



"مقاله پژوهشی"

اثرات سطوح مختلف جایگزینی کنجاله کتان با پنبه دانه بر فراسنجه‌های خونی، فعالیت آنزیم‌های فیبرولیتیک شکمبه‌ای و سیستم ایمنی میش

حاجی محمد خلیل‌زاد^۱، تقی قورچی^۲، بهروز دستار^۳ و عبدالحکیم توغدری^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه تغذیه دام و طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- استاد گروه تغذیه دام و طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، (نویسنده مسوول: ghoorchit@yahoo.com)
۳- استاد گروه تغذیه دام و طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۴- استادیار گروه تغذیه دام و طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۲
صفحه: ۹۳ تا ۹۹

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: کنجاله دانه کتان سرشار از مواد مغذی مختلف به‌ویژه پروتئین خام و انرژی است و می‌تواند به‌عنوان خوراک پروتئینی برای حیوان استفاده شود. حدود ۱۳/۳ انرژی قابل هضم (مگاژول بر کیلوگرم براساس ماده خشک) و ۳۲ تا ۳۷ درصد پروتئین خام دارد. دارای پروفایل اسیدآمینه متعادل و پروتئین تجزیه‌پذیر موثر شکمبه کمی دارد. علاوه بر این، گزارش شده است که کنجاله دانه کتان دارای مقدار بیشتری فنول‌ها و فلاونوئید نسبت به دانه‌های خود دارد. همچنین، فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی از خود نشان می‌دهد که برای رشد و سلامت حیوانات مفید است. این ویژگی‌ها در خوراک نشخوارکنندگان مطلوب است. با این حال، مطالعات در مورد جایگزینی کنجاله پنبه دانه با کنجاله دانه کتان در میش محدود است. هدف از این آزمایش، بررسی اثرات جایگزینی کنجاله دانه کتان به‌جای کنجاله پنبه دانه بر فراسنجه‌های خونی، فعالیت آنزیم‌های فیبرولیتیک شکمبه‌ای و سیستم ایمنی در میش‌ها بود.

مواد و روش‌ها: کنجاله کتان به‌جای کنجاله پنبه‌دانه در این تحقیق در سطوح صفر، ۳۳، ۶۶ و ۱۰۰ درصد استفاده شد. در این آزمایش از ۴ رأس میش غیر آبستن در قالب یک طرح مربع لاتین ۴×۴ در چهار دوره ۲۱ روزه استفاده شد. روزانه دو وعده خوراک در ساعات ۸ و ۱۶ در اختیار حیوانات قرار گرفت. خون‌گیری برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های خون (گلوکز، تری‌گلیسیرید، نیترژن اوره‌ای خون، کلسترول، HDL-کلسترول، LDL-کلسترول و VLDL-کلسترول و سیستم ایمنی (گلبول‌های سفید خون، لنفوسیت، منوسیت، گرانولوسایت، گلبول‌های قرمز خون، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط هموگلوبین، وزن متوسط هموگلوبین، غلظت متوسط هموگلوبین در سلول، دامنه پراکندگی سلول قرمز، پلاکت‌ها، حجم متوسط پلاکت‌ها، دامنه حجم پلاکت‌ها) در پایان دوره ۲۱ روزه انجام شد. برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های شکمبه‌ای (pH، نیترژن آمونیاکی و آنزیم کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز) در انتهای هر دوره روز ۲۰ از مایع شکمبه نمونه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش کنجاله دانه کتان به‌جای کنجاله پنبه‌دانه مقدار نیترژن اوره‌ای خون، کلسترول و HDL-کلسترول افزایش پیدا کرد ($p < 0.05$). مقدار هموگلوبین بین تیمارها تفاوت معنی‌داری داشتند و بیشترین مقدار آن مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد کنجاله کتان بود ($p < 0.05$). فعالیت میکروکریستالین سلولاز با افزایش سطوح کنجاله دانه کتان در هر سه بخش فعالیت آنزیمی (داخل سلولی، خارج سلولی و وابسته به ذرات) به‌طور معنی‌دار کاهش پیدا کرد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: درمجموع نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد کنجاله دانه کتان را به جای کنجاله پنبه دانه می‌توان تا ۱۰۰ درصد در جیره غذایی میش‌ها بدون تأثیر در سلامتی دام جایگزین کرد.

واژه‌های کلیدی: سیستم ایمنی، فراسنجه‌های خونی، فعالیت آنزیمی، کنجاله کتان، کنجاله پنبه‌دانه، میش

مقدمه

بزرک یا کتان با نام علمی *linum ustatissimum* گیاهی است یک‌ساله، از تیره Linaceae که به‌صورت بوته‌ای ایستاده رشد می‌کند. کتان دو گونه اصلی داشته که یک‌گونه آن کتان فیبری برای تولید فایبر کتانی و گونه دیگر کتان روغنی که برای تولید روغن کاشته می‌شوند. (۴). کتان گیاهی است روغنی که دانه آن ۴۵-۴۰ درصد روغن و ۳۰-۲۳ درصد پروتئین دارد. علاوه بر استخراج روغن، کنجاله آن می‌تواند به عنوان یک منبع پروتئینی در جیره‌ غذایی دام استفاده گردد. اگر چه دانه کتان منبع بسیار ارزان و قابل دسترسی امگا-۳ (اسید آلفا لینولنیک، اسید ایکوزاپنتانوئیک، و اسید دکوزاهگزانوئیک) می‌باشد، روغن بذر کتان از ترکیب اسیدهای چرب مرغوب و مفیدی تشکیل شده که بطور متوسط فقط ۹ درصد از آن را اسیدهای چرب اشباع شده تشکیل می‌دهند. ویژگی‌های منحصر به فرد دانه کتان به دلیل داشتن مقادیر بالایی اسید آلفا لینولنیک آن را از سایر دانه‌های روغنی در صنعت تغذیه انسان و حیوانات متمایز کرده است (۳۳). پس‌مانده آن بعد از استخراج روغن بنام کنجاله، دارای ۳۵-۴۰ درصد پروتئین و

۱۳/۳ انرژی قابل هضم (مگاژول بر کیلوگرم) بوده که برای تغذیه حیوانات استفاده می‌شود (۳۰). بذر کتان دارای کاروتن، ویتامین‌های B₁، B₂، C و E می‌باشد. همچنین شامل آهن، روی و مقداری پتاسیم، منیزیم، فسفر و کلسیم می‌باشد (۲۳). این کنجاله به‌خوبی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه نبوده و میزان متیونین و لایزین در آن کمتر است و کلسیم آن در حد متوسط ولی دارای میزان فسفر بالایی بوده که بخشی از آن به‌صورت اسید فایتیک است. کنجاله کتان سبب نرمی چربی بدن حیوان می‌شود ظاهر دلپذیر و پوست نرم به حیوان می‌دهد. اشتهای حیوان به کنجاله کتان زیاد است اما این خوراک سبب افزایش احتمال بروز فساد اکسیداتیو در چربی شیر می‌شود (۲۱).

نتایج هاو و همکاران (۱۱) نشان داد که جایگزینی کنجاله سویا با کنجاله بذر کتان تا ۱۲ درصد در جیره بره‌های پرواری باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک و دیواره سلولی و افزایش وزن روزانه شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده از آزمایش حسین ابادی و همکاران (۱۲) با افزایش دانه فرآوری شده کتان در جیره گوساله‌های شیرخوار قابلیت هضم ماده

خشک افزایش و پروتئین خام کاهش یافت، همچنین باعث افزایش ازت اورهای خون شد، ولی سایر فراسنجه‌های خونی و ایمنی از جمله کلسترول، تری‌گلیسیرید، گلوکز، پروتئین تام، آلبومین، لیپوپروتئین‌های با چگالی زیاد، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم، لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار کم، ایمونوگلوبین نوع G، تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌ها، لمفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و نسبت نوتروفیل به لمفوسیت تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

با توجه به مقدار پروتئین کنجاله کتان، به نظر می‌رسد استفاده از آن در جیره‌های نشوآرکننده اثرات مفیدی بر سیستم ایمنی، فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای و عملکرد دام داشته باشد و هدف از این تحقیق تعیین اثرات سطوح مختلف کنجاله بر قابلیت هضم، فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای و سیستم ایمنی میش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. مدت تحقیق با انجام آماده‌سازی محل و میش‌ها ۹۰ روز بود و مراحل آزمایشگاهی،

در آزمایشگاه‌های تغذیه دام و فیزیولوژی دانشکده علوم دامی آن دانشگاه انجام گرفت. در این آزمایش ۴ رأس میش غیر آبستن نژاد زل، انتخاب شدند. میش‌های انتخاب شده با میانگین وزن ۳۴/۵ کیلوگرم و سن ۴-۵ ساله بود. میش‌ها به مدت ۲۱ روز که ۱۴ روز عادت‌پذیری و ۷ روز نمونه‌برداری بود، مورد تغذیه قرار گرفتند، و تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- شاهد، ۲- جایگزینی ۳۳ درصد، ۳- جایگزینی ۶۶ درصد و ۴- جایگزینی ۱۰۰ درصد کنجاله کتان به جای کنجاله پنبه دانه در جیره میش‌ها بود. ابعاد قفس‌ها در ابعاد ۱/۳۰ در ۱/۲۰ متر که در هر کدام یک میش قرار داده شد. در داخل هر قفس یک آخور و یک سطل آب قرار داشت. هر قفس از لحاظ روشنایی، فضای سقف، جریان هوا و سایر عوامل محیطی کاملاً یکنواخت و مشابه بوده و قبل از انتقال میش‌ها، قفس‌ها ضدعفونی و آهک‌پاشی شد. جیره‌های پیشنهادی در مرحله اصلی آزمایش هر روز ساعات ۸ صبح و ۴ عصر در اختیار میش‌ها قرار می‌گرفت. جیره مورد استفاده در این آزمایش بر اساس احتیاجات میش (۱۸) با نرم افزار UFFDA (۱۹۹۲) تنظیم شد (۱۸).

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره های آزمایشی مورد استفاده میش‌ها (درصد ماده خشک)

Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets used for ewe (% of diet DM)			
۱۰۰	۶۶	۳۳	۰
۳۳/۰	۳۳/۰	۳۳/۰	۳۳/۰
۱۰/۰	۶/۶۷	۳/۳۳	۰/۰
۰/۰	۳/۳۳	۶/۶۷	۱۰/۰
۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰
۵۱/۸	۵۱/۸	۵۱/۸	۵۱/۸
۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
اقلام خوراکی			
دانه جو			
کنجاله کتان			
کنجاله پنبه دانه			
سبوس گندم			
کاه گندم			
آهک			
نمک			
ترکیبات شیمیایی (درصد)			
۲/۱۱	۲/۱۰	۲/۰۹	۲/۰۹
۸۸/۶	۸۹/۰	۸۹/۳	۹۰/۱
۱۰/۴۸	۱۰/۵۸	۱۰/۶۵	۱۰/۷۷
۰/۴۳	۰/۴۲	۰/۴۱	۰/۴۰
۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۱	۰/۳۱
انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری/ کیلوگرم)			
ماده خشک			
پروتئین خام			
کلسیم			
فسفر			

داده شدند و در نهایت به فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با استفاده از روش فنل-هیپوکلیت تعیین گردید (۵). استخراج آنزیم‌ها از هر سه بخش مایع شکمبه ذرات ریز (میکروب‌های متصل به بخش ذرات شکمبه)، بخش درون سلولی (سلول‌هایی که به‌صورت آزادانه در بخش مایع از شکمبه معلق هستند) و بخش خارج سلولی (آنزیم‌های موجود در بخش مایع) با استفاده از تتراکلرید کرین، سونیکاسیون و آنزیم لیزوزیم (شرکت سیگما، CAS 12650-88-3) صورت گرفت (۱).

مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (2005) و در قالب طرح مربع لاتین با مدل آماری زیر تجزیه واریانس شدند.

$Y_{ijkl} = \mu + T_i + C_j + P_k + e_{ijkl}$
 Y_{ijkl} : مقدار هر مشاهده، μ : میانگین کل، T_i : اثر تیمار، C_j : اثر حیوان، P_k : اثر دوره، e_{ijkl} : اثر خطای آزمایشی

خون‌گیری در یک نوبت در پایان هر دوره آزمایشی در روز ۲۱ قبل از خوراک‌دهی (ناشتا) صبح انجام شد. ۱۰ میلی‌لیتر خون از سیاهرگ وادج گرفته شد و ۲ میلی‌لیتر آن به لوله‌های حاوی محلول EDTA انتقال و برای آزمایش‌های ایمنی شناسی منظور شد و ۵ میلی‌لیتر آن داخل لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد جهت تهیه سرم و آزمایش‌های بیوشیمیایی انتقال داده شد و بلافاصله در داخل یخ به آزمایشگاه انتقال یافت. غلظت گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید، ازت اورهای خون، HDL-کلسترول، LDL-کلسترول و VLDL-کلسترول آنها تعیین شد. مایع شکمبه در انتهای هر دوره آزمایش در روز بیستم ۴ ساعت بعد خوراک‌دهی با استفاده از لوله مری از هر رأس میش گرفته شد و بعد از اندازه‌گیری pH مایع شکمبه با pH متر سیار دیجیتال، به لوله حاوی اسیدکلریدریک ۱۰ درصد به‌منظور اندازه‌گیری آمونیاک و لوله‌های دیگر به‌منظور اندازه‌گیری آنزیم ریخته شده و تا انجام کارهای آزمایشگاهی در ظروف حاوی یخ برای توقف هرچه سریع‌تر تخمیر قرار

نتایج و بحث

فراسنجه‌های تخمیری شکمبه

میانگین داده‌های مربوط به اندازه گیری فراسنجه‌های شکمبه‌ای شامل pH، نیتروژن آمونیاکی و آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز در جدول ۳ آورده شده است. pH مایع شکمبه در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت و مقدار pH مایع شکمبه در محدوده ۶/۹۹ تا ۶/۷۴ قرار داشت که در دامنه بهینه (۶/۷-۷) جهت فعالیت مطلوب میکروارگانیسم‌های سلولیتیک بود. تحقیقات نشان داده است که دانه و کنجاله کتان در ترکیب جیره با وجود بیوهیدروژناسیون گسترده در شکمبه باعث کاهش pH شکمبه و برعکس باعث افزایش محتوی اسید لینولنیک در شیر (۱۴) و گوشت (۲۰) شد. مقدار نیتروژن آمونیاکی در بین تیمارها با افزایش سطوح کنجاله کتان به جای کنجاله پنبه‌دانه تفاوت معنی‌داری داشتند ($p < 0.0004$). بالاتر بودن غلظت نیتروژن آمونیاکی با افزایش سطوح مختلف کنجاله کتان می‌تواند به دلیل این باشد که بیش از ۵۰ درصد نیتروژن کنجاله کتان اوریک‌اسید بوده و در شکمبه با سرعت بالایی تبدیل به آمونیاک می‌شود. همچنین کنجاله کتان به دلیل چسبندگی، ماندگاری بیشتر، تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم بالایی داشته و در حفظ تعادل محیط شکمبه نقش دارد (۱۹). مواد موسیلاژ موجود در کتان باعث کاهش مصرف خوراک در تک معده ای‌ها خواهد شد ولی در نشخوارکنندگان اثر مهار کنندگی کمتری بر روی مصرف خوراک دارد (۱۱). اثر جیره‌های آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های میکروبی بخش‌های مختلف شکمبه در جدول ۴ ارائه شده است. فعالیت آنزیمی میکرو کریستالین سلولاز در هر سه بخش جامد، خارج سلولی و داخل سلولی و همچنین بخش کل (مجموع هر سه بخش جامد، خارج سلولی و داخل سلولی) با افزودن میزان کنجاله کتان به جیره کاهش یافت ($p < 0.05$). فعالیت آنزیم‌های شکمبه منعکس کننده میکروب‌هایی می‌باشد که در

هضم ذرات خوراکی درگیر هستند (۲۹). آنزیم‌های تجزیه‌کننده فیبر شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی و زایلاناز می‌باشند (۱). فعالیت این آنزیم‌ها در سه بخش مجزا از محتویات شکمبه شامل ذرات ریز (میکروب‌های متصل به بخش ذرات شکمبه)، بخش درون سلولی (سلول‌هایی که به صورت آزادانه در بخش مایع از مایع شکمبه معلق هستند) و بخش خارج سلولی (آنزیم‌های موجود در بخش مایع) اندازه‌گیری می‌شوند (۱). در بین این سه بخش بیشترین فعالیت هیدرولایتیکی آنزیم‌ها مربوط به بخش میکروب‌های متصل به ذرات ریز، پس از آن آنزیم‌های درون‌سلولی و در نهایت آنزیم‌های خارج سلولی می‌باشد. فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز در بخش داخل سلولی و بخش وابسته به ذرات با افزایش سطوح کنجاله کتان کاهش پیدا کرد و ولی فعالیت کربوکسی متیل سلولاز در بخش خارج سلولی با افزایش سطوح کنجاله کتان افزایش پیدا کرد. میزان فعالیت کمتر آنزیمی در بخش سلولی مایع شکمبه به این دلیل است که میکروب‌های سلولیتیک به ذرات خوراک متصل شده‌اند و جمعیت میکروب‌های آزاد در بخش مایع شیرابه شکمبه کمتر است (۱۵) کمترین مقدار در سه بخش در فعالیت کربوکسی متیل سلولاز و فعالیت آنزیمی میکرو کریستالین سلولاز متعلق به بخش خارج سلولی بود. کمترین میزان آنزیم‌های تجزیه کننده الیاف در بخش خارج سلولی شیرابه شکمبه قابل انتظار است (۱)، زیرا این آنزیم‌ها به پوشش سلولی متصل هستند و تنها مقدار کمی از آنها به دلیل تخریب میکروب‌های تجزیه کننده الیاف به بخش مایع شیرابه شکمبه آزاد می‌شوند (۱). در تحقیق مهرانی و همکاران (۱۵) فعالیت آنزیم‌های میکروکریستالین سلولاز و کربوکسی متیل سلولاز بیشترین فعالیت آنزیمی در بخش جامد و کمترین فعالیت آنزیمی در خارج سلولی مایع شکمبه با افزودن سیب‌زمینی در جیره میش بدست آمد.

جدول ۳- اثرات سطوح مختلف جایگزینی کنجاله کتان با کنجاله پنبه‌دانه بر pH و آنزیم‌های فیبرولیتیک مایع شکمبه میش
Table 3. Effect of different level of replacing of flax meal with cottonseed meal on pH and fibrolytic enzyme activity (nmol min) rumen fluid of ewe

P-Value	SEM	سطح کنجاله کتان (درصد)				پارامترها
		۱۰۰	۶۶	۳۳	صفر	
۰/۴۱۵	۰/۱۳۲	۶/۷۴	۶/۹۹	۶/۷۹	۶/۸۵	pH
< ۰/۰۰۰۴	۰/۵۶	۱۷/۶ ^a	۱۶/۵۶ ^b	۱۳	۱۰/۷۷ ^c	ازت آمونیاکی (mg/dl)
		فعالیت کربوکسی متیل سلولاز (نانو مول گلوکز آزاد شده در هر دقیقه)				
> ۰/۰۰۱	۶/۵	۹۴/۵ ^c	۱۰۰ ^c	۱۱۰ ^b	۱۲۴ ^a	داخل سلولی
> ۰/۰۰۰۳	۳	۱۰۸ ^a	۱۰۵ ^a	۹۶/۸ ^b	۹۲/۸ ^b	خارج سلولی
> ۰/۰۰۲	۷/۵	۹۴/۳ ^c	۹۴/۷ ^{bc}	۱۰۱ ^b	۱۱۳ ^a	وابسته به ذرات
		۳۹۶/۸	۳۹۹/۷	۳۰۷/۸	۳۳۹/۸	فعالیت کل آنزیم
		فعالیت میکرو کریستالین سلولاز (نانو مول گلوکز آزاد شده در هر دقیقه)				
> ۰/۰۰۱	۶/۳۳	۶۲/۸ ^b	۶۴/۵ ^b	۷۵/۳ ^a	۸۰/۱ ^a	داخل سلولی
> ۰/۰۰۱	۶	۴۰/۵ ^c	۴۵ ^{bc}	۴۹/۴ ^b	۶۰/۳ ^a	خارج سلولی
> ۰/۰۰۱	۳/۷	۴۷ ^b	۵۱ ^b	۵۹/۳ ^a	۶۱ ^a	وابسته به ذرات
		۱۵۰/۳	۱۶۰/۵	۱۸۴	۲۰۱/۴	فعالیت کل آنزیم

a-c: حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون

در این پژوهش پنج فراسنجه خونی مورد ارزیابی شد که در جداول ۴ نشان داده شده است. تقریباً همه متابولیت‌های خون

اندازه‌گیری شده در محدوده گزارش شده برای گوسفند بودند. نتایج حاصل از فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون نشان می‌دهد که گلوکز خون در تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشتند. در

ازت اورده‌ای خون با غلظت ازت آمونیاکی شکمبه همبستگی مثبتی دارد و افزایش ازت آمونیاکی شکمبه می‌تواند به خاطر پروتئین محلول بالای کنجاله کتان باشد. همچنان کنجاله کتان در شکمبه به نسبت داشتن ۳-۱۰ درصد لعاب (موسیلاژ) و ماندگاری زیاد در شکمبه و مساعد شدن فعالیت میکروبی بیشتر، صد درصد تجزیه می‌شود. از طرف دیگر تعدادی محققین معتقد هستند که تجزیه‌پذیری پروتئین کنجاله کتان پایین بوده و کمتر در شکمبه تجزیه می‌شود (۱۱). مقدار تری‌گلیسرید در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشتند. در آزمایش میسک و همکاران (۱۷) اضافه کردند ۱۰ درصد دانه کتان باعث کاهش اسیدهای چرب فرار، pH و افزایش از آمونیاکی مایع شکمبه شد.

صورتی‌که سطوح کنجاله کتان با داشتن چربی بالا باعث افزایش سنتز پروپونوات در شکمبه می‌شود. پروپونوات یک اسید چرب فرار تولیدی در شکمبه می‌باشد که به‌عنوان پیش ساز عمده‌ی گلوکز در حیوانات محسوب می‌شود (۹). بیشترین سطح کلسترول و HDL-C خون، در تیمار ۱۰۰ درصد کنجاله کتان مشاهده شد ($p < 0.008$) و مقدار LDL-C به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.008$) و در مقدار VLDL-C تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. زیرا کنجاله کتان منبع خوب چربی و اسیدهای چرب بلند زنجیر امگا ۳ بوده و باعث افزایش کلسترول و HDL-C خون می‌شود. مقدار نیتروژن اورده‌ی خون به‌طور خطی افزایش یافت ($p = 0.024$). این افزایش غلظت نیتروژن اورده‌ی خون احتمالاً به خاطر افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه می‌باشد زیرا غلظت

جدول ۴- اثرات سطوح مختلف جایگزینی کنجاله کتان با کنجاله پنبه‌دانه بر فراسنجه‌های خونی میش

Table 4. Effect of different level of replacing of flax meal with cottonseed meal on blood parameters of ewe

p-Value	SEM	سطح کنجاله کتان (درصد)				پارامترها (mg/dl)
		۱۰۰	۶۶	۳۳	صفر	
۰/۰۷	۷/۰۹	۶۸/۰	۹۰/۵	۸۶/۷	۶۱/۵	گلوکز
> ۰/۰۰۰۸	۳/۵	۸۵/۳ ^a	۴۳/۵ ^c	۴۵/۵ ^{bc}	۶۴/۵ ^b	کلسترول
۰/۱۴۰	۵/۶۷	۴۱/۸	۲۳/۶	۴۳/۸	۳۸	تری‌گلیسرید
۰/۰۲۴	۲/۴۶	۳۶ ^a	۳۷/۷ ^{ab}	۳۴/۵ ^b	۲۱ ^b	نیتروژن اورده خون
> ۰/۰۰۴	۱/۲۵	۴۱/۶ ^a	۳۴/۱ ^b	۳۰/۹ ^b	۳۲/۸ ^b	لیپو پروتئین با چگالی بالا
> ۰/۰۰۸	۱/۲۸	۱۳/۵ ^b	۲۰/۳ ^a	۲۱/۴ ^a	۲۳/۲ ^a	لیپو پروتئین با چگالی پایین
۰/۵۴۱	۱/۲۵	۶/۲	۷/۵	۷/۸	۸/۹	لیپو پروتئین با چگالی خیلی پایین

a-c: حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

همچنان باعث بهبود سیستم ایمنی، کیفیت شیر شد (۲۵). کنجاله بذر کتان باعث افزایش غلظت انترولاکتون در شیر که باعث جلوگیری از سرطان در انسان می‌شود (۲۸). همچنان باعث افزایش غلظت اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه و اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه در خون و زیرپوست می‌شود (۱،۲،۱۰،۳۱). در پژوهشی دیگر افزایش غلظت نیتروژن اورده‌ی خون و کراتینین، در نتیجه‌ی برداشت اسیدهای آمینه از عضلات به‌منظور گلوکونوژنز، در حیوانات تحت تنش گرمایی مشاهده‌شده است، درحالی‌که با افزودن دانه‌ی کتان به جیره‌ی میش‌ها، بهبود متابولیسم، بهبود پاسخ ایمنی و تنظیم دمای بدن و تعدیل اثرات تنش گرمایی گزارش‌شده است (۳۲). در آزمایش حسین آبادی و همکاران (۱۲) فراسنجه‌های خونی و ایمنی از جمله کلسترول، تری‌گلیسرید، گلوکز، پروتئین تام، آلبومین، HDL، LDL، VLDL، IGG، تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و نسبت نوتروفیل به لنفوسیت تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

سیستم ایمنی

نتایج حاصل از سیستم ایمنی در جدول ۶ نشان داده‌شده است. در گلبول‌های سفید خون و پلاکت‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشته و اما در گلبول‌های قرمز خون پارامترهای هموگلوبین و غلظت متوسط هموگلوبین در سلول به‌طور معنی‌داری تفاوت داشت و مقدار بیشتر آنها در تیمار ۱۰۰ درصد کنجاله کتان بود ($p < 0.05$). این تفاوت ممکن است نشان‌دهنده فعالیت مهم فیزیولوژیکی کنجاله کتان و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهی کتان بوده که بیشتر از ویتامین E می‌باشد (۲۶). کیوزدا و چرین (۲۷) به این نتیجه رسیدند که کنجاله بذر کتان دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاست و محتوی فنولیک و فلاونوئیدی بیشتر از دانه‌های کتان دارد. بنابراین، وزن افزایش وزن روزانه ممکن است به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی کنجاله بذر کتان باشد. در یک پژوهش وجود کنجاله کتان در جیره غذایی باعث افزایش سطوح اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه، اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه و اسید لینولئیک کانژوگه شده و

جدول ۵- اثرات سطوح مختلف جایگزینی کنجاله کتان با کنجاله پنبه‌دانه بر سیستم ایمنی میش
Table 5. Effect of different level of replacing of flax meal with cottonseed meal on immune system of ewe

P-Value	SEM	سطح کنجاله کتان (درصد)				پارامترها
		۱۰۰	۶۶	۳۳	صفر	
۰/۳۲۷	۴/۸۲	۷۴/۳	۶۶/۶	۸۰/۳	۷۶/۳	گلبول های سفید خون ($10^3 \mu l$)
۰/۳۲۷	۴/۸۲	۷۴/۳	۵۹/۶	۷۱/۳	۶۶/۷	لمفوسیت ($10^3 \mu l$)
۰/۳۵	۴/۲۳	۲/۰۵	۱/۶۵	۱/۱۸	۳/۳۸	مونوسیت ($10^3 \mu l$)
۰/۲۹	۰/۴۹	۶/۷۵	۵/۵۰	۵/۶۰	۶/۱۸	گرانولوسایت ($10^3 \mu l$)
۰/۲۹	۰/۲۹	۸/۳۱	۷/۵۲	۸/۲۷	۸/۰۹	گلبول های قرمز خون ($10^6 \mu l$)
>۰/۰۰۸	۱/۲۸	۸/۵۰ ^a	۸/۷ ^c	۷/۸ ^{bc}	۸/۳۸ ^{ab}	هموگلوبین (g/dl)
۰/۱۲۲	۰/۵۲	۲۶/۱	۲۴/۶	۲۴/۷	۶۲/۲	هماتوکریت (%)
۰/۶۲	۱/۲۵	۳۰/۷	۳۲/۷	۳۰/۳	۳۲/۶	حجم متوسط هموگلوبین (μm^3)
۰/۳۹۱	۰/۴	۱۰/۳۲	۱۰/۲۷	۹/۴۵	۱۰/۴	وزن متوسط هموگلوبین (dg)
۰/۱۴۶	۰/۴۳	۳۲/۶	۳۱/۵	۳۱/۱	۳۲/۳	غلظت متوسط هموگلوبین در سلول (g/dl)
۰/۳۷	۰/۸۵	۱۸/۶	۱۸/۸	۲۰/۷	۱۹/۱	دامنه پراکندگی سلول قرمز (%)
۰/۳۱	۰/۳۱	۸/۳۱	۷/۵	۸/۳۲	۸/۰۹	(μm^3)RDWS
۰/۸۱۸	۱۸۹/۸	۷۰۸/۳	۴۹۹/۸	۶۶۶/۳	۷۳۵/۰	پلاکت ($10^3 \mu l$)
۰/۴۲۳	۰/۶۶۵	۱۰/۸۵	۱۰/۵۸	۹/۲۸	۱۰/۰۵	حجم متوسط پلاکت ها (μm^3)
۰/۸۰۲	۰/۲۵	۰/۸۸۲	۰/۵۳۴	۰/۶۳۰	۰/۸۹۰	PCT(%)
۰/۴۱۸	۳/۲۰	۳۰/۰۳	۲۹/۴۸	۳۶/۲۸	۳۴/۴۱	دامنه پراکندگی حجم پلاکت ها (%)
۰/۲۸۸	۶/۱۶	۴۶/۴	۳۴/۶	۲۹/۸	۳۹/۹	PLCR %(%)

a-c: حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ($p < 0.05$).

نتیجه گیری کلی

در مجموع نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد کنجاله کتان را به جای کنجاله پنبه دانه می توان تا ۱۰ درصد در جیره غذایی میش ها استفاده نمود.

منابع

- Agarwal, N., I. Agarwal, D.N. Kamra and L.C. Chaudhary. 2000. Diurnal variations in the activities of hydrolytic enzymes in different fractions of rumen contents of Murrah buffalo. Journal of Applied Animal Research, 18(1): 73-80.
- Allard, J.P., R. Kurian, E. Aghdassi, R. Muggli and D. Royall. 1997. Lipid peroxidation during n-3 fatty acid and vitamin E supplementation in humans. Lipids, 32(5): 535-541.
- Bauman, D.E., A.L. Lock, B.A. Corl, C. Ip, A.M. Salter and P.W. Parodi. 2006. Milk fatty acids and human health: potential role of conjugated linoleic acid and trans fatty acids. In Ruminant physiology: Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress, 523-555. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.
- Bhatia, A.L., K. Manda, S. Patni and A.L. Sharma. 2006. Prophylactic action of linseed (*Linum usitatissimum*) oil against cyclophosphamide-induced oxidative stress in mouse brain. Journal of Medicinal Food, 9: 261-264.
- Broderick, G.A. and J.H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Dairy Science, 54: 1176-1183.
- Caroprese, M., M. Albenzio, A. Bruno, V. Fedele, A. Santillo and A. Sevi. 2011. Effect of solar radiation and flaxseed supplementation on milk production and fatty acid profile of lactating ewes under high ambient temperature. Journal of Dairy Science, 94(8): 3856-3867.
- Casamassima, D., M. Palazzo, F. Vizzarri, M. Cinone and C. Corino. 2013. Effect of dietary phenylpropanoid glycoside-based natural extracts on blood parameters and productive performance in intensively-reared young hares. Czech Journal of Animal Science, 58(6): 270-278.
- Côrtes, C., D. da Silva-Kazama, R. Kazama, C. Benchaar, G. dos Santos, L.M. Zeoula, N. Gagnon and H.V. Petit. 2013. Effects of abomasal infusion of flaxseed (*Linum usitatissimum*) oil on microbial [beta]-glucuronidase activity and concentration of the mammalian lignan enterolactone in ruminal fluid, plasma, urine and milk of dairy cows. The British Journal of Nutrition, 109(3): 433.
- Ghoorchi, T. and B. Ghorbani. 2011. Rumen Microbiology. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, 167 pp (In Persian).
- Gladine C., C. Morand and E. Rock, D. Bauchart and D. Durand. 2007. Plant extracts rich in polyphenols (PERP) are efficient antioxidants to prevent lipoperoxidation in plasma lipids from animals fed n- 3 PUFA supplemented diets. Animal Feed Science and Technology, 136(3): 281-296.
- Hao, X.Y., S.C. Yu, C.T. Mu, D.X. Wu, C.X. Zhaoa, and J. Zhang. 2020. Replacing soybean meal with flax seed meal: effects on nutrient digestibility, rumen microbial protein synthesis and growth performance in sheep. Animal, 14(9): 1841-1848.

12. 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*, 11(28):67-74 (In Persian).
13. Landete, J.M. 2012. Plant and mammalian lignans: A review of source, intake, metabolism, intestinal bacteria and health. *Food Research International*. 46: 410-424.
14. Loor, J.J., A. Ferlay, A. Ollier, M. Doreau and Y. Chilliard. 2005. Relationship among trans and conjugated fatty acids and bovine milk fat yield due to dietary concentrate and linseed oil. *Journal of Dairy Science*, 88(2): 726-740.
15. Mehrani, K., T. Ghoorchi, A. Toghdory and R. Rajabi AliAbadi, 2021. Effect of different levels of potato on nutrient digestibility, fibrolytic enzyme and ruminal characteristics in Dalagh ewes. *Research on Animal Production*, 11(30): 49-56 (In Persian).
16. McDonald, J.E., H.E. Allison and A.J. McCarthy. 2010. Composition of the landfill microbial community as determined by application of domain-and group-specific 16S and 18S rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(4): 1301-1306.
17. 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*, 13(2): 15-18.
18. National Research Council. 1985. Nutrient Requirement of Sheep. National Academy Press Washington D.C.
19. Nega, A. and S. Melaku. 2009. Feed intake, digestibility and body weight change in Farta sheep fed hay supplemented with rice bran and/or noug seed (*Guizotia abyssinica*) meal. *Tropical Animal Health and Production*, 41(4): 507-515.
20. Normand, J., D. Bastien, D. Bauchart, F. Chaigneau, G. Chesneau, M. Doreau, J.P. Farrié, A. Joulié, D. Le Pichon, C. Peyronnet and A. Quinsac. 2005. Produire de la viande bovine enrichie en acides gras polyinsaturés oméga 3 à partir de graines de lin: quelles modalités d'apport du lin, quelles conséquences sur la qualité de la viande? *Rencontre Recherche Ruminants*, 12: 359-366.
21. Nudda, A., G. Battaccone, A.S. Atzori, C. Dimauro, S.P.G. Rassu, P. Nicolussi, P. Bonelli and G. Pulina. 2013. Effect of extruded linseed supplementation on blood metabolic profile and milk performance of Saanen goats. *Animal*, 7(9): 1464-1471.
22. Nudda, A., G. Battaccone, M.G. Usai, S. Fancellu and G. Pulina. 2006. Supplementation with extruded linseed cake affects concentrations of conjugated linoleic acid and vaccenic acid in goat milk. *Journal of Dairy Science*, 89(1): 277-282.
23. Oomah, D.B., G. Mazza and E.O. Kenaschuk. 1996. Dehulling characteristics of flaxseed. *LWT-Food Science and Technology*, 29: 245-250.
24. Petit, H.V. 2002. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. *Journal of Dairy Science*, 85(6): 1482-1490.
25. Petit, H.V. 2003. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed formaldehyde treated flaxseed or sunflower seed. *Journal of Dairy Science*, 86(8): 2637-2646.
26. Petit, H.V., R.J. Dewhurst, J.G. Proulx, M. Khalid, W. Haresign and H.T. Wagiramungu. 2001. Milk production, milk composition, and reproductive function of dairy cows fed different fats. *Canadian Journal of Animal Science*, 81(2): 263-271.
27. Quezada, N. and G. Cherian. 2012. Lipid characterization and antioxidant status of the seeds and meals of *Camelina sativa* and flax. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114: 974-982.
28. Raghuvansi, S.K.S., R. Prasad, A.S. Mishra, O.H. Chaturvedi, M.K. Tripathi, A.K. Misra, B.L. Saraswat and R.C. Jakhmola. 2007. Effect of inclusion of tree leaves in feed on nutrient utilization and rumen fermentation in sheep. *Bioresource Technology*, 98(3): 511-517.
29. 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. Ruminal fermentation. *Journal of Animal Science*, 70(11): 3551-3561.
30. Scislowski, V., D. Bauchart, D. Gruffat, P.M. Laplaud and D. Durand. 2005. Effects of dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids protected or not against ruminal hydrogenation on plasma lipids and their susceptibility to peroxidation in fattening steers. *Journal of Animal Science*, 83(9): 2162-2174.
31. Sevi, A., G. Annicchiarico, M. Albenzio, L. Taibi, A. Muscio and S. Dell'Aquila. 2001. Effects of solar radiation and feeding time on behavior, immune response and production of lactating ewes under high ambient temperature. *Journal of Dairy Science*, 84(3): 629-640.
32. Tafa, A., S. Melaku and K.J. Peters. 2010. Supplementation with linseed (*Linum usitatissimum*) cake and/or wheat bran on feed utilization and carcass characteristics of Arsi-Bale sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 42: 677-685.
33. Worden, L.C., M.G. Erickson, S. Gramer, C. Tap, C. Ylioja, N. Trottier and E.L. Karcher. 2017. Decreasing the dietary ratio of omega-6 to omega-3 fatty acids increases the omega-3 concentration of peripheral blood mononuclear cells in weaned Holstein heifer calves. *Journal of Dairy Science*. 101: 1227-1233.

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

Haji Mohammad khalilzad¹, Taghi Ghoorchi², Behrouz Dastar³ and Abdolhakim Toghory⁴

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

2- Professor, Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (Corresponding author: ghoorchirt@yahoo.com)

3- Professor, Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

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

Received: 1 September, 2021

Accepted: 7 November, 2021

Extended Abstract

Introduction and Objective: Flax seed meal (FSM) is rich in various nutrients, especially CP and energy, and can be used as animal protein feed. Flax seed meal is a by-product of flax seed oil extraction. It has approximately 13.3 MJ DE/kg DM and 32% to 37% CP. It has a balanced amino acid profile and relatively low-rumen effective degradable protein. Additionally, it has been reported that FSM has greater content of phenolics and flavonoids than that in its seed. Moreover, it exhibits high antioxidant activity, which is beneficial for the growth and health of animals. These qualities are desirable in feedstuffs for ruminants. However, studies on the effects of replacing SBM with FSM in fattening ewes are limited. The aim of this experiment was to study the effects of replacing a portion of cottonseed meal with flax meal (*Linum usitatissimum*) on blood parameters, rumen fibrolytic enzyme activity metabolites, the immune system and growth performance in ewes.

Material and Methods: The experimental design was a replicated 4 × 4 Latin square with the following treatments: (1) 0% flax meal, (2) 33% flax meal, (3) 66% flax meal and (4) 100% flax meal. The ewes were fed in individual pens for periods of 21 days, with the first 14 days for adaptation to diets and daily meal two hours of 08:00 am and 04:00pm were administered orally. The measurement of blood parameters (Glucose, triglyceride, Blood urea nitrogen, Cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL- cholesterol) and immune system (Leucocytus, Lymphocytes, Monocytes, Granulocyte, Red blood cells, Hemoglobin, Hematocrit, The average volume of hemoglobin, The average weight of hemoglobin, The average concentration of hemoglobin in the cell, Red cell scattering amplitude, Platelets, The average size of platelets, The volume of platelets) at the end of the 21-day period. To measure ruminal parameters (pH, ammonia nitrogen and micro-crystalline cellulose and carboxy-methyl cellulose) at the end of each sampling period was 20 days.

Results: The results show that increasing the amount of blood urea nitrogen, cholesterol and HDL- cholesterol and LDL- cholesterol reduced. The immune system parts value hemoglobin and mean hemoglobin concentration have difference significant in treatment and the most amount was of 100% cotton meal treatment. Micro-crystalline cellulose enzyme activity to every three enzymatic activity (intracellular, extracellular and attached to particles) declined.

Conclusion: Overall, the results indicated that cottonseed meal can be effectively replaced by flax meal in the diets of ewes and the optimal proportion was 100% under the conditions of this experiment and without health impact.

Keywords: Blood parameters, Ewes, Enzymatic activity, Flax meal, Immune system