفرا السدني* + مخمر ساكارومايسس سرويسيه در بره‌هاي جوان (سن به‌طور متوسط ۳/۵ ماه)، در مقايسه با شاهد (فاقد افزودني) تاثيري بر pH و نيترोजن آمونياكي شكيمه نداشت (۲۲).

نيترोजن آمونياكي در دوره‌ي اسيدوز، در تيمارها به‌خصوص تيمار حاوي مخمر ساكارومايسس سرويسيه نسبت به تيمار شاهد مشاهده شد (۲۶) كه با آزمون حاضر مطابقت دارد. طي انجام پژوهشي، با استفاده از مخمر ساكارومايسس سرويسيه پژوهشگران دريافتند كه مخمر باعث کاهش معني‌دار نيترोजن آمونياكي شكيمه نسبت به تيمار شاهد شد (۱۸) كه با نتايج آزمون حاضر همخواني دارد. افزودن بافر

جدول ۵- فراسنجه‌هاي تخميري شكيمه بره‌هاي پرواري تغذيه شده با جيره‌هاي آزمايشي

Table 5. Rumen fermentation parameters of fattening lambs fed with experimental diets

| سطح معني داري | انحراف استاندارد ميانگين‌ها SEM | تيمارهاي آزمايشي (جيره پايه + افزودني) | | | فراسنجه Parameter |
|-----------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| | | Experimental treatments (Basal diet + additive) | يك درصد بافر Bacteria-yeast | شاهد Control | |
| <i>p</i> -value | | | | | |
| 0.0171 | 1.1126 | 19.15 ^b | 17.23 ^b | 23.60 ^a | نيترोजن آمونياكي شكيمه (ميلي‌گرم بر ۱۰۰ ميلي‌ليتر) Ammonia nitrogen, mg/ 100 mL |
| 0.0257 | 0.0654 | 6.80 ^a | 6.87 ^a | 6.54 ^b | pH |

تيمار شاهد: جيره پايه (حاوي ۷۰ درصد كنسانتره و ۳۰ درصد علوفه)، بافر: بيكربنات سديم، باكتري-مخمر: سه ميلي‌ليتر باكتري مگاسفرا السدني + دو گرم مخمر ساكارومايسس سرويسيه.

^{a,b}خروف غير مشابه در هر ردیف نشان دهنده‌ي وجود تفاوت معني‌دار ($p < 0.05$) بين ميانگين‌ها مي‌باشد.

Control (Basal diet, containing 70% concentrate and 30% forage), Buffer: Bicarbonate sodium, Bacteria-yeast: 3 ml *Megasfera elsdenii* + 2g *Saccharomyces cerevisiae*.

^{a,b}Means in the same row with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).

بدن باشد (۱۶) كه در آزمون حاضر عدم تفاوت در غلظت نيترोजن آمونياكي، شايد بدليل يكسان بودن اين شرايط در تيمارها بوده است. در پژوهش‌هاي ديگر نيز بكار بردن بيكربنات سديم و بافرهايي با ظرفيت بالايي از سديم و پتاسيم در گاوهاي شيري، اختلاف معني‌داري بين فراسنجه‌هاي خوني مشاهده نشد (۴۰). استفاده از شش گرم مخمر به‌صورت روزانه در جيره‌هاي با كنسانتره بالا اوره خون را به‌طور معني‌داري کاهش داد (۳۰) كه با نتايج حاضر مطابقت ندارد.

آنزيم‌هاي كبدي فعاليت بالايي در سيتوزول سلول‌هاي كبدي دارند و با نكروز شدن يا اسيب‌هاي حاد و مزمن سلول‌هاي كبدي، سطح سرمي اين آنزيم‌ها در سرم به‌دليل تراوش به خون افزايش مي‌يابد (۳۶). در پژوهشي، استفاده از بافر بيكربنات سديم و باكتري *مگاسفرا السدني* + مخمر ساكارومايسس سرويسيه در بره‌هاي جوان (متوسط ۳/۵ ماه)، در مقايسه با شاهد (فاقد افزودني) تاثيري بر فراسنجه‌هاي خوني شامل گلوکز، نيترोजن اوره‌اي خون، آنزيم‌هاي كبدي (ALT و AST) مشاهده نشد (۲۲). در آزمايشي ديگر افزودن مخمر به جيره تفاوت معني‌داري در غلظت اين آنزيم‌هاي كبدي ايجاد كرد (۱۲،۶) كه با نتايج حاضر مطابقت دارد. در آزمون حاضر مشاهده مي‌شود كه غلظت آنزيم در شاهد نسبت به تيمارهاي حاوي تنظيم كننده‌هاي pH به‌طور معني‌داري بيشتر است. لذا، کاهش غلظت اين آنزيم‌ها، بويژه آنزيم آلانين ترانس آميناز، در اثر استفاده از تنظيم كننده‌هاي pH در جيره‌هاي پر كنسانتره مي‌تواند يك نتيجه‌ي مفيد و ارزشمند تلقى شود.

فراسنجه‌هاي خوني و كبدي

غلظت فراسنجه‌هاي خوني و كبدي به‌جز آنزيم آلانين ترانس آميناز تحت تاثير تيمارهاي آزمايشي قرار نگرفتند و بين فراسنجه‌هاي خوني و كبدي اختلاف معني‌داري مشاهده نشد (جدول ۶). آنزيم آلانين ترانس آميناز در تيمار شاهد بيشترين مقدار (۳۰/۵۰۰) را نسبت به تيمارهاي دريافت كننده‌ي بافر (۲۲/۰۰) و باكتري-مخمر (۱۷/۵۰۰) نشان داد ($p < 0.05$). در پژوهشي ديگر با استفاده از سويه‌اي از باكتري *مگاسفرا السدني* در جيره‌ي گاوهاي هلشتاين در شرايط اسيدوز، اختلاف معني‌داري بين گلوکز خون دام‌هاي مصرف‌كننده مشاهده نشد (۳۷). از طرفي، با مصرف مخمر ساكارومايسس سرويسيه و مالات در جيره‌هاي آزمايشي، در مورد غلظت گلوکز خون اختلاف معني‌داري مشاهده نشد (۲۶). هرچند در برخي پژوهش‌ها، افزودن مخمر به جيره دام‌ها باعث افزايش غيرمعني‌دار غلظت گلوکز خون شد (۶،۱۲)؛ بعلاوه، استفاده از شش نوع مخمر ساكارومايسس سرويسيه در جيره گوساله‌هاي پرواري، تاثيري بر غلظت گلوکز و نيترोजن اوره‌اي خون نداشت كه با نتايج به‌دست آمده از آزمون حاضر مطابقت دارد (۳۴).

در آزمون حاضر، غلظت نيترोजن اوره‌اي پلاسما متاثر از تيمارهاي آزمايشي نبود (جدول ۶). در يك مطالعه، اختلاف معني‌داري در غلظت نيترोजن اوره‌اي خون در تيمار حاوي باكتري *مگاسفرا السدني* و مخمر ساكارومايسس سرويسيه نسبت به تيمار شاهد مشاهده نشد (۲۲) كه با آزمون حاضر مطابقت دارد. تفاوت در غلظت نيترोजن اوره‌اي خون ممكن است نتيجه‌ي تفاوت در مصرف نيترोजن در رژيم غذايي و نياز

جدول ۶- غلظت فراسنجه‌های خونی (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) و آنزیم‌های کبدی (واحد بین‌المللی در لیتر) بره‌های پرواری تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

Table 6. Concentration of blood parameters (mg/100 ml) and liver enzymes (IU/l) in fattening lambs fed with experimental diets

| سطح معنی داری P-value | انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM | تیمارهای آزمایشی (جیره پایه + افزودنی) Experimental treatments (Basal diet + additive) | | | فراسنجه Parameter |
|--------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | باکتری-خمیر Bacteria-yeast | یک درصد بافر 1% buffer | شاهد Control | |
| 0.4908 | 3.98 | 83.3 | 88.0 | 81.0 | گلوکز (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) Glucose, mg/ 100 mL |
| 0.1120 | 1.53 | 20.16 | 17.33 | 23.20 | نیتروژن اوره‌های خون (BUN)، (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) Blood urea nitrogen, mg/100 mL |
| 0.1334 | 4.83 | 68.0 | 67.0 | 73.0 | آنزیم آسپارات ترانس آمیناز (واحد بین‌المللی در لیتر) Aspartate transaminase (AST, IU/L) |
| 0.0001 | 0.79 | 17.50 ^c | 22.0 ^b | 30.50 ^a | آنزیم آلانین ترانس آمیناز (واحد بین‌المللی در لیتر) Alanine transaminase (ALT, IU/L) |

تیمار شاهد: جیره پایه (حاوی ۷۰ درصد کنسانتره و ۳۰ درصد علوفه)، بافر: بیکربنات سدیم، باکتری-خمیر: سه میلی‌لیتر باکتری مگاسفرا السدنی + دو گرم مخمر ساکرومایسس سرویسیه

^{a,b}حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ($p < 0.05$) بین میانگین‌ها می‌باشد
Control (Basal diet, containing 70% concentrate and 30% forage), Buffer: Bicarbonate sodium, Bacteria-yeast: 3 ml *Megasfera elsdenii* + 2g *Saccharomyces cerevisiae*.

^{a,b}Means in the same row with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$).

ویژه‌گی‌های لاشه

که افزودن باکتری مگاسفرا السدنی در جیره‌ی گوساله‌های پرواری تغذیه شده با جیره‌های پرکنسانتره، منجر به افزایش عددی وزن لاشه نسبت به شاهد شد که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. با افزودن مستقیم برخی از باکتری‌های پروبیوتیکی (لاکتوباسیلوس‌ها و پروپیونی باکتریوم) به جیره‌ی گوساله‌های پرواری با رژیم غذایی ۹۲ درصد کنسانتره برپایه‌ی ذرت، بهبود وزن و کیفیت لاشه مشاهده شد (۵) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

میانگین وزن و اندازه قطعات لاشه در جدول ۷ نشان داده شده است که تفاوت معنی‌داری بین شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($p > 0.05$). نرخ رشد حیوان و صفات لاشه به میزان مصرف‌خوراک و قابلیت دسترسی مواد مغذی جیره و بازده بره‌ها در تبدیل مواد غذایی به وزن زنده وابسته است و از عوامل مختلف مانند نژاد، جنس، سن و سطوح تغذیه تبعیت می‌کند (۳۸). طی انجام پژوهشی مشخص شد

جدول ۷- میانگین وزن قطعات لاشه بره‌های پرواری تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی
Table 7. Average weight of carcass parts of fattening lambs fed with experimental diets

| سطح معنی داری P-value | انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM | تیمارهای آزمایشی (جیره پایه + افزودنی) Experimental treatments (Basal diet + additive) | | | فراسنجه Parameter |
|--------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------|---------------------------------------------|
| | | باکتری-خمیر Bacteria-yeast | یک درصد بافر 1% buffer | شاهد Control | |
| 0.9157 | 2.8242 | 41.200 | 40.400 | 39.500 | وزن زنده (کیلوگرم) Live weight (kg) |
| 0.4774 | 387.2983 | 6800.0 | 6200.0 | 6100.0 | پوست (گرم) Skin (g) |
| 0.3319 | 30.9905 | 615.00 | 640.00 | 562.50 | جگر (گرم) Liver (g) |
| 0.6632 | 27.4620 | 402.50 | 417.50 | 440.00 | جگر سفید (گرم) Lung (g) |
| 0.2825 | 19.6320 | 160.00 | 105.00 | 137.50 | قلب بدون چربی (گرم) Lean heart (g) |
| 0.3804 | 5.4006 | 85.000 | 92.500 | 97.500 | کلیه‌ها (گرم) Kidneys (g) |
| 0.4997 | 770.2813 | 7300 | 8500 | 7200 | دستگاه گوارش (گرم) Digestive system (kg) |
| 0.9657 | 255.8156 | 2820.0 | 2919.0 | 2855.0 | ران (گرم) Thigh (g) |
| 0.7919 | 122.1764 | 1650.0 | 1567.50 | 1530.0 | سردست (گرم) Wristband (g) |
| 0.9594 | 115.9471 | 1670.0 | 1622.5 | 1645.0 | گردن (گرم) Neck (g) |
| 0.4422 | 89.6056 | 1862.5 | 1707.5 | 1695.0 | راسته و فیله (گرم) Order and fillet (g) |
| 0.7044 | 20.0852 | 87.50 | 105.00 | 112.00 | طحال (گرم) Spleen (g) |
| 0.2123 | 41.3067 | 332.50 | 202.50 | 232.50 | بیضه‌ها (گرم) Testicles (g) |
| 0.5265 | 110.4758 | 2387.5 | 2211.5 | 2377.5 | کله (گرم) Head (g) |

تیمار شاهد: جیره پایه (حاوی ۷۰ درصد کنسانتره و ۳۰ درصد علوفه)، بافر: بیکربنات سدیم، باکتری-خمیر: سه میلی‌لیتر باکتری مگاسفرا السدنی + دو گرم مخمر ساکرومایسس سرویسیه.

Control (Basal diet, containing 70% concentrate and 30% forage), Buffer: Bicarbonate sodium, Bacteria-yeast: 3 ml *Megasfera elsdenii* + 2g *Saccharomyces cerevisiae*.

نورها را منعكس مي‌كنند، رنگ دانه‌هاي گوشت شامل پروتئين‌هاي هموگلوبين يا رنگ‌دانه خون، ميوگلوبين يا رنگ‌دانه عضلات (۸۰ تا ۹۰ درصد رنگ گوشت) و آنزيم‌هاي کاتالاز و سيتوکروم که تاثير جزئي بر رنگ گوشت دارند هستند (۳). شاخص قرمزي گوشت (A^*) در تيمار دريافت‌کننده‌ي بافر نسبت به تيمارهاي شاهد و باكتري-مخمر بيشتري بود، اما تفاوت معني‌داري را ايجاد نکرد، در بررسي روي مصرف‌کنندگان جهت پذيرش گوشت گوسفند، محققان دريافتند زماني که L^* (روشنايي گوشت) به صورت ميانگين بزرگتر يا مساوي ۳۴ و A^* برابر يا بزرگتر از ۹/۵ باشد، رنگ گوشت براي مصرف‌کنندگان قابل قبول است (۲۶،۱۹) که در آزمايش حاضر مقدار A^* (قرمزي گوشت) براي همه تيمارها در دامنه قابل قبولي ديد مي‌شود. روشنايي شاخصي است که انعكاس نور را مشخص کرده و مي‌تواند تحت تاثير اسيدهاي چرب لاشه نيز قرار بگيرد (۳،۸). براي گوشت گوسفند مصرف‌کننده رنگ روشن $L^* \geq 34$ را ترجيح مي‌دهد (۸)، که با داده‌هاي آزمايش حاضر که در محدوده ۲۹/۳۳-۳۳/۹۹ مي‌باشد مطابقت دارد.

رنگ‌سنجی گوشت: ميانگين شاخص‌هاي رنگ‌سنجی بافت عضله راسته در جدول ۸ نشان داده شده است. تيمارهاي آزمايشي بر سامانه‌هاي L^* (روشنايي)؛ A^* (قرمزي)؛ B^* (زردی)؛ H^* (ارتفاع تابش نور)؛ C^* (زاويه تابش نور)، براي بافت عضله راسته تاثير معني‌داري نداشت ($p > 0.05$). فاکتور L^* از فاکتورهاي رنگ‌سنجی نشان‌دهنده ميزان روشني-تيرگي نمونه‌ها مي‌باشد. دامنه مقادير اين فاکتور بين ۰ تا ۱۰۰ است که عدد صفر نشان‌دهنده سياهي و عدد صد نشان‌دهنده سفیدی يا روشني نمونه مي‌باشد. فاکتور A^* نشان‌دهنده ميزان رنگ قرمزي-سبزي نمونه‌ها مي‌باشد. اين فاکتور بين $-A$ تا $+A$ تغيير کرده که $-A$ نشان‌دهنده رنگ سبز و $+A$ نشان‌دهنده قرمزي رنگ نمونه مي‌باشد. فاکتور B^* از فاکتورهاي رنگ‌سنجی نشان‌دهنده ميزان زردی-آبي نمونه‌ها مي‌باشد. اين فاکتور بين $-B$ تا $+B$ تغيير کرده که $-B$ نشان‌دهنده رنگ آبي و $+B$ نشان‌دهنده رنگ زرد نمونه مي‌باشد (۳۳). رنگ اولين خصوصيت گوشت و لاشه مي‌باشد که به عنوان اولين معيار اثرگذار در ارزايي كيفيت گوشت و لاشه دام شناخته مي‌شود (۲۸). رنگ‌دانه‌ها در گوشت برخي طول موج‌هاي نور را جذب کرده و ساير

جدول ۸- شاخص‌هاي رنگ سنجی گوشت عضله راسته بره‌هاي پروراري تغذيه شده با جيره‌هاي آزمايشي

Table 8. Colorimetric indices of meat longissimus lumborum of fattening lambs fed with experimental diets

| سطح معني داري <i>p-value</i> | انحراف استاندارد ميانگين‌ها SEM | تيمارهاي آزمايشي (جيره پايه + افزودني) Experimental treatments (Basal diet + additive) | | | فراسنجه Parameter |
|---------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------|----------------------|
| | | شاخص | | | |
| | | باكتري-مخمر Bacteria-yeast | يك درصد بافر 1% buffer | شاهد Control | |
| 0.4013 | 2.3090 | 29.33 | 33.99 | 29.70 | L^* |
| 0.6943 | 0.5077 | 9.39 | 10.02 | 9.87 | A^* |
| 0.3594 | 0.1828 | 2.82 | 2.99 | 2.85 | B^* |
| 0.6904 | 0.5030 | 9.81 | 10.46 | 10.20 | C^* |
| 0.1635 | 0.0050 | 15.10 | 15.10 | 15.00 | H^* |

تيمار شاهد: جيره پايه (حاوي ۷۰ درصد کنسنتره و ۳۰ درصد علوفه)، بافر: بيکربنات سدیم، باكتري-مخمر: سه ميلي ليتر باكتري مگاسفرا السدني + دو گرم مخمر ساکروميسيس سرويسيه.

a-b حروف غير مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود تفاوت معني‌دار ($p < 0.05$) بين ميانگين‌ها مي‌باشد.

Control (Basal diet, containing 70% concentrate and 30% forage), Buffer: Bicarbonate sodium, Bacteria-yeast: 3 ml *Megasfera elsdenii* + 2g *Saccharomyces cerevisiae*.

شيميايي قابل رقابت بود. بنا بر اين، نتايج آزمايش حاضر نشان داد که استفاده از باكتري مصرف‌کننده اسيد به عنوان تنظيم‌کننده pH، اثراتي قابل رقابت با بافر بيکربنات و حتی در مواردی بهتر دارد، لذا استفاده از اين بافر نيز در جيره‌هاي پرکنسنتره‌ي بره‌ها پيشنهاده مي‌شود.

نتيجه‌گيري کلي

استفاده از انواع بافرهاي شيميايي و بيولوژيکي به تهپايي يا همراه با يکديگر منجر به بهبود شرايط هضم و تخمير جيره‌هاي آزمايشي حاوي کنسنتره‌ي زياد شد و در بسياري از موارد از جمله pH شکمه اثرات بافر بيولوژيکي با انواع

منابع

- AlZahal, O., H. McGill, A. Kleinberg, J.I. Holliday, I.K. Hindrichsen, T.F. Duffield and B.W. McBride. 2014. Use of a direct-fed microbial product as a supplement during the transition period in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 97: 7102-7114. doi:10.3168/jds.2014-8248 PMID: 25218748(19).
- AOAC. 2016. International. Official Methods of Analysis. 19th ed. Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists International. Gaithersburg, USA.
- Apaoblaza, A., A. Galaz, P. Strobel, A. Ramirez-Reveco, N. Jeréz-Timaure and C. Gallo. 2015. Glycolytic potential and activity of adenosine monophosphate kinase (AMPK), glycogen phosphorylase (GP) and glycogen debranching enzyme (GDE) in steer carcasses with normal (<5.8) or high (>5.9) 24 H pH determined in *M. longissimus dorsi*. *Meat Science*, 101:83-9. doi: 10.1016/j.meatsci.2014.11.008 PMID: 29786478(34).
- Aschenbach, J.R., G.B. Penner, V. Stumpff and G. Gabel. 2014. Ruminant nutrition symposium: role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. *Journal of animal science*, 89(4): 1092-1107. doi: 10.2527/jas.2010-3301 PMID: 20952531(3).

5. Aschenbach, J.R., Q. Zebeli, A.K. Patra, G. Greco, S. Amasheh and G.B. Penner. 2019. Symposium review: The importance of the ruminal epithelial barrier for a healthy and productive cow. *Journal of Dairy Science*, 102(2):1866-1882. doi: 10.3168/jds.2018-15243 PMID: 30580938(9).
6. Baiomy, A.A. 2010. Influence of live Yeast on milk production, composition and some blood metabolites of Ossimi ewes during the milking period. *Journal of Animal and Poultry Production*, 1(10): 469-480. doi: 10.21608/jappmu.2010.86260(26).
7. Chaji, M., E. Direkvandi and A.Z.M. Salem. 2020. Ensiling of *Conocarpus erectus* tree leaves with molasses, exogenous enzyme and *Lactobacillus plantarum* impacts on ruminal sheep biogas production and fermentation. *Agroforestry Systems*, 94: 1611-1623. doi: 10.1007/s10457-019-00436-x (4).
8. De Backer, C.J.S. and L. Hudders. 2015. Meat morals: relationship between meat consumption consumer attitudes towards human and animal welfare and moral behavior. *Meat Science*, 99: 68-74. doi: 10.1016/j.meatsci.2014.08.011 PMID: 25282670(36).
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): 863-875. doi: 10.1093/tas/txaa031 PMID: 32705029(10).
10. Dehority, B.A., S.K.R. Karnati, J. Sylvester, Z. Yu, M. Morrison and J.L. Firkins. 2003. Specific PCR amplification of protozoal 18S rDNA sequences from DNA extracted from ruminal samples of cows. *Journal of animal science*, 81(3): 812-815.
11. 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).
12. Ding, J., Z.M. Zhou, L.P. Ren and Q.X. Meng. 2008. Effect of monensin and live Yeast supplementation on growth performance, nutrient digestibility, carcass characteristics and ruminal fermentation parameters in lambs fed steam-flaked corn-based diets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21(4): 547-554. doi: 10.5713/ajas.2008.70353(27).
13. 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. doi: 10.1111/jpn.13192 PMID:31518020(14).
14. 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. doi: 10.1071/AN15501.
15. Guedes, C.M., D. Goncalves, M.A.M. Rodrigues and A. Dias-da-Silva. 2008. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. *Animal Feed Science and Technology*, 145: 27-40. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.06.037.
16. He, M.L., J. Long, Y. Wang, G. Penner and T.A. McAllister. 2015. Effect of replacing barley with wheat grain in finishing feedlot diets on nutrient digestibility, rumen fermentation, bacterial communities and plasma metabolites in beef steers. *Livestock Science*, 176: 104-110. doi: 10.1016/j.livsci.2015.03.024.
17. Jaramillo-López, E., M.F. Itza-Ortiz, G. Peraza-Mercado and J.M. Carrera-Chávez. 2017. Ruminal acidosis: strategies for its control. *Austral journal of veterinary sciences*, 49(3): 139-148. doi: 10.4067/S0719-81322017000300139.
18. Khadem, A.A., M. Pahlavan, A. Afzalzadeh and M. Rezaeian. 2007. Effects of live Yeast *Saccharomyces cerevisiae* on fermentation parameters and microbial populations of rumen, total tract digestibility of diet nutrients and on in situ degradability of Alfafa hay in Iranian Chall sheep. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(4): 590-597. doi: 10.3923/pjbs.2007.590.597 PMID: 19069540.
19. Khilji, 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. doi: 10.1016/j.meatsci.2010.01.002 PMID: 20374889(35).
20. Khorasani, G.R. and J.J. Kennelly. 2001. Influence of carbohydrate source and buffer on rumen fermentation characteristics, milk yield, and milk composition in late-lactation Holstein cows. *Journal of dairy Science*, 84: 1707-1716. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74606-1 PMID: 11467821(25).
21. Khorasani, O., M. Chaji and F. Baghban. 2021. The effect of ruminal pH adjusting additives on some meat quality parameters in fattening lambs fed a high concentrate diet. *Research On Animal Production (Scientific and Research)*, 12(32): 50-60 (In Persian).
22. Khorasani, O., M. Chaji and F. Baghban. 2020. Comparison of the effect of sodium bicarbonate buffer with *Megasphaera elsdenii* as a rumen-consuming acid on growth performance, digestibility, rumen and blood parameters of lambs in high concentrate. *Iranian Journal of animal Science*, 30(2): 85-99. doi: 10.22034/AS.2020.11494(8).

23. Khorasani, O., M. Chaji, and F. Baghban, 2021. Effect of chemical buffer and *Megasphaera elsdenii*-yeast on histomorphometry and histopathology of rumen and liver of Arabian fattening lambs fed with concentrated diets. *Animal Production*, 23(1): 47-59.
24. Luo, J., C.S. Ranadheera, S. King, C. Evans and S. Baines. 2017. *In vitro* investigation of the effect of dairy propionibacteria on rumen pH, lactic acid and volatile fatty acids. *Journal of integrative agriculture*, 16: 1566-1575. doi: 10.1016/S2095-3119(16)61556-3 PMID: 27824275(2).
25. Mahdavi-rad, N., M. Chaji, M. Bojarpour and M. Dehghanbanadaky. 2021. Comparison of the effect of sodium bicarbonate, sodium sesquicarbonate, and zeolite as rumen buffers on apparent digestibility, growth performance and rumen fermentation parameters of Arabi lambs. *Tropical Animal Health and Production*, 53: 465. doi: 10.1007/s11250-021-02909-7 PMID: 34546468(18).
26. Malekhhahi, M., A.M. Tahmasbi, A.A. Naserian, M. Danesh-Mesgaran, J.L. Kleen, O. AlZahal and M.H. Ghaffari. 2016. Effects of supplementation of active dried yeast and malate during sub-acute ruminal acidosis on rumen fermentation, microbial population, selected blood metabolites and milk production in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 213: 29-43. doi: 10.1016/i.anifeedsci.2015.12.018(21).
27. Moeini, M.M., W. Mohamadi Chapdareh and M. Sori. 2017. The effect of supplementing Rumenobuffer, Sodium bicarbonate and mixed herbs on acidosis, VFA, blood parameters and performance of fattening Kurdy lambs. *Journal of Ruminant Research*, 5(2): 87-100. (In Persian). doi: 10.22069/EJRR.2017.13417.1558(20)
28. Mohammadabadi, T., M. Gheibipour, H. Motamedi, M. Chaji and B.A. Abbas. 2021. Isolation and identification of tannin-degrading bacteria from deer gut and potency for improving nutritional value of tannin rich plants. *Journal Homepage*, 17(1): 65-75. doi: 10.22055/IJVJ.2021.257994.2322.
29. 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 Ruminant*, 24(2): 276-280. doi: 10.5958/0973-9718.2018.00056.9.
30. Nourouzi, M., Mezerji, F. and M. Danesh Mesgaran. 2005. The effect of live yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*-1026) on rumen fermentation parameters and blood metabolites of sheep. *Proceedings of the British Society of Animal Science*, 9(4): 197-213. doi: 10.1017/S1752756200010693(30).
31. NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. National Academy Press Washington DC. (13).
32. Omid, 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.
33. Pasbani, E. and S. Amiri. 2017. Evaluating the effect of Aleo Vera gel coating and solid lipid nanoparticles containing Thymol Seed (*Carum Copticum*) essential oil on shelf life of fresh beef. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 12(2): 75-86. doi: [http://nsft.sbmu.ac.ir/article-1-2109\(32\)](http://nsft.sbmu.ac.ir/article-1-2109(32)).
34. Pourabbasali, N., N.M. Torbatinejad, S. Hasani and A. Gharahbash. 2007. Study of the effect *Saccharomyces cerevisiae* yeast on fattening performance and blood metabolites of Atabai lambs. *Journal of Agriculture of Science Natural Resources*, 14(3): 89-97. doi: <https://www.sid.ir/fa/journal/ViewPaper.aspx?id=67261> (In Persian).
35. Rostamzadeh, P., A. Taghizadeh, A. Hosein Khani, G.h. Moghaddam. 2015. Effects of *saccharomyces cerevisiae* yeast on digestibility of finishing diets, ruminal and blood metabolites in sheep. *Journal of Animal Sciences*, 25(2): 175-188. (In Persian).
36. Russell, K.E. and A.J. Roussel. 2007. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23(3): 403-426. doi: 10.1016/j.cvfa.2007.07.003(31)
37. Sedighi, R. and D. Alipour. 2019. Assessment of probiotic effects of isolated *Megasphaera elsdenii* strains in Mehraban sheep and Holstein lactating cows. *Animal Feed Science and Technology*, 248: 126-131. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2019.01.007(6).
38. Suman, S.P., M.C. Hunt, M.N. Nair and G. Rentfrow. 2014. Improving beef color stability: Practical strategies and underlying mechanisms. *Meat Science*. 98: 490-504. doi: 10.1016/j.meatsci.2014.06.032 PMID: 25041654(33).
39. Van Soest, P.J., J.B. Rabertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of dairy Science*, 74(10): 3583-3597. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2 PMID: 1660498(17).
40. Zali, A., S.M. Nasrollahi and S. Khodabandelo. 2019. Effects of two new formulas of dietary buffers with a high buffering capacity containing Na or K on performance and metabolism of mid-lactation dairy cows. *Preventive veterinary medicine*, 163: 87-92. doi: 10.1016/j.prevetmed.2019.01.003 PMID: 30670191(7).



Comparison of the Effect of using Chemical Buffer and Acid-Consuming Bacteria on Digestibility and Fermentation, Growth Performance and Meat Quality of Lambs Fed with High Concentrate Diets

Freshteh Vafae¹, Morteza Chaji² and Omid Khorasani³

1- Former M.Sc. Student 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@asnruk.ac.ir)

3- PhD of Animal Nutrition, Kharazmi Industrial School, of Dezful

Resived: 28 October, 2022 Accepted: 27 Septamber, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: High concentrated diets are rapidly degraded in the rumen and lower ruminal pH by rapid and high lactic acid production. The use of chemical or biological buffers improves digestion and fermentation conditions in a high concentrate diet. The aim of this study was to compare the effect of using acid-consuming bacteria as pH regulator (biological buffer) and chemical buffer to improve digestibility and fermentation of high concentrate diets.

Material and Methods: In the present experiment, 21 fattening Arabi male lambs with an average weight of 34.35 ± 2.50 kg and an average age of 8 ± 1 months old were used in a completely randomized design with 3 treatments and 7 replications for 50 days. Experimental treatments were included: 1- control diet (70% concentrate and 30% forage, without buffer and bacteria), 2- control diet + 1% sodium bicarbonate buffer, 3- control diet + 3 ml of *Megasphaera elsdenii* bacteria with 2 gram yeasts of *Saccharomyces cerevisiae* (bacterial-yeast).

Results: Nutrient digestibility and growth performance parameters were not affected by experimental treatments. Rumen protozoa population was significantly higher in bacterial-yeast treatment than control ($p < 0.05$). Ammonia nitrogen concentration and ruminal pH were affected by experimental treatments, and compared to control treatment, in treatments containing chemical or biological buffer, ruminal pH increased and ammonia nitrogen decreased. But blood and liver parameters, carcass characteristics such as size and weight of carcass parts, meat colorimetric characteristics were not affected by experimental treatments ($p < 0.05$).

Conclusion: Overall, the results of the present experiment showed that the use of acid-consuming bacteria as pH regulators has competitive effects with bicarbonate buffer and even better in some cases.

Keywords: Blood Parameters, Carcass characteristics, *Megasphaera elsdenii* Bacteria, Rumen protozoa, *Saccharomyces cerevisiae*, Sodium bicarbonate



"مقاله پژوهشی"

تاثیر استفاده از سطوح مختلف دانه کامل و آسیاب شده کتان بر عملکرد، گوارش پذیری، فراسنجه‌های خونی و پروتئین میکروبی بره‌های کبوده شیرازی

سیده حمیده حسینی^۱، محمد رضا دهقانی^۲، عبدالحمید کریمی^۳، مصطفی یوسف الهی^۴ و محمد جواد ابرقویی^۵

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران، (نویسنده مسوول: mr.dehghani@uoz.ac.ir)
۳- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران
۴- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۵- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۰
صفحه: ۷۸ تا ۸۵

چکیده مسوط

مقدمه و هدف: استفاده از دانه کتان به عنوان یک منبع مکمل انرژی می‌تواند رشد بره‌ها را تحت تاثیر قرار دهد. این مطالعه با هدف بررسی اثر تغذیه سطوح صفر، ۸ و ۱۵ درصد دانه کامل و آسیاب شده کتان بر عملکرد، گوارش پذیری مواد مغذی، فراسنجه‌های خونی و تولید پروتئین میکروبی بره‌های کبوده شیرازی انجام شد.

مواد و روش‌ها: به مدت ۷۴ روز تعداد ۳۰ راس بره نر (سن ۶۰±۴ روزگی و وزن ۲۳/۷±۲/۵ کیلوگرم) در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۵ گروه آزمایشی و ۶ تکرار اختصاص یافت.

یافته‌ها: افزودن دانه کتان (کامل و آسیاب شده) بر عملکرد بره‌ها و گوارش پذیری مواد مغذی در کل دستگاه گوارش، تاثیر معنی‌داری نداشت، اما گوارش پذیری چربی‌خام در تیمارهای حاوی دانه کتان نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری بهبود یافت (p=0.001). بره‌های دریافت‌کننده دانه کتان افزایش معنی‌داری در غلظت تری‌گلیسرید (p=0.03) و کلسترول (p=0.04) سرم نسبت به گروه شاهد داشتند. سطح و شکل فیزیکی دانه کتان تاثیری بر غلظت گلوکز و آلبومین بره‌ها نداشت. مشتقات پورینی، ازت میکروبی و تولید پروتئین میکروبی نیز تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

نتیجه‌گیری: سطح و شکل فیزیکی دانه کتان بر بهبود گوارش پذیری چربی‌خام و افزایش تری‌گلیسرید و کلسترول خون موثر بود.

واژه‌های کلیدی: بره کبوده شیرازی، پروتئین میکروبی، دانه کتان

مقدمه

حتی در صورت داشتن قیمت سه تا چهار برابر بیشتر از ذرت نیز مقرون به صرفه است (۲۱). محققین گزارش کردند که بره‌هایی که در هنگام چرا در مرتع با دانه کتان به صورت کامل و یا آسیاب شده تغذیه شدند، عملکرد رشد بهتری داشتند (۵).

چربی‌ها بخصوص اسیدهای چرب غیراشباع باعث کاهش در مصرف خوراک و گوارش پذیری می‌شوند (۲۹، ۲۵)، با این حال، ممکن است تغذیه پلی‌اسیدهای چرب غیراشباع به صورت دانه‌های روغنی نسبت به تغذیه مستقیم روغن تاثیر منفی کمتری داشته باشند (۳۷). به‌طوری که، در پژوهشی گزارش شده، تغذیه دانه کتان در گاوهای شیری بدون تاثیر منفی بر تخمیر شکمبه باعث بهبود در گوارش پذیری مواد مغذی شد (۱۲). این اثر می‌تواند به عدم تاثیر روغن دانه کتان عملکرد شکمبه به علت پوشش دانه کتان مربوط باشد. ممکن است به این علت باشد که روغن موجود در دانه کتان به صورت پوشش‌دار بوده در نتیجه در دخالت نامطلوب نخواهد داشت.

با توجه به تاثیر دانه کتان بر بهبود عملکرد نشخوارکنندگان لازم است سطح استفاده از دانه کتان جهت جلوگیری از اثرات منفی آن بر گوارش پذیری مواد مغذی و پروتئین میکروبی تعیین شود. بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی تاثیر سطوح صفر، ۸ و ۱۵ درصد دانه کتان کامل و آسیاب شده به جیره پروراری بره‌های کبوده شیرازی بر عملکرد، گوارش پذیری مواد مغذی، فراسنجه‌های خونی و تولید پروتئین میکروبی است.

باتوجه به شرایط اقلیمی خاص و محدودیت منابع آبی در ایران، مراتع به تنهایی نمی‌توانند نیازهای گوسفندان را تامین کنند. بنابراین، مکمل کردن جیره با منابع مناسب ضروری است. یک نمونه مکمل که برای افزایش مصرف خوراک و عملکرد بره‌ها می‌توان استفاده کرد دانه کتان است (۶).

دانه کتان با نام علمی (*Linum Usitatissimum*)، به‌طور متوسط دارای، ۴۱ درصد روغن، ۲۰ درصد پروتئین، ۲۸ درصد لیاف، ۷/۷ درصد رطوبت و ۳/۴ درصد خاکستر است (۲). همچنین این دانه روغنی منبع غنی از اسیدهای چرب ضروری است، که ۷۰-۵۰ درصد آن را آلفالینولنیک‌اسید (غنی از اسیدچرب امگا-۳) تشکیل می‌دهد (۳۴). مواد ضد تغذیه‌ای کتان حاوی گلیکوزیدهای سیانوژن به نام لینوستاتین، تئولینوستاتین و لینومارین است و عمده گلیکوزیدهای سیانوژن در دانه کتان مربوط به لینومارین است. به هر حال در بیشتر مواردی که از دانه کتان بالغ در تغذیه دام استفاده می‌شود، حتی در شرایطی که فرآوری حرارتی نیز بر روی آن انجام نشده باشد، کمتر اتفاق افتاده که اثرات منفی ناشی از حضور لینومارین در بدن دام بروز نماید (۳۲).

پژوهشگران بیان کردند که دانه کتان دارای مقادیر بالایی از انرژی و پروتئین است و در نتیجه باعث افزایش خوراک مصرفی و وزن دام می‌شود (۲۴). همچنین بیان شده است که، سطوح بالایی از انرژی و پروتئین در دانه روغنی کتان باعث افزایش در مصرف خوراک و عملکرد دام می‌شود از این رو

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از ۳۰ راس بره نر نژاد کبوده شیرازی با سن 4 ± 6 روز و به وزن $2/5 \pm 23/7$ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۶ تکرار به مدت ۱۰ هفته شامل ۲ هفته عادت‌پذیری به جیره پایه و ۸ هفته دوره آزمایش، استفاده شد. تیمارها شامل: (۱) جیره بدون دانه کتان (شاهد)، (۲) جیره حاوی ۸ درصد دانه کتان کامل، (۳) جیره حاوی ۱۵ درصد دانه کتان کامل، (۴) جیره حاوی ۸ درصد دانه کتان آسیاب شده و (۵) جیره حاوی ۱۵ درصد دانه کتان آسیاب شده (براساس ماده خشک) بود. جیره‌های غذایی با استفاده از جداول احتیاجات مواد مغذی گوسفند در نشریه احتیاجات مواد مغذی نشخوارکنندگان کوچک NRC، اقلام خوراکی مشابه و با استفاده از نرم‌افزار سیستم تغذیه نشخوارکنندگان کوچک (SRNS) تنظیم شد.

پیش از شروع آزمایش، به منظور پیشگیری از آلودگی به انگل‌های خارجی و داخلی و ابتلاء به بیماری آنروتوکسمی

دام‌ها واکسینه شدند.

در روز شروع آزمایش وزن بدن بره‌ها ثبت گردید و سپس به‌طور تصادفی به یکی از ۵ گروه آزمایشی در داخل قفس‌های انفرادی با مساحت $2/2$ متر مربع ($1/5$ متر \times $1/5$ متر) اختصاص یافتند. جیره‌ها به صورت کاملاً مخلوط و با نسبت ۲۵ به ۷۵ درصد علوفه به کنسانتره طی دو نوبت در ساعت‌های ۸ و ۱۶ در حد اشتها در اختیار دام‌ها قرار گرفت. در طول آزمایش بره‌ها به‌طور آزاد به آب آشامیدنی دسترسی داشتند. میزان خوراک ریخته شده و پس‌ماند روزانه جهت محاسبه ماده خشک مصرفی ثبت گردید. اندازه‌گیری وزن دام پس از گرسنگی شبانه (۱۶ ساعت) و در ابتدا و انتهای آزمایش انجام شد. جهت کاهش خطا، وزن‌کشی طی دو روز متوالی تکرار شد. ضریب تبدیل غذایی نیز با تقسیم مقدار خوراک مصرفی بر افزایش وزن در روزهای مورد محاسبه اندازه‌گیری شد. در جدول ۱ اقلام خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی ارائه شده است.

جدول ۱- اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی (درصد)

Table 1. Ingredients and composition of the experimental diets (%)

| Treatment 5 | Treatment 4 | Treatment 3 | Treatment 2 | Treatment 1 | ماده خوراکی (Ingredient) |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----------------------------------------------------------------------------|
| 18.18 | 18.18 | 18.18 | 18.18 | 18.18 | Alfalfa یونجه |
| 6.82 | 6.82 | 6.82 | 6.82 | 6.82 | Barley Straw کاه جو |
| 7.26 | 9.09 | 7.26 | 9.09 | 11.36 | Soybean Meal کنجاله سویا |
| 16.01 | 19.45 | 16.01 | 19.45 | 23.18 | Ground Barley دانه جو |
| 27.00 | 27.00 | 27.00 | 27.00 | 27.00 | Ground Corn دانه ذرت |
| 10.93 | 10.93 | 10.93 | 10.93 | 10.93 | Wheat Bran سوس گندم |
| 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 | Mineral - Vitamin Supplement ¹ مکمل معدنی و ویتامینی |
| 1.18 | 1.18 | 1.18 | 1.18 | 1.18 | Shell Powder پودر صدف |
| 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 | Salt نمک |
| 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 | 0.45 | Sweet Lupine جوش شیرین |
| 15.00 | 8.00 | 15.00 | 8.00 | - | Flaxseed دانه کتان |
| | | | | | Nutrients مواد مغذی |
| | | | | | Metabolizable Energy (Mcal/kg) انرژی قابل متابولیسم (مکالری در کیلوگرم) |
| 2.75 | 2.69 | 2.75 | 2.69 | 2.62 | Crude Protein (%) پروتئین خام |
| 16.02 | 16.00 | 16.02 | 16.00 | 16.04 | Crude Fat (%) چربی خام |
| 6.82 | 5.20 | 6.82 | 5.20 | 3.36 | Insoluble Fiber in Neutral Detergent (%) الیاف نامحلول در شوینده خنثی |
| 26.35 | 25.75 | 26.35 | 25.75 | 25.06 | Insoluble Fiber in Acid Detergent (%) الیاف نامحلول در شوینده اسیدی |
| 15.00 | 14.43 | 15.00 | 14.43 | 13.79 | |

¹: ترکیب مکمل معدنی - ویتامینی: ویتامین A: ۴۰۰ هزار واحد بین المللی، ویتامین D₃: ۱۰۰ هزار واحد بین المللی، ویتامین E: ۱۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B₁: ۱۰ میلی‌گرم، ویتامین B₂: ۲۰ میلی‌گرم، مس: ۱۰۰۰ میلی‌گرم، آهن: ۳۰۰۰ میلی‌گرم، روی: ۲۰۰۰ میلی‌گرم، منیزیم: ۱۱۰۰۰ میلی‌گرم، کبالت: ۶۰ میلی‌گرم، ید: ۶۰ میلی‌گرم، منگنز: ۲۰۰۰ میلی‌گرم، سلنیوم: ۲ میلی‌گرم، آنتی‌اکسیدان: ۱۰۰۰ میلی‌گرم و غیره...

¹: Nutritional requirements were balanced according to SNRS (1.9.4488). 1= Mineral-vitamin supplement composition: Vitamin A: 400,000 international units, Vitamin D₃: 100,000 international units, Vitamin E: 100 mg, Vitamin B₁: 10 mg, Vitamin B₂: 20 mg, Copper: 1000 mg, Iron: 3000 mg, Zinc: 2000 mg, Magnesium: 11000 mg, Cobalt: 60 mg, Iodine: 60 mg, Manganese: 2000 mg, Selenium: 2 mg, Antioxidant: 1000 mg, etc.

صورت روزانه جمع‌آوری شد. در ابتدای هر روز نیز از خوراک مصرفی نمونه‌گیری به عمل آمد. بعد از طی شدن ۷ روز برای هر راس دام تعداد ۷ نمونه مدفوع، ۷ نمونه خوراک مصرفی و ۷ نمونه باقیمانده خوراک بدست آمد. نمونه‌های گرفته شده به

برای تعیین گوارش‌پذیری مواد مغذی، در روز ۳۰ آزمایش، تعداد ۲۵ راس بره به قفس‌های متابولیکی منتقل شد. بعد از سپری شدن یک دوره ۳ روزه عادت‌پذیری، به مدت ۷ روز، باقیمانده مواد خوراکی و مدفوع بره‌ها به

در معادله (۱): y : مشتقات پورینی دفع شده؛ x : پورین‌های جذب شده؛ w : وزن متابولیکی و c : عدد نپر (۲/۷۱۸) است.
 در معادله (۲): x : پورین‌های جذب شده؛ $۰/۸۳$: قابلیت هضم پورین میکروبی؛ ۷۰ : مقدار نیتروژن موجود در پورین‌ها (میلی گرم بر میلی مول)؛ $۰/۱۱۶$: نسبت نیتروژن پورینی به کل نیتروژن موجود در میکروب‌های شکمبه و پروتئین میکروبی حاصل ضرب نیتروژن میکروبی در $۶/۲۵$ محاسبه شد. پس از این مدت بره‌ها دوباره به قفس‌های انفرادی انتقال داده شدند. در پایان آزمایش (پایان ۶۰ روز دوره پروار)، ۳ رأس بره از هر تیمار، به‌طور تصادفی انتخاب شد و پس از ۱۲ ساعت محرومیت از خوراک، خونگیری از بره‌ها به وسیله لوله ۵ میلی‌لیتری از سیاهرگ وداج انجام شد و بعد از اتمام کار، نمونه‌ها به سرعت به آزمایشگاه ارسال و سرم تهیه شده جهت تعیین فراسنجه‌های خونی (گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول و آلبومین) با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (UK spectrophotometers Jenway 6300) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش حیوانی براساس طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۶ حیوان در هر تیمار انجام شد. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱)، تجزیه آماری شد. مدل آماری این آزمایش به شرح زیر بود:

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

Y_{ij} : مشاهده بدست آمده مربوط به صفت (متغیر وابسته)؛ μ میانگین کل؛ t_i : اثر آمین تیمار، e_{ij} : اثر خطای آزمایشی

صورت روزانه در دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شد سپس نمونه‌های مدفوع، خوراک مصرفی و باقی‌مانده خوراک برای هر دام، با هم مخلوط و یک نمونه (۱۰۰ گرمی) نهایی از هر کدام تهیه شد. سپس گوارش‌پذیری مواد مغذی با استفاده از روش مارکر داخلی خاکستر نامحلول در اسید محاسبه گردید (۳۳). غلظت مواد مغذی و مارکر در نمونه‌های خوراک و مدفوع با استفاده از روش‌های استاندارد تعیین شد (۳). همچنین برای تعیین مقدار تولید پروتئین میکروبی، میزان ادرار به صورت ۲۴ ساعته و با استفاده از ظرف‌های مخصوصی که در زیر قفس‌های متابولیکی قرار گرفت، جمع‌آوری شد. به منظور جلوگیری از رشد باکتری‌ها و اتلاف نیتروژن ادرار، کل ادرار روزانه در ظرف‌های حاوی ۱۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱۰ درصد جمع‌آوری شد. هر روز مقدار ادرار هر حیوان اندازه‌گیری و برای جلوگیری از ته‌نشینی ترکیبات یا اجزاء پروتئین میکروبی (به خصوص اسید اوریک) مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از ادرار روزانه جمع‌آوری شده با ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق و در دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس ذخیره شد. برای محاسبه کل مشتقات پورینی از مجموع مقادیر آلانتوئین، اسید اوریک، گزانتین و هیپوگزانتین استفاده شد و از معادلات زیر برای محاسبه پورین‌های دفع شده و مقدار نیتروژن میکروبی تولیدی در گوسفند استفاده شد (۸).

$$y = 0.84x + (0.15w^{0.75}e - 0.25x) \quad (۱)$$

$$\text{Microbial N(g/d)} = \frac{70x}{0.83 \times 0.116 \times 1000} \quad (۲)$$

جدول ۲- ترکیبات شیمیایی دانه روغنی کتان (درصد ماده خشک)

Table 2. Chemical composition of Flaxseed (% Dry Matter)

| دانه کتان Flaxseed | اقلام Items |
|-----------------------|------------------------------|
| 35.00 | Crude Fat چربی خام |
| 19.30 | Crude Protein پروتئین خام |
| 7.00 | Moisture رطوبت |
| 26.00 | Crude Fiber الیاف |
| 2.92 | Ash خاکستر |

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی دانه کتان در جدول ۲ نشان داده شده است. در این پژوهش دانه کتان (قهوه‌ای کانادایی) دارای ۳۵ درصد روغن، ۱۹/۳ درصد پروتئین، ۲۶ درصد الیاف، ۷ درصد رطوبت و ۲/۹۲ درصد خاکستر بود.

اثر جیره‌های آزمایشی بر گوارش‌پذیری مواد مغذی

گوارش‌پذیری مواد مغذی در بره‌های تغذیه شده با کتان کامل و آسیاب شده در جدول ۳ نشان داده شده است. در تحقیق حاضر دانه کتان بر گوارش‌پذیری ماده خشک مصرفی، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) تاثیر معنی‌داری نداشت، اما گوارش‌پذیری چربی خام در تیمارهای دارای دانه کتان نسبت به تیمار شاهد به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p=0.001$). که دلیل آن وجود دانه

روغنی کتان که منبع غنی از اسید چرب غیراشباع آلفالینولنیک اسید (n-3) می‌تواند باشد. همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، در یک تحقیقی روی گاوهای شیری، تغذیه دانه کتان گوارش‌پذیری چربی خام را افزایش داد ولی روی گوارش‌پذیری ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی جیره بی‌تاثیر بود (۲۳). در پژوهشی اضافه کردن ۹ درصد پودر دانه کتان به جیره بره‌های کردی باعث افزایش گوارش‌پذیری چربی نسبت به تیمار شاهد شد (۱۴). تحقیقی نشان داد که با استفاده از روغن کتان در جیره بره‌ها، گوارش‌پذیری ماده خشک، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ولی گوارش‌پذیری چربی خام بهبود یافت (۷).

حدودی می‌تواند به دلیل نوع علوفه و یا چربی باشد. در پژوهشی گزارش شده که، افزودن دانه کتان با عمل‌آوری مختلف تاثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ندارد (۳۰).

گزارش‌ها نشان دادند که اسیدهای چرب غیراشباع گوارش‌پذیری بالاتری نسبت به اسیدهای چرب اشباع دارند ولی باعث کاهش گوارش‌پذیری الیاف می‌شوند (۲۶، ۱۸). ولی در پژوهش حاضر کاهش گوارش‌پذیری الیاف در اثر مصرف دانه کتان (منبع غنی از اسید چرب غیراشباع) مشاهده نشد تا

جدول ۳- تاثیر دانه کتان کامل و آسیاب شده بر گوارش‌پذیری ظاهری مواد مغذی (درصد) در بره‌ها

Table 3. Effects of fed diets whole Flaxseed or ground Flaxseed on apparent digestibility (%) in lambs

| p-value | SEM | Experimental Diets ¹ (جیره‌های آزمایشی) | | | | | متغیرها Variables |
|---------|------|----------------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------------------------------------------|
| | | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | |
| 0.81 | 2.32 | 70.07 | 71.66 | 69.14 | 79.41 | 69.05 | Dry Matter ماده خشک |
| 0.95 | 2.19 | 70.92 | 72.83 | 70.16 | 80.40 | 69.62 | Organic Matter ماده آلی |
| 0.12 | 2.31 | 71.68 | 73.25 | 67.81 | 82.48 | 74.34 | Crude Protein پروتئین خام |
| 0.001 | 1.73 | 76.90 ^a | 76.61 ^a | 81.06 ^a | 78.56 ^a | 66.29 ^b | Crude Fat چربی خام |
| 0.10 | 1.27 | 68.79 | 70.03 | 68.29 | 72.58 | 67.73 | Neutral Detergent Fiber الیاف نامحلول در شوینده خنثی |

¹: جیره بدون دانه کتان (شاهد)، ۲: جیره با ۸ درصد دانه کتان کامل، ۳: جیره با ۱۵ درصد دانه کتان کامل، ۴: جیره با ۸ درصد دانه کتان آسیاب شده، ۵: جیره با ۱۵ درصد دانه کتان آسیاب شده. حروف نامشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌ها است (P<0.05)، SEM: خطای معیار میانگین‌ها، P-Value: احتمال سطح معنی‌داری.

¹: Diets: 1. Basal diet (control), 2. Basal diet + 8% whole flaxseed, 3. Basal diet + 15% whole flaxseed, 4. Basal diet + 8% milled flaxseed, 5. Basal diet + 15% milled flaxseed. Dissimilar letters within a row indicate a significant difference (P<0.05) between means, SEM: standard error of the means, P-Value: probability of significance level.

فراسنجه‌های خونی

جدول ۵ تاثیر افزودن دانه کتان کامل و آسیاب شده را بر برخی فراسنجه‌های خونی بره‌های کبوده شیرازی نشان می‌دهد. سطح و شکل فیزیکی دانه کتان تاثیر معنی‌داری بر گلوکز و آلبومین خون نداشت. افزایش معنی‌دار در غلظت تری‌گلیسرید (p=0.03) و کلسترول (p=0.04) پلاسمای خون تیمارهای دارای دانه کتان نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. مطابق با نتایج حاضر، در پژوهشی گزارش شد که بره‌های تغذیه شده با دانه کتان تری‌گلیسرید و کلسترول بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشتند (۲۸). در پژوهشی دیگر نیز، روغن دانه کتان باعث افزایش معنی‌داری در تری‌گلیسرید خون گاوهای شیری شد (۳۵). نتایج تحقیق انجام شد بر روی بره‌های پرواری، نشان داد که، افزودن روغن دانه کتان باعث کاهش گلوکز، افزایش کلسترول و تری‌گلیسرید خون شد (۷). در بررسی تاثیر کتان فرآوری شده روی گوساله‌های شیرخوار بیان کردند که استفاده از دانه کتان فرآوری شده تاثیری بر میزان تری‌گلیسرید خون نداشت (۱۱). در پژوهش حاضر، شاید علت افزایش کلسترول خون به این دلیل باشد که افزودن مکمل چربی، با افزایش سنتز کلسترول در سلول‌های روده باریک و کبد و افزایش جذب آن در روده باریک مرتبط است به طوری که اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه که از هیدروژنه شدن فرار کرده‌اند، ابتدا به کلسترول استریفه می‌شوند (۱۹). همچنین در این پژوهش تری‌گلیسریدهای حاصل از تجزیه چربی دانه کتان ممکن است مواد متابولیکی لازم برای سنتز تری‌گلیسریدها را تامین و در نتیجه باعث افزایش در تری‌گلیسرید پلاسمای خون شود (۷). حسین آبادی و همکاران (۱۵) گزارش کردند که استفاده از دانه کتان در جیره گوساله‌های شیرخوار تاثیری بر روی گلوکز، آلبومین، کلسترول و تری‌گلیسرید نداشت. تناقض

در جدول ۴ اثر جیره‌های آزمایشی بر خوراک مصرفی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک نشان داده است. یافته‌های این پژوهش نشان داد مصرف خوراک، میانگین افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک بره‌ها تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. همسو با یافته‌های این پژوهش، در پژوهشی زمانی که جیره را با سطوح مختلف دانه کتان مکمل کردند تفاوت معنی‌داری در مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک مشاهده نشد (۴). همچنین این نتایج با تحقیقی که گزارش کردند افزودن سطوح مختلف دانه کتان آسیاب شده در جیره بره‌های کردی تاثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک و عملکرد نداشت (۱) مطابقت دارد. در پژوهشی دیگر نیز افزودن روغن کتان در جیره غذایی بره‌ها تاثیر معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک آنها نداشت (۷).

مغایر با یافته‌های این پژوهش، افزودن دانه کتان باعث افزایش مصرف خوراک در روزهای اولیه پروار گوساله‌ها شد (۹). در تحقیقی استفاده از دانه کتان در رژیم غذایی گوسفند آواسی در سنین مختلف باعث افزایش وزن شد (۲۰). در مطالعه‌ای دیگر محققین گزارش کردند که افزودن ۵ تا ۸ درصد دانه کتان به جیره غذایی دام‌های پرواری باعث افزایش مصرف خوراک و بهبود افزایش وزن روزانه شد (۱۰).

دانه‌های روغنی مانند دانه کتان حاوی اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوییک و دوکوزاهگزانوئیک هستند که هر دو آنها از مشتقات فعال اسید لینولنیک هستند. مشخص شده است که این متابولیت‌های اکسیژنه نقش مهمی در رشد و توسعه حیوانات نوزاد خصوصا تکامل سیستمی آنها دارند (۱۶). با این حال ممکن است اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوییک و دوکوزاهگزانوئیک در طی این دوره از حیات بره‌ها تاثیر کمتری بر بازده مصرف خوراک و در نتیجه رشد بره‌ها داشته باشد.

تاثیر استفاده از سطوح مختلف دانه کامل و آسیاب شده کتان بر عملکرد، گوارش پذیری، فراسنجه‌های خونی و پروتئین ۸۲

در بعضی از نتایج ممکن است به دلیل، نوع دام، سطح و یا شکل مصرف دانه کتان باشد.

جدول ۴- تاثیر دانه کتان کامل و آسیاب شده بر عملکرد بره‌ها

Table 4. Effect of whole Flaxseed or ground Flaxseed on lamb performance

| p-value | SEM | جیره‌های آزمایشی ^۱ (Experimental Diets ¹) | | | | | متغیرها Variables |
|---------|------|------------------------------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------------------------------------------------------|
| | | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | |
| 0.14 | 0.04 | 1.25 | 1.36 | 1.37 | 1.21 | 1.30 | Daily feed intake (kg) خوراک مصرفی روزانه (کیلوگرم) |
| 0.37 | 1.49 | 24.12 | 24.60 | 26.32 | 22.52 | 26.27 | Initial weight (kg) وزن شروع دوره (کیلوگرم) |
| 0.29 | 1.39 | 35.15 | 35.20 | 37.68 | 33.45 | 36.75 | Final weight (kg) وزن پایان دوره (کیلوگرم) |
| 0.99 | 0.03 | 200.00 | 192.00 | 206.00 | 198.00 | 190.00 | Daily weight gain (g) افزایش وزن روزانه (گرم) |
| 0.96 | 1.38 | 7.66 | 7.28 | 6.69 | 6.78 | 7.84 | Feed conversion ratio (%) ضریب تبدیل خوراک (درصد) |

^۱: جیره بدون دانه کتان (شاهد)، ۲: جیره با ۸ درصد دانه کتان کامل، ۳: جیره با ۱۵ درصد دانه کتان کامل، ۴: جیره با ۸ درصد دانه کتان آسیاب شده؛ ۵: جیره با ۱۵ درصد دانه کتان آسیاب شده. حروف نامشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌ها است ($p < 0.05$)، SEM: خطای معیار میانگین‌ها، P-Value: احتمال سطح معنی‌داری

¹: Diets without cottonseed (control), 2: Diets with 8% whole cottonseed, 3: Diets with 15% whole cottonseed, 4: Diets with 8% ground cottonseed, 5: Diets with 15% ground cottonseed. Different letters within a row indicate significant differences between means ($P < 0.05$), SEM: standard error of the mean, P-Value: probability of significance level.

جدول ۵- تاثیر دانه کتان کامل یا آسیاب شده بر برخی فراسنجه‌های خونی بره‌ها

Table 5. Effects of fed diets containing whole Flaxseed or ground Flaxseed on some Plasma blood biochemical parameters in lambs

| p-value | SEM | جیره‌های آزمایشی ^۱ (Experimental Diets ¹) | | | | | metabolites فراسنجه‌ها |
|---------|------|------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-------------------------------------------------------------|
| | | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | |
| 0.43 | 2.51 | 45.11 | 49.32 | 47.32 | 50.12 | 51.65 | Glucose (mg/dl) گلوکز (میلی‌گرم در دسی لیتر) |
| 0.03 | 1.70 | 35.22 ^b | 35.08 ^b | 39.77 ^a | 37.36 ^{ab} | 30.90 ^c | Triglycerides (mg/dl) تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی لیتر) |
| 0.04 | 3.88 | 73.93 ^a | 73.44 ^a | 82.26 ^a | 80.92 ^a | 59.86 ^b | Cholesterol (mg/dl) کلسترول (میلی‌گرم در دسی لیتر) |
| 0.08 | 0.20 | 4.42 | 4.93 | 4.85 | 4.15 | 5.39 | Albumin (g/dl) آلبومین (گرم در دسی لیتر) |

^۱: جیره بدون دانه کتان (شاهد)، ۲: جیره با ۸ درصد دانه کتان کامل، ۳: جیره با ۱۵ درصد دانه کتان کامل، ۴: جیره با ۸ درصد دانه کتان آسیاب شده؛ ۵: جیره با ۱۵ درصد دانه کتان آسیاب شده. حروف نامشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌ها است ($p < 0.05$)، SEM: خطای معیار میانگین‌ها، P-Value: احتمال سطح معنی‌داری

¹: Diets without cottonseed (control), 2: Diets with 8% whole cottonseed, 3: Diets with 15% whole cottonseed, 4: Diets with 8% ground cottonseed, 5: Diets with 15% ground cottonseed. Different letters within a row indicate significant differences between means ($p < 0.05$), SEM: standard error of the mean, P-Value: probability of significance level.

پروتئین میکروبی

کردن ۱۲ درصد روغن کتان به جیره بره‌ها باعث افزایش در سنتز پروتئین میکروبی شد (۳۶).

چربی‌ها تولید متان در شکمبه را کاهش داده و در نتیجه باعث بهبود بهره‌وری انرژی، کاهش اثرات زیان‌بار زیست محیطی می‌شوند و ممکن است تاثیر مثبتی بر تولید پروتئین میکروبی داشته باشند (۱۷). در پژوهشی، اضافه کردن چربی به رژیم غذایی بره‌ها باعث افزایش انرژی جیره و کمک به جبران کاهش انرژی در طی فرآیند تخمیر از طریق کاهش تعداد باکتری‌های تولید کننده متان شد و این اثر باعث افزایش سنتز پروتئین میکروبی گردید (۱۷). در پژوهشی بیان کردند که بره‌های تغذیه شده با روغن ماهی (همانند دانه کتان غنی از اسید چرب غیراشباع (اسید لینولنیک) است)، کانولا و سویا اختلاف معنی‌داری در مشتقات پورینی و پروتئین میکروبی نداشتند ولی از نظر عددی تیمارهای دارای روغن ماهی مشتقات پورینی و تولید پروتئین میکروبی کمتری را نسبت به سایر تیمارها نشان داد (۲۷).

در جدول ۶ اثر جیره‌های آزمایشی بر مشتقات پورینی، ازت میکروبی و پروتئین میکروبی نشان داده شده است. مشتقات پورینی ارادار (اسید اوریک، گزانتین + هیپوگزانتین، آلانتوئین)، ازت میکروبی و پروتئین میکروبی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. تاکنون مطالعات اندکی در مورد تاثیر سطح و اشکال مختلف دانه کتان روی پروتئین میکروبی بره‌ها انجام شده است. در مطالعه‌ای نشان داده شد که افزودن مخلوط ۶ درصد کنجاله کتان و ۱۲ درصد سویا به جیره باعث افزایش میزان آلانتوئین، اسید اوریک و گزانتین + هیپوگزانتین و پروتئین میکروبی شد اما زمانی که ۱۸ درصد دانه کتان را کاملاً جایگزین سویا کردند باعث کاهش پروتئین میکروبی شد و علت این کاهش را این طور بیان کردند که نسبت بالای دانه کتان منجر به مصرف بیشتر مواد ضد تغذیه‌ای توسط گوسفند و در نتیجه تاثیر منفی بر روی رشد میکروبی شکمبه می‌شود (۱۳). مطالعات نشان داد که اضافه

جدول ۶- تاثیر دانه کتان کامل یا آسیاب شده بر روی مشتقات ادراری و پروتئین میکروبی بره‌های آزمایشی
Table 6. Effects of fed diets containing whole Flaxseed or ground Flaxseed on urinary derivatives (PD) and microbial protein in lambs fed experimental diets

| p-value | SEM | جیره‌های آزمایشی ^۱ (Experimental Diets ^۱) | | | | | metabolites فراسنجه‌ها |
|---------|------|------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------------------------------------------------------------------------------|
| | | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | |
| 0.93 | 0.56 | 5.62 | 5.72 | 5.52 | 5.87 | 6.17 | Allantoin (mg/dl) آلانتوئین (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) |
| 0.89 | 0.05 | 0.84 | 0.87 | 0.82 | 0.85 | 0.89 | Xanthine + hypoxanthine (mg/dl) گزانتین+هیپوگزانتین (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) |
| 0.95 | 0.34 | 2.77 | 2.57 | 2.48 | 2.55 | 2.80 | Uric Acid (mg/dl) اسید اوریک (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) |
| 0.87 | 0.68 | 9.24 | 9.17 | 8.83 | 9.27 | 9.86 | Total purine derivatives (mg/dl) کل مشتقات پورینی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) |
| 0.81 | 0.58 | 6.45 | 6.80 | 6.20 | 6.93 | 7.10 | Microbial nitrogen (g/d) نیتروژن میکروبی (گرم در روز) |
| 0.80 | 3.62 | 40.31 | 42.50 | 38.75 | 43.28 | 44.37 | Microbial protein (mg/dl) پروتئین میکروبی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) |

۱: جیره بدون دانه کتان (شاهد)، ۲: جیره با ۸ درصد دانه کتان کامل، ۳: جیره با ۱۵ درصد دانه کتان کامل، ۴: جیره با ۸ درصد دانه کتان آسیاب شده، ۵: جیره با ۱۵ درصد دانه کتان آسیاب شده. حروف نامشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌ها است (P<0.05)، SEM: خطای معیار میانگین‌ها، P-Value: احتمال سطح معنی‌داری.

¹1: Diets without cottonseed (control), 2: Diets with 8% whole cottonseed, 3: Diets with 15% whole cottonseed, 4: Diets with 8% ground cottonseed, 5: Diets with 15% ground cottonseed. Different letters within a row indicate significant differences between means (P < 0.05), SEM: standard error of the mean, P-Value: probability of significance level.

بره‌های کبوده شیرازی استفاده شود. انجام آزمایشات تکمیلی و تعیین ترکیب اسیدهای چرب گوشت نیز برای دستیابی به اطلاعات بیشتر لازم است.

نتیجه‌گیری کلی
نتایج آزمایش حاضر نشان داد که استفاده از ۱۵ درصد دانه کتان بدون تاثیر منفی بر عملکرد دام می‌تواند در جیره

منابع

- Al-Rubeii, A.M.S. and H.G. Zahir. 2012. Effect of different levels of Flax seed powder as a source of omega-3 on the carcass characteristics of Karadi lambs. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2: 1189-1196.
- Anonymous. 2002. Flax seed oil-facts and information. *Symmetry*, 800: 231-7277.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Arlington, VA.
- Borys, B., A. Jarzynowska, B. Janicki and A. Borys. 2005. Effects of different particle size of rapeseed and linseed infattening lamb diets. *National Research Institute of Animal Production Krakow, Meat and Fat Research Institute, Jubilerska*, 4: 40-190.
- Burnett, V.F., G. Seymour, S. Norng, J. Jacobs and E.N. Ponnampalam. 2012. Lamb growth performance and carcass weight from rotationally grazed perennial pasture systems compared with annual pasture systems with supplements. *Journal of Animal Production Science*, 52(4): 248-254.
- Burnett, V.F., J.L. Jacobs, S. Norng and E.N. Ponnampalam. 2016. Feed intake, liveweight gain and carcass traits of lambs offered pelleted annual pasture hay supplemented with Flaxseed (*Linum usitatissimum*) flakes or algae (*Schizochytrium* sp.). *Journal of Animal Production Science*, 57(5): 877-883.
- Chashnidel, Y., S.M. Kazemi and A. Teymuri Yanesari. 2019. Effect of different levels of linseed oil on performance, degradability, digestibility, some blood parameters, quantitative and qualitative traits of meat in fattening lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 11(1): 133-149 (In Persian).
- Chen, X.B. and J.M. Gomes. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: An overview of the technical details. Occasional publication of the International Feed Resources Unit, Rowett Res. Inst., Bucksburn, Aberdeen, UK.
- Drouillard, J.S., E.J. Good, C.M. Gordon, T.J. Kessen, M.J. Sulpizio, S.P. Montgomery and J.J. Sindt. 2002. Flaxseed and Flaxseed products for cattle: Effect on health, growth performance, carcass quality and sensory attributes. *Proc 59th Flax Institute*, March 21-23, Fargo, ND. 72-87 pp.
- Drouillard, J.S., M.A. Seyfert, E.J. Good, E.R. Loe, B. Depenbusch and R. Daubert. 2004. Flaxseed for finishing beef cattle: Effects on animal performance, carcass quality, and meat composition. *Proceedings of the 60th Flax Institute*, Fargo, ND Flax Institute, Department of Plant Sciences, Fargo, 108-117.
- Ghaffari, M. 2016. The effects of feeding processed Flaxseed on performance of Holstein calves. M.Sc. Thesis, Department of Animal Science, Tehran University, Iran. 63 pp (In Persian).

- تاثیر استفاده از سطوح مختلف دانه کامل و آسیاب شده کتان بر عملکرد، گوارش پذیری، فراسنجه‌های خونی و پروتئین ۸۴
12. Gonthier, C., A.F. Mustafa, R. Berthiaume, H.V. Petit, R. Marineau and D.R. Ouellet. 2004. Effects of feeding micronized and extruded Flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87: 1854-1863.
 13. Hao, X.Y., S.C. Yu, C.T. Mu, X.D. Wu, C.X. Zhang, J.X. Zhao and J.X. Zhang. 2020. Replacing soybean meal with flax seed meal: effects on nutrient digestibility, rumen microbial protein synthesis and growth performance in sheep. *Journal Animal Science*, 14(9): 1841-1848.
 14. Hassan, K.M., S.M. Sadq, H.G. Zahir and A.M. Salih. 2014. Effect of different levels of ground Flaxseed on in vitro and in vivo digestibility in Karadi lambs. *Animal and Veterinary Sciences*, 4(12): 644-649.
 15. Hossein Abadi, M., N. Torbatinejad, T. Ghoorchi and A. Toghdory. 2020. Effects of feeding different Levels of Flaxseed on performance, nutrient digestibility and blood parameters of pre-weaning calves. *Research on Animal Production*, 28(11): 67-74 (In Persian).
 16. Innis, S.M. 2007. Dietary (n-3) fatty acids and brain development. *The Journal of nutrition*, 137: 855-859.
 17. Machmüller, A., D.A. Ossowski and M. Kreuzer. 2000. Comparative evaluation of coconut oil, oilseeds and crystalline fat on methane release, digestion and energy balance in lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 85: 41-60.
 18. Micek, P., F. Borowiec and M. Marciński. 2004. Linseed-based diets for sheep. 1. Nutrient digestibility, N retention and rumen fermentation. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2: 15-18.
 19. Miller, G.J. and R.W. Rice. 1967. Lipid metabolism in lambs as affected by fattening rations of roughage and concentrate. *Journal Animal Science*, 26: 1153-1159.
 20. Muneer, W.S.A. 2016. Effect of different flax diet concentrations on body weight gain and some of blood parameters of Awassi sheep. *Journal for Veterinary Medical Sciences*, 7(1): 96-101.
 21. Newkirk, R. 2008. Flax feed industry guide. Flax Canada 2015 Winnipeg, Manitoba. 1-24.
 22. NRC, 2007. Nutrient requirements of Small Ruminants Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. National Academic Press, Washington, DC, USA.
 23. Oba, M., G. Thangavelu, M. Dehghan-banadaky and D.J. Ambrose. 2009. Unprocessed whole Flaxseed is as effective as dry-rolled at increasing (linolenic acid concentration in milk of dairy cows. *Livestock. Science*, 122: 73-76.
 24. Omar, C.A., A.N. Yousif, M.K Arif and H.G Zahir. 2019. Effect of ground Flaxseed on the carcass characteristics of Karadi male lambs. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 33(1): 93-98.
 25. Palmquist, D.L. and T.C. Jenkin. 1980. Review: Fat in lactation rations. *Journal of Dairy Science*, 63: 1-14.
 26. Palmquist, D.L. and W.R.S. Mattos. 2006. Metabolismo de lipídeos. In: Berchielli, T.T., Pires, A.V., Oliveira, S.G. (Eds.) *Nutrição de ruminantes*. Jaboticabal: FUNEP, 287-310 pp.
 27. Parvar, R., T. Ghoorchi and M. Shams Shargh. 2017. Influence of dietary oils on performance, blood metabolites, purine derivatives, cellulase activity and muscle fatty acid composition in fattening lambs. *Small Ruminant Research*, 5442: 1-27.
 28. Ponnampalam, E.N., P.A. Lewandowski, F.T. Fahri, V.F. Burnett, F.R. Dunshea, T. Plozza and J.L. Jacobs. 2015. Forms of n-3 (ALA, C18: 3n-3 or DHA, C22: 6n-3) fatty acids affect carcass yield, blood lipids, muscle n-3 fatty acids and liver gene expression in lambs. *Lipids* 50 (11): 1133-1143.
 29. Schauff, D.J. and J.H. Clark. 1992. Effects of feeding diets containing calcium salts of long-chain fatty acids to lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 75: 2990-3002.
 30. Schroeder, J.W., M.L. Bauer and N.R. Bork. 2014. Effect of Flaxseed physical form on digestibility of lactation diets fed to Holstein steers. *Journal of Dairy Science*, 97: 5718-5728.
 31. SRNS. 2010. Small Ruminant Nutrition System model is the result of a joint collaboration among Texas A and M University, Cornell University.
 32. Turner, T. 2010. Influence of oilseed supplementation on ruminant meat and milk with emphasis on fatty acids. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences.
 33. Van Keulen, J. and B.A. Young. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44: 282-287.
 34. Xu J., H. Gao, L. Song, W. Yang, C. Chen, Q. Deng, Q. Huang, J. Yang and F. Huang. 2013. Flaxseed oil and α -lipoic acid combination ameliorates hepatic oxidative stress and lipid accumulation in comparison to lard. *Lipids Health Disease*, 12(58): 2-7.
 35. Ye, J.A., C. Wang, H. F. Wang, H.W. Ye, B.X. Wang, H.Y. Liu, Y.M. Wang, Z.Q. Yang and J.X. Liu. 2009. Milk production and fatty acid profile of dairy cows supplemented with Flaxseed oil, soybean oil, or extruded soybeans. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A-Animal Science*, 59(2): 121-129.
 36. Yu, S.C., X.Y. Hao, X.D. Wu, N. Ding, X.G. Diao, B.W. Xiang, W.J. Zhang and J.X. Zhang. 2018. Effects of replacement of soybean meal by oil cake of flax seed on rumen metabolism in lambs. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 30: 3033-3042.
 37. Zhang, R.H., A.F. Mustafa and X. Zhao. 2007. Effects of feeding oilseeds on nutrient utilization by lactating ewes. *Small Ruminant Research*, 67: 307-311.

The Effect of Feeding of Different Levels of Whole and Ground Flaxseed on Performance, Digestibility, Blood Parameters and Microbial Protein of Kabodeh Shirazi Lambs

Seyedeh Hamide Hosseini¹, Mohammad Reza Dehghani², Abdol Hamid Karimi³,
Mostafa Yusef Elahi⁴ and Mohammad Javad Abarguei⁵

1- Ph.D. student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran

2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran,
(Corresponding author: mr.dehghani@uoz.ac.ir)

3- Assistant Professor, Animal Science Research Department, Fars Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Shiraz, Iran

4- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran

5- Assistant Professor of Animal Science Research Department, Fars Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Shiraz, Iran

Received: 23 December, 2021 Accepted: 30 January, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: The administration of Flaxseed as a source of energy supplementation can affect the growth of lambs. The purpose of this study was to investigate the effect of feeding different levels (0, 8 and 15%) of whole and ground Flaxseed on performance, nutrient digestibility, some blood parameters, and microbial protein production of Kabodeh Shirazi lambs.

Material and Methods: 30 male lambs (60 ± 4 days old and weighing 23.7 ± 2.5 kg) were allocated to 5 experimental groups with 6 replications in a completely randomized design. Treatments include 1- Diet without Flaxseed (control), 2- Diet containing 8% whole Flaxseed, 3- Diet containing 15% whole Flaxseed, 4- Diet containing 8% ground Flaxseed, and 5- Diet containing 15% of Flaxseed was ground (based on dry matter).

Results: The addition of Flaxseed (whole and ground) had no significant effect on the performance of lambs and digestibility of nutrients in the whole gastrointestinal tract, but In comparison with the control group, crude fat digestibility has greatly improved in treatments using Flaxseed ($p=0.001$). As compared to the control treatments, the Flaxseed treatments raised plasma triglycerides ($p=0.03$) and cholesterol levels significantly ($p=0.04$). No difference was seen in glucose and albumin levels among lambs receiving different amounts or forms of Flaxseed. Purine derivatives, microbial nitrogen, and microbial protein production were also not affected by experimental treatments.

Conclusion: Flaxseed in various levels and forms improved the digestibility of crude fat and also increased triglycerides and blood cholesterol.

Keywords: Flaxseed, Kabodeh Shirazi Lamb, Microbial protein



"مقاله پژوهشی"

تاثیر تغذیه علوفه کامل ریحان بر قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های خون و عملکرد بره‌های پرواری زندی

گلنور کوثری^۱، محمدعلی نوروزیان^۲، بهزاد خرمی^۱ و غلام‌عباس اکبری^۳

۱- گروه علوم دام و طیور، دانشکده فناوری کشاورزی دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
۲- گروه علوم دام و طیور، دانشکده فناوری کشاورزی دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، (نویسنده مسوول: manorouzian@ut.ac.ir)
۳- گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۸/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۸
صفحه: ۸۶ تا ۹۳

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: مهمترین مشکل صنعت پرورش دام کشور تامین علوفه مورد نیاز آن است و شناسایی منابع جدید علوفه به‌عنوان ماده اولیه خوراک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. هدف از این مطالعه تعیین ترکیب شیمیایی علوفه کامل ریحان (*Ocimum basilicum*) پس از بذرگیری و بررسی تاثیر سطوح مختلف این علوفه به جای کاه و بخشی از یونجه جیره بره‌های پرواری بر عملکرد پرور، فراسنجه‌های خونی و قابلیت هضم مواد مغذی جیره بود.

مواد و روش‌ها: از ۱۸ رأس بره نر نژاد زندی با وزن اولیه $28/8 \pm 2/03$ کیلوگرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۶ تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل (۱) شاهد (جیره پایه بدون افزودن گیاه ریحان)، (۲) جیره حاوی $12/5$ درصد گیاه ریحان و (۳) جیره حاوی 25 درصد گیاه ریحان بود. ترکیب شیمیایی علوفه ریحان مورد آزمایش اندازه‌گیری شد. همچنین قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های آزمایشی، غلظت فراسنجه‌های خون و عملکرد بره‌های مورد آزمایش اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: میانگین مقدار ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و خاکستر خام گیاه ریحان به ترتیب $92/69 \pm 0/06$ ، $11/09 \pm 0/44$ و $54/26 \pm 0/33$ ، $1/35 \pm 0/01$ ، $6/65$ (درصد ماده خشک) بود. جایگزینی گیاه ریحان با کاه گندم و بخشی از یونجه در جیره بره‌های پرواری سبب بهبود مصرف خوراک روزانه، ضریب تبدیل خوراک و افزایش وزن روزانه شد. غلظت گلوکز، نیتروژن اورهای، کلسترول، تری‌گلیسرید و آنزیم‌های کبدی به‌جز پروتئین کل خون تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. جایگزینی گیاه کامل ریحان با کاه گندم و بخشی از یونجه در جیره بره‌های پرواری قابلیت هضم پروتئین خام، چربی خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی را افزایش داد ($p < 0/05$)؛ اما بر ویژگی‌های لاشه، وزن نهایی، درصد دنبه و چربی احشایی بدن تاثیر معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه، از گیاه کامل ریحان می‌توان تا سطح ۲۵ درصد در جیره بره‌های پرواری بدون تاثیر منفی بر عملکرد و قابلیت هضم مواد مغذی جیره استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: بره‌پرور، عملکرد، قابلیت هضم، گیاه کامل ریحان

مقدمه

جمعیت دام سبک کشور سهم عمده‌ای از تولید پروتئین حیوانی مورد نیاز جامعه را تامین می‌کند. سازواره پرورش دام سبک کشور به‌طور عمده مبتنی بر استفاده از مراتع و پس چر مزارع کشاورزی است. در این بین بهره‌برداری نامطلوب، شخم بی رویه و تراکم بیش از حد دام سبب شده است مراتع ایران فقیرتر شده و توان تامین علوفه مورد نیاز این جمعیت وابسته به خود را نداشته باشد. از طرفی دیگر با توجه به نیاز کشور، کشت محصولات راهبردی مانند گندم و برنج نسبت به محصولات آب بر مانند علوفه در اولویت قرار دارد. بنابراین مهمترین مشکل صنعت پرورش دام سبک کشور تامین علوفه مورد نیاز آن است و شناسایی منابع جدید علوفه به عنوان ماده اولیه خوراک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۹). یکی از راهکارهای موجود، استفاده از محصولات فرعی و پسماند کشاورزی به‌صرفه در جیره غذایی دام است. طبق برآوردهای انجام شده در ایران، به‌طور متوسط ۳۰ درصد از محصولات کشاورزی به‌دلیل مشکلات موجود در برداشت، نگهداری، تبدیل و توزیع از بین می‌روند (۱۶). به‌عنوان مثال در تولید و فرآوری گیاهان دارویی بخش مهمی از بقایا و پسماندهای پس از تولید وجود دارد که می‌تواند هم‌تامین‌کننده بخشی از مواد مغذی مورد نیاز دام باشد و هم به دلیل ترکیبات موثره دارویی که معمولاً در این بقایا وجود دارند اثرات مفیدی بر

سلامتی و عملکرد دام داشته باشند (۱۸،۲۲). بهبود قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های حاوی گیاهان دارویی به‌دلیل افزایش فعالیت هضم و متابولیسم میکروفلور شکمبه به‌عنوان اثر مستقیم مواد مؤثره آنها (فنل‌ها و کاروتنوئیدها) گزارش شده است (۱۳). به‌عنوان مثال خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قوی ریحان سبب مهار رشد باکتری‌های متانوژن شکمبه (آرکتا) شده و در نتیجه کارایی هضم را افزایش و اتلاف انرژی جیره را کاهش می‌دهد (۵). همچنین استفاده از گیاه مرزه باعث افزایش تولید اسیدهای چرب فرار، کاهش غظت آمونیاک شکمبه و بهبود تخمیر شکمبه‌ای در بزغاله پرواری شده است. ترکیبات گیاهی قادرند که فعالیت‌های پروتولیتیک، پپتیدولیتیک و دی‌آمیناسیون ریزسازواره‌های شکمبه را تحت تاثیر قرار داده و باعث تغییر سوخت و ساز و بهبود کارایی استفاده از نیتروژن جیره شوند (۱۹). همچنین استفاده از این پس‌ماندها علاوه بر بازیافت مواد مغذی آنها راهبرد مناسبی برای کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی است که به تامین خوراک دام ارزان‌تر و محیط زیست سالم‌تر کمک می‌کند.

سالیانه مقادیر قابل توجهی از گیاه ریحان به‌منظور بذرگیری کشت می‌شود هرچند که آمار دقیقی از آن وجود ندارد. بقایای گیاه کامل ریحان پس از بذرگیری می‌تواند به عنوان منبع علوفه در تغذیه دام استفاده شود. تاکنون گزارشی

بررسی قرارگرفت. آزمایش در مزرعه آموزشی تحقیقاتی دانشکده مزبور، واقع در ۵ کیلومتری جنوب غرب شهرستان پاکدشت در بازه زمانی خرداد تا مرداد ۱۴۰۰ انجام شد. بره‌ها در طول دوره آزمایش در قفس‌های انفرادی نگهداری شدند. مدت زمان انجام این آزمایش ۷۷ روز، شامل ۷ روز دوره عادت‌پذیری به جیره آزمایشی و ۷۰ روز طول دوره پرورار بود. بره‌ها قبل از شروع آزمایش انگل زدایی و علیه آنتروتوکسمی و شاربن واکسینه شدند. بره‌ها بعد از دوره عادت‌پذیری بعد از ۱۶ ساعت گرسنگی، توزین شدند و میانگین وزن آنها به عنوان وزن شروع دوره آزمایش منظور شد. جیره پایه به‌صورت جیره کاملاً مخلوط و با استفاده از جدول استاندارد غذایی (۲۰۰۷، NRC) تنظیم شد. تیمارهای غذایی شامل ۱- تیمار شاهد (جیره پایه بدون علوفه ریحان)، ۲- جیره حاوی ۱۲/۵ و ۳- جیره حاوی ۲۵ درصد علوفه ریحان بود که جایگزین کاه و بخشی از یونجه جیره شد (جدول ۱). جیره دام‌ها به‌صورت هفتگی تهیه و در دو وعده صبح و عصر در اختیار دام‌ها قرار گرفت. دام‌ها به‌طور مداوم به آب تمیز و تازه دسترسی داشتند. افزایش وزن روزانه در دوره‌های ۱۰ روزه در طول ۷۰ روز اندازه‌گیری شد. میانگین خوراک مصرفی روزانه در کل دوره محاسبه و ضریب تبدیل خوراک تعیین گردید. برای اندازه‌گیری خصوصیات لاشه، بره‌ها پس از ۱۶ ساعت گرسنگی کشتار و وزن لاشه و اندام‌های بدن مانند پوست، کله، پاچه‌ها، کلیه، قلب، شش‌ها، جگر، دنبه، چربی احشایی و دستگاه گوارش پر و خالی اندازه‌گیری شد.

در مورد بررسی ارزش تغذیه‌ای این بقایا گزارش نشده است، لذا آزمایش حاضر به منظور تعیین ترکیب شیمیایی علوفه کامل گیاه ریحان پس از بذرگیری و بررسی اثرات استفاده از آن بر عملکرد، قابلیت هضم مواد مغذی جیره و فراسنجه‌های خونی بره‌های پروار نژاد زندی انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در دو بخش انجام شد. در بخش اول در آزمایشگاه ترکیب شیمیایی علوفه کامل ریحان پس از بذرگیری و همچنین نمونه‌های کاه و یونجه مورد استفاده در آزمایش مزرعه‌ای اندازه‌گیری شد. علوفه ریحان مورد استفاده در مرحله پس از بذرگیری و شامل بخش‌های کامل اندام‌های هوایی این گیاه بود که در مزرعه آموزشی پژوهشی دانشکده فناوری کشاورزی دانشگاه تهران کشت شده بود. بدین منظور محتوای ماده خشک، چربی خام، خاکستر خام و ماده آلی گیاه ریحان، یونجه و کاه گندم مورد استفاده با سه تکرار طبق روش‌های استاندارد آزمایشگاهی (۲) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی به روش ون سوست (۲۰) در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد. همچنین پس از تهیه اسانس و عصاره از گیاه ریحان ترکیبات اسانس، با استفاده از طیف سنجی جرمی (GC-MS) در گروه علوم زراعی دانشکده تعیین شد. در بخش دوم تأثیر جایگزینی گیاه ریحان با یونجه و کاه بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی، قابلیت هضم مواد مغذی جیره مصرفی و ویژگی‌های لاشه بره‌های پروار نژاد زندی مورد

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

| سطح علوفه ریحان basil forage level | | | ترکیب شیمیایی Chemical composition | سطح علوفه ریحان basil forage level | | | اجزای خوراک (درصد ماده خشک) Diet ingredient (% DM) |
|---------------------------------------|-------|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|------|-----|----------------------------------------------------------|
| 25 | 12.5 | 0 | | 25 | 12.5 | 0 | |
| 12.05 | 12.20 | 12.34 | پروتئین خام (درصد) Crud protein (%) | 43 | 43 | 43 | جو barley |
| 2.67 | 2.68 | 2.69 | انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک) Metabolisable energy (Mcal/kg DM) | 25 | 12.5 | 0 | علوفه خشک ریحان basil forage |
| 36.61 | 37.50 | 38.04 | الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) NDF (%) | 15 | 20 | 25 | یونجه Alfalfa |
| 0.52 | 0.62 | 0.73 | کلسیم (درصد) Ca (%) | 0 | 7.5 | 15 | کاه گندم Wheat straw |
| 0.49 | 0.47 | 0.45 | فسفر (درصد) P (%) | 16 | 16 | 16 | سبوس Wheat bran |
| | | | | 0.3 | 0.3 | 0.3 | مکمل معدنی - ویتامینه Mineral- vitamin supplement |
| | | | | 0.2 | 0.2 | 0.2 | نمک Salt |
| | | | | 0.5 | 0.5 | 0.5 | دی کلسیم فسفات DCP |

- ترکیب معدنی و ویتامینه شامل: ویتامین A (۷۵۰۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم)، ویتامین D₃ (۹۰۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم)، ویتامین E (۲۷۵۰ واحد بین المللی در کیلوگرم)، کلسیم (۱۲۵۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)، فسفر (۲۵۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)، منگنز (۳۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)، روی (۴۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)، کبالت (۱۵ میلی گرم در کیلوگرم)، سلنیوم (۲۵ میلی گرم در کیلوگرم)، ید (۴۵ میلی گرم در کیلوگرم)، مس (۵۵۰ میلی گرم در کیلوگرم)، آهن (۴۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)، آنتی‌اکسیدان (۱۰۰۰ میلی گرم).

- Each kg contained of: vitamin A (750,000 IU), vitamin D₃ (90000 IU), vitamin E (2750 IU), Ca (125000 mg), P (25000 mg), Mn (3500 mg), I (45 mg), Fe (4500 mg) Cu (550 mg), Co (15 mg), Se (25 mg), antioxidant (1000 mg).

انجام آزمایش‌های مربوط به فراسنجه‌های خونی نگهداری شد. غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول، نیتروژن اوره‌ای، پروتئین کل، گلوکز و آنزیم‌های کبدی با استفاده از دستگاه کاملاً اتوماتیک (اتو آنالایزرمدل هیتاچی ۹۱۱، ژاپن) و با استفاده از

خون‌گیری در سه مرحله در روزهای صفر، ۳۵، ۷۰ آزمایش قبل از خوراک‌دهی نوبت صبح انجام شد. در آزمایشگاه، سرم خون توسط سانتریفیوژ با سرعت ۳۸۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان

مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

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

که در آن Y_{ijk} : مقدار هر مشاهده، μ : میانگین کل، T_i : اثر تیمار، δ_{ij} : خطای تصادفی با میانگین صفر و واریانس، t_k : اثر زمان نمونه‌گیری، $(T * t)_{ik}$: اثر مقابل زمان و تیمار و ϵ_{ij} : خطای آزمایشی بود.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی نمونه گیاه ریحان، یونجه و کاه گندم در جدول (۲) گزارش شده است. محتوای پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده خنثی گیاه ریحان بین مقادیر کاه و یونجه قرار داشت. لذا در آزمایش عملکرد این گیاه جایگزین کاه و یونجه در بخش علوفه جیره شد. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل جرمی به‌دست آمده از طیف سنجی جرمی (GC-MS) نشان داد که اسانس این گیاه شامل ۵۲ ترکیب است که مهم‌ترین ترکیبات اسانس متیل کاپویکول، بتا بیسابولن، یوگنول، و ۱ و ۸ سینئول بود.

کیت‌های تجاری شرکت دلتا درمان پارت (آدیت) اندازه‌گیری شد. برای انجام آزمایش تعیین قابلیت هضم از بره‌ها در سه روز پایانی دوره نمونه مدفوع برداشته شد. جمع‌آوری نمونه‌ها با بستن کیسه به پشت بره‌ها در دو نوبت صبح و عصر انجام شد. از جیره‌های مصرفی نیز در سه دوره، ابتدا (روز اول)، وسط (روز ۳۵) و آخر دوره (روز ۶۵) آزمایش نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌ها داخل کیسه‌های پلاستیکی تا زمان انجام آزمایش‌های مربوطه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. قابلیت هضم ظاهری جیره‌های آزمایشی به روش خاکستر نامحلول در اسید تعیین شد (۲). در این روش از خاکستر نامحلول در اسید کلریدریک به عنوان نشانگر داخلی استفاده می‌شود.

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و شش تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام شد. برای تجزیه آماری داده‌های مربوط به زمان‌های تکرار شده (داده‌های عملکرد و فراسنجه‌های خون)، از روش تجزیه آماری داده‌های تکرار شده با استفاده از رویه Mixed Model و برای مقایسه میانگین‌ها از روش چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی علوفه‌های مورد استفاده در جیره بره‌های آزمایشی

Table 2. Chemical composition of forages used in lambs diets

| کاه گندم Wheat straw | یونجه alfalfa | گیاه کامل ریحان basil forage | ترکیب شیمیایی (درصد) Chemical composition (%) |
|-------------------------|------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------|
| 93.9±1.06 | 93.2±2.06 | 92.7±1.2 | ماده خشک Dry matter |
| 3.2±0.03 | 14.1±0.36 | 6.6±0.06 | پروتئین خام Crude protein |
| 7.2±0.07 | 10.7±0.30 | 11.1±0.44 | خاکستر خام Crude ash |
| 1.2±0.05 | 1.3±0.04 | 1.3±0.01 | چربی خام Crude fat |
| 79.4±0.48 | 49.9±0.71 | 54.2±0.33 | الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF |
| 9.15±0.35 | 24.03±1.0 | 26.8±1.3 | کربوهیدرات غیر الیافی NFC |

مصرف ماده خشک و افزایش وزن

نتایج عملکرد در جدول ۳ نشان داده شده است. بیشترین مصرف ماده خشک در بره‌های گروه ۲۵ درصد گیاه کامل ریحان در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌دست آمد ($p < 0.001$). این افزایش ممکن است به تأثیر ترکیبات موثره ریحان نسبت داده شود که اثر محرکی بر اشتها، تخمیر و هضم در شکمبه دارد. این افزایش مصرف ماده خشک در استفاده از سایر ترکیبات گیاهان دارویی در گوساله و تلیسه هم گزارش شده است (۲۴). همچنین رابطه درجه دوم بین ماده خشک مصرفی و اسانس مصرفی بسته به غلظت موجود در گیاه گزارش شده است (۲۵). البته هرچند میزان NDF جیره‌های آزمایشی مشابه بود ولی تفاوت در ماهیت NDF علوفه‌های مورد استفاده در جیره‌های آزمایشی نیز می‌تواند از دلایل افزایش مصرف خوراک در جیره‌های حاوی سطوح بالاتر علوفه ریحان نسبت به جیره شاهد حاوی کاه باشد.

میانگین افزایش وزن روزانه در گروه‌های دریافت‌کننده گیاه ریحان نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (به ترتیب ۱۷۰/۲۴ و ۲۱۱/۹۰ گرم در روز برای تیمار شاهد و تیمار سوم؛ $p < 0.001$). این نتایج با یافته‌های بدست آمده توسط سایر محققین در گوساله‌های در حال رشد و با استفاده از مکمل دارچین و یا مخلوطی از گیاهان دارویی مشابه بود (۱۵). همچنین ضریب تبدیل خوراک در بره‌های دریافت‌کننده علوفه ریحان بهتر از تیمار شاهد بود ($p < 0.005$). بهبود در شاخص‌های عملکردی در استفاده از علوفه ریحان را می‌توان به بهبود فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و بهبود قابلیت هضم مواد مغذی در دستگاه گوارش نسبت داد. بهبود راندمان مصرف خوراک در نشخوارکنندگان از طریق کاهش اتلاف انرژی با بهبود قابلیت هضم و دستکاری‌های تخمیر شکمبه‌ای به سمت تولید پروپیونات بیشتر و به دنبال آن کاهش تولید متان میسر می‌گردد (۸). نشان داده شده است

که اتلاف انرژی به صورت متان و یا دی‌اکسید کربن در دام‌های تغذیه شده با گیاهان دارویی کاهش می‌یابد و اسانس‌های گیاهی سبب افزایش تولید پروبیوتان و کاهش

استات می‌شود که این امر نیز سبب افزایش انرژی در دسترس و در نتیجه بهبود عملکرد می‌شود (۴۰۸).

جدول ۳- تاثیر جایگزینی گیاه ریحان به جای یونجه و کاه بر عملکرد بره‌های پرواری

Table 3. Effect of replacing basil with alfalfa and wheat straw on performance of experimental lambs

| تیمار × زمان Treatment × Time | احتمال معنی داری P value | زمان time | تیمار treatment | خطای استاندارد میانگین SEM | سطح ریحان (درصد) Basil level (%) | | | فراسنجه parameter |
|----------------------------------|-----------------------------|--------------|--------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------------------------------------|
| | | | | | 0 | 12.5 | 25 | |
| <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | | 55.28 | 1611.05 ^a | 1504.53 ^b | 1476.52 ^c | میانگین خوراک مصرفی (گرم در روز) Dry matter intake (g/d) |
| <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | | 39.48 | 211.90 ^a | 164.29 ^b | 170.24 ^b | میانگین افزایش وزن (گرم در روز) Average gain (g/d) |
| 0.0366 | <0.0001 | 0.005 | | 1.37 | 8.18 ^b | 8.62 ^b | 9.84 ^a | ضریب تبدیل خوراک FCR |
| - | - | 0.9197 | | 2.15 | 29.08 | 28.75 | 28.58 | وزن ابتدای دوره (کیلوگرم) Initial BW (kg) |
| - | - | 0.0799 | | 2.86 | 43.92 | 40.33 | 40.50 | وزن پایان دوره (کیلوگرم) Final BW (kg) |

- اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار ($p < 0.05$) بین تیمارها است.
- Means with different superscript letters in rows are significantly different ($p < 0.05$).

داده شده است. قابلیت هضم مواد مغذی جیره در حیوانات تغذیه شده با جیره‌های حاوی گیاه ریحان در مقایسه با جیره پایه افزایش داشت ($p < 0.05$).

قابلیت هضم مواد مغذی
قابلیت هضم مواد مغذی جیره شامل الیاف نامحلول در شونینده خنثی، پروتئین خام و چربی خام در جدول (۴) نشان

جدول ۴- گوارش‌پذیری مواد مغذی جیره‌های آزمایشی تعیین شده به روش خاکستر نامحلول در اسید

Table 4. Nutrients digestibilities of experimental diets calculated by acid insoluble ash method

| احتمال معنی داری P value | خطای معیار میانگین‌ها SEM | سطح ریحان (درصد) Basil level (%) | | | فراسنجه (درصد) Parameter (%) |
|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------------------|
| | | 25 | 12.5 | 0 | |
| 0.001 | 4.50 | 84.64 ^a | 73.92 ^b | 71.91 ^b | پروتئین خام Crude protein |
| 0.007 | 7.81 | 87.5 ^a | 79.5 ^b | 82.5 ^b | چربی خام Crude fat |
| 0.0002 | 4.74 | 83.7 ^a | 73.7 ^b | 65.6 ^c | الیاف نامحلول در شونینده خنثی NDF |

- اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار ($p < 0.05$) بین تیمارها است.
- Means with different superscript letters in rows are significantly different ($p < 0.05$).

در شونینده خنثی جیره افزایش نشان داد. نتایج این مطالعه و برخی مطالعات در شرایط برون تنی (۵) نشان می‌دهد که اثرات ترکیبات موثره گیاهی بر تخمیر و هضم در شکمبه وابسته به نوع جیره مصرفی است. در آزمایش حاضر بهبود قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های حاوی ریحان ممکن است به دلیل افزایش فعالیت هضم و متابولیسم میکرو فلور شکمبه به عنوان اثر مستقیم مواد مؤثر (فنل‌ها و کاروتنوئیدها) موجود در ریحان باشد (۱). مشخص شده است که ترکیبات فنلی می‌توانند با اثر بر غشای سلول‌های باکتریایی و فعالیت پروتئولیتیک آنها از طریق ممانعت از دی آمیناسیون اسیدهای آمینه بر متابولیسم نیتروژن و قابلیت هضم آن تاثیر گذار باشند (۱۹). البته نتایج بسیاری از مطالعات درون تنی برای ارزیابی تأثیر اسانس‌های گیاهی بر مصرف خوراک و هضم ظاهری مواد مغذی در نشخوارکنندگان متناقض است. گزارش شده است که تاثیر مصرف گیاهان دارویی بر قابلیت هضم مواد مغذی در شکمبه به pH نیز وابسته است. برخی از این ترکیبات مانند تیمول در شرایط قلبایی محلول هستند و با

افزودنی‌های طبیعی احتمالاً می‌توانند تخمیر شکمبه را تنظیم کرده و قابلیت هضم مواد مغذی جیره را افزایش دهند (۲۱،۲۳،۵۲). در مطالعه‌ای هنگامی که بره‌های در حال رشد با جیره‌های مکمل شده با مخلوط اسانس تغذیه شدند، بهبود در قابلیت هضم مواد مغذی جیره گزارش شده است (۱۲). آزمایش بر روی گاوهای کانولا شده Nellore، افزایش قابلیت هضم پروتئین خام را برای حیواناتی که جیره مکمل شده با ترکیبی از اسانس‌های گیاهی دریافت کردند نشان داد (۱۵). همچنین مصرف سطوح بالای اسانس آویشن و دارچین (۵ گرم در روز) بر مصرف خوراک و قابلیت هضم جیره در گوساله‌ها تأثیر منفی نداشت (۱۰). بیان شده است که بهبود قابلیت هضم مواد مغذی مختلف با تغذیه ترکیبات دارویی، احتمالاً به دلیل افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه، افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار که باعث افزایش مصرف ماده خشک و افزایش وزن حیوانات می‌شود، باشد (۶). در آزمایشی (۸) هنگامی که به جیره پر کنسانتره اسانس آویشن اضافه شد، قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول

افزایش میزان کنسانتره جیره، به دلیل افت pH شکمبه، گروه عاملی اسانس‌های گیاهی ممکن است محلول و موثر نباشد (۱۷).

نتایج مربوط به فراسنجه‌های خونی بره‌های زندی مورد آزمایش در جدول (۵) آمده است.

جدول ۵- اثر جایگزینی گیاه ریحان به جای یونجه و کاه گندم بر غلظت فراسنجه‌های خونی بره‌های آزمایشی

| تیمار × زمان Treatment × Time | احتمال معنی‌داری p value | تیمار treatment | خطای معیار میانگین‌ها SEM | سطح ریحان (درصد) Basil level (%) | | | فراسنجه Parameter |
|----------------------------------|-----------------------------|--------------------|---------------------------------|-------------------------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------------------------------------|
| | | | | 0 | 12.5 | 25 | |
| 0.44 | 0.001 | 0.69 | 8.6 | 53.1 | 56.1 | 56.2 | گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Glucose (mg/dl) |
| 0.64 | 0.38 | 0.27 | 7.5 | 35.0 | 37.2 | 31.3 | نیترژن اوهرای خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) BUN (mg/dl) |
| 0.76 | 0.25 | 0.01 | 0.69 | 8.53 ^a | 6.62 ^b | 6.30 ^b | پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر) Total protein (mg/dl) |
| 0.98 | 0.10 | 0.85 | 7.2 | 51.1 | 53.0 | 51.7 | کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Cholesterol (mg/dl) |
| 0.97 | 0.02 | 0.54 | 4.2 | 23.1 | 22.0 | 20.8 | تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Three glyceride (mg/dl) |
| 0.84 | 0.56 | 0.70 | 24.5 | 124.5 | 132.2 | 123.2 | آسپاراتات آمینوترانسفراز (واحد در لیتر) AST (U/l) |
| 0.85 | 0.07 | 0.17 | 3.5 | 22.2 | 23.8 | 25.5 | آلانین آمینوترانسفراز (واحد در لیتر) ALT (U/l) |

- اعداد با حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده‌ی اختلاف آماری معنی‌دار ($p < 0.05$) بین تیمارها است.
- Means with different superscript letters in rows are significantly different ($p < 0.05$).

کشت پیوسته که در آن استفاده از سیر غلظت نیترژن آمونیاکی را کاهش اما غلظت پپتید و اسید آمینه را افزایش داد، مطابقت دارد که نشان‌دهنده مهار دامیناسیون است. کاهش تجزیه‌ی پروتئین و تولید آمونیاک در شکمبه از این نظر نیز اهمیت دارد که ممکن است راندمان استفاده از نیترژن را در شکمبه افزایش دهد (۴) و پروتئین قابل متابولیسم بیشتری برای دام‌های پرتولید و دام‌های پروراری تامین نماید (۲۵).

افزایش سطوح استفاده از علوفه گیاه ریحان تأثیری بر غلظت آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) کبدی نداشت. AST و ALT آنزیم‌هایی هستند که انتقال گروه آلفا آمینه از آلانین یا آسپاراتات به گروه α -کتو اسید کتوگلوٹیک که مسئول تولید اسیدهای اگزوسیلستیک و پیروویک شرکت کننده در چرخه کربس است را کاتالیز می‌کنند. این آنزیم‌ها شاخص مهمی از آسیب کبدی هستند. در این آزمایش مقادیر فعالیت آنزیم‌های AST و ALT نشان‌دهنده فعالیت طبیعی بافت‌های کبدی حیوانات آزمایشی بود.

ویژگی‌های لاشه

صفات لاشه بره‌های آزمایشی در جدول ۶ گزارش شده است. وزن و درصد لاشه بره های پروراری بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین وزن دنبه، چربی احشایی، قلب، شش، کبد، کلیه، کله و پاچه، پوست، دستگاه گوارش پر و خالی بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت. اطلاعات کمی در مورد اثرات گیاه ریحان بر ویژگی‌های لاشه وجود دارد.

فراسنجه‌های خونی

غلظت گلوکز، نیترژن اوهرای، کلسترول، تری‌گلیسرید و فعالیت آنزیم‌های کبدی خون تحت تأثیر تیمارها در دوره پروراری قرار نگرفت. اما غلظت پروتئین کل خون در تیمار ۲۵ درصد علوفه ریحان بالاتر از تیمار شاهد و ۱۵ درصد علوفه ریحان بود ($p = 0.01$). اطلاعات کمی در مورد اثرات استفاده از علوفه ریحان بر فراسنجه‌های خونی دام وجود دارد. برخی پژوهشگران با استفاده از اسانس ریحان تأثیری بر فراسنجه‌های خونی دام‌های مورد آزمایش گزارش نکردند (۱۲ و ۲۵). همچنین (۱۹) نشان داد که استفاده از ۱۰ و ۲۰ گرم در روز پودر خشک علوفه مرزه (*Satureja hortensis*) تأثیری بر غلظت گلوکز، پروتئین کل، تری‌گلیسرید و کلسترول خون بره‌ها ندارد.

در این آزمایش افزایش غلظت پروتئین کل خون را می‌توان به افزایش احتمالی فراهمی پروتئین عبوری و در دسترس روده نسبت داد. نشان داده شده است که اسانس‌های گیاهی سبب کاهش تعداد و تنوع باکتری‌های تولیدکننده آمونیاک و در نتیجه کاهش محتوای تولید آمونیاک از اسیدهای آمینه در شکمبه می‌شوند (۱۴). باکتری‌های تولیدکننده آمونیاک به عنوان گروه باکتری‌های پروتئولیتیک حساس‌ترین باکتری‌های شکمبه به اسانس‌های گیاهی در کشت خالص هستند. هنگامی که پروتئین‌ها را بتوان در برابر دامیناسیون شکمبه محافظت کرد، تولید آمونیاک کاهش می‌یابد و اسیدهای آمینه و پپتیدهای کوتاه زنجیر بیشتری در قسمت پایین روده در دسترس نشخوارکنندگان قرار گرفته و سطح پروتئین خون افزایش می‌یابد. این نتایج با یافته‌های

جدول ۶- اثر جایگزینی گیاه ریحان به جای یونجه و کاه گندم برصفت لاشه و وزن اندام‌های داخلی بره‌های آزمایشی
 Table 6. Effect of replacing basil with alfalfa and wheat straw on carcass traits of experimental lambs

| احتمال معنی‌داری p value | خطای معیار میانگین‌ها SEM | احتمال معنی‌داری P value | | | فراسنجه Parameter |
|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------------|-------|-------|---------------------------------------------------------|
| | | 0 | 12.5 | 25 | |
| 0.35 | 2.63 | 42.50 | 40.90 | 40.70 | وزن ناشتا (کیلوگرم) Shrunk BW (kg) |
| 0.88 | 1.07 | 20.25 | 19.87 | 19.92 | وزن لاشه گرم (کیلوگرم) Carcass (kg) |
| 0.35 | 1.43 | 47.64 | 48.56 | 48.97 | لاشه (درصد وزن بدن) Dressage percent |
| 0.37 | 3.04 | 25.60 | 24.22 | 22.75 | پوست (درصد لاشه) Skin (% carcass) |
| 0.94 | 1.18 | 10.37 | 10.58 | 10.61 | کله (درصد لاشه) Head (% carcass) |
| 0.86 | 0.05 | 0.59 | 0.57 | 0.58 | کلیه (درصد لاشه) Kidney (% carcass) |
| 0.76 | 4.97 | 37.12 | 38.23 | 39.46 | دستگاه گوارش پر (درصد لاشه) Empty GIT (% carcass) |
| 0.19 | 1.34 | 10.47 | 12.13 | 11.44 | دستگاه گوارش خالی (درصد لاشه) Full (% carcass) |
| 0.15 | 0.09 | 0.70 | 0.73 | 0.81 | قلب (درصد لاشه) Heart (% carcass) |
| 0.27 | 0.64 | 2.36 | 2.20 | 2.26 | شش‌ها (درصد لاشه) Lung (% carcass) |
| 0.41 | 0.42 | 3.60 | 3.39 | 3.76 | جگر (درصد لاشه) Liver (% carcass) |
| 0.37 | 2.60 | 15.25 | 17.11 | 14.84 | دنبه (درصد لاشه) Fat tail (% carcass) |
| 0.11 | 0.43 | 2.15 | 1.53 | 1.99 | چربی احشایی (درصد لاشه) Abdominal fat (% carcass) |
| 0.60 | 0.58 | 4.05 | 4.25 | 4.43 | پاچه (درصد لاشه) Leg (% carcass) |

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از علوفه گیاه کامل ریحان در جیره بره‌های پرواری اثر مثبت بر عملکرد (مصرف خوراک روزانه، ضریب تبدیل خوراک، وزن روزانه) و قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های مصرفی داشت. لذا با توجه به اینکه از این پس ماندها استفاده خاص و موثری نمی‌شود و با توجه به ارزش غذایی و دارویی می‌توان از آن تا ۲۵ درصد جیره بره‌های پرواری با جایگزینی کاه و یونجه استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران جهت تامین هزینه‌های این پژوهش قدردانی می‌شود.

این نتایج با داده‌های (۳) هم‌خوانی داشت. این پژوهشگران هنگامی که از جیره‌های غذایی حاوی تیمول و کارواکرول استفاده کردند هیچ تأثیری بر درصد لاشه، وزن کله و پاچه، قلب، ریه، کبد، کلیه، چربی احشایی مشاهده نکردند. در جوجه گوشتی مکمل‌سازی دانه ریحان در جیره تأثیری بر وزن نسبی اندام‌های احشایی و غیر احشایی نداشت (۱۱). همچنین در آزمایشی زمانی که ۲۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم کارواکرول یا سینمالدئید به جیره‌های بر پایه ذرت و جو اضافه شد تأثیری بر عملکرد لاشه بره‌های در حال رشد مشاهده نشد (۵۴). همچنین صفات عملکرد لاشه با افزایش سطح برگ خشک پونه‌کوهی در جیره بره‌های پرواری تحت تأثیر قرار نگرفتند (۳).

منابع

- Alimirzai, P. and M. Chaji. 2021. The effect of supplementation medicinal plant of ziziphora clinopodiodes in diet on growth performance, digestibility of nutrients, and some meat quality indices of Arabian-Romanov lambs. *Journal of Veterinary Research*, 76: 31-43.
- AOAC. 2000. Association of Official Analytical Chemists, 1990. Official methods of analysis, Fourteen Edition. AOAC, Washington.
- Bampidis, V.A., V. Christodoulou, P. Florou-Paneri, E. Christaki, A.B. Spais and P.S. Chatzopoulou. 2005. Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. *Animal feed science and technology*, 121(3-4): 285-295.
- Benchaar, C., S. Calsamiglia, A.V. Chaves, G.R. Fraser, D. Colombatto, T.A. McAllister and K.A. Beauchemin. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1-4): 209-228.
- Cardozo, P.W., S. Calsamiglia, A. Ferret and C. Kamel. 2004. Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. *Journal of animal science*, 82(11): 3230-3236.

- تأثیر تغذیه علوفه کامل ریحان بر قابلیت هضم مواد مغذی، فراسجدهای خون و عملکرد بره‌های ۹۲
6. Faniyi, T.O., Ê.R. Prates, M.K. Adewumi and T. Bankole. 2016. Assessment of herbs and spices extracts/meal on rumen fermentation. *Pubvet*, 10(5): 427-438.
 7. Fandiño, I., S. Calsamiglia, A. Ferret and M. Blanch. 2008. Anise and capsicum as alternatives to monensin to modify rumen fermentation in beef heifers fed a high concentrate diet. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1-4): 409-417.
 8. Geraci, J.I., A.D. Garciarena, G.A. Gagliostro, K.A. Beauchemin and D. Colombatto. 2012. Plant extracts containing cinnamaldehyde, eugenol and capsicum oleoresin added to feedlot cattle diets: Ruminal environment, short term intake pattern and animal performance. *Animal Feed Science and Technology*, 176(1-4): 123-130.
 9. Keshavarz, R. 2010. The effect of phosphate dissolving bacteria on quantitative and qualitative characteristics of turnip under the influence of low irrigation treatments. Master's thesis. Karaj Agriculture and Natural Resources Campus, University of Tehran.
 10. Khorrami, B., A.R. Vakili and M. Danesh Mesgaran. 2015. 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: 71-82 (In Persian).
 11. Jahejo, A.R., N. Rajput, T. Wen-xia, M. Naeem, D.H. Kalhor, A. Kaka, S. Niu and F.J. Jia. 2019. Immunomodulatory and growth promoting effects of basil (*Ocimum basilicum*) and ascorbic acid in heat stressed broiler chickens. *Pakistan Journal of Zoology*, 51(3): 801.
 12. Malekhhahi, M., A.M. Tahmasbi, A.A. Naserian, M. Danesh Mesgaran, J.L. Kleen and A.A. Parand. 2015. Effects of essential oils, yeast culture and malate on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance and nutrient digestibility of Baluchi lambs fed high-concentrate diets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 99(2): 221-229.
 13. Marwan, A.A. and S.A. Mousa. 2021. Influence of basil oil as an essential oil on buffalo calves performance, digestibility hemobiochemical profile and rumen fermentation indicators. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 24(2): 211-221.
 14. McEwan, N.R., R.C. Graham, R.J. Wallace, R. Losa, P. Williams and C.J. Newbold. 2002. Effect of essential oils on ammonia production by rumen microbes. *Reproduction Nutrition Development*, 42(1): S65-S65.
 15. Meschiatti, M.A., V.N. Gouvêa, L.A. Pellarin, C.D. Batalha, M.V. Biehl, T.S. Acedo, J.R. Dórea, L.F. Tamassia, F.N. Owens and F.A. Santos. 2019. Feeding the combination of essential oils and exogenous α -amylase increases performance and carcass production of finishing beef cattle. *Journal of Animal Science*, 97(1): 456-471.
 16. Mirmajidi Hashtjin, A., R. Famil Momen and F. Goodarzi. 2016. Post harvest loss reduction: Most important strategic approach in enhancement of food security. Institute of Technical Research and Agricultural Engineering, Karaj, 37 pp (In Persian).
 17. Molero, R., M. Ibars, S. Calsamiglia, A. Ferret and R. Losa. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate ratios. *Animal Feed Science and Technology*, 114(1-4): 91-104.
 18. Nazarizade, H., S.M. Hoseini and J. Pourreza. 2021. Effect of Thyme alcoholic extract on reducing of Aflatoxin and Ochratoxin toxicity in broiler chickens. *Research on Animal Production*, 12(31): 10-21 (In Persian).
 19. Payvastegan, S., P. Farhoomand, A. Talatpesh, M. Sahraei. 2015. The effects of different levels of summer savory dry powder and essential oil on performance, ruminal fermentation and blood metabolites of west Azerbaijan native kids. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 105: 53-66 (In Persian).
 20. Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.
 21. Valero, M.V., R.M.D. Prado, F. Zawadzki, C.E. Eiras, G.S. Madrona and I.N.D. Prado. 2014. Propolis and essential oils additives in the diets improved animal performance and feed efficiency of bulls finished in feedlot. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 36: 419-426.
 22. Wojcik, S., S. Blaziak, K. Widensk and K. Zawislak. 1984. Feeding value of some herbal by-products. *Biuletyn Informacyjny Przemisu Paszowego*, 23: 29-36.
 23. 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.
 24. Yang, W.Z., B.N. Ametaj, C. Benchaar, M.L. He and K.A. Beauchemin. 2010a. Cinnamaldehyde in feedlot cattle diets: intake, growth performance, carcass characteristics, and blood metabolites. *Journal of Animal Science*, 88(3): 1082-1092.
 25. Yang, W.Z., C. Benchaar, B.N. Ametaj and K.A. Beauchemin. 2010b. Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle: Ruminal fermentation and intestinal digestion. *Animal Feed Science and Technology*, 158(1-2): 57-64.

The Effect of Whole Basil Forage on Nutrients Digestibility, Blood Parameters And Performance in Fattening Zandi Lambs

Golnoor Kosari¹, Mohammad Ali Norouzian², Behzad Khorrami¹ and Gholam Abbas Akbari³

1- Department of Animal and Poultry Sciences, Faculty of Agricultural Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

2- Department of Animal and Poultry Sciences, Faculty of Agricultural Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, (Corresponding author: manorouzian@ut.ac.ir)

3- Department of Agricultural Sciences and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

Received: 21 November, 2022 Accepted: 7 February, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: The most important problem of the animal industry is the supply of needed feeds, and identifying the new sources of feeds is of particular importance. This study was conducted to determine chemical composition of whole basil (*Ocimum basilicum*) forage after seeding and to investigate the effect of different levels of this forage replacing with straw and a part of alfalfa in the diet of fattening lambs on performance, blood parameters and the nutrients digestibility.

Material and Methods: 18 male Zandi lambs with initial body weight of 28.8 ± 2.03 kg were used in a completely randomized design with 3 treatments and 6 lambs in each group. Experimental treatments were: 1) control (basal diet without whole basil forage) 2) basal diet + 12.5 % basil forage and 3) basal diet + 25 % basil forage. Chemical composition of basil forage was determined. Also, nutrients digestibility of experimental diets, blood parameters and performance of experimental lambs were determined.

Results: Average amount of dry matter, crude protein, crude fat, NDF and ash of basil forage were 92.69 ± 1.2 , 6.65 ± 0.06 , 1.35 ± 0.01 , 54.26 ± 0.33 and 11.09 ± 0.44 , respectively. Replacing of basil with wheat straw and alfalfa hay in finishing experimental lambs resulted in improvement in DMI, ADG and FCR ($p < 0.05$). Blood glucose, BUN, cholesterol, triglycerides and hepatic enzymes were not significantly affect by experimental groups. Blood total protein concentration was higher in lambs fed by 25 % basil forage compared to other experimental groups ($p < 0.05$). Feeding whole basil increased digestibility of crude protein, crude fat and NDF ($p < 0.05$), but had no any effect on carcass traits and tail fat weight of experimental lambs.

Conclusion: Results of this study showed that whole basil can be used replacing with wheat straw and alfalfa hay up to 25 % in fattening lambs diet without negative effect on performance and digestibility of diets nutrients.

Keywords: Digestibility, Fattening lamb, Performance, Whole basil forage



"مقاله پژوهشی"

تأثیر علف‌کش راندآپ بر بیان نسبی ژن‌های تنظیم‌کننده‌ی استروئید سازی و متیلاسیون جایگاه پروموتور ژن StAR در تکامل برون تنی اووسایت بز

ماید غلامی^۱، حمید دلدار^۲، زریخت انصاری پیرسرای^۳ و علی برزگر^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران
۲- دانشیار گروه علوم دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران، (نویسنده مسول: h.deldar@sanru.ac.ir)
۳- دانشیار گروه علوم دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۵/۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۸/۸
صفحه: ۹۴ تا ۱۰۱

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: همزمان با افزایش جمعیت و نیاز به تولید بیشتر مواد غذایی، آفت‌کش‌ها برای کنترل آفات و بیماری‌ها در دام و محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار گرفته‌اند اما متأسفانه، استفاده‌ی بی‌رویه از آفت‌کش‌ها، باعث صدمه به محیط زیست و گیاهان، حیوانات، آب، زمین و خاک شده است. پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر غلظت‌های متفاوت علف‌کش راندآپ به‌عنوان آفت‌کش پرکاربرد و رایج کشاورزی، بر تکامل برون تنی اووسایت بز انجام شد.

مواد و روش‌ها: برای تهیه‌ی اووسایت‌های بز، تخمدان‌ها بلافاصله بعد از کشتار، از لاشه‌ی دام جدا و درون فلاسک حاوی سرم فیزیولوژیک در دمای ۳۴-۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شدند. مجموعه اووسایت-کومولوس با روش برشی از فولیکول‌های آنترال کوچک (۲ تا ۶ میلی‌متر) تخمدان جدا و در محیط تکامل اووسایت به‌همراه غلظت‌های متفاوت علف‌کش راندآپ کشت داده شدند. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل غلظت‌های متفاوت علف‌کش راندآپ که در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۱۸۷/۵ میکرومولار (تیمار با دز نصف نیمه کشنده) ۳۷۵ میکرومولار (تیمار با دز نیمه کشنده) و ۷۵۰ میکرومولار (تیمار با دز کشنده) به محیط‌های تکامل اووسایت‌های بز افزوده شد.

یافته‌ها: نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن غلظت‌های متفاوت علف‌کش راندآپ باعث کاهش معنی‌دار نرخ تکامل برون تنی اووسایت‌ها در تیمارهای مورد بررسی نسبت به تیمار شاهد شد ($p < 0.05$)، هم‌چنین بیان نسبی ژن‌های استروئیدساز در سلول‌های کومولوس به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت؛ اما تیمارهای راندآپ تأثیر قابل توجهی در میزان متیلاسیون DNA پروموتور ژن StAR نداشت. بنابراین احتمال دارد، تأثیر علف‌کش راندآپ در کاهش بیان ژن‌های مورد بررسی، از طریق دیگر مکانیسم‌های تنظیم‌کننده‌ی بیان ژن باشد.

نتیجه‌گیری: اثرگذاری تیمار با دز ۱۸۷/۵ میکرومولار، در کاهش بیان نسبی ژن‌های StAR، CYP11A1 و CYP19 نسبت به تیمار نیمه کشنده، بیشتر بود که این می‌تواند به این علت باشد که تخریب‌کننده‌های هورمونی (آلاینده‌های زیست محیطی) دارای اثرات زیستی قوی در غلظت‌های کم هستند اما در غلظت‌های زیاد دارای اثرات ضعیف و یا بدون اثر هستند.

واژه‌های کلیدی: تکامل برون تنی اووسایت، علف‌کش راندآپ، کمپلکس اووسایت کومولوس، متیلاسیون DNA

مقدمه

این امر باروری دام را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۸). کاماریانوس و همکاران (۱۸)، غلظت‌های متفاوتی از آفت‌کش هگزاکلو هگزان را در مایع فولیکولی گاو، گوسفند، بز و خوک مشاهده کردند؛ هم‌چنین نشان دادند که وجود آلاینده‌های زیست محیطی در مایع فولیکولی می‌تواند سلول‌های گرانولوزا و هم‌چنین اووسایت را تحت تأثیر قرار دهد، به طوری که قرار گرفتن سلول‌های گرانولوزا گاو در غلظت‌های متفاوت ترکیبات ارگانوکلره در شرایط برون تنی، باعث کاهش معنی‌داری در ترشح پروژسترون می‌شود. پژوهش زینگ و همکاران (۳۱) نشان داد که راندآپ باعث اختلال در تکامل اووسایت خوک می‌شود. هم‌چنین میزان بیان ژن‌های درگیر در گسترش کومولوس را تحت تأثیر می‌دهد. اثرات تخریبی راندآپ، از طریق تخریب عملکرد میتوکندریایی اعمال می‌شود که منجر به تجمع گونه‌های اکسیژن فعال و استرس اکسیداتیو می‌شود، که هم‌چنین با کاهش میزان بیان mRNA ژن‌های مرتبط با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ارتباط است.

آفت‌کش‌ها، در غلظت‌هایی کمتر از غلظت مورد نیاز برای آسیب به سلول، باعث آسیب به DNA می‌شوند، که این نشان‌دهنده‌ی این است که به جای نتیجه‌ی غیر مستقیم آسیب سلولی، آسیب به DNA به صورت مستقیم توسط این مواد صورت می‌گیرد (۲۰). راندآپ با نام عمومی گلایفوسیت (GlyPhosate) یا نام شیمیایی N-(PhosPhonomethyl) glycine،

تکامل برون تنی اووسایت فرآیندی است که طی آن اووسایت‌های پوشیده با سلول‌های کومولوس برای تکامل، در محیط‌های فیزیولوژی ویژه‌ای قرار داده می‌شوند. سلول‌های کومولوس به وسیله‌ی نگه داشتن اووسایت‌ها در مرحله‌ی توقف میوزی، القای از سرگیری میوز و تکامل سیتوپلاسمی، نقش مهمی در تکامل اووسایت‌ها دارند (۱۵). هر گونه تغییر در محیط کشت تکامل برون تنی (وجود سموم شیمیایی) رشد و نمو جنین، شمار سلول‌های بلاستوسیست و مرگ خود به خودی سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

ارتباط بین سلول‌های کومولوس و اووسایت، ارتباطی دو طرفه است که برای نمو و عملکرد هر دو نوع سلول حیاتی است. با توجه به این ارتباط دو طرفه تغییراتی که نمو سلول اووسایت را تحت تأثیر قرار می‌دهد، می‌تواند روی فنوتیپ و بیان ژن سلول‌های کومولوس نیز اثر بگذارد (۵). سموم شیمیایی باعث ایجاد تغییرات در رفتار تولید مثلی، کاهش باروری، سقط، عقب ماندگی رشد، مرگ نوزاد و پس روی تخمدان می‌شوند (۲۵). هم‌چنین این مواد شیمیایی در انسان باعث مسمومیت کوتاه و بلند مدت، سرطان‌زایی، ایجاد جهش و عقیمی می‌شود. حیوانات اهلی (از جمله گوسفند و دیگر نشخوارکنندگان) ممکن است با گذشت زمان در معرض غلظت‌های متفاوت آلاینده‌های زیست محیطی قرار گیرند، که

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه فیزیولوژی تولید مثل دانشکده علوم دامی و شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری از فروردین ماه سال ۹۴ تا مرداد ماه سال ۹۵ انجام شد. ترکیبات و مواد مورد استفاده از شرکت سیگما و گیبکو خریداری شدند. پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی غلظت‌های متفاوت علف‌کش راندآپ بودند که بر اساس پیش‌آزمایش انجام شده تعیین شدند، و در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۷۵۰ میکرومولار که تیمار با غلظت نیمه کشنده (LC 50) ۱۸۷/۵ میکرومولار (تیمار با دز نصف نیمه کشنده) به محیط کشت اووسایت اضافه شدند. هم‌چنین تیماری با غلظت ۳/۷۵ میکرومولار از علف‌کش راندآپ (۰/۱ غلظت نیمه کشنده) برای بررسی میزان میتیلاسیون ژن StAR در نظر گرفته شد.

جمع‌آوری، آماده‌سازی و بلوغ برون تنی اووسایت

تخمندان‌های بز از کشتارگاه صنعتی جمع‌آوری شدند و پس از جمع‌آوری، درون فلاسک آب در دمای ۳۰ تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شد. تخمدان‌ها در سرم فیزیولوژیک که شامل ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی پنی سیلین و ۱۰۰ میلی‌گرم استرپتومایسین در هر لیتر است، شستشو شدند. مجموعه اووسایت-کومولوس به روش برشی از فولیکول‌های آنترال (۲-۶ میلی‌متر) تخمدان جمع‌آوری شدند. مجموعه اووسایت-کومولوس‌هایی که دارای چند لایه سلول‌های کومولوس و با سیتوپلاسم یکنواخت بودند انتخاب و به کمک میکروسکوپ تشریحی ۴ الی ۵ بار در محلول SOF^۲ HEPES شستشو شدند (۹)، شستشوی پایانی (۳-۴ بار) در محیط تکامل اووسایت ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در هر پلیت ۱۵×۶۰ میلی لیتری ۱۱ قطره ۵۰ میکرولیتری از محیط کشت تکامل اووسایت گذاشته، و روی قطره‌ها با ۱۰ میلی‌لیتر روغن معدنی پوشانیده شد. پلیت حاوی قطره‌های تکامل اووسایت قبل از قراردادن مجموعه‌های اووسایت کومولوس درون آن، به مدت ۲-۱ ساعت در انکوباتور دارای CO₂ ۵ درصد، دمای ۳۸/۵ درجه سانتی‌گراد و با رطوبت ۹۸ درصد قرار داده شد.

هر ۹-۱۱ مجموعه اووسایت-کومولوس به درون قطره ۵۰ میکرولیتر از محیط کشت انتقال یافتند و برای ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند.

مجموعه اووسایت-کومولوس پس از ۲۴ ساعت از قطره‌های محیط کشت به محیط SOF HEPES منتقل شدند و پس از شست و شوی آن‌ها با SOF HEPES، برای اندازه‌گیری نرخ تکامل اووسایت، سلول‌های کومولوس از اووسایت به وسیله‌ی آنزیم هیالورونیداز جدا شده. بر اساس دیدن جسم قطبی، نرخ اووسایت‌هایی که به مرحله متافاز میوز II (اووسایت‌های تکامل یافته) رسیدند، مشخص شد.

جداسازی RNA و ساخت cDNA

از کیت RNeasy Micro Kit (QIAGEN, 74104) برای جداسازی RNA کل استفاده شد. این کیت دارای سه

۱۶۹ دارای نیمه عمر حدود ۲۱-۴۲ روز تأثیر بسیار زیادی در کنترل علف‌های هرز یکساله و تعداد زیادی از گیاهان علفی چندساله دارد (۱۲). پژوهش‌هایی به‌منظور شناسایی مسیرهایی که گلایفوسیت دارای اثرات سمی روی سلول‌های انسان و حیوانات در شرایط برون تنی (in vitro) هستند انجام گرفت. از جمله این مسیرها شامل تخریب‌کننده‌های غدد درون‌ریز که به‌عنوان "Hormone Hacking" توصیف می‌شوند. تخریب‌کننده‌های غدد درون‌ریز می‌توانند منجر به بیماری‌های جدی مانند نقص‌های مادرزادی، سرطان و مشکلات در رشد و باروری شوند (۲۳). در شرایط برون تنی آسیب به DNA در سلول‌های دهانی افرادی که تنها ۲۰ دقیقه در معرض غلظتی بسیار پایین‌تر از غلظت راندآپ و گلایفوسیت (که در کشاورزی استفاده می‌شود) قرار داشتند، مشاهده شد. این پژوهش نشان داد که افرادی که از طریق استنشاق در معرض راندآپ قرار داشتند (کشورهای تولیدکننده‌ی سویا در آمریکای جنوبی) احتمالاً دچار آسیب به DNA شدند. گلایفوسیت و راندآپ در شرایط درون تنی (in vivo)، باعث آسیب به DNA و کروموزوم در مغز استخوان موش و در سلول‌های انسانی در شرایط برون تنی می‌شوند (۲۰).

اپی ژنتیک مکانیسم‌های مبتنی بر کروماتین است که رونویسی از ژن را تغییر می‌دهد، بدون این که در توالی DNA تغییری ایجاد کند. تاکنون مسیره‌های اپی ژنتیک متعددی شناسایی شده است که بدون ایجاد تغییر در توالی DNA، بیان ژن‌ها را به صورت پایدار تغییر می‌دهند. قرار گرفتن در معرض آلانینده‌های زیست محیطی باعث ایجاد تغییرات اپی ژنتیک می‌شود (۱۳). از جمله این تغییرات، میتیلاسیون DNA است که به طور مستقیم بیان ژن را تحت تأثیر قرار می‌دهد که آفت‌کش‌ها باعث تغییر میتیلاسیون DNA در ناحیه‌ی پروموتور ژن‌ها می‌شوند (۳). بر این اساس در این پژوهش تأثیر افزودن علف‌کش راندآپ به‌عنوان سم رایج کشاورزی در محیط تکامل برون تنی اووسایت، بر نرخ تکامل اووسایت و بیان نسبی ژن‌های استروئید سازی در سلول‌های کومولوس و هم‌چنین میتیلاسیون جایگاه پروموتور ژن StAR مورد بررسی قرار گرفت.

از مجموع ۶۵۰ نوع آفت، بیماری و علف هرز موجود در کشور، ۶۶ درصد کل آفات کشور در استان مازندران یافت می‌شود، به همین علت میزان مصرف سموم کشاورزی کشور در اراضی زراعی و باغی استان مازندران پنج برابر سرانه کشوری است. با توجه به بالا بودن میزان مصرف آفت‌کش‌ها در استان مازندران و همبستگی بین مصرف سموم کشاورزی و مشکلات تولید مثلی مانند افزایش سقط خود به خودی در زنان باردار شاغل در گلخانه (۱۶)، افزایش ناهنجاری‌های مادرزادی مانند کریپتورکیدیسم (۱) و تعویق در زمان باردار شدن پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر نامطلوب غلظت‌های متفاوت علف‌کش راندآپ به‌عنوان سم رایج کشاورزی بر نرخ تکامل برون تنی اووسایت‌های بز، بیان نسبی ژن‌های استروئید سازی و هم‌چنین بررسی تأثیر بر میتیلاسیون جایگاه پروموتور ژن StAR به‌عنوان مکانیسمی در کاهش بیان ژن‌ها، طراحی شد.

تأثیر علف‌کش راندآپ بر بیان نسبی ژن‌های تنظیم‌کننده‌ی استروئید سازی و متیلاسیون جایگاه پرموتور ژن StAR در تکامل برون تنی ۹۶

گرفت و سپس آنالیز شدند. مدل آماری استفاده شده (طرح کاملاً تصادفی) به شرح زیر است:

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

در این رابطه، Y_{ij} مقدار عددی تکرار j ام از تیمار i ام، μ میانگین داده، T_i اثر تیمار i و e_{ij} اثر عوامل باقیمانده است.

بی‌سولفیت کردن DNA برای اندازه‌گیری میزان متیلاسیون
DNA ژنومی از تعداد ۱۵۰ سلول کومولوس در هر تیمار با استفاده از کیت EpiTect Bisulfite شرکت کایژن استخراج شد. DNA استخراج شده تا زمان انجام واکنش بی‌سولفیت، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. فرآیند بی‌سولفیت کردن DNA با استفاده از کیت EpiTect Bisulfite Kit شرکت کایژن انجام شد. تیمار بی‌سولفیت، سیتوزین‌های غیرمتیله را به یوراسیل تبدیل می‌کند، این تغییر در سیتوزین‌های متیله اتفاق نمی‌افتد. بنابراین متیلاسیون DNA را می‌توان براساس سیتوزین‌های تغییر نیافته در نواحی غنی از CPG شناسایی کرد.

به‌منظور اندازه‌گیری میزان متیلاسیون جایگاه پرموتور ژن StAR، ۱۱ ناحیه CPG در جایگاه پرموتور ژن StAR مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری میزان متیلاسیون ناحیه‌ی پرموتور با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۱۷).
$$C / (C+T) * 100$$
 (C نشانگر باز سیتوزین و T نشانگر باز تیمین است).

نتایج و بحث

تأثیر علف‌کش راندآپ بر تکامل برون تنی اووسایت بز و بیان نسبی ژن‌های β HSD17، CYP11A1، CYP19، و ژن StAR در سلول‌های کومولوس

با افزایش غلظت علف‌کش راندآپ، نرخ بلوغ اووسایت نسبت به گروه شاهد کاهش معناداری را نشان داده است (شکل ۱). نتایج این پژوهش با یافته‌های کاساس و همکاران (۸) مطابقت داشت. در خلال فرآیند رشد و نمو اووسایت، ارتباط تنگاتنگی بین اووسایت و سلول‌های اطراف آن (سلول‌های کومولوس) وجود دارد. وظیفه سلول‌های کومولوس فراهم کردن مواد غذایی از راه پیوندهای شکافدار است که ارتباط بین سلول‌های کومولوس با اووسایت و بین سلول‌های کومولوس را فراهم می‌کند (۲۳). وجود سلول‌های کومولوس برای تکامل نهایی هسته و سیتوپلاسم لازم است و روی رشد و نمو اووسایت تأثیر گذار است (۲۸). بر اساس این ارتباط تنگاتنگ بین اووسایت و سلول‌های کومولوس این فرضیه ایجاد شده است که سلول‌های کومولوس ممکن است هدفی برای آسیب‌های سموم شیمیایی در خلال تکامل اووسایت محسوب شود (۲۰). در ارتباط بین سلول‌های کومولوس و اووسایت‌ها ترکیبات گوناگونی از راه پیوندهای شکافدار جابجا می‌شوند. در موش، باروری اووسایت‌های بدون سلول‌های کومولوس، به وسیله ترکیبات سمی تحت تأثیر قرار نگرفت؛ اما باروری در رشد و نمو رویان‌هایی که از اووسایت‌های کومولوس‌دار ایجاد شده بود، به شدت کاهش یافت. همچنین گزارش کردند که غلظت‌های ارگانو کلره‌ها، بر فولیکول سازی و تکامل اووسایت در زنان و سایر پستانداران اثر منفی دارد (۱۸،۲۱).

محلول (RW1، RLT و RPE)، آب RNase free، تیوپ جمع‌کننده و ستون (RNeasy Mini Column) است. برای جداسازی RNA، کومولوس حداقل ۱۰۰ اووسایت (نمونه) مورد استفاده قرار گرفت. RNA کل نمونه‌های جدا شده تا زمان ساختن cDNA در ۷۰- درجه‌ی سانتیگراد نگهداری شد. برای ساخت cDNA از کیت Quanti Nova™ Reves Transcription استفاده شد. اجزای کیت شامل BuffergDNA WiPeout، RT Primer Mix، QuantiscriPt RTBuffer، QuantiscriPt Reverse Transcriptase و آب RNase free بود. cDNA ساخته شده برای بیان نسبی ژن‌های مورد نظر تا زمان انجام واکنش‌های Real Time PCR در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد.

واکنش Real Time PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و کیت Real-time PCR در دستگاه چرخه حرارتی با تابش نوری کوربت (Corbett) انجام شد.

Quantitative Real-time PCR
از روش Quantitative Real-time PCR (qRT-PCR) به‌منظور تعیین بیان نسبی ژن‌های β HSD17، CYP11A1، CYP19، و StAR در سلول‌های کومولوس بز به کار گرفته شد. واکنش qRT-PCR با استفاده از کیت شرکت Qiagen و در واکنش‌های ۲۰ میکرولیتری توسط دستگاه Rotor gene 6000 ساخت شرکت Corbett Research انجام شد، که هر واکنش شامل یک میکرولیتر cDNA، ۱۰ میکرولیتر از محلول مسترمیکس، نیم میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت و ۸ میکرولیتر dH₂O بود. برنامه حرارتی و زمانی واکنش PCR به صورت مراحل پیش رو انجام گرفت:

مرحله واسرشته سازی اولیه شامل یک چرخه ۵ دقیقه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، و در ادامه ۴۰ چرخه شامل واسرشته شدن در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ ثانیه و چسبیدن آغازگرها و تکثیر در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه. منحنی دمای ذوب با استفاده از افزایش تدریجی ۰/۱ درجه سانتی‌گراد در ثانیه تا دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، برای اطمینان از اختصاصی بودن محصول تولیدی هر ژن رسم شد. برای هر یک از نمونه‌ها چرخه آستانه (CT) در دستگاه Real-time PCR تعیین شد و برای اندازه‌گیری بیان ژن‌ها از روش Livak استفاده شد. بیان ژن YWHAZ به‌عنوان ژن نرمال سازی مورد استفاده قرار گرفت. تیمار شاهد به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد. برای ایجاد منحنی استاندارد از سری رقت‌های با ضریب ۱۰^{-۱} به گونه‌های استفاده شد که غلظت cDNA در استاندارد شماره ۵ به مقدار ۱۰^{-۵} برابر کمتر از استاندارد نخست بود. در انتها محصول PCR، جهت تایید صحت انجام واکنش، بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شد. آنالیز آماری داده‌های حاصل از بیان ژن با استفاده از نرم افزار SAS^۱ (نسخه ۹/۱) انجام شد. برای تجزیه داده‌ها از رویه GLM^۲ استفاده شد. هنگامی که آنالیز داده‌ها معنی‌دار شد، آزمون دانکن برای مقایسه میانگین تیمارهای مجزا به کار برده شد. احتمال وجود داشتن تفاوت معنی‌دار در میانگین تیمارهای گوناگون با آزمون دانکن کوچک‌تر مساوی با ۵ درصد در نظر گرفته شد. برای داده‌های درصدی تبدیل داده Arc sin صورت

جدول ۱- اطلاعات مربوط به آغازگرهای استفاده شده در Real-time PCR

Table 1. Details of Primers used for Real-time PCR

| Gene name نام ژن | Accession number شماره دسترسی | Primer sequence: 5'→3': Forward/Reverse آغاز گر رفت و برگشت | Product length (bP) اندازه محصول PCR |
|---------------------|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| StAR | NM_001009243.1 | Forward: 5'-GGAGAGCCGGCAGGTCAATG-3' Reverse: 5'-CTTCTGCAGGACCTTGATCTCCTTG-3' | 184 |
| CYP11A1 | NM_001093789.1 | Forward: 5'-AGAGAATCCACTTTCGCCACATC-3' Reverse: 5'-GGTCTTCTTCCAGGTTCTGAC-3' | 237 |
| βHSD17 | XM_012133450.2 | Forward: 5'-TGGGAGAATGGGCAGTGATC-3' Reverse: 5'-TGTTAAGGAAATGGCTTGGG-3' | 297 |
| CYP19 | NM_001123000.1 | Forward: 5'-TCGTGGTAAAAATCCAGGGG-3' Reverse: 5'-TCATTGCCTTCAACCTGG-3' | 360 |
| YWHAZ | NM_001267887.1 | Forward: 5'-TGTAGGAGCCCGTAGGTCATCT-3' Reverse: 5'-TTCTCTGTATTCTCGAGCCATCT-3' | 115 |

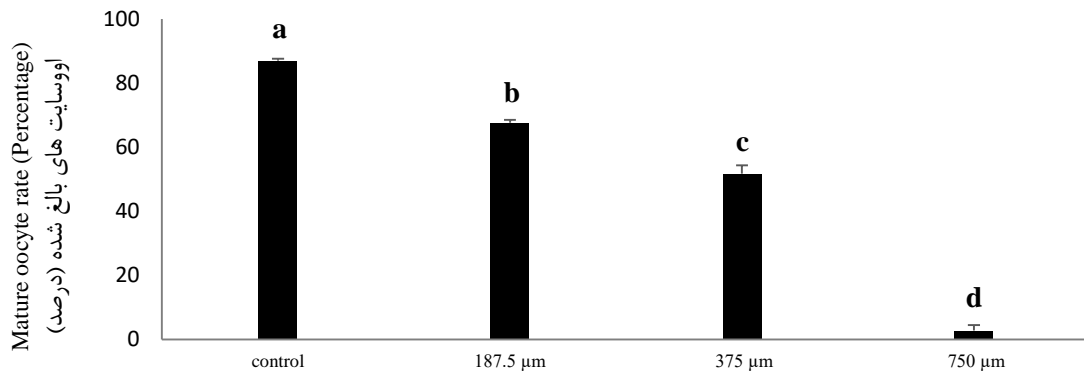
جدول ۲- آغازگر مورد استفاده در واکنش PCR متیلاسیون DNA

Table 2. PCR Primer used in DNA Methylation reaction

| Gene name نام ژن | Primer sequence: 5'→3': Forward/Reverse آغاز گر رفت و برگشت | CG% | Product length (bP) اندازه محصول PCR |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----------------------------------------|
| StAR | Forward: 5'-GGAAGGGATAGTTAGGAAGTTTGGATAG-3' Reverse: 5'-CACCAAAAACACTCTACCCAAACCTATTTC-3' | 41.4 | 434 |

پی آن غلظت cAMP اووسایت و تکامل آن تحت تأثیر سموم شیمیایی قرار می‌گیرد (۱۱). نتیجه به دست آمده در این پژوهش با نتایج پژوهش استوکر و همکاران (۲۷) مطابقت داشت. این پژوهشگران بیان کردند علفکش آترازین می‌تواند باعث تأخیر در تکامل موش صحرایی ماده شود.

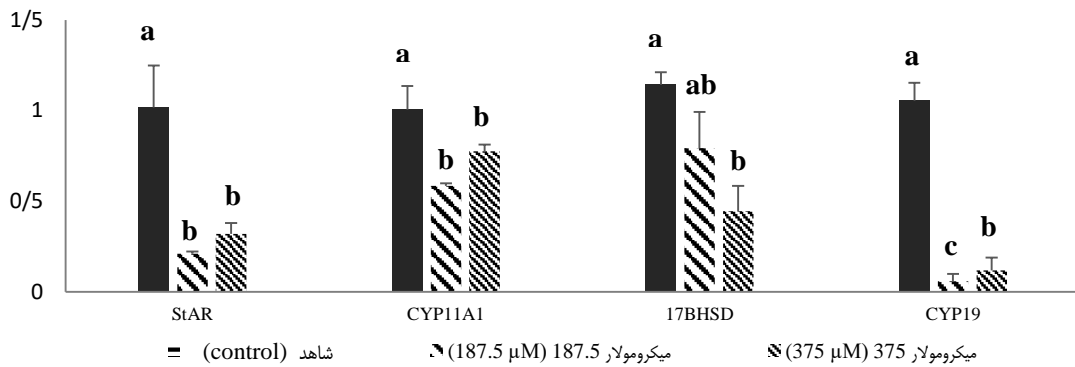
همچنین قرار گرفتن در معرض ارگانوکلره‌ها طی تکامل برون تنی، اثر منفی روی اووسایت خوک داشت (۷). این سموم روی پیوندهای شکافدار بین سلول‌های کومولوس تأثیر گذار هستند. تنظیم cAMP^۱ که در میتوز اووسایت‌های خوک نقش دارد به وسیله پیوندهای شکافدار بین سلول‌های کومولوس ایجاد می‌شود. بر این اساس عملکرد سلول‌های کومولوس و در



شکل ۱- تأثیر غلظت‌های متفاوت راندآپ بر نرخ تکامل برون تنی اووسایت بز. حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

Figure 1. Effect of different concentrations of herbicide Roundup on maturation rate of goat oocytes. Different letters indicate significant differences between groups (p<0.05).

تأثیر علف‌کش راندآپ بر بیان نسبی ژن‌های تنظیم‌کننده‌ی استروئید سازی و میتیلاسیون جایگاه پروموتور ژن StAR در تکامل برون تنی ۹۸



شکل ۲- تأثیر غلظت‌های متفاوت علف‌کش راندآپ بر بیان نسبی ژن‌های StAR، CYP11A1، 17BHS D، CYP19 در سلول‌های کومولوس. حروف نامشابه نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

Figure 2. Effect of different concentration of herbicide RoundupP on StAR, CYP11A1, 17BHS D and CYP19 gene expression in goat oocytes. Different letters indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

جدول ۳- تأثیر غلظت‌های متفاوت علف‌کش راندآپ بر میتیلاسیون جایگاه پروموتور ژن StAR در سلول‌های کومولوس (اعداد وارد شده در جدول به درصد هستند). اعداد ۱ تا ۱۱ نشان‌دهنده‌ی CPG‌های بررسی شده در جایگاه پروموتور هستند

Table 3. The effect of herbicide RoundupP on DNA methylation of Promoter site of StAR gene in cumulus cells (The numbers in table are based on the Percentage). Numbers 1 to 11 indicate the examined CPGs in the Promoter region

| شماره جایگاه (Position number) | 11 | 10 | 9 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | شاهد (Control) |
|--------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|----------------|
| شاهد (Control) | 66.5 | 86.9 | 96.2 | 92.5 | 89.2 | 88.2 | 87.8 | 90.9 | 72.5 | 87.1 | 84.8 | شاهد (Control) |
| 375 μm | 67 | 81 | 93.3 | 89.9 | 81.8 | 86.5 | 85 | 89.1 | 73.3 | 91.9 | 79.6 | 375 μm |
| 187.5 μm | 59.5 | 83.9 | 95.2 | 93 | 86.7 | 88.4 | 83.8 | 90.9 | 75.2 | 88.8 | 77.6 | 187.5 μm |
| 3.75 μm | 51.1 | 82.5 | 89 | 89.1 | 83.9 | 83.6 | 85.5 | 89.5 | 71 | 91.8 | 80.2 | 3.75 μm |

در مورد ژن‌های StAR، CYP11A1 و CYP19 می‌توان احتمال داد که غلظت ۱۸۷/۵ میکرومولار از علف‌کش راندآپ دارای اثرگذاری بیشتری نسبت به غلظت ۳۷۵ میکرومولار است.

تأثیر غلظت‌های متفاوت علف‌کش راندآپ بر میزان میتیلاسیون جایگاه پروموتور ژن StAR در جدول ۳- نشان داده شده است. با توجه به آن چه در جدول آورده شده، درصد میتیلاسیون پروموتور ژن StAR در تیمار با دز ۳۷۵ میکرومولار از سم، نسبت به تیمار شاهد تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد اما در تیمار با ۱۸۷/۵ میکرومولار کشنده از سم، درصد میتیلاسیون در CPG شماره ۱، ۷/۶ درصد و در تیمار شاهد ۸۴/۸ درصد بود. هم چنین در این تیمار، درصد میتیلاسیون در CPG شماره ۱۱، ۵۹/۵ درصد و در تیمار شاهد ۶۶/۵ درصد مشاهده شد. همچنین در تیمار ۳۷۵ میکرومولار از سم، در ناحیه CPG شماره ۱۱، کاهش درصد میتیلاسیون نسبت به تیمار شاهد (به ترتیب ۵۱/۱ درصد میتیلاسیون در مقابل ۶۶/۵ درصد) مشاهده شد.

گرفتن در معرض آلاینده‌های زیست محیطی باعث ایجاد تغییرات اپی ژنتیک می‌شود (۱۳). از جمله‌ی این مسیرها میتیلاسیون DNA است که شامل انتقال یک گروه متیل از S-آدنوزیل متیونین (SAM) به اتم شماره پنج از باز آلی سیتوزین است که توسط آنزیم DNA متیل ترانسفراز (Dnmt) صورت می‌گیرد (۱۰).

پژوهش شوتوه و همکاران (۲۶) نشان داد که سم DDT باعث کاهش بیان Dnmt در هیپوتالاموس موش صحرایی جنس نر شد. همچنین آنالیز PCR DNA متیله شده نشان داد که در شش CPG که مورد بررسی قرار گرفت، نسبت به تیمار شاهد، به طور معنی‌داری کاهش میتیلاسیون مشاهده شد. کاهش میتیلاسیون مشاهده شده در CPG‌های متفاوت ناحیه پروموتور از طریق کاهش فعالیت Dnmt است. بر این

قرار گرفتن گاو میش در معرض آفت‌کش، باعث اختلالات چرخه‌ی تولید مثلی، کاهش باروری، سقط و مرده زایی می‌شود (۶). همچنین پژوهش‌های دیگر نشان داد که آفت‌کش‌ها باعث تغییر در رفتار تولید مثلی، ناباروری و سقط در انسان می‌شوند (۲).

پژوهش‌ها نشان دادند که بسیاری از آفت‌کش‌ها در حال حاضر باعث اختلال در تولید مثل حیوانات می‌شوند. اگر چه این اختلال باروری معمولاً با تغییرات در میزان سرمی هورمون استروئید، اختلال در اسپرماتوزن و از کاهش باروری مشخص می‌شود. پژوهش نشان داد که راندآپ با اختلال در بیان ژن StAR باعث کاهش استروئید سازی و باروری در انسان شد. همچنین این سم با مهار استروئیدوزن، فعالیت آنزیم P450scc را کاهش داد (۳۹). بر این اساس نتیجه بدست آمده در این پژوهش با نتایج پژوهش والش و همکاران (۳۹) هم خوانی داشت. همچنین با نتایج پژوهش بلو و همکاران (۴) که نشان داد قرار گرفتن در معرض آفت‌کش‌هایی مانند DBP^۱ به مدت ۳۰ روز و از طریق غذا، باعث بهم ریختن آنزیم‌های درگیر در استروئیدسازی از جمله پروتئین StAR، آنزیم سیتوکروم P450scc، CYP17، CYP19 و 3β-HSD در بلدرچین‌های بالغ زایی می‌شود، هم خوانی مشاهده شد.

اثرگذاری تیمار با دز نصف نیمه کشنده (غلظت ۱۸۷/۵ μm)، در کاهش بیان نسبی ژن‌های StAR، CYP11A1 و CYP19 نسبت به تیمار نیمه کشنده (غلظت ۳۷۵ μm) بیشتر بود. در حالی که بیان نسبی این ژن‌ها در تیمار نیمه کشنده نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. اما کاهش بیان نسبی این ژن‌ها در تیمار نیمه کشنده نسبت به تیمار نصف نیمه کشنده کمتر بود. از طرفی تخریب‌کننده‌های هورمونی (آلاینده‌های زیست محیطی) دارای اثرات زیستی قوی در غلظت‌های کم هستند اما در غلظت‌های زیاد دارای اثرات ضعیف و یا بدون اثر هستند (۳۰). بنابراین

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن غلظت‌های متفاوت علف‌کش راندآپ نرخ تکامل برون تنی اووسایت‌ها را در تیمارهای مورد بررسی نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری کاهش داد. هم‌چنین بیان نسبی ژن‌های استروئید سازی را در سلول‌های کومولوس به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. اما راندآپ تأثیر قابل ملاحظه‌ای در میزان متیلاسیون DNA پروموتور ژن StAR نداشت. بنابراین می‌توان احتمال داد که تأثیر علف‌کش راندآپ بر کاهش بیان ژن‌های مورد بررسی، از طریق دیگر مکانیسم‌های تنظیم‌کننده‌ی بیان ژن باشد.

اساس نتیجه بدست آمده در این پژوهش با نتایج شوتوه و همکاران (۲۶)، مطابقت داشت.

منحنی پاسخ به غلظت آلاینده‌ها با متیلاسیون، کاملاً خطی نیست (۱۹). بر این اساس با توجه به درصد متیلاسیون CPG شماره ۱۱ تیمار با غلظت ۳/۷۵ میکرومولار در مقایسه با درصد متیلاسیون همین CPG در تیمار با غلظت ۱۸۷/۵ میکرومولار، در مورد ژن StAR ممکن است که غلظت ۳/۷۵ میکرومولار از علف‌کش راندآپ دارای اثرگذاری بیشتری نسبت به غلظت ۱۸۷/۵ میکرومولار باشد.

منابع

- Andersen, H.R., I.M. Schmidt, P. Grandjean, T.K. Jensen, E. Budtz-Jørgensen, M.B. Kjaerstad, J. Baelum, J.B. Nielsen, N.E. Skakkebaek and K.M. Main. 2008. Impaired reproductive development in sons of women occupationally exposed to pesticides during pregnancy. *Environmental Health Perspectives*, 116(4): 566-672.
- Auger, J., J.M. Kunstmann, F. Czyglik and P. Jouannet. 1995. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *The New England Journal of Medicine*, 332: 281-285.
- Baccarelli, A. and V. Bollati. 2009. Epigenetics and environmental chemicals. *Current Opinion in Pediatrics*, 21: 243-251.
- Bello, U.M., M.C. Madekurozwa, H.B. Groenewald, T.A. Aire and A. Arukwe. 2014. The effects on steroidogenesis and histopathology of adult male Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) testis following pre-pubertal exposure to di(n-butyl) phthalate (DBP). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 166: 24-33
- Bettgowda, A., O.V. Patel, K.B. Lee, K.E. Park, M. Salem, J. Yao, J.J. Ireland and G.W. Smith. 2008. Identification of novel bovine cumulus cell molecular markers predictive of oocyte competence: functional and diagnostic implications. *Biology of Reproduction*, 79: 301-309.
- Bretveld, R.W., C.M.G. Thomas, P.T.J. Scheepers, G.A. Zielhuis and N. Roeleveld. 2006. Pesticide exposure: The hormonal function of the female reproductive system disrupted. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4: 30.
- Campagna, C., M.A. Sirard, P. Ayotte and J.L. Bailey. 2001. Impaired maturation, fertilization and embryonic development of porcine oocytes following exposure to an environmentally relevant organochlorine mixture. *Biology of Reproduction*, 65: 554-560.
- Casas, E., E. Bonilla, Y. Duclomb and M. Betancourt. 2010. Differential effects of herbicides atrazine and fenoxapro-ethyl and insecticides diazinon and malathion, on viability and maturation of porcine oocytes in vitro. *Toxicology in Vitro*, 24: 224-30.
- Cetica, P.D., L.N. Pintos, G.C. Dalvit and M.T. Beconi. 2001. Antioxidant enzyme activity and oxidative stress in bovine oocyte in vitromaturation. *International Union of Biochemistry and Molecular BiologyLife*, 51: 57-64.
- Cisneros, F.J. 2002. DNA methylation and male infertility. *Frontiers in Bioscience*, 9: 1189-200.
- Furger, C., L. Cronier, C. Poirot and M. Pouchelet. 1996. Human granulosa cells in culture exhibit functional cyclic AMP-regulated gap junctions. *Molecular Human Reproduction*, 2: 541-548.
- Giesy, J.P., S. Dobson and K.R. Solomon. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 167: 35-120.
- Hou, L., X. Zhang, D. Wang and A. Baccarelli. 2011. Environmental chemical exposures and human epigenetics. *International Journal of Epidemiology*, 41: 79-105.
- Hughes, S.F., A.F. Haney and C.L. Hughes. 1990. Use of human cumulus granulosa cells for in vitro screening of reproductive toxicants. *Reproductive Toxicology*, 4: 11-15.
- Janssenswillen, C., Z.P. Nagy and A. Van Steirteghem. 1995. Maturation of human cumulus-free germinal vesicle-stage oocytes to metaphase II by coculture with monolayer verocells. *Human Reproduction*, 10: 375-376.
- Jurewicz, J., W. Hanke and T. Makowiec-Dabrowska. 2008. Low risk of reproductive disorders among female greenhouse workers--safe work conditions or health selection for the light work? *Medycyna Pracy*, 59(2): 123-31.
- Kacevska, M., M. Ivanov, A. Wyss, S. Kasela, L. Milani, A. Rane and M. Ingelman-sundberg. 2012. DNA methylation dynamics in the hepatic CYP3A4 gene promoter. *Biochimie*, 94(11): 2338-44.
- Kamarianos, A., X. Karamanlis, P. Goulas, E. Theodosiadou and A. Smokovitis. 2003. The presence of environmental pollutants in the follicular fluid of farm animals (cattle, sheep, goats, and pigs). *Reproductive Toxicology*, 17: 185-190.

- تأثیر علف‌کش راندآپ بر بیان نسبی ژن‌های تنظیم‌کننده‌ی استروئید سازی و متیلاسیون جایگاه پروموتور ژن StAR در تکامل برون تنی ۱۰۰
19. Kim, K.Y., D.S. Kim, S.K. Lee, J.H. Kang, Y.S. Chang, J.R.D.R. Jacobs, M. Lee and D.H. Steffes. 2010. Association of low-dose exposure to Persistent Organic Pollutants with global DNA methylation in healthy Koreans. *Environmental Health Perspectives*, 118: 370.
 20. Koller, V.J., M. Furhacker, A. Nersesyan, M. Misik, M. Eisenbauer and S. Knasmueller. 2012. Cytotoxic and DNA-damaging Properties of glyphosate and Roundup in human-derived buccal epithelial cells. *Arch Toxicol*, 86: 805-813.
 21. Nandi, S., P. Gupta, S. Roy, S. Selvaraju and J. Ravindra. 2011. Chlorpyrifos and endosulfan affect buffalo oocyte maturation, fertilization, and embryo development in vitro directly and through cumulus cells. *Environmental toxicology*, 26: 57-67.
 22. Orphanides, G. and D. Reinberg. 2003. A Unified Theory of Gene Expression. *Cell*, 108:439-451.
 23. Pocar, P., T.A.L. Brevini, B. Fischer and F. Gandolfi. 2003. The impact of endocrine disruptors on oocyte competence. *Reproduction*, 125: 313-325.
 24. Romano, R.M., M.A. Romano, M.M. Bernardi and C.A. Oliveira. 2010. Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide Glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology. *Reproductive Toxicology*, 84: 309-317.
 25. Sharara, F.I., D.B. Seifer and J.A. Flaws. 1998. Environmental toxicants and female reproduction. *Fertility and Sterility*, 70: 613-622.
 26. Shutoh, Y., M. Takeda, R. Ohtsuka, A. Haishima, S. Yamaguchi, H. Fujie, Y. Komatsu, K. Maita and T. Harada. 2009. Low dose effects of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) on gene transcription and DNA methylation in the hypothalamus of young male rats: implication of hormesis-like effects. *The Journal of Toxicological Sciences*, 34: 469-482.
 27. Stoker, T.E., D.L. Guidici, S.C. Laws and R.L. Cooper. 2002. The effects of atrazine metabolites on Puberty and thyroid function in the male wistar rat. *Toxicological Sciences*, 67: 198-206.
 28. Sun, G.M., G.M. Wu, L. Lai, K. W. Park, R. Cabot, H.T. Cheong, B.N. Day, R.S. Prather and H. Schatten. 2001. Translocation of active mitochondria during Pig oocyte maturation, fertilization and early embryo development in vitro. *The journal of the society for reproduction and fertility*, 122: 155-163.
 29. Walsh L.P. and D.M. Stocco. 2000. Effects of lindane on steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory Protein expression. *Biology of Reproduction*, 63: 1024-1033.
 30. Welshons, W.V., S.C. Nagel and F.S. Vom Saal. 2006. Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology*, 147(6): 56-69.
 31. Xing C., S. Chen, Y. Wang, Z. Pan, Y. Zou, S. Sun, Z. Ren and Y. Zhang. 2022. Glyphosate exposure deteriorates oocyte meiotic maturation via induction of organelle dysfunctions in Pigs. *Animal Science and Biotechnology*, 13: 80.

Effect of Herbicide Roundup on Expression of Steroidogenic Genes and DNA Methylation of Promoter site of StAR Gene During in Vitro Maturation of Goat Oocyte

Maedeh Gholami¹, Hamid Deldar², Zarbakht Ansari Pirsaraei³ and Ali Barzegar³

1- Graduated M.Sc. Student, Department of Animal Science, Sari Agricultural and Natural Resources University, Sari, Iran

2- Associate Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural and Natural Resources University, Sari, Iran, (Corresponding author: hdeldar@sanru.ac.ir)

3- Associate Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural and Natural Resources University, Sari, Iran
Received: 30 July, 2022 Accepted: 30 October, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: In conjunction with the increase in Population and the need to Produce more food, Pesticides have been used to control and eliminate Pests in livestock and agricultural Products. Regrettably, the excessive use of Pesticides causes damage to the environment, Plants, animals, water, and soil. The Present study was conducted to investigate the effect of different concentrations of Roundup herbicide as a widely used and common agricultural Pesticide in in vitro maturation of goat oocytes.

Material and Methods: To Prepare goat oocytes, ovaries were Prepared from a slaughterhouse and transported to the laboratory into the flask containing warm saline (30-34°C). Oocyte cumulus complexes (COC) were removed from small antral follicles (2-6 mm) with the slicing method and transferred to a maturation medium with different concentration of Roundup. COC was Placed in a maturation medium for 24 hours and reached metaPhase stage II (nuclear maturation). The experiment was examined in a completely randomized design with 4 treatments included: control, 187.5 µM, 375 µM, and 750 µM of the Roundup.

Results: This study showed that the addition of different concentrations of the herbicide Roundup significantly decreased the maturation rate of goat oocytes than the control treatment ($P < 0.05$). Also, the addition of different concentrations of Roundup in the goat maturation medium reduced the steroidogenic gene expression in cumulus cells compared to the control treatment. However, Roundup did not have a considerable influence on DNA methylation in the Promoter site of the StAR gene.

Conclusion: The efficacy of the treatment with a dose of 187.5 µM of the Roundup in reducing the relative expression of StAR, CYP11A1 and CYP19 genes was higher than the 375 µM, which could be as a consequence of the fact that hormone disrupters (environmental Pollutants) have strong biological effects in low concentrations, but in high concentrations, they have weak or no biological effects.

Keywords: DNA methylation, Herbicide Roundup, In vitro maturation, Oocyte cumulus complex



"مقاله پژوهشی"

ارزیابی مقایسه‌ای عملکرد ملکه‌های اصلاح شده زنبورعسل ایرانی (*Apis mellifera meda* Skorikov 1929) در شرایط اقلیمی استان کردستان

عطاله رحیمی^۱، غلامحسین طهماسبی^۲، حمیدرضا بهمنی^۳، صالح صالحی^۳، بدرالدین زارع^۴، عبدالستار پارسانسب^۴ و بابک رخزاد^۴

۱- استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران، (نویسنده مسوول: ata.rahimi@areeo.ac.ir)

۲- استاد، بخش تحقیقات زنبورعسل، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۳- استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران

۴- محقق، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۶/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۲۷

صفحه: ۱۰۲ تا ۱۱۱

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: استفاده از ملکه‌های اصلاح شده و دارای صفات مطلوب عملکردی و رفتاری از ارکان مهم موفقیت در امر پرورش زنبورعسل می‌باشد. تحقیق حاضر با هدف ارزیابی عملکرد ملکه‌های اصلاح شده زنبورعسل ایرانی با ملکه‌های شاهد (ملکه‌های بومی اصلاح نشده) در زنبورستان‌های بخش خصوصی استان کردستان طی سال‌های ۱۳۹۶ الی ۱۴۰۰ اجرا شد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه‌ی حاضر، ملکه‌های لایه‌ی سوم که حاصل ملکه‌های اصلاح شده کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی بودند، در شش زنبورستان بخش خصوصی استان کردستان در کنار ملکه‌های بومی اصلاح نشده (به‌عنوان شاهد) از لحاظ صفات تولید عسل، بچه‌دهی، زمستان‌گذرانی، رفتار آرامش روی قاب و رفتار تهاجمی، مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای ارزیابی ملکه‌ها، پرسشنامه‌های خاصی طراحی و در اختیار زنبورداران قرار گرفت تا ملکه‌های لایه سوم طرح را به همراه ملکه‌های شاهد در زنبورستان خصوصی خود در سال‌های مورد مطالعه، ارزیابی نمایند.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ملکه روی همه صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر سال روی صفات تولید عسل و بچه‌دهی در سطح احتمال ۱ درصد و روی صفت آرامش روی قاب در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. اثر شهرستان، روی صفت بچه‌دهی معنی‌دار بود ($P < 0.01$). همچنین، براساس نتایج به‌دست آمده، اثرات متقابل ملکه - سال و سال - شهرستان روی صفات بچه‌دهی و تولید عسل به‌ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بودند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کلنی‌های دارای ملکه‌های اصلاح شده، از لحاظ صفات بچه دهی، رفتار تهاجمی، رفتار آرامش روی قاب و زمستان‌گذرانی، نسبت به کلنی‌های دارای ملکه‌های بومی در شرایط اقلیمی استان کردستان، به‌طور معنی‌داری برتری داشتند ($P < 0.05$). برتری و پیشرفت نسبی قابل قبولی هم از لحاظ صفت تولید عسل در ملکه‌های اصلاح شده در تمام سال‌های مورد مطالعه در مقایسه با ملکه‌های بومی در شرایط اقلیمی استان کردستان مشاهده گردید ولی با توجه به وراثت‌پذیری پایین این صفت، این برتری و پیشرفت معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: در مجموع، نتایج این تحقیق، پیشرفت و بهبود اصلاحی صفات هدف و برتری ملکه‌های اصلاح شده زنبورعسل ایرانی را در مقایسه با ملکه‌های بومی اصلاح نشده در شرایط اقلیمی استان کردستان، نشان داد. با عنایت به برتری و بهبودهای معنی‌دار در اکثریت صفات مورد مطالعه در ملکه‌های اصلاح شده حاصل از طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی، می‌توان استنباط کرد که زنبورعسل ایرانی از لحاظ ژنتیکی، ظرفیت اصلاح را دارد. بنابراین، پیشنهاد می‌شود در ادامه‌ی این تحقیق، با تلاش بیشتر در جهت تثبیت ژنتیکی بهبودهای حاصل و جلوگیری از هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی که اثر مستقیم در کاهش عملکرد کلنی‌ها دارد و نیز استفاده از روش‌های نوین اصلاح نژادی در مقابله با مشکلات جدید صنعت زنبورداری اقدام شود.

واژه‌های کلیدی: بچه‌دهی، تولید عسل، رفتار تهاجمی، رفتار آرامش روی قاب، کردستان، ملکه‌های اصلاح شده ایرانی

مقدمه

مهمی از ویژگی‌های مهم کلنی و کارگران از جمله باروری، جمعیت، جمع‌آوری شهد و گرده، مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها، رفتار دفاعی، قابلیت بچه‌دهی، تولید موم و زمستان‌گذرانی از طریق ملکه به کلنی و زنبورهای کارگر منتقل می‌شود؛ در نتیجه داشتن ملکه‌های با صفات مطلوب در کلنی‌ها از رموز مهم موفقیت زنبورداران و پیشرفت حرفه زنبورداری است (۵، ۱۷، ۱۸). در حال حاضر، عدم دسترسی زنبورداران به ملکه‌های اصلاح شده و پر تولید به یکی از بزرگ‌ترین چالش‌های صنعت زنبورداری و زنبورداران کشور تبدیل شده و عملکرد ضعیف ملکه‌های بومی و متناسب با آن درآمد پایین این حرفه، باعث ترک شغل بسیاری از پرورش دهندگان زنبورعسل کشور و استان کردستان از این حوزه گردیده است (۱۶، ۲۷).

با توجه به وابستگی‌های شدید زنبورعسل به محیط اطراف خود و نیز خصوصیات رفتاری و بیولوژیکی زنبورعسل در

زنبورعسل (*Apis mellifera* L.) در کنار نقش ممتاز و برجسته‌اش در امر گرده افشانی، افزایش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی، توسعه و گسترش جنگل‌ها و مراتع، افزایش درآمد و حفظ تنوع زیستی (۲۰، ۲۳، ۳۱، ۱۵)، با تولید عسل و سایر فرآورده‌های کندو مثل گرده، موم، بره‌موم، ژله رویال و زهر و همچنین تامین امنیت غذایی، اشتغال‌زایی در صنایع جانبی و جلوگیری از مهاجرت روستائیان به شهرها، نقش مهمی در اقتصاد کشور ایفا می‌کند (۱۶، ۱۹، ۲۲). با وجود تمام این مزایای اقتصادی و اجتماعی، کلنی‌های زنبورعسل و حرفه زنبورداری بطور نامطلوبی بوسیله‌ی یکسری عوامل تحت تاثیر واقع شده‌اند که یکی از مهمترین آنها، عدم دسترسی زنبورداران به ملکه‌های اصلاح شده، پر محصول و اقتصادی است. با توجه به اینکه ملکه زنبورعسل، مادر تمام اعضای کلنی و تامین‌کننده جمعیت کلنی است و بخشی

زنبورستان‌های بخش خصوصی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که کلنی‌های حاصل از ملکه‌های اصلاح شده از لحاظ صفات بچه‌دهی، زمستان‌گذرانی و رفتار دفاعی به‌طور معنی‌داری از کلنی‌های شاهد برتر بودند ولی از لحاظ صفات تولید عسل و جمعیت بالغین، تفاوت معنی‌داری بین کلنی‌های اصلاح شده با کلنی‌های شاهد مشاهده نشد.

با توجه به گزارش وجود چند جمعیت یا توده مختلف زنبورعسل ایرانی در کشور (۲۴،۲۶،۳۰)، ضروری است ملکه‌های اصلاح شده هر نسل این طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی در مناطق مختلف کشور و استان‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گیرند تا مشخص شود که آیا ملکه‌های اصلاح شده طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی، همان خصوصیات مطلوب و بهبود یافته در هسته مرکزی طرح را در مناطق مختلف کشور حفظ خواهد کرد یا نه؟ یا با توجه به وجود چند توده یا جمعیت مختلف زنبورعسل ایرانی در مناطق مختلف کشور، برنامه‌های اصلاح نژادی متناسب با همان توده‌ها یا جمعیت‌ها در مناطق با شرایط اکولوژیکی مشابه انجام شود. بنابراین با توجه به اهمیت این موضوع، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی عملکرد ملکه‌های اصلاح شده طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی در شرایط اقلیمی استان کردستان انجام شد.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان اجرای مطالعه

تحقیق حاضر با هدف ارزیابی و مقایسه عملکرد ملکه‌های اصلاح شده طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی با ملکه‌های شاهد (ملکه بومی اصلاح نشده) در شش زنبورستان بخش خصوصی استان کردستان طی سال‌های ۱۳۹۶ الی ۱۴۰۰ انجام شد.

روش اجرای مطالعه و اندازه‌گیری صفات مورد بررسی

در طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی، ابتدا در منطقه پرورش ملکه در جنوب کشور تعدادی ملکه مادری از ملکه‌های اصلاح شده طرح (ملکه‌های لایه اول) در اختیار تعدادی از پرورش دهندگان ملکه در مناطق مختلف کشور قرار داده شد تا در لایه دوم طرح، این ملکه‌ها را تکثیر نموده و ملکه‌های حاصل را در اختیار زنبورداران (به‌عنوان لایه سوم) جهت ارزیابی قرار دهند (شکل ۱). تعداد ملکه‌های تولید شده توسط پرورش دهندگان ملکه که در اختیار زنبورداران کردستانی طی سال‌های ۱۳۹۶ تا ۱۴۰۰ قرار گرفت در جدول ۱ ارائه شده است. برای ارزیابی ملکه‌های اصلاح شده در زنبورستان‌های بخش خصوصی استان کردستان، پرسشنامه‌های خاصی طراحی و در اختیار زنبورداران همکار قرار گرفت تا ملکه‌های اصلاح شده لایه سوم طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی را در کنار ملکه‌های بومی اصلاح نشده در زنبورستان خصوصی خود مورد ارزیابی قرار دهند. قبل از تحویل گرفتن ملکه‌های اصلاح شده از پرورش دهندگان ملکه (لایه دوم طرح)، در هر کدام از زنبورستان‌های بخش خصوصی، تعداد مشخصی کندو برای معرفی ملکه‌های اصلاح شده، آماده شد و همزمان با این کار، تعداد مشخصی

مناطق که این حشره بومی آنجا بوده و از میلیون‌ها سال پیش در آنجا می‌زیسته است از این رو، مناسب‌ترین استراتژی اصلاح نژادی، استفاده از توده‌ها یا نژاد بومی همان منطقه و تلاش برای بهبود خصوصیات عملکردی و رفتاری آن توده می‌باشد. ایران یکی از مناطقی است که جزء زیستگاه‌های طبیعی زنبورعسل محسوب شده و در منطقه پراکنش طبیعی زنبورعسل قرار گرفته و زنبورعسل از میلیون‌ها سال قبل در ایران می‌زیسته است (۲۰،۲۱). همچنین، متخصصین پرورش زنبورعسل نیز گزارش کردند که ایران دارای یک نژاد بومی زنبورعسل است (۴). با توجه به اهمیت این موضوع، پروژه اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی در سال ۱۳۷۷ برای بهبود صفات عملکردی و تولید مثلی و حفظ ذخایر ژنتیکی و نژاد بومی زنبورعسل ایرانی پیشنهاد شد و از سال ۱۳۷۷ تاکنون، این پروژه جهت بهبود صفات عملکردی و رفتاری در منطقه مرکزی کشور در حال اجرا است و تاکنون به نسل بیست و دوم رسیده‌اند.

طرح‌های اصلاح نژادی متعددی در کشورهای مختلف دنیا روی زنبورهای عسل بومی همان منطقه انجام شده است. یکی از این پروژه‌ها، توسط کوزموس (۱۱) روی زنبورعسل نژاد کارنیکا در کشور اسلونی انجام شد. در این کشور، عملیات اصلاح نژادی با روش انتخاب کلنی‌های برتر در بین کلنی‌های زنبورعسل نژاد کارنیکا (*Apis mellifera carnica*) (Pollman, 1879) برای بهبود صفات تولید عسل، آرامش روی سطح قاب، بچه‌دهی و مقاومت به کنه واروا انجام شد. در این پروژه، بهبود ژنتیکی نژاد کارنیکا به‌عنوان تنها نژاد زنبورعسل آن کشور در دو سطح انجام گرفت. در سطح اول، کلنی‌های موجود در کشور اسلونی از لحاظ این صفات ارزیابی و ۷۰۰ کلنی برتر انتخاب و مورد اصلاح قرار گرفتند. در سطح دوم، عملکرد ملکه‌های اصلاح شده در ۴۰ زنبورستان بخش خصوصی تحت پوشش اتحادیه زنبورداران این کشور در کنار کلنی‌های بومی مورد ارزیابی قرار گرفت. در مطالعه دیگری، محققان لهستانی در یک طرح اصلاح نژادی بلند مدت روی نژاد کارنیکا بعد از ۱۵ سال، کلنی‌های اصلاح شده این نژاد را به منطقه پومرانیا این کشور انتقال و آنها را در محل استقرار مورد ارزیابی قرار دادند و گزارش کردند که صفت تولید عسل در کلنی‌های منطقه بعد از استفاده از ملکه‌های اصلاح شده بهبود پیدا کرده است (۱۳). در مطالعه دیگری در کشور اتیوپی، عملکرد کلنی‌های زنبورعسل اصلاح شده نژاد *Apis mellifera scutellat* مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که صفات بچه‌دهی و رفتار دفاعی کلنی‌های اصلاح شده در حد مطلوبی بهبود پیدا کرده بود که با کلنی‌های شاهد اختلاف معنی‌دار داشت. به‌طوری که در کلنی‌های اصلاح شده در طول فصل پرورش ملکه به‌طور میانگین فقط دو تا شاخون در کلنی‌ها مشاهده شد. همچنین، صفت تولید عسل نیز در کلنی‌های اصلاح شده بهبود پیدا کرده بود اما با کلنی‌های شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت (۱). در پژوهش دیگری، طهماسبی و همکاران (۲۸) عملکرد کلنی‌های حاصل از ملکه‌های اصلاح شده طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی نسل سیزدهم را با کلنی‌های شاهد در

از روش نظری (Subjective) انجام شد. در این روش، کلنی‌ها از نظر رفتار زنبورها در زمان بازدید، ارزیابی و امتیاز متناسب با رفتار خود دریافت نمودند. به این ترتیب، برای ارزیابی رفتار تهاجمی، با توجه به رفتار زنبورها امتیاز هر کلنی بشرح ذیل در شناسنامه آنها ثبت شد:

- کندوهایی که بدون دود دادن آرام بودند، نمره (۴)
- کندوهایی که با دود کم آرام بودند، نمره (۳)
- کندوهایی که با مقداری دود آرام نشده و عصبی بودند، نمره (۲)
- کندوهایی که با دود زیاد نیز تهاجمی بودند، نمره (۱)

ارزیابی صفت آرامش روی قاب

ارزیابی این صفت نیز به صورت نظری انجام شد. در این روش، کلنی‌ها از نظر آرامش زنبورها در روی قاب و در زمان بازدید ارزیابی و متناسب با رفتار خود، امتیازی به شرح ذیل دریافت کردند:

- اگر در هنگام بازدید کندو، اکثر زنبورها از روی قاب پرواز کرده و قاب را ترک کردند، نمره (۱)
- اگر در هنگام بازدید کندو، تعدادی از زنبورها پرواز کرده و بقیه روی قاب حرکت کردند، نمره (۲)
- اگر در هنگام بازدید کندو، حرکت زنبورها روی قاب کند بود، نمره (۳)
- اگر در هنگام بازدید کندو، حرکت زنبورها روی قاب بسیار کند و آرام بود، نمره (۴) را دریافت کردند.

ارزیابی صفت زمستان‌گذرانی

برای مقایسه ملکه‌های دو گروه (اصلاح شده و شاهد) از نظر صفت زمستان‌گذرانی، نسبت جمعیت بالغین بر حسب قاب در بهار به پاییز و نسبت ذخیره عسل بهار به پاییز را ارزیابی و در شناسنامه کلنی‌ها ثبت گردید. در نهایت صفت زمستان‌گذرانی با استفاده از میانگین این دو نسبت به دست آمده و در شناسنامه‌ی هر کلنی ثبت شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نرمال بودن توزیع داده‌ها به وسیله آزمون کلموگوروف اسمیرنوف^۱ با استفاده از رویه univariate در نرم‌افزار آماری SAS 9.4 M6 مورد آزمون قرار گرفت. پس از حصول اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، داده‌ها براساس تجزیه مرکب (آشپانه‌ای یا تو در تو) بر پایه طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند که براساس آن، اثر سال (پنج سال مورد بررسی) و محل آزمایش (دو شهرستان مورد بررسی در هر سال در آزمایش) به‌عنوان عامل مرکب و اثر ملکه (شاهد و اصلاح شده) به‌عنوان عامل اصلی در نظر گرفته شد. برای انجام این آنالیز، از رویه GLM تعبیه شده در نرم‌افزار آماری SAS V. 9.4 M6 استفاده گردید. در نهایت، مقایسه میانگین‌ها نیز با روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

ملکه از کلنی‌های بومی اصلاح نشده پرورش داده شد و همزمان با معرفی ملکه‌های اصلاح شده به کلنی‌ها، ملکه‌های بومی هم به کلنی‌های شاهد معرفی شدند. پس از استقرار موفقیت آمیز و مشاهده یک قاب پشت رو تخم‌ریزی توسط ملکه معرفی شده، کلنی‌ها از لحاظ جمعیت یکسان سازی شدند. لازم به ذکر است کلنی‌های دارای ملکه‌های شاهد و اصلاح شده در طول دوره آزمایش از مدیریت یکسان (از لحاظ شرایط تغذیه‌ای، مدیریت کوچ و مدیریت آفات و بیماری‌ها) برخوردار بوده و سپس مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفتند. در سال اول آزمایش قبل از شروع پروژه، به زنبورداران همکار آموزش داده شد که چگونه فرم‌های مخصوص شناسنامه و ارزیابی کندوهای مورد مطالعه را تکمیل کنند و در طول اجرای پروژه، مجری و همکاران پروژه بر کار زنبورداران همکار نظارت مستقیم داشتند. در پروژه‌ی حاضر، صفات تولید عسل، رفتار دفاعی، آرامش روی قاب، بچه دهی و زمستان‌گذرانی مورد ارزیابی قرار گرفت که نحوی اندازه‌گیری آنها به شرح ذیل می‌باشد:

ارزیابی صفت تولید عسل

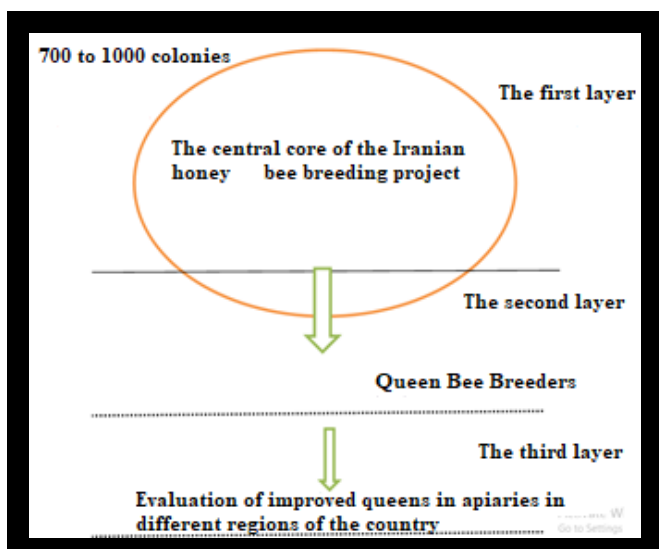
برای ارزیابی مقدار عسل تولیدی کلنی‌ها در فصل برداشت عسل در منطقه، وزن عسل برداشتی و باقیمانده در هر کندو محاسبه شد. تفاوت وزن قاب‌های عسل هر کندو قبل و بعد از استخراج عسل، میزان عسل تولیدی قاب‌ها و مجموع عسل استخراج شده از قاب‌های هر کلنی، میزان عسل تولیدی آن کلنی را تشکیل داد. برای ارزیابی وزن دقیق عسل باقیمانده، از روش ارزیابی سطح عسل باقیمانده روی قاب‌ها به وسیله قاب‌های مخصوص که با سیم گالوانیزه به مسطیل ۵×۱۰ سانتی‌متر کادربندی شده است، استفاده شد. برای تخمین عسل باقیمانده با استفاده از تجربیات محققین ایرانی (۳۲) و دیگر کشورها از روش تبدیل سطح به وزن، بدین ترتیب هر دسی‌متر مربع عسل در دو طرف قاب را معادل ۳۰۴ گرم عسل در نظر گرفته، استفاده شد. با قرار دادن این کادرها روی هر دو طرف قاب‌های باقیمانده عسل در کندوها، مجموعاً سطح عسل باقیمانده در هر کلنی محاسبه و ثبت گردید. در پایان با مجموع عسل باقی‌مانده و برداشتی، کل عسل تولیدی هر کندو بدست آمده و برای آن کندو ثبت شد. ارزیابی این صفت روی تمام کلنی‌های در فصل برداشت عسل در شش زنبورستان مورد مطالعه انجام شد.

ارزیابی صفت بچه‌دهی

برای ارزیابی صفت بچه‌دهی، کلنی‌ها در طول دوره بچه‌دهی در چهار نوبت به فاصله هر ۹ روز یکبار مورد بازدید قرار گرفتند و سلول‌های ملکه (شاخون) ساخته شده توسط زنبورهای کارگر را تخریب و تعداد آنها برای هر کلنی شمارش و ثبت شد.

ارزیابی صفت رفتار تهاجمی

ارزیابی این رفتار در زنبورستان‌های تحت مطالعه با استفاده



شکل ۱- نحوی تولید و توزیع ملکه‌های اصلاح شده در طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی
Figure 1. Production and distribution methods of improved queens in Iranian honey bee breeding project

جدول ۱- تعداد ملکه‌های تولید شده در لایه دوم و توزیع شده به لایه سوم در استان کردستان

Table 1. The number of produced queens in the second layer and distributed to the third layer in Kurdistan province

| سال (Year) | تعداد ملکه (Number of queen) | شهر (City) | زنبوردار (Beekeeper) |
|------------|------------------------------|------------|----------------------|
| 1396 | 20 | 2 | 6 |
| 1397 | 18 | 2 | 6 |
| 1398 | 16 | 2 | 6 |
| 1399 | 15 | 2 | 6 |
| 1400 | 10 | 2 | 6 |

قاب در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود ولی روی صفت زمستانگذرانی و رفتار تهاجمی اثر معنی‌داری نداشت. اثر شهرستان روی صفت بچه‌دهی معنی‌دار بود ($p < 0.01$)، ولی روی بقیه صفات اثر معنی‌دار نداشت. همچنین، براساس نتایج به‌دست آمده، اثرات متقابل ملکه - سال و سال - شهرستان روی صفات بچه‌دهی و تولید عسل به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بود ولی در بقیه صفات تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. اثرات متقابل ملکه - شهرستان و ملکه - سال - شهرستان روی صفات مورد مطالعه معنی‌دار نبود (جدول ۲).

نتایج و بحث

در مطالعه حاضر، عملکرد ملکه‌های اصلاح شده طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی در کنار ملکه‌های شاهد (ملکه بومی اصلاح نشده) در شش شهرستان بخش خصوصی استان کردستان طی سالهای ۱۳۹۶ الی ۱۴۰۰ مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس اثر نوع ملکه، سال و شهرستان در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که اثر ملکه، روی تمام صفات مورد مطالعه (صفات تولید عسل، بچه دهی، آرامش روی قاب، رفتار تهاجمی و زمستانگذرانی) معنی‌دار بود ($p < 0.01$). اثر سال، روی صفات تولید عسل و بچه‌دهی در سطح احتمال ۱ درصد و روی صفت آرامش روی

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر نوع ملکه، سال و شهرستان (اعداد داخل جدول میانگین مربعات اثرات هستند)
Table 2. Variance analysis of the effect of queen type, year and city

| Overwintering زمستانگذرانی | Aggressive رفتار تهاجمی | Calmness آرامش روی قاب | Swarming بچه دهی | Honey Production تولید عسل | Source Variations/ traits منبع تغییرات/صفات |
|-------------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| 0.057** | 2.320** | 6.468** | 6.902** | 149.942** | ملکه Queen |
| 0.007 ^{n.s} | 0.027 ^{n.s} | 0.092* | 0.197** | 3.727** | سال Year |
| 0.009 ^{n.s} | 0.047 ^{n.s} | 0.031 ^{n.s} | 0.059** | 0.025 ^{n.s} | شهرستان City |
| 0.004 ^{n.s} | 0.011 ^{n.s} | 0.021 ^{n.s} | 1.009** | 0.656* | اثر متقابل ملکه و سال The interactions effect of queen - year |
| 0.012 ^{n.s} | 0.010 ^{n.s} | 0.048 ^{n.s} | 0.026 ^{n.s} | 0.1 ^{n.s} | اثر متقابل ملکه و شهرستان The interactions effect of queen - city |
| 0.006 ^{n.s} | 0.005 ^{n.s} | 0.0055 ^{n.s} | 0.035** | 0.629* | اثر متقابل سال و شهرستان The interactions effect of year - city |
| 0.001 ^{n.s} | 0.006 ^{n.s} | 0.008 ^{n.s} | 0.018 ^{n.s} | 0.529* | اثر متقابل ملکه، سال و شهرستان The interactions effect of queen- year- city |

** : معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، * : معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ و ^{n.s} : غیر معنی‌داری
** : Significant at the 1% probability level, * : Significant at the 5% probability level, n.s: non-significance

ایران تفاوت داشت. در مورد صفت بچه‌دهی، هر دو لاین امتیاز مساوی ۲/۹۶ را کسب کردند. به‌طور کلی، نتایج مطالعه‌ی آنها نشان داد که تفاوت معنی‌داری از لحاظ صفت بچه‌دهی بین دو گروه مورد مطالعه وجود نداشت. در تحقیق دیگری، محققان لهستانی ملکه‌های اصلاح شده زنبورعسل نژاد کارنیکا را با توده‌های بومی زنبورعسل لهستان مورد مقایسه قرار گرفتند که در مطالعه حاضر نیز ملکه‌های اصلاح شده از لحاظ صفت بچه‌دهی نسبت به ملکه‌های بومی برتری داشتند (۱۳). طی مطالعه دیگری، آلمو و همکاران (۱) تمایل به بچه‌دهی را در کلنی‌های اصلاح شده زنبورعسل نژاد *A. m. scutellate* طی یک برنامه اصلاح نژادی در کشور ایتالیایی بسیار پایین گزارش کردند به‌طوری‌که در طول فصل پرورش ملکه فقط دو سلول ملکه (شاخون) به‌طور میانگین در کلنی‌ها مشاهده شد که با نتایج مطالعه حاضر مبنی بر بهبود و پیشرفت ژنتیکی صفت بچه‌دهی در ملکه‌های اصلاح شده ایرانی مطابقت دارد. در مطالعه‌ی دیگری، طهماسبی و همکاران (۲۸) در مقایسه ملکه‌های بومی با ملکه‌های اصلاح شده ایرانی و نژاد کارنیولان به این نتیجه رسیدند که از نظر صفت بچه‌دهی، ملکه‌های نژاد کارنیولان و اصلاح شده ایرانی با شرایط مطلوب‌تر در گروهی جداگانه از ملکه‌های بومی قرار گرفتند ($p < 0.05$). برتری ملکه‌های اصلاح شده ایرانی از لحاظ صفت بچه‌دهی نسبت به ملکه‌های بومی در شرایط اقلیمی استان کردستان ضمن مطابقت با مطالعه طهماسبی و همکاران (۲۷)، بر ظرفیت اصلاح و بهبود ژنتیکی صفت بچه‌دهی در نژاد زنبورعسل ایرانی دلالت دارد.

وراثت‌پذیری صفت بچه‌دهی زنبورعسل در ایرانی (نژاد ایرانی) ۰/۵۶، در اسلوانی (نژاد کارنیکا) ۰/۷۳ و در اتریش (نژاد کارنیکا) ۰/۳۷ برآورد شده است (۲،۳،۱۳). وراثت‌پذیری بالای صفت بچه‌دهی سبب می‌شود که امکان پیشرفت ژنتیکی و بهبود این صفت در طرح‌های اصلاح نژادی در زمان کمتری میسر شود و برتری ملکه‌های اصلاح شده در مقایسه با ملکه‌های شاهد در مطالعه حاضر نیز موید این مطلب می‌باشد.

ارزیابی و مقایسه ملکه‌های اصلاح شده با ملکه‌های شاهد از لحاظ صفت تولید عسل در مطالعه حاضر، نشان داد که ملکه‌های اصلاح شده در همه سال‌های مورد نسبت به ملکه‌های شاهد برتری معنی‌داری داشتند ($p < 0.05$). در تحقیق حاضر، در مجموع کلنی‌های دارای ملکه اصلاح شده از لحاظ صفت تولید عسل برتر از کلنی‌های دارای ملکه شاهد بودند که این موضوع نشان دهنده بهبود و پیشرفت ژنتیکی این صفت می‌باشد. در یک پژوهشی، ملکه‌های اصلاح شده طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی در کنار ملکه‌های شاهد در زنبورستان‌های بخش خصوصی استان قزوین از لحاظ صفت تولید عسل مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر حاکی از برتری ملکه‌های اصلاح شده نسبت به ملکه‌های بومی در شرایط اقلیمی استان قزوین بوده ولی این برتری معنی‌دار نبود (۱۲) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. همچنین، رضایی (۸) در مقایسه ملکه‌های اصلاح شده ایرانی با ملکه‌های بومی در استان البرز و کریمی

نتایج مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه ملکه‌های اصلاح شده و شاهد در زنبورستان‌های بخش خصوصی استان کردستان به تفکیک سال در جدول ۳ ارائه شده است. براساس نتایج بدست آمده، ملکه‌های اصلاح شده در سال‌های ۱۳۹۶، ۱۳۹۷، ۱۳۹۸، ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ از لحاظ صفات آرامش روی قاب، رفتار تهاجمی، تولید عسل و بچه‌دهی به‌طور معنی‌داری برتر از ملکه‌های شاهد بودند که برترین ملکه‌های اصلاح شده از لحاظ این صفات به‌ترتیب مربوط به سال‌های ۱۴۰۰، ۱۳۹۹، ۱۳۹۸ و ۱۳۹۸ بود. از لحاظ صفت زمستانگذرانی در سال‌های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ ملکه‌های اصلاح شده به‌طور معنی‌دار برتر ملکه‌های شاهد بودند که برترین ملکه‌های اصلاح شده از لحاظ این صفت مربوط به سال ۱۴۰۰ بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در مجموع کلنی‌های دارای ملکه‌های اصلاح شده نسبت به کلنی‌های دارای ملکه بومی در شرایط اقلیمی استان کردستان از لحاظ صفات مورد مطالعه برتر بودند که این برتری در بیشتر صفات در سال‌های مورد مطالعه معنی‌دار بوده و آنها را در دو گروه جدا گانه قرار داد.

ارزیابی ملکه‌های اصلاح شده طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی و مقایسه عملکرد آنها با ملکه‌های بومی زنبورستان‌های بخش خصوصی استان کردستان، به روشی میزان بهبود و برتری را در زنبورستان هسته مرکزی نشان می‌دهد. نتایج این مطالعه در شرایط اقلیمی استان کردستان نیز ضمن تایید این برتری، نشان داد که این برتری به خوبی توانسته است به زنبورستان‌های مردمی (بخش خصوصی) نیز منتقل شود. به‌طوری‌که علیرغم فضای محدود و فشردگی قاب‌ها و جمعیت کلنی‌ها با تولید عسل بیشتر، زمستانگذرانی بهتر و ضمن آرام بودن اقدام به تولید شاخون نموده و تمایلی به بچه‌دهی نیز نداشتند و در مجموع کلنی‌های اصلاح شده حاصل از طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی به‌طور معنی‌داری از کلنی‌های شاهد در شرایط اقلیمی استان کردستان برتر بودند (جدول ۳). طهماسبی و همکاران (۲۸) ملکه‌های اصلاح شده طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی در نسل‌های ششم، هفتم و سیزدهم را با ملکه‌های شاهد در لایه دوم در استان‌های مختلف کشور مورد ارزیابی و مقایسه قرار دادند و گزارش کردند که از لحاظ بیشتر صفات پیشرفت قابل قبولی حاصل شده و در هر سه سال مقایسه، ملکه‌های اصلاح شده ایرانی برتر از ملکه‌های شاهد بودند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. رومن و همکاران (۲۵) طی یک مطالعه ۴ ساله، صفات عملکردی و رفتاری لاین *Pogórka* (Cb) و *Austrian* (Ca) زنبورهای کارنیکا را در منطقه شمال غربی اوپل در لهستان بررسی کردند. در این مطالعه، صفت بچه‌دهی در سال‌های ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۰ مورد بررسی قرار گرفت. این صفت در کلنی‌ها بر اساس شاخص امتیازدهی در مقیاس ۰ تا ۳ ارزیابی شد. در این مطالعه، کلنی‌هایی که بچه دادند امتیاز صفر، کلنی‌های با شاخون زیاد امتیاز ۱، کلنی‌های با یک شاخون امتیاز ۲ و کلنی‌های بدون شاخون امتیاز ۳ برای آنها در نظر گرفته شد که روش ارزیابی و امتیازدهی آنها با روش اعمال شده در تحقیق حاضر در

اقلیمی استان کردستان به‌طور معنی‌داری برتر از ملکه‌های بومی اصلاح نشده بود. بعد از اجرای یک طرح اصلاح نژادی بلند مدت توسط محققان لهستانی روی نژاد زنبورعسل کارنیکا و ارزیابی ملکه‌های اصلاح شده این نژاد با توده‌های بومی اصلاح نشده، مشخص گردید که از لحاظ رفتار تهاجمی ملکه‌های اصلاح شده به‌طور معنی‌داری برتر از توده‌های بومی بودند که با نتایج بهبود و برتری معنی‌دار رفتار تهاجمی ملکه‌های اصلاح شده ایرانی در مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۴). مقایسه ملکه‌های اصلاح شده طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی در نسل‌های ششم و هفتم با ملکه‌های بومی زنبورستان‌های خصوصی (استان تهران، سمنان و مرکزی) نشان داد که ملکه‌های اصلاح شده در صفات آرامش روی قاب و رفتار تهاجمی از پیشرفت قابل قبولی برخوردار بوده و در هر دو سال مورد مطالعه، ملکه‌های اصلاح شده به‌طور معنی‌دار ($p < 0.05$) برتر از ملکه‌های شاهد بودند (۲۸). در مطالعه‌ی دیگری، نتایج مقایسه ملکه‌های اصلاح شده طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی در نسل هشتم و نژاد کارنیولان با ملکه‌های شاهد از لحاظ صفات آرامش روی قاب و رفتار تهاجمی نشان داد که ملکه‌های کارنیولان از لحاظ رفتار دفاعی، علیرغم برتری نسبت به ملکه‌های شاهد، با ملکه‌های اصلاح شده ایرانی تفاوت معنی‌دار نداشته و در یک گروه قرار گرفتند (۲۷). ارزیابی نسل سیزدهم ملکه‌های اصلاح شده ایرانی در لایه سوم و مقایسه آنها با ملکه‌های شاهد از نظر رفتار دفاعی در زنبورستان‌های بخش خصوصی نشان دهنده برتری ملکه‌های اصلاح شده بود (۲۹). مشایخی (۱۲) در مقایسه ملکه‌های اصلاح شده ایرانی در شرایط اقلیمی استان قزوین، رضایی (۸) در زنبورستان‌های بخش خصوصی استان البرز و کریمی (۱۰) در زنبورستان‌های بخش خصوصی استان فارس هم نتایج مشابه مطالعه حاضر را گزارش کردند. ضریب وراثت‌پذیری رفتار دفاعی زنبورعسل در صربستان (نژاد کارنیکا) 0.359 ± 0.038 ، در اتریش (نژاد کارنیکا) 0.38 ± 0.038 و در سوریه 0.28 ± 0.08 گزارش شد (۳۹، ۳۳). نتایج حاصل از ارزیابی رفتار دفاعی ملکه‌های اصلاح شده ایرانی در مقایسه با ملکه‌های شاهد در شرایط اقلیمی استان کردستان نیز حاکی از برتری معنی‌دار ملکه‌های اصلاح شده می‌باشد که از دلایل مهم آن، وراثت‌پذیری بالای صفت رفتار دفاعی و پیشرفت ژنتیکی این صفت در ملکه‌های اصلاح شده است. نتایج حاصل از مقایسه کلی ملکه‌های اصلاح شده حاصل طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی با ملکه‌های شاهد از لحاظ صفت زمستان‌گذرانی در مطالعه حاضر حاکی از برتری معنی‌دار ملکه‌های اصلاح شده در شرایط اقلیمی استان کردستان بود ($p < 0.05$). علی‌رغم برتری کلی ملکه‌های اصلاح شده نسبت به ملکه‌های شاهد از لحاظ صفت زمستان‌گذرانی، در برخی سالها (۱۳۹۶، ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸) این برتری معنی‌دار نبود. از عوامل اصلی این امر می‌توان به وراثت‌پذیری پایین و تأثیر عوامل مختلف محیطی در صفت زمستان‌گذرانی زنبوران اشاره کرد که زمان لازم برای حصول نتیجه مطلوب‌تر را طولانی‌تر می‌سازد. طهماسبی و همکاران (۲۷، ۲۸)، مشایخی (۱۲)، رضایی (۸) و کریمی (۱۰) هم نتایج

(۱۰) در استان فارس نتایج مشابهی را برای این صفت گزارش کردند. در تحقیق مشابه در کشور لهستان، رومن و همکاران (۲۵) طی یک مطالعه ۴ ساله، صفت تولید عسل لاین *Pogórka* (Cb) و *Austrian* (Ca) زنبورهای کارنیولان را در منطقه شمال غربی اوپل بررسی کردند. مقایسه صفت تولید عسل در کلنی‌ها براساس میانگین میزان عسل جمع‌آوری شده توسط کلنی‌ها در دوره‌های شش‌هفته‌ای مختلف انجام شد که خیلی شبیه به روش نظری اعمال شده در تحقیق حاضر در ایران بوده است. میانگین چهار ساله تولید عسل کلنی‌های لهستان در دو لاین *Pogórka* و *Austrian* به ترتیب $1/72 \pm 15/3$ و $2/45 \pm 18/2$ کیلوگرم در کلنی بود. به‌طور کلی نتایج پژوهش این محققان نشان داد که کلنی‌های لاین *Austrian* به‌طور معنی‌داری از لحاظ این صفت برتر از لاین *Pogroska* می‌باشند. در پژوهش دیگری، پارابوکی و میکویچ (۱۳) بعد از انجام یک طرح اصلاح نژادی بلند مدت (۱۵ ساله)، با معرفی ملکه‌های اصلاح شده به کلنی‌های منطقه پامرانیا، به این نتیجه رسیدند که متوسط تولید عسل کلنی‌های منطقه بهبود یافته است که با نتایج این تحقیق حاضر مبنی بر بهبود و پیشرفت ژنتیکی صفت تولید عسل در ملکه‌های اصلاح شده ایرانی همخوانی دارد. لذا می‌توان با ادامه‌ی طرح نسبت به بهبود این صفت از طریق توزیع ملکه‌های برتر در لایه دوم و سوم در زنبورستان‌های بخش خصوصی امیدوار بود. ضریب وراثت‌پذیری تولید عسل در زنبورعسل صربستان 0.7679 ، در اتریش 0.27 ، در سوریه 0.27 ، در برزیل 0.16 و 0.36 گزارش شد (۳۶، ۳۳، ۳۹، ۷، ۳۳). تغییرات زیاد میزان وراثت‌پذیری صفت تولید عسل نژادهای مختلف زنبورعسل در مناطق مختلف دنیا را می‌توان به تأثیر تغییرات زیاد عوامل محیطی بر این صفت نسبت داد. بنابراین، تغییر در صفت مذکور در نتیجه انتخاب نیازمند صرف وقت و زمان طولانی می‌باشد و علاوه بر بهبود ژنتیکی باید شرایط محیطی را نیز در تغییر این صفت در نظر گرفت. با توجه به بهبود صفت تولید عسل در ملکه‌های اصلاح شده نسبت به ملکه‌های شاهد در مطالعه حاضر و همخوانی آن مطالعات صورت گرفته در داخل کشور و مطابقت با نتایج تحقیقات بلندمدت روی نژادهای کارنیولان و ایتالیایی و تولید هیبریدهای پر محصول از تلاقی لاین‌های متفاوت نژادهای مذکور، می‌توان استنباط کرد برنامه‌های اصلاح نژادی بلند مدت برای بهبود و افزایش معنی‌دار تولید عسل در زنبورعسل ایرانی نیاز است. لازم به ذکر است برای بهبود معنی‌دار این صفت باید از افزایش هموزیگوسیتی آلل‌های جنسی در کلنی‌های مورد مطالعه جلوگیری کرد زیرا این پدیده تأثیر مستقیمی بر کاهش جمعیت زنبورها و در نتیجه کاهش عملکرد کلنی‌ها بخصوص تولید عسل خواهد گذاشت. اگر چه تولید عسل تا حدود زیادی مربوط به خصوصیات ژنتیکی نژادی می‌باشد ولی رشد جمعیت و نوسانات آن در طول فصل و همچنین فاکتورهای محیطی نیز رابطه مستقیمی با تولید عسل سالانه کلنی دارند.

در مطالعه حاضر، رفتار دفاعی و آرامش روی قاب در ملکه‌های اصلاح شده در تمام سالهای مورد مطالعه در شرایط

مشابه را برای این صفت گزارش کردند.

نتیجه‌گیری کلی

کلنی‌های زنبورعسل کشور و حفظ یکی از ذخایر ژنتیکی ارزشمند کشورمان ضرورت دارد. بنابراین، با عنایت به برتری و پیشرفت‌های معنی‌دار در اکثر صفات مورد مطالعه در ملکه‌های اصلاح شده حاصل از طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی نسبت به ملکه‌های اصلاح نشده بومی، می‌توان استنباط کرد که زنبورعسل ایرانی از لحاظ ژنتیکی ظرفیت اصلاح را دارد. بنابراین، باید با اتخاذ راهبردهای اصولی ضمن حفظ برتری‌های به دست آمده در صفات بچه‌دهی، رفتار تهاجمی، آرامش روی قاب و زمستان‌گذرانی، باید در جهت سرعت بهبود صفت تولید عسل تلاش بیشتری کنیم و با فراهم کردن شرایط مطلوب برای مشارکت بخش خصوصی، زنبورداران برجسته و اتحادیه‌های زنبورداری کشوری و استانی در اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی و برای پایداری این فعالیت‌ها و حفظ یکی از ارزشمندترین ذخایر ژنتیکی کشور جهت گیری کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از تمامی همکاران موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، سازمان جهاد کشاورزی استان کردستان، تعاونی‌های زنبورداران و زنبورداران عزیز استان کردستان که در تمام مراحل انجام این پژوهش از هیچ گونه کمکی دریغ ننموده و همکاری لازم را به عمل آورده‌اند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

در مجموع، مقایسات ملکه‌های اصلاح شده طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی با ملکه‌های بومی اصلاح نشده در شرایط اقلیمی استان کردستان در سال‌های مختلف مطالعه حاضر نشان داد که ملکه‌های اصلاح شده زنبورعسل ایرانی در استان کردستان در بیشتر صفات مورد بررسی برتر از ملکه‌های شاهد بودند که در اکثریت موارد این برتری از نظر آماری معنی‌دار بود. با توجه به نتایج بدست آمده، در مجموع ملکه‌های حاصل از نسل ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸ و ۱۹ ام طرح کلان اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی در شرایط اقلیمی استان کردستان از لحاظ صفات رفتار تهاجمی، آرامش روی قاب، بچه‌دهی و زمستان‌گذرانی به‌طور معنی‌دار برتر از ملکه‌های بومی بوده‌اند. برتری و پیشرفت نسبی هم از لحاظ صفت تولید عسل در ملکه‌های اصلاح شده در تمام سالهای مورد مطالعه در مقایسه با ملکه‌های بومی در شرایط اقلیمی استان کردستان مشاهده شد ولی با توجه به وراثت پذیری پایین این صفت، در مجموع این برتری و پیشرفت معنی‌دار نبود. نتایج به دست آمده از این تحقیق و تحقیقات قبلی در مورد مقایسه ملکه‌های اصلاح شده طرح کلان زنبورعسل ایرانی و ملکه‌های بومی اصلاح نشده در زنبورستان‌های مناطق مختلف کشور نشان‌دهنده این مطلب است که اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی در جهت بهبود صفات هدف مؤثر بوده و استفاده از ملکه‌های اصلاح شده ایرانی در بالا بردن عملکرد

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات تولید عسل، بچه‌دهی، رفتار تهاجمی، آرامش روی قاب و زمستان‌گذرانی ملکه‌های اصلاح شده و شاهد شرایط اقلیمی استان کردستان براساس روش (Mean ± SD) LSD

Table 3. Average comparison of honey production, calmness, aggressive, swarming and overwintering traits of improved and control queens in climate condotions of Kurdistan province by LSD method (Mean ± SD)

| Overwintering زمستان‌گذرانی | Aggressive رفتار تهاجمی | Calmness آرامش روی قاب | Swarming بچه‌دهی | Honey Production تولید عسل | Groups/Queens گروه‌ها/ ملکه‌ها | Year سال |
|--------------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|-------------|
| 0.440 ± 0.29 ^b | 3.289 ± 0.11 ^a | 3.258 ± 0.14 ^{bc} | 0.845 ± 0.11 ^c | 12.289 ± 1.21 ^{de} | Improved queen ملکه اصلاح شده | 1396 |
| 0.398 ± 0.25 ^b | 2.956 ± 0.21 ^{bc} | 2.625 ± 0.13 ^e | 2.537 ± 0.24 ^a | 9.697 ± 2.1 ^f | Control شاهد | |
| 0.485 ± 0.24 ^{ab} | 2.929 ± 0.23 ^{bc} | 3.322 ± 0.22 ^b | 0.525 ± 0.23 ^d | 13.504 ± 1.11 ^c | Improved queen ملکه اصلاح شده | 1397 |
| 0.468 ± 0.27 ^{ab} | 2.562 ± 0.22 ^d | 2.672 ± 0.17 ^{de} | 0.808 ± 0.34 ^e | 9.920 ± 1.15 ^f | Control شاهد | |
| 0.576 ± 0.31 ^a | 3.158 ± 0.20 ^{ab} | 3.414 ± 0.31 ^b | 0.490 ± 0.22 ^d | 15.553 ± 1.1 ^a | Improved queen ملکه اصلاح شده | 1398 |
| 0.526 ± 0.21 ^{ab} | 2.808 ± 0.17 ^{dc} | 2.831 ± 0.27 ^{de} | 0.832 ± 0.32 ^e | 12.678 ± 1.3 ^{cd} | Control شاهد | |
| 0.583 ± 0.11 ^a | 3.368 ± 0.16 ^a | 3.558 ± 0.22 ^{ab} | 0.544 ± 0.79 ^d | 14.539 ± 1.61 ^b | Improved queen ملکه اصلاح شده | 1399 |
| 0.50 ± 0.29 ^b | 2.918 ± 0.24 ^{bc} | 2.940 ± 0.34 ^{cde} | 1.153 ± 0.16 ^b | 11.472 ± 1.22 ^e | Control شاهد | |
| 0.589 ± 0.11 ^a | 3.354 ± 0.24 ^a | 3.762 ± 0.14 ^a | 0.579 ± 0.22 ^d | 11.391 ± 1.14 ^e | Improved queen ملکه اصلاح شده | 1400 |
| 0.472 ± 0.19 ^b | 2.887 ± 0.25 ^c | 2.962 ± 0.25 ^{cd} | 1.045 ± 0.21 ^b | 9 ± 2.07 ^g | Control شاهد | |
| 0.565 ± 0.004 ^a | 3.250 ± 0.25 ^a | 3.463 ± 0.21 ^a | 0.653 ± 0.22 ^b | 13.585 ± 0.38 ^a | Improved queen ملکه اصلاح شده | Total |
| 0.503 ± 0.024 ^b | 2.856 ± 0.15 ^b | 2.806 ± 0.38 ^b | 1.331 ± 0.30 ^a | 11.423 ± 1.2 ^a | Control شاهد | |

منابع

1. Alemu, T., G. Legesse and Z. Ararso. 2014. Performance evaluation of honeybee (*Apis mellifera scutellata*) in Guji Zone. International Journal of Innovation and Applied Studies, 9(5): 2028-9324.
2. Basiri, M., N. Imam Juma, R. Ebadi and G. Tahmasebi. 1999. Investigation of biological traits and estimation of their genetic parameters in Iranian honey bee breed. Madras Agricultural Sciences, 1(2): 91-96 (In Persian).
3. Brascamp, E., A. Willam, C. Boignzahn, P. Bijma and R. Veekamp. 2016. Heritabilities and genetic correlations for honey yield, gentleness, calmness and swarming behaviour in Austrian honey bees. Apidologie, 47(6): 739-748.
4. Ebadi, R. and A.A. Ahmadi. 2017. Honey bee culture. Rah Nejat Printing Press, Isfahan, Iran. 565 pages (In Persian).
5. Farhangdost, A., M. Ghafari, A. Rahimi and A. Hashemi. 1400. Evaluation of sex alleles Homozigosity and study on their relationships with number of sex alleles, honey production and adult's population of honeybee colonies (*Apis mellifera meda*) in East Azerbaijan and Ardebil provinces. Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology), 35(2): 124-135 (In Persian).
6. Garcia, R., R. Oliveira, S. Camargo, B. Pires, O. Oliveira and R. Teixeira. 2011. Honey and propolis production, hygiene and defense behaviors of two generations of Africanized honey bees. Scientia Agricola, 70(2): 74-81.
7. Haiduck, A., A. Sattler, J. Cobuci and C. McManus. 2013. Genetic parameters for five traits in Africanized honey bees using Bayesian Inference. Genetics and Molecular Biology, 36: 207-213.
8. Hamed, R., and Rahimi, A. 2022. Performance evaluation of improved queens of Iranian honey bees in private apiaries in Alborz province. Research Project, Animal Science Research Institute of IRAN (ASRI): 45 pp (In Persian).
9. Jevtic, G., B. Anelkovic, Z. Lugic, J. Radovic and B. Dinic. 2012. Heritability of production characteristic of regional population of honeybees from Serbia. Genetica, 44(1): 47-54.
10. Karimi, A. 2022. Performance evaluation of improved queens of Iranian honey bees in private apiaries in Shiraz province. Research Project, Animal Science Research Institute of IRAN (ASRI): 45 pp (In Persian).
11. Kozmus, P. 2015. Breeding and selection activities for Carniolan honeybee (*Apis mellifera carnica*) in Slovenia. 44th Apimondia International Apicultural Congress, 148-130 pp, Deajeon, Korea.
12. MeshaiKhi, N. 2018. Evaluation of the performance of modified honey bee queens in private apiaries (third layer) in Qazvin province. Research Project, Animal Science Research Institute of IRAN (ASRI): 43 pp (In Persian).
13. Parabucki, J. and C.H. Mickiewicz. 1998. Results of the middle European bee improvement in western Pomerania. Folia Universitatis Agriculture Stetinensis Zootechnica, 36: 27-37.
14. Poklukar, J. and I. Kezi&jadnr. 1994. Estimation of heritability of some characteristics of hind legs and wings of honeybee workers (*Apis mellifera carnica* Polm) using the half-sib's method. Apidologie, 25: 3-11.
15. Rahimi, A., A. Mirmoayedi, D. Kahriz, L. Zarei and S. Jamali. 2022. Molecular genetic diversity and population structure of Iranian honey bee (*Apis mellifera meda*) populations: Implications for breeding and conservation. Journal of Plant diseases and protection, 129(4): 1-12.
16. Rahimi, A. 2022. Performance evaluation of improved queens of Iranian honey bees in private apiaries in Kurdistan province. Research Project, Animal Science Research Institute of IRAN (ASRI): 49 pp (In Persian).
17. Rahimi, A., A. Mirmoayedi, D. Kahriz, L. Zarei and S. Jamali. 2021. Genetic diversity evaluation of Iranian honeybee (*Apis mellifera meda*) populations based on PCR -RFLP marker analyses. Iranian Genetics Society, 16(3): 219-233 (In Persian).
18. Rahimi, A., A. Mirmoayedi, D. Kahriz, L. Zarei and S. Jamali. 2020. Phylogenetic relationship study of Iranian subspecies honeybee with other honeybee subspecies using morphological and molecular markers. Animal Science Journal, 32(123): 323-334 (In Persian).
19. Rahimi, A., A. Mirmoayedi, D. Kahriz, L. Zarei and S. Jamali. 2018. Genetic variation in Iranian honeybees, *Apis mellifera meda* Skorikow, 1829, (Hymenoptera: Apidae) inferred from RFLP analysis of two mtDNA regions (COI and 16S rDNA). Sociobiology, 65(3): 482-490.
20. Rahimi, A. 2015. Genetic diversity and phylogenetic relationships of Iranian honeybees using morphological and molecular markers. PhD thesis, Razi University, Kermanshah, Iran, 325 pp (In Persian).
21. Rahimi, A., M. Asadi and R. Abdolshahi. 2014. Genetic diversity of honey bee (*Apis mellifera meda*) populations using microsatellite markers in Jiroft. Iranian Honey bee science and Technology, 6: 26-33 (In Persian).
22. Rahimi, A., M. Miromayedi, D. Kahrizi, R. Abdolshahi, E. Kazemi and K.H. Yari. 2014b. Microsatellite genetic diversity of *Apis mellifera meda* Skorikov. Molecular and Biology Reports, 41: 7755-7761.

23. Rahimi, A., M. Asadi and K. Nabati. 2010. Sex alleles homozygosity percent of honey bee colonies (*Apis mellifera meda*) (Hymenoptera: Apidae) in Kurdistan province (West of Iran). *Nature Montenegro*, 10: 183-185.
24. Rahimi, A. and A. Mirmoayedi. 2013. Evaluation of morphological characteristics of honey bee *Apis mellifera meda* (Hymenoptera: Apidae) in Mazandaran (North of Iran). *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, 3: 1280-1284.
25. Roman, A., E. Popiela-Pleban and K. Roman. 2014. Evaluation of the functional characteristics of selected breeding lines of Carniolan bees (*Apis mellifera carnica*). *Scientific Annals of Polish Society of Animal Production*, 10: 35-47.
26. Tahmasebi, G., D. Wajaq, R. Ebadi and M. Akhundi. 2018. Use of electrophoretic properties of thorax proteins in the separation of Iranian honey bee populations. *Agricultural Sciences and Techniques and Natural Resources*, 4(3): 97-104 (In Persian).
27. Tahmasebi, G., M. Kamali, R. Ebadi, M. Babaei, M. Rezaei, D. Javahri and J. Sotoudeh. 2017. Evaluation of production and behavioral characteristics of modified Iranian honey bee colonies *Apis mellifera meda* and its comparison with control colonies and *Apis mellifera carnica* under Iranian conditions. *Iranian Honey Bee Science and Technology*, 1: 10-15 (In Persian).
28. Tahmasebi, G., M. Babaei, N. Tajabadi, A. Saifi, N. Meshayekhi and H. Rezazadeh. 2016. The performance of improved honey bee colonies obtained from the thirteenth generation of Iranian queens and control colonies in different apiaries of Iran. *Journal of Animal Production*, 19(4): 729-750 (In Persian).
29. Tahmasebi, G., M. Kamali, R. Ebadi, A. Nejatijavarami, D. Javahri, M. Babaei, M. Jamshidi, M. Akif and N. Tajabadi. 2010. Comparison of modified queens in the central region of Iran with control queens in different apiaries of Tehran, Markazi, Qazvin and Isfahan provinces. *Animal Science Journal*, 1: 31-39 (In Persian).
30. Tahmasebi, G. 1996. Morphological and biochemical study of honey bee populations in Iran. PhD thesis in agricultural entomology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. 249 pp (In Persian).
31. Usefi, J., M. Mokhber, A. Hashemi and A. Rahimi. 2021. Homozygosity of Sex Determination Locus and Its Correlation with Population and Honey Production of Honeybee (*Apis mellifera meda*) Populations in West - Azerbaijan and Kurdistan Provinces. *Research on Animal Production*, 12(32): 131-139 (In Persian).
32. Yarahamdi, S., S. Mirai Ashtiani, R. Ebadi and G. Tahmasebi. 2001. Phenotypic correlation between nine morphological traits and three production traits in the population of honey bees in Tehran province. *Agricultural Sciences and Techniques and Natural Resources*, 5(2): 157-168 (In Persian).
33. Zee, R., R. Brodschneider, V. Brusbardis, J. Charrière, R. Chlebo, M. Coffey, B. Dahle and M. Drazic. 2014. Results of international standardised beekeeper surveys of colony losses for winter 2012-2013: analysis of winter loss rates and mixed effects modelling of risk factors for winter loss. *Journal of Apicultural Research*, 53: 19-3.



Comparative Evaluation of Performance for Improved Iranian Honey Bee queens (*Apis mellifera meda* Skorikov 1929) in the Climate Conditions of Kurdistan Province

Ataollah Rahimi¹, Gholamhosein Tahmasebi², Hamid Reza Bahmani³, Saleh Salehi³, Badradin Zare⁴, Abdulsatar Parsanaseb⁴ and Banak Rokhzad⁴

-
- 1- Assistant professor, Animal Science Research Department, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Sanandaj, Iran, (Corresponding author: ata.rahimi@areeo.ac.ir)
 - 2- Professor, Honey Bee Research Department, Animal Science Research of Iran, Agricultural Research Education and Extension Organization, Karaj, Iran
 - 3- Assistant professor, Animal Science Research Department, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Sanandaj, Iran
 - 4- Researcher, Animal Science Research Department, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Sanandaj, Iran
- Received: 7 September, 2022 Accepted: 18 December, 2022
-

Extended Abstract

Introduction and Objectives: The use of improved queens with desirable functional and behavioral traits is one of the most important factors of success in beekeeping. The current study was conducted with the aim of evaluating the performance of improved Iranian honey bee queens with control ones in the private apiaries of Kurdistan province during 2017 to 2021.

Material and Methods: In this study, the queens of the third layer, which were the result of the improved queens of the Iranian honey bee breeding project, along with unimproved native queens (as control) were evaluated in six private apiaries of Kurdistan province based on honey production, calmness, aggressive, swarming, and overwintering traits. To evaluate the queens, special questionnaires were designed and provided to the beekeepers to evaluate the improved queens along with the control ones in their private apiary during the years of the study.

Results: Variance analysis results showed that the effect of the queen was significant at the 1% probability level on all studied traits. The effect of year was significant at the 1% probability level on honey production and swarming traits and on calmness on the frame trait at the 5% probability level, but it had no effect on the overwintering trait. Also, the effect of the city was significant on swarming trait ($p < 0.01$). The interactions effect of queen type – year and year-city were significant for the trait of swarming and honey production traits at the 1 and 5 % probability level, respectively. The results of the present study showed that the colonies with improved queens were significantly superior to the colonies with native queens in terms of calmness on the frame, aggressive, swarming and overwintering traits ($p < 0.05$). An acceptable relative superiority and progress were observed in terms of honey production trait in the improved queens in all the studied years compared to native queens, but this superiority and progress was not significant due to the low heritability of this trait.

Conclusion: In general, the results of this study showed the progress and improvement of the target traits and the superiority of improved Iranian honey bee queens compared to unimproved native queens in the climate conditions of Kurdistan province. Considering the superiority and significant improvements in the majority of studied traits in the improved queens of the Iranian honey bee breeding project, it can be concluded that the Iranian honey bee can improve genetically. Therefore, in the continuation of this research, it is suggested to deal with the new problems of the beekeeping industry through more efforts towards the genetic stabilization of resulting improvements, preventing the homozygosity of sex alleles (which has a direct effect on reducing the performance of the colonies) and also using new breeding methods.

Keywords: Aggressive behavior, Calmness behavior, Honey production, Improved Iranian honey bee queens, Kurdistan, Swarming



"مقاله پژوهشی"

کمی سازی تاثیر تغییر اقلیم بر تولید شیر در یکی از دامداری های صنعتی در بابلسر

شمیمه شیخی ارجنکی^۱، مهدی نادى^۲، جواد رحمانى نیا^۳ و بهروز محمدنظرى^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد هواشناسی کشاورزی، گروه مهندسی آب، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- استادیار، گروه مهندسی آب، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران، (نویسنده مسوول: mehdi.nadi@gmail.com)

۳- استادیار، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۴- کارشناس وزارت جهاد کشاورزی، معاونت امور دام، مرکز اصلاح نژاد و بهبود تولیدات دامی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۲

صفحه: ۱۱۲ تا ۱۲۰

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: باور عمومی دانشمندان این است که دخالت های انسان موجب تغییراتی در شرایط اقلیمی شده و این تغییرات در آینده نیز شایان توجه خواهد بود. هرگونه تغییر قابل ملاحظه در اقلیم می تواند بر تولید شیر دامداری های صنعتی اثر بگذارد.

مواد و روش ها: در این پژوهش ابتدا سطوح مختلف تنش دما-رطوبت (THI) تحلیل و سپس کمی سازی تأثیر آن بر تولید شیر در یکی از دامداری های صنعتی در شهر بابلسر انجام گرفت. در ادامه با استفاده از مدل SDSM شاخص THI تا سال ۲۱۰۰ ریزمقیاس سازی شده و با استفاده از آن تأثیر تغییر اقلیم بر تولید شیر تا انتهای قرن حاضر در سه سناریو انتشار RCP2.6، RCP4.5 و RCP8.5 کمی سازی شد.

یافته ها: نتایج نشان داد ایستگاه بابلسر در شرایط فعلی ۵ ماه از سال درگیر تنش دما-رطوبت بوده که تا انتهای قرن حاضر این تعداد به ۷ ماه از سال افزایش می یابد. البته در آینده نزدیک (تا قبل سال ۲۰۵۰) شرایط تنش دمایی اختلاف زیادی با دوره پایه ندارد، اما پس از آن حتی در سناریوی RCP2.6 نیز اختلافات با دوره پایه افزایش چشمگیری خواهد داشت و هم به لحاظ شدت، کلاس های تنش شدیدتری به وقوع خواهد پیوست. در نتیجه در روزهای بیشتری از سال، دام های سنگین دچار تنش رطوبت-دما خواهند شد. کمی سازی تأثیر تنش دما-رطوبت بر تولید شیر نشان داد که به ازای افزایش ۱ واحد THI روزانه بیشتر از ۷۰، تولید شیر هر دام ۳۲۷ گرم کاهش می یابد. بررسی روند میزان کاهش تولید شیر در آینده نشان داد که تا سال ۲۱۰۰ کاهش تولید شیر نه تنها در ماه های بیشتری از سال به وقوع می پیوندد بلکه مقدار ضرر روزانه دامداران نیز افزایش می یابد. به طوری که در ماه های دارای تنش مقدار کاهش روزانه تولید از ۱ الی ۲ کیلوگرم به ازای هر دام در دوره پایه به ۱/۵ الی ۲/۵ کیلوگرم افزایش می یابد. فلذا، ضرر ناشی از تنش دمایی در اثر تغییر اقلیم بر تولید کنندگان شیر حداقل ۴۵ و حداکثر بیش از ۱۰۰ درصد افزایش خواهد یافت.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج این تحقیق، شرایط تنش اضطرابی در انتهای قرن حاضر به وقوع خواهد پیوست که کاهش شدید تولید شیر را به همراه خواهد داشت. فلذا در صورت عدم اتخاذ سیاست های سازگاری با تغییر اقلیم در آینده ممکن است مرگ و میر گسترده دام های سنگین در ماه های بحرانی سال به خصوص ماه های تیر و مرداد رخ دهد که این یک زنگ خطر جدی برای صنعت دامپروری استان مازندران خواهد بود.

واژه های کلیدی: تغییر اقلیم، تنش دما-رطوبت، گاو شیری، مازندران، THI

مقدمه

مشکلاتی بر بازده تولید مثلی، برنامه های مدیریت و سلامت می شود به طوری که در مطالعه ای در آمریکا زیان اقتصادی ناشی از استرس گرمایی در صنعت گاو شیری سالیانه ۹۰۰ میلیون دلار تخمین زده شده است (۴). تنش دمایی-رطوبتی یکی از مشکلات عمده در دامداری هاست و هر ساله زیان های قابل توجهی را به تولیدات این صنعت بخصوص در مناطق بسیار گرم و مرطوب وارد می سازد. با تغییر اقلیم حاضر و افزایش گرمایش جهانی، این معضل جدی تر خواهد شد و خسارات بیشتری به صنعت دامپروری وارد خواهد ساخت. با توجه به رخداد تغییرات اقلیمی و گرم شدن تدریجی کره زمین احتمال وقوع استرس گرمایی در گاوهای شیری در دهه های آتی افزایش خواهد یافت. برای بررسی تأثیر تنش دما-رطوبت بر عملکرد گاوهای شیری از شاخص THI استفاده می شود. مطالعات انجام شده در زمینه تنش دما-رطوبت، بیشتر بر نوسانات این شاخص متمرکز بوده و ارتباط این شاخص با داده های تولید شیر، کمتر مورد توجه قرار گرفته است. شیخی و همکاران (۱۲) نوسانات مکانی شاخص THI در استان مازندران را بررسی نمودند و دریافتند ارتفاعات استان مازندران فاقد تنش دمایی بوده اما مناطق جلگه ای در دسته هشدار و خطر هستند. همچنین مناطق شرق استان نسبت به مناطق غربی تنش دمایی بیشتری را تجربه می کند. در تحقیقی دیگر شیخی و همکاران (۱۱) تغییرات شاخص THI تا انتهای قرن حاضر را تحلیل نموده و گزارش نمودند که در نیمه دوم قرن

عملکرد دامها تحت تأثیر رابطه بین ژنوتیپ و محیط آن هاست و لذا استفاده از اطلاعات آب و هوایی و اقلیمی اهمیت ویژه ای در مدیریت گله دارد (۱۵). حیوانات یک محدوده تحمل دمایی محیطی برای حفظ عملکرد و سلامت دارند که اصطلاحاً آستانه دمایی طبیعی نامیده می شود. گاوهای شیری پرتولید به دلیل انتخاب و اصلاح در جهت افزایش عملکرد تولیدی، نیازمند دریافت خوراک بیشتر و جیره هایی غنی تر از مواد مغذی برای تداوم تولید می باشند و لذا سوخت و ساز بیشتری نسبت به دام های کم تولید دارند و این امر حساسیت این حیوانات را نسبت به تنش های مختلف بالاخص تنش دما-رطوبت بیشتر می نماید. اگر دمایی محیط از حد معینی بالاتر رود، دیگر حیوان قادر نخواهد بود به راحتی گرمای درونی خود را دفع نماید. گاوها در شرایط تنش دمایی باید انرژی بیشتری برای حفظ سوخت و ساز طبیعی و تولید صرف کنند و در نتیجه این انرژی مازاد بر سایر فرایندهای سوخت و سازی و عملکردی دام تأثیر نامطلوب خواهد گذاشت (۵). تنش گرمایی به صورت مجموعه عوامل خارجی (دما، رطوبت، تابش خورشید و سرعت باد) که سبب افزایش دمایی بدن نسبت به دمایی مطلوب می گردد تعریف می شود و دارای اثرات زیان آوری بر تولید شیر، تولید مثل و سلامتی گاوهای شیری است. استرس گرمایی نه تنها از راه افت تولید و افت کیفیت شیر بر درآمد تولیدکننده تأثیر می گذارد بلکه سبب بروز

کردند و دریافتند در قبال یک واحد افزایش شاخص دما-رطوبت روزانه در مقادیر بیشتر از ۶۹، کاهش ۴۱۰ گرم شیر به ازای هر گاو را به همراه خواهد داشت. در آمریکا ماجر و همکاران (۸) در بررسی تأثیر تغییر اقلیم بر میزان تولید شیر نتیجه گرفتند که اقلیم‌های گوناگون تأثیرهای قابل توجهی بر شیر دارند، به طوری که در آخر قرن ۲۱ میزان کاهش تولید شیر تحت تأثیر اقلیم در مقیاس سالیانه در واشنگتن در حدود ۰/۴ درصد و در فلوریدا در حدود ۲۵ درصد نسبت به میانگین دوره پایه (۱۹۹۹-۱۹۵۰) کاهش خواهد یافت و به طور میانگین در کل کشور، در آخر قرن ۲۱ این تأثیر در حدود ۶/۳ درصد نسبت به میانگین دوره پایه کاهش پیدا خواهد کرد. سین‌ها و همکاران (۱۴) با بررسی اثر تغییرات اقلیمی بر زادآوری و تولید دام در هند به این نتیجه رسیدند که گرمایش جهانی موجب افزایش شاخص THI با شدت‌های مختلف و در نتیجه تأثیرات سوء بر تولید و نرخ باروری دام‌ها شده است. بر اساس یافته‌های این تحقیق، تولید لبنیات در این کشور در چشم‌انداز آینده به شدت در معرض تهدید بوده و اتخاذ راهبردهای مدیریتی از جمله اصلاح دام، مدیریت تغذیه و تلقیح مصنوعی به منظور تعدیل اثرات نامطلوب تنش گرمایی پیشنهاد گردید. بررسی منابع موجود داخلی و خارجی نشان می‌دهد در ایران بررسی نوسانات THI در دوره حال و آینده در برخی اقلیم‌ها انجام شده و همچنین در زمینه ارتباط بین این شاخص و تولید شیر نیز مطالعاتی انجام شده اما تا کنون مطالعه‌ای در زمینه کمی‌سازی تأثیر تغییر اقلیم بر تولید شیر انجام نشده است. با توجه به وضعیت موجود در خصوص وقوع تغییر اقلیم و افزایش گرمایش جهانی، وقوع تنش گرمایی و کاهش تولید شیر در آینده اجتناب ناپذیر خواهد بود که این موضوع خسارات فزاینده‌ای به صنایع دامی وارد خواهد نمود. با توجه به اهمیت دام‌داری های صنعتی در تأمین شیر مورد نیاز استان مازندران و عدم اطلاع از رابطه تولید شیر و تنش دمایی، بررسی تأثیر تغییر اقلیم بر افزایش سطوح تنش دمایی و میزان کاهش تولید شیر، اهمیتی حیاتی در مدیریت دام‌داری‌های صنعتی دارد.

مواد و روش‌ها

شهر بابلسر در منطقه ساحلی استان مازندران و در ارتفاع ۲۱- متر (۲۱ متر پایینتر از سطح دریا‌های آزاد) واقع شده و دارای اقلیم مرطوب معتدل است. مقدار میانگین درازمدت دما و بارش سالانه این شهر به ترتیب ۱۷/۸ درجه سانتی‌گراد و ۹۳۹ میلی‌متر است. به دلیل کم ارتفاع بودن آن، فصل تابستان دارای آب و هوای گرم و مرطوب بوده و زمستان‌های معتدل و مرطوب را تجربه می‌کند و به‌ندرت دچار یخبندان می‌شود (۱۰).

شاخص تنش دما-رطوبت

با توجه به اینکه افزایش هم‌زمان دما و رطوبت منجر به بروز شرایط شرجی می‌شود که بر تولید شیر گاو تأثیر منفی دارد، برای بررسی تنش دما-رطوبت از شاخصی به نام THI^۱ استفاده می‌شود. این شاخص توسط یوسف (۱۹) طبق رابطه ۱ ارائه شد.

۲۱ شرایط تنش دما-رطوبت تشدید خواهد شد و احتمالاً سطوح بی‌سابقه‌ای از تنش دمایی در سواحل استان مازندران رخ خواهد داد که منجر به مرگ و میر دام‌های سنگین خواهد شد. با توجه به تأثیر اصلی تنش دمایی بر تولید شیر، درک رابطه دقیق کاهش تولید شیر با افزایش تنش گرمایی و تعیین حد آستانه کاهش عملکرد اهمیت بسیار زیادی در کمی‌سازی میزان خسارت این تنش دارد. همچنین با توجه به افزایش دما و وقوع تغییر اقلیم، درک تغییرات شاخص THI در دهه‌های پیش رو در مدیریت دام‌داری‌ها بسیار حائز اهمیت است درباره تأثیر تغییر اقلیم بر شاخص THI عسگری و همکاران (۱) نقشه فصلی پهنه‌های تنش را تا پایان سال ۲۱۰۰ در گستره ایران در سناریوهای مختلف ترسیم کردند و نشان دادند در آینده مساحت نواحی مناسب پرورش دام در فصول بهار و تابستان کاهش می‌یابد. تقوی و همکاران (۱۶) در مطالعه‌ای به تحلیل دوره‌های بحرانی آب و هوایی در مدیریت گاوهای شیری شمال شرق ایران با استفاده از شاخص دمایی رطوبتی (THI) پرداختند. نتایج نشان داد که از نظر آماری تغییرات این شاخص روند ثابتی در طول سال داشت. تنش گرمایی علاوه بر تأثیر بر تولید شیر بر عملکرد تولید مثلی گاوهای شیری پرتولید هم تأثیر گذار است (۲۰). در زمینه بررسی تأثیر تنش دما-رطوبت بر تولید شیر چندین مطالعه در ایران انجام شده که می‌توان به تحقیق قوی حسین زاده و همکاران (۶) اشاره کرد که اثر تنش دما-رطوبت بر عملکردهای تولیدی و تولید مثلی گاوهای هلشتاین در ایران مورد بررسی قرار گرفته است. در این بررسی، شاخص THI بر حسب شدت به ۶ طبقه مختلف تقسیم گردید و گزارش شد که در طبقات بالای تنش، نه‌تنها مقدار تولید شیر بلکه چربی شیر نیز کاهش می‌یابد. همچنین نرخ آبستنی گاوهای متولد شده در تابستان کمتر از سایر فصول بود. در مطالعه‌ای دیگر مهاجرپور و همکاران (۹) در بررسی این شاخص در یک دام‌داری در مشهد نشان دادند که همبستگی معنادار منفی بین داده‌های روزانه تولید شیر و THI در فصل تابستان وجود دارد. همچنین در طی دوره آماری مورد بررسی (۱۳۹۲-۱۳۸۶)، ضرر دام‌داری تولید کننده شیر در اثر تنش دما-رطوبت حدوداً ۴۰۱ تن در ۷ سال برآورد گردید. کیمیا و همکاران (۷) در تحقیقی به برآورد فراسنجه‌های ژنتیکی تولید شیر گاوهای هلشتاین ایران در شرایط استرس گرمایی با استفاده از روش آماری بیزی پرداختند و دریافتند نقطه آستانه شروع کاهش تولید شیر در شاخص THI در مقادیر بیشتر از ۷۲ به وقوع می‌پیوندد. ساورسقلی و بهلولی (۱۳) به بررسی تأثیر شاخص THI بر تولید شیر و درصد چربی شیر گاوهای هلشتاین در اقلیم مدیترانه‌ای پرداختند و دریافتند افزایش THI تأثیر معنادار منفی بر مقدار شیر و درصد چربی آن دارد. در بررسی مطالعات خارجی، برمن و همکاران (۲) همبستگی بین دمای سطح بدن گاو و میزان تولید شیر را بررسی نمودند. نتایج این مطالعه نشان داد با افزایش دمای سطح بدن گاو تولید شیر به‌صورت نمایی کاهش می‌یابد که نشان از همبستگی منفی میان تولید شیر و دمای سطح بدن گاو است. بورچک و همکاران (۳) همبستگی منفی بین تولید شیر روزانه و شاخص دما-رطوبت گزارش

طبق جدول ۱ تعریف می شود. در این تحقیق داده های روزانه تولید شیر از یک واحد گاوداری شیری صنعتی جمع آوری شده توسط مرکز اصلاح نژاد و بهبود تولیدات دامی کشور در نزدیکی شهر بابلسر تهیه شد. همچنین برای محاسبه شاخص تنش دما-رطوبت از داده های روزانه ایستگاه هواشناسی سینوپتیک بابلسر استفاده شد.

$$THI = Td + 0.36TdP + 41.2 \quad (1)$$

در این معادله Td دمای هوا و TdP دمای نقطه شبنم است که از داده های ایستگاه هواشناسی نزدیک به دامداری مورد نظر (ایستگاه سینوپتیک بابلسر) استفاده می شود. بر مبنای این شاخص ۳ سطح مختلف تنش دما-رطوبت بر دام های سنگین شامل تنش هشدار، خطر و اضطرابی و یک سطح بدون تنش

جدول ۱- طبقه بندی سطوح مختلف تنش بر مبنای شاخص THI

| Stress type نوع تنش | No stress غیر تنش | Alarm هشدار | Danger خطر | Emergency اضطرابی |
|-------------------------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|
| THI range محدوده THI | <70 | 71 - 77 | 78-83 | >83 |

روز آزمون های کمتر از ۵ و بیشتر از ۳۰۵ روز حذف شدند. برای مطالعه معنی داری عوامل مؤثر بر تولید، اثرات سال-ماه-تعداد دوشش (Year-Month-Milking Freq)، سن زایش، روزهای شیردهی و شاخص THI با روش آنالیز واریانس و مدل های خطی عمومی بررسی شدند. با توجه به اثر معنی دار شاخص THI، از یک مدل ترکیبی خطی شامل اثر منحنی شیردهی حیوان و اثر کواریت شاخص THI برای بررسی تأثیر تنش گرمایی بر روی تولید روز آزمون دام ها استفاده شد. تابع علی و شفر به منظور در نظر گرفتن منحنی شیر و مدل سازی رگرسیون ثابت در مدل استفاده گردید. پارامترهای رگردهای روز آزمون با استفاده از PROC MIXED در نرم افزار SAS9.2 با رابطه ۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{hymf}_i + \text{ca}_j + \text{THI}_k + b\varphi_t + c\varphi_t^2 + d\omega_t + e\omega_t^2 + e_{ijk} \quad (2)$$

که در آن عبارت است از مشاهده روز آزمون در k امین شاخص THI، در j امین سن زایش در i امین گروه گله-سال-ماه-تعداد دوشش، μ میانگین کلی، hymf_i اثر کواریت ثابت گله-سال-ماه-تعداد دوشش، ca_j ، j امین اثر کواریت، سن زایش، THI_k ، k امین شاخص THI به عنوان اثر کواریت، b ، c ، d و e عبارتست از ضرایب رگرسیون ثابت مرتبط با عوامل تابع علی و شفر در روز شیردهی t ، و e_{ijk} اثر تصادفی باقیمانده یاسته تصادفی می باشد.

نتایج و بحث

با توجه به هدف تحقیق در بررسی تأثیر تغییر اقلیم بر تغییرات نمایه THI ابتدا متغیرهای پیش بینی کننده مؤثر در تخمین شاخص THI توسط مدل SDSM انتخاب شدند. از بین ۲۶ متغیر پیش بینی کننده مورد بررسی، شاخص THI با میانگین فشار سطح دریا رابطه منفی و با ارتفاع ژئوپتانسیل ۵۰۰ هکتوپاسکال، رطوبت ویژه نزدیکی سطح و میانگین دمای در ارتفاع ۲ متری سطح زمین رابطه مثبت داشت. همچنین مقدار ضریب تبیین معادله رگرسیون خطی چندگانه (r^2) ۰/۷۵ بدست آمد. مقدار خطای اربیبی ریزمقیاس نمایی نزدیک به صفر بدست آمد و مقدار میانگین مربعات خطا نیز کمتر از ۵ واحد بدست آمد. به علاوه در شکل (۱) مقادیر واقعی و برآوردی شاخص THI و رابطه رگرسیونی برآزش یافته بر داده های ایستگاه بابلسر در دوره پایه نشان داده شده و با خط ۱:۱ ($Y=X$) مقایسه شد که نتایج مقایسه بین

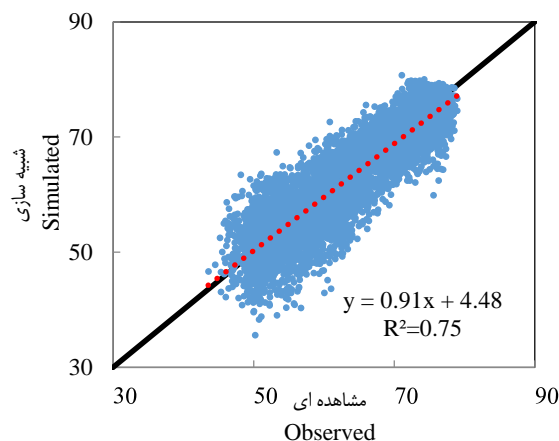
پیش نگرى شاخص THI

مدل های گردش عمومی آتمسفر فرایندهای فیزیکی را بر اساس معادلات پایه حاکم بر جو در رزولوشن های متفاوت و در سطوح مختلف جوی محاسبه می کنند. برای کاربردی نمودن این داده ها در مطالعات تغییر اقلیم نیاز به ریزمقیاس سازی و کاهش مقیاس داده ها است. یکی از مدل های مشهور و مورد استفاده محققین برای ریزمقیاس سازی خروجی مدل های بزرگ مقیاس مدل SDSM است. این مدل ارتباط پیش بینی کننده ها و پیش بینی شونده ها را بر اساس روش رگرسیون خطی چندگانه برقرار می کند (۱۸). برای این منظور در رابطه رگرسیون خطی چند گانه از بین ۲۶ متغیر آتمسفری NCEP، متغیرهایی که بیشترین همبستگی و پایین ترین واریانس خطا را دارند، به عنوان متغیرهای مستقل برای ریزمقیاس نمایی انتخاب می شوند (۱۷). در این تحقیق از برون داد مدل گردش عمومی Had CM3 در سه سناریو ۲/۶، ۴/۵ و ۸/۵ استفاده شد و برای ریزمقیاس نمایی داده ها از مدل SDSM استفاده شد. سپس نتایج هر سناریو در سه دوره زمانی (۲۰۲۶-۲۰۵۰)، (۲۰۵۱-۲۰۷۵) و (۲۰۷۶-۲۱۰۰) تحلیل شد در ادامه سطوح تنش دما-رطوبت از دوره آماری پایه تا سال ۲۱۰۰ بر اساس جدول ۱ تعیین شد.

مدل سازی تأثیر THI بر تولید شیر

عملکرد دام به دلیل تعاملات پیچیده بین حیوان و محیط، تحت تأثیر عناصر مختلف قرار می گیرد. شرایط اقلیمی قادر است بر آسایش و عملکرد تولیدی در گونه های مختلف دام تأثیر بگذارد. در گاوهای شیری، افزایش دمای محیط در طول فصول گرم بر سوخت و ساز و همچنین عملکرد تولیدی و تولیدمثلی حیوان تأثیر می گذارد. حتی برخی از محققان تغییرات فصلی را در تغییر عملکرد و ترکیب شیر گزارش نموده اند به گونه ای که کاهش قابل توجهی در تولید شیر، پروتئین و چربی در گاوهای هلشتاین در تابستان در مقایسه با فصل بهار گزارش کردند. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر شاخص دما و رطوبت (THI) بر صفت تولید شیر در منطقه مورد بررسی است. محاسبه THI برای هر روز سال و در مختصات ویژه مزرعه دامپروری توسط فرمول استاندارد انجام شد. تعداد ۶۱۸۷ رکورد روز آزمون تولید شیر جمع آوری شده توسط مرکز اصلاح نژاد و بهبود تولیدات دامی کشور حاصل از ۷۶۳ رأس گاو شکم اول از گله ای در نزدیکی شهر بابلسر در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. پس از ویرایش داده ها،

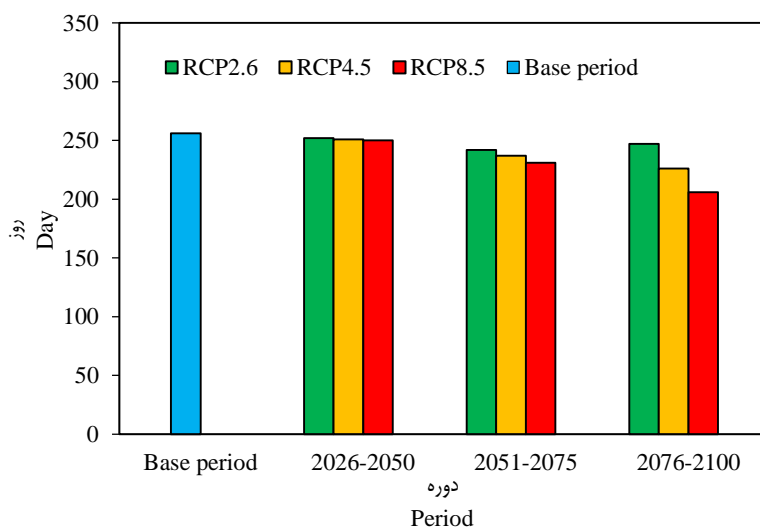
داده‌های مشاهده‌ای و شبیه‌سازی شده حاکی از ریزمقیاس‌سازی خوب این شاخص توسط مدل SDSM است.



شکل ۱- مقایسه THI مشاهده‌ای و شبیه‌سازی شده در دوره پایه
Figure 1. Comparison of observed and simulated THI in the base period

تغییرات تعداد روزهای فاقد تنش دما-رطوبت در سه دوره آینده و سه سناریو به همراه دوره پایه در شکل ۲ نشان داده شده است.

تأثیر تغییر اقلیم بر شاخص THI
با توجه به اهمیت روزهای بدون تنش دما-رطوبت ($THI < 70$) برای دام‌های شیری و از طرفی احتمال کاهش آن به دلیل افزایش دمای ناشی از تغییر اقلیم در آینده، لذا



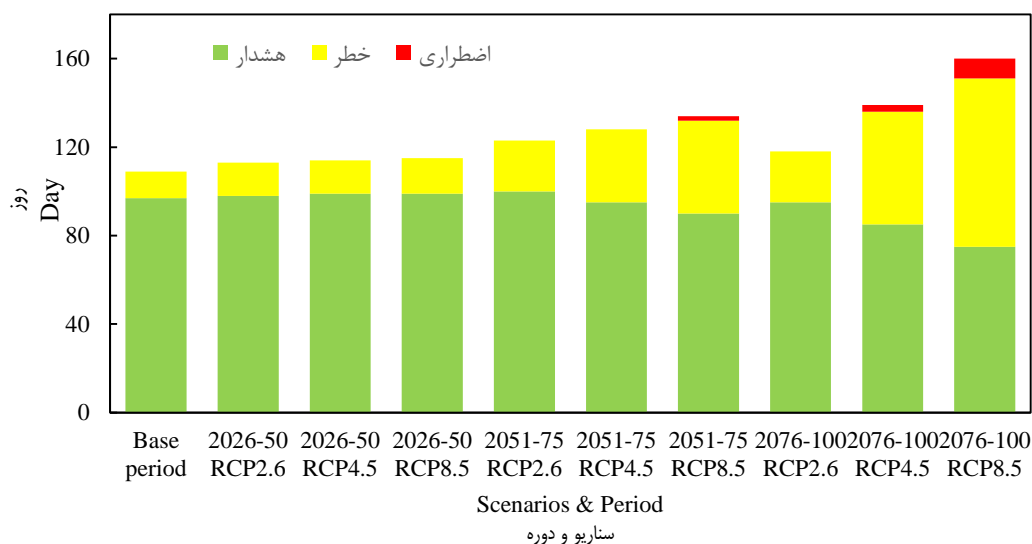
شکل ۲- تعداد روزهای فاقد تنش در سال در دوره‌های پایه و آینده
Figure 2. The number of stress-free days per year in the base and future periods

نسبت به دوره پایه را نشان می‌دهد. در شکل ۳، روزهای همراه با سطوح مختلف تنش هشدار، خطر و اضطراری نشان داده شده است. نتایج این شکل حاکی از آن است که در آینده نه تنها به مجموع تعداد روزهای همراه با تنش در بابلسر اضافه می‌شود بلکه سطوح شدیدتری از تنش دمایی به وقوع خواهد پیوست و از تعداد روزهای تنش هشدار کم شده و سطوح شدیدتر تنش مانند تنش خطر و اضطراری افزایش می‌یابد. مثلاً سطح تنش اضطراری که در دوره پایه تاکنون

بررسی و تحلیل این شکل به خوبی نشان می‌دهد تا انتهای قرن حاضر تعداد روزهای فاقد تنش در همه سناریوها و دوره‌ها کاهش است مثلاً در دوره پایه ۲۵۸ روز از سال فاقد تنش بوده که در سناریو خوشبینانه (RCP2.6)، دوره زمانی اول ۴ روز و در دوره دوم و سوم به ترتیب ۱۳ و ۱۸ روز از تعداد روزهای فاقد تنش نسبت به دوره پایه کاسته خواهد شد. البته کمترین روزهای فاقد تنش در این ایستگاه مربوط به دوره سوم سناریو بدبینانه (RCP8.5) بوده که کاهش ۴۸ روزه

همچنین نشان می دهد چنانچه شرایط انتشار گازهای گلخانه ای کنترل گردد (RCP2.6) در ربع آخر قرن حاضر شاهد کاهش تعداد روزهای همراه با تنش خواهیم بود که این نتیجه در شکل ۲ نیز به خوبی مشخص شده که تعداد روزهای فاقد تنش در سناریو خوشبینانه دوره سوم افزایش می یابد.

ثبت نشده اما در نیمه دوم قرن ۲۱ به وقوع پیوسته و در ربع انتهایی قرن حاضر تشدید خواهد شد. بطوریکه تا سال ۲۱۰۰ به طور میانگین حدود ۹ روز از سال دچار شرایط اضطراری خواهد شد. البته بنظر می رسد در نیمه اول قرن ۲۱ این سطح تنش مخرب که منجر به مرگ و میر دامهای سنگین می شود به وقوع نخواهد پیوست اما در ربع آخر قرن شاهد رخداد آن خواهیم بود. البته نتایج این شکل در مورد سناریوی خوشبینانه

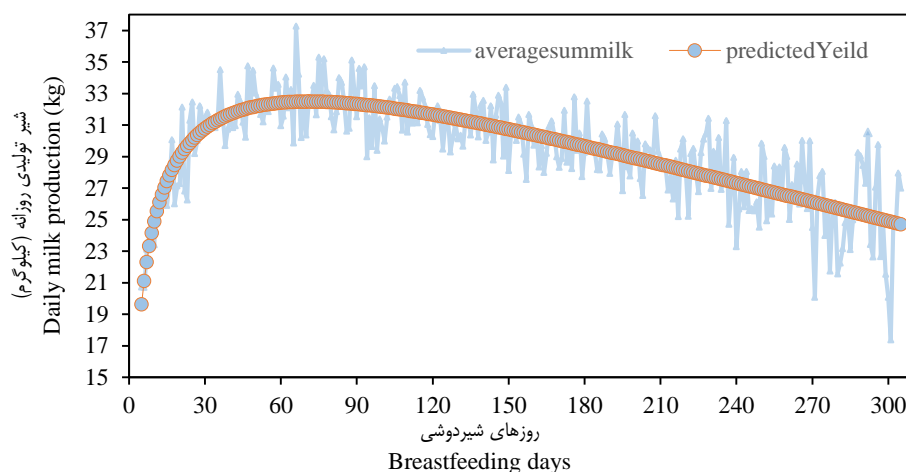


شکل ۳- تعداد روزهای دارای سطوح مختلف تنش سالانه در دوره پایه و آینده در سناریوهای مختلف
Figure 3. The number of days with different levels of annual stress in the base and future periods in different scenarios

۷۰ بود گزینش و مدل سازی روی آن انجام شد. نتایج نشان داد که تغییرات THI بر عملکرد روزانه دامها معنی دار بوده و با حذف سایر اثرات به ازای افزایش ۱ واحد THI بیشتر از ۷۰، و رابطه بین شاخص THI و مقدار تولید طبق معادله ذکر شده، با افزایش هر واحد THI، روزانه ۳۲۷ گرم تولید در دام کاهش می یابد. مقادیر برآوردی تولید در روز آزمونهای مختلف با استفاده از پارامترهای تابع مورد استفاده (علی و شفر) محاسبه و با مقادیر تولید حقیقی مقایسه گردیدند (شکل ۴). لذا می توان به وضوح مشاهده نمود که این مقدار کاهش در سطح یک دامداری صنعتی با چند صد رأس گاو دوشا با احتساب قیمت روز شیر چه میزان زیان هنگفتی را به اقتصاد دامدار تحمیل خواهد نمود.

کمی سازی تأثیر شاخص THI بر تولید شیر

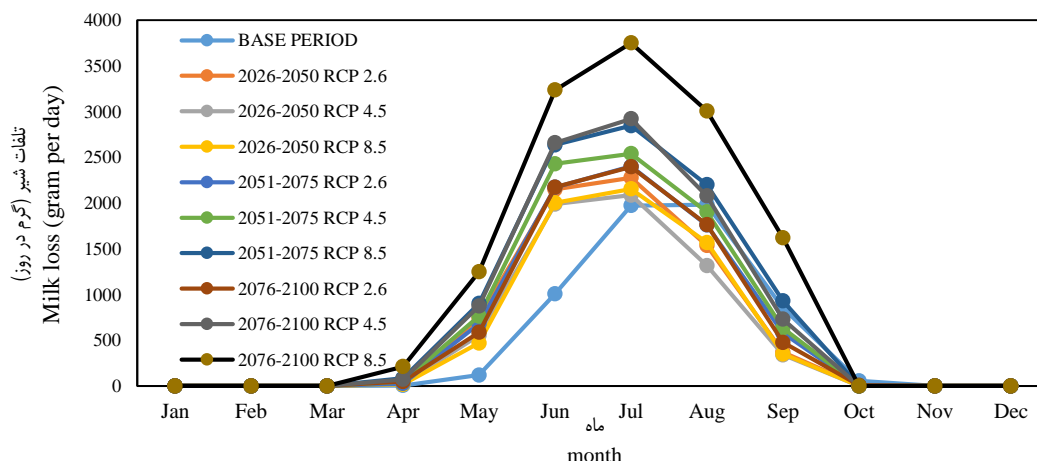
برای بررسی تأثیر تنش دمایی بر روی تولید روز آزمون دامها پس از بررسی معنی داری اثرات مختلف مؤثر بر تولید شیر از قبیل اثر ترکیبی سال-ماه-تعداد دوشش، سن زایش، روزهای شیردهی و شاخص THI با روش آنالیز واریانس، از یک مدل ترکیبی خطی شامل اثر منحنی شیردهی حیوان و اثر کواریت THI استفاده شد. تابع علی و شفر (علی و شفر، ۱۹۸۷) به منظور در نظر گرفتن منحنی شیر در مدل استفاده شد. واحد میزان افت عملکرد به صورت روز*گاو/گرم محاسبه شد که این میزان برای یک دام در یک روز از ماه است. با توجه به این که افت تولید شیر برای مقادیر شاخص THI بیشتر از ۷۰ رخ می دهد، روزهایی که میزان THI آن بیشتر از



شکل ۴- منحنی تولید شیر واقعی و پیش‌بینی شده
Figure 4. Real and predicted milk production curve

گرم در روز کاهش عملکرد تولید شیر رخ خواهد داد که در مجموع ماه جولای به طور متوسط در یک دامداری ۱۰۰۰ رأسی روزانه ۲/۲۷۶ تن کاهش تولید شیر به وقوع خواهد پیوست.

در شکل ۵ میزان افت تولید شیر در دامداری شهر بابلسر به تفکیک ماهانه در دوره پایه و سه سناریو و سه دوره نشان داده شده است. به عنوان مثال در دوره زمانی اول در بازه زمانی ۲۰۲۶ تا ۲۰۵۰ سناریو RCP2.6 در ماه جولای ۲۲۷۶



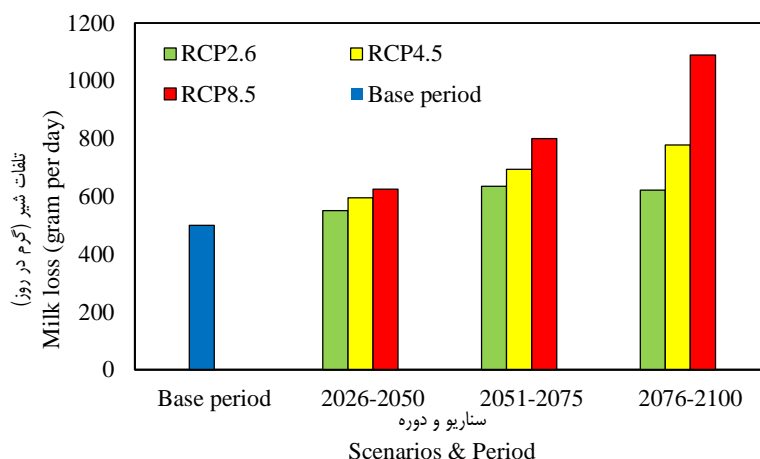
شکل ۵- میزان کاهش در عملکرد ماهانه تولید شیر در دامداری ۸۷۵۰
Figure 5. The rate of reduction in monthly milk yield production in 8750 livestock farms

و آگوست (تیر و مرداد) رخ خواهد داد. به علاوه نتایج نشان می‌دهد بیشترین میزان افت تولید شیر در کل دوره‌های مورد بررسی، در ماه جولای (تیر ماه) دوره سوم (۲۰۷۵-۲۰۷۶) تحت سناریو RCP8.5 به وقوع خواهد پیوست که در طی آن افت تولید شیر به ۳۷۵۰ گرم در روز برای هر دام می‌رسد که نسبت به دوره پایه در این ماه (۱۹۷۲ گرم در روز) بیش از ۹۰ درصد ضرر تولید کننده افزایش خواهد یافت. به منظور آگاهی از تأثیر تغییر اقلیم بر متوسط افت شیر در شکل ۶ میزان کاهش تولید شیر در دوره پایه و آینده در سناریوهای مختلف در بابلسر ترسیم شد که بررسی این شکل نشان می‌دهد در همه دوره‌ها و سناریوها ضرر ناشی از افزایش تنش دمایی افزایشی بوده اما بنظر ضرر تولید کننده در دوره اول کمتر بوده

بررسی شکل ۵ نشان می‌دهد که میزان افت تولید شیر در ماه‌های پرتنش مانند جولای و آگوست از مقدار تقریبی ۱۹۸۰ گرم در روز برای هر گاو در دوره پایه تا مقدار ۲۸۵۰ در دوره دوم (۲۰۷۵-۲۰۷۶) افزایش می‌یابد که حکایت از رشد تقریبی ۴۴ درصدی ضرر تولید کننده در دوره ۲۰۷۵-۲۰۵۱ در اثر تغییر اقلیم دارد. همچنین شکل ۵ نشان می‌دهد در آینده بخصوص دوره سوم و سناریو RCP8.5 نه تنها ماه‌های بیشتری دچار کاهش تولید شیر خواهند شد بلکه میزان افت تولید شیر شدت بیشتری خواهد داشت و با رسیدن به ماه‌های گرم سال مانند ماه‌های جون، جولای و آگوست (خرداد-مرداد) در تمامی دوره‌ها در هر سه سناریو میزان تولید شیر افت خواهد کرد و بیشترین میزان افت عملکرد در ماه جولای

می دهد. همچنین این شکل نشان می دهد در صورت لحاظ نمودن سیاست های زیست محیطی (سناریو خوشبینانه RCP2.6) در دوره اول و دوم ضرر ناشی از استرس دمایی افزایشی بوده اما از دوره سوم به بعد ضرر تولید کنندگان شیر کاهش خواهد یافت.

و در دوره سوم بیشترین ضرر متوجه دامدار خواهد شد به طوریکه مقدار کاهش شیر تولیدی در دوره پایه به طور میانگین ۵۰۰ گرم در روز بوده که در سناریو RCP8.5 دوره سوم تقریباً به ۱۱۰۰ گرم در روز می رسد که در مجموع رشد ۱۲۰ درصدی ضرر تولید کننده را نسبت به دوره پایه نشان



شکل ۶- میزان کاهش تولید شیر در دوره های پایه و آینده در سناریوهای مختلف
Figure 6. The rate of reduction of milk production in the base and in the future periods in different scenarios

ماه جولای (تیرماه) مقدار ضرر روزانه دامدار به ازای هر ۱۰۰۰ راس دام دوشا از مقدار تقریبی ۲ تن در روز در شرایط فعلی به بیش از ۳/۷۵ تن در روز می رسد. به طور کلی نتایج این تحقیق بیانگر امکان افزایش ۱۰۰ درصدی ضرر دامداران صنعتی نسبت به دوره پایه خواهد بود. مشابه نتایج این تحقیق، ماجر و همکاران (۲۰۱۵) کاهش تولید شیر تحت تأثیر اقلیم در آخر قرن ۲۱ در فلوریدا آمریکا را حدود ۲۵ درصد نسبت به میانگین دوره پایه (۱۹۹۹-۱۹۵۰) برآورد کردند. نکته قابل توجه از نتایج این تحقیق این است که در صورت لحاظ نمودن سیاست های زیست محیطی و کاهش گازهای گلخانه ای (سناریو RCP2.6) در دوره سوم شاهد بهتر شدن اوضاع و کاهش ضرر تولید کنندگان شیر در منطقه خواهیم بود. با توجه به نتایج پیش نگری شاخص THI، شرایط اضطراری که منجر به مرگ و میر دام های سنگین می شود، در انتهای قرن حاضر به وقوع خواهد پیوست که در صورت عدم رعایت سیاست های سازگاری با تغییر اقلیم و اصلاح تغذیه دام و یا تغییر مکان دامداری ها به مناطق کوهپایه و معتدل، در آینده شاهد روزهای همراه با شرایط اضطراری و مرگ و میر گسترده دام های سنگین در ماه های بحرانی سال به خصوص ماه ژوئیه خواهیم بود.

تشکر و قدردانی

از اداره کل هواشناسی استان مازندران بابت در اختیار نهادن داده های هواشناسی و همچنین از مرکز اصلاح نژاد و بهبود تولیدات دامی کشور در تأمین اطلاعات مربوط به تولید شیر در یکی از دامداری های صنعتی واقع در شهرستان بابلسر کمال تقدیر و تشکر را داریم.

نتیجه گیری کلی

افزایش دمایی ناشی از تغییر اقلیم انسان ساخت باعث افزایش تعداد روزهای گرم سال و ایجاد تنش در دام های سنگین می شود. بر اساس نتایج این تحقیق شاخص تنش دما-رطوبت در حال افزایش است که منجر به درگیری تعداد روزهای بیشتری از سال به تنش دمایی می شود به طوریکه تا پایان سال ۲۱۰۰ روزهای آسایش و بدون تنش دام های سنگین در طول سال تا ۴۸ روز امکان کاهش خواهد داشت. به علاوه به نظر می رسد در آینده سطوح شدیدتری از تنش دمایی به وقوع خواهد پیوست و جایجایی سطح تنش از هشدار به خطر و از خطر به شرایط اضطراری به وقوع خواهد پیوست که ممکن است به مرگ و میر دام های سنگین منجر شود. همچنین در دوره زمانی پایه ایستگاه بابلسر در ۵ ماه از سال درگیر تنش دمایی بوده که تا انتهای قرن حاضر به ۷ ماه از سال افزایش می یابد. حذف سایر متغیرهای تأثیرگذار بر داده های تولید شیر و تحلیل تأثیر خالص تنش دما-رطوبت بر تولید شیر نشان داد به ازای افزایش ۱ واحد THI بیشتر از ۷۰ در شهر بابلسر عملکرد هر دام ۳۰۰ گرم کاهش می یابد که بورچک و همکاران (۲۰۰۹) این مقدار را ۴۱۰ گرم به ازای هر دام برآورد کردند. کمی سازی تأثیر تغییر اقلیم بر تولید شیر نیز حاکی از کاهش زیاد شیر تولیدی در آینده است. مثلاً در شرایط فعلی (دوره پایه) معمولاً کاهش تولید در ماه های جون تا سپتامبر (خرداد-شهریور) به وقوع می پیوندد که هر دام بین ۱ الی ۲ کیلوگرم در روز کاهش تولید شیر دارد اما در آینده در ماه های فصل بهار مانند ماه می (نیمه دوم اردیبهشت ماه) نیز تولید شیر کاهش خواهد یافت و دست کم در ۵ ماه از سال هر دام بین ۱/۵ الی ۳ کیلوگرم در روز کاهش تولید شیر را تجربه خواهد نمود. همچنین در ایام اوج تنش دما-رطوبت در

منابع

1. Asgari, S., N. Ghahreman and I. Babaeian. 2017. Quantifying the possible impacts of climate change on temperature-humidity index, (THI) under RCP scenarios across Iran. *Journal of climate research*, 8(31-32): 1-18 (In Persian).
2. Berman, A., Y. Folman, M. Kalm, M. Mamen, Z. Hery, D. Wolfenson, A. Ariell and Y. Graber. 1985. Upper critical temperatures and forced ventilation effect, for high yielding dairy cows in a subtropical environment. *Journal of Dairy Science*, 68: 1488-1495.
3. Brouček, J., P.A.V.E.L. Novák, J. Vokřálová, M. Šoch, P. Ki sac, and M. Uhrinčat'. 2009. Effect of high temperature on milk production of cows from free-stall housing with natural ventilation. *Slovak Journal of Animal Science*, 42: 167-173.
4. Collier, R.J., G.E. Dahl and M.J. Vandal. 2006. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89: 1244-1253.
5. Dashti, H., A. Riasi, M. Idris, Gh. Ghorbani and H. OmidiMirzaei. 2016. The effect of temperature-humidity index in both summer and winter on the performance of some reproductive characteristics of high-yielding lactating cows. *Iranian Journal of animal science*, 47(2): 321-327 (In Persian).
6. Ghavi Hossein-Zadeh, N., A. Mohit and N. Azad. 2013. Effect of temperature-humidity index on productive and reproductive performances of Iranian Holstein cows. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 14(2): 106-112 (In Persian).
7. Kimiya, M., M. Ghaffari and A. hashemi. 2020. Estimation of genetic parameters of milk production trait in Iranian Holsteins in heat stress condition using Bayesian method. *Iranian Veterinary Journal*, 15(4): 100-109 (In Persian).
8. Mauger, G., Y. Bauman, T. Nennich and E. Salathé. 2015. Impacts of climate change on milk production in the United States. *The Professional Geographer*, 67(1): 121-131.
9. Mohajerpour, M., A. Alizadeh, M. Mousavie Baygani, A. Naserian and M. Shakeri. 2018. Determining the most appropriate index for estimating heat-moisture stress on daily milk production in a large industrial farm in Mashhad. *Iranian Journal of Animal Sciences Research*, 9(4): 507-516 (In Persian)
10. Nadi, M. and M. Dastigerdi. 2022. Preparation of Mazandaran climate map by extended De Martonne climate classification method. *National Conference on Environmental Change using Remote Sensing Technology and GIS, Sari, Iran* (In Persian).
11. Sheikhi Arjanki, S., M. Nadi, J. Rahmaninia and B. Mohammad Nazari. 2021. Climate change impacts on temperature-humidity index, (Case Study: Ramsar and Babolsar stations). *Journal of Agricultural Meteorology*, 9(2): 39-47 (In Persian).
12. Sheikhi, Sh., M. Nadi and A. Yousefi. 2019. Spatial analysis of heat-humidity index using GIS in Mazandaran province. *Third Iranian Hydrology Conference, University of Tabriz, Tabriz* (In Persian)
13. Savar sofla, S. and M. Bohlouli. 2019. Investigation of genetic trend of Holstein dairy cattle production in a function oft-humidity i using random regression model. *Research on Animal Production*, 10(24): 93-102.
14. Sinha, R., A. Ranjan, S. Lone, A. Rahim, I. Devi and S. Tiwari. 2017. The Impact of climate change on livestock production and reproduction: Ameliorative management. *International Journal of Livestock Research*, 7(6): 1-8.
15. Taghavi, H and A. Naserian. 2012. Study of the trend of humidity-temperature index (THI) in northeastern Iran as an indicator of heat stress in dairy cows. *Fifth Iranian Congress of Animal Sciences, Isfahan University of Technology, Esfahan* (In Persian).
16. Taghavi, H., A. Naserian, and R. Valizadeh. 2014. Determination of climate critical periods in management of dairy cows in northeast of Iran using temperature humidity index (THI). *Iranian Journal of Animal Science Research*, 6(4): 295-303 (In Persian).
17. Tourini, N. and M.R. Hessami Kermani. 2011. Forecasting maximum, minimum and mean temperature by use of nero-fuzzy algorithm in kerman station. *5th National conference on Watershed Management and soil and water Resources*. 1-13. Kerman, Iran (In Persian).
18. Wilby, R.L., C.W. Dawson and E.M. Barrow. 2011. SDSM- A decision support to for the assessment of regional climate change impacts. *Journal of Environmental Modeling and Software*, 17: 147-159.
19. Yousef, M.K. 1985. *Stress Physiology in Livestock*. 2nd edn., CRC Press, Florida, USA, 277 pp.
20. Zhandi M, Towhidi A, Zare-Shahneh A, Khodaei Motlagh M, Deldar H, Akhlaghi A. 2011. Effect of insulin like growth factor-1 on developmental competence of bovine embryos produced from heat-stressed oocytes in in vitro culture medium. *Research on Animal Production*, 2(4): 35-47.

Quantifying the Impact of Climate Change on Milk Production in One of Industrial Livestock Farms in Babolsar

Shamimeh Sheikhi Arjanki¹, Mehdi Nadi², Javad Rahmaninia³ and Behrouz Mohammad Nazari⁴

1- M.Sc. Graduated of Agrometeorology, Department of water engineering, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

2- Assistant professor, Department of water engineering, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural sciences and Natural Resources University, Sari, Iran, (Corresponding author: mehdi.nadi@gmail.com)

3- Assistant Professor, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

4- Expert of the Ministry of Agriculture - Jihad, Deputy of Livestock Affairs, Animal Breeding and Productions Improvement Center, Karaj, Iran

Received: 27 December, 2022 Accepted: 1 February, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: The scientists believe that human intervention has caused changes in climate conditions and these changes will be noteworthy in the future. Any significant change in climate variables can affect the milk production of industrial livestock farms.

Material and Methods: In this research, the effect of temperature-humidity Index (THI) on milk production in Babolsar city was quantified, and then, using the SDSM model, the THI index was downscaled to the year 2100. Finally, the effect of climate change on milk production until the end of current century in three emission scenarios of RCP2.6, 4.5, and 8.5 were quantified.

Results: The results showed that in the current situations, Babolsar station has been involved in temperature-humidity stress for 5 months of the year, which will increase to 7 months by the end of this century. Also, the results showed that in near future (before 2050) the stress condition is not much different from the base period, but after that, even in RCP2.6 scenario, the differences with the base period will increase significantly, and the most intensity of stress level will occur. As a result, on more days of the year, heavy livestock will experience temperature-humidity stress. Quantification of the effect of temperature-humidity stress on milk production showed that for increase of one unit of daily THI more than 70, the milk production of each animal decreases by 327 grams. The investigation of milk reduction trend in the future showed that until the year 2100, not only the milk production will decrease in more months of the year, moreover, the daily losses of livestock farmers also increase. so that in the stressful months, the daily milk reduction from 1 to 2 kg per animal in base period, will increase to 1.5 to 3.5 kg. So, the losses caused by climate change on milk producers will increase by at least 45 and at most more than 100 percent.

Conclusion: According to the results of this research, the stress level of emergency will occur in the last decades of this century, which will lead to a sharp decrease in milk production. Therefore, if adaptation policies to climate change are not considered in the future, there may be happens widespread deaths of heavy livestock especially in critical months of July and August, which is a serious alarm for livestock industry of the Mazandaran province.

Keywords: Climate change, Dairy cows, Mazandaran, Temperature-humidity stress, THI



"مقاله پژوهشی"

پوشش ژنومی برای شناسایی رشته‌های هموزیگوت و ژن‌های موجود در این نواحی در ژنوم گوسفندان بومی ایرانی

عباس میرزاپور آبی‌بگلو^۱، نعمت هدایت^۲، رضا خلخالی ایوریک^۳، رضا سیدشیرینی^۴ و حسین عبدی‌بنمار^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، (نویسنده مسؤل: nheadayat@uma.ac.ir)
۳- پژوهشگر، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۴- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۴ صفحه: ۱۲۱ تا ۱۳۰

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: گوسفند یکی از مهم‌ترین حیوانات مزرعه ای با توانایی در سازگاری به اقلیم‌های متفاوت به شمار می‌رود و در ایران نیز از تنوع نژادی زیادی برخوردار است. در نتیجه‌ی انتخاب‌های مکرر، برخی نواحی ژنومی خلوص بالایی به خود می‌گیرند که رشته‌های هموزیگوت مشترک (ROH) نامیده می‌شوند. با بررسی این نواحی در ژنوم گوسفندان می‌توان هدف‌های انتخاب در این نژادها را دنبال و ژن‌های موجود در این نواحی را شناسایی نمود.
مواد و روش‌ها: برای این منظور، داده‌های ژنومی ۲۸ نمونه از گوسفندان ایرانی شامل نژادهای افشار، قزل، قره‌گل، مغانی، ماکویی، بلوچی، خاکستری و شال، از پایگاه داده NCBI دریافت شد. پس از بررسی کیفی و تصحیح داده‌ها، خوانش‌های باکیفیت بالا توسط نرم‌افزار BWA به ژنوم مرجع گوسفند هم‌تراز شد و سپس وارینت‌ها شناسایی و فیلتر شدند. با استفاده از نرم‌افزار VCFtools، فایل VCF با محتوی اطلاعات مرتبط با SNPها تولید شد. سپس رشته‌های هموزیگوت استخراج شده و در نهایت ژن‌های موجود در این نواحی شناسایی شدند.

یافته‌ها: براساس نتایج PCA، نمونه‌های مربوط به نژادهای ایرانی، به سه گروه تقسیم‌بندی شدند. گروه اول شامل نژادهای قره‌گل و بلوچی (KB)، گروه دوم شامل نژادهای مغانی و ماکویی (MM) و گروه سوم شامل نژادهای شال، افشاری، قزل و خاکستری (SGAG) بودند. طبق نتایج این آنالیز، در هر یک از جمعیت‌های KB، MM و SGAG به ترتیب ۴۱۹ (۵۲/۳۷۵ ناحیه به ازای هر فرد)، ۱۳۹ (۲۳/۱۷ ناحیه به ازای هر فرد) و ۸۷۶ (۶۲/۵۷ ناحیه به ازای هر فرد) ناحیه ROH شناسایی شدند. علاوه بر این، ۶ و ۱۷ رشته‌ی هموزیگوت مشترک (حداقل دو نمونه)، به ترتیب در جمعیت‌های KB و SGAG شناسایی شدند، در حالی که در جمعیت MM هیچ ناحیه ROH مشترکی شناسایی نشد. پس از شرح‌نویسی ROHهای مشترک، به ترتیب ۹۹ و ۱۷۳ ژن کدکننده‌ی پروتئین در داخل این مناطق ژنومی برای جمعیت‌های KB و SGAG شناسایی شدند. نتایج آنالیز ژن آنولوژی نشان داد که اغلب این ژن‌ها در مسیر و فرآیندهایی مانند متابولیسم انرژی و چربی (FLCN، ELOVL3، STK3، SREBF1 و NCOR1) و همچنین رشد و نمو بافت عضلانی و کیفیت گوشت (MYL6) و TMD1) دخیل هستند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، می‌توان گفت که سطح بالایی از تنوع و آمیختگی در نژادهای گوسفند بومی ایران وجود دارد. از این ظرفیت ویژه در نژادهای گوسفند بومی می‌توان در زمینه اهداف اصلاح نژادی مختلف و تولید نژادهایی با سطح تولید مناسب استفاده کرد. از طرف دیگر، ژن‌های کاندید شناسایی شده در این تحقیق نیز زمان دست‌یابی به اهداف اصلاحی در این نژادها را شتاب می‌بخشند.

واژه‌های کلیدی: رشته‌های هموزیگوت، کیفیت گوشت، متابولیسم انرژی

مقدمه

گوسفند از جمله نشخوارکنندگانی است که به‌منظور دستیابی به اهداف چندگانه نظیر تولید گوشت، شیر و پشم، فرآیند اهلی‌سازی روی آن اتفاق افتاده است. گوسفند به‌دلیل برخوردار بودن از قدرت زیستی مناسب در زیست‌بوم‌های متنوع و سازگاری با شرایط محیطی سخت، حیوان بسیار مناسبی جهت پرورش به شمار می‌آید (۱۷). ایران به این دلیل که جزء کشورهای با آب و هوای گرم و خشک طبقه‌بندی می‌شود، خاستگاه بسیاری از نژادهای گوسفندی امروزی بوده (۴۶) و شامل اکوتیپ‌ها و نژادهای بسیار متنوعی است که برخی به‌صورت طبیعی و برخی با دخالت انسان به این محیط سخت سازگار شده‌اند. تنوع آب و هوایی و وضعیت‌های اجتماعی مختلف در سطح کشور ایران منجر به تشکیل ۲۷ اکوتیپ و نژاد گوسفند بومی شده است (۴۲). گوسفندان ایرانی اغلب چندمنظوره بوده و معمولاً تولیدات گوشت و شیر قابل قبولی دارند. قره‌گل، افشاری، مغانی، ماکویی، شال، قزل، خاکستری و بلوچی از جمله‌ی این ژنوتیپ‌ها به شمار می‌روند که هر کدام در شرایط جغرافیایی و اقلیمی خاصی پرورش داده می‌شوند. نحوه‌ی نامگذاری بیشتر نژادهای ایرانی براساس خاستگاه جغرافیایی و قبیله‌ی پرورش‌دهنده‌ی آن‌ها بوده و براساس صفات ظاهری و عملکردهای تولیدمثلی

طبقه‌بندی می‌شوند (۳۹). خزانه‌ی ژنی نژادهای گوسفند ایرانی بسیار غنی بوده و این گونه‌ی حیوانی به لحاظ ژنتیکی از تنوع بسیار بالایی برخوردار است. جهت حفظ این میزان از تنوع و ارتقای کیفیت هر کدام از صفات مهم اقتصادی، بایستی برنامه‌ریزی‌های دقیق پرورشی و اصلاح‌نژادی طراحی نموده و تبعیت از آن‌ها را در دستور کار خود قرار دهیم (۳۸). با پیشرفت تکنولوژی‌های نسل جدید در توالی‌یابی و همچنین افزایش سطح دسترسی به آن‌ها، بیشتر برنامه‌های اصلاح نژادی امروزی بر پایه‌ی نتایجی است که از کارهای تحقیقاتی صورت گرفته توسط این ابزارها روی ژنوم موجودات مختلف، به‌دست می‌آیند (۴۱). امروزه داده‌های ژنوم کامل گوسفند در دسترس بوده و به واسطه‌ی این ابزارهای پیشرفته، آنالیزهای گوناگونی روی آن انجام می‌گیرد (۷). ژنوم موجودات مختلف حاوی اطلاعاتی است که استفاده صحیح از آن‌ها، بستر مناسبی را برای شناخت ظرفیت‌های آن‌ها در جهت بهبود عملکرد، فراهم می‌کند. همین امر ضرورت رمزگشایی اطلاعات ژنومی موجودات مختلف را آشکار می‌سازد. مناطق ژنومی که تحت تاثیر انتخاب‌های پیوسته طبیعی یا مصنوعی (توسط انسان) قرار می‌گیرند، ردی از خود بر روی ژنوم جای می‌گذارند که با انجام برخی تجزیه و تحلیل‌های مناسب می‌توان به شناسایی آن‌ها پرداخت. در

تحت تاثیر قرار می‌دادند. در مطالعه‌ی دیگری که به همین ترتیب روی سویه‌های گوشتی گوسفندان تجاری انجام گرفت، مناطق ژنومی حامل ژن‌هایی شناسایی شدند که اغلب روی صفاتی نظیر رنگ پوست، اندازه‌ی بدن و شکل ماهیچه‌ها اثرگذار بودند (۳۶). تجزیه و تحلیل رشته‌های هموزیگوت گونه‌های دیگری مانند گاو (۱۸)، اسب (۲۹) و شتر (۱۶) منجر به شناسایی ژن‌های کاندید و اثرگذار شده و اطلاعات اصلاحگران ژنتیکی را در زمینه‌ی حیوانات مزرعه بالا برده است. با شناسایی ژن‌های کاندید موجود در نواحی ROH گوسفندان ایرانی، می‌توان زمینه‌های انتخاب در آن‌ها را یافت و در جهت بهبود صفات مرتبط با ژن‌های یافت شده، دست به کارهای اصلاحی زد. هدف از انجام این مطالعه، شناسایی و بررسی ROH‌های مربوط به هشت نژاد گوسفند بومی ایرانی با استفاده از داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم بود. گام بعدی، شناسایی ژن‌های موجود در این نواحی شناسایی شده می‌باشد که شرح‌نویسی آن‌ها، اطلاعات عملکردی ارزشمندی در زمینه‌ی توانایی‌ها و عملکردهای نژادهای ایرانی می‌دهد. علاوه بر این، نمونه‌های مربوط به هشت نژاد مورد مطالعه، در سه گروه کلاس‌بندی شده و به مقایسه آنها پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری داده‌ها

داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم ۲۸ نمونه گوسفند بومی ایرانی شامل پنج نمونه از هر یک از نژادهای قره‌گل پنج و افشاری و سه نمونه به ازای هر یک از نژادهای مغانی، ماکویی، شال، قزل، خاکستری و بلوچی، از بخش SRA سایت NCBI انتخاب و سپس دانلود شدند. در جدول ۱، لیست همه‌ی کدهای دسترسی برای ۲۸ نمونه‌ی مورد استفاده در این مطالعه ارائه گردیده است.

این مناطق ژنومی می‌توان گستره‌هایی از جایگاه‌های هموزیگوت با طول‌های مختلف را مشاهده کرد که معمولاً میزان تنوع نوکلئوتیدی در آن‌ها بسیار پایین است. به این مناطق با خلوص ژنتیکی بالا، رشته‌های هموزیگوت^۱ (ROH) گفته می‌شود. این مناطق بخش‌های به هم‌پیوسته‌ای از قطعات هموزیگوت ژنوم هستند که در آن‌ها دو هاپلوتیپ به ارث رسیده از والدین، به‌دلیل وجود یک جد مشترک در شجره‌ی آن‌ها، مشابه یکدیگر می‌باشند (۳۶). طول ROH‌ها هرچه‌قدر بیشتر باشد احتمال اینکه همخونی در شجره‌ی جمعیت در گذشته‌های نزدیک رخ داده باشد بالاست و سخت بتوان این قطعات هاپلوتیپ را از هم جدا کرد. به همین دلیل، ROH معیار مناسبی برای پیش بینی میزان همخونی کل ژنوم در نظر گرفته می‌شود (۱۹). گاهی مناطق ROH، شامل ژن‌هایی است که روی برخی صفات فنوتیپی تاثیر مثبت یا منفی می‌گذارند. وجود ROH در تعداد قابل توجهی نمونه‌ی آزمایشی می‌تواند بیانگر حضور یک نیروی انتخابی در مورد صفتی خاص در گذشته‌ی دور یا نزدیک یک جمعیت باشد که چنین آلل‌های مفیدی را در جمعیت تثبیت کرده‌اند (۱۷). با بررسی دقیق این مناطق ژنومی که میزان تنوع ناچیزی دارند، می‌توان به وجود انتخاب پی برده و با شناسایی ژن‌ها یا QTL‌های مرتبط با این نواحی در جهت افزایش کارآمدی صفات مهم اقتصادی که در ارتباط با آن نواحی هستند، دست به کار اصلاح‌نژادی زد (۳۶). بر این اساس، برای بررسی توزیع رشته‌های هموزیگوت و شناسایی نشانگرهای انتخابی، چندین مطالعه روی حیوانات مزرعه انجام گرفته است. رابیول ایسلام و همکاران (۱۵) از قطعات ROH جهت بررسی ترکیب جمعیتی و شناسایی ژن‌های کاندید در شش بز چینی استفاده کردند. در همین راستا ۵۴ جایگاه خالص که حامل ۸۶ ژن کاندید بودند، شناسایی شد که غالباً صفات تولیدمثلی را جدول ۱- کد دسترسی توالی‌ها در هر یک از نژادهای گوسفند

Table 1. Accession number of sequencing for each sheep breeds

| نام نژاد (Breed Name) | کد دسترسی (Accession Number) |
|-----------------------|------------------------------|
| قره‌گل (Karakul) | SRR11657634 |
| قره‌گل (Karakul) | SRR12396969 |
| قره‌گل (Karakul) | SRR12396932 |
| قره‌گل (Karakul) | SRR12396933 |
| قره‌گل (Karakul) | SRR12396935 |
| بلوچی (Baluchi) | SRR12396937 |
| بلوچی (Baluchi) | SRR12396859 |
| بلوچی (Baluchi) | SRR12397022 |
| مغانی (Moghani) | SRR12397020 |
| مغانی (Moghani) | SRR12397019 |
| مغانی (Moghani) | SRR11657633 |
| ماکویی (Makui) | SRR12397021 |
| ماکویی (Makui) | SRR16036490 |
| ماکویی (Makui) | SRR11657631 |
| شال (Shal) | SRR12396952 |
| شال (Shal) | SRR12396955 |
| شال (Shal) | SRR11657630 |
| قزل (Ghezel) | SRR12396959 |
| قزل (Ghezel) | SRR12396960 |
| قزل (Ghezel) | SRR11657628 |
| افشاری (Afshari) | SRR501853 |
| افشاری (Afshari) | SRR501871 |
| افشاری (Afshari) | SRR12396956 |
| افشاری (Afshari) | SRR12396958 |
| افشاری (Afshari) | SRR11657629 |
| خاکستری (Grey) | SRR12396961 |
| خاکستری (Grey) | SRR12396936 |
| خاکستری (Grey) | SRR11657627 |

کنترل کیفی داده‌ها و هم‌ترازی در ژنوم مرجع

به منظور ارزیابی کیفیت داده‌های خام جمع‌آوری شده، از نرم‌افزار FastQC (نسخه ۱۱/۹) استفاده شد. خوانش‌های با کیفیت کم توسط نسخه ۰/۳۹ نرم‌افزار Trimmomatic (۲) اصلاح شدند. گزینه‌هایی که به این منظور استفاده شدند شامل LEADING:5، TRAILING:5، SLIDINGWINDOW:5:20 و MINLEN:40 بود که در مورد همه داده‌ها اعمال شد. در مورد برخی نمونه‌ها از گزینه‌های HEADCROP، برای حذف دو نوکلئوتید ابتدایی خوانش‌ها به دلیل کیفیت پایین، استفاده شد. در نمونه‌های مورد مطالعه، هیچ آلودگی آداپتوری مشاهده نشد، اما در برخی نمونه‌ها زنجیره‌های PolyG یافت شد که توسط نرم‌افزار prinseq-lite (نسخه ۰/۲۰/۴) حذف شدند. با استفاده از دستور MEM در نسخه ۷/۱۷ نرم‌افزار BWA (۲۱)، همه خوانش‌های پالایش شده، با ژنوم مرجع گوسفند (GCF_016772045.1)، هم‌تراز شدند. کلیدی فایل‌های SAM تولیدی در این مرحله توسط نرم‌افزار SAMtools (۲۲) به فرمت فشرده‌ی BAM تبدیل شدند. فایل‌های BAM، به وسیله‌ی نرم‌افزار Picard (<http://broadinstitute.github.io/picard>)، مرتب و خوانش‌های مضاعف شده، حذف شدند.

شناسایی واریانت‌ها

در ابتدا فایل‌های BAM ایجاد شده در مرحله قبل، توسط برنامه‌ی GATK (نسخه ۳/۷) (۲۸)، بازم‌ترازی محلی در نواحی نزدیک به جایگاه‌های حذف-اضافه، انجام شد. سپس توسط نرم‌افزار PLINK (۳۵) آنالیز PCA برای مشخص کردن وضعیت دسته‌بندی ژنتیکی نژادهای مورد مطالعه انجام گرفت. براساس نتایج PCA، کل هشت نژاد مورد مطالعه به سه دسته تقسیم شدند: دسته‌ی اول شامل نژادهای قره‌گل و بلوچی (KB)، دسته‌ی دوم شامل نژادهای مغانی و ماکویی (MM) و دسته‌ی سوم شامل نژادهای شال، قزل، افشاری و خاکستری (SGAG). این نتایج به وسیله‌ی پکیج ggplot2 نرم‌افزار R بصری‌سازی شدند. در مرحله بعد، با کمک برنامه‌ی GATK و با استفاده از الگوریتم HaplotypeCaller واریانت‌های همه‌ی افراد در حالت ERC GVCF فراخوانی شدند. سپس، با استفاده از ماژول GenotypeGVCFs، به شناسایی همزمان واریانت‌های هر گروه (KB، MM و SGAG) پرداخته شد و در مجموع سه فایل VCF شامل همه‌ی واریانت‌های افراد تشکیل‌دهنده‌ی هر گروه ایجاد شد. از آنجا که طبق هدف این مطالعه، فقط واریانت‌های از نوع چند شکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) برای ادامه‌ی روند آنالیز مورد نیاز بودند، این دسته از واریانت‌ها توسط گزینه‌ی SelectVariants موجود در برنامه‌ی GATK گزینش شدند. برای فیلتر کردن این نوع از واریانت‌ها، از برنامه‌های GATK و BCFtools استفاده شد. همه‌ی SNP‌هایی که $QD < 2.0$ ، $FS > 60.0$ ، $MQ^3 < 40.0$ ، $MQRankSum < -12.5$ ، $ReadPosRankSum < -8.0$ و $SOR > 3.0$ داشتند، از ادامه‌ی آنالیز کنار گذاشته شدند. همچنین در صورتی که در پنجره‌های ۱۰ بازی، تعداد

SNP‌ها بیش از ۳ باشد، این واریانت‌ها توسط دستور VariantFiltration برنامه‌ی GATK فیلتر شده و در نهایت، با به‌کار بردن برنامه‌ی VCFtools (۶) همه‌ی SNP‌هایی که از معیارهای زیر شامل: $max\text{-alleles } 2$ ، $min\text{-alleles } 2$ ، $maf \ 0.05$ ، $minDP \ 5$ ، $max\text{-missing } 0.8$ و $hwe \ 0.001$. تبعیت نمی‌کردند حذف شدند. در نهایت، کروموزوم‌های جنسی و کانتیگ‌هایی که در توالی‌های کروموزومی قرار نگرفته بودند، در فایل‌های VCF نهایی نادیده گرفته شدند.

شناسایی ROH

با استفاده از نرم‌افزار PLINK، با دستور make-bed و در نظر گرفتن آپشن‌های no-sex، no-phenو allow-extra-chr، سه فایل با فرمت‌های bim، fam و bed ایجاد شدند. در ادامه، توسط دستور homozyg و با لحاظ گزینه‌های allow-extra-chr، homozyg-window-1، homozyg-window-het، homozyg-kb 500، homozyg-snp 50، missing 3، homozyg-gap 1000 و homozyg-density 50 رشته‌های هموزیگوت مورد نظر استخراج شدند. همچنین برای شناسایی ROH‌هایی که حداقل بین دو فرد دارای همپوشانی بودند، از ابزار homozyg-group در برنامه PLINK 1.9 بهره گرفته شد.

شرح نویسی

پس از استخراج ژن‌های موجود در نواحی ROH‌های شناسایی شده در هر گروه با استفاده از نرم‌افزار BEDtools (نسخه ۲/۲۷/۱) (۳۷) و فایل GTF مرتبط با ژنوم گوسفند، شرح نویسی عملکردی این ژن‌ها با کمک آنالیز ژن آنتولوژی (GO) در برنامه "g:Profiler" صورت پذیرفت. در واقع، آنالیز GO این امکان را به ما می‌دهد تا ژن‌ها را در گروه‌های عملکردی مربوط به فرآیندهای زیستی (BP)، عملکرد مولکولی (MF)، اجزای سلولی (CC) و مسیرهای KEGG کلاس‌بندی کنیم. برای شناسایی عبارات معنادار ژن آنتولوژی و مسیرهای KEGG، از آستانه p-value تصحیح شده (با استفاده از روش Benjamini-Hochberg) کمتر و مساوی ۰/۰۵ استفاده شد (۴۷).

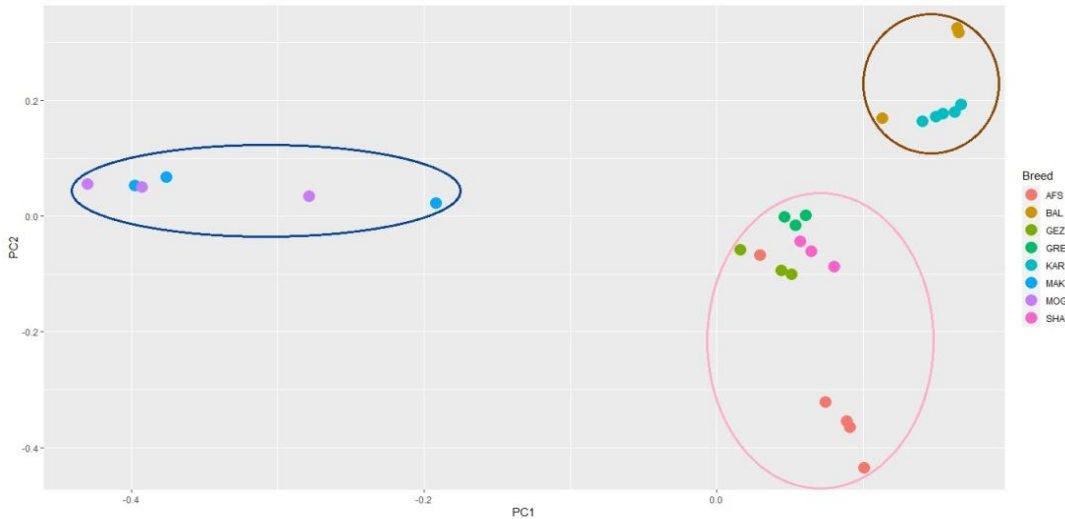
نتایج و بحث

براساس نتایج آنالیز PCA، هشت نژاد مورد بررسی به سه دسته‌ی کلی تقسیم‌بندی شدند. مولفه‌ی اول (PC1)، گروه MM را از دیگر نژادها جدا کرده و مولفه‌ی دوم نیز گروه‌های KB و SGAG را از هم تفکیک کرد (شکل ۱). این تقسیم‌بندی را می‌توان به سه دلیل عمده پراکنش جغرافیایی، خصوصیات مورفولوژیکی و همچنین اهداف تولیدی این نژادها نسبت داد.

طبق نتایج این آنالیز، نواحی ROH برای جمعیت‌های KB، MM و SGAG به ترتیب ۴۱۹ (۵۲/۳۷۵) ناحیه به ازای هر فرد، ۱۳۹ (۲۳/۱۷) ناحیه به ازای هر فرد) و ۸۷۶ (۶۲/۵۷) ناحیه به ازای هر فرد شناسایی شد. میانگین طول کل ROH‌ها برای سه جمعیت‌های KB، MM و SGAG

2 Mb (بلند) قرار داده شدند. در هر سه گروه جمعیتی، ROHهای کوتاه بیشترین درصد را به خود اختصاص دادند. به این ترتیب در حدود ۷۹/۵ درصد از ROHهای جمعیت KB، ۷۲/۳۹ درصد از ROHهای جمعیت MM و ۷۴/۱ درصد از ROHهای جمعیت SGAG مربوط به ROHهای کوتاه بودند (شکل ۲).

به ترتیب برابر ۷۲۶/۴ (کمترین ۵۰۰/۴۰۹ و بیشترین ۲۳۷۹/۰۹۶)، ۷۵۰/۳۸ (کمترین ۵۰۱/۰۴۹ و بیشترین ۱۹۰۶/۰۶۵) و ۷۷۱/۳۱ (کمترین ۵۰۰/۵ و بیشترین ۲۴۹۴/۴۶۸) محاسبه شد. در مطالعه کنونی، ROHهای شناسایی شده، بر اساس اندازه در سه گروه ROHهای با طول 1-5.0 Mb (کوتاه)، 1-2 Mb (متوسط) و طولانی‌تر از

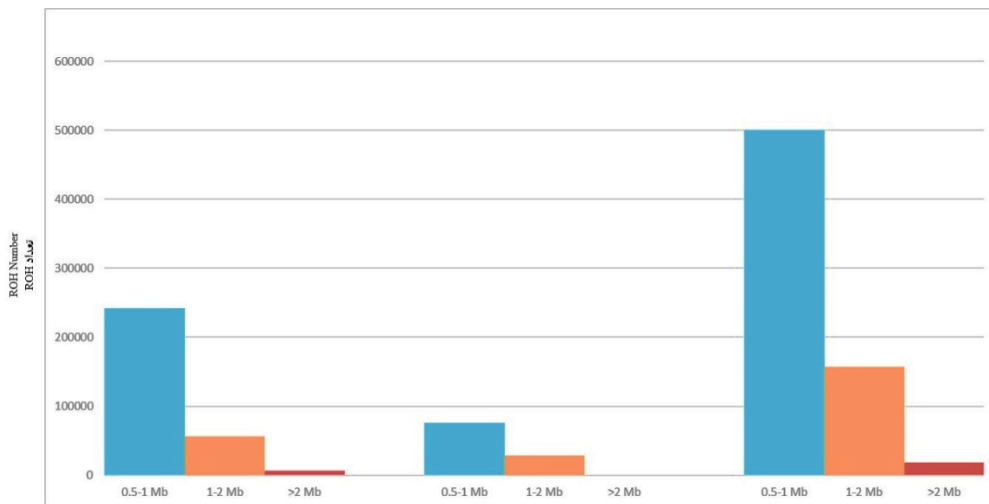


شکل ۱- دسته‌بندی هشت نژاد بومی ایرانی براساس نتایج PCA. نژادهای مغانی و ماکویی در دسته‌ی MM (آبی)، نژادهای قره‌گل و بلوچی در دسته‌ی KB (قهوه‌ای) و نژادهای شال، افشاری، قزل و خاکستری در دسته‌ی SGAG (صورتی)

Figure 1. Eight Iranian indigenous breeds classified based on PCA results. Moghani and Makui breeds in MM group (blue), Karakul and Baluchi breeds in KBgroup (brown) and Shal, Ghezel, Afshari, and Grey breeds in SGAG group (pink)

بومی چینی توسط چنگ و همکاران (۴)، فراوانی ROHهایی که طول کمتر از ۵۰۰ هزار باز داشتند، در تمام نمونه‌های مورد مطالعه بیشترین بود. از طرفی هرچه طول ROH نمونه‌ای بزرگ‌تر می‌شد، تنوع ژنتیکی آن کاهش پیدا می‌کرد.

در مطالعه‌ی انجام گرفته روی گوسفندان تجاری (۳۶)، بیشتر رشته‌های ROH شناسایی شده طولی کمتر از ۱۰ میلیون باز داشتند و تنها ۸/۲۱ درصد از نمونه‌ها حداقل یک ROH بزرگ‌تر از ۲۰ میلیون باز داشتند. در بررسی گوسفندان

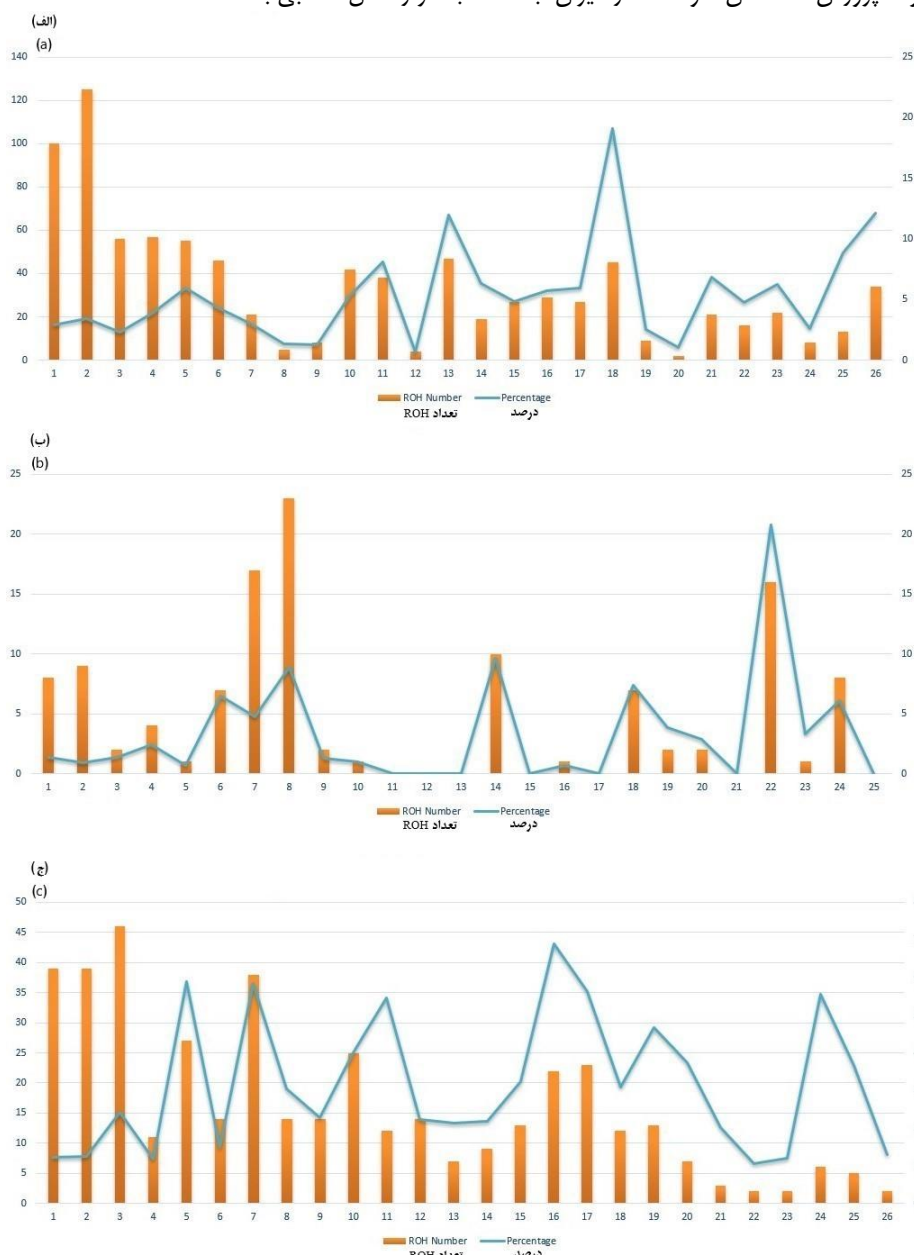


شکل ۲- تعداد کل ROHهای شناسایی شده در سه دسته‌ی طولی برای گروه‌های KB (سمت چپ)، MM (نمودار میانی) و SGAG (سمت راست).

Figure 2. The total number of ROHs identified in the three longitudinal categories for KB (left), MM (center) and SGAG (right) groups

استفاده از قوچ‌های دیگر علاقه‌ی زیادی نشان می‌دهند که این امر می‌تواند تنوع ژنتیکی داخل نژادی را افزایش دهد. رابطه‌ی بین درصد پوشش ROH ها و طول کروموزوم‌ها از الگوی خاصی پیروی نکردند، هرچند با کاهش طول کروموزوم‌ها نسبت طولی ROH ها تا حدودی بالا می‌رفت (شکل ۳). احتمالاً به دلیل تعداد کم نمونه در جمعیت MM، هیچ ROH روی ۷ عدد از کروموزوم‌ها شناسایی نشد، هرچند دلایل دیگری مانند وجود تنوع بالا در این جمعیت نیز می‌تواند منجر به عدم شناسایی ROH ها شود. به نظر می‌رسد برای بحث بهتر در این مورد، آنالیز این نژادها با تعداد نمونه بالاتر راه حل مناسبی باشد.

به‌طور کلی وجود ROH های بلند در جمعیت بیانگر این حقیقت است که احتمالاً همخونی در جمعیت در گذشته‌های نزدیک رخ داده است. وجود ROH های کوتاه نیز نشانگر این امر است که خویش‌آمیزی یا انتخاب در جمعیت، در نسل‌های گذشته و بسیار دور رخ داده است به‌طوری‌که در اثر پدیده شکسته شدن کروموزوم، طول آن‌ها در طول زمان کاهش یافته است (۱۹). به‌دلیل بالا بودن درصد ROH های کوتاه در نژادهای مورد مطالعه ایرانی، می‌توان چنین استنباط کرد که افراد جمعیت‌های مورد بررسی دارای سطح هتروزیگوسیتی بالایی هستند که می‌تواند به دلیل سبک پرورش گوسفند در ایران باشد. عموماً پرورش دهندگان گوسفند در ایران به



شکل ۳- تعداد ROH ها (ستون نارنجی) و میانگین درصد پوشش طولی آنها (خط آبی) روی هر کروموزوم در جمعیت SGAG (الف)، MM (ب) و KB (ج).

Figure 3. The number of ROHs (orange bar) and average percentage of longitudinal coverage (blue line) per chromosome in SGAG (A), MM (B), and KB (C) populations

به شناسایی ۹۹ و ۱۷۳ ژن کاندید کدکننده پروتئین به ترتیب برای جمعیت‌های KB و SGAG شد. بررسی ژن آنتولوژی این ژن‌های منتخب منجر به شناسایی یک عبارت مرتبط با ترکیب سلولی (CC) برای جمعیت KB و سه عبارت مرتبط با مسیر بیولوژیکی (BP) به همراه یک عبارت مرتبط با ترکیب سلولی (CC) برای جمعیت SGAG شد (جدول ۲).

زمانی که ROH‌های مشترک بین حداقل دو نمونه مورد بررسی قرار گرفتند، ۶ رشته‌ی هموزیگوت روی ۶ کروموزوم متفاوت در جمعیت KB و ۱۷ رشته‌ی هموزیگوت روی ۸ کروموزوم متفاوت در جمعیت SGAG، به دست آمد. هنگام بررسی جمعیت MM هیچ ROH مشترکی بین نمونه‌های این جمعیت پیدا نشد. شرح‌نویسی ROH‌های مشترک منجر

جدول ۲- عبارات و مسیرهای معنی‌دار از آنالیز ژن آنتولوژی

Table 2. Significant terms and pathways from gene ontology analysis

| درجه اطمینان (Adjusted p) | ID اصطلاح (Term ID) | نام اصطلاح (Term Name) | منبع (Source) | نام جمعیت (Population Name) |
|---------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| 0.018 | GO:0005737 | Cytoplasm (سیتوپلاسم) | ترکیب سلولی (Cellular Components) | KB |
| 0.069 | GO:0072034 | Renal Vesicle Induction (القاء وزیکول کلیوی) | فرآیند بیولوژیکی (Biological Process) | SGAG |
| 0.069 | GO:0030163 | Protein Catabolic Process (فرآیند کاتابولیک پروتئینی) | فرآیند بیولوژیکی (Biological Process) | SGAG |
| 0.069 | GO:0048513 | Animal Organ Development (توسعه‌ی اندام حیوانی) | فرآیند بیولوژیکی (Biological Process) | SGAG |
| 0.01 | GO:0005829 | Cytosol (مایع درون سلولی) | ترکیب سلولی (Cellular Components) | SGAG |

بیان بالای این ژن باعث کاهش چربی بین‌ماهچه‌ای شده و به‌طور کلی جلوی گسترش بافت چربی را می‌گیرد (۲۰). دوآن و همکاران (۹) گزارش کردند که ژن STK3 با مسیرهای سیگنالی Hippo و AMPK و سایر مسیرها و فرآیندهای زیست‌شناختی در ارتباط بوده و احتمالاً در تکثیر و تمایز سلولی، رشد و نمو اندام‌ها و توسعه‌ی سیستم عصبی نقش دارد. اثر این ژن روی تولیدمثل و باروری بزها نیز گزارش شده است (۴۷). از دیگر ژن‌های منتخب یافت شده در این مطالعه که در متابولیسم چربی نقش پررنگی دارد، SREBF1 می‌باشد که با اثرگذاری روی ژن‌های هدف مرتبط با هموستازی چربی، سوخت‌وساز کلسترول و اسیدهای چرب را تنظیم می‌کند. این سازوکار، با انجام مطالعه‌ای روی گوسفندان دینه‌دار چینی تایید شد و چنین نتیجه گرفته شد که این ژن نقش حیاتی و مهمی در رسوب چربی و متابولیسم آن طی دوره‌ی رشد و نمو گوسفندان دینه‌دار ایفا می‌کند (۲۴). مشابه نتایج به‌دست آمده از مطالعه‌ی انجام گرفته روی گاوها (۸)، چن و همکاران (۳) پیشنهاد کردند که می‌توان ژن SREBF1 را به‌عنوان یک نشانگر ژنتیکی مناسب جهت بهبود محتوای چربی بین‌ماهچه‌ای خوک‌ها به حساب آورد. بسته به میزان نیاز به انرژی، اندازه و تعداد میتوکندری‌های داخل سلول‌های پستانداران پیوسته تغییر می‌کند. بنابراین همگام و هماهنگ ساختن مسیرهای میتوکندریایی، در پاسخ به این نیازهای متغیر انرژی، لازمه‌ی اصلی حفظ تعادل و هموستازی سلولی پستانداران است. NCOR1 ژن منتخب دیگر یافت شده در این مطالعه است که در این هموستازی سلولی نقش دارد (۲۵). طبق مطالعه‌ی انجام گرفته روی موش‌ها، بیان پایین این ژن در سلول‌های ماهیچه‌ای آن‌ها منجر به افزایش تعداد و فعالیت‌های میتوکندری‌های سلولی می‌شود که در نتیجه‌ی آن استقامت و قدرت ماهیچه‌ای آن‌ها بالا می‌رود (۴۴).

دسته‌ای دیگر از ژن‌های یافت شده در این مطالعه، صفات مرتبط با تشکیل و توسعه‌ی بافت ماهیچه‌ای را سبب

از بین ژن‌های بررسی شده در این آنالیز تعدادی در مسیرها و فرآیندهای مرتبط با متابولیسم انرژی و چربی (FLCN، NCOR1 و STK3 در جمعیت KB و SREBF1 و ELOVL3 در جمعیت SGAG) و تعدادی در رشد و نمو بافت عضلانی و کیفیت گوشت (MYL6 و TMD1 در جمعیت SGAG) مشاهده شد. فولیکولین (FLCN) یکی از ژن‌های مهمی است که احتمالاً در متابولیسم انرژی سلولی دخالت دارد. این ژن پروتئینی به همین نام تولید می‌کند که به دو پروتئین دیگر به نام‌های FNIP1 و FNIP2 می‌چسبد. این دو پروتئین با مسیر AMPK برهم‌کنش دارند (۱۲، ۱۱). این مسیر زمانی که میزان ATP سلولی کاهش می‌یابد فعال می‌شود (۳۰) و یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی هموستازی سلولی است. طبق یافته‌های یان و همکاران (۴۵)، این ژن با تاثیر روی مسیر AMPK نقش مهمی در تنظیم منفی عملکردهای میتوکندریایی دارد. با در نظر گرفتن اثر غیرمستقیمی که این ژن روی متابولیسم ATP می‌گذارد، می‌توان چنین برداشت کرد که احتمالاً این ژن نقش پررنگی در سوخت‌وساز سلولی دارد (۱۳). ژن ELOVL3 متعلق به خانواده‌ای از ژن‌ها است که در تنظیم متابولیسم انرژی نقش عمده‌ای دارند. این ژن در بافت چربی قهوه‌ای و پوست بیان بالایی دارد (۳۲). در تحقیقات صورت گرفته روی گوسفند، این ژن جزء کاندیدهای انتخابی در زمینه‌ی سنتز، رسوب و متابولیسم چربی گزارش شده است (۲۷، ۴۰). در مطالعه‌ی انجام شده روی بز، تاثیر این ژن روی رنگ پوست نیز مشاهده شده است. میزان بیان این ژن در بزهای خاکستری مورد آزمایش، بالاتر از بزهای قهوه‌ای و سفید رنگ بوده است (۳۴). ژن STK3 نقش به‌سزایی در مسیر سیگنالی Hippo دارد. این مسیر، هموستازی بافت‌های بدن پستانداران را کنترل می‌کند (۱۴). با غیرفعال شدن این ژن، محتوای میتوکندریایی افزایش یافته و در نتیجه باعث بروز پدیده میتوکندری‌خواری یا میتوفاژی می‌شود (۵). در نتیجه‌ی این اتفاق، مصرف انرژی در بافت چربی افزایش می‌یابد (۲۶).

ماه‌یچه‌ای را تحت‌تاثیر قرار داده و بنابراین روی کیفیت و میزان رشد گوشت لخم اثر می‌گذارد (۲۳،۴۳).

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه، با بررسی داده‌های ژنومی نمونه‌هایی از هشت نژاد گوسفند بومی ایرانی، با شناسایی ROHها و ژن‌های داخل این نواحی به آثاری از انتخاب در برخی از ژن‌های مهم دست یافتیم. با توجه به شواهد به دست آمده از مطالعه کنونی، مبنی بر این که بخش عمده ROHهای شناسایی شده دارای اندازه کوتاه (مابین نیم تا یک میلیون باز) هستند، می‌توان نتیجه گرفت که سطح آمیختگی در نژادهای ایرانی بالا بوده و انتخاب و اصلاح‌نژادی در طی سالهای اخیر روی آنها صورت نگرفته است. تنوع بالا از یک سو و قابلیت‌های تولیدی نژادهای ایرانی از سویی دیگر، زمینه بسیار مناسبی برای انتخاب و به‌نژادی در این گروه‌های ژنتیکی ارزشمند را فراهم می‌نماید.

می‌شدند. از جمله‌ی این ژن‌ها MYL6 را می‌توان نام برد. این ژن کدکننده‌ی فراوان‌ترین پروتئین بافت ماهیچه، یعنی میوزین، بوده و به شدت با عملکردهای ماهیچه‌ای و ترکیبات عضلانی در ارتباط است. این پروتئین در رشد و انقباضات ماهیچه‌ای نقش کلیدی ایفا می‌کند. در مطالعه‌ی انجام شده روی صفت شاخص تکه‌تکه شدن میوفیبریل (MFI)، که معیاری برای سنجش لذیذ بودن گوشت محسوب می‌شود، MYL6 در گروه گاوهای نری که عملکرد قابل‌قبولی داشتند، بیشتر بیان شده بود (۳۱). همچنین در مطالعات انجام شده روی گوسفند (۳۳) و گاو گوشتی (۱۰)، شواهدی مبنی بر انتخاب این ژن در راستای بهبود کیفیت گوشت حاصل شده است. ژن TMOD1 از دیگر کاندیدهای دخیل در صفات مرتبط با بافت عضلانی بدن می‌باشد و از تنظیم‌کننده‌های اصلی فیزیولوژی ماهیچه‌های اسکلتی محسوب می‌شود (۱۱). گزارش شده که این ژن ساختمان و نظم رشته‌های

منابع

- Baba, M., S.B. Hong, N. Sharma, M.B. Warren, M.L. Nickerson, A. Iwamatsu, D. Esposito, W.K. Gillette, R.F. Hopkins, J.L. Hartley and M. Furihata. 2006. Folliculin encoded by the BHD gene interacts with a binding protein, FNIP1, and AMPK, and is involved in AMPK and mTOR signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(42): 15552-15557.
- Bolger, A.M., M. Lohse and B. Usadel. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15): 2114-2120.
- Chen, J., X.J. Yang, D. Xia, J. Chen, J. Wegner, Z. Jiang and R.Q. Zhao. 2008. SREBF1 expression and genetic polymorphism significantly affect intramuscular fat deposition in the longissimus muscle of Erhualian and Suta pigs. *Journal of Animal Science*, 86: 57-63.
- Cheng, J., H. Zhao, N. Chen, X. Cao, Q. Hanif, L. Pi, L. Hu, B. Chaogetu, Y. Huang, X. Lan and C. Lei. 2020. Population structure, genetic diversity, and selective signature of Chaka sheep revealed by whole genome sequencing. *BMC genomics*, 21(1): 1-10.
- Cho, Y.K., Y. Son, A. Saha, D. Kim, C. Choi, M. Kim, J.H. Park, H. Im, J. Han, K. Kim and Y.S. Jung. 2021. STK3/STK4 signalling in adipocytes regulates mitophagy and energy expenditure. *Nature Metabolism*, 3(3): 428-441.
- Danecek, P., A. Auton, G. Abecasis, C.A. Albers, E. Banks, M.A. DePristo, R.E. Handsaker, G. Lunter, G.T. Marth, S.T. Sherry and G. McVean. 2011. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27(15): 2156-2158.
- Davenport, K.M., D.M. Bickhart, K. Worley, S.C. Murali, M. Salavati, E.L. Clark, N.E. Cockett, M.P. Heaton, T.P. Smith, B.M. Murdoch and B.D. Rosen. 2022. An improved ovine reference genome assembly to facilitate in-depth functional annotation of the sheep genome. *GigaScience*, 11: 1-9.
- Dervishi, E., C. Serrano, M. Joy, M. Serrano, C. Rodellar and J.H. Calvo. 2011. The effect of feeding system in the expression of genes related with fat metabolism in semitendinous muscle in sheep. *Meat Science*, 89(1): 91-97.
- Duan, X., B. An, L. Du, T. Chang, M. Liang, B.G. Yang, L. Xu, L. Zhang, J. Li, G. E and H. Gao. 2021. Genome-Wide Association Analysis of Growth Curve Parameters in Chinese Simmental Beef Cattle. *Animals*, 11(1): 192.
- El Hou, A., D. Rocha, E. Venot, V. Blanquet and R. Philippe. 2021. Long-range linkage disequilibrium in French beef cattle breeds. *Genetics Selection Evolution*, 53(1): 1-14.
- Gokhin, D.S., R.A. Lewis, C.R. McKeown, R.B. Nowak, N.E. Kim, R.S. Littlefield, R.L. Lieber and V.M. Fowler. 2010. Tropomodulin isoforms regulate thin filament pointed-end capping and skeletal muscle physiology. *Journal of Cell Biology*, 189(1): 95-109.
- Hasumi, H., M. Baba, S.B. Hong, Y. Hasumi, Y. Huang, M. Yao, V.A. Valera, W.M. Linehan and L.S. Schmidt. 2008. Identification and characterization of a novel folliculin-interacting protein FNIP2. *Gene*, 415(1-2): 60-67.
- Hasumi, H., M. Baba, Y. Hasumi, Y. Huang, H. Oh, R.M. Hughes, M.E. Klein, S. Takikita, K. Nagashima, L.S. Schmidt and W.M. Linehan. 2012. Regulation of mitochondrial oxidative metabolism by tumor suppressor FLCN. *Journal of the National Cancer Institute*, 104(22): 1750-1764.
- He, Z., R. Li and H. Jiang. 2021. Mutations and copy number abnormalities of hippo pathway components in human cancers. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9: p.661718.

- ۱۲۸ پوشش ژنومی برای شناسایی رشته‌های هموزیگوت و ژن‌های موجود در این نواحی در ژنوم گوسفندان بومی ایرانی
15. Islam, R., Y. Li, X. Liu, H. Berihulay, A. Abied, G. Gebreselassie, Q. Ma and Y. Ma. 2019. Genome-wide runs of homozygosity, effective population size, and detection of positive selection signatures in six Chinese goat breeds. *Genes*, 10(11): p.938.
 16. Khalkhali-Evrigh, R. Hedayat, N. and Ming, L. 2022. Identification of selection signatures in Iranian dromedary and Bactrian camels using whole genome sequencing data. *Scientific Reports*, 12(1): 1-10.
 17. Kijas, J.W., D. Townley, B.P. Dalrymple, M.P. Heaton, J.F. Maddox, A. McGrath, P. Wilson, R.G. Ingersoll, R. McCulloch, S. McWilliam and D. Tang. 2009. A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds. *PLoS one*, 4(3): p.e4668.
 18. Kim, E.S., J.B. Cole, H. Huson, G.R. Wiggans, C.P. Van Tassell, B.A. Crooker, G. Liu, Y. Da and T.S. Sonstegard. 2013. Effect of artificial selection on runs of homozygosity in US Holstein cattle. *PLoS one*, 8(11): p.e80813.
 19. Kirin M., R. McQuillan, C.S. Franklin, H. Campbell, P.M. McKeigue and J.F. Wilson. 2010. Genomic runs of homozygosity record population history and consanguinity. *PLoS one*, 5(11): p.e13996.
 20. Lee, S.H., J.H.J. Van Der Werf, N.K. Kim, S.H. Lee, C. Gondro, E.W. Park, S.J. Oh, J.P. Gibson and J.M. Thompson. 2011. QTL and gene expression analyses identify genes affecting carcass weight and marbling on BTA14 in Hanwoo (Korean Cattle). *Mammalian genome*, 22(9): 589-601.
 21. Li, H. and R. Durbin. 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics*, 25(14): 1754-1760.
 22. Li, H., B. Handsaker, A. Wysoker, T. Fennell, J. Ruan, N. Homer, G. Marth, G. Abecasis and R. Durbin. 2009. The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25(16): 2078-2079.
 23. Li, W., D.M. Bickhart, L. Ramunno, D. Iamartino, J.L. Williams and G.E. Liu. 2019. Comparative sequence alignment reveals River Buffalo genomic structural differences compared with cattle. *Genomics*, 111(3): 418-425.
 24. Liang, C., L. Qiao, Y. Han, J. Liu, J. Zhang and W. Liu. 2020. Regulatory roles of SREBF1 and SREBF2 in lipid metabolism and deposition in two Chinese representative fat-tailed sheep breeds. *Animals*, 10(8): 1317.
 25. Lima, T.I., R.R. Valentim, H.N. Araújo, A.G. Oliveira, B.C. Favero, E.S. Menezes, R. Araújo and L.R. Silveira. 2018. Role of NCoR1 in mitochondrial function and energy metabolism. *Cell Biology International*, 42(6): 734-741.
 26. Liu, X., Y. Zhu, S. Zhan, T. Zhong, J. Guo, J. Cao, L. Li, H. Zhang and L. Wang. 2022. RNA-Seq reveals miRNA role in thermogenic regulation in brown adipose tissues of goats. *BMC genomics*, 23(1): 1-13.
 27. Ma, L., M. Zhang, Y. Jin, S. Erdenee, L. Hu, H. Chen, Y. Cai and X. Lan. 2018. Comparative transcriptome profiling of mRNA and lncRNA related to tail adipose tissues of sheep. *Frontiers in genetics*, 9: 365.
 28. McKenna, A., M. Hanna, E. Banks, A. Sivachenko, K. Cibulskis, A. Kernytsky, K. Garimella, D. Altshuler, S. Gabriel, M. Daly and M.A. DePristo. 2010. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome research*, 20(9): 1297-1303.
 29. Metzger, J., M. Karwath, R. Tonda, S. Beltran, L. Águeda, M. Gut, I.G. Gut and O. Distl. 2015. Runs of homozygosity reveal signatures of positive selection for reproduction traits in breed and non-breed horses. *BMC genomics*, 16(1): 1-14.
 30. Mihaylova, M.M. and R.J. Shaw. 2011. The AMPK signaling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. *Nature cell biology*, 13(9): 1016-1023.
 31. Muniz, M.M.M., L.F.S. Fonseca, A.F.B. Magalhães, D.B. dos Santos Silva, A. Canovas, S. Lam, J.A. Ferro, F. Baldi, A.L. Chardulo and L.G. de Albuquerque. 2020. Use of gene expression profile to identify potentially relevant transcripts to myofibrillar fragmentation index trait. *Functional & integrative genomics*, 20(4): 609-619.
 32. Nakamura, M.T., B.E. Yudell and J.J. Loo. 2014. Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. *Progress in lipid research*, 53: 124-144.
 33. Peng, H., M. Hu, Z. Liu, W. Lai, L. Shi, Z. Zhao, H. Ma, Y. Li and S. Yan. 2022. Transcriptome Analysis of the Liver and Muscle Tissues of Dorper and Small-Tailed Han Sheep. *Frontiers in genetics*, 13: 785.
 34. Peng, Y., X. Liu, L. Geng, R. Ma, L. Li, J. Li, C. Zhang, Z. Liu, Y. Gong and X. Li. 2017. Illumina-sequencing based transcriptome study of coat color phenotypes in domestic goats. *Genes & Genomics*, 39(8): 817-830.
 35. Purcell, S., B. Neale, K. Todd-Brown, L. Thomas, M.A. Ferreira, D. Bender, J. Maller, P. Sklar, P.I. De Bakker, M.J. Daly and P.C. Sham. 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American journal of human genetics*, 81(3): 559-575.
 36. Purfield, D.C., S. McParland, E. Wall and D.P. Berry. 2017. The distribution of runs of homozygosity and selection signatures in six commercial meat sheep breeds. *PLoS One*, 12(5): p.e0176780.
 37. Quinlan, A.R. and I.M. Hall. 2010. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features. *Bioinformatics*, 26(6): 841-842.

38. Rexroad, C., J. Vallet, L.K. Matukumalli, J. Reecy, D. Bickhart, H. Blackburn, M. Boggess, H. Cheng, A. Clutter, N. Cockett and C. Ernst. 2019. Genome to phenome: improving animal health, production, and well-being—a new USDA blueprint for animal genome research 2018–2027. *Frontiers in genetics*, 10: 327 p.
39. Ruiz-Larrañaga, O., H. Asadollahpour Nanaei, I. Montes, A. Ayatollahi Mehrgardi, A. Abdolmohammadi, H. Kharrati-Koopae, S.S. Sohrabi, F. Rendo, C. Manzano, A. Estonba and M. Iriondo. 2020. Genetic structure of Iranian indigenous sheep breeds: insights for conservation. *Tropical Animal Health and Production*, 52(5): 2283-2290.
40. Ruiz-Larrañaga, O., J. Langa, F. Rendo, C. Manzano, M. Iriondo and A. Estonba. 2018. Genomic selection signatures in sheep from the Western Pyrenees. *Genetics Selection Evolution*, 50(1): 1-12.
41. Sharma, A., J.E. Park, H.H. Chai, G.W. Jang, S.H. Lee and D. Lim. 2017. Next generation sequencing in livestock species: A review. *J. Anim. Breed. Genom*, 1(1): 23-30.
42. Sheikhlou, M. and M.A. Abbasi. 2016. Genetic diversity of Iranian Lori-Bakhtiari sheep assessed by pedigree analysis. *Small Ruminant Research*, 141: 99-105.
43. Wu, H., S. Zhao, B. Liu, M. Yu, M. Zhu, C. Li and B. Fan. 2009. Tropomodulin 1 (TMOD1) is associated with lean meat growth and meat quality in the pig (Brief Report). *Archives Animal Breeding*, 52(1): 108-110.
44. Yamamoto, H., E.G. Williams, L. Mouchiroud, C. Canto, W. Fan, M. Downes, C. Héligon, G.D. Barish, B. Desvergne, R.M. Evans and K. Schoonjans. 2011. NCoR1 is a conserved physiological modulator of muscle mass and oxidative function. *Cell*, 147(4): 827-839.
45. Yan, M., É. Audet-Walsh, S. Manteghi, C.R. Dufour, B. Walker, M. Baba, J. St-Pierre, V. Giguère and A. Pause. 2016. Chronic AMPK activation via loss of FLCN induces functional beige adipose tissue through PGC-1 α /ERR α . *Genes & development*, 30(9): 1034-1046.
46. Zeder, M.A. 2008. Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *Proceedings of the national Academy of Sciences*, 105(33): 11597-11604.
47. Zhao, Y.J. and Y.F. Huang. 2019. Selection signatures of litter size in Dazu black goats based on a whole genome sequencing mixed pools strategy. *Molecular Biology Reports*, 46(5): 5517-5523.

Genome-Wide Scan for Detection of Runs of Homozygosity in Iranian Indigenous Sheep Breeds

Abbas Mirzapour-Abibagloo¹, Nemat Hedayat², Reza Khalkhali-Evrigh³,
Reza Seyedsharif⁴ and Hossein Abdi-Benemar⁴

1- MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

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

3- Researcher, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

4- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: 17 Jun, 2022

Accepted: 27 July, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Sheep are considered one of the essential livestock with the high ability to adapt to different climates, and a breed diversity was observed in Iran. As a result of different selections, some genomic regions have acquire high purity called Runs of Homozygosity (ROH). By examining these regions in the genome of sheep, the goals of selection in these breeds can be followed and the genes present in these regions can be identified.

Material and Methods: For this purpose, the whole-genome sequencing data from 28 samples of Iranian sheep, including Afshar, Ghezel, Karakul, Moghani, Makui, Baluchi, Gray, and Shal breeds, were downloaded from the NCBI database. After quality checking and trimming, high-quality reads were aligned to the sheep reference genome by BWA software. Then the variants were identified and filtered using VCFtools software, a VCF file containing information related to SNPs was created for more analysis. At the end of the analysis, homozygous strands were extracted, and finally, the genes related to these regions were identified.

Results: Based on the results of PCA, the samples related to Iranian sheep breeds were divided into three categories, the first group includes the Karakul and Baluchi breeds (KB), the second group includes the Moghani and Makui breeds (MM), and the third group includes the Shal, Ghezel, Afshari and Gray breeds (SGAG). According to the results of the analysis, ROH areas for KB, MM, and SGAG populations have 419 (52.375 areas per person), 139 (23.17 areas per person), and 876 (62.57 areas per person) ROH areas, respectively. Also, 6 and 17 common ROH (at least two samples) were identified in KB and SGAG populations, respectively. We could not find a common ROH for the MM population. Annotating the sharing ROHs leads to identifying 99 and 173 protein-coding genes within these genomic regions for the KB and SGAG populations, respectively. The results of gene ontology analysis showed that most of these genes are involved in processes such as energy and fat metabolism (FLCN, ELOVL3, STK3, SREBF1, and NCOR1) as well as the growth and development of muscle tissue and meat quality (MYL6 and TMOD1).

Conclusion: According to the results of this study, it could be concluded that there is a high level of diversity and crossbreeding in the native sheep breeds that could be used for different breeding goals and producing breeds with appropriate production. On the other hand, the candidate genes identified in this research also accelerate the time to achieve breeding goals in these breeds.

Keywords: Energy metabolism, Meat quality, Runs of homozygosity



"مقاله پژوهشی"

مقایسه برخی نرم افزارهای مکان یابی در آنالیز داده های RNA-Seq گاو شیری

قربان الباسی زرین قبابی^۱، مصطفی صادقی^۲ و سیدرضا میرایی آشتیانی^۳

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، (نویسنده مسوول: Gh.elyasi@ut.ac.ir)

۲- دانشیار گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳- استاد گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۶/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۲۷

صفحه: ۱۳۱ تا ۱۳۸

چکیده مسبوط

مقدمه و هدف: با توجه به کاربرد روزافزون تعیین توالی نسل جدید (NGS)، جهت شناسایی ژن های عملکردی، استفاده از الگوریتم ها و نرم افزارهای تخصصی برای انجام آنالیزهای آماری ضروری است. مکان یابی خوانش ها با ژنوم مرجع اولین و مهم ترین مرحله اکثر برنامه های آنالیز داده های RNA-Seq است که به صورت مؤثری صحت آنالیزهای پایین دستی بستگی به این مرحله دارد. لذا هدف از این تحقیق، مقایسه برخی نرم افزارهای مختلف هم ترازی داده های حاصل از تعیین توالی کل RNA روی ژنوم مرجع بود.

مواد و روش ها: از داده های RNA-Seq مربوط به ۵۴ رأس گاو شیری هلشتاین به منظور شناسایی ژن های مؤثر در باروری استفاده شد. تعیین کیفیت خوانش ها توسط نرم افزار FastQC و ویرایش توالی های کم کیفیت با استفاده از نرم افزار Trimmomatic انجام شد. داده های ویرایش شده با آخرین نسخه ژنوم مرجع گاو با استفاده از نرم افزارهای Bowtie2، Tophat2 و Hisat2 مکان یابی شدند. درصد کل خوانش های مکان یابی شده، درصد خوانش های مکان یابی شده روی یک محل در ژنوم مرجع و همچنین درصد خوانش های مکان یابی شده روی بیش از یک محل محاسبه شدند.

یافته ها: نتایج نشان داد که بیشترین هم ترازی صورت گرفته روی ژنوم مرجع گاو با استفاده از نرم افزار Tophat2 بوده است. از کل خوانش های موجود، نرم افزارهای Tophat2 و Hisat2 به ترتیب ۹۴/۱۹۷ و ۹۲/۵۲۶ درصد را روی ژنوم مرجع مکان یابی نمودند. نرم افزار Hisat2 عملکرد تخصصی بیشتری داشت و ۸۹/۲۰۲ درصد از داده ها را به یک جایگاه اختصاصی مکان یابی کرد در صورتی که این پارامتر در خصوص نرم افزار Tophat2 به میزان ۸۷/۸۱۲ درصد از کل توالی ها بود. از کل توالی های به کار گرفته شده تنها ۳/۳۲۴ درصد توسط Hisat2 و ۶/۳۸۵ درصد توسط Tophat2 با بیش از یک جایگاه ژنوم مرجع مکان یابی شدند. نرم افزار Bowtie2 در مقایسه با دو نرم افزار دیگر عملکرد پایینی داشت.

نتیجه گیری: مقایسه نرم افزارهای هم ترازی داده های RNA-Seq روی ژنوم مرجع نشان داد که اگر چه نرم افزار Hisat2 بهترین نرم افزار برای مکان یابی خوانش ها بود ولی نرم افزار Tophat2 هم می تواند به جای آن در آنالیز داده های RNA-seq استفاده شود. در ضمن نرم افزار Bowtie2 در ارتباط با داده های RNA-Seq کارآیی چندانی ندارد.

واژه های کلیدی: اومیکس، بیان ژن، تعیین توالی، ژنوم مرجع و مکان یابی

مقدمه

خلق فناوری های اومیکس^۱ مانند ژنومیکس، ترانسکرپتومیکس، پروتئومیکس و متابولومیکس، آنالیز هم زمان تعداد زیادی از ژن ها، رونوشت ها، پروتئین ها و متابولیت ها را در بسیاری از آزمایشگاه ها تسهیل کرده است؛ همچنین حجم زیادی از داده ها در مورد ساختار سلول ها و رفتار آن ها در سطوح مختلف سلولی و شرایط محیطی مختلف تولید شده و بازسازی شبکه های مولکولی زیستی (به عنوان مثال: شبکه های تنظیم رونویسی، شبکه های اینتراکتوم، شبکه های متابولیک، شبکه های متقابل پروتئین-پروتئین) برای انجام تحلیل زیستی عمیق تر را فراهم ساخته است. همراه با تولید اطلاعات اومیکس، پلتفرم های آنالیزی به منظور ترسیم شبکه مولکولی زیستی توسعه پیدا کرد که بصورت ریاضی و محاسباتی، داده خام را پردازش کردند. انواع داده های مختلف در یک روش معنی دار زیست شناسی یکپارچه سازی و مرتب شده و در نهایت در یک سیستم برای بررسی درستی توصیف توابع و رفتار سلولی در کنار هم قرار داده شدند (۱۱)؛ بنابراین نیاز به یک رویکرد جامع برای رمزگشایی مقدار زیادی از داده های تولید شده با رویکردهای زیستی مدرن وجود دارد.

در حال حاضر داده های زیستی متنوعی در پایگاه های بزرگ در دسترس است که شامل پروفایل بیان ژن (RNA-Seq)، Microarray، EST و SAGE) و اطلاعات عملکردی ژن ها

و پروتئین ها است. مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی^۲، موسسه بیوانفورماتیک اروپا^۳ و پایگاه داده DNA ژاپن^۴ چند پایگاه اصلی تعاملی داده را تشکیل می دهند که در تحقیقات زیستی به طور گسترده ای مورد استفاده قرار گرفته اند، در این پایگاه های داده، اطلاعاتی در مورد تعیین توالی نوکلئوتیدها، پروتئین ها، ژن ها، ژنوم، ساختار مولکولی و بیان ژن ارائه شده است. همانند پایگاه داده توالی نوکلئوتید، پایگاه اولیه و اصلی مانند Uniport اطلاعاتی در خصوص توالی پروتئین و حاشیه نویسی فراهم می کنند و همچنین بانک اطلاعات پروتئین^۵ روی ساختارهای پروتئینی متمرکز شده است. اخیراً آشکار شده است که RNAهای غیر کد شونده^۶ از جمله میکرو RNA در کنترل سیستم سلولی بسیار اهمیت دارند که موجب پیاده سازی پایگاه های مرتبط مانند RNAdb و miRBase شده است. پایگاه داده دائره المعارف ژن و ژنوم کیوتو^۷ (KEGG)، Reactome و BioCyc پایگاه های تعاملاتی پیشرو هستند که دارای مسیرهای واکنش های متابولیک و مسیرهای انتقال سیگنال می باشند. KEGG یک منبع دانش محور است که اطلاعاتی در خصوص ژن ها و پروتئین ها، اجزای بیوشیمیایی، واکنش ها و مسیرها ارائه می دهد. پایگاه Reactome توسط همکاری آزمایشگاه کولد اسپرینگ هاربر^۸، موسسه بیوانفورماتیک اروپا و کنسرسيوم هستی شناسی ژن^۹ مدیریت می شود. این پایگاه از مشخصات دقیق (هستی شناسی) اجزا و واکنش ها استفاده می کند و شامل

پیش‌پردازش داده خام، (۲۷) هم‌ترازی خوانش‌ها به ژنوم مرجع، (۲۲) بازسازی رونوشت، (۵) کمی‌سازی بیان و (۳۲) تجزیه و تحلیل بیان افتراقی ژن‌ها است که سه مرحله اول در تمامی آنالیزها بصورت مشترک صورت می‌گیرد. به عنوان گام اولیه، داده‌های RNA-seq ممکن است قبل از تجزیه و تحلیل داده‌ها تحت کنترل کیفیت قرار گیرند. مشابه توالی‌یابی کل ژنوم یا اگزوم، هم‌ترازی خوانش‌ها را می‌توان برای ترسیم خوانش‌ها به ژنوم مرجع یا رونوشت انجام داد. در مرحله بعد، بازسازی ترانسکرپتوم برای شناسایی تمام رونوشت‌های بیان شده در یک نمونه بر اساس اطلاعات مکان‌یابی خوانش‌ها انجام می‌شود. اگر توالی مرجع موجود وجود نداشته باشد، این روش می‌تواند مستقیماً با استفاده از رویکرد مونتاژ *de novo* انجام شود. هنگامی که همه رونوشت‌ها شناسایی شدند، فراوانی آن‌ها را می‌توان با استفاده از اطلاعات مکان‌یابی خوانش‌ها تخمین زد. در نهایت، تجزیه و تحلیل بیان افتراقی با استفاده از برنامه‌های موجود انجام می‌شود (۳۲). برنامه بیوانفورماتیک متعددی برای تجزیه و تحلیل داده RNA-seq توسعه یافته است. حتی ابزارهایی که برای یک هدف توسعه یافته‌اند بر اساس رویکردهای متمایز با استفاده از الگوریتم‌ها و مدل‌های مختلف هستند. تنوع روش این امکان را فراهم می‌کند تا تجزیه و تحلیل اطلاعات با انتخاب برنامه‌ای که بهترین تناسب را برای هر هدف خاص دارد مورد استفاده قرار گیرد. جهت هم‌ترازی خوانش‌ها و داده‌های خام دو راهبرد وجود دارد که در آن می‌توان از یک ژنوم یا رونوشت به عنوان مرجع برای مرحله هم‌ترازی خوانش‌ها استفاده کرد. رویکرد هدایت شده با ژنوم مرجع شامل دو مرحله متوالی (۱۱) تراز خوانش خام با ژنوم مرجع و (۲۷) مونتاژ خوانش‌های همپوشان برای بازسازی رونوشت‌ها است. این رویکرد زمانی سودمند است که اطلاعات حاشیه‌نویسی ژنوم مرجع شناخته شده باشد، در رویکرد مستقل از مرجع از یک الگوریتم مونتاژ *de novo* برای ایجاد مستقیم رونوشت‌های توافقی از خوانش‌های کوتاه بدون ژنوم مرجع استفاده می‌شود و زمانی مفید است که هیچ ژنوم مرجع یا رونوشت شناخته شده‌ای وجود نداشته باشد.

همان‌گونه که در بالا ذکر شد هم‌ترازی خوانش‌ها به ژنوم مرجع، از مهم‌ترین مراحل آنالیز داده‌های RNA-Seq هست که به صورت مؤثری صحت آنالیزهای پایین دستی بستگی به این مرحله دارد (۴). با توجه به گسترش روزافزون استفاده از داده‌های پربرونداد RNA-Seq الگوریتم‌های مختلفی توسعه یافته و نرم‌افزار و بسته‌های مختلفی برای مکان‌یابی خوانش‌ها معرفی شده‌اند که بسته به هدف و نوع داده‌ها می‌توان استفاده کرد که به عنوان مثال به Cufflinks (۲۹)، Bowtie (۲۰)، Tophat (۹)، StringTie (۲۶)، RNA Star (۱۳) و HISAT2 (۱۷) نام برد؛ که هدف از این تحقیق مقایسه برخی نرم‌افزارهای هم‌ترازی در آنالیز داده‌های RNA-Seq جهت انجام آنالیزهای پایین دستی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای ایجاد داده فنوتیپی از اطلاعات ۵۴ رأس گاو هلشتاین با

جزئیات مربوط به استوکومیتری، محلی‌سازی، مراجع پایگاه داده خارجی و غیره بوده و فرایندهایی همچون پدیده‌های متشکله پیچیده یا جابجایی مولکول‌ها را نیز پوشش می‌دهد. پایگاه مسیر دیگر با یک دامنه مشابه BioCyc است که مسیرهای مرتبط با اثرشیاکولی را پوشش داده (EcoCyc) و مسیرهای متابولیکی دیگر میکروارگانیسم‌ها (MetaCyc) و انسان (HumanCyc) را به خوبی پیشگویی می‌کند. شبکه مرتبط با پروتئین عملکردی (STRING) یک پایگاه داده مهم پروتئینی است که وارد بسیاری از انواع مختلف واکنش بین پروتئین‌ها در انسان و سایر موجودات مدل گردیده است. فرایندهای تنظیم ژن و شبکه تنظیم کننده ژن همانند فرایندهای متابولیک و سیگنالینگ به صورت جزئی‌نگر تحت پوشش قرار نگرفته‌اند؛ بنابراین برخی از پایگاه‌ها وجود دارند که اطلاعات مرتبط با مکان متصل به عوامل رونویسی را ذخیره کرده‌اند که به عنوان نمونه می‌توان به RegulonDB، TRED و Transfac اشاره کرد. فقدان مدل داده یکسان و روش دسترسی داده و پایگاه مسیرها، ادغام داده را بسیار مشکل می‌سازد. در کنار اطلاعات توپولوژیک در خصوص شبکه واکنش، داده‌های شیمیایی مانند قوانین شیمیایی و ثابت شیمیایی نیز مورد علاقه ویژه‌ای در خلق مدل ریاضی هستند که دو پایگاه داده BRENDA و SABIO-RK در این خصوص فعالیت دارند.

ژنومیکس عملکردی بر اساس اطلاعات حاصل از جنبه استاتیک ژنوم (توالی نوکلئوتید) که توسط پروژه توالی‌یابی ژنوم تولید می‌گردد ساخته می‌شود؛ اما بر جنبه دینامیک آن مانند رونویسی ژن‌ها و ترجمه متمرکز می‌گردد. با کاربرد فناوری پربرونداد مانند آنالیز ترانسکرپتوم بر اساس ریزآرایه الیگو و یا cDNA، وظایف ژن‌ها در یک مدل کامل ژنومی مطالعه می‌شود که بین خلأ موجود در توالی و عملکرد زیستی ارتباط برقرار می‌کند. علیرغم اینکه سطوح mRNA همیشه منعکس کننده سطح پروتئین مرتبط با ژن نیست ولی به نظر می‌رسد سطح mRNA به‌عنوان یک پروکسی برای تنوع فنوتیپی عمل کند (۲۷). پروفایل بیان ژن می‌تواند با نقشه‌کشی QTL ترکیب شده و باعث افزایش اثربخشی آنالیز گردد.

اخیراً، توسعه فناوری جدید اومیکس باعث تولید مقادیر زیادی از اطلاعات در خصوص جنبه‌های مختلف زیست‌شناسی سلولی در سطح جهانی شده است که چالش اصلی این دوره جدید تعیین اهمیت زیستی این داده‌ها در زمینه عملکرد سلول و بافت است (۲۲). برای درک بهتر این تغییرات و عوامل کنترل کننده آن‌ها، بسیاری از مطالعات بر روی اندازه‌گیری میزان بیان ژن‌ها متمرکز شده‌اند و در سال‌های اخیر مقادیر قابل توجهی از این نوع داده‌ها تولید شده است. یکی از فناوری‌های کلیدی که این امکان را فراهم می‌کند، توالی‌یابی کل RNA است. از زمان توسعه اولیه خود در سال ۲۰۰۶ (۲۲)، RNA-seq به سرعت مرز ریزآرایه‌های بیان ژن را برای پروفایل رونویسی در مقیاس وسیعی جابجا کرده است و اکنون فناوری برتر و دلخواه در بسیاری از آزمایشگاه‌ها است. گردش کار معمول RNA-seq شامل پنج مرحله (۱۱)

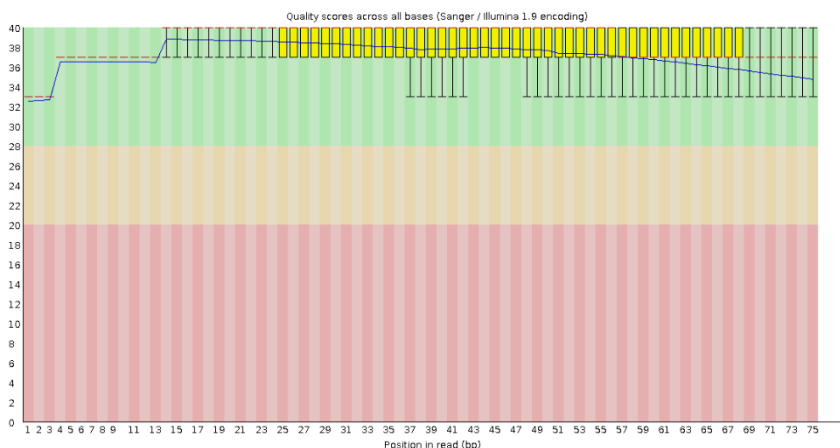
ترانسکریپتوم با ژنوم مرجع گاو (۲۳) از نرم‌افزارهای Hisat2 نسخه ۲/۲/۱ گالاکسی (۱۷)، Tophat2 نسخه ۲/۱/۱ گالاکسی (۱۸) و Bowtie2 نسخه ۲/۴/۲ گالاکسی (۲۰) استفاده شد. ژنوم مرجع گاو نسخه Bos_taurus_UMD_3.1.1 (bostau8) نتیجه نمونه ترکیب شده خون گاوهای نر و ماده نژاد هرفورد است که با عمق خوانش 9X با استفاده از فناوری سانجر^۵ در تاریخ ۲۵ نوامبر ۲۰۱۴ معرفی شده است دارای ۲,۶۴۰,۱۳۳,۳۱۰ جفت باز است که بر روی ۳۰ کروموزوم تعیین نقشه شده و شامل ۳۰,۸۱۱ ژن است که از این تعداد ۲۱,۰۸۹ ژن کدکننده^۶ و ۵,۵۲۰ ژن غیر کدکننده^۷ می‌باشند (۲۳). نتایج حاصل از هم‌ترازی به‌صورت درصد کل توالی هم‌تراز شده، درصد توالی‌های هم‌تراز شده مختص به یک جایگاه و درصد توالی‌های هم‌تراز شده به بیش از یک جایگاه برای هر نرم‌افزار گزارش شده است.

نتایج و بحث

سنجش کیفیت داده‌هایی با خوانش دوطرفه به‌طور جداگانه با ۱۰ آزمون مختلف شامل: کیفیت توالی نوکلئوتیدی به ازای هر باز^۸، کیفیت توالی نوکلئوتیدی به ازای هر کاشی^۹، امتیاز کیفیت به ازای توالی نوکلئوتیدی^{۱۰}، محتوای توالی نوکلئوتیدی به ازای هر باز^{۱۱}، محتوای GC به ازای توالی نوکلئوتیدی^{۱۲}، محتوای باز خوانده نشده (N) به ازای هر باز^{۱۳}، توزیع طول توالی‌ها نوکلئوتیدی^{۱۴}، سطوح تکراری توالی نوکلئوتیدی^{۱۵}، توالی‌هایی موجود بیش‌ازحد^{۱۶}، محتوای آداپتوری^{۱۷} است که نتایج هر آزمون به‌طور جداگانه و به‌صورت گرافیکی ارائه می‌گردد. وضعیت قبول، رد یا سطح هشدار برای آزمون‌های ۱۰ گانه ملاک سنجش کیفیت داده‌ها می‌باشد ولی پارامتر کیفیت توالی به ازای هر باز از اهمیت بیشتری برخوردار هست؛ که به‌عنوان مثال نتیجه تعیین کیفیت یکی از تکرارهای باروری زیاد در شکل ۱ آورده شده است. با توجه به کیفیت بالای داده حاصل از تعیین توالی به روش NGS^{۱۸} و با توجه به اینکه باقیمانده آداپتورهای الصافی تعیین توالی نیز در داده خام وجود نداشت نتایج مرحله بعد از ویرایش با نرم‌افزار Trimmomatic (۷) نشان داد که تنها ۰/۸۷ درصد داده‌ها حذف و در حدود ۹۹/۱۳ درصد داده خام برای هم‌ترازی با ژنوم مرجع استفاده گردیده است این در حالی است که حذف داده با کیفیت پایین می‌تواند به‌مراتب بیشتر از این مقدار باشد (۳).

شکم زایش ۲ به بالا که بر اساس عملکرد باروری به دو گروه با باروری زیاد (فاصله گوساله‌زایی کمتر از ۳۵۰ روز، روزهای باز کمتر از ۷۰ روز و تعداد تلقیح منجر به آبستنی کمتر از ۱/۳) و باروری کم (فاصله گوساله‌زایی بیشتر از ۴۵۰ روز، روزهای باز بیشتر از ۱۵۰ روز و تعداد تلقیح منجر به آبستنی بیشتر از ۳) تقسیم شده بودند استفاده شد. تمام این نمونه‌ها از دام‌هایی که مدیریت یک سانی در گاوداری هلدینگ شیرین عسل در آن‌ها صورت گرفته است انتخاب شدند. پس از کشتار مجاری تولیدمثلی (بافت اندومتریم، جسم زرد و تخمدان‌ها) بر روی یخ منتقل و بعد از ۱۵ دقیقه از کشتار قطعه قطعه شدند و در فریزر و دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای فرایندهای بعدی ذخیره شدند. حدود ۳۰ میلی‌گرم از هر بافت آسیاب شده و فوراً با بافر RLT کیت استوانه کوچک RNeasy (Qiagen, Sao Paulo, SP, Brazil) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده مخلوط شد. استخراج RNA بر اساس روش ستونی، مطابق با دستورالعمل انجام شد. غلظت RNA تام در محصول با استفاده از روش اسپکتروفتومتری تعیین شد. یکپارچگی RNA^۱ کل استخراج شده بر پایه عدد یکپارچگی RNA در محدوده ۸/۳ الی ۸/۷ قرار گرفته بودند (۲۴). برای از بین بردن اثر شکم زایش و همچنین کاهش هزینه‌های تعیین توالی، RNA حاصل از ۳ رأس گاو با شکم‌های زایش مختلف و باروری مشابه با همدیگر ترکیب شده و در مجموع ۱۸ نمونه جهت ارسال برای توالی‌یابی RNA تهیه شد؛ که برای هر گروه با باروری کم و زیاد ۳ تکرار از هر ۳ بافت مختلف تعیین توالی شدند. RNA استخراج شده جهت تعیین توالی کل RNA به شرکت BGI^۲ چین ارسال شد. تعیین توالی RNA با استفاده از Illumina HiSeq 2500 به روش خوانش دوطرفه^۲ تولید شد که طول هر خوانش ۷۵ جفت باز بود. داده‌های خام در فرمت Fastq به حجم تقریبی ۲۹ گیگابایت و در حدود ۶۸۵ میلیون جفت باز دریافت شد و تمامی مراحل آماده‌سازی و تجزیه و تحلیل آن‌ها در پلتفرم گالاکسی نسخه ۲۲۴/۰/۱ انجام گرفت (۶). سنجش کیفیت داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار FastQC نسخه ۰/۷۳ گالاکسی صورت گرفت (۱). برای نمونه‌هایی که دارای کیفیت پایین بر اساس معیارهای ده‌گانه نرم‌افزار FastQC بودند از نرم‌افزار Trimmomatic نسخه ۰/۳۸/۰ گالاکسی جهت حذف توالی‌هایی با کیفیت پایین و همچنین حذف آداپتورهایی که در هنگام تعیین توالی به ابتدای خوانش‌ها اضافه شده بودند استفاده شد (۷). برای مکان‌یابی خوانش‌های

| | | | |
|------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| 1-RNA Integrity Number (RIN) | 2- Beijing Genomics Institute | 3- Paired-End | 4- https://usegalaxy.org/22.01 |
| 5- Sanger | 6- Protein Coding | 7- None Coding | 8- Per base sequence quality |
| 9- Per tile sequence quality | 10- Per sequence quality scores | 11- Per base sequence content | 12- Per sequence GC content |
| 13- Per base N content | 14- Sequence Length Distribution | 15- Sequence Duplication Levels | 16- Overrepresented sequences |
| 17- Adapter Content | 18- Next Generation Sequencing (NGS) | | |



شکل ۱- نتیجه آزمون کیفیت توالی به ازای هر باز
Figure 1. Per base sequence quality score results

می‌رود در خصوص داده‌های RNA کارایی ندارد. همان‌گونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود بیشترین میزان مکان‌یابی مختص به یک جایگاه ویژه بر روی ژنوم مرجع (۸۹/۲۰۲ درصد خوانش‌های کل) با استفاده از نرم‌افزار Hisat2 صورت گرفته است که هر چند اختلاف آماری با عملکرد نرم‌افزار Tophat2 (۸۷/۸۱۲ درصد از کل خوانش‌ها) ندارد، لیکن توانسته است عمل مکان‌یابی بر روی ژنوم مرجع را با تخصیص بیشتری انجام دهد که می‌تواند بر نتایج حاصل از آنالیزهای پایین‌دستی تأثیرگذار باشد. نتایج نشان داد که تنها ۳/۳۲۴ درصد از کل خوانش‌ها در نرم‌افزار Hisat2 به بیش از یک جایگاه روی نقشه ژنوم مرجع متصل شده است که این عدد در مورد Tophat2 ۶/۳۸۵ درصد بوده است، لذا ویژگی ممتاز نرم‌افزار Hisat2 در عملکرد تخصیصی آن در ارتباط با هم‌ترازی خوانش‌های حاصل از داده‌های RNA-Seq با ژنوم مرجع می‌باشد.

نتایج حاصل از هم‌ترازی با ژنوم مرجع نشان داد که به‌طور میانگین ۸۵/۴۷۰ درصد از توالی ترانسکرپتومی توسط نرم‌افزارهای مختلف بر روی ژنوم مرجع مکان‌یابی شدند که ۷۶/۹۶۱ درصد مربوط به اتصال و تعیین جایگاه به یک محل اختصاصی بر روی ژنوم مرجع هست و ۸/۵۰۹ درصد به بیش از ۱ جایگاه در ژنوم مرجع متصل شده است (جدول ۱). با توجه به نتایج درج شده در جدول مشاهده می‌گردد که نرم‌افزار Tophat2 درصد بیشتری از خوانش‌ها را (۹۴/۱۹۷) بر روی ژنوم مرجع مکان‌یابی نموده است که اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۰۱ با دو نرم‌افزار دیگر داشت که می‌تواند در آنالیز نواحی غیر کد کننده مانند miRNA مفید باشد (۴). سهم نرم‌افزار Hisat2 از درصد مکان‌یابی کل خوانش‌ها بر روی ژنوم مرجع ۹۲/۵۲۶ می‌باشد که از لحاظ عملکردی در جایگاه دوم قرار گرفت. ولی آنچه مشخص است نرم‌افزار Bowtie2 که برای هم‌ترازی داده‌های DNA بر روی ژنوم مرجع به کار

جدول ۱- درصد هم‌ترازی کل، هم‌ترازی به یک جایگاه اختصاصی و هم‌ترازی به بیش از یک جایگاه در نرم‌افزارهای مختلف
Table 1. The percentage of total alignment, alignment to a specific position and alignment to more than one position in different softwares

| Software | Sample No | Total Mapped (%) | One position Mapped (%) | More than one position Mapped (%) |
|-----------|-------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| نرم‌افزار | تعداد نمونه | درصد مکان‌یابی کل | درصد مکان‌یابی به ۱ جایگاه | درصد مکان‌یابی به بیش از ۱ جایگاه |
| Hisat2 | 18 | 92.526 (1.338) ^b | 89.202 (1.466) ^a | 3.324 (0.752) ^a |
| Tophat2 | 18 | 94.197 (1.305) ^a | 87.812 (1.450) ^b | 6.385 (0.484) ^b |
| Bowtie2 | 18 | 69.688 (1.308) ^c | 53.871 (1.045) ^c | 15.817 (1.346) ^c |
| Total | 54 | 85.470 (11.359) | 76.961 (16.543) | 8.509 (5.444) |
| SEM | | 0.179 | 0.182 | 0.127 |
| Sig | | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

درصد توسط همین نرم‌افزار حاصل شده است (۲۱). در تحقیقی که روی بافت شکمبه در مراحل از شیرگیری در گاو صورت گرفته است از مجموع حدود ۴۳ میلیون خوانش، تقریباً ۹۵ درصد از خوانش‌ها با استفاده از نرم‌افزار STAR در ژنوم مرجع گاو مکان‌یابی شده بود (۸). مقایسه انجام یافته در مطالعه Raplee و همکاران (۲۸) در تحقیقات بالینی سرطان پستان نشان داد که Hisat2 مستعد خوانش‌های نادرست در مکان‌های ژنومی رتروژن^۱ بوده و STAR ترازهای دقیق‌تری را برای نمونه‌های اولیه نئوپلازی^۲ ایجاد کرده بود.

در مطالعه دیگری تعداد ژن‌هایی که بر روی ژنوم مرجع در مطالعه بیان افتراقی متفاوت حاصل شده بود در نرم‌افزار STAR بیشتر از نرم‌افزار Hisat2 بود (۸). میزان مکان‌یابی خوانش‌ها به ژنوم مرجع از ۷۵/۲۷ الی ۹۲/۰۹ درصد در بیماری تنفسی گاو متغیر بوده و به‌طور متوسط تقریباً ۲۵ میلیون خوانش به‌طور منحصربه‌فرد در هر نمونه از طریق STAR هم‌تراز شده بود (۱۶). درحالی‌که مکان‌یابی توالی با ژنوم گاو در یک جایگاه اختصاصی در تمامی نمونه‌های پاراتوبوکلوزیس^۱ در نمونه‌های بافتی گاو از ۸۱/۳۵-۹۳/۱۳

1- Paratuberculosis

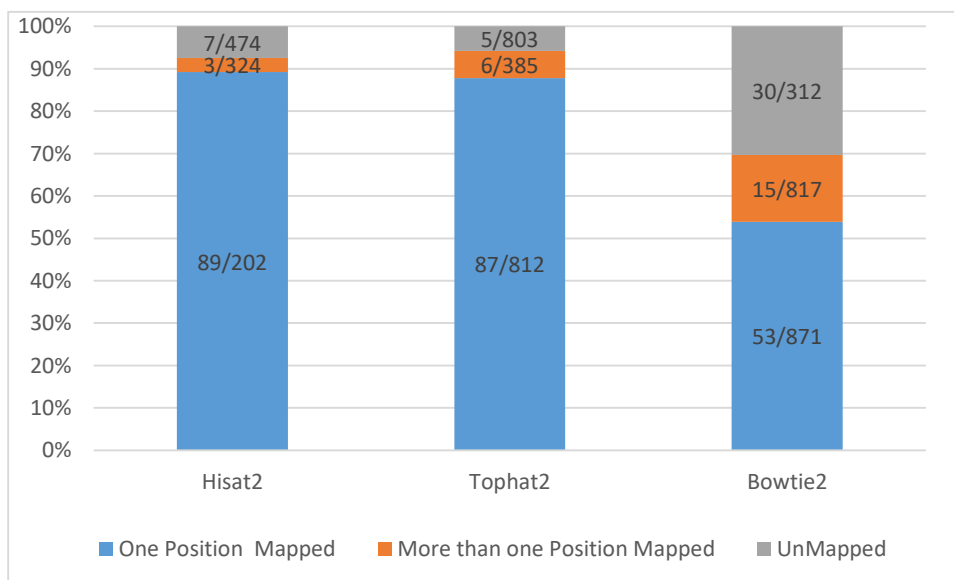
2- Retrogene

3- Neoplasia

میزان مکان‌یابی با ژنوم مرجع در گروه بیماران با اختلال افسردگی اساسی^۱ (MDD) با میانگین ۹۲٫۷۹٪ در گروه بیماران با اختلال افسردگی اساسی منجر به خودکشی^۲ MDD-S ۹۲/۴۶ درصد و در گروه سالم و کنترل ۹۳/۹۷ درصد بود (۳۰). درصد کل مکان‌یابی شده با استفاده از همین نرم‌افزار به ژنوم مرجع در داده‌های حاصل از RNA-Seq تخمدان گاو بومی Xiangxi ۹۵/۰۳ بود که میزان مکان‌یابی به یک جایگاه اختصاصی ۹۲/۶۵ درصد و میزان مکان‌یابی به بیش از یک جایگاه ۲/۳۴ درصد گزارش شده است (۹). توالی‌یابی کتابخانه‌ای رونوشت‌های کبد و طحال در مرغ‌های مبتلا به سالمونلا نشان داد که از ۴۶/۹۵ میلیون خوانش ترانسکریپتوم کبد، ۴۳/۷۶ میلیون خوانش (۹۲/۸۲ درصد) مراحل کیفیت خوانش را پشت سر گذاشتند و در مجموع ۴۱/۴۶ میلیون خوانش (۹۴/۷۴ درصد) به ژنوم مرجع مرغ مکان‌یابی اختصاصی شده بودند. از ۴۱٫۷۴ میلیون خوانش نمونه‌های طحال نیز، ۳۸/۶۵ میلیون خوانش (۹۲/۲۴ درصد) مرحله کنترل کیفیت را پشت سر گذاشتند و در مجموع ۳۵/۴۵ میلیون خوانش (۹۱/۷۲ درصد) با ژنوم مرجع توسط نرم‌افزار Hisat2 هم‌تراز شدند (۱۲). بهرامی (۴) نتایج مشابهی را با استفاده از داده‌های شبیه‌سازی شده ژنوم انسان حاصل نمود و گزارش کرد که نرم‌افزار Hisat2 دارای حساسیت بیشتری در خصوص هم‌ترازی داده‌ها بوده و از حافظه کمتری نسبت به نرم‌افزارهای دیگر استفاده می‌کند. علاوه بر این دارای دقت و صحت بالاتری برای هم‌ترازی به ژنوم مرجع می‌باشد. لذا پیشنهاد کرد که برای هم‌ترازی آنالیزهای RNA-Seq بر روی ژنوم مرجع از Hisat2 استفاده شود.

در تحقیق روی گاوهای دورگ حاصل از سیستانی و مونتلیارد مکان‌یابی خوانش‌ها به ژنوم مرجع با استفاده از نرم‌افزار Tophat2 نشان داد که ۷۰/۵-۸۰/۶ درصد خوانش‌ها بر روی ژنوم مرجع مکان‌یابی شدند که درصد خوانش‌های مکان‌یابی شده بر روی یک جایگاه در ژنوم مرجع حدود ۷۲/۹-۷۸/۱ درصد بود (۲). در بررسی بر روی بافت چربی احشایی و زیر جلدی مکان‌یابی شده با ژنوم مرجع برای هر نمونه با استفاده از نرم‌افزار Tophat2 در مجموع ۶۵،۷۰۲،۵۶۸ خوانش برای SAT و ۷۶،۸۳۲،۴۱۰ خوانش برای VAT از داده‌های RNA-seq پس از کنترل کیفیت به دست آمد که تقریباً ۶۰٪ از قرائت‌های معتبر به ژنوم مرجع مکان‌یابی شده است (۱۴). پس از مکان‌یابی خوانش‌ها به ژنوم مرجع نوعی تمساح با استفاده از Tophat2 مشخص شد که این عملکرد از ۶۱/۲۶ درصد تا ۸۶/۸۳ درصد متفاوت بوده است (۲۵). بیشترین درصد هم‌ترازی خوانش‌ها به ژنوم مرجع توسط نرم‌افزار TopHat2 در مطالعه رویان گاو حاصل شده است و نتایج نشان داد که میزان هم‌ترازی به ژن مرجع گاوی در هر مرحله ۹۳/۱۷ تا ۹۴/۲۳ و نسبت تعداد توالی به موقعیت‌های چندگانه ژنوم از ۲/۹۹ الی ۴/۸۹ درصد بوده است (۳۱). نتایج مطالعه بهرامی (۴) نیز نشان داد که پس از نرم‌افزارهای Tophat2 و Hisat2، نرم‌افزار STAR می‌تواند جهت هم‌ترازی داده‌های ترانسکریپتوم مورد استفاده قرار گیرد و Bowtie2 کارایی کمتری در این خصوص دارد.

غلامی طاحونه و مرادی شهربابک (۱۵) بیش از ۹۰٪ خوانش‌ها را توسط نرم‌افزار Hisat2 بر روی ژنوم مرجع گاوی مکان‌یابی نمودند. هم‌ترازی با Hisat2 بر روی نمونه‌های بالینی انسان که دچار افسردگی اساسی بودند نشان داد که



شکل ۲- نمودار انباشته داده‌های هم‌ترازی به ژنوم مرجع توسط نرم‌افزارهای Hisat2، Tophat2 و Bowtie2
Figure 2. Cumulative chart of alignment data to the reference genome by Hisat2, Tophat2 and Bowtie2 softwares

تجزیه و تحلیل RNA-seq است و تمام تحلیل‌های بعدی عمیقاً به این مرحله اولیه متکی است (۱۰). معمولاً،

با توجه به این که پس از بررسی‌های اولیه کنترل کیفیت روی خروجی خام از توالی‌یابی، هم‌ترازی اولین مرحله در

برنامه‌های مختلف (۲۸)، نشان می‌دهد که یک برنامه هم‌ترازی مشخص را نمی‌توان به‌طور عمومی برای مجموعه داده‌های RNA-seq اعمال کرد. در حالی که پیشرفت‌های قابل توجه در فناوری توالی‌یابی، طول خوانش‌های نوکلئوتید خروجی را به بیش از ۳۰۰ نوکلئوتید افزایش داده است، ممکن است دقت هم‌ترازی افزایش پیدا کند. با توجه به افزایش استفاده از RNA-seq برای تشخیص ژن‌های عملکردی، محققان زیستی باید پایه و اساس قوی‌تری در ابزارهای بیوانفورماتیک و مسیرهای تجزیه و تحلیل داده‌های RNA-seq به منظور تولید نتایج با اطمینان بیشتر منظور نمایند. اگر چه هزینه و زمان مورد نیاز برای تجزیه و تحلیل رونوشت با توسعه توالی‌یابی نسل جدید تا حد زیادی کاهش یافته است، اما نتایج حاصل از این تحقیق بر اهمیت تأثیر ابزارهای بیوانفورماتیک برای هم‌ترازی توالی‌ها که هدف این مطالعه بود، تأکید می‌کند. فلذا پیشنهاد می‌شود که جهت انجام آنالیزهای پایین دستی صحیح، داده‌های ترانسکریپتوم توسط نرم‌افزار Hisat2 با ژنوم مرجع هم‌تراز شوند.

قرائت‌های به‌دست‌آمده از توالی‌یابی، نقشه‌برداری می‌شوند و با یک ژنوم مرجع تراز می‌شوند که به‌ویژه به دلیل وجود قرائت‌های خروجی در اتصالات اگزون-اگزون، مستعد خطا برای داده‌های RNA-Seq است. متداول‌ترین پلتفرم‌های نرم‌افزاری موجود برای نگاشت به ژنوم مرجع (Tophat2، Hisat2 و STAR) اتصالات را شناسایی می‌کنند. این پلتفرم‌ها در سرعت محاسباتی و استفاده از حافظه و در الگوریتم‌های شان برای رسیدگی به دقت هم‌ترازی پایه و اتصال متفاوت هستند. در حال حاضر استفاده از Tophat2 کمتر شده است و به دلیل کارآمدی محاسباتی نسبی توسط Hisat2 جایگزین شده است علیرغم اینکه TopHat2 و Hisat2 بر اساس برنامه مکان‌یابی کوتاه خوانش Bowtie2 ساخته شده‌اند (۱۹).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق به‌وضوح نشان می‌دهد که هم‌ترازی صحیح با ژنوم مرجع نقش بزرگی در نتایج تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی، به‌ویژه برای شناسایی بیان ژن‌های افتراقی دارد. این نتایج، همراه با سایر آزمون‌های مقایسه‌ای

منابع

1. Andrews, S. 2010. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data.
2. Asgari Esfedan, B., G.R. Dashab, M.H. Banabazi and M. Rokouei. 2022. The effect of crossbreeding by the Montbeliard cattle on the transcriptome of the Sistani cattle. *Research on Animal Production (Scientific and Research)*, 12(31): 134-145.
3. Attari, M., H. Moradi Shahrabak, G. Nehzati Paghale, M. H. Banabazi and M. Hashemi. 2019. Study of differential gene expression in queen, drone and worker honey bee using RNA-seq data. *Iranian Journal of Animal Science*, 50(2): 103-113.
4. Bahrami, A. 2020. Which aligner software is the best for our study. *Journal of Genetics and Genome Research*, 7, 048.
5. Bainbridge, M.N., R.L. Warren, M. Hirst, T. Romanuik, T. Zeng, A. Go and V. Magrini. 2006. Analysis of the prostate cancer cell line LNCaP transcriptome using a sequencing-by-synthesis approach. *BMC Genomics*, 7(1): 1-11.
6. Blankenberg, D., A. Gordon, G. Von Kuster, N. Coraor, J. Taylor, A. Nekrutenko and G. Team. 2010. Manipulation of FASTQ data with Galaxy. *Bioinformatics*, 26(14): 1783-1785.
7. Bolger, A.M., M. Lohse and B. Usadel. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15): 2114-2120.
8. Boschiero, C., Y. Gao, R.L. Baldwin, L. Ma, C.J. Li and G.E. Liu. 2022. Differentially CTCF-binding sites in cattle rumen tissue during weaning. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16): 9070.
9. Cheng, H., S. Ao, L. Yun, S. Weihong, L. Hong, L. Jianbo and Y. Kangle. 2022. RNA-Seq transcriptome analysis to unravel the gene expression profile of ovarian development in Xiangxi cattle. *Pakistan Veterinary Journal*, 42(2): 222-228.
10. Conesa, A., P. Madrigal, S. Tarazona, D. Gomez-Cabrero, A. Cervera, A. McPherson and X. Zhang. 2016. A survey of best practices for RNA-seq data analysis. *Genome Biology*, 17(1): 1-19.
11. Covert, M.W., C.H. Schilling, I. Famili, J.S. Edwards, I.I. Goryanin, E. Selkov and B.O. Palsson. 2001. Metabolic modeling of microbial strains in silico. *Trends in Biochemical Sciences*, 26(3): 179-186.
12. Dar, M.A., S.M. Ahmad, B.A. Bhat, T.A. Dar, Z. Haq, B.A. Wani and N.A. Ganai. 2022. Comparative RNA-Seq analysis reveals insights in Salmonella disease resistance of chicken; and database development as resource for gene expression in poultry. *Genomics*, 114(5): 110475.
13. Dobin, A., C.A. Davis, F. Schlesinger, J. Drenkow, C. Zaleski, S. Jha and T. R. Gingeras. 2013. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*, 29(1): 15-21.
14. Duan, X., Y. Liu, X. Zhang and H. Zhao. 2022. Transcriptional features of cattle visceral and subcutaneous adipose tissues: a study of RNA-seq. *Open Journal of Animal Sciences*, 12(3): 441-453.
15. Gholami Tahoee, M. and H. Moradi SharBabak. 2022. Differential genes expression of blood tissue related to pre-calving ketosis in holstein cow using transcriptomics data. *Research on Animal Production (Scientific and Research)*, 13(36): 147-153 (In Persian).

16. Jiminez, J., E. Timsit, K. Orsel, F. Van der Meer, L.L. Guan and G. Plastow. 2021. Whole-blood transcriptome analysis of feedlot cattle with and without bovine respiratory disease. *Frontiers in Genetics*, 12: 627623.
17. Kim, D., B. Langmead and S.L. Salzberg. 2015. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. *Nature Methods*, 12(4): 357-360.
18. Kim, D., G. Pertea, C. Trapnell, H. Pimentel, R. Kelley and S. L. Salzberg. 2013. TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biology*, 14(4): 1-13.
19. Langmead, B. and S.L. Salzberg. 2012. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*, 9(4): 357.
20. Langmead, B., C. Trapnell, M. Pop and S.L. Salzberg. 2009. Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biology*, 10(3): 1-10.
21. Li, H., J. Huang, J. Zhang, Y. Gao, B. Han and D. Sun. 2022. Identification of alternative splicing events associated with paratuberculosis in dairy cattle using multi-tissue RNA sequencing data. *Genes*, 13(3): 497.
22. McGettigan, P., J. Browne, S. Carrington, M. Crowe, T. Fair, N. Forde and K. Pluta. 2016. Fertility and genomics: comparison of gene expression in contrasting reproductive tissues of female cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 28(2): 11-24.
23. Merchant, S., D.E. Wood and S.L. Salzberg. 2014. Unexpected cross-species contamination in genome sequencing projects. *Peer Journal*, 2: e675.
24. Mesquita, F., R. Ramos, G. Pugliesi, S. Andrade, V. Van Hoeck, A. Langbein and H. Fukumasu. (2016). Endometrial transcriptional profiling of a bovine fertility model by next-generation sequencing. *Genomics Data*, 7: 26-28.
25. Nie, H., Y. Zhang, S. Duan, Y. Zhang, Y. Xu, J. Zhan and X. Wu. 2022. RNA-Sequencing Analysis of Gene-Expression profiles in the dorsal gland of alligator sinensis at different time points of embryonic and neonatal development. *Life*, 12(11): 1787.
26. Pertea, M., G.M. Pertea, C. M. Antonescu, T.C. Chang, J.T. Mendell and S.L. Salzberg. 2015. StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads. *Nature Biotechnology*, 33(3): 290-295.
27. Preuss, T.M., M. Caceres, M.C. Oldham and D.H. Geschwind. 2004. Human brain evolution: insights from microarrays. *Nature Reviews Genetics*, 5(11): 850.
28. Raplee, I.D., A.V. Evsikov and C. Marín de Evsikova. 2019. Aligning the Aligners: Comparison of RNA sequencing data alignment and gene expression quantification tools for clinical breast cancer research. *Journal of Personalized Medicine*, 9(2): 18.
29. Trapnell, C., B.A. Williams, G. Pertea, A. Mortazavi, G. Kwan, M.J. Van Baren and L. Pachter. 2010. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. *Nature Biotechnology*, 28(5): 511-515.
30. Verma, P. and M. Shakya. 2021. Transcriptomics and sequencing analysis of gene expression profiling for major depressive disorder. *Indian Journal of Psychiatry*, 63(6): 549.
31. Wang, J., J. Z. Di Fang, F. Huang, B. Liu, W. Tao, B. Cui and Q. Gao. 2022. Transcriptome analysis of cattle embryos based on single cell RNA-Seq. *Pakistan Journal of Zoology*, 1-8.
32. Yang, I.S. and S. Kim. 2015. Analysis of whole transcriptome sequencing data: workflow and software. *Genomics and Informatics*, 13(4): 119.

Comparison of some Alignment Software in the Analysis of Dairy Cows RNA-Seq Data

Ghorban Elyasi Zarringhabaie¹, Mostafa Sadeghi² and Seyed Reza Miraie Ashtiani³

1- Ph.D. Candidate, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, (Corresponding author: gh.elyasi@ut.ac.ir)

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

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

Received: 12 September, 2022 Accepted: 18 December, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Due to the increasing use of next generation sequencing (NGS), it is necessary to use specialized algorithms and software to perform statistical analysis in order to identify functional genes. Alignment of reads with the reference genome is the first and most important step in most RNA-Seq data analysis programs, and the accuracy of downstream analyzes effectively depends on this step. Therefore, the aim of this research was to compare some different software for aligning the data obtained from total RNA sequencing on the reference genome.

Material and Methods: RNA-Seq data related to 54 Holstein dairy cows raised in industrial conditions were used to identify genes effective in fertility. The quality of the reads was determined by FastQC software and editing of low quality sequences was done using Trimmomatic software. The edited data were aligned with bovine reference genome using Bowtie2, Tophat2 and Hisat2 softwares. The total percentage of mapped reads, the percentage of mapped reads on one location in the reference genome, and the percentage of mapped reads on more than one location were calculated.

Results: The results showed that the most alignment was done on the cow reference genome using Tophat2 software. which mapped 94.197% of the From the total available reads, 94.197% and 92.526% were mapped on the reference genome by Tophat2 and Hisat2 software, respectively. The Hisat2 software had more allocation function and mapped 89.202% of the data to a specific position, while this parameter was 87.812% of the total sequences for Tophat2 software. From the total used sequences, only 3.324% and 6.385% of the sequences were aligned by Hisat2 and Tophat2 software respectively to more than one position of the reference genome. Bowtie2 software had low performance compared to other two software.

Conclusion: The comparison of RNA-Seq data alignment software on the reference genome showed that although the Hisat2 swas the best read mapping software but, Tophat2 software can also be used instead in RNA-seq data analysis. Meanwhile, Bowtie2 software is not very effective in relation to RNA-Seq data.

Keywords: Gene expression, Mapping, Omix, Reference Genome and Sequencing



"مقاله پژوهشی"

اثر خطای شجره بر وراثت‌پذیری و صحت پیش‌بینی ارزش اصلاحی در صفات آستانه‌ای

میثم لطیفی^۱ و یوسف نادری^۲

۱- محقق مستقل، دکترای ژنتیک و اصلاح نژاد دام از دانشگاه کردستان، کردستان، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، واحد آستارا، دانشگاه آزاد اسلامی، آستارا، ایران، (نویسنده مسوول: Youssef.Naderi@iau.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۵/۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۷

صفحه: ۱۳۹ تا ۱۴۴

چکیده مسبوط

مقدمه و هدف: تشکیل کامل ماتریس روابط خویشاوندی، یک اصل مهم برای دستیابی به نتایج قابل اعتماد در ارزیابی‌های ژنتیکی می‌باشد. دو نوع خطای شجره شامل ثبت اطلاعات ناصحیح و گم شدن اطلاعات ثبتی منجر به کاهش قابلیت مدل دام در روش‌های سنتی می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، اثر سطوح مختلف نقص اطلاعات شجره شامل پدری، مادری و هر دو والدین (پدری و مادری به طور همزمان) بر مقدار وراثت‌پذیری، صحت ارزیابی و پیش‌بینی ارزش اصلاحی در صفات آستانه‌ای بود.

مواد و روش‌ها: صفتی محدود به جنس با وراثت‌پذیری ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ ایجاد شد. به منظور ایجاد فنوتیپ‌های آستانه‌ای صفت چندقلوزایی، ۲۰ درصد از فنوتیپ‌های بالا دو و ۸۰ درصد باقی‌مانده یک در نظر گرفته شد. نسبت‌های مختلفی از نقص شجره پدری (صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰)، نقص شجره مادری (صفر، ۵ و ۱۰) و ترکیبی از هر دو (نقص شجره پدری و مادری به طور همزمان) ایجاد شد. یک مدل آستانه‌ای در نظر گرفته شد. وراثت‌پذیری، ارزش‌های اصلاحی و صحت ارزیابی با روش آماری بیز برآورد شد.

یافته‌ها: با معرفی سطوح مختلف نقص شجره به شجره کامل مقدار وراثت‌پذیری کاهش یافت. برای وراثت‌پذیری ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ کمترین مقدار وراثت‌پذیری به دست آمده به ترتیب ۰/۰۱۸، ۰/۰۸۴ و ۰/۱۶ بود. در شجره کامل، کمترین و بیشترین مقدار صحت ارزیابی به ترتیب ۰/۳۷۵ (۰/۰۵) و ۰/۵۲۱ (۰/۲) بود. کمترین مقدار صحت ارزیابی برای وراثت‌پذیری ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ به ترتیب ۰/۳۰۹ (نقص شجره پدری ۱۰ درصد و مادری ۱۰ درصد)، ۰/۳۵۳ (نقص شجره پدری ۲۰ درصد و مادری ۱۰ درصد) و ۰/۴۵۹ (نقص شجره پدری ۵ درصد و مادری ۱۰ درصد) بود. همچنین معرفی نقص شجره در سطوح مختلف منجر به کاهش میانگین ارزش اصلاحی شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد، در مقایسه با نقص شجره پدری یا مادری به صورت مجزا، نقص شجره پدری و مادری به صورت توأم، برآورد ارزیابی‌های ژنتیکی را بیشتر کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: ارزش اصلاحی، روش بیزی، صفت محدود به جنس

مقدمه

برآورد وراثت‌پذیری، اجزاء واریانس و پارامترهای ژنتیکی برای تعیین پیشرفت ژنتیکی و بهبود صفات کمی حائز اهمیت می‌باشد (۳). این بهبود و پیشرفت ژنتیکی می‌تواند از طریق انتخاب حیوانات برتر به عنوان والدین نسل آینده براساس شایستگی ژنتیکی آنها برای صفات مورد نظر صورت گیرد (۶). به منظور پیش‌بینی ارزش اصلاحی و برآورد پارامترهای ژنتیکی در گیاهان و حیوانات از روش BLUP به وفور استفاده شده است (۱۳). فرض اساسی در این روش، شناخت روابط خویشاوندی افراد یا به زبان ساده، ثبت شجره حیوانات به طور صحیح می‌باشد (۴). تشکیل کامل ماتریس روابط خویشاوندی، یک اصل مهم برای دستیابی به نتایج قابل اعتماد در ارزیابی‌های ژنتیکی حیوانات مزرعه‌ای تحت روش‌های متداول و به تبع آن موفقیت در برنامه‌های اصلاح نژادی است (۲۳). ثبت ناقص شجره، منجر به کاهش قابلیت مدل دام برای انتخاب غیر تصادفی حیوانات به عنوان والدین برای نسل بعد می‌شود.

در مطالعات متعددی درصد خطای شجره در جمعیت‌های مختلف گاو شیری و گوسفند گزارش شده است. برای نمونه خطای شجره، در گاوهای شیری دانمارک بین ۵ الی ۱۵ درصد، در انگلستان ۱۰ درصد، در اسرائیل حدود ۵ درصد و در آلمان بین ۳ تا ۲۳ درصد گزارش شده است (۷، ۹، ۱۸، ۲۴). خطای شجره نیز در گوسفندان نژاد برولا و اینوردل به ترتیب ۲/۵ و ۵ درصد (۸)، در نژاد مرینو ۸/۷ الی ۱۵/۵ درصد (۵)،

در گوسفند شیری ایتالیا ۲۰ درصد (۱۹) گزارش شده است. به طور کلی دو نوع نقص شجره، شامل ثبت اطلاعات ناصحیح (ثبت شماره اشتباه والدین) و گم شدن اطلاعات ثبتی شجره (نبودن اطلاعات والدین)، پیش‌بینی ارزش اصلاحی و پاسخ به انتخاب را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۲).

بیشتر مطالعات اثر خطای شجره را بر صفات کمی پیوسته مورد بررسی قرار داده‌اند. عباسی (۱) با شبیه‌سازی دو صفت با وراثت‌پذیری ۰/۱۵ و ۰/۳ به بررسی اثر خطای شجره پدری (در سطوح مختلف شامل ۱۰، ۲۰، الی ۱۰۰ درصد) با دو روش تصادفی و متوالی پرداخت. نتیجه مطالعه نامبرده نشان داد، که در روش حذف تصادفی، کاهش روندهای ژنتیکی در درصدهای حذف اولیه شدیدتر بوده و در حذف‌های بالاتر کمتر می‌باشد، در حالی که در روش حذف متوالی تغییرات یکنواخت‌تر بود. پیشرفت ژنتیکی سالانه نیز در تمام این حالت‌ها با افزایش درصد حذف شجره پدری به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش نشان داد. در تحقیقی دیگر، اثر سطوح مختلف خطای شجره بر پیشرفت ژنتیکی و صحت ارزیابی در صفات کیفیت لاشه گاوهای کره، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این محققین نشان داد، صحت ارزیابی، پیشرفت ژنتیکی و مقدار وراثت‌پذیری با افزایش میزان خطای شجره، کاهش می‌یابد (۱۵). بسیاری از صفات مهم تولیدی در حیوانات، مانند چند قلوزایی، سخت‌زایی و مقاومت در برابر بیماری، در توزیع گسسته (یا طبقه بندی شده) فنوتیپ‌هایی را ارائه می‌دهند که به آنها صفات آستانه‌ای می‌گویند (۲۵). این صفات

در این معادله A، ماتریس روابط خویشاوندی، I، ماتریس همانی، σ_a^2 ، واریانس ژنتیکی افزایشی و σ_e^2 ، واریانس باقیمانده بود. در ادامه، یک زنجیره‌ی نمونه برداری گیبس با ۲۵۰۰۰۰ دور تشکیل شد. دوره‌ی اول به عنوان دوره‌ی سوخته و فاصله‌ی نمونه‌برداری نیز ۱۰۰ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

برآورد وراثت‌پذیری در شجره کامل و سطوح مختلف نقص شجره در جدول (۱) گزارش شده است. بیشترین مقدار وراثت‌پذیری در شجره کامل به ترتیب برابر ۰/۴۵، ۰/۱ و ۰/۱۹ بود. با معرفی سطوح مختلف نقص شجره، مقدار وراثت‌پذیری در مقایسه با شجره‌ی کامل کاهش یافت. کاهش در برآورد مقادیر وراثت‌پذیری با معرفی سطوح مختلف نقص شجره در مطالعه حاضر با نتایج سایر مطالعات همخوانی داشت (۱۶، ۱۵). در مطالعه رزم کبیر و همکاران (۱۶) برای صفت تولید شیر در دوره اول شیردهی مقدار وراثت‌پذیری در شجره کامل ۰/۲۹ بود. در مطالعه‌ی نامبرده با معرفی درصد‌های مختلف نقص شجره مقادیر وراثت‌پذیری نسبت به شجره کامل کاهش یافت. مقادیر وراثت‌پذیری برای سطوح مختلف نقص شجره شامل ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ درصد به ترتیب ۰/۲۸، ۰/۲۸، ۰/۲۷، ۰/۲۷ و ۰/۲۶ بود.

در مطالعه حاضر، کاهش مقدار وراثت‌پذیری با افزایش سطوح نقص شجره از الگوی خاصی تبعیت نکرد. برای وراثت‌پذیری ۰/۰۵ کمترین مقدار وراثت‌پذیری ۰/۰۱۸ (در نقص شجره‌ی پدری ۱۵ درصد)، برای وراثت‌پذیری ۰/۱۰ کمترین مقدار وراثت‌پذیری ۰/۰۸۴ (در نقص شجره‌ی پدری ۵ درصد و مادری ۱۰ درصد) و برای وراثت‌پذیری ۰/۲۰ کمترین مقدار وراثت‌پذیری ۰/۱۶۸ (در نقص پدری ۱۰ درصد) بود. عدم تبعیت کاهش وراثت‌پذیری با افزایش درصد مقادیر نقص شجره در مطالعه حاضر با نتایج مطالعات انجام شده بر روی صفت کیفیت پوست در نژاد قره گل مطابقت دارد (۲۲). این محققین مقدار وراثت‌پذیری را در سطوح مختلف نقص شجره پدری شامل صفر (شجره کامل)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد به ترتیب ۰/۲۸، ۰/۲۳، ۰/۲۴، ۰/۱۶ و ۰/۴۲ برآورد کردند. مقدار وراثت‌پذیری برای انتخاب، در صفات چند ژنی بسیار مهم می‌باشد، زیرا انتخاب سبب می‌شود حیواناتی که بیشترین ارزش اصلاحی را دارند به عنوان والدین برای نسل بعد انتخاب شوند. زمانی که وراثت‌پذیری صفات کم باشد، مقادیر فنوتیپی عمدتاً مقدار کمی از ارزش‌های اصلاحی را نشان می‌دهند، در نتیجه انتخاب بهترین حیوان به عنوان والد برای نسل بعد دشوار می‌باشد (۱۷). بنابراین برای افزایش دقت انتخاب، به اطلاعات کامل در مورد حیوانات انتخاب شده نیاز می‌باشد (فنوتیپ و شجره)، چرا که فنوتیپ افراد ارتباط بالایی با ارزش اصلاحی دارد (۱۵).

وراثت‌پذیری پایینی دارند و پیشرفت ژنتیکی برای آنها کم است. اثر خطای شجره در صفات آستانه‌ای مورد ارزیابی قرار نگرفته است. بنابراین با توجه به مباحث گفته شده، هدف از مطالعه‌ی حاضر تاثیر سطوح مختلف خطای شجره بر وراثت‌پذیری، برآورد ارزش اصلاحی و ارزیابی صحت پیش‌بینی ارزش اصلاحی پیش‌بینی شده و حقیقی در صفات آستانه‌ای با کمک شبیه‌سازی بود.

مواد و روش‌ها ایجاد جمعیت

به منظور شبیه‌سازی یک جمعیت گوسفند از نرم‌افزار QMSim استفاده شد (۲۱). صفتی محدود به جنس با وراثت‌پذیری ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ ایجاد شد. در گام اول، ابتدا ۲۰۰ حیوان نر و ۳۰۰۰ ماده شبیه‌سازی شد و این افراد به مدت بیست نسل به صورت تصادفی انتخاب و آمیزش داده شدند. در گام دوم، از نسل بیستم جمعیت نخست، ۳۰ حیوان نر و ۴۵۰ حیوان ماده (به نسبت یک به پانزده) بر اساس بیشترین مقدار ارزش اصلاحی به عنوان افراد پایه انتخاب شدند و به مدت ده نسل به صورت تصادفی انتخاب و با یکدیگر آمیزش داده شدند. نسبت جایگزینی برای حیوانات نر و ماده به ترتیب ۰/۴ و ۰/۲ در نظر گرفته شد. همچنین نرخ دوقلو‌زایی برای حیوانات ماده در هر نسل ۰/۲ بود. این مقدار از نرخ دوقلو‌زایی به تقلید از جمعیت گوسفند در نظر گرفته شد. همچنین نسبت جنسیت نر و ماده برای فرزندان یکسان در نظر گرفته شد. به منظور ایجاد فنوتیپ‌های آستانه‌ای صفت چند قلو‌زایی، ۲۰ درصد از فنوتیپ‌های بالا دو و ۸۰ درصد باقی‌مانده یک در نظر گرفته شد. در این مطالعه تمرکز اصلی بر گم شدن اطلاعات ثبتی شجره بود. بدین منظور به صورت تصادفی نسبت‌های مختلفی از نقص شجره پدری (صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰)، نقص شجره مادری (صفر، ۵ و ۱۰) و ترکیبی از هر دو (نقص شجره پدری و مادری به طور همزمان) ایجاد شد.

مدل آماری

به منظور برآورد پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی از روش آماری بی‌زی، بسته MCMCglimm (۱۱) نرم‌افزار R و معادله زیر استفاده شد:

$$l = 1_n \mu + Za + e \quad (1)$$

در این مدل l بردار متغیر پنهان برای صفت چندقلو‌زایی (یک آستانه و دو دسته)، μ میانگین کل، 1_n بردار یکه، a بردار تصادفی اثرات ژنتیکی افزایشی، Z ماتریس طرح که اثرات ژنتیکی افزایشی حیوانات را به مشاهدات ارتباط می‌دهد و e بردار اثرات تصادفی باقیمانده می‌باشد. همچنین ساختار ماتریس کو(واریانس) به شرح زیر بود:

$$= \begin{bmatrix} A\sigma_a^2 & 0 \\ 0 & I\sigma_e^2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a \\ e \end{bmatrix}$$

جدول ۱- مقادیر وراثت‌پذیری در شجره کامل و درصد مقادیر مختلف نقص خطای شجره

Table 1. The values of heritability in the complete pedigree and the percentage of different levels of incomplete pedigree

| نوع و درصد نقص شجره The type and percentage of pedigree error | | وراثت‌پذیری Heritability | | |
|------------------------------------------------------------------|----------|-----------------------------|---------------|---------------|
| Sire پدر | Dam مادر | 0.05 | 0.1 | 0.2 |
| 0 | 0 | 0.045 ± 0.009 | 0.10 ± 0.032 | 0.191 ± 0.025 |
| 5 | 0 | 0.032 ± 0.009 | 0.093 ± 0.029 | 0.172 ± 0.021 |
| 10 | 0 | 0.023 ± 0.005 | 0.091 ± 0.022 | 0.168 ± 0.024 |
| 15 | 0 | 0.018 ± 0.006 | 0.10 ± 0.035 | 0.173 ± 0.025 |
| 20 | 0 | 0.031 ± 0.014 | 0.091 ± 0.022 | 0.185 ± 0.032 |
| 0 | 5 | 0.031 ± 0.008 | 0.10 ± 0.028 | 0.183 ± 0.028 |
| 0 | 10 | 0.032 ± 0.009 | 0.102 ± 0.033 | 0.184 ± 0.030 |
| 5 | 5 | 0.036 ± 0.010 | 0.096 ± 0.026 | 0.181 ± 0.023 |
| 10 | 5 | 0.028 ± 0.009 | 0.105 ± 0.032 | 0.182 ± 0.032 |
| 15 | 5 | 0.036 ± 0.012 | 0.099 ± 0.028 | 0.185 ± 0.026 |
| 20 | 5 | 0.027 ± 0.007 | 0.105 ± 0.021 | 0.179 ± 0.028 |
| 5 | 10 | 0.026 ± 0.008 | 0.084 ± 0.021 | 0.185 ± 0.032 |
| 10 | 10 | 0.032 ± 0.013 | 0.095 ± 0.021 | 0.170 ± 0.020 |
| 15 | 10 | 0.032 ± 0.010 | 0.103 ± 0.027 | 0.176 ± 0.017 |
| 20 | 10 | 0.035 ± 0.015 | 0.098 ± 0.028 | 0.171 ± 0.027 |

۱۰ درصد) بود. این نتایج بیانگر این است که نقص شجره پدری و مادری به صورت هم زمان در مقایسه با نقص شجره‌ی پدری یا مادری به صورت مجزا، صحت ارزیابی را بیشتر کاهش می‌دهد. در برنامه‌های اصلاح نژادی، انتخاب حیوانات برتر، به عنوان والد نسل بعد نیازمند صحت ارزیابی بالا می‌باشد. در پرورش گوسفند به صورت سنتی یا نیمه صنعتی به علت: ۱) عدم استفاده متمرکز از تلقیح مصنوعی، ۲) ترکیب کردن گله‌های متفاوت خانوارهای روستایی در هنگام چرا و به تبع آن آمیزش‌های کنترل نشده، ۳) گم شدن پلاک گوش و ۴) عدم شناسایی دقیق مادر بره و بره متولد شده به علت جدا نکردن میش‌هایی که زمان زایمان یکسانی دارند، ثبت یک شجره کامل و بدون نقص یک چالش اساسی می‌باشد. به منظور فائق شدن بر این چالش می‌توان از نشانگرهای مولکولی ریزماهورهای برای تعیین ژنتیکی صحت شجره نامه استفاده کرد. تعیین ژنتیکی صحت شجره نامه منجر به برآورد دقیق وراثت‌پذیری شده که به تبع آن ارزش اصلاحی حیوانات با دقت بیشتری برآورد می‌شود و در نتیجه پیشرفت ژنتیکی بیشتری در صفات کمی مخصوصا صفات آستانه‌ای که وراثت‌پذیری پایینی دارند، حاصل می‌شود.

همبستگی بین ارزش اصلاحی پیش‌بینی شده و حقیقی در شجره کامل و با سطوح مختلف نقص شجره در جدول (۲) گزارش شده است. در شجره کامل، کمترین و بیشترین مقدار همبستگی بین ارزش اصلاحی پیش‌بینی شده و حقیقی به ترتیب 0.375 ($h^2=0.05$) و 0.521 ($h^2=0.2$) بود. با افزایش وراثت‌پذیری از 0.05 به 0.2 مقدار همبستگی بین ارزش اصلاحی پیش‌بینی شده و حقیقی افزایش یافت. افزایش صحت ارزیابی با افزایش مقادیر وراثت‌پذیری توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (۲، ۱۰، ۱۴). در صفات با وراثت‌پذیری بالا به علت اینکه بخش زیادی از واریانس فنوتیپی تحت تاثیر واریانس ژنتیکی می‌باشد صحت ارزیابی افزایش می‌یابد. برعکس، در صفات با وراثت‌پذیری پایین همبستگی بین ارزش فنوتیپی و ژنتیکی پایین است و در نتیجه مقدار صحت ارزیابی کاهش می‌یابد.

در سطوح مختلف وراثت‌پذیری با معرفی نقص شجره پدری، مادری و یا هر دو (پدری و مادری به صورت هم زمان) صحت ارزیابی روند کاهشی داشت. کمترین مقدار صحت ارزیابی برای وراثت‌پذیری 0.05 ، 0.1 و 0.2 به ترتیب 0.309 (در نقص شجره‌ی پدری ۱۰ درصد و مادری ۱۰ درصد)، 0.353 (در نقص شجره‌ی پدری ۲۰ درصد و مادری ۱۰ درصد) و 0.459 (در نقص شجره‌ی پدری ۲۰ درصد و مادری

جدول ۲- همبستگی بین ارزش اصلاحی پیش‌بینی شده و حقیقی در شجره کامل و درصد مقادیر مختلف نقص خطای شجره
Table 2. Correlation between true and predicted breeding values in the complete pedigree and the percentage of different levels of incomplete

| نوع و درصد نقص شجره The type and percentage of pedigree error | | وراثت‌پذیری Heritability | | |
|------------------------------------------------------------------|----------|-----------------------------|---------------|---------------|
| Sire پدر | Dam مادر | 0.05 | 0.1 | 0.2 |
| 0 | 0 | 0.375 ± 0.010 | 0.406 ± 0.036 | 0.521 ± 0.035 |
| 5 | 0 | 0.358 ± 0.012 | 0.396 ± 0.036 | 0.507 ± 0.034 |
| 10 | 0 | 0.354 ± 0.016 | 0.389 ± 0.031 | 0.495 ± 0.030 |
| 15 | 0 | 0.330 ± 0.015 | 0.376 ± 0.032 | 0.482 ± 0.035 |
| 20 | 0 | 0.313 ± 0.027 | 0.355 ± 0.036 | 0.472 ± 0.031 |
| 0 | 5 | 0.371 ± 0.010 | 0.401 ± 0.037 | 0.510 ± 0.037 |
| 0 | 10 | 0.360 ± 0.008 | 0.395 ± 0.036 | 0.506 ± 0.037 |
| 5 | 5 | 0.353 ± 0.021 | 0.394 ± 0.032 | 0.497 ± 0.036 |
| 10 | 5 | 0.353 ± 0.018 | 0.392 ± 0.040 | 0.502 ± 0.033 |
| 15 | 5 | 0.343 ± 0.007 | 0.376 ± 0.036 | 0.489 ± 0.034 |
| 20 | 5 | 0.326 ± 0.023 | 0.375 ± 0.030 | 0.484 ± 0.034 |
| 5 | 10 | 0.331 ± 0.021 | 0.371 ± 0.031 | 0.479 ± 0.033 |
| 10 | 10 | 0.309 ± 0.015 | 0.360 ± 0.034 | 0.478 ± 0.039 |
| 15 | 10 | 0.314 ± 0.016 | 0.367 ± 0.022 | 0.466 ± 0.032 |
| 20 | 10 | 0.321 ± 0.023 | 0.353 ± 0.033 | 0.459 ± 0.036 |

است (۱،۱۲،۲۰). ساندرز و همکاران (۲۰) نشان دادند که نقص شجره منجر به کاهش پیشرفت ژنتیکی می‌شود و این کاهش برای صفات با وراثت‌پذیری بالا مشهودتر است. در تحقیقی دیگر با معرفی ۱۵ درصد خطای شجره به دوصفت با وراثت‌پذیری ۰/۵ و ۰/۲ مقدار پیشرفت ژنتیکی به ترتیب ۹ و ۱۷ درصد کاهش یافت (۹). در تحقیق حاضر، تمرکز اصلی بر گم شدن اطلاعات ثبتی شجره بود. ساندرز و همکاران (۲۰) گزارش کردند که اثر ثبت شماره اشتباه والدین بر کاهش سود ژنتیکی تقریباً ۱/۴ برابر بیشتر از گم شدن اطلاعات ثبتی شجره می‌باشد.

میانگین ارزش اصلاحی پیش‌بینی شده در شجره کامل و سطوح مختلف نقص شجره در جدول (۳) برای سطوح مختلف وراثت‌پذیری گزارش شده است. بیشترین مقدار میانگین ارزش اصلاحی در شجره کامل بدست آمد. مقادیر ارزش اصلاحی پیش‌بینی شده برای وراثت‌پذیری ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ به ترتیب ۰/۰۰۲، ۰/۰۲۲ و ۰/۰۳۳ بود. با معرفی سطوح مختلف نقص شجره پدری، مادری و یا پدری و مادری به صورت هم زمان میانگین ارزش اصلاحی کاهش یافت. کاهش میانگین ارزش اصلاحی با افزایش سطوح نقص شجره از روند کاهشی منظمی تبعیت نکرد. کاهش پیشرفت ژنتیکی تحت تاثیر خطای شجره در سایر مطالعات نیز گزارش شده

جدول ۳- میانگین ارزش اصلاحی پیش‌بینی شده در شجره کامل و درصد مقادیر مختلف نقص خطای شجره
Table 3. Mean of predicted breeding values in the complete pedigree and the percentage of different levels of incomplete pedigree

| نوع و درصد نقص شجره The type and percentage of pedigree error | | وراثت‌پذیری Heritability | | |
|------------------------------------------------------------------|----------|-----------------------------|------------------|-----------------|
| Sire پدر | Dam مادر | 0.05 | 0.1 | 0.2 |
| 0 | 0 | 0.00272 ± 0.0067 | 0.0222 ± 0.0152 | 0.0333 ± 0.0033 |
| 5 | 0 | -0.00137 ± 0.0035 | 0.0119 ± 0.0130 | 0.0178 ± 0.0108 |
| 10 | 0 | -0.00147 ± 0.0054 | 0.0090 ± 0.0112 | 0.0158 ± 0.0073 |
| 15 | 0 | 0.00087 ± 0.0028 | -0.0009 ± 0.0145 | 0.0251 ± 0.0131 |
| 20 | 0 | 0.00105 ± 0.0026 | 0.0121 ± 0.0163 | 0.0204 ± 0.0196 |
| 0 | 5 | -0.00444 ± 0.0055 | 0.0142 ± 0.0104 | 0.0261 ± 0.0059 |
| 0 | 10 | -0.00148 ± 0.0088 | 0.0171 ± 0.0109 | 0.0139 ± 0.0126 |
| 5 | 5 | 0.00178 ± 0.0058 | 0.0143 ± 0.0076 | 0.0131 ± 0.0109 |
| 10 | 5 | 0.0 ± 0.0052 | 0.0124 ± 0.0092 | 0.0246 ± 0.0048 |
| 15 | 5 | 0.00010 ± 0.0027 | 0.0113 ± 0.0134 | 0.0243 ± 0.0099 |
| 20 | 5 | -0.00139 ± 0.0055 | 0.0178 ± 0.0138 | 0.0234 ± 0.0085 |
| 5 | 10 | 0.00117 ± 0.0048 | 0.0098 ± 0.0086 | 0.0303 ± 0.0092 |
| 10 | 10 | 0.00156 ± 0.0027 | 0.0184 ± 0.0132 | 0.0088 ± 0.0172 |
| 15 | 10 | 0.00067 ± 0.0045 | 0.0137 ± 0.0191 | 0.0184 ± 0.0144 |
| 20 | 10 | -0.00027 ± 0.0069 | 0.0056 ± 0.0148 | 0.0161 ± 0.0044 |

وراثت‌پذیری، میانگین ارزش اصلاحی و پیش‌بینی ارزش اصلاحی می‌شود و در نتیجه منجر به ناکارآمدی برنامه‌های اصلاح نژادی می‌شود. بنابراین استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهواره‌ای برای تعیین ژنتیکی صحت شجره نامه پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی
نتایج این مطالعه نشان می‌دهد، نقص شجره پدری و مادری به صورت هم زمان صحت ارزیابی را در مقایسه با نقص شجره‌ی پدری یا مادری به صورت مجزا بیشتر کاهش می‌دهد. نقص شجره باعث ایجاد ارباب در برآورد

منابع

1. Abbasi, M.A. 2015. Effect of missing sire pedigree information on genetic trend and gain of quantitative trait using computer simulation. *Research on Animal Production*, 6(12): 152-159 (In Persian).
2. Abbasi, M.A. 2019. The effect of missed sire pedigree on genetic parameters and accuracy of selection of two related quantitative traits using computer simulation. *Journal of Animal Science Research*, 29(2): 1-13 (In Persian).
3. Atefi, A. 2021. Genetic analysis of growth traits and kleiber ratios in Mgohani sheep. *Research on Animal Production*, 12(31): 180-187 (In Persian).
4. Banos, G., G.R. Wiggans and R.L. Powell. 2001. Impact of paternity errors in cow identification on genetic evaluation and international comparisons. *Journal of Dairy Science*, 84(11): 2523-2529.
5. Barnett, N., I. Purvis, B. Van Hest and I. Franklin. 1999. The accuracy of current dam pedigree recording strategies employed by stud Merino breeders. *Proceedings of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics*, 13: 373-376.
6. Bayeriyar, M., S.H. Hafezian, A.H. Khaltabadi-Farahani, A. Farhadi and H. Mohammadi. 2021. Bioinformatics analysis of some genomic regions in sheep population based on Meta-analysis. *Research on Animal Production*, 12(32): 150-159 (In Persian).
7. Christensen, L.G., P. Madsen and J. Petersen. 1982. The influence of incorrect sire-identification on the estimates of genetic parameters and breeding values. *2nd World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Madrid Spain, 200-208 pp. Madrid, Spain.
8. Crawford, A.M. and F. Buchanan. 1993. Ovine microsatellites at the OarFCB11, OarFCB128, OarFCB193, OarFCB266 and OarFCB304 loci. *Animal Genetics*, 24(2): 145-145.
9. Geldermann, H., U. Pieper and W.E. Weber. 1986. Effect of misidentification on the estimation of breeding value and heritability in cattle. *Journal of Animal Science*, 63(6): 1759-1768.
10. Gowane, G.R., S.H. Lee, S. Clark, N. Moghaddar, H.A. Al-Mamun and J.H.J. van der Werf. 2018. Effect of selection on bias and accuracy in genomic prediction of breeding values. *bioRxiv*, DOI: <http://dx.doi.org/10.1101/298042>.
11. Hadfield, J.D. and S. Nakagawa. 2010. General quantitative genetic methods for comparative biology: phylogenies, taxonomies and multi-trait models for continuous and categorical characters. *Journal of Evolutionary Biology*, 23(3): 494-508.
12. Harder, B., J. Bennowitz, N. Reinsch, M. Mayer and E. Kalm. 2005. Effect of missing sire information on genetic evaluation. *Archives Animal Breeding*, 48(3): 219-232.
13. Henderson, C.R. 1984. *Applications of Linear Models in Animal Breeding*. University of Guelph, Guelph, ON, Canada, 462 pp.
14. Karimi, K., M. Sargolzaei, G.S. Plastow, Z. Wang and Y. Miar. 2019. Opportunities for genomic selection in American mink: A simulation study. *PLoS ONE*, 14(3): e0213873.
15. Nwogwugwu, C.P., Y. Kim, Y.J. Chung, S.B. Jang, S.H. Roh, S. Kim, J.H. Lee, T.J. Choi and S.H. Lee. 2020. Effect of errors in pedigree on the accuracy of estimated breeding value for carcass traits in Korean Hanwoo cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(7): 1057-1067.
16. Razmkabir, M., F. Fathi and R. Abdollahi-Arpanahi. 2019. Effects of misidentification and paternity errors on prediction of breeding values and ranking of animals in dairy cattle. *Iranian Journal of Animal Science*, 49(4): 535-544.
17. Richard, M.B. 2013. *Understanding animal breeding*. 2nd ed., Pearson New International Edition, London, UK, 518pp.
18. Ron, M., Y. Blanc, M. Band, E. Ezra and J.I. Weller. 1996. Misidentification rate in the Israeli dairy cattle population and its implication for genetic improvement. *Journal of Dairy Science*, 79(4): 676-681.
19. Rosa, A.J.M., M.T. Sardinae, S. Mastrangelo, M. Tolone and B. Portolano. 2013. Parentage verification of Valle del Belice dairy sheep using multiplex microsatellite panel. *Small Ruminant Research*, 113(1): 62-65.
20. Sanders, K., J. Bennowitz and E. Kalm. 2006. Wrong and missing sire information affects genetic gain in the Angeln dairy cattle population. *Journal of Dairy Science*, 89: 315-321.
21. Sargolzaei, M. and F.S. Schenkel. 2009. QMSim: a large scale genome simulator for livestock. *Bioinformatics*, 25(5): 680-681.
22. Shiri, S.A., M. Thmoorespur, M.A. Abbasi, M.M. Shariati and D.A. Soghi. 2017. Impact of incomplete pedigree on breeding value estimation, genetic trends and heritability of pelt traits in Karakul sheep. *Animal science journal (Pajoohesh & Sazandegi)*, 116: 139-146 (In Persian).
23. Vierhout, C.N. 2008. *Selection of dairy cow families for superior fertility*. Ph.D. Dissertation, North Carolina State University, USA.
24. Visscher, P.M., J.A. Woolliams, D. Smith and J.L. Williams. 2002. Estimation of pedigree errors in the UK dairy population using microsatellite markers and the impact on selection. *Journal of Dairy Science*, 85(9): 2368-2375.
25. Wang, C.L., X.D. Ding, J.Y. Wang, J.F. Fu, W.X. Liu, Z. Zhang, Z.J. Yin and Q. Zhang. 2013. Bayesian methods for estimating GEBVs of threshold traits. *Heredity*, 110(3): 213-219.

The Effect of Pedigree Error on Heritability and Accuracy of Prediction of Breeding Value in Threshold Traits

Meysam Latifi¹ and Yousef Naderi²

1- Independent Researcher, PhD in genetics and Animal Breeding from university of Kurdistan, Kurdistan, Iran

2- Associate Professor, Department of Animal Science, Astara Branch, Islamic Azad University, Astara, Iran,

(Corresponding author: Yousef.Naderi@iau.ac.ir)

Received: 28 July, 2022

Accepted: 7 January, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Complete information of relationship matrix is an important principle to achieve reliable results in genetic evaluations. Two kinds of pedigree errors, including incorrect pedigree information and missing pedigree information, reduce the capability of the livestock model in traditional methods. The purpose of this study was to investigate the different levels of missing pedigree information such as sire, dam and both parents (sire and dam together) on heritability, accuracy of prediction and estimation of breeding value in threshold traits.

Material and methods: Sex-limited traits with heritability of 0.05, 0.1, and 0.2, were simulated. In order to create threshold phenotypes of litter size, 20% of the top-phenotypes were considered as two and the rest were considered as one. Different ratios of missing sire information (zero, 5, 10, 15 and 20), missing dam information (zeros, 5 and 10) and a combination of both missing information (sire and dam together) were created. A threshold model was considered. Heritability, breeding values and accuracy of prediction were calculated by Bayesian statistical method.

Results: With the introduction of different levels of missing pedigree information to the complete pedigree, the amount of heritability decreased. The lowest values of heritability were 0.018, 0.084 and 0.16 for heritability of 0.05, 0.1 and 0.2, respectively. In the complete pedigree, the lowest and highest accuracy of prediction were 0.375 ($h^2=0.05$) and 0.521 ($h^2=0.2$), respectively. The lowest values of accuracy of prediction for heritability of 0.05, 0.1, and 0.2 were 0.309 (30% in paternal pedigree defects and 10% in maternal pedigree defects), 0.353 (paternal pedigree defects 20% and maternal pedigree defects 10%), and 0.459 (5% defect in paternal pedigree and 10% defect in maternal pedigree), respectively. Furthermore, missing pedigree information led to a decrease in the average breeding value.

Conclusion: The results showed that, compared to the paternal or maternal missing pedigree information separately, paternal and maternal missing pedigree information together, further reduces the estimation of genetic evaluations.

Keywords: Bayesian method, Breeding Value, Sex-limited trait



"مقاله پژوهشی"

بررسی میزان تأثیر اثرات ژنتیکی غالبیت بر صحت ارزیابی ژنومی

مسلم کریمی^۱، فرهاد غفوری کسبی^۲ و پویا زمانی^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام و طیور، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۲- عضو هیأت علمی گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران، (نویسنده مسوول: f.ghafouri@basu.ac.ir)
۳- عضو هیأت علمی گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۵
صفحه: ۱۴۵ تا ۱۵۳

چکیده مسوط

مقدمه و هدف: بررسی مقالات منتشر شده در حوزه انتخاب ژنومی نشان می‌دهد که در اکثر مطالعات انجام شده در گونه‌های دامی و زراعی ارزیابی ژنومی و پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی بدون در نظر گرفتن اثرات ژنتیکی غالبیت انجام شده است. در صورتیکه مطالعاتی که اخیراً انجام شده، نشان می‌دهند که اثرات ژنتیکی غالبیت به نحو قابل توجهی در تنوع فنوتیپی صفات تولیدی دام‌های اهلی مشارکت دارند. از این رو به‌نظر می‌رسد چشم‌پوشی از اثرات ژنتیکی غالبیت صحت ارزیابی ژنومی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این مطالعه پیامدهای در نظر نگرفتن اثرات ژنتیکی غالبیت در مدل ارزیابی ژنومی بر صحت، میانگین مربعات خطا، اریبی و قابلیت اعتماد ارزش‌های اصلاحی ژنومی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: ژنومی شامل ۵ کروموزوم، هر کدام به طول یک مورگان و حاوی ۵۰۰۰ نشانگر تک نوکلئوتیدی دو آللی (SNP) در سطح وراثت‌پذیری ۰/۵ شبیه‌سازی شد. به همه جایگاه‌های صفات کمی (QTLها) اثرات ژنتیکی افزایشی داده شد. توزیع‌های متفاوت اثرات QTL (یکنواخت، نرمال و گاما) و نیز سه سناریو از تعداد QTL به‌صورت ۵، ۱۰ و ۲۰٪ از تعداد کل SNPها (به‌ترتیب ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ QTL) به‌صورت فرضیه‌های شبیه‌سازی در نظر گرفته شد. در سناریوهای مختلف به صفر، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰٪ از QTLها اثرات غالبیت داده شد. ارزش‌های اصلاحی ژنومی با استفاده از روش بهترین پیش‌بینی ناریب خطی ژنومی (GBLUP) برآورد شده و شاخص‌های روش LR، شامل صحت پیش‌بینی، میانگین مربعات خطای پیش‌بینی، اریبی و قابلیت اعتماد ارزش‌های اصلاحی برای تجزیه و تحلیل ارزش‌های اصلاحی حاصل از GBLUP مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد در صورتیکه اثرات ژنتیکی غالبیت در تنوع فنوتیپی صفت مشارکت داشته باشند اما در مدل ارزیابی ژنومی لحاظ نشده و به‌صورت تفکیک نشده از اثرات ژنتیکی افزایشی باقی بمانند، منجر به کاهش صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی تا حدود ۲۵٪ خواهد شد. همچنین میانگین مربعات خطای پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی نیز با افزایش درصد QTLهای دارای اثر غالبیت (از ۰/۰۰ به ۱۰۰٪) تا ۶۰٪ افزایش یافت. میزان اریبی ارزش‌های اصلاحی ژنومی نیز تحت تأثیر چشم‌پوشی از اثرات غالبیت قرار گرفت و با افزایش درصد QTLهای دارای اثر غالبیت (از ۰/۰۰ به ۱۰۰٪) تا ۳۶٪ افزایش یافت. در ضمن قابلیت اعتماد ارزش‌های اصلاحی ژنومی نیز به‌طور چشمگیری با افزایش درصد QTLهای دارای اثر غالبیت (از ۰/۰۰ به ۱۰۰٪) تا حدود ۴۰٪ کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که عدم تفکیک اثرات ژنتیکی غالبیت از اثرات ژنتیکی افزایشی منجر به برآوردهای با صحت پایین، اریب و غیرقابل اعتماد از ارزش‌های اصلاحی ژنومی می‌شود که در نهایت بازدهی انتخاب ژنومی را کاهش می‌دهد. بنابراین پیشنهاد می‌شود که به‌منظور افزایش کارایی طرح‌های انتخاب ژنومی، اثرات غالبیت در مدل ارزیابی ژنومی منظور شود.

واژه‌های کلیدی: اثرات ژنتیکی غالبیت، ارزیابی ژنومی، نشانگر تک نوکلئوتیدی دو آللی، GBLUP

مقدمه

چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) در سطح ژنوم وجود دارد که تنوع بسیار بالایی را در جمعیت ایجاد می‌کند. این تنوع پیش‌نیاز انتخاب ژنومی بود. امروزه این چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی به کارآمدترین ابزار به نژادی تبدیل شده‌اند. مطالعات پویا پیش کل ژنوم روش مهمی در اصلاح نژاد دام است که مبتنی بر تعیین ژنوتیپ تعداد بسیار زیادی از این جایگاه‌ها است. بدین منظور آرایه‌های با تراکم بالا از این نشانگرها در صنعت دامپروری ارائه شده‌اند (۹). میوسن و همکاران (۱۵)، با استفاده از شبیه‌سازی کامپیوتری و ترکیب آن با روش‌های مختلف آماری مانند روش‌های بی‌زی، چهارچوب انتخاب ژنومی را پایه‌گذاری کردند و نشان دادند که چگونه می‌توان ارزش‌های اصلاحی ژنومی افراد کاندید انتخاب (که فاقد فنوتیپ بودند) را با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی حدود ۵۰۰۰۰ SNP برآورد نمود. استفاده عملی از انتخاب ژنومی تا سال ۲۰۰۸ به تعویق افتاد، زمانی که تراشه‌های SNP برای تعیین ژنوتیپ دام‌ها در دسترس قرار گرفتند. در گاو شیری با این تراشه‌ها می‌توان هر دام را برای حدود ۵۴۰۰۰ SNP تعیین ژنوتیپ کرد (در اصطلاح 54k). با این توضیحات تفاوت انتخاب ژنومی و MAS مشخص

در اصلاح نژاد رایج برای برآورد ارزش‌های اصلاحی حیوانات از رکوردهای فنوتیپی و اطلاعات شجره‌ای در قالب مدل دام استفاده شده و در ادامه از برآوردهای ارزش‌های اصلاحی برای انتخاب حیوانات برتر استفاده می‌شود. صحت ارزش‌های اصلاحی حاصل از این روش تحت تأثیر عوامل متعددی قرار می‌گیرد که از آن جمله می‌توان به تعداد رکوردهای فنوتیپی، دقت رکوردگیری‌ها، عمق و کیفیت شجره و مدل مورد استفاده اشاره کرد. در ضمن، برای صفاتی که در حیوان زنده قابل اندازه‌گیری نیستند مانند صفات مربوط به لاشه و صفات محدود به جنس مانند تولید شیر در گاوهای شیری استفاده از این روش دارای محدودیت است (۸). ابداع روش انتخاب به کمک مارکر (MAS) (۷) نیز از آنجا که از اطلاعات تعداد اندکی نشانگر استفاده می‌کرد نتوانست بهبود قابل توجهی در صحت ارزش‌های اصلاحی ایجاد نماید و به همین علت چندان مورد استقبال قرار نگرفت (۲۱). در طی دو دهه اخیر با ابداع تکنولوژی‌های جدید، امکان توالی‌یابی ژنوم حیوانات اهلی در سطح وسیع امکان‌پذیر شد. مطالعات سطح ژنوم نشان داد که تعداد بسیار زیادی نشانگر DNA به شکل

اثرات ژنتیکی غالبیت به نحو قابل توجهی در تنوع فنوتیپی برخی صفات تولیدی دام‌های اهلی مشارکت دارند (۶،۱۲). برای مثال جسوری و همکاران (۱۲) میزان مشارکت اثرات ژنتیکی غالبیت در صفات وزن بدن و صفات تولید تخم‌مرغ مرغان بومی را بررسی نمودند و گزارش کردند که اثرات غالبیت به میزان ۰/۰۶، ۰/۰۸ و ۰/۰۱ در واریانس فنوتیپی وزن تولد، وزن هشت‌هفتگی و وزن دوازده‌هفتگی مشارکت داشتند. در ضمن برای سن بلوغ جنسی، میانگین وزن تخم‌مرغ و تعداد تخم‌مرغ، نسبت واریانس ژنتیکی غالبیت به واریانس فنوتیپی به میزان ۰/۰۶، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ گزارش شد. صادقی و همکاران (۲۰) وراثت‌پذیری غالبیت برای وزن تولد، شیرگیری، شش ماهگی، نه ماهگی و دوازده ماهگی را در بزهای نژاد عدنی به میزان ۰/۱۵، ۰/۱۷، ۰/۱۱، ۰/۱۹ و ۰/۲۵ گزارش نمودند. برای این صفات وراثت‌پذیری ژنتیکی افزایشی در دامنه ۰/۱۷ (وزن شیرگیری) تا ۰/۳۸ (وزن تولد) قرار داشت. از این رو به نظر می‌رسد وارد نمودن اثرات ژنتیکی غالبیت در مدل ارزیابی ژنومی می‌تواند (۱) به درک بهتری از معماری ژنتیکی صفات منجر شود، (۲) صحت ارزیابی ژنومی را افزایش دهد و (۳) بازدهی برنامه‌های آمیخته‌گری را به واسطه تعیین سهم نسبی اثرات ژنتیکی غالبیت افزایش دهد (۲۵). تحقیق حاضر به‌منظور بررسی تأثیر در نظر نگرفتن اثرات ژنتیکی غالبیت در مدل ارزیابی ژنومی بر صحت، میانگین مربعات خطا، اریبی و قابلیت اعتماد ارزش‌های اصلاحی ژنومی انجام شد.

مواد و روش‌ها

شبیه‌سازی جمعیت و ژنوم

از بسته نرم‌افزاری *hyperd* (۲۳) جهت شبیه‌سازی ژنوم و جمعیت استفاده شد. ۵ کروموزوم ساختار ژنوم را تشکیل دادند که بر روی هر کدام ۱۰۰۰ نشانگر تک نوکلئوتیدی دو آلی (SNP) به‌طور یکنواخت پراکنده شدند. برای شبیه‌سازی جمعیت، ابتدا یک جمعیت پایه شامل ۵۰ فرد نر و ۵۰ فرد ماده شبیه‌سازی شد و با استفاده از آمیزش تصادفی برای ۵۰ نسل، سطح قابل قبولی از LD بین نشانگر و QTL ایجاد گردید ($r^2 \approx 0.23$). در هر نسل به ازاء هر دو والد، دو نتاج تولید شد. از این رو در طول ۵۰ نسل اندازه جمعیت به تعداد ۱۰۰ فرد ثابت ماند ($N_e=100$). اندازه جمعیت در نسل ۵۱ از ۱۰۰ فرد به ۱۰۰۰ فرد افزایش داده شد. این حیوانات هم اطلاعات ژنوتیپی داشتند و هم اطلاعات فنوتیپی و جمعیت مرجع را تشکیل دادند. فنوتیپ حیوانات از طریق جمع ارزش ژنتیکی QTLها و یک جزء محیطی که از یک توزیع نرمال با میانگین صفر و انحراف استاندارد برابر با جذر واریانس محیطی اخذ شد به دست آمد و در نتیجه مقادیر فنوتیپی نیز در جمعیت دارای توزیع نرمال بود. سپس نسل ۵۲ از افراد نسل ۵۱ ایجاد شدند که فقط دارای اطلاعات ژنوتیپی بودند ولی اطلاعات فنوتیپی نداشتند. نسل ۵۲ جمعیت تأیید (افراد کاندید انتخاب) بودند که ارزش‌های اصلاحی آن‌ها باید برآورد می‌شد (جدول ۱).

می‌شود. بر خلاف MAS که در آن فقط از اطلاعات تعداد اندکی نشانگر استفاده می‌شد و در نتیجه فقط بخش کوچکی از واریانس ژنتیکی کل صفت توسط نشانگر توجیه می‌شد، در انتخاب ژنومی تعداد نشانگرهای مورد استفاده ده‌ها یا صدها هزار است و اثر تعداد زیادی نشانگر در آن واحد برآورد می‌شود و این پتانسیل را دارد که همه واریانس ژنتیکی را توجیه نماید (۱۰، ۲۴). دوبلت و همکاران (۵) تأثیر انتخاب ژنومی بر بهبود ژنتیکی سه نژاد گاو شیری مونبلیارد، نورماندی و هلشتاین را مطالعه نمودند و گزارش کردند که در مقایسه با انتخاب کلاسیک، انتخاب ژنومی میانگین پیشرفت ژنتیکی سالانه را بین ۳۳ درصد (هلشتاین) تا ۷۱ درصد (نورماندی) افزایش داده است.

میوسن و همکاران (۱۵)، با استفاده از شبیه‌سازی کامپیوتری و ترکیب آن با روش‌های مختلف آماری مانند روش‌های بیزی، چهارچوب انتخاب ژنومی را پایه گذاری کردند و نشان دادند که چگونه می‌توان ارزش‌های اصلاحی ژنومی افراد کاندید انتخاب (که فاقد فنوتیپ بودند) را با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی حدود ۵۰۰۰۰ SNP برآورد نمود. استفاده عملی از انتخاب ژنومی تا سال ۲۰۰۸ به تعویق افتاد، زمانی که تراشه‌های SNP برای تعیین ژنوتیپ دام‌ها در دسترس قرار گرفتند. در گاو شیری با این تراشه‌ها می‌توان هر دام را برای حدود ۵۴۰۰۰ SNP تعیین ژنوتیپ کرد (در اصطلاح 54k). با این توضیحات تفاوت انتخاب ژنومی و MAS مشخص می‌شود. بر خلاف MAS که در آن فقط از اطلاعات تعداد اندکی نشانگر استفاده می‌شد و در نتیجه فقط بخش کوچکی از واریانس ژنتیکی کل صفت توسط نشانگر توجیه می‌شد، در انتخاب ژنومی تعداد نشانگرهای مورد استفاده ده‌ها یا صدها هزار است و اثر تعداد زیادی نشانگر در آن واحد برآورد می‌شود و این پتانسیل را دارد که همه واریانس ژنتیکی را توجیه نماید (۱۰). دوبلت و همکاران (۵) تأثیر انتخاب ژنومی بر بهبود ژنتیکی سه نژاد گاو شیری مونبلیارد، نورماندی و هلشتاین را مطالعه نمودند و گزارش کردند که در مقایسه با انتخاب کلاسیک، انتخاب ژنومی میانگین پیشرفت ژنتیکی سالانه را بین ۳۳ درصد (هلشتاین) تا ۷۱ درصد (نورماندی) افزایش داده است.

بررسی مقالات منتشر شده در حوزه انتخاب ژنومی نشان می‌دهد که در اکثر مطالعات انجام شده در گونه‌های دامی و زراعی ارزیابی ژنومی و پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی بدون در نظر گرفتن اثرات ژنتیکی غالبیت انجام شده است (۱،۳،۱۱،۲۶). دلایل این مساله عبارتند از (۱) فقدان شجره مناسب که حاوی درصد بالایی از خانواده‌های تنی (full-sib family) باشد، (۲) افزایش پیچیدگی محاسباتی در صورت وارد کردن اثرات غیرافزایشی در مدل، (۳) این حقیقت که اثرات ژنتیکی افزایشی و مادری تا حدودی اثرات غالبیت را نیز در بر می‌گیرند و (۴) دشواری استفاده عملی از اطلاعات ژنتیکی غیرافزایشی در طرح‌های اصلاح نژادی (۲۵). به همین دلیل بود که گزارشات محدودی مربوط به جزء واریانس غالبیت در صفات عملکردی حیوانات اهلی منتشر شده بود. اما نتایج مقالاتی که اخیراً منتشر شده است نشان می‌دهد که

اول به همه QTLها فقط اثر افزایشی داده شد (سناریو A). در سناریوی دوم به همه QTLها اثر افزایشی داده شد و برای ۱۰٪ از آنها نیز اثر غالبیت منظور شد (سناریو A+10%D). در سناریوی سوم به همه QTLها اثر افزایشی داده شد و برای ۲۵٪ از آنها نیز اثر غالبیت منظور شد (سناریو A+25%D). در سناریوی چهارم به همه QTLها اثر افزایشی داده شد و برای ۵۰٪ از آنها نیز اثر غالبیت در نظر گرفته شد (سناریو A+50%D). در سناریوی پنجم به همه QTLها اثر افزایشی و غالبیت داده شد (سناریو A+100%D).

سناریوهای مورد بررسی

۱) تعداد QTL: تعداد QTL به صورت درصدی از تعداد نشانگر (۵، ۱۰ و ۲۰ درصد، به ترتیب ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ QTL) در نظر گرفته شد.
 ۲) توزیع اثرات QTL: در سناریوهای مختلف توزیع یکنواخت، نرمال و گاما برای اثر جایگزینی QTLها مدل‌سازی شد.
 ۳) اثرات ژنتیکی غالبیت: برای در نظر گرفتن اثرات غالبیت در مدل سناریوهای مختلفی در نظر گرفته شد: در سناریوی

جدول ۱- پارامترهای استفاده شده در شبیه‌سازی ژنوم و جمعیت

Table 1. Parameters used for simulation of genome and population

| ژنوم (Genome) | |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5 | تعداد کروموزوم Number of Chromosomes |
| 1 | اندازه هر کروموزوم (مورگان) Chromosome length (Morgan) |
| 1000 | تعداد نشانگر SNP به ازاء هر کروموزوم No of marker per chromosome |
| 200, 100, 50 | تعداد QTL به ازاء هر کروموزوم No of QTL per chromosome |
| Normal, Uniform, Gamma | توزیع اثرات QTL QTL distribution |
| 0.05 | فراوانی آلل نادر (MAF) Minor allele frequency (MAF) |
| جمعیت Population | |
| 1-50 | تعداد نسل‌ها برای ایجاد عدم تعادل پیوستگی (LD) No of generations for creating linkage disequilibrium (LD) |
| 51 | نسل مرجع Reference generation |
| 52 | نسل تایید Validation population |

۲) میانگین مربعات خطای پیش‌بینی (MSE_p): این شاخص به صورت توان دوم تفاوت ارزش‌های اصلاحی ژنومی واقعی از ارزش‌های اصلاحی پیش‌بینی شده محاسبه شد.
 ۳) اریبی (Bias): این شاخص به صورت تفاوت بین میانگین ارزش‌های اصلاحی پیش‌بینی شده و ارزش‌های اصلاحی واقعی محاسبه شد.
 ۴) قابلیت اعتماد (Reliability): این شاخص به صورت رگرسیون مقادیر ارزش‌های اصلاحی ژنومی پیش‌بینی شده بر روی ارزش‌های اصلاحی واقعی (شبیه‌سازی شده) محاسبه گردید.

به‌طور مشابه با مطالعات شبیه‌سازی در حوزه انتخاب ژنومی (۱، ۳، ۸)، هر سناریو مورد مطالعه که ترکیبی از تعداد QTL، توزیع اثرات QTL و درصد QTLهای دارای اثرات غالبیت بود ۱۰ بار تکرار شد و میانگین ۱۰ تکرار گزارش گردید. ۱۰ مرتبه تکرار هر سناریو به این دلیل است که در هر مرحله شبیه‌سازی، به دلیل تصادفی بودن ماهیت شبیه‌سازی، اطلاعات شبیه‌سازی شده متفاوت از تکرار قبل است و نتیجه ارزیابی از جهت صحت و سایر شاخص‌ها متفاوت خواهد بود. برای مثال ممکن است در تکرار اول صحت پیش‌بینی ۰/۶۵ شود، در تکرار دوم ۰/۶۹ شود و در تکرار چهارم ۰/۷۲ شود.

روش ارزیابی ژنومی

از روش بهترین پیش‌بینی نا اریب خطی ژنومی (GBLUP) برای ارزیابی ژنومی و برآورد اثر SNPها استفاده شد. GBLUP از ساده‌ترین و کاربردی‌ترین روش‌های ارزیابی ژنومی در اصلاح نژاد دام است و از نظر سرعت محاسباتی و میزان حافظه مورد نیاز نیز جزو بهترین روش‌ها است (۱۸). مدل آماری مورد استفاده به صورت زیر بود (۲۵):

$$y = \mu + Xb + e$$

در این رابطه، y بردار مشاهدات فنوتیپی و μ میانگین کل می‌باشد. عناصر ماتریس X شامل کدهای ۰، ۱ و ۲ است که نشان‌دهنده تعداد آلل‌های مربوط به هر یک از مکان‌های نشانگری برای هر فرد است. b بردار ارزش‌های اصلاحی ژنومی است. e نیز بردار اثرات باقی‌مانده است. برای تجزیه و تحلیل‌های GBLUP از بسته نرم‌افزاری BGLR (۴) استفاده گردید. برای بررسی ارزش‌های اصلاحی ژنومی به دست آمده در سناریوهای مختلف از برخی شاخص‌های روش LR (۱۳) استفاده شد. این شاخص‌ها عبارت بودند از:

۱) صحت پیش‌بینی (عملکرد پیش‌بینی): این شاخص به صورت همبستگی پیرسون بین ارزش‌های اصلاحی پیش‌بینی شده و ارزش‌های اصلاحی واقعی (شبیه‌سازی شده) محاسبه شد.

برای صفات تولید شیر، مقدار چربی و پروتئین را به ترتیب به میزان ۳٪، ۵٪ و ۶٪ در مقایسه با مدلی که فقط شامل اثرات افزایشی بود افزایش داد. همچنین محمدی و مختاری (۱۷) با استفاده از شبیه‌سازی کامپیوتری، نشان دادند که وارد کردن اثرات غالبیت در مدل، صحت ارزیابی ژنومی را افزایش خواهد داد به‌صورتی که در روش BayesA، صحت ارزیابی ژنومی از ۰/۶۳ به ۰/۶۹ و در روش BayesL، صحت ارزیابی ژنومی از ۰/۶۵ به ۰/۶۷ افزایش یافت. در ضمن در تحقیق مذکور، میزان افزایش در صحت ارزیابی ژنومی در سطوح پایین وراثت‌پذیری بیشتر از سطوح وراثت‌پذیری بالا بود. علت این مساله این است که صفات با وراثت‌پذیری پایین بیشتر تحت تأثیر اثرات غالبیت قرار دارند و در نتیجه با وارد کردن اثرات غالبیت در مدل و تفکیک آنها از اثرات ژنتیک افزایشی برای این صفات صحت ارزیابی به میزان بیشتری نسبت به صفات با وراثت‌پذیری بالا (که کمتر تحت تأثیر اثرات غالبیت هستند) افزایش خواهد یافت.

گزارشاتی نیز وجود دارد مبنی بر عدم تغییر در صحت ارزیابی ژنومی در نتیجه وارد کردن اثرات غالبیت در مدل که عمدتاً مربوط به گونه‌های زراعی هستند. برای مثال مورائیس و همکاران (۱۸) مدل‌های مختلف حاوی اثرات افزایشی و افزایشی+غالبیت را در ارزیابی ژنومی صفات عملکردی برنج مورد مقایسه قرار دادند و گزارش کردند که وارد کردن اثر غالبیت صحت پیش‌بینی را بهبود بخشید. همچنین یادا و همکاران (۲۸) صحت ارزیابی ژنومی صفات تولیدی گیاه نیشکر شامل میزان محصول، محتوی قند و محتوی فیبر را با استفاده از مدل‌های ژنتیکی افزایشی و ژنتیکی افزایشی+غالبیت ارزیابی ژنومی نمودند. برای صفت میزان محصول، واریانس ژنتیکی غالبیت نزدیک به ۷۰٪ از واریانس ژنتیکی کل را به خود اختصاص داده بود و وارد کردن اثر غالبیت در مدل صحت ارزیابی ژنومی را از ۰/۲۴ به ۰/۲۶ افزایش داد اما برای دو صفت دیگر (محتوی قند و پروتئین) جزء واریانس غالبیت ناچیز بوده و تأثیری بر صحت ارزیابی ژنومی نداشت. مقایسه نتایج به دست آمده در گونه‌های زراعی با گونه‌های دامی نشان می‌دهد احتمالاً اثرات ژنتیکی غیرافزایشی نقش کمتری در تنوع فنوتیپی محصولات زراعی ایفا می‌کند، هرچند تأیید این مطلب به تحقیقات بیشتری نیاز دارد.

بنابراین برای اینکه مقایسه درستی بین سناریوهای مختلف انجام شود، منطقی‌تر است که میانگین ۱۰ بار تکرار هر سناریو از نظر شاخص‌های مورد بررسی با میانگین ۱۰ بار تکرار سناریوهای دیگر مقایسه شود.

نتایج و بحث

صحت پیش‌بینی

تأثیر افزایش درصد QTL‌های دارای اثر غالبیت بر صحت ارزیابی ژنومی در سناریوهای مختلف از تعداد QTL (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰) در توزیع نرمال، گاما و یکنواخت اثرات QTL در جدول ۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در صورت استفاده از یک مدل صرفاً افزایشی، با افزایش درصد QTL‌های دارای اثر غالبیت از صفر (سناریو A) به ۱۰۰٪ QTL‌ها (سناریو A+100%D)، صحت ارزیابی ژنومی کاهش یافت. برای مثال در توزیع نرمال اثرات QTL و در سناریو ۱۰۰۰ QTL، با افزایش درصد QTL‌های با اثر غالبیت از صفر به ۱۰۰٪ QTL‌ها، صحت ارزیابی ژنومی به میزان ۲۳٪ کاهش یافت. نکته قابل توجه این بود که با افزایش تعداد QTL‌های دارای اثر غالبیت از صفر تا ۲۵٪، صحت پیش‌بینی کاهش قابل توجهی نداشت و عمده کاهش در سناریوهای ۵۰٪ و ۱۰۰٪ QTL دارای اثر غالبیت مشاهده شد. در ضمن، شیب کاهش صحت ارزیابی ژنومی در نتیجه اختصاص اثر غالبیت به QTL‌ها در حالتی که ۱۰۰۰ QTL در واریانس ژنتیکی کل مشارکت داشتند چشمگیر تر بود و با کاهش تعداد QTL‌ها به ۲۵۰ QTL، از سرعت کاهش در صحت ارزیابی کاسته شد. برای مثال در توزیع نرمال اثرات QTL، در سناریو ۱۰۰۰ QTL، ۲۳٪ کاهش در صحت پیش‌بینی مشاهده شد، در حالی که در سناریو ۲۵۰ QTL، با افزایش درصد QTL‌های با اثر غالبیت از صفر به ۱۰۰٪ QTL‌ها، صحت ارزیابی ژنومی به میزان ۱۶٪ کاهش یافت. در مقایسه، مدلی که صحت پیش‌بینی آن بزرگتر و نزدیک به یک باشد برای ارزیابی ژنومی مطلوب‌تر است. محمدی (۱۶) صفات شیر تولیدی، مقدار چربی و پروتئین را در گاوهای شیری هلشتاین ایران را ارزیابی ژنومی نمود. برای صفات مذکور اگرچه میزان مشارکت اثرات ژنتیکی غالبیت در تنوع فنوتیپی صفات مذکور کم بود (به ترتیب ۲٪، ۱٪ و ۱٪)، اما لحاظ نمودن اثرات غالبیت در مدل، صحت ارزیابی ژنومی

جدول ۲- صحت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی در سناریوهای مختلف از تعداد QTL و درصد QTL‌های دارای اثرات غالبیت
Table 2. Accuracy of predicted genomic breeding values in different scenarios of number of QTL and percent of QTLs with dominance effect

| A+100%D | A+50%D | A+25%D | A+10%D | A | |
|--------------------------------------|--------|--------|--------|------|----------|
| توزیع نرمال (Normal distribution) | | | | | |
| 0.64 | 0.71 | 0.78 | 0.81 | 0.83 | QTL 1000 |
| 0.63 | 0.72 | 0.78 | 0.82 | 0.80 | QTL 500 |
| 0.63 | 0.70 | 0.78 | 0.77 | 0.78 | QTL 250 |
| توزیع گاما (Gamma distribution) | | | | | |
| 0.72 | 0.75 | 0.80 | 0.82 | 0.82 | QTL 1000 |
| 0.71 | 0.77 | 0.79 | 0.79 | 0.80 | QTL 500 |
| 0.70 | 0.72 | 0.78 | 0.80 | 0.80 | QTL 250 |
| توزیع یکنواخت (Uniform distribution) | | | | | |
| 0.71 | 0.75 | 0.78 | 0.81 | 0.84 | QTL 1000 |
| 0.70 | 0.76 | 0.78 | 0.80 | 0.80 | QTL 500 |
| 0.69 | 0.75 | 0.77 | 0.80 | 0.79 | QTL 250 |

میانگین مربعات خطای پیش‌بینی (MSEp)

میانگین مربعات خطای پیش‌بینی (MSEp) ارزش‌های اصلاحی ژنومی در جدول ۳ نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، کمترین مربعات خطای پیش‌بینی در حالتی به دست آمد که هیچ کدام از QTLها اثر غالبیت نداشتند (سناریو A) و با افزایش درصد QTLهای دارای اثر غالبیت میانگین مربعات خطای پیش‌بینی به صورت خطی افزایش یافت و حداکثر MSEp زمانی به دست آمد که همه QTLها دارای اثر غالبیت بودند (سناریو A+100%D). در هر سناریو از میزان اثرات غالبیت، با کاهش تعداد QTLها از ۱۰۰۰ به ۲۵۰ QTL، میزان MSEp به‌طور چشمگیری کاهش پیدا کرد. برای مثال در سناریو A+25%D و توزیع نرمال، با کاهش تعداد QTLها از ۱۰۰۰ به ۲۵۰ QTL، میزان MSEp از $381933/4$ به $98411/6$ کاهش پیدا کرد (۷۴ درصد کاهش). میانگین مربعات خطای پیش‌بینی نیز یکی از شاخص‌های مهم برای تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از ارزیابی ژنومی است. این پارامتر تماماً صحت و ارزیابی ارزش‌های اصلاحی پیش‌بینی شده را منعکس می‌کند و مقادیر پایین و نزدیک به صفر آن مطلوب و نشان‌دهنده صحت بالا و ارزیابی کم می‌باشد. در مطالعه ما، همانگونه که انتظار می‌رفت در هر سه توزیع اثرات QTL (نرمال، گاما و یکنواخت)، افزایش تعداد QTLهایی که دارای اثر غالبیت بودند منجر به افزایش MSEp شد و کمترین MSEp مربوط به سناریو فاقد اثرات غالبیت بود (سناریو A) که با نتایج تحقیقات دیگران مطابقت داشت. برای مثال علیلو و همکاران (۲) تاثیر وارد کردن اثر غالبیت در مدل و تفکیک آن از اثرات افزایشی بر ارزیابی ژنومی صفات تولید شیر، چربی و پروتئین شیر را در گاوهای دو نژاد هلشتاین و جرسی بررسی نمودند. مقایسه مدل‌ها نشان داد که مدلی که شامل اثرات ژنتیکی افزایشی و غالبیت بود برآزش بهتری از اطلاعات انجام داد. میزان مشارکت اثرات غالبیت در تنوع فنوتیپی صفات مورد بررسی بین ۳ تا ۴٪ در نژاد هلشتاین و ۶ تا ۷٪ در نژاد جرسی بود. برای صفات مورد بررسی در هر دو نژاد مدل ارزیابی ژنومی که حاوی اثرات افزایشی و غالبیت بود، MSEp کمتری (در دامنه یک تا ۴ درصد) در مقایسه با مدل صرفاً افزایشی داشت که در مقایسه با نتایج تحقیق حاضر کمتر است (در تحقیق حاضر صرف‌نظر کردن از اثرات غالبیت منجر به ۶۰ درصد افزایش در MSEp شد. محمدی و مختاری (۱۷) نیز با شبیه‌سازی یک صفت کمی و در نظر گرفتن معماری ژنتیکی صرفاً افزایشی و افزایشی+غالبیت، گزارش نمودند که با وارد کردن اثرات غالبیت در مدل، MSEp در روش BayesA از $1/93$ به $1/83$ ، در روش BayesB از $1/83$ به $1/73$ و در روش Bayes Lasso از $1/92$ به $1/84$ کاهش یافت که با نتایج تحقیق حاضر در تطابق است اگرچه از نظر مقدار کمتر از مقادیر این تحقیق کمتر می‌باشد.

اریبی (Bias)

اریبی ارزش‌های اصلاحی ژنومی در جدول ۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش QTLهای دارای اثر غالبیت، میزان اریبی افزایش یافت. برای مثال در

توزیع نرمال و در همه سناریوها از تعداد QTL، با افزایش تعداد QTLهای دارای اثر غالبیت از صفر (سناریو A) به ۱۰۰٪ (سناریو A+100%D) میزان اریبی در حالت ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ QTL به‌ترتیب به مقادیر ۲۵٪، ۳۰٪ و ۲۸٪ افزایش یافت. در توزیع گاما با افزایش تعداد QTLهای دارای اثر غالبیت از صفر (سناریو A) به ۱۰۰٪ (سناریو A+100%D)، میزان افزایش در اریبی در حالت ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ QTL به‌ترتیب ۳۶٪، ۳۱٪ و ۳۱٪ درصد بود. در توزیع یکنواخت نیز با افزایش تعداد QTLهای دارای اثر غالبیت از صفر (سناریو A) به ۱۰۰٪ (سناریو A+100%D) در حالت ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ QTL میزان اریبی به‌ترتیب ۳۱٪، ۳۵٪ و ۳۵٪ افزایش یافت. در هر سناریو از تعداد QTLهای دارای اثر غالبیت با کاهش تعداد QTLها از ۱۰۰۰ به ۲۵۰ QTL، میزان اریبی ارزش‌های اصلاحی کاهش پیدا کرد. برای مثال در توزیع نرمال اثرات QTL و در سناریو A+25%D با کاهش تعداد QTLها از ۱۰۰۰ به ۵۰۰ و سپس به ۲۵۰ QTL، میزان اریبی از $631/56$ به $159/64$ کاهش پیدا کرد. وقتی تعداد QTLها کاهش پیدا می‌کند، واریانس ژنتیکی کل بین تعداد کمتری QTL تقسیم می‌شود و در این حالت توانایی مدل‌ها برای استخراج این اثرات ژنتیکی بزرگ افزایش می‌یابد. در حالیکه افزایش تعداد QTL به این معنی است که جزء کوچکتري از واریانس ژنتیکی کل به هر QTL تعلق می‌گیرد که به دام انداختن چنین اثرات ژنتیکی کوچکی برای روش‌های ارزیابی ژنومی سخت‌تر است، لذا با کاهش تعداد QTLها، افزایش در صحت ارزیابی و کاهش در میزان MSEp و اریبی ارزش‌های اصلاحی قابل انتظار است (۱، ۸). از یک دیدگاه اصلاح نژادی برای پیش‌بینی صحیح پاسخ به انتخاب، برآوردهای ناریب از ارزش‌های اصلاحی مورد نیاز است (۱۴). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که اگر اثرات غالبیت وجود داشته باشند اما در مدل منظور نشوند و به‌صورت تفکیک نشده از اثرات ژنتیک افزایشی باقی بمانند منجر به برآوردهای اریب از ارزش‌های اصلاحی ژنومی خواهند شد. میزان اریبی بستگی به تعداد QTL دارای اثر غالبیت و میزان واریانس غالبیت دارد چنانکه با افزایش درصد تعداد QTL دارای اثر غالبیت از ۰/۰۰ به ۱۰۰٪ میزان اریبی تا حدود ۴۰٪ افزایش یافت. افزایش در اریبی ارزش‌های اصلاحی ژنومی در نتیجه چشم پوشی از اثرات ژنتیکی غالبیت در مدل ارزیابی ژنومی توسط محمدی و مختاری (۱۶) گزارش شده است که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. علیلو و همکاران (۲) گزارش کردند که یکی از عواقب چشم پوشی از اثرات غالبیت، ارزیابی ژنومی اریب افراد کاندید انتخاب است که منجر به رتبه بندی اشتباه افراد بر اساس ارزش‌های اصلاحی خواهد شد. در مطالعه علیلو و همکاران (۲) وارد نمودن اثرات غالبیت در مدل ارزیابی ژنومی منجر به تغییر رتبه حیوانات بر اساس ارزش اصلاحی شد به‌صورتیکه همبستگی رتبه‌بندی حیوانات برتر در دو مدل حاوی اثرات افزایشی و مدل حاوی اثرات افزایشی و غالبیت ۰/۹ بود.

جدول ۳- میانگین مربعات خطای پیش‌بینی (MSEp) ارزش‌های اصلاحی ژنومی در سناریوهای مختلف از تعداد QTL و درصد QTL‌های دارای اثرات غالبیت

Table 3. Mean square error of predicted genomic breeding values (MSEp) in different scenarios of number of QTL

| and percent of QTLs with dominance effect | | | | | |
|-------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------------------|
| A+100%D | A+50%D | A+25%D | A+10%D | A | |
| | | | | | توزیع نرمال |
| | | | | | Normal distribution |
| 536523.9 | 453647.8 | 381933.4 | 364119.5 | 337112.3 | QTL 1000 |
| 126765.7 | 112543.2 | 109445.3 | 101634.8 | 97867.4 | QTL 500 |
| 123451.6 | 110975.3 | 93411.6 | 93315.2 | 88765.4 | QTL 250 |
| | | | | | توزیع گاما |
| | | | | | Gamma distribution |
| 128561.1 | 122947.3 | 97129.4 | 90261.6 | 85016.6 | QTL 1000 |
| 58377.3 | 43063.7 | 38594.2 | 38493.9 | 37216.5 | QTL 500 |
| 33762.8 | 27494.7 | 23585.7 | 23842.4 | 23285.8 | QTL 250 |
| | | | | | توزیع یکنواخت |
| | | | | | Uniform distribution |
| 294532.7 | 253781.9 | 245100.2 | 236759.6 | 234573.1 | QTL 1000 |
| 121345.8 | 114767.9 | 108744.2 | 102431.6 | 98124.2 | QTL 500 |
| 85643.5 | 77146.7 | 73190.4 | 68754.9 | 66798.4 | QTL 250 |

جدول ۴- اریبی ارزش‌های اصلاحی ژنومی در سناریوهای مختلف از تعداد QTL و درصد QTL‌های دارای اثرات غالبیت

Table 4. Bias of genomic breeding values in different scenarios of number of QTL and percent of QTLs with dominance effect

| A+100%D | A+50%D | A+25%D | A+10%D | A | |
|---------|--------|--------|--------|--------|----------------------|
| | | | | | توزیع نرمال |
| | | | | | Normal distribution |
| 725.11 | 668.34 | 631.56 | 610.37 | 580.44 | QTL 1000 |
| 360.34 | 333.45 | 312.45 | 294.32 | 276.27 | QTL 500 |
| 179.36 | 167.22 | 159.64 | 155.64 | 139.20 | QTL 250 |
| | | | | | توزیع گاما |
| | | | | | Gamma distribution |
| 652.43 | 623.72 | 571.28 | 524.68 | 478.35 | QTL 1000 |
| 305.70 | 290.71 | 273.56 | 256.27 | 233.44 | QTL 500 |
| 155.05 | 147.78 | 139.65 | 125.37 | 118.00 | QTL 250 |
| | | | | | توزیع یکنواخت |
| | | | | | Uniform distribution |
| 654.06 | 622.33 | 611.72 | 563.54 | 537.67 | QTL 1000 |
| 338.29 | 313.52 | 301.44 | 265.07 | 250.36 | QTL 500 |
| 174.41 | 160.66 | 155.47 | 139.13 | 128.67 | QTL 250 |

پاسخ بالقوه به انتخاب را نشان می‌دهد (۱۴). هرچه قابلیت اعتماد ارزش‌های اصلاحی کمتر باشد، پاسخ به انتخاب قابل انتظار از دقت کمتری برخوردار خواهد بود و از این طریق کارایی طرح‌های انتخاب نیز کاهش خواهد یافت. با توجه به نتایج تحقیق اخیر می‌توان گفت که عدم تفکیک اثرات غالبیت از اثرات ژنتیکی افزایشی (استفاده از یک مدل صرفاً افزایشی در حضور اثرات غالبیت) منجر به کاهش قابلیت اعتماد ارزش‌های اصلاحی می‌شود و میزان کاهش با درصد QTL‌های دارای اثر غالبیت رابطه مستقیم دارد. سان و همکاران (۲۲) گزارش کردند که وارد کردن اثرات ژنتیکی غالبیت در مدل منجر به افزایش قابلیت اعتماد ارزش‌های اصلاحی می‌شود که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

قابلیت اعتماد (Reliability)

در جدول ۵ قابلیت اعتماد ارزش‌های اصلاحی ژنومی در سناریوهای مختلف نشان داده شده است. به‌طور مشابه با صحت پیش‌بینی، در همه سناریوها، با افزایش درصد QTL‌های دارای اثر غالبیت، قابلیت اعتماد ارزش‌های اصلاحی کم شد. برای مثال در توزیع نرمال و در سناریو QTL ۱۰۰۰ با افزایش درصد QTL‌های دارای اثر غالبیت از صفر (سناریو A) به ۱۰۰ درصد (سناریو A+100%D) میزان قابلیت اعتماد ارزش‌های اصلاحی به میزان ۳۳ درصد کاهش یافت. در سناریو QTL ۲۵۰ میزان کاهش در قابلیت اعتماد ۴۰ درصد بود. قابلیت اعتماد ارزش‌های اصلاحی دقت ارزش‌های اصلاحی پیش‌بینی شده (precision) و بنابراین

جدول ۵- قابلیت اعتماد ارزش‌های اصلاحی ژنومی در سناریوهای مختلف از تعداد QTL و درصد QTL‌های دارای اثرات غالبیت
Table 5. Reliability of genomic breeding values in different scenarios of number of QTL and percent of QTLs with dominance effect

| A+100%D | A+50%D | A+25%D | A+10%D | A | |
|---------|--------|--------|--------|------|-----------------------------------------|
| | | | | | توزیع نرمال (Normal distribution) |
| 0.34 | 0.39 | 0.45 | 0.48 | 0.51 | QTL 1000 |
| 0.32 | 0.40 | 0.42 | 0.50 | 0.53 | QTL 500 |
| 0.30 | 0.41 | 0.44 | 0.47 | 0.50 | QTL 250 |
| | | | | | توزیع گاما (Gamma distribution) |
| 0.36 | 0.39 | 0.45 | 0.51 | 0.52 | QTL 1000 |
| 0.40 | 0.44 | 0.46 | 0.49 | 0.55 | QTL 500 |
| 0.38 | 0.40 | 0.47 | 0.52 | 0.52 | QTL 250 |
| | | | | | توزیع یکنواخت (Uniform distribution) |
| 0.41 | 0.43 | 0.48 | 0.52 | 0.53 | QTL 1000 |
| 0.37 | 0.46 | 0.45 | 0.49 | 0.51 | QTL 500 |
| 0.38 | 0.38 | 0.41 | 0.53 | 0.54 | QTL 250 |

آنها نیز کاسته شد. از آنجایی که ارزش‌های اصلاحی با صحت پایین، اریب و غیر قابل اعتماد موفقیت برنامه‌های انتخاب را تحت تأثیر قرار می‌دهند و هزینه‌های زیادی را بر سیستم تولیدی وارد می‌کنند، پیشنهاد می‌شود در هنگام ارزیابی ژنومی از یک مدل که توأمأ حاوی اثرات ژنتیکی افزایشی و غالبیت باشد در ارزیابی ژنومی صفات اقتصادی دام‌های اهلی استفاده شود، خصوصاً صفاتی که اطلاعات منتشر شده حاکی از تأثیر اثرات ژنتیکی غالبیت بر تنوع فنوتیپی آنها می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که در صورتیکه اثرات ژنتیکی غالبیت وجود داشته باشند اما در مدل منظور نشده و به‌صورت تفکیک نشده از اثرات افزایشی باقی بمانند، ارزیابی ژنومی مناسبی به عمل نخواهد آمد. در شرایط استفاده از یک مدل صرفاً افزایشی، با افزایش درصد QTL‌های دارای اثر غالبیت از صفر به ۱۰۰ درصد، صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی کاهش یافت، میانگین مربعات خطای پیش‌بینی و اریبی ارزش‌های اصلاحی افزایش یافت و از قابلیت اعتماد

منابع

- Ahmadi, Z., F. Ghafouri-Kesbi and P. Zamani. 2021. Assessing the performance of a novel method for genomic selection: rrBLUP method6. *Journal of Genetics*, 100: 24.
- Aliloo, H., J.E. Pryce, O. González-Recio, B.G. Cocks and B.J. Hayes. 2016. Accounting for dominance to improve genomic evaluations of dairy cows for fertility and milk production traits. *Genetic Selection Evolution*, 48:8.
- Baneh, H., A. Nejati Javaremi and G.H. Rahimi. 2017. Genomic evaluation of threshold traits with different genetic architecture using bayesian approaches. *Research on Animal Production*, 8:149-154.
- De los Campos, G. and P. Perez Rodriguez. 2020. BGLR: Bayesian generalized linear regression. <https://cran.r-project.org/web/packages/BGLR/BGLR.pdf>
- Doublet, A.C., P. Croiseau, S. Fritz, A. Michenet, C. Hozé, C. Danchin-Burge, D. Laloë and G. Restoux. 2019. The impact of genomic selection on genetic diversity and genetic gain in three French dairy cattle breeds. *Genetics Selection Evolution*, 51: 52.
- Ebrahimi, K., G.R. Dashab, H. Faraji-Arough and M. Rokouei. 2018. Estimation of additive and non-additive genetic variances of body weight in crossbreed populations of the Japanese quail. *Poultry Science*, 1: 46-55.
- Fernando, R.L. and M. Grossman. 1989. Marker-assisted selection using best linear unbiased prediction. *Genetics Selection Evolution*, 2: 246-477.
- Ghafouri-Kesbi, F. 2014. Application of machine learning methods in genomic evaluation and studying the effect of genotype imputation on prediction accuracy of genomic breeding values. Ph.D. thesis. Sari University of Agriculture and Natural resources, Sari, Iran.
- Ghasemi-Siab, M., S. Varkoohi and M.H. Banabazi. 2021. Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery on transcriptomes of American Holstein and Pakistanian Cholistani Cows. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 13: 313-319.
- Goddard, M. 2009. Genomic selection: prediction of accuracy and maximisation of long term response. *Genetica*, 136: 245-257.
- Hayes B.J., P.M. Visscher and M.E. Goddard. 2009. Increased accuracy of artificial selection by using the realized relationship matrix. *Genetics Research*, 91: 47-60.
- Jasouri, M., P. Zamani and S. Alijani. 2017. Dominance genetic and maternal effects for genetic evaluation of egg production traits in dualpurpose chicken. *British Poultry Science*, 58: 498-505.
- Legarra, A. and A. Reverter. 2018. Semi-parametric estimates of population accuracy and bias of predictions of breeding values and future phenotypes using the LR method. *Genetic Selection Evolution*, 50: 53.

14. Macedo, F.L., O.F. Christensen, J.M. Astruc, I. Aguilar, Y. Masuda and A. Legarra. 2020. Bias and accuracy of dairy sheep evaluations using BLUP and SSGBLUP with metafounders and unknown parent groups. *Genetic Selection Evolution*, 52: 1-10.
15. Meuwissen, T.H.E., B.J. Hayes and M.E. Goddard. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157: 1819-1829.
16. Mohammadi, Y. 2019. Accuracy of genomic selection using models with additive effects for productive traits in Iranian Holstein cows. The second international conference and the third national conference on agriculture, environment and food security. Jiroft University, Jiroft, Iran.
17. Mohammadi, Y. and M. Sattaei Mokhtari. 2018. Genomic selection accuracy parametric and nonparametric statistical methods with additive and dominance genetic architectures. *Research on Animal Production*, 8: 161-167 (In Persian).
18. Morais, Jr, O., J. Duarte, F. Breseghello, A. Coelho, T. Borba, J. Aguiar and O. Morais. 2017. Relevance of additive and nonadditive genetic relatedness for genomic prediction in rice population under recurrent selection breeding. *Genetics and Molecular Research*, 16: gmr16039849.
19. Neves, H.H.R., R. Carneiro and S.A. Queiroz. 2012. A comparison of statistical methods for genomic selection in a mice population. *BMC Genetics*, 13: 100.
20. Sadeghi, S.A.T., M. Rokoue., M. Vafaye Valleh, M.A. Abbasi and H. Faraji-Arough. 2019. Estimation of additive and non-additive genetic variance component for growth traits in Adani goats. *Tropical Animal Health and Production*, 52: 733-742.
21. Spelman, R. and D. Garrick. 1997. Utilization of marker assisted selection in a commercial dairy cow population. *Livestock Production Science*, 47: 139-147.
22. Sun, C., X.L. Wu, K.A. Weigel, G.J.M. Rosa, S. Bauck, B.W. Woodward, R.D. Schinabel and J.F. Taylor. 2012. An ensemble-based approach to imputation of moderate-density genotypes for genomic selection with application to Angus cattle. *Genetic Research*, 94: 133-150.
23. Technow, F. 2013. hypred: simulation of genomic data in applied genetics. Available at: <http://cran.r-project.org/web/packages/hypred/index.html>.
24. Vanaei, F., F. Ghafouri-Kesbi, A. Ahmadi and P. Zamani. 2022. Imputation of Missing Genotypes with Intelgent K-Nearest Neighbore Algorithm. *Research on Animal Production*, 35: 130-138.
25. VanRaden, P.M. 2008. Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science*, 91: 4414-4423.
26. Varona, L., A. Legarra, M.A. Toro and Z.G. Vitezica. 2018. Non-additive effects in genomic selection. *Frontiers in Genetics*, 9: 78.
27. Wang, C.L., X.D. Ding, J.Y. Wang, J.F. Liu, W.X. Fu, Z. Zhang, J. Yin and Q. Zhang. 2013. Bayesian methods for estimating GEBVs of threshold traits. *Heredity*, 110: 213-219.
28. Yadav, S., X. Wei, P. Joyce, F. Atkin, E. Deomano, Y. Sun, L.T. Nguyen, E.M. Rosa, Cavallaro, T. K.S. Aitken, B.J. Hayes and K.P. Vos-Fels. 2021. Improved genomic prediction 1100 of clonal performance in sugarcane by exploiting non-additive genetic effects. *Theoretical and Applied Genetics*, 134: 2235-2252.

Investigating the Impact of Dominance Genetic Effects on the Accuracy of Genomic Evaluation

Moslem Karimi¹, Farhad Ghafouri-Kesbi² and Pouya Zamani³

-
- 1- Former M.Sc. Student of animal and Poultry Breeding and Genetics, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
2- Faculty Member, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, (Corresponding author: f.ghafouri@basu.ac.ir)
3- Faculty Member, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan
Received: 6 December, 2022 Accepted: 25 January, 2023
-

Extended Abstract

Introduction and Objective: The review of published articles in the field of genomic selection shows that in the most of studies conducted in livestock and crop species, genomic evaluation and prediction of genomic breeding values have been done without considering the dominance genetic effects. However, recent studies have shown that the dominance genetic effects contribute significantly to the phenotypic variation of productive traits of domestic animals. Therefore, it seems that ignoring the dominance genetic effects will affect the accuracy of the genomic evaluation. In this article, the consequences of not considering the dominance genetic effects in the genomic evaluation model on accuracy, mean square error, bias and reliability of genomic breeding values were investigated.

Material and Methods: A genome consisting of 5 chromosomes, each 1 Morgan length, containing 5000 bi-allelic single nucleotide polymorphism (SNP) was simulated at heritability level of 0.5. All quantitative trait loci (QTLs) were assigned additive genetic effects. Different distributions of QTL effects (uniform, normal and gamma) as well as three scenarios of the number of QTL as 5, 10 and 20% of the total number of SNPs (respectively 250, 500 and 1000 QTLs) were considered as simulation hypotheses. In different scenarios, dominance genetic effects were given to 0.00, 10, 25, 50 and 100% of QTLs. The genomic breeding values were estimated using the genomic best linear unbiased prediction method (GBLUP) and the criteria of LR method such as prediction accuracy, mean square error of prediction, bias and reliability of the genomic breeding values were used to analysis genomic breeding values predicted by GBLUP.

Results: The results showed that if the dominance genetic effects contribute to the phenotypic variation of the interested trait, but ignored from the genomic evaluation model and remain unseparated from the additive genetic effects, lead to a decrease in the accuracy of the genomic breeding values by about 25%. Also, the mean square error of prediction of genomic breeding values increased by 60% following increase in the percentage of QTLs with dominance effect from 0.00 to 100%. The bias of genomic breeding values was also affected by ignoring dominance effects and increased by 36% following increase in the percentage of QTLs with dominance effect from 0.00 to 100%. Also, the reliability of genomic breeding values was significantly reduced by about 40% with the increase in the percentage of QTLs with dominance effect from 0.00 to 100%.

Conclusion: In general, the results of this research showed that not separating the dominance genetic effects from additive genetic effects leads to low-accuracy, biased, and unreliable estimates of genomic breeding values, which will ultimately reduce the efficiency of genomic selection schemes. Therefore, it was suggested that in order to increase the efficiency of genomic selection, dominance genetic effects should be included in the genomic evaluation model.

Keywords: Dominance genetic effects, GBLUP, Genomic evaluation, Polymorphism, Single nucleotide



"مقاله پژوهشی"

تجزیه داده‌های ژنومی حاصل از 70 SNP chip جهت شناسایی جایگاه‌های مرتبط با تمایز دو نژاد اسب کرد و کاسپین با استفاده از جاروب انتخاب

محدثه نصیرپور^۱، محمد مرادی شهر بابک^۲، حسین مرادی شهر بابک^۳، حسن مهربانی یگانه^۴ و یونس دوستی^۵

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲- استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳- استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۴- استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۵- دانشجوی کارشناسی ارشد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران، (نویسنده مسوول: y.devisty@ut.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۵

صفحه: ۱۵۴ تا ۱۶۲

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: انتخاب طبیعی و مصنوعی در جهت افزایش فراوانی آلل‌های مطلوب در جمعیت‌های حیوانی، سبب برجای ماندن برخی نشانه‌ها در ژنوم حیوانات می‌شود که معمولاً با صفات مهمی در ارتباط هستند. امروزه با پیشرفت توالی‌یابی نسل جدید و دسترسی آسان‌تر به اطلاعات ژنومی حیوانات، مدل‌هایی برای شناسایی نشانه‌های انتخاب بر پایه فراوانی آللی و طول هاپلوتیپی ارائه شده است. در این پژوهش نشانه‌های انتخاب متمایزکننده دو جمعیت اسب نژاد کرد و کاسپین با استفاده از تراشه 70k مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از ۳۵ راس اسب نژاد کاسپین و ۳۱ راس اسب نژاد کردی نمونه خون جمع‌آوری شد. پس از استخراج DNA و تعیین توالی (توسط شرکت ایلومینا) کنترل کیفی داده‌ها برای فراوانی آلل حداقل $(P_{MAF} < 0.01)$ و نرخ تعیین ژنوتیپ $(P_{GENO} < 0.05)$ و انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ $(P_{H-W} < 1 \times 10^{-6})$ انجام شد. در ادامه کنترل کیفی با استفاده از آزمون تناسلی (0) انجام گرفت و با استفاده از سایت Ensemble به شناسایی جایگاه‌های SNPها پرداخته و در نهایت ژن‌های مرتبط با این جایگاه‌ها مشخص شدند.

یافته‌ها: پس از انجام کنترل کیفیت داده‌های ژنومی و ادغام اطلاعات دو جمعیت بر اساس بسته نرم‌افزاری R 61 اسب با 52650 SNP برای ادامه آنالیزها باقی ماندند. در این پژوهش با استفاده از آزمون‌های آماری Fst به روش برادرگر ناریب تناسلی در نهایت تعداد 31 نشانگر متمایزکننده دو نژاد اسب مورد مطالعه شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که دو نژاد اسب کاسپین و اسب کرد در دو دسته جداگانه قرار دارند. نژاد اسب کردی دارای تنوع و پراکندگی بیشتری نسبت به اسب کاسپین بود. از مهم‌ترین ژن‌های شناسایی شده مرتبط با جایگاه‌های معنی‌دار، ژن‌های *GM6B*, *ITGB6*, *DOCK3*, *R3HCC1*, *HPSE2*, *INPP5F*، *THOC2*، *GRIA3*، *LRCH2*، *WDR13*، *PHEX* بودند. بیشتر ژن‌های شناسایی شده در این پژوهش با تبادلات بین سلولی، انقباضات ماهیچه‌ای، ایمنی، پشتیبانی غشا پایه، پایداری DNA، سیستم عصبی در ارتباط بودند.

واژه‌های کلیدی: اسب کاسپین، اسب کردی، نشانه‌های انتخاب، Fst، PCA

مقدمه

بالا نگه می‌دارد)، یال پرپشت، دم در موقع راه رفتن به صورت فواره‌ای و قوس‌دار پایین آمده، کیل پر حجم و قوی، قسمت جلویی سینه عریض و عضلانی و شکم به صورت استوانه‌ای مدور در امتداد سینه قرار دارد. اسب کردی از نظر رنگ متنوع است و به رنگ‌های سیاه، سفید، گریز و کهر دیده می‌شود (۲۶). قدمت اسب کاسپین به بیش از سه هزار سال می‌رسد. تصویر این اسب‌ها در نگاره‌های پلکان آپادانای تخت جمشید موجود است (۲۵). خصوصیات رفتاری این نژاد حاکی از هوش سرشار آن بوده و مهم‌ترین ویژگی آن فراگیری سریع و آسان رفتارهای آموزشی است. تلفیق این هوش با خلق‌و‌خوی مهربان در این نژاد، آن را جزو بهترین نژادها برای سوارکاری و آموزش سوارکاری کودکان در جهان قرار داده است. آموزش و تربیت این نژاد در باشگاه‌های سوارکاری نشان داد که از نظر پرش از استعداد خاصی برخوردار بوده و در بسیاری موارد قابل رقابت با اسب‌های بزرگ جثه می‌باشند (۱). اسب کاسپین با وجود قدی کوتاه یعنی ۹۰ تا ۱۲۰ سانتی‌متر به یک اسب با تناسب بدنی کامل شباهت دارد و دارای پرش زیاد و رشد سریع‌تری از اسب معمولی است (۲۷). قد اسب‌های کاسپین ۱۰۰ تا ۱۳۰ سانتی‌متر گزارش شده است البته نمونه‌های کمتر از ۱۰۰ سانتی‌متر هم به‌ندرت دیده می‌شود. عوامل متعددی بر

اسب حیوانی است که در سیر تکاملی و تاریخی انسان را همراهی کرده و در طول تاریخ بسیاری از پیشرفت‌ها و موفقیت‌های بشر در امور نظامی، کشاورزی، حمل‌ونقل و ورزشی تحت تأثیر اسب قرار گرفته است. سرزمین پهناور ایران مهد پرورش اسب و مبدأ نژادهای گوناگون است. در ایران ثروتی بی‌همتا با سابقه‌ای به طول تاریخ تمدن جهان، اسب بومی وجود دارد که ویژگی‌های منحصر به فرد داشته و به گواهی تاریخ جد تمام اسب‌های اصیل و ممتاز امروزی است (۲۲). در تاریخ آمده است که از ۵۰۰ سال قبل از میلاد مسیح (ع) در دامنه‌های سلسله جبال زاگرس در منطقه‌ای به نام نسا، اسب کردی وجود داشته است. با توجه به خصوصیات ظاهری و توانایی‌ها، این اسب به تیره‌های متفاوتی مانند جاف، افشاری، سنجایی و غیره تقسیم می‌شود. این نژاد اسب، اسبی قدرتمند، عضلانی و با استقامت بوده و دارای سر نسبتاً بزرگ است. توانایی این نژاد برای استفاده در مسافت‌های طولانی و مسیرهای کوهستانی و همچنین شرکت در مسابقات چوگان بی‌نظیر است (۸). اسب کردی دارای سم‌های سخت و محکم، چشم‌های درشت و گرد با حدقه برجسته، اتصال سر و گردن قوی، گردن قوی و حجیم (معمولاً سر را

می‌شود. در صورتی که جهش به وجود آمده در سطح ژنوم باعث افزایش شایستگی افراد در جامعه شود، انتخاب طبیعی باعث می‌شود تا افرادی که دارای شایستگی بیشتری هستند، در تشکیل نسل بعد مشارکت بیشتری داشته باشند (۲). به دنبال افزایش فراوانی آلل‌های مفید، فراوانی آلل‌های موجود در جایگاه‌های خنثی یا نسبتاً خنثی که به این جایگاه‌ها متصل هستند، نیز افزایش می‌یابد. به این پدیده انتقال همراه می‌گویند. به کاهش یا حذف تنوع در جایگاه‌های مجاور یک جهش (آلل جهش‌یافته) سودمند در طی انتخاب طبیعی، جاروب انتخاب^۲ گفته می‌شود. چنانچه یک جهش جدید باعث افزایش شایستگی افراد حامل آن نسبت به سایر افراد جامعه گردد، انتخاب باعث می‌شود افرادی که دارای شایستگی بیشتری هستند در تشکیل نسل بعد مشارکت بیشتری داشته باشند. بدین ترتیب فراوانی واریانت جهش یافته بسته به سهم آن در افزایش شایستگی به سرعت شروع به افزایش خواهد کرد. به عبارتی، هنگامی که انتخاب مثبت به سمت افزایش فراوانی آلل مطلوب پیش می‌رود، جایگاه‌های نزدیک به این جایگاه اگر هم اثرشان خنثی باشد به علت پیوسته بودن با آلل مطلوب فراوانی‌شان زیاد شده که در نتیجه این پدیده، الگوی تنوع ژنتیکی و عدم تعادل لینکاژی در جایگاه‌های اطراف این جهش انتخابی تغییر خواهد کرد (۲). تاکنون چندین روش برای شناسایی نشانه‌های انتخاب با استفاده از داده‌های مقایسه ژنومی گزارش گردیده است (۲۴). این روش‌ها که بر اساس عدم تعادل پیوستگی ژنی عمل می‌کنند شامل آزمون هاپلو تیپ با طول بلند (LRH)، هموزیگوسیتی هاپلو تیپ گسترش یافته (EHH)، انتگرال گیری هموزیگوسیتی هاپلو تیپی (iHS) می‌باشند و همچنین بررسی آماره FST که مبتنی بر فراوانی آلل می‌باشد.

استفاده از این روش‌ها برای شناسایی نشانه‌های انتخاب می‌تواند ما را در تشخیص صفات تحت انتخاب، ژن‌های مؤثر بر صفات کمی و کیفی و یا جمعیتی که QTL در آن در حال تفرق است، یاری دهند. به طور کلی، مناطقی از ژنوم که تحت انتخاب هستند بایستی اهمیت شایستگی و عملکردی داشته باشند، در غیر این صورت انتخاب مثبت آن‌ها را تحت تأثیر قرار ندهد (۲۴).

هدف از این پژوهش، شناسایی مناطقی ژنومی هدف انتخاب در طی سال‌های طولانی در دو نژاد اسب ایرانی کاسپین و اسب کرد و همچنین مکان‌یابی این مناطق، شناسایی ژن‌ها و QTL‌های موجود در این مناطق، به عنوان، مناطقی متمایز کننده و یا صفات متمایز کننده در این دو نژاد با استفاده از آرایه‌های ژنومی تک نوکلئوتیدی ۷۰k بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های خون برای استخراج DNA قبل از نمونه‌گیری از مالکان در مورد هر اسب اطلاعاتی در مورد سن و سال و نژاد اسب و امکان دورگه بودن آن‌ها جمع‌آوری شد. در صورت وجود ناخالصی طبق اطلاعات مالکان، از نمونه‌گیری خودداری به عمل آمد. همچنین برای توصیف هرچه بهتر جامعه ژنوتیپی هر نژاد، از خون‌گیری اسب‌هایی

شاخص قد اسب‌های کاسپین مؤثر هستند که وراثت مهم‌ترین آن‌ها است. با تحقیقات انجام شده ثابت شد که اسب کاسپین جد تمامی اسبان موجود در دنیا بوده و حتی اسب‌های عرب که از قدیمی‌ترین اسبان دنیا می‌باشند از اسبچه خزر به وجود آمده‌اند. لذا به آن اسب مینیاتوری دریای کاسپین اطلاق می‌شود. این اسب دارای سم بسیار قوی، کوچک و بیضی‌شکل است، به طوری که حتی در مواقعی که روی خشن‌ترین زمین کار می‌کنند، نیازی به نعل‌بندی ندارند (۱۰). از اسب‌ها بیشتر جهت حمل‌ونقل و کار استفاده می‌شود. اسب‌های عرب جمعیت زیادی از اسب‌های کشور را شامل می‌شوند و در سراسر کشور پراکنده هستند در حالی که محل پراکنش اسب‌های کاسپین و تالشی در حاشیه‌های دریای خزر است و جمعیت کمی دارند و در معرض خطر انقراض هستند. لازم است توجه ویژه‌ای برای نگهداری و حفظ تمام نژادهای اسب ایران از لحاظ اصلاح نژادی و مخزن ژنی مبذول گردد (۱۶). کاهش در اندازه جمعیت برخی گونه‌های بومی منجر به نگرانی‌هایی در مورد حفظ نژادهای کمیاب در بسیاری از نواحی جهان و بخصوص ایران شده است (۸).

شرح کامل تفاوت ژنتیکی بین دو نژاد امکان‌پذیر نیست ولی فاصله ژنتیکی بهترین معیار برای بیان تفاوت ژنتیکی می‌باشد. برای شناسایی فاصله ژنتیکی روش‌های متعددی پیشنهاد شده است که مبتنی بر فراوانی اللی است (۱۸). زمانی که یک آلل سودمند در طی زمان‌های مختلف، هدف انتخاب مثبت قرار می‌گیرد باعث ایجاد نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌گردد که از طریق بررسی طیف فراوانی آللی و محاسبه عدم تعادل پیوستگی^۱ (LD) قابل‌شناسایی هستند (۲۴). استفاده از این روش، که به انتقال همراه معروف است در طی چند سال اخیر به یکی از کارآمدترین تکنیک‌ها در شناسایی مناطقی ژنومی مؤثر بر صفات کمی در حوزه‌های مختلف ژنتیک تبدیل شده است (۲۸). یکی از مزایای اصلی این روش امکان اجرای آن تنها با استفاده از اطلاعات مولکولی در غیاب رکوردهای فنوتیپی می‌باشد (۱۲) که این روش را در شناسایی جایگاه‌های ژنومی کاندیدا برای بسیاری از صفات از طریق مقایسه نشانه‌های انتخاب در جمعیت‌هایی با صفات متمایز بخصوص تحت شرایط نداشتن شجره و رکورد برای سایر صفات، مصداق اکثر نژادهای موجود در کشور، متمایز می‌سازد. شناسایی این مناطق ژنومی، با توجه به این که عمدتاً با ژن‌های عمده اثر و صفات مهم اقتصادی همراه هستند دارای اهمیت زیادی است و می‌توانند منابع اطلاعاتی مناسبی برای بهبود راندمان، تفکیک نژادی و دیگر مؤلفه‌های مورد نیاز برای بهبود ژنتیکی دام‌ها فراهم آورند (۱۲).

آگاهی از منشأ، نژاد و تاریخچه تکامل جهت پیش‌بینی ترکیب ژنی حمل شده توسط هر نژاد ممکن است در آینده برای توصیف صفات مختلف مثل مقاومت به بیماری، استرس و سازگار شدن به محیط‌های مختلف مهم باشد (۴). سطوح بالای تمایز جمعیت می‌تواند بیانگر وقوع انتخاب مثبت روی یک آلل مفید در یک یا چندین جمعیت باشد. در مقابل، سطوح پایین‌تر نشان‌دهنده وجود انتخاب متعادل‌کننده است که منجر به حفظ نسبت خاصی از آلل‌ها در تمام جمعیت

از Fst می‌توان برای کشف تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌های بسیار متضاد و با فاصله دور از هم استفاده نمود(۴). پیش‌بینی می‌شود که با کاهش فاصله بین جمعیت‌ها، این آماره نمی‌تواند به خوبی تفاوت‌های ژنتیکی را شناسایی نماید لذا نیاز به دقت کافی دارد. جهت بررسی نشانه‌های انتخاب ژنومی در هر دو نژاد از روش شاخص تثبیت تمایز جمعیتی Fst برای هر نشانگر SNP به روش برآوردگر نارایب تتا در محیط R و با استفاده از پکیج Fst انجام شد. این آماره برای هر SNP و برای کلیه کروموزوم‌ها محاسبه شد لازم به ذکر است، سطح آستانه معنی‌داری برای این آزمون و برای هر SNP مقدار ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. این آماره در واقع یک معیاری است که به طور وسیعی برای مشخص کردن تمایز ژنتیکی به وجود آمده در طول زمان در ساختار جمعیتی بین جمعیت‌ها استفاده می‌شود (۵). محققین مقدار شاخص تثبیت تمایز جمعیتی کمتر از ۰/۰۵ را به‌عنوان معیار تمایز پایین و مقدار بالاتر از ۰/۶۴ را به‌عنوان یک معیار بالای تمایز جمعیتی عنوان کردند (۲۹).

آزمون مؤلفه‌های اصلی (PCA) رویکردی است برای طبقه بندی افراد بر اساس داده‌های ژنتیکی به گروه‌هایی بر اساس نژاد و اولاً از این روش برای بررسی و اطمینان انطباق گزارش نژادی افراد با گروه‌بندی افراد بر اساس اطلاعات ژنتیکی و ثانیاً در صورت ظاهر شدن یک فرد یا افرادی در گروه نژادی دیگر که می‌تواند به دلیل خطای نمونه‌گیری باشد. در این مطالعه پس از ادغام داده‌های هر دو نژاد این آزمون انجام شد (۱۴).

پس از شناسایی SNP‌های معنی‌دار در هر آزمون، برای شناسایی ژن‌های مرتبط با این SNP‌ها به وب‌سایت ENSEMBLE مراجعه و برای یافتن ژن‌های مرتبط با QTLها و عملکرد آن‌ها به وب‌سایت‌های Medlineplus و Genecard مراجعه شد.

نتایج و بحث

پس از استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ نمونه‌های ارسال‌شده، در ابتدا برای هر جمعیت کنترل کیفیت انجام شد. یک راس اسپ از ۳۱ راس اسپ نژاد کردی و چهار راس اسپ از ۳۵ راس اسپ نژاد کاسپین به دلیل تعداد بالای نشانگرهای گمشده از ادامه آنالیزها حذف شد. اطلاعات مرتبط با کنترل کیفیت هر نژاد در جداول (۱) نمایش داده شده است.

دارای رابطه خویشاوندی که بر اساس اطلاعات مالکان بود، امتناع گردید. در این تحقیق، ۳۶ نمونه خون از اسپچه خزر در شهر گیلان و ۳۱ نمونه خون از اسپ‌های نژاد کردی در شهرهای سقز، کرمانشاه، بیجار، اسدآباد و کنگاور به میزان ۵ سی‌سی گرفته شد و پس از انتقال به آزمایشگاه استخراج DNA صورت گرفت.

تعیین توالی نمونه‌های DNA

تمام نمونه‌ها به آزمایشگاه GeneSeek کشور آمریکا جهت تعیین ژنوتیپ انتقال داده شدند. بعد از انجام مراحل تعیین ژنوتیپ، خوانش تراشه‌ها به‌منظور تعیین نوع SNP‌های موجود روی تراشه‌های مربوط به هر حیوان، با استفاده از اسکنر ارائه‌شده توسط شرکت ایلومینا انجام شد. برای این کار از نرم‌افزار ژنوم اسکن برای اندازه‌گیری شدت سیگنال‌های قرمز و سبز رنگ به‌دست‌آمده از دوربین استفاده شد. پس از اندازه‌گیری شدت و نوع سیگنال‌های نوری مختلف و به دست آوردن نقشه فیزیکی SNP‌های موجود، تعیین ژنوتیپ انجام شد. ژنوتیپ SNP‌ها با استفاده از تراشه‌های طراحی‌شده برای اسپ که دارای ۷۰۰۰۰ نشانگر تک نوکلئوتیدی است و با بکارگیری پروتکل استاندارد ارائه‌شده توسط شرکت ایلومینا انجام شد.

آنالیز داده‌های اولیه و کنترل کیفیت داده‌ها

کنترل کیفیت داده‌ها با نرم‌افزار Plink (نسخه ۱/۰۶) و برنامه R (نسخه ۹/۱) انجام شد. داده‌ها با فراوانی آلل حداقل بیشتر از ۰/۰۱ و نرخ تعیین ژنوتیپ بیش از ۰/۹۵ برای آنالیزهای بعدی انتخاب و حیوانات با بیش از ۰/۰۵ ژنوتیپ گم‌شده از آنالیز حذف شدند. انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در سطح $P < 1 \times 10^{-6}$ در نظر گرفته شد و نشانگرهایی با p-value پایین‌تر از این مقدار استفاده شدند. پس از انجام مراحل کنترل کیفیت، آنالیز تجزیه مؤلفه‌های اصلی انجام شد. برای انجام این کار از بسته نرم‌افزاری geno-pca در محیط برنامه R استفاده شد. برای ترسیم پلات مربوطه نیز از برنامه R استفاده شد.

آنالیزهای آماری برای شناسایی نشانه‌های انتخاب

برای محاسبه Fst، به فرکانس‌های آللی در هر جمعیت مورد نیاز است. بسته به قالب ژنوتیپ‌ها، می‌توان رویکردهای مختلفی را برای تبدیل ژنوتیپ‌ها به فرکانس‌های مختلف در نظر گرفت. به‌طورکلی، هرچه اندازه نمونه برای جمعیت‌های مورد بررسی بزرگ‌تر باشد، تخمین فرکانس آلل از اطمینان بیشتری برخوردار خواهد بود.

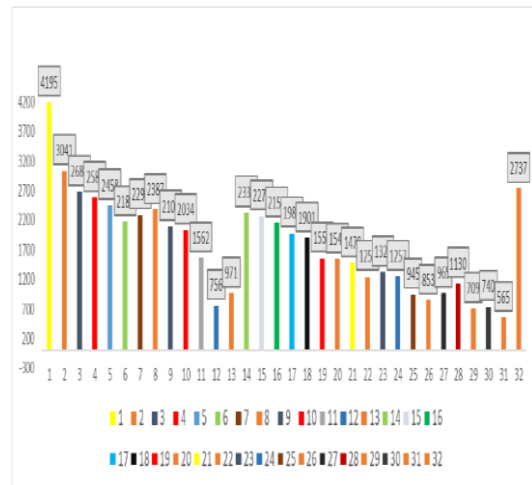
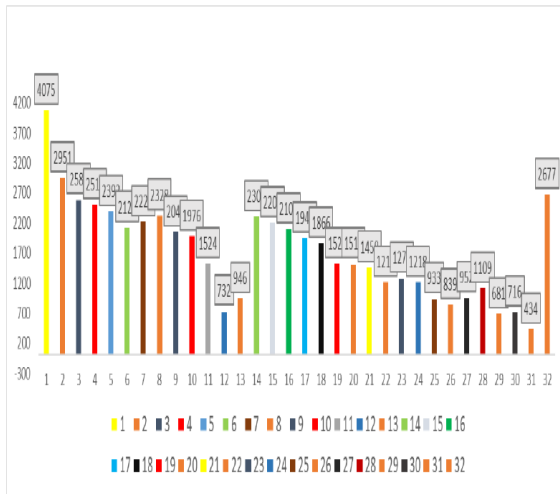
جدول ۱- کنترل کیفیت داده‌های ژنومی برای نژاد اسب کردی و کاسپین

Table1. Quality control of genomic data for Kurdish and Caspian horse breeds

| ادغام اسبها (Merging horses) | اسب نژاد کاسپین (Caspian horse breed) | اسب نژاد کردی (Kurdish horse breed) | مولفه (Component) |
|---------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 66 | 35 | 31 | تعداد کل اسب (Total number of horses) |
| 61 | 31 | 30 | تعداد کل اسب پس از کنترل کیفیت (Total number of horses after quality control) |
| 59639 | 65157 | 65157 | تعداد کل اسنپ‌ها قبل از کنترل کیفیت (Total number of snps before quality control) |
| 0 | 4354 | 4005 | تعداد نشانگرهای حذف شده با MAF کمتر از ۰/۰۱ (The number of markers removed with MAF less than 0/01) |
| 6935 | 5411 | 4188 | تعداد نشانگرهای حذف شده با GENO کمتر از ۰/۰۵ (The number of markers removed with GENO less than 0/05) |
| 44 | 15 | 8 | تعداد نشانگرهای حذف شده به خاطر عدم تعادل هاردی واینبرگ (Number of markers removed by Hardy-Weinberg disequilibrium) |
| 52650 | 55377 | 56956 | تعداد کل اسنپ‌ها پس از کنترل کیفیت (Total number of snps after quality control) |

داده‌ها پراکنش نشانگرهای ژنتیکی روی کروموزوم‌های دو نژاد به صورت پلات ترسیم شد (شکل ۱). در اسب نژاد کردی، کروموزوم شماره یک با ۴۰۰۰ SNP دارای بالاترین تعداد نشانگر و کروموزوم‌های ۲۹، ۱۲، ۳۱، ۲۹ دارای کمترین تعداد نشانگر ژنتیکی بودند. کروموزوم ۳۲ نیز پس از کروموزوم شماره یک دارای بالاترین تعداد نشانگر ژنتیکی بود.

پس از طی مراحل کنترل کیفیت داده‌ها برای هر نژاد، دو جمعیت با یکدیگر ادغام شده و کنترل کیفیت بار دیگر انجام شد. هیچ حیوانی در کنترل کیفیت داده‌های ادغامی حذف نشد و از تعداد ۵۹۶۳۹ نشانگر در نهایت ۵۲۶۵۰ عدد برای ادامه آنالیزها باقی ماندند. در این مرحله هیچ حیوانی به دلیل MAF حذف نشد و تعداد ۴۴ نشانگر به دلیل عدم تعادل هاردی واینبرگ حذف شدند. نرخ کلی تعیین ژنوتیپ نیز عدد ۰/۹۴ به دست آمد (جدول ۱). پس از مراحل کنترل کیفیت



شکل ۱- نحوه پراکنش نشانگرهای ژنتیکی روی کروموزوم‌های اسب نژاد کردی (راست) و اسب نژاد کاسپین (چپ)

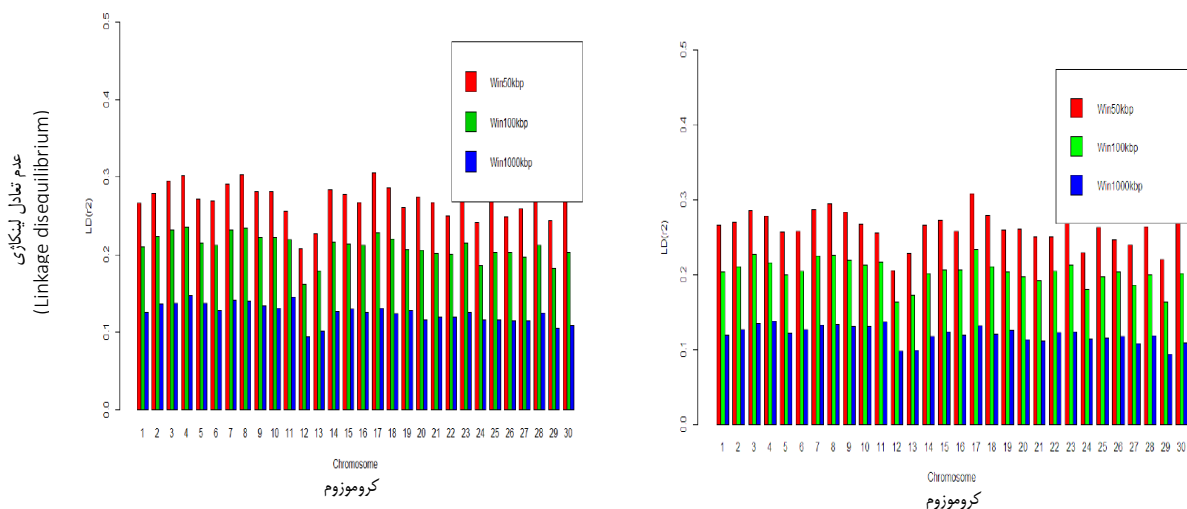
Figure1. Distribution of genetic markers on the chromosomes of Kurdish horses (right) and Caspian horses (left) breed

است. یکی از این روش‌ها، روش NextSNP و روش معمول‌تر آن روش فاصله ژنتیکی است. در این مطالعه پس از انجام مراحل کنترل کیفیت مقدار عدم تعادل لینکاژی برای سه پنجره با طول ۵۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ کیلو بازی و برای هر نشانگر محاسبه شد و میانگین آن‌ها برای هر نژاد در شکل (۲) نمایش داده شده است.

پراکنش نشانگرها روی کروموزوم‌های نژاد اسب کاسپین تقریباً مشابه با اسب کردی بود و کروموزوم شماره یک و ۳۲ به ترتیب با ۴۰۷۵ و ۲۶۷۷ نشانگر دارای بالاترین تعداد SNP بودند.

بررسی عدم تعادل لینکاژی در دو جمعیت اسب‌های کرد و کاسپین با روش فاصله فیزیکی:

عدم تعادل لینکاژی پایه و اساس بسیاری از آنالیزهای مرتبط با جمعیت‌ها است. این مؤلفه با چند روش قابل محاسبه



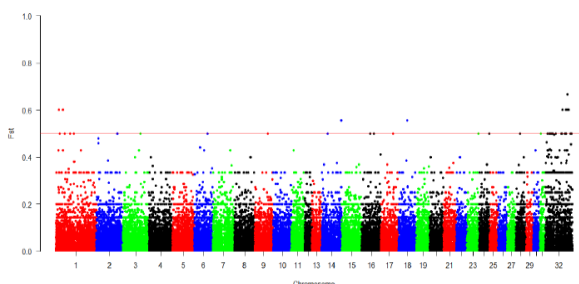
شکل ۲- عدم تعادل لینکاژی در کروموزوم‌های اسب‌های نژاد کردی (راست) و کاسپین (چپ)
Figure 2. Linkage disequilibrium in the chromosomes of Kurdish (right) and Caspian (left) horse breed

ساختار جمعیت سایر نژادهای اسب بومی ایران و ارزیابی روابط ژنتیکی در بین این نژادها مورد مطالعه قرار دادند. هر دو تجزیه و تحلیل PCA و STRUCTURE در نژادهای مختلف اسب ایرانی نشان داد که اسب‌های عرب به‌طور جداگانه از نژادهای ترکمن و اسب‌های کاسپین خوشه می‌گیرند، اما با دره شوری و اسب‌های کرد همپوشانی دارند. آن‌ها در مجموع تعداد ۲۹ منطقه از ژنوم اسب را شناسایی کردند. در مطالعه دیگر بابائی و همکاران (۳) تحت عنوان مقایسه روش‌های تجزیه مولفه‌های اصلی (PCA) در بررسی ساختار جمعیتی نژادهای اسب آخال تکه، کاسپین و عرب با استفاده از اطلاعات ژنومی نشان داده شد که این سه نژاد به صورت مجزا گروه‌بندی شده‌اند و اسب کاسپین در گروه جدایی نسبت به اسب آخال تکه و عرب قرار دارد. به‌طور کلی بر اساس شکل (۳) و خوشه‌بندی انجام‌شده بر اساس pc1 و pc2 دو نژاد اسب کردی و کاسپین در دو گروه دور از هم و مجزا قرار گرفتند. نژاد اسب کردی دارای پراکندگی بیشتری نسبت به نژاد اسب کاسپین بود. طبق تحقیقات گذشته و تحقیق پیش رو مشخص شد که اسب کاسپین و کرد در دو گروه جداگانه قرار دارند. این نتیجه از روش آزمون مولفه‌های اصلی هم سو با نتایجی بود که محققانی همچون ریچ و همکاران (۲۳)، پاچو و همکاران (۲۰) و تومیر و همکاران (۱۹) داشتند. این محققین گزارش کردند که آنالیز مولفه‌های اصلی توانایی شناسایی مهاجرت‌ها در جمعیت‌های ایزوله شده را دارا می‌باشد. این روش همچنین به عنوان جایگزینی برای روش‌های خوشه‌بندی نیز پیشنهاد شده است (۱۴).

به‌طور کلی مقدار عدم تعادل لینکاژی در فاصله کوتاه‌تر (از نظر موقعیت فیزیکی SNPها) دارای میانگین بالاتری است و با افزایش فاصله این مقدار کاهش می‌یابد. میانگین عدم تعادل لینکاژی در پنجره ۱۰۰۰ کیلو بازی برابر با ۰/۱۲ و در پنجره ۱۰۰ کیلو بازی برابر با ۰/۳۰ بود. مقدار پراکندگی عدم تعادل لینکاژی در پنجره‌های مختلف پائین است. معمولاً زمانی که میانگین عدم تعادل لینکاژی کروموزوم‌ها واریانس کمی داشته باشند، جمعیت به‌عنوان یک جمعیت بسته و بدون انتخاب شدید برای یک ناحیه خاص ژنومی در نظر گرفته می‌شود و در دو نژاد مورد مطالعه نیز واریانس بین کروموزوم‌ها چندان شدید نبود. در نژاد اسب کردی کروموزوم‌های ۳، ۲۸، ۲۵، ۳۰ و ۸ و در نژاد اسب کاسپین کروموزوم‌های شماره ۳، ۴، ۳۰، ۲۳، ۱۷، ۸ و ۲۸ دارای بالاترین مقادیر عدم تعادل لینکاژی بودند.

نتایج بررسی آزمون مؤلفه‌های اصلی PCA

در این مطالعه پس از ادغام داده‌های هر دو نژاد و طی مراحل کنترل کیفیت این آزمون انجام شد. نتایج این آنالیز نشان داد که یک حیوان از نژاد اسب کاسپین در گروه نژاد اسب کردی قرار گرفت و همچنین سه اسب نژاد کردی در گروه اسب نژاد کاسپین قرار گرفتند. به همین دلیل این اسب‌ها از ادامه آنالیزها حذف شدند شکل (۳). طبق گزارشات همایونی و همکاران (۹) با استفاده از مجموعه داده SNP۶۷۰K میزان تنوع جایگاه‌های مورد نظر را در ۷۱ رأس اسب عرب مشخص کردند. در این تحقیق ۳۰ نمونه از ترکمن‌ها، کاسپین، دره شوری و اسب‌های کرد را برای تعیین

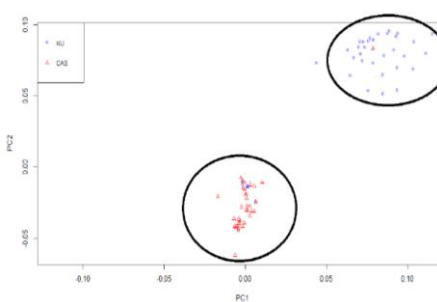


شکل ۴- مقادیر ارزش‌های Fst به روش برآوردگر ناریب تتا
Figure 4. Fst values using unbiased theta(θ) estimator method

هستی‌شناسی ژن مربوط به این ژن شامل اتصال کربوهیدرات است (۳۰). ژن DOCK3 کدکننده پروتئینی است که، فاکتور بالقوه تبادل نوکلئوتید گوانین (GEF) است. همچنین همراه با برخی پروتئین‌ها مانند GEF، GTPase های کوچک را فعال می‌کنند. DOCK ۳ را به‌عنوان تعدیل‌کننده جدید سلامت ماهیچه شناسایی می‌کنند و ممکن است اهداف درمانی برای درمان علائم عضله دیستروفیک داشته باشد. ژن rbms3 پروتئین متصل به RNA را رمزگذاری می‌کند که از خانواده پروتئین‌های تک‌رشته‌ای متصل به ژن c-myc است. ژن itgb6 پروتئینی را رمزگذاری می‌کند که عضوی از خانواده فوق‌العاده اینتگرین است. اعضای این خانواده گیرنده‌های چسبنده‌ای هستند که در سیگنالینگ از ماتریکس خارج سلول به داخل سلول عمل می‌کنند (۱۷). ژن GPM6B گلیکوپروتئین غشایی را کد می‌کند که متعلق به خانواده پروتئین‌های پروتئولیبید است. اعضای خانواده پروتئین لیپید در بیشتر مناطق مغز بیان می‌شوند و تصور می‌شود در عملکردهای سلولی مانند انتقال غشایی و ارتباطات سلول به سلول دخیل هستند (۷).

ژن PHEX دستورالعمل‌هایی برای ساخت آنزیمی را دربردارد که در درجه اول در استخوان‌ها و دندان‌ها فعال است. هنوز مشخص نیست که آنزیم PHEX چگونه به کنترل جذب مجدد فسفات کمک می‌کند و چه نقشی در شکل‌گیری و رشد استخوان‌ها دارد (۲۱).

ژن THOC2 ژن مهمی است که به تکامل و عملکرد سلول‌های عصبی (سلول‌های مغزی) کمک می‌کند. اختلالات مرتبط با THOC2 طیف وسیعی از اختلالات عصبی شناختی است که وقتی ژن THOC2 قادر به عملکرد صحیح نباشد، ایجاد می‌شود. اختلالات مرتبط با THOC2 با تاخیر در رشد و ناتوانی ذهنی مشخص می‌شود (۱۳).



شکل ۳- آزمون مؤلفه‌های اصلی (pca) برای اسب‌های نژاد کردی و کاسپین
Figure 3. Principal components analysis for Kordi and Caspian horse breed

آماره Fst

بعد از اجرای آزمون مؤلفه‌های اصلی و حذف حیوانات برهم زنده خوشه‌بندی، بقیه حیوانات جهت بررسی الگوی ژنومی انتخاب مثبت در دو جمعیت اسب نژاد کرد و اسب نژاد کاسپین مقادیر ارزش‌های Fst به روش برآوردگر ناریب تتا برای کلیه نشانگرهای تک نوکلئوتیدی در محیط R محاسبه شد (شکل ۴).

حد آستانه معنی‌داری SNP ها در آزمون fst برابر با ۰/۰۵ در نظر گرفته شد (SNPهایی که سطح معنی‌داری (p-value) کمتر از ۰/۰۵ داشتند انتخاب شدند) این حدود آستانه بسیار سخت‌گیرانه بوده و فقط مناطقی از ژنوم که دارای بیشترین تمایز جمعیتی بین دو نژاد را نشان دادند انتخاب شدند. لازم به ذکر است متوسط ارزش Fst در این پژوهش برابر با مقدار ۰/۰۵ به دست آمد. مقصودی و همکاران (۱۵) گزارش کردند تنوع ژنتیکی اسب عرب ایرانی نسبت به اسب‌های کرد بیش‌تر بوده و نشانه‌های انتخاب در ۶ جایگاه ژنومی بررسی و آماره Fst در کروموزوم شماره ۸ بیشترین میزان را دارا بوده است. ولی در تحقیق پیش رو بیشترین میزان Fst در روی کروموزوم ۳۲ است. جدول (۲) برخی از ژنهای شناسایی شده توسط آزمون Fst را نشان می‌دهد. عملکرد برخی ژن‌های شناسایی شده متمایزکننده دو نژاد:

ژن INPP5F یکی از اعضای خانواده اینوزیتول پلی فسفات-۵-فسفاتاز را رمزگذاری می‌کند در واقع این ژن کدکننده پروتئینی است. آنزیم ترشح‌شده با غیرفعال‌سازی فسفات‌های اینوزیتول در تنظیم سیگنالینگ کلسیم عمل می‌کند (۱۱). ژن HPSE۲ دستورالعمل‌هایی را برای ساخت پروتئینی به نام هیپاراناز ۲ ارائه می‌دهد (۶). ژن CNTN1 یک ژن کدکننده پروتئین است. بیماری‌های مرتبط با CNTN شامل میوپاتی مادرزادی، کامپتون-نورث، حاشیه‌نویسی

جدول ۲- ژن‌های مرتبط با جایگاه‌های معنی‌دار با استفاده از آزمون Fst

Table 2. Genes related to the significant loci using Fst test

| شماره کروموزوم (Chromosome number) | نام نشانگر در فایل مپ (Marker name in the map file) | فاصله فیزیکی (Physical distance) | Fst | شروع ژن (Gene start) | پایان ژن (Gene end) | نام ژن (Gene name) |
|---------------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----|-------------------------|------------------------|-----------------------|
| 1 | CUHNSNP00036505 | 12935713 | 0.6 | 12915713 | 12955713 | INPP5F |
| 1 | BIEC2_13989 | 31117195 | 0.6 | 31107195 | 31127159 | HPSE2 |
| 6 | BIEC2_1012122 | 60856989 | 0.5 | 60806989 | 60906989 | CNTN1 |
| 16 | BIEC2_341420 | 37940018 | 0.5 | 37900018 | 37980018 | DOCK3 |
| 16 | BIEC2_351603 | 55493263 | 0.5 | 55443263 | 55543263 | RBMS3 |
| 18 | BIEC2_411519 | 40888725 | 0.5 | 40838752 | 40938725 | ITGB6 |
| 23 | UKUL4181 | 7192727 | 0.4 | 7172727 | 7212727 | WWC3 |
| 23 | BIEC2_1109922 | 10444967 | 0.5 | 10404967 | 10484967 | GPM6B |
| 24 | BIEC2_1172931 | 17603993 | 0.5 | 17553993 | 17653993 | PHEX |
| 31 | BIEC2_1116780 | 27192136 | 0.5 | 27142136 | 27242136 | DMD |
| 32 | BIEC2_1120232 | 34906699 | 0.5 | 34901699 | 34911699 | DDX3X |
| 32 | TBIEC2_1182673 | 40596004 | 0.5 | 40586004 | 40606004 | WDR13 |
| 32 | BIEC2_1145451 | 94705145 | 0.6 | 94605145 | 94805145 | HTR2C |
| 32 | BIEC2_1145629 | 95144119 | 0.5 | 95084119 | 95204119 | IL13RA2 |
| 32 | BIEC2_1206531 | 95266391 | 0.5 | 95246319 | 95286319 | LRCH2 |
| 32 | BIEC2_1208800 | 101923090 | 0.6 | 101823090 | 102023090 | GRIA3 |
| 32 | BIEC2_1208939 | 102230981 | 0.6 | 102130981 | 102330981 | THOC2 |
| 32 | TBIEC2_1209976 | 105327838 | 0.6 | 104863838 | 105828838 | ACTRT1 |

لینکاژی در پنجره ۱۰۰۰ کیلو بازی برابر با ۰/۱۲ و در پنجره ۱۰۰ کیلو بازی برابر با ۰/۲ و در پنجره ۵۰ کیلو بازی برابر با ۰/۳۰ بود. نتایج نشان داد بیشتر ژن‌های متمایزکننده دو نژاد با اندازه بدن، سرعت در انجام حرکات، اسکلت‌بندی بدن، انتقال دهنده‌های عصبی، ایمنی و در ارتباط هستند. از مهمترین ژن‌های شناسایی شده متمایزکننده دو نژاد می‌توان به THOC2، INPP5F، HPSE2، Dock3، itgb6، PHEX اشاره نمود. بسیاری از SNP‌های معنی‌دار در این پژوهش با مناطق ناشناخته ژنوم در ارتباط بودند و هنوز برای آنها عملکردی مشخص نشده است.

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش نشانه‌های انتخاب متمایزکننده بین دو نژاد اسب کرد و کاسپین با استفاده از مولفه آماری Fst مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه مولفه‌های اصلی نشان داد که دو نژاد اسب کاسپین و اسب کرد در دو دسته جداگانه قرار دارند. نژاد اسب کردی دارای تنوع و پراکندگی بیشتری نسبت به اسب کاسپین است. نتایج نشان داد که بیشترین نشانگرها در هر دو نژاد بر روی کروموزوم‌های ۱ و ۳۲ و کمترین آن‌ها بر روی کروموزوم‌های ۱۲ و ۱۳ قرار دارد. به طور کلی عدم تعادل لینکاژی در فاصله‌های ژنتیکی کمتر دارای میانگین بالاتری نسبت به فاصله‌های بیشتر بود و میانگین عدم تعادل

منابع

- Amirinia, C., H. Seyedabadi, M.H. Banabazi and M.A. Kamali. 2007. Bottleneck study and genetic structure of Iranian Caspian horse population using microsatellites. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(9): 1540-1543. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.1540.1543>
- Andolfatto, P. 2001. Adaptive hitchhiking effects on genome variability. *Current opinion in genetics development*, 11(6): 635-641.
- Babaei, N., A. Raft, A. Moradi and F. Derakhshi. 2021. Comparison of principal component analysis (PCA) and diagnostic analysis of principal components (DAPC) methods in investigating the population structure of Akhal-Teke, Arabian and Caspian horse breeds using genomic information. *Iran Animal Science Research*, 13(3): 453-462 (In Persian).
- Behrouzinia, S., S.Z. Mirhosseini, F. Afraz, A. Sohrabi, S.A. Mohammadi, S. Shahbazi and S.B. Delirasfat. 2013. Genetic description of two populations of Iranian Turkmen horses in Turkmen Sahara and Turkmen Jorglan regions using microsatellite markers. *Iranian Animal Science Research* 1: 0-63 (In Persian).
- Bovo, S., A. Ribani, M. Munoz, E. Alves, J.P. Araujo, R. Bozzi and L. Fontanesi. 2020. Whole-genome sequencing of European autochthonous and commercial pig breeds allows the detection of signatures of selection for adaptation of genetic resources to different breeding and production systems. *Genetics Selection Evolution*, 52(1): 1-19.
- Daly, S.B., J.E. Urquhart, E. Hilton, E.A. McKenzie, R.A. Kammerer, M. Lewis and W.G. Newman. 2010. Mutations in HPSE2 cause urofacial syndrome. *The American Journal of Human Genetics*, 86(6): 963-969.
- Drabek, K., J. van-de-Poppel, M. Eijken and J.P. van-Leeuwen. 2011. GPM6B regulates osteoblast function and induction of mineralization by controlling cytoskeleton and matrix vesicle release. *Journal of Bone and Mineral Research*, 26(9): 2045-2051.
- Hedayat-Evrigh, N., E. Azadmard, R. Seyed Sharifi, S. Nikbin, M.D. Shakouri and R. Khalkhali-Evrigh. 2019. Investigation of genetic diversity of Iran northwest horses using microsatellite markers. *Agricultural Biotechnology Journal*, 11(4): 35-50.

9. Moon, S., J.W. Lee, D. Shin, K.Y. Shin, J. Kim, I.Y. Choi and H. Kim. 2015. A genome-wide scan for selective sweeps in racing horses. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 28(11): 1525-1531.
10. Khalkhali-Evrigh, R., N. Hedayat-Evrigh, H. Hafezian, A. Farhadi and M.R. Bakhtiarizadeh. 2020. Identification the copy number variation and its impacts on the genes of Iranian dromedary camels using whole genome sequencing data. *Iranian Journal of animal Science*, 51(2): 113-119.
11. Kim, H.S., A. Li, S. Ahn, H. Song and W. Zhang. 2014. Inositol Polyphosphate-5-Phosphatase F (INPP5F) inhibits STAT3 activity and suppresses gliomas tumorigenicity. *Scientific reports*, 4(1): 1-10.
12. Kim, Y. and W. Stephan. 2002. Detecting a local signature of genetic hitchhiking along a recombining chromosome. *Genetics*, 160(2): 765-777.
13. Kumar, R., M.A. Corbett, B.W. Van-Bon, J.A. Woenig, L. Weir, E. Douglas and J. Gecz. 2015. THOC2 mutations implicate mRNA-export pathway in X-linked intellectual disability. *The American Journal of Human Genetics*, 97(2): 302-310.
14. Liu, N. and H. Zhao. 2006. A non-parametric approach to population structure inference using multilocus genotypes. *Human genomics*, 2(6): 1-12.
15. Mohammad-Maghsoudi, S., H. Mehrabani-Yeganeh and A. Nejati Javarami. 2017. Identifying regions under positive selection in the genes of Kurdish and Iranian Arabian horses using the method based on genetic linkage disequilibrium. *Animal Science of Iran*, 321-333 (In Persian).
16. Moshkelani, S., S. Rabiee and M. Javaheri-Koupaei. 2011. DNA fingerprinting of Iranian Arab horse using fourteen microsatellites marker. *Research Journal of Biological Sciences*, 6(8): 402-5.
17. Namekata, K., C. Harada, X. Guo, A. Kimura, D. Kittaka, H. Watanabe and T. Harada. 2012. Dock3 stimulates axonal outgrowth via GSK-3 β -mediated microtubule assembly. *Journal of Neuroscience*, 32(1): 264-274.
18. Nielsen, R. 2005. Molecular signatures of natural selection. *Annual Review of Genetics*, 39(1): 197-218.
19. Novembre, J. and M. Stephens. 2008. Interpreting principal component analyses of spatial population genetic variation. *Nature genetics*, 40(5): 646-649.
20. Paschou, P., E. Ziv, E.G. Burchard, S. Choudhry, W. Rodriguez-Cintron, M.W. Mahoney and P. Drineas. 2007. PCA-correlated SNPs for structure identification in worldwide human populations. *PLoS Genetics*, 3(9): e160.
21. Quarles, L.D. 2003. FGF23, PHEX and MEPE regulation of phosphate homeostasis and skeletal mineralization. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 285(1): E1-E9.
22. Rafeie, F., C. Amirinia, A.N. Javaremi, S.Z. Mirhoseini and N. Amirmozafari. 2011. A study of patrilineal genetic diversity in Iranian indigenous horse breeds. *African Journal of Biotechnology*, 10(75): 17347-17352.
23. Reich, D., A.L. Price and N. Patterson. 2008. Principal component analysis of genetic data. *Nature genetics*, 40(5): 491-492.
24. Saravanan, K.A., M. Panigrahi, H. Kumar, B. Bhushan, T. Dutt and B.P. Mishra. 2020. Selection signatures in livestock genome: A review of concepts, approaches and applications. *Livestock Science*, 241: 104257.
25. Seyedabadi, H.R. and S. Savarsofla. 2017. Microsatellite analysis for parentage verification and genetic characterization of the Turkmen horse population. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 23(3): 467-471.
26. Seyedsharifi, R., S. Badbarin, H. khamisabadi, N. hedayat-evrigh and J.S. Davati. 2019. Study of genetic structure and accuracy of assignment of individuals to five horse populations using microsatellite markers. *Research on Animal Production (Scientific and Research)* 10, no. (24): 120-126 (In Persian).
27. Shasavarani, H. and G. Rahimi-Mianji. 2010. Analysis of genetic diversity and estimation of inbreeding coefficient within Caspian horse population using microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology*, 9(3): 293-299. <https://doi.org/10.5897/AJB09.1104>
28. Smadja, C.M., E. Loire, P. Caminade, M. Thoma, Y. Latour, C. Roux and P. Boursot. 2015. Seeking signatures of reinforcement at the genetic level: a hitchhiking mapping and candidate gene approach in the house mouse. *Molecular Ecology*, 24(16): 4222-4237.
29. Xu, L., D.M. Bickhart, J.B. Cole, S.G. Schroeder, J. Song, C.P.V. Tassell and G.E. Liu. 2015. Genomic signatures reveal new evidences for selection of important traits in domestic cattle. *Molecular Biology and Evolution*, 32(3): 711-725.
30. Yan, J., D. Ojo, A. Kapoor, X. Lin, J.H. Pinthus, T. Aziz and D. Tang. 2016. Neural cell adhesion protein CNTN1 promotes the metastatic progression of prostate cancer. *Cancer research*, 76(6): 1603-1614.

Analysis of SNP Chip 70k Genomic Data to Identify Loci Related to Differentiation of Caspian and Kurdish Horses using Selection Sweep

Mohadese Nasirpour¹, Mohamad Moradi Shahr Babak², Hossein Moradi Shahr Babak³,
Hasan Mehrabani Yeganeh⁴ and Younes Doosti⁵

1- Graduated M.Sc. Student, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2- Professor, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3- Assistant Professor, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran,

4- Professor, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

5- M.Sc. Student, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran,

(Corresponding author: y.devisty@ut.ac.ir)

Received: 4 December, 2022 Accepted: 25 January, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Selection in animal populations to increase the frequency of ideal alleles causes of remaining some signs in the animal genome, which are usually associated with important traits. Today, with developments in next-generation sequencing and easier access to animal genomic information, some models have been proposed to identify selective signatures based on allelic frequency and haplotype blocks. This research aimed to identify the selective signatures in two horse breeds of Caspian and Kurdish using a k70 SNP chip.

Material and Methods: In this research blood samples from 35 Caspian and 31 Kurdish horses were collected. After DNA extraction and sequencing (by Illumina company), Quality control of the data was performed for minimum allele frequency (PMAF<0.05), genotyping rate (PGENO < 0.5), and deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (PH-W<1 × 10⁻⁶). Then the theta (θ) test and ensemble site were used for identifying selective signatures and the positions of snps respectively, and finally, the genes related to these positions were identified.

Results: After quality control of data and integration of genomic data of two populations based on R package protocols, 61 horses with 52,650 SNPs remained for the rest analysis. Finally, Fst statistical test based on unbiased estimator theta method 31 differentiating markers of the two studied horse breed were identified

Conclusion: The results showed that Caspian and Kurdish horse breeds belong to two separate groups. The Kurdish horse breed has more diversity and variety than the Caspian. The most important genes associated with significant SNPs were INPP5F, HPSE2, R3HCC1, DOCK3, ITGB6, GM6B, PHEX, WDR13, LRCH2, GRIA3 and THOC2. Most of the identified genes were associated with intercellular exchanges, muscle contractions, immunity, membrane support, DNA stability, and the nervous system.

Keywords: Caspian horse, Fst, Kurdish horse, PCA, Selective signatures

Research on Animal Production

Publisher: Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

Managing Director: Mansour Rezaei

Chief Editor: Ghodrat Rahimi Mianji

Executive Manager of University Scientific Journals: Azadeh Ranjbar

Editorial Boards:

| | |
|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Ansari Pirsaraei, Zorbakht | Associate Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University |
| Boldaji, Fatoollah | Professor, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University |
| Hafezian, Seyyed Hassan | Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University |
| Jafari Ahangari, Yosef | Professor, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University |
| Moradi Shahre Babak, Mohammad | Professor, University of Tehran |
| Nasiri Moghadam, Hassan | Professor, Ferdowsi University of Mashhad |
| Rahimi Mianji, Ghodrat | Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University |
| Rezaei, Mansour | Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University |
| Shivazad, Mahmoud | Professor, University of Tehran |
| Teimouri Yansari, Asadollah | Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University |
| Torbatinejad, Nourmohammad | Professor, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University |

Editor: Ghodrat Rahimi Mianji

Typesetting and Layout: Office of Scientific Journals- Fatemeh Esmaili, Khatereh Asadi

Price: 100000 Rials

Address: Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

P.O.Box: 578, Sari, IRAN

Fax: +981133687437 ***Tel:*** +981133687437

Email: journal@sanru.ac.ir

Web Address: <http://rap.sanru.ac.ir>



| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Comparison of Manufactured Acidifier Based Citric Acid with Commercial Sample in Drinking Water on Performance, Serum Biochemical Parameters, PH and Intestinal Morphology of Broiler Chickens Alireza Hesabi Nameghi, Ali Nasari Nejad and Marzieh Afkhami | 9 |
| Effect of Superworm Bioactive Peptides on Performance, Morphology and Microbial Population of Intestine and Immune Responses in Broiler Chickens Seyyede Parand Bozorgtabar, Mohammad Kazemifard, Mansour Rezaei and Pooyan Mehraban | 20 |
| The Effects of Duration, Location and Storage Status of Edible Eggs in Home Refrigerators on Quality Traits, Shell Traits and Biochemical Indicators of Yolk Eggs Ali Nobakht | 27 |
| The Consequence of Using Iranian Oak Acorn in Broilers Diet: Evaluation of Some Meat Characteristics Hajar Gharib Ardekani, Mohammad Houshmand, Reza Naghiha and Siamak Parsaei | 36 |
| Investigating the Effect of using Microcapsule Essential Oil in Conditions of Flock Density on Performance, Morphology of the Small Intestine and Acidity of the Digestive Tract of Broiler Chickens Zahra Tahami and Ehsan Oskoueian | 47 |
| The Effect of Oscillating Dietary Protein Concentration on Growth Performance in Fattening Male Lambs Taher Yalchi | 55 |
| Effect of Omega-3 and Omega-6 Fatty Acid on Growth Performance, Blood Metabolites and Health indicators of Weaning Holstein Calves Bahram Mohtashami and Hamed Khalilvandi Behrouzfar | 65 |
| Comparison of the Effect of using Chemical Buffer and Acid-Consuming Bacteria on Digestibility and Fermentation, Growth Performance, and Meat Quality of Lambs Fed with High Concentrate Diets Freshteh Vafaei, Morteza Chaji and Omid Khorasani | 75 |
| The Effect of Feeding of Different Levels of Whole and Ground Flaxseed on Performance, Digestibility, Blood Parameters and Microbial Protein of Kabodeh Shirazi Lambs Seyede Hamide Hosseini, Mohammad Reza Dehghani, Abdol Hamid Karimi, Mostafa Yusef Elahi and Mohammad Javad Abarguei | 85 |
| The Effect of Whole Basil Forage on Nutrients Digestibility, Blood Parameters And Performance in Fattening Zandi Lambs Golnoor Kosari, Mohammad Ali Norouzi, Behzad Khorrami and Gholam Abbas Akbari | 93 |
| Effect of Herbicide Roundup on Expression of Steroidogenic Genes and DNA Methylation of Promoter site of STAR Gene During in Vitro Maturation of Goat Oocyte Maedeh Gholami, Hamid Deldar, ZARBakht Ansari Pirsarai and Ali Barzegar | 101 |
| Comparative Evaluation of Performance for Improved Iranian Honey Bee queens (<i>Apis mellifera meda</i> Skorikov 1929) in the Climate Conditions of Kurdistan Province Ataollah Rahimi, Gholamhosein Tahmasebi, Hamid Reza Bahmani, Saleh Salehi, Badradin Zare, Abdulsatar Parsanaseb and Banak Rokhzad | 111 |
| Quantifying the Impact of Climate Change on Milk Production in One of Industrial Livestock Farms in Babolsar Shamimeh Sheikh Arjanki, Mehdi Nadi, Javad Rahmaninia and Behrouz Mohammad Nazari | 120 |
| Genome-Wide Scan for Detection of Runs of Homozygosity in Iranian Indigenous Sheep Breeds Abbas Mirzapour-Abibagloo, Nemat Hedayat, Reza Khalkhali-Evrigh, Reza Seyedshehri and Hossein Abdi-Benemar | 130 |
| Comparison of some Alignment Software in the Analysis of Dairy Cows RNA-Seq Data Ghorban Elyasi Zarringahaie, Mostafa Sadeghi and Seyed Reza Miraie Ashtiani | 146 |
| The Effect of Pedigree Error on Heritability and Accuracy of Prediction of Breeding Value in Threshold Traits Meysam Latifi and Yousef Naderi | 144 |
| Investigating the Impact of Dominance Genetic Effects on the Accuracy of Genomic Evaluation Moslem Karimi, Farhad Ghafouri-Kesbi and Pouya Zamani | 153 |
| Analysis of SNP Chip 70k Genomic Data to Identify Loci Related to Differentiation of Caspian and Kurdish Horses using Selection Sweep Mohades Nasirpour, Mohamad Moradi Shahr Babak, Hossein Moradi Shahr Babak, Hasan Mehrabani Yeganeh and Younes Doosti | 162 |

Research on Animal Production (Scientific)



Ministry of Science, Research and Technology
Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

ISSN 2251-8622

Vol. 14, No. 39, Spring 2023

Contents:

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Comparison of Manufactured Acidifier Based Citric Acid with Commercial Sample in Drinking Water on Performance, Serum Biochemical Parameters, PH and Intestinal Morphology of Broiler Chickens Alireza Hesabi Nameghi, Ali Nasari Nejad and Marzieh Afkhami | 9 |
| Effect of Superworm Bioactive Peptides on Performance, Morphology and Microbial Population of Intestine and Immune Responses in Broiler Chickens Seyyede Parand Bozorgtabar, Mohammad Kazemifard, Mansour Rezaei and Pooyan Mehraban | 20 |
| The Effects of Duration, Location and Storage Status of Edible Eggs in Home Refrigerators on Quality Traits, Shell Traits and Biochemical Indicators of Yolk Eggs Ali Nobakht | 27 |
| The Consequence of Using Iranian Oak Acorn in Broilers Diet: Evaluation of Some Meat Characteristics Hajar Gharib Ardekani, Mohammad Houshmand, Reza Naghiha and Siamak Parsaei | 36 |
| Investigating the Effect of using Microcapsule Essential Oil in Conditions of Flock Density on Performance, Morphology of the Small Intestine and Acidity of the Digestive Tract of Broiler Chickens Zahra Tahami and Ehsan Oskoueian | 47 |
| The Effect of Oscillating Dietary Protein Concentration on Growth Performance in Fattening Male Lambs Taher Yalchi | 55 |
| Effect of Omega-3 and Omega-6 Fatty Acid on Growth Performance, Blood Metabolites and Health indicators of Weaning Holstein Calves Bahram Mohtashami and Hamed Khalilvandi Behrouzfar | 65 |
| Comparison of the Effect of using Chemical Buffer and Acid-Consuming Bacteria on Digestibility and Fermentation, Growth Performance, and Meat Quality of Lambs Fed with High Concentrate Diets Freshteh Vafaei, Morteza Chaji and Omid Khorasani | 75 |
| The Effect of Feeding of Different Levels of Whole and Ground Flaxseed on Performance, Digestibility, Blood Parameters and Microbial Protein of Kabodeh Shirazi Lambs Seyede Hamide Hosseini, Mohammad Reza Dehghani, Abdol Hamid Karimi, Mostafa Yusef Elahi and Mohammad Javad Abarguei | 85 |
| The Effect of Whole Basil Forage on Nutrients Digestibility, Blood Parameters and Performance in Fattening Zandi Lambs Golnoor Kosari, Mohammad Ali Norouzi, Behzad Khorrami and Gholam Abbas Akbari | 93 |
| Effect of Herbicide Roundup on Expression of Steroidogenic Genes and DNA Methylation of Promoter site of StAR Gene During in Vitro Maturation of Goat Oocyte Maedeh Gholami, Hamid Deldar, Zorabakht Ansari Pirsarai and Ali Barzegar | 101 |
| Comparative Evaluation of Performance for Improved Iranian Honey Bee queens (<i>Apis mellifera meda</i> Skorikov 1929) in the Climate Conditions of Kurdistan Province Ataollah Rahimi, Gholamhosein Tahmasebi, Hamid Reza Bahmani, Saleh Salehi, Badradin Zare, Abdulsatar Parsanaseb and Banak Rokhzad | 111 |
| Quantifying the Impact of Climate Change on Milk Production in One of Industrial Livestock Farms in Babolsar Shamimeh Sheikhi Arjanki, Mehdi Nadi, Javad Rahmaninia and Behrouz Mohammad Nazari | 120 |
| Genome-Wide Scan for Detection of Runs of Homozygosity in Iranian Indigenous Sheep Breeds Abbas Mirzapour-Abibagloo, Nemat Hedayat, Reza Khalkhali-Evrigh, Reza Seyedsharifi and Hossein Abdi-Benemar | 130 |
| Comparison of some Alignment Software in the Analysis of Dairy Cows RNA-Seq Data Ghorban Elyasi Zarringhabaie, Mostafa Sadeghiand Seyed Reza Miraei Ashtiani | 146 |
| The Effect of Pedigree Error on Heritability and Accuracy of Prediction of Breeding Value in Threshold Traits Meysam Latifi and Yousef Naderi | 144 |
| Investigating the Impact of Dominance Genetic Effects on the Accuracy of Genomic Evaluation Moslem Karimi, Farhad Ghafouri-Kesbi and Pouya Zamani | 153 |
| Analysis of SNP Chip 70k Genomic Data to Identify Loci Related to Differentiation of Caspian and Kurdish Horses using Selection Sweep Mohades Nasirpour, Mohamad Moradi Shahr Babak, Hossein Moradi Shahr Babak, Hasan Mehrabani Yeganeh and Younes Doosti | 162 |

Indexing:

