



"مقاله پژوهشی"

اثر افزودن مکمل لیکوپن بر فراسنجه‌های تخمیر، گوارش‌پذیری مواد مغذی و مصرف خوراک جیره بره‌پروراری در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی

زهرا امینی فرد^۱، علی کیانی^۲ و آرش آذرفر^۳

۱- دانشجوی دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران، (نویسنده مسوول: asglu86@gmail.com)
۳- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۸/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۲
صفحه: ۵۷ تا ۶۵

چکیده مسوط

مقدمه و هدف: لیکوپن ($C_{40}H_{56}$) یک کاروتنوئید محلول در چربی با بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بین کاروتنوئیدها است. اثرات مثبت لیکوپن در کاهش تنش اکسیداتیو و بهبود کیفیت محصولات دامی گزارش شده است. انتظار می‌رود که افزودن آنتی‌اکسیدان‌های قوی مثل لیکوپن بتواند در بهبود شرایط مطلوب شکمبه و متعاقب آن هضم خوراک و سلامت دام مفید باشند. در این پژوهش تاثیرات سطوح مختلف لیکوپن بر پارامترهای تخمیر شکمبه‌ای به صورت برون‌تنی، و بر قابلیت هضم مواد مغذی و مصرف خوراک بره‌های پروراری بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، در مرحله اول تاثیر سطوح صفر (شاهد)، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۶ و ۲/۴ میلی‌گرم لیکوپن در گرم ماده‌خشک در قالب یک طرح کاملاً تصادفی بر گوارش‌پذیری و فراسنجه‌های هضم و تخمیر به روش آزمایشگاهی بررسی شد. در مرحله دوم، تاثیر جیره برگزیده شده از مرحله آزمایشگاهی (جیره با ۲/۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک مکمل لیکوپن) بر مصرف خوراک و قابلیت هضم مواد مغذی ۲۰ راس بره پروراری بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که با افزایش سطح لیکوپن در جیره پتانسیل تولید گاز روند کاهشی داشت ($p < 0.05$) و مقدار آن برای سطوح صفر (شاهد)، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۶ و ۲/۴ میلی‌گرم لیکوپن در گرم ماده‌خشک به‌ترتیب ۶۵/۸، ۶۴/۵، ۶۴/۲، ۶۴/۲ و ۵۸/۴ میلی‌لیتر بود. افزایش سطوح لیکوپن باعث افزایش ضریب‌تفکیک (۴/۹۱، ۴/۹۲، ۵/۰۱، ۵/۱، ۵/۴۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و تولید پروتئین میکروبی (۱۹۸، ۲۰۰، ۲۰۳، ۲۰۸ و ۲۲۰ میلی‌گرم) شد ($p < 0.05$). افزودن لیکوپن به جیره سبب کاهش معنی‌داری در نیتروژن آمونیاکی شکمبه شد ($p < 0.05$) و مقدار آن برای سطوح صفر، (شاهد)، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۶ و ۲/۴ میلی‌گرم لیکوپن در گرم ماده‌خشک به‌ترتیب ۱۵/۵، ۱۵/۵، ۱۵/۴، ۱۵/۳ و ۱۵/۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. با این وجود میزان تولید اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر، انرژی قابل متابولیسم و گوارش‌پذیری ماده‌الی تحت تاثیر لیکوپن قرار نگرفت. آزمایش هضم دومرحله‌ای تلی‌وتری نشان داد که لیکوپن تاثیر معنی‌داری بر هضم‌پذیری ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خشتی و اسیدی نداشت. در آزمایش درون‌تنی، مکمل لیکوپن سبب افزایش مصرف ماده‌خشک مصرفی شد و هیچ تاثیری بر گوارش‌پذیری مواد مغذی جیره نداشت.

نتیجه‌گیری: افزودن لیکوپن به جیره بره‌پروراری سبب بهبود ضریب تفکیک و افزایش تولید پروتئین میکروبی در شرایط برون‌تنی شد و همچنین باعث افزایش مصرف خوراک بره‌های پروراری شد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پروتئین میکروبی، تولید گاز، ضریب‌تفکیک، مصرف خوراک

مقدمه

لیکوپن یک کاروتنوئید است که توسط گیاهان و میکروارگانیسم‌های فتوسنتزکننده تولید می‌شود و بدن انسان و حیوانات قادر به ساخت آن نیست و باید همراه با خوراک مصرف شود (۲۲). به‌طور کلی، کاروتنوئیدها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند که در گیاهان به رنگ‌های زرد، نارنجی و قرمز دیده می‌شوند (۷). لیکوپن در مقایسه با سایر کاروتنوئیدها دارای اثر آنتی‌اکسیدانی قوی است به‌طوری‌که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن دو برابر بتاکاروتن و ۱۰ برابر ویتامین E گزارش شده است (۱۲). با این وجود مطالعات اندکی روی تاثیر سطوح کاروتنوئیدهای هم‌خانواده لیکوپن در دام‌های نشخوارکننده انجام شده است (۱۷، ۱۱). به‌عنوان مثال افزودن بتاکاروتن به جیره دام‌های پروراری سبب ممانعت از اثرات منفی اسیدهای چرب غیراشباع بر جمعیت باکتری‌های سلولولیتیک شکمبه در شرایط آزمایشگاهی شده است (۱۱). افزودن ویتامین E به جیره‌های پرکنسانتره سبب افزایش غلظت استات و پروپیونات، تعداد کل پروتوزوآها، سطح نیتروژن آمونیاک و کاهش سطح بوتیرات و لاکتات شکمبه در شرایط آزمایشگاهی شده است (۱۸). بررسی مطالعاتی که در آنها اثرات کاروتنوئیدها بر فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه مطالعه شده است نشان می‌دهد که استفاده از ترکیبات

کاروتنوئیدی در سطوح بالا سبب اختلال در رشد باکتری‌های شکمبه و هضم سلولز شده است (۱۱) در حالی‌که استفاده از آنها در سطوح پایین سبب افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه شده است (۱۸).

لیکوپن به‌طور خاص مورد توجه پژوهشگران تغذیه دام قرار گرفته است. اخیراً گزارش شده است که افزودن لیکوپن به جیره سبب بهبود کیفیت و کاهش شاخص اکسیداسیون چربی در گوشت قرمز شده است (۲۹). در پژوهشی دیگر افزودن لیکوپن به جیره در دو هفته قبل از زایش سبب افزایش سطح ایمونوگلوبولین G در خون میش‌های آبستن و همچنین در آغاز تولیدی آن‌ها شده است (۸). با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی‌هایی قوی لیکوپن این امکان وجود دارد که لیکوپن با حذف اثرات اکسیدانی اکسیژن محیط شکمبه بتواند در بهبود شرایط بی‌هوازی شکمبه و متعاقب آن هضم خوراک و سلامت دام مفید باشند. با این وجود تاکنون تاثیر لیکوپن بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای مطالعه نشده است.

با توجه به محدود بودن اطلاعات در ارتباط با تاثیر سطوح لیکوپن بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای، در این پژوهش تاثیر سطوح مختلف لیکوپن بر گوارش‌پذیری و فراسنجه‌های تخمیر شکمبه در شرایط برون‌تنی و تاثیر بهترین سطح انتخاب‌شده مکمل لیکوپن بر میزان مصرف خوراک و

گوارش‌پذیری مواد مغذی در بره‌های پروری در شرایط درون‌تنی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار و تابستان ۱۳۹۸ در آزمایشگاه تغذیه دام و مزرعه دامپروری دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان انجام شد. مایع شکمبه مورد نیاز برای انجام آزمایش‌ها، از دو رأس گوسفند (با وزن 47 ± 0.6 کیلوگرم) فیستولاگذاری شده تهیه شد. دام‌های مذکور حداقل به مدت دو هفته با جیره غذایی حاوی ۶۰ درصد علوفه و ۴۰ درصد کنسانتره تغذیه شدند. جیره گوسفندان فیستولادار حاوی ۴۰ درصد کاه گندم، ۱۰ درصد سیلاژ ذرت، ۱۰ درصد یونجه خشک، ۲۷ درصد بلغور ذرت، ۱۱ درصد سبوس گندم، ۰/۹ درصد اوره، ۰/۵۵ درصد کربنات کلسیم، ۰/۲۵ درصد مواد مکمل معدنی و ویتامین و ۰/۲۵ درصد نمک بر حسب ماده خشک بود که بر اساس جداول احتیاجات تغذیه‌ای کمیته تحقیقات ملی آمریکا تنظیم شد (۱۹).

برای تهیه لیکوپن از تفاله خشک گوجه‌فرنگی (تهیه شده از کارخانه روژین تاک کرمانشاه) استفاده شد. روغن تفاله گوجه‌فرنگی توسط دستگاه سوکسله در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده از ترکیب حلال‌های اتانول و اتیل‌استات (با نسبت یک به دو) استخراج شد. سپس حلال‌های اضافی با استفاده از دستگاه روتاری در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد از روغن جدا شد. به منظور به حداقل رساندن تاثیر نور بر اکسیداسیون لیکوپن موجود در روغن استخراج شده، همه وسایل و دستگاه‌های مورد استفاده با فویل آلومینیومی پوشیده شد. در مرحله بعد، روغن استخراج شده با نشاسته ژلاتینه شده مخلوط شد. برای این کار ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر آب به ۱۰ گرم نشاسته اضافه شد و روی هیتر حرارت داده شد تا نشاسته به صورت ژلاتینه در آمد. سپس مقدار ۱۰ میلی‌لیتر روغن استخراج شده به تدریج به نشاسته اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه با دستگاه همزن و روی هیتر کاملاً مخلوط شد. خمیر زرد رنگ به دست آمده در لایه‌های نازک (قطر کمتر از یک سانتی‌متر) در فویل آلومینیومی صاف شد و سپس در دمای اتاق و در محیط کاملاً تاریک به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شدند تا خشک و سپس پودری گردد. ترکیب نهایی دارای سه درصد لیکوپن بود، یعنی هر گرم آن حاوی ۳۰ میلی‌گرم لیکوپن بود. تمامی مراحل کار و فرمولاسیون محصول تولید شده در شرکت گرین دام سیمیرغ انجام شد.

انتخاب بهترین سطح لیکوپن در جیره بره پروری (مرحله برون‌تنی) آزمایش تولید گاز

مایع شکمبه قبل از خوراک‌دهی وعده صبح توسط پمپ خلاء جمع‌آوری و در یک فلاسک عایق که از قبل توسط گاز دی‌اکسیدکربن بی‌هوازی شده بود، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شد. قبل از تزریق به داخل ویال‌های آزمایشی، محتویات شکمبه توسط چهار لایه پارچه پنبه (تنظیف یا متقال) صاف شد. ابتدا مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم از جیره آزمایشی (جدول ۱) کاملاً خشک آسیاب شده با اندازه

ذرات یک میلی‌متر به داخل هر ویال ریخته شد (۱۵) و مقادیر ۰/۳، ۰/۷، ۱۳/۳ و ۲۰ میلی‌گرم از محصول حاوی لیکوپن ۳ درصد به ویال‌ها (هر تیمار ۷ ویال) اضافه شد. در نتیجه ویال‌ها به ترتیب داری صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم لیکوپن بود که معادل ۰، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۶ و ۲/۴ میلی‌گرم در گرم ماده خشک جیره بود. سپس، به هر ویال که از قبل دمای آن با قرار دادن در بن‌ماری به ۳۹ درجه سانتی‌گراد رسیده بود، مقدار ۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف شده و ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی اضافه شد. به منظور اطمینان از شرایط بی‌هوازی، گاز دی‌اکسیدکربن به شیرابه شکمبه صاف شده و بزاق مصنوعی قبل و پس از تزریق به داخل ویال‌ها تزریق شد. تعداد سه ویال نیز به‌عنوان بلانک (بدون نمونه و فقط حاوی مایع شکمبه و بزاق مصنوعی) در نظر گرفته شد. بعد از بستن درب ویال‌ها با درپوش پلاستیکی و درب فلزی، ویال‌ها در بن‌ماری با دمای حدود ۳۹ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۹۶ ساعت انکوبه شدند. میزان گاز تولیدی ویال‌ها (هفت تکرار در هر تیمار) توسط دستگاه فشارسنج دیجیتال در زمان‌های دو، چهار، شش، هشت، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از شروع انکوباسیون ثبت شد و بر اساس معادله رگرسیون، فشار گاز تولیدی هر ویال به حجم تبدیل شد (۲۷). فراسنجه‌های تولید گاز با استفاده از رابطه زیر برآورد شد (۲۱).

$$P = b(1 - e^{-ct})$$

در رابطه ذکر شده، b: حجم گاز تولیدی از بخش تخمیرپذیر نمونه (میلی‌لیتر)، c: نرخ تولید گاز در ساعت، t: مدت زمان انکوباسیون بر حسب ساعت و P: حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان مورد نظر است.

تعداد سه ویال در هر تیمار به‌منظور تعیین گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه و محاسبه تولید پروتئین میکروبی و اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر در نظر گرفته شد. در این ویال‌ها پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون پس از ثبت حجم گاز تولیدی باز شدند و pH محتویات ویال‌ها به وسیله دستگاه pH متر (مدل WTM، آلمان) اندازه‌گیری شد. محتویات هر ویال با ۲۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. مایع‌روبی (سوپرناتانت) جدا شد و بقایای هر ویال جمع‌آوری و خشک شد. میزان گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک از اختلاف وزن سوبسترای اولیه و وزن بقایا پس از انکوباسیون محاسبه شد.

میزان گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده آلی (IVOMD) و انرژی قابل متابولیسم (ME) جیره‌های آزمایشی به ترتیب بر اساس رابطه‌های زیر تخمین زده شد (۱۶).

$$\begin{aligned} \text{IVOMD (g/kg OM)} &= 148.8 + 8.89 \text{ GAS} + 0.45 \\ &\text{CP} + 0.65 \text{ XA} \\ \text{ME (MJ/kg DM)} &= 2.20 + 0.136 \text{ GAS} + 0.057 \text{ CP} \\ &+ 0.0029 \text{ CP}^2 \end{aligned}$$

در معادله‌های ذکر شده GAS: حجم گاز خالص تولیدی برای ۲۰۰ میلی‌گرم سوبسترا پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، CP: میزان پروتئین خام به صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک و XA: خاکستر به صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک است.

هضم‌پذیری ماده خشک، هضم‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی و هضم‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده اسیدی از اختلاف در خوراک اولیه و بقایا به دست آمد.

مرحله درون‌تنی

تعداد ۲۰ رأس بره نژاد افشاری (میانگین وزن زنده $26/3 \pm 2$ کیلوگرم، میانگین سنی 15 ± 70 روزه) استفاده شد. بره‌ها به‌طور جداگانه در جایگاه‌های انفرادی ($100 \times 100 \times 150$ سانتی‌متر به‌ترتیب طول، عرض و ارتفاع) با کف چوبی مجهز به سطل آب و خوراک نگهداری شدند. برای هر تیمار ۱۰ رأس دام در نظر گرفته شد. آزمایش در یک دوره پرور ۷۵ روزه (۱۵ روز عادت‌پذیری و ۶۰ روز دوره اصلی آزمایش) و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. جیره طبق جدول احتیاجات بره پروراری تنظیم شد (۱۹) (جدول ۱). در ماه اول همه بره‌ها با جیره یکسان تغذیه شدند ولی در ماه دوم دوره پرور به بخش کنسانتره‌ای جیره ۱۰ رأس از بره‌ها بهترین سطح لیکوپن انتخاب شده از مرحله برون‌تنی اضافه شد (سطح $2/4$ میلی‌گرم لیکوپن) و تعداد ۱۰ رأس بره باقی‌مانده به‌عنوان شاهد منظور شدند (شاهد). جیره‌های آزمایشی به‌صورت کاملاً مخلوط و در دو نوبت $08:00$ صبح و $16:00$ عصر در اختیار بره‌ها قرار گرفت. مقدار لیکوپن محاسبه شده به صورت ترکیب حاوی سه درصد لیکوپن؛ ابتدا با ۱۰۰ گرم از کنسانتره و در مرحله بعد با پنج کیلوگرم کنسانتره به صورت روزانه مخلوط شد. قبل از تغذیه خوراک وعده صبح، باقی‌مانده خوراک روز قبل از آخر جمع‌آوری و توزین شد. بره‌ها در طول دوره پرور دسترسی آزاد به خوراک و آب داشتند. بره‌ها در روز اول دوره آزمایش و پس از آن هر دو هفته یک‌بار قبل از خوراک‌دهی وعده صبح توزین شدند. مصرف خوراک به صورت روزانه تعیین شد. قابلیت هضم ظاهری جیره‌ها در دو نوبت در هفته چهارم و هشتم دوره پرور به روش استفاده از نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید اندازه‌گیری شد.

تجزیه آماری

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تولید گاز، تخمیر، گوارش‌پذیری نمونه‌ها، ماده‌خشک مصرفی و قابلیت هضم ظاهری با استفاده از رویه مختلط و توسط نرم‌افزار آماری SAS (۲۳) با مدل آماری زیر صورت گرفت.

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

در این مدل Y_{ijk} ، μ ، T_i و e_{ijk} به‌ترتیب رکورد مشاهده شده، میانگین کل، اثر تیمار آزمایشی i ام و اثر خطای آزمایشی بود. مقایسه میانگین داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای توکی و در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. از مقایسات اورتوگونال (متعامد) برای تعیین اثرات خطی و غیرخطی سطوح مختلف لیکوپن و همچنین برای مقایسه تیمارهای حاوی لیکوپن در برابر شاهد استفاده شد.

ضریب تفکیک یا عامل جدا کننده (PF) بیان‌کننده نسبت تجزیه واقعی سوسترها به حجم گاز تولید شده در دوره‌های زمانی انکوباسیون است و بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد (۲۰).

خاکستر - باقی‌مانده - مقدار اولیه = ماده آلی واقعاً هضم شده (میلی‌گرم)

$$PF = \frac{\text{میلی گرم ماده آلی حقیقی هضم شده}}{\text{میلی لیتر گاز تولید شده}}$$

تولید پروتئین میکروبی (MPS) طبق فرمول زیر تخمین زده شد (۳).

$MPS (mg/g DM) = mg ADS - (ml gas \times 2.2 mg/ml)$
که ADS سوسترهای هضم شده ظاهری و $2/2$ عامل استوکیومتری بر حسب میلی‌گرم کربن، هیدروژن و اکسیژن مورد نیاز برای سنتز اسیدهای چرب کوتاه زنجیر است. غلظت اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (۱۰).

$SCFA (mmol/200 mg DM) = 0.0222GP - 0.0042$
به‌منظور اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی، نمونه‌های سوپرناتانت جمع‌آوری شده از ویال‌ها (پنج میلی‌لیتر) بلافاصله با یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک $0/2$ نرمال مخلوط و در دمای $20 -$ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با استفاده از معرف‌های فنول و هیپوکلریت انجام شد. به این صورت که $2/5$ میلی‌لیتر محلول فنل و 2 میلی‌لیتر محلول هیپوکلریت را با یکدیگر مخلوط و سپس 50 میکرولیتر از نمونه به آن اضافه شد و در نهایت جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل PG UV/VIS T80, Instruments Ltd) در طول موج 630 نانومتر انجام شد (۴).

هضم دومرحله‌ای تلی‌وتری

برای این منظور، مقدار 250 میلی‌گرم از جیره آزمایشی درون ویال‌ها ریخته شد و سپس مقادیر 0 ، $0/4$ ، $0/8$ ، $1/6$ و $2/4$ میلی‌گرم در گرم ماده‌خشک جیره که معادل صفر، 100 ، 200 ، 400 و 600 میلی‌گرم لیکوپن خالص بود به هر ویال افزوده شد. سپس 5 میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف شده و 20 میلی‌لیتر بزاق مصنوعی به درون ویال‌های شیشه‌ای ریخته شد (۱۵). به منظور شبیه‌سازی شرایط شکمبه، ویال‌ها در دمای 39 درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. برای هر تیمار 7 تکرار در نظر گرفته شد. بعد از گذشت 48 ساعت، جهت اعمال شرایط هضم شیردانی، محلولی متشکل از هیدروکلریدریک-اسید-پسین مرکب $1:3300$ ($0/5$ گرم پسین در 100 میلی‌لیتر اسیدکلریدریک $0/1$ نرمال) به ویال‌های آزمایشی اضافه شد و به مدت 48 ساعت دیگر انکوباسیون ادامه یافت (۲۷). سپس ویال‌ها از روند انکوباسیون خارج و بقایای ویال‌ها صاف شدند. بقایای به دست آمده در آون با دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت خشک شدند و

جدول ۱- اجزای خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره آزمایشی حاوی سطوح مختلف لیکوپن
Table 1. Feed ingredients and chemical composition (%) of experimental diet containing different levels of lycopen

مواد مغذی جیره آزمایشی	مواد خوراکی (درصد ماده خشک)
۸۹ ماده خشک (درصد وزن تر)	۲۸/۵ یونجه
۹۵/۵ ماده آلی (درصد ماده خشک)	۲۵ دانه جو
۱۶/۵ پروتئین خام (درصد ماده خشک)	۲۳ دانه ذرت
۱۲/۵ پروتئین قابل متابولیسم	۱۴/۳ کنجاله سویا
۶ پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه	۵/۷ سبوس گندم
۲۴/۴ الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد ماده خشک)	۰/۵۴ کربنات کلسیم
۱۲/۷ الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد ماده خشک)	۰/۵۴ نمک طعام
۴/۵ خاکستر (درصد ماده خشک)	۰/۷۸ جوش شیرین
۱۱ انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)	۰/۹۳ دی کلسیم فسفات
	۰/۷۸ مکمل مواد معدنی و ویتامین ^۱

۱- هر کیلوگرم مکمل مواد معدنی و ویتامین حاوی ۹۹/۲ میلی‌گرم منگنز، ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۸۴/۷ میلی‌گرم روی، یک میلی‌گرم مس، یک میلی‌گرم ید، ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D و ۱۸ واحد بین‌المللی ویتامین E می‌باشد (رشد دانه کرج، ایران)

نتایج و بحث

انتخاب بهترین سطح لیکوپن در جیره بره پروراری (مرحله برون تنی) آزمایش تولید گاز

نتایج آزمایش حاضر نشان داد (جدول ۲) با افزایش سطح لیکوپن در جیره پتانسیل تولید گاز کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) و مقدار آن برای سطوح صفر (شاهد)، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۶ و ۲/۴ میلی‌گرم لیکوپن در گرم ماده خشک به ترتیب ۵۸/۴، ۶۴/۲، ۶۴/۲، ۶۴/۵، ۶۵/۸ میلی‌لیتر بود. نتایج نشان داد که تولید گاز در تیمارهای مختلف تا ساعت ۲۴ تحت‌تاثیر لیکوپن قرار نگرفت، اما با افزایش زمان انکوباسیون در زمان‌های بیش از ۴۸ ساعت تاثیر لیکوپن بر روند تولید گاز مشهود بود. کم‌ترین مقدار تولید گاز در زمان ۷۲ و کل گاز تجمعی تولیدی زمان ۹۶ مربوط به ۲/۴ میلی‌گرم لیکوپن در گرم ماده خشک بود ($p < 0.05$). این احتمال وجود دارد که حضور لیکوپن در شکمبه اثرات متفاوتی بر باکتری‌های تجزیه‌کننده بخش کربوهیدرات‌های محلول و باکتری‌های سلولولیتیک داشته باشد. حجم گاز تولیدی پارامتری است که میزان گوارش‌پذیری جیره، مقدار محصولات نهایی تخمیر و تولید پروتئین میکروبی به‌وسیله باکتری‌های شکمبه را نشان می‌دهد. در واقع گاز تولید شده در نتیجه تخمیر کربوهیدرات‌ها به استات، پروپیونات و بوتیرات تولید می‌شود (۹). گازی تولیدی در ساعات اولیه ترجیحا تا ۱۶ ساعت که به شکل سریع تولید می‌شود، مربوط به تخمیر بخش کربوهیدرات‌های محلول است که باکتری‌های آمیلولیتیک در تولید آن بیش‌ترین سهم را دارند. در ساعات‌های بالای ۴۸ ساعت، بخش غیرنشاسته‌ای و الیافی جیره شروع به تخمیر شدن توسط باکتری‌های سلولولیتیک می‌کند و به آرامی گاز تولید می‌شود.

تیمار حاوی ۲/۴ میلی‌گرم لیکوپن در گرم ماده خشک دارای بیش‌ترین نرخ تولید گاز بود. از نظر تولید گاز در زمان ۴۸، جیره حاوی ۲/۴ میلی‌گرم لیکوپن در گرم ماده خشک کم‌ترین میزان تولید گاز را داشت ($p < 0.05$) و تفاوت معنی‌داری بین سایر تیمارها وجود نداشت. لیکوپن تاثیر معنی‌داری بر میزان گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده‌آلی جیره‌ها نداشت و مقدار انرژی قابل‌متابولیسم و اسیدهای چرب فرار نیز تحت‌تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۳). گاز تولید شده

عمدتا در اثر تخمیر کربوهیدرات‌های محلول به اسیدهای چرب کوتاه زنجیر است. در یک آزمایش برون‌تنی با مقادیر ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم لیکوپن در گرم ماده خشک خوراک سبب کاهش غلظت اسید استیک، اسید پروپیونیک و اسید بوتیریک نسبت به جیره شاهد در بره‌های پروراری شد (۳۰). البته در آزمایش حاضر غلظت اسیدهای چرب به تفکیک بررسی نشد و تنها با توجه به اینکه گاز در زمان ۱۶ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت در نتیجه مقدار برآورد تولید اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر نیز تفاوت نداشت.

افزودن لیکوپن به جیره سبب افزایش خطی ضریب تفکیک و تولید پروتئین میکروبی شد. جیره حاوی ۲/۴ میلی‌گرم لیکوپن در گرم ماده خشک نسبت به شاهد میزان پروتئین میکروبی بالاتری داشت ($p < 0.05$). مقدار طبیعی ضریب تفکیک از ۲/۷۵ تا ۴/۴۵ متغیر است که از نسبت ماده‌آلی هضم‌شده حقیقی (میلی‌گرم) به حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر) محاسبه می‌گردد و هرچه قدر عدد آن بیش‌تر باشد نشان‌دهنده کیفیت بالاتر جیره است (۲). مقدار ضریب تفکیک بیانگر این است که چه مقدار از ماده‌آلی تجزیه‌شده در شکمبه به سمت تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و یا تولید توده میکروبی رفته است. هنگامی که ماده خوراکی در شرایط برون‌تنی انکوبه می‌شود، بخش کربوهیدراتی صرف تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، گاز (عمدتا دی‌اکسیدکربن و متان) و پروتئین میکروبی می‌شود. ضریب تفکیک بالاتر نشان‌دهنده این است که تجزیه‌پذیری مواد به جای تولید گاز به سمت تولید پروتئین میکروبی و اسیدهای چرب فرار هدایت شده است (۳). در آزمایش حاضر افزایش ضریب تفکیک نشان می‌دهد بخش قابل تخمیر جیره صرف تولید پروتئین میکروبی شده است. لیکوپن سبب بالا رفتن ضریب تفکیک شد که این تغییر همراه با افزایش مقدار تولید پروتئین میکروبی بوده است و تاثیری در میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نداشت. مشابه با پژوهش حاضر، در مطالعه‌ای که بررسی سطوح مختلف بتاکاروتن (هم‌خانواده لیکوپن) روی تخمیر شکمبه‌ای بزها نشان داد سطوح ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بتاکاروتن باعث افزایش ضریب تفکیک و همچنین تولید پروتئین میکروبی شد (۳۱).

نتایج نشان داد افزودن لیکوپن به جیره بره‌های پروراری باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی شکمبه شد ($p < 0.05$) اما تاثیر

(۱۸). بنابراین ممکن است لیکوپن دارای توان تاثیرگذاری مثبت بر میکروارگانیسم‌های شکمبه بوده و رشد آن‌ها را تقویت کند.

آزمایش هضم دومرحله‌ای تلی‌وتری

آزمایش هضم دومرحله‌ای تلی‌وتری جیره‌های حاوی سطوح مختلف لیکوپن (جدول ۴) نشان داد که هضم‌پذیری ماده‌خشک، ایلاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی تحت تاثیر افزودن لیکوپن قرار نگرفت. نتایج آزمایش هضم دومرحله‌ای نشان داد استفاده از لیکوپن تا سطح ۲/۴ میلی‌گرم در گرم ماده‌خشک جیره هیچ اثر منفی بر هضم‌پذیری ماده‌خشک، ایلاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی ایجاد نکرد. به‌طور کلی مشخص شده است که تاثیر افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدان یا پروکسیدان بر فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه بسته به دوز مورد استفاده و به جیره مصرفی متغیر است (۲۸،۵). در مطالعه‌ای افزودن ویتامین E به میزان ۳/۳ میلی‌گرم سبب اختلال در رشد باکتری‌های شکمبه شد و به تبع آن قابلیت هضم سلولز هم کاهش یافت (۱۱). در آزمایشی دیگر، استفاده از ۸ میلی‌گرم ویتامین E در خوراک‌های الیافی باعث اختلال در فعالیت میکروبی در شرایط آزمایشگاهی شد هر چند استفاده از ویتامین E در خوراک‌های نشاسته‌ای هیچ مشکلی برای فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه ایجاد نکرد (۲۴). در آزمایش حاضر، افزودن سطوح مختلف لیکوپن تا مقدار ۲/۴ میلی‌گرم در گرم ماده‌خشک جیره نه تنها هیچ تاثیر منفی بر قابلیت هضم مواد مغذی نداشت بلکه باعث افزایش تولید پروتئین میکروبی شد.

معنی‌داری بر pH شکمبه نداشت (جدول ۳). هم‌راستا با نتایج آزمایش حاضر، در مطالعه‌ای افزودن بتاکاروتن در سطوح ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی شد (۳۱). کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در تیمارهای حاوی لیکوپن در مقایسه با شاهد ممکن است ناشی از تاثیر کاروتنوئیدها بر باکتری‌های سلولاییتیک باشد. گزارشانی وجود دارد که بتاکاروتن باعث رشد باکتری‌های سلولاییتیک می‌شود چون باکتری‌های سلولاییتیک از آمونیاک استفاده می‌کنند. افزایش غلظت اسید استیک در کل اسیدهای چرب فرار ممکن است نشان دهد که بتاکاروتن می‌تواند نوع تخمیر شکمبه را تغییر دهد (۱۱). همچنین در مطالعه‌ای استفاده از ۹۶۰ میلی‌گرم عصاره گیاهی حاوی آنتی‌اکسیدان در محیط شبیه‌ساز شکمبه‌ای باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی شد (۱) و بیان شده است که کاهش تعداد باکتری‌های تولیدکننده آمونیاک نظیر کلاستریدیوم استیکلندی و پیتواسترپتوکوکوس بی‌هوازی می‌تواند سبب تغییر کاهش تولید آمونیاک شود. لیکوپن معمولاً به عنوان یک آنتی‌اکسیدان چربی‌دوست در نظر گرفته می‌شود که برای محافظت از غشای سلول در برابر اکسیداسیون مهم است (۲۹). اکثر گونه‌های باکتری شکمبه؛ بی‌هوازی اجباری هستند که نسبت به تنش اکسیداتیو بسیار حساس هستند (۱۳) بنابراین به نظر می‌رسد اثر حضور لیکوپن در شکمبه می‌تواند احتمالاً با اثرات آنتی‌اکسیدانی خود سبب حفظ یکپارچگی غشاهای میکروبی در برابر اکسیداسیون باشد. از این رو انتظار می‌رود که افزودن آنتی‌اکسیدان‌های قوی مثل لیکوپن با حذف اثرات اکسیدانی اکسیژن بتوانند در بهبود شرایط مطلوب شکمبه و متعاقب آن هضم خوراک مفید باشند هر چند دلیل قطعی برای این اثرات در منابع ذکر نشده است

جدول ۲- فراسنجه‌های تولید گاز جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف لیکوپن

شاهد در مقابل لیکوپن	احتمال معنی‌داری		سطوح لیکوپن (میلی‌گرم در گرم ماده‌خشک)						SEM
	درجه دو	خطی	۰	۰/۴	۰/۸	۱/۶	۲/۴		
۰/۶۳	۰/۱۵	۰/۷۳	۰/۸۴	۳۴/۹	۳۳/۱	۳۲/۹	۳۴/۹	۳۴/۴	GP ₁₆
۰/۱۶	۰/۹۱	۰/۰۹	۰/۸۶	۴۳/۴	۴۴/۱	۴۵/۰۶	۴۴/۴	۴۵/۶	GP ₂₄
۰/۲	۰/۰۴	<۰/۰۱	۰/۷۲	۵۰/۹ ^D	۵۳/۹ ^a	۵۴/۳ ^a	۵۴/۱ ^a	۵۴/۳ ^a	GP ₄₈
<۰/۰۱	۰/۴۱	<۰/۰۰۱	۰/۳۹	۵۷/۱ ^c	۵۸/۷ ^D	۵۹/۱ ^D	۵۹/۳ ^D	۶۰/۵ ^a	GP ₇₂
<۰/۰۰۱	۰/۲۲	<۰/۰۰۱	۰/۳۱	۵۷/۴ ^c	۵۹/۶ ^D	۵۹/۸ ^D	۶۰/۴ ^D	۶۱/۶ ^a	TGP
<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	۰/۲۹	۵۸/۴ ^c	۶۴/۳ ^D	۶۴/۳ ^D	۶۴/۵ ^D	۶۵/۸ ^a	b
۰/۰۷	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۴۹ ^a	۰/۰۳۵ ^D	۰/۰۳۶ ^D	۰/۰۳۶ ^D	۰/۰۳۵ ^D	c

GP₁₆: مقدار گاز تولیدی پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر)، مقدار گاز تولیدی پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر)، GP₄₈: مقدار گاز تولیدی پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر)، GP₇₂: مقدار گاز تولیدی پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر)، TGP: کل گاز تولیدی پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر در ۲۵۰ میلی‌گرم)، b: پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر)، c: نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت)، SEM: اختلاف میانگین استاندارد

جدول ۳- فراسنجه‌های تخمیر و گوارش‌پذیری ماده آلی جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف لیکوپن
Table 3. Fermentation and digestibility parameters of organic matter in experimental diets containing different levels of lycopene

شاهد در مقابل لیکوپن	احتمال معنی‌داری			سطوح لیکوپن (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)					
	خطی	درجه دو	SEM	۲/۴	۱/۶	۰/۸	۰/۴	۰	
۰/۰۷	۰/۰۸	۰/۰۰۱	۰/۰۹۳	۵/۴۴ ^{cd}	۵/۱ ^d	۵/۰۱ ^b	۴/۹۳ ^b	۴/۹۱ ^b	PF
۰/۲۸	۰/۵۳	۰/۳۶	۱/۰۵	۶۶/۹	۶۶/۴	۶۷/۲	۶۶/۳	۶۵/۳	IVDMD
۰/۴۱	۰/۱۳	۰/۹۳	۱/۱۲	۶۴/۳	۶۵/۴	۶۶/۶	۶۵/۵	۶۴/۴	IVOMD
۰/۶۳	۰/۱۵	۰/۷۳	۰/۰۷۵	۳/۰۸	۲/۹۱	۲/۹	۳/۰۸	۳/۰۴	SCFA
۰/۰۴	۰/۱۳	۰/۰۰۱	۳/۷۶	۲۲ ^a	۲۰ ^{a,b}	۲۰ ^b	۲۰ ^b	۱۹ ^b	پروتئین میکروبی (میلی‌گرم)
۰/۶۳	۰/۱۵	۰/۷۳	۰/۰۳۳	۸/۲۷	۸/۲۲	۸/۲۲	۸/۲۷	۸/۲۶	ME
۰/۶۴	۰/۱۹	۰/۰۸	۰/۰۰۸	۶/۴۶	۶/۴۶	۶/۴۵	۶/۴۴	۶/۴۳	pH
۰/۰۰۲	۰/۵۴	۰/۰۰۲	۰/۰۲۸	۱۵/۳ ^b	۱۵/۳ ^b	۱۵/۴ ^a	۱۵/۵ ^a	۱۵/۵ ^a	نیترژن آمونیاکی (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)

PF: ضریب تفکیک (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، IVDMD: گوارش‌پذیری ماده خشک (درصد)، IVOMD: گوارش‌پذیری ماده آلی (درصد)، SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول)، ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)، SEM: اختلاف میانگین استاندارد

جدول ۴- فراسنجه‌های هضم‌پذیری جیره‌های حاوی سطوح مختلف لیکوپن با روش هضم دو مرحله‌ای
Table 4. Digestibility parameters of experimental diets containing different levels of lycopene by two-step digestion method

شاهد در مقابل لیکوپن	احتمال معنی‌داری			سطوح لیکوپن (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)					
	خطی	درجه دو	SEM	۲/۴	۱/۶	۰/۸	۰/۴	۰	
۰/۵	۰/۵۶	۰/۳۱	۰/۲۸	۸۵/۵	۸۵/۷	۸۵/۳	۸۵/۷	۸۵/۱	هضم‌پذیری ماده خشک (درصد)
۰/۴	۰/۸۴	۰/۱۶	۰/۴۳	۵۶/۷	۵۶/۶	۵۶/۷	۵۵/۸	۵۶/۱	هضم‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)
۰/۸۷	۰/۷	۰/۸۲	۰/۲۹	۴۸/۲	۴۸/۷	۴۸/۲	۴۸/۳	۴۸/۳	هضم‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)

SEM: اختلاف میانگین استاندارد

مرحله درون تنی

افزودن لیکوپن جیره تحت شرایط عادی قرار نگرفت (۲۵). افزایش مصرف خوراک می‌تواند به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی لیکوپن با کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از جیره‌های پرکنسانتره و همچنین تنش گرمایی در فصل انجام آزمایش (بین ماه‌های خرداد و تیر با میانگین دمای بالای ۳۶ درجه سانتی‌گراد) باشد. هر چند که دمای رکتوم در آزمایش حاضر اندازه‌گیری نشد اما گزارش شده است بره‌هایی که در معرض تنش گرمایی محیط قرار می‌گیرند، دارای دمای رکتوم بیش از ۴۰/۵ درجه سانتی‌گراد هستند که این خود منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود (۱۴) و در تشخیص تنش اکسیداتیو می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

نتایج آزمایش درون تنی مربوط به تاثیر مکمل لیکوپن بر ماده خشک مصرفی و قابلیت‌هضم مواد مغذی در جدول ۵ نشان داده شده است. هرچند تفاوت معنی‌داری بین ماده خشک مصرفی در ماه اول پرورار مشاهده نشد ولی با افزودن لیکوپن به جیره در ماه دوم مصرف خوراک افزایش یافت (p=۰/۰۵). با این وجود قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی تحت تاثیر مکمل لیکوپن قرار نگرفت. مشابه با آزمایش حاضر افزودن لیکوپن به خوراک بره‌های پروراری در یک دوره پرورار چهار ماهه، باعث افزایش ماده خشک مصرفی شد (۱۲). در مقابل، در خرگوش‌های نر نیوزلند، مصرف خوراک تحت تاثیر

جدول ۵- تاثیر مکمل حاوی لیکوپن بر میزان مصرف خوراک و قابلیت هضم مواد مغذی در بره‌های پروراری
Table 5. The effects of lycopene supplement on feed intake and nutrients digestibility in fattening lambs

احتمال معنی‌داری	SEM	لیکوپن	شاهد	
۰/۴۹	۲۲/۲	۱۵۸۳	۱۵۶۱	مصرف خوراک (گرم در روز)
۰/۰۵	۱۲/۳	۱۹۲۶	۱۸۸۹	روز یک تا ۳۰
				روز ۳۱ تا ۶۰
۰/۶۲	۱/۲	۷۳	۷۲/۲	قابلیت هضم ظاهری ماده خشک (%)
۰/۳۳	۰/۸۱	۷۵/۴	۷۴/۲	روز ۲۲ تا ۲۸
				روز ۵۰ تا ۵۷
۰/۶۴	۱/۲۳	۷۴	۷۳/۱	قابلیت هضم ظاهری ماده آلی (%)
۰/۷۳	۰/۷۷	۷۵/۹	۷۶/۳	روز ۲۲ تا ۲۸
				روز ۵۰ تا ۵۷
۰/۶۸	۱/۹۷	۶۴/۴	۶۵/۶	قابلیت هضم ظاهری NDF (%)
۰/۱۲	۱/۱۴	۷۰/۲	۶۷/۵	روز ۲۲ تا ۲۸
				روز ۵۰ تا ۵۷
۰/۵۵	۲/۷	۵۴/۲	۵۱/۸	قابلیت هضم ظاهری ADF (%)
۰/۱۸	۱/۹۲	۶۱/۶	۵۷/۸	روز ۲۲ تا ۲۸
				روز ۵۰ تا ۵۷

SEM: اختلاف میانگین استاندارد

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که افزودن لیکوپین به جیره بره‌پروراری باعث افزایش ضریب تفکیک، افزایش تولید پروتئین میکروبی و کاهش نیتروژن آمونیاکی شکمبه شد. لیکوپین هیچ‌گونه تاثیر منفی بر فراسنجه‌های تخمیر و گوارش‌پذیری ترکیبات مغذی جیره در شرایط برون‌تنی نداشت. افزودن لیکوپین به جیره نشخوارکنندگان ممکن است از طریق کاهش اتلاف نیتروژن به شکل آمونیاک و افزایش تولید پروتئین میکروبی اثرات مفیدی در تخمیر شکمبه‌ای داشته باشد. در آزمایش درون‌تنی

مکمل لیکوپین باعث افزایش مصرف خوراک شد ولی تاثیری بر گوارش‌پذیری مواد مغذی نداشت. برای روشن شدن نقش‌های خاص لیکوپین در اکوسیستم شکمبه پژوهش‌های تکمیلی ضروری است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه لرستان به‌خاطر همکاری و فراهم کردن زمینه پژوهش کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

1. Bagheri Varzaneh, M. 2018. Effect of *Scrophularia striata* extract on efficiency of degradation, concentration of phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activity in ruminal fluid using arumen simulation technique (RUSITEC). *Animal production*, 20(2): 269-281 (In Persian).
2. Blu, M. and E. Ørskov. 1993. Comparison of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Animal feed science and technology*, 40(2-3): 109-119.
3. Blümmel, M., H. Steingäß and K. Becker. 1997. The relationship between in vitro gas production, in vitro microbial biomass yield and 15 N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition*, 77(6): 911-921.
4. Broderick, G. and J. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of dairy science*, 63(1): 64-75.
5. Cattani, M., F. Tagliapietra, L. Bailoni and S. Schiavon. 2012. Synthetic and natural polyphenols with antioxidant properties stimulate rumen microbial growth in vitro. *Animal Production Science*, 52(1): 44-50.
6. Chauhan, S.S., P. Celi, E.N. Ponnampalam, B.J. Leury, F. Liu and F.R. Dunshea. 2014. Antioxidant dynamics in the live animal and implications for ruminant health and product (meat/milk) quality: role of vitamin E and selenium. *Animal Production Science*, 54(10): 1525-1536.
7. De Quirós, A.R.B. and H.S. Costa. 2006. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2-3): 97-111.
8. Fallah, R., A. Kiani, and M. Khaldari. 2021. Supplementing lycopene combined with corn improves circulating IgG concentration in pregnant ewes and their lambs. *Tropical Animal Health and Production*, 53(3): 1-9.
9. Getachew, G., H. Makkar and K. Becker. 2002. Tropical browses: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. *The Journal of Agricultural Science*, 139(3): 341-352.
10. Getachew, G., M. Blümmel, H. Makkar and K. Becker. 1998. In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 72(3-4): 261-281.
11. Hino, T., N. Andoh and H. Ohgi. 1993. Effects of β -carotene and α -tocopherol on rumen bacteria in the utilization of long-chain fatty acids and cellulose. *Journal of dairy science*, 76(2): 600-605.
12. Jiang, H., Z. Wang, Y. Ma, Y. Qu, X. Lu, H. Guo and H. Luo. 2015. Effect of dietary lycopene supplementation on growth performance, meat quality, fatty acid profile and meat lipid oxidation in lambs in summer conditions. *Small Ruminant Research*, 131: 99-106.
13. Kamra, D.N. 2005. Rumen microbial ecosystem. *Current science*: 124-135.
14. Marai, I., A. El-Darawany, A. Fadiel and M. Abdel-Hafez. 2007. Physiological traits as affected by heat stress in sheep, a review. *Small ruminant research*, 71(1-3): 1-12.
15. Marten, G. and R. Barnes. 1980. Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermentation and fungal enzyme systems [ruminants, domesticated birds]. in Proc. Workshop on Standardization of Analytical Methodology for Feeds, Ottawa (Canada), 12-14 Mar 1979. IDRC.
16. Menke, K.H. and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28: 7-55.
17. Mora, O., J.L. Romano, E. González, F.J. Ruiz and A. Shimada. 1999. In vitro and in situ disappearance of β -carotene and lutein from lucerne (*Medicago sativa*) hay in bovine and caprine ruminal fluids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(2): 273-276.
18. Naziroğlu, M., T. Güler and A. Yüce. 2002. Effect of vitamin E on ruminal fermentation in vitro. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 49(5): 251-255.

19. NRC. 2007. National Research Council, Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Washington (DC, USA): National Academy of Sciences.
20. Olivera, R.M.P. 1998. Use of in vitro gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fractions on the nutritive value of forages. A thesis to the University of Aberdeen, Scotland, in partial fulfillment of the degree of Master of Science in animal nutrition.
21. Ørskov, E. and I. McDonald. 1979 .The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. The Journal of Agricultural Science, 92(2): 499-503.
22. Przybylska, S. 2020. Lycopene—a bioactive carotenoid offering multiple health benefits: a review. International Journal of Food Science & Technology, 55(1): 11-32.
23. SAS. 2005. User's Guide: Statistics, Version. Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC
24. Tagliapietra, F., M. Cattani, H.H. Hansen, G. Bittante and S. Schiavon. 2013. High doses of vitamin E and vitamin C influence in vitro rumen microbial activity. Animal Feed Science and Technology, 183(3-4): 210-214.
25. Tedesco, D., S. Galletti, S. Rossetti and P. Morazzoni. 2005. Dietary tea catechins and lycopene: effects on meat lipid oxidation. Indicators of milk and beef quality. EAAP Publ, 112: 437-442.
26. Theodorou, M.K., B.A. Williams, M.S. Dhanoa, A.B. McAllan, and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal feed science and technology, 48(3-4): 185-197.
27. Tilley, J. and R. Terry. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. Grass and forage science, 18(2): 104-111.
28. Vázquez-Añón, M. and T. Jenkins. 2007. Effects of feeding oxidized fat with or without dietary antioxidants on nutrient digestibility, microbial nitrogen, and fatty acid metabolism. Journal of Dairy Science, 90(9): 4361-4367.
29. Xu CH., H. Lui, H. Jiang, Y. Qu and Y. Qu. 2017. Effect of dietary lycopene on rumen fermentation parameters. International Tropical Agriculture Conference, 102.
30. Xu, C., Y. Qu, D. L. Hopkins, C. Liu, B. Wang, Y. Gao, and H. Luo. 2018. Dietary lycopene powder improves meat oxidative stability in Hu lamb. Journal of the Science of Food and Agriculture.
31. Yan, H., L. Sun and G. Zhao. 2007. Effect of β -carotene on selected indices of in vitro rumen fermentation in goats. Journal of Animal and Feed Sciences, 16(2): 581-585.

The Effect of Lycopene Supplementation on Fermentation Parameters, Nutrient Digestibility and Feed Intake of Fattening Lamb Diet *In Vitro* and *In Vivo*

Zahra Aminifard¹, Ali Kiani² and Arash Azarfar³

1- Ph.D. Student in Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

2- Associate Professor Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran, (Corresponding author: asglu86@gmail.com)

3- Professor Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

Received: 16 November, 2021 Accepted: 2 January, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Lycopene ($C_{40}H_{56}$) is a fat-soluble carotenoid with the highest antioxidant activity among carotenoids. Lycopene is effective on alleviating oxidative stress and improving the quality of animal products. It is expected that the addition of strong antioxidants such as lycopene can be useful in improving the optimal condition of the rumen and subsequent digestion and animal health. In this study the effects of using different levels of lycopene in on fermentation parameters *in vitro*; digestibility and feed intake of fattening lambs had been investigated.

Material and Methods: In this study, in first stage, the digestibility and fermentation parameters of diets containing 0 (control), 0.4, 0.8, 1.6 and 2.4 mg/g DM of lycopene were determined *in vitro* in a completely randomized design experiment. In Second stage, the effect of selected diets from the *in vitro* stage (diet with and without 2.4 g/kg lycopene supplement DM) on feed intake and nutrient digestibility was investigated *in vivo* using 20 male lambs.

Results: The results showed that increasing level of lycopene in the diet caused a linear decrease in gas production ($p < 0.05$). Total gas productions were 65.8, 64.5, 64.2, 64.2 and 58.4 ml fin and control, 0.4, 0.8, 1.6 and 2.4 mg/g DM lycopene respectively. Adding lycopene to the diet increased partitioning factor (4.91, 4.92, 5.01, 5.1 and 5.44 mg/ml) and microbial protein synthesis (198, 200, 203, 208 and 220 mg) ($p < 0.05$) but decreased ammonia nitrogen ($p < 0.05$). However, pH, short-chain fatty acids metabolizable energy, dry matter and organic matter disappearance were not affected by lycopene. Results from Tilley and Terry experiment showed that lycopene had no significant effect on digestibility of dry matter, neutral detergent and acid detergents fiber. *In vivo* results showed that lycopene supplementation increased feed intake with no effect of nutrient digestibility in fattening lambs.

Conclusion: Lycopene supplementation increased partitioning factor, production of microbial protein *in vitro*, and increased feed intake of fattening lambs *in vivo*.

Keywords: Antioxidant, Feed intake, Gas production, Microbial protein, Partitioning factor