

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گیلان

دانشکده علوم دامی

رساله جهت اخذ درجه دکتری تخصصی در رشته
تغذیه دام

**تأثیر منابع مختلف روغن گیاهی بر عملکرد، غنی‌سازی گوشت توسط اسیدهای
چرب امگا-۳ و بیان ژن *Delta-6-Desaturase* در جوجه‌های گوشتی**

پژوهش و نگارش:

رضا میرشکار

استاد راهنما:

دکتر فتح‌اله بلداجی

اساتید مشاور:

دکتر بهروز دستار

دکتر احد یامچی

بهار ۱۳۹۳

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه‌های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود؛ بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

- ۱- قبل از چاپ پایان نامه خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.
- ۲- قبل از چاپ پایان نامه در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.
- ۳- انتشار نتایج پایان نامه باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب رضا میرشکار دانشجوی رشته تغذیه دام مقطع دکتری تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی و امضاء

تقدیم بہ

ہمسفر مہربان

و

دختر دلنڈم

شکر و قدردانی

باجه و ستایش خداوند تعالی که توفیق انجام این خدمت علمی را به من کرامت فرمود، بر خود واجب می‌دانم که از راهنمایی‌های ارزشمند استاد دانشمند جناب آقای دکتر فتح‌الله بلداجی در طول دوره تحصیل و اجرای این تحقیق شکر و قدردانی نمایم. همچنین از اساتید محترم جناب آقای دکتر بهروز دستار و جناب آقای دکتر احدی‌ماچی که مشاوره این تحقیق را قبل فرمودند، صمیمانه سپاسگزارم. از اساتید بزرگوار جناب آقای دکتر منصور رضایی، سرکار خانم دکتر سیده ساناز رمضانپور، جناب آقای دکتر نورمحمد تربتی نژاد و جناب آقای دکتر محمود شمس شرق که با دوری‌های ارزنده‌شان سهم شایان توجیحی در بهبود کیفی این رساله داشتند کمال شکر را دارم. همچنین از ناینده محترم تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر محمد قربانی جهت کلیه زحماتی که پیرامون به‌تمرریدن این رساله متقبل شدند، شکر می‌نمایم.

شایسته است مراتب شکر خویش را از جناب آقای مسلمی عقیلی، مدیریت محترم شرکت مرغ کوشی تشنی که امکان انجام آزمایشات مزرعه‌ای این تحقیق را فراهم آوردند، بیان نمایم. همچنین از ریاست محترم دانشگاه خوارزمی و معاونت محترم غذا و دارو جهت مساعدت ایشان در انجام این رساله قدردانی می‌نمایم.

در ادامه، بر خود لازم می‌دانم از پدر و مادرم که سبب ایثار و عطفوت برایم بودند، شکر نمایم. بی‌شک آن‌چه که بر خاک وجودم روئیده، حاصل محبت‌های بی‌دیغ این عزیزان است. از برادران مهربانم، که باهدلی و بهمراشان مراتب این وادی یاری نمودند، شکر می‌نمایم. از به‌سفر مهربان زندگیم که در تمام مراحل این رساله، بخطبه بخطه دکنارم بود، صمیمانه شکر می‌نمایم.

چکیده

این پژوهش به منظور تعیین تاثیر منابع مختلف روغن گیاهی بر عملکرد، غنی‌سازی گوشت توسط اسیدهای چرب امگا-۳ و بیان ژن FADS2 در کبد جوجه‌های گوشتی در قالب دو آزمایش انجام شد. در آزمایش اول اثر نوع روغن جیره (سویا، کتان، کانولا، ذرت و آفتابگردان) بر عملکرد، الگوی اسیدهای چرب گوشت سینه و ران و بیان ژن FADS2 در کبد جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت. استفاده از منابع مختلف روغن گیاهی تاثیر معنی‌داری بر افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، نسبت راندمان انرژی و پروتئین و ترکیب لاشه نداشت، ولی استفاده از روغن کتان منجر به افزایش مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی شد ($P < 0/05$). روغن کتان باعث افزایش مقدار اسیدهای چرب غیراشباع، اسیدهای چرب غیراشباع دارای چند پیوند دوگانه، اسیدهای چرب امگا-۳ و افزایش نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب غیراشباع دارای چند پیوند دوگانه به اسیدهای چرب اشباع و کاهش نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ در گوشت سینه جوجه‌های گوشتی شد ($P < 0/05$) درحالی‌که افزودن روغن ذرت به جیره جوجه‌های گوشتی، نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ در گوشت سینه را بطور معنی‌داری افزایش داد ($P < 0/05$). در این آزمایش اسیدهای چرب امگا-۳ بیشترین مقدار را در گوشت سینه جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با تیمار حاوی روغن کتان و کمترین مقدار را در گوشت سینه جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌ی حاوی روغن ذرت داشت ($P < 0/05$). بیشترین مقدار اسید چرب C18:۳ به ترتیب در گوشت سینه جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی روغن‌های کتان، کانولا، سویا، آفتابگردان و ذرت مشاهده شد ($P < 0/05$). افزودن روغن کتان به جیره سبب افزایش معنی‌دار اسید چرب C20:5 در گوشت سینه جوجه‌های گوشتی گردید. بیشترین مقدار اسیدهای چرب امگا-۳ به ترتیب در گوشت سینه جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی روغن‌های کتان، کانولا، سویا، آفتابگردان و ذرت مشاهده شد. افزودن روغن کتان به جیره جوجه‌های گوشتی باعث افزایش معنی‌دار اسیدهای چرب C18:۳، C20:5، اسیدهای چرب غیراشباع، اسیدهای چرب غیراشباع دارای چند پیوند دوگانه و اسیدهای چرب امگا-۳ در گوشت ران جوجه‌های گوشتی شد ($P < 0/05$). بیشترین و کمترین مقدار اسیدهای چرب امگا-۶ در گوشت ران جوجه‌های گوشتی به ترتیب در اثر مصرف تیمارهای حاوی روغن‌های ذرت و کانولا ایجاد شد ($P < 0/05$). استفاده از روغن‌های آفتابگردان و کتان در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن FADS2 در کبد جوجه‌های گوشتی شد. درحالی‌که استفاده از روغن کانولا منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن مورد نظر در مقایسه با روغن سویا شد ($P < 0/05$).

روغن‌های سویا و ذرت تاثیر یکسانی بر بیان ژن FADS2 در کبد جوجه‌های گوشتی داشتند و از طرف دیگر روغن‌های کانولا و ذرت نیز اثر مشابهی بر بیان ژن مذکور داشتند. در آزمایش دوم اثر طول مدت مصرف روغن کتان بر عملکرد، الگوی اسیدهای چرب گوشت ران و سینه و بیان ژن FADS2 در کبد جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت. افزایش طول مدت مصرف روغن کتان در جیره جوجه‌های گوشتی تاثیر معنی‌داری بر افزایش وزن جوجه‌های گوشتی نداشت، ولی مصرف خوراک را افزایش داد ($P < 0/05$). ضریب تبدیل غذایی و نسبت راندمان انرژی و پروتئین تحت تاثیر طول مدت مصرف روغن کتان قرار نگرفت. با افزایش طول مدت مصرف روغن کتان در جیره جوجه‌های گوشتی وزن نسبی سینه افزایش و وزن نسبی لاشه و چربی بطنی، کاهش یافت ($P < 0/05$). نتایج این آزمایش نشان داد با مصرف طولانی‌تر روغن کتان، مقدار اسیدهای چرب امگا-۳ در گوشت سینه جوجه‌های گوشتی افزایش می‌یابد و متعاقب این افزایش، نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ در گوشت سینه جوجه‌های گوشتی افزایش می‌یابد. مصرف روغن کتان حداقل برای مدت ۱۴ روز قبل از کشتار باعث افزایش معنی‌دار مقدار اسید چرب C۲۰:۵ در گوشت سینه جوجه‌های گوشتی شد ($P < 0/05$). با مصرف طولانی‌تر روغن کتان، مقدار ذخیره‌سازی اسیدهای چرب امگا-۳ در گوشت سینه جوجه‌های گوشتی بطور معنی‌داری افزایش و نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ در گوشت سینه پرندگان بطور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). با افزایش مدت مصرف روغن کتان در جیره جوجه‌های گوشتی، مقدار اسیدهای چرب C۱۸:۳، C۲۰:۵ در گوشت ران جوجه‌های گوشتی افزایش یافت ($P < 0/05$). همچنین با افزایش مقدار اسیدهای چرب امگا-۳ در گوشت ران، نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ نیز کاهش یافت ($P < 0/05$). آنالیز رگرسیون نشان داد که به ازای هر روز مصرف روغن کتان، مقدار ۰/۰۹۴۴ گرم اسید چرب امگا-۳ در گوشت ران و ۰/۰۷۵۵ گرم اسید چرب امگا-۳ در گوشت سینه جوجه‌های گوشتی ذخیره می‌شود. هرچه طول مدت مصرف روغن کتان در جیره کوتاه‌تر باشد، بیان ژن FADS2 افزایش خواهد یافت.

کلمات کلیدی: روغن گیاهی، غنی‌سازی با اسیدهای چرب امگا-۳، ژن FADS2، عملکرد، جوجه گوشتی.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۱-۱- کلیات.....	۱
۲-۱- اهداف تحقیق.....	۵
۱-۲- تعریف چربی.....	۸
۲-۲- وظایف چربی‌ها.....	۸
۳-۲- ساخت اسیدهای چرب.....	۹
۴-۲- چربی در جیره‌های طیور.....	۱۰
۵-۲- اهمیت چربی جیره برای طیور.....	۱۱
۶-۲- مزایای افزودن چربی به جیره.....	۱۱
۱-۶-۲- اسیدهای چرب ضروری.....	۱۱
۲-۶-۲- ریزمغذی‌ها.....	۱۲
۷-۲- اهمیت نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اسیدهای چرب اشباع در چربی جیره.....	۱۲
۸-۲- مقدار اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳ در گوشت مرغ.....	۱۳
۹-۲- مسیر بیوسنتز اسیدهای چرب غیراشباع.....	۱۴
۱۰-۲- تاثیر نوع روغن جیره بر عملکرد جوجه‌های گوشتی.....	۱۴
۱۱-۲- غنی‌سازی گوشت جوجه‌های گوشتی با اسیدهای چرب امگا-۳.....	۱۵
۱۲-۲- تغذیه و بیان ژن (نوتریژنومیکس).....	۱۶
۱۳-۲- آنزیم دلتا-۶-دسچوراز.....	۱۷
۱-۳- زمان و محل انجام آزمایش.....	۲۰
۲-۳- آماده‌سازی سالن.....	۲۰
۳-۳- مدیریت پرورش و تغذیه.....	۲۰
۴-۳- جوجه‌های گوشتی مورد آزمایش.....	۲۲
۵-۳- ترکیب اجزای جیره.....	۲۲

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

۶-۳	آزمایش اول: تعیین اثر نوع روغن جیره (سویا، کتان، کانولا، ذرت و آفتابگردان) بر عملکرد،
۲۶	الگوی اسیدهای چرب گوشت و بیان ژن دلتا-۶-دسچوراز در کبد جوجه‌های گوشتی.....
۷-۳	آزمایش دوم: تعیین اثر طول مدت مصرف روغن کتان بر عملکرد، الگوی اسیدهای چرب
۲۷	گوشت و بیان ژن دلتا-۶-دسچوراز در کبد جوجه‌های گوشتی.....
۸-۳	فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده در رابطه با عملکرد رشد برای آزمایش اول و دوم.....
۲۸	۱-۸-۳ افزایش وزن.....
۲۸	۲-۸-۳ خوراک مصرفی.....
۲۸	۳-۸-۳ ضریب تبدیل غذایی.....
۲۹	۴-۸-۳ نسبت راندمان انرژی.....
۲۹	۵-۸-۳ نسبت راندمان پروتئین.....
۲۹	۹-۳ ترکیب لاشه.....
۱۰-۳	آزمایشات مربوط به تعیین الگوی اسیدهای چرب گوشت، جیره‌های آزمایشی و
۳۰	روغن‌های مورد استفاده.....
۳۱	۱۱-۳ آزمایشات بیان ژن.....
۳۱	۱-۱۱-۳ استخراج RNA.....
۳۲	۲-۱۱-۳ تعیین کیفیت و کمیت RNA.....
۳۳	۳-۱۱-۳ تیمار DNase I.....
۳۳	۴-۱۱-۳ ساخت رشته اول cDNA.....
۳۴	۵-۱۱-۳ واکنش q-RT-PCR.....
۳۵	۱۲-۳ روش آماری، تجزیه، تحلیل و شیوه نمونه‌برداری.....
۳۸	۱-۴-۱ آزمایش اول.....
۳۸	۱-۴-۱-۱ افزایش وزن.....
۴۰	۲-۴-۱-۲ مصرف خوراک.....

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۴۲	۴-۱-۳- ضریب تبدیل غذایی.....
۴۳	۴-۱-۴- نسبت راندمان انرژی و پروتئین.....
۴۶	۴-۱-۵- ترکیب لاشه.....
۴۸	۴-۱-۶- الگوی اسیدهای چرب گوشت سینه جوجه‌های گوشتی.....
۵۱	۴-۱-۷- مقدار و ترکیب اسیدهای چرب گوشت سینه و ران جوجه‌های گوشتی.....
۵۵	۴-۱-۸- تاثیر منبع روغن جیره بر بیان ژن FADS2 در کبد جوجه‌های گوشتی.....
۵۸	۴-۲-۱- آزمایش دوم.....
۵۸	۴-۲-۱- افزایش وزن.....
۶۰	۴-۲-۲- مصرف خوراک.....
۶۱	۴-۲-۳- ضریب تبدیل غذایی.....
۶۳	۴-۲-۴- نسبت راندمان انرژی و پروتئین.....
۶۵	۴-۲-۵- ترکیب لاشه.....
۶۹	۴-۲-۶- مقدار و ترکیب اسیدهای چرب گوشت سینه و ران.....
۷۵	۴-۲-۷- تاثیر طول مدت مصرف روغن کتان بر بیان ژن FADS2 در کبد جوجه‌های گوشتی..
۷۷	۴-۳- نتیجه‌گیری.....
۷۸	۴-۴- پیشنهادها.....
۸۰	فهرست منابع.....

فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
جدول ۳-۱- برنامه واکسیناسیون جوجه‌ها در دوره پرورش	۲۱
جدول ۳-۲- ترکیب جیره (درصد)	۲۳
جدول ۳-۳- الگوی اسیدهای چرب جیره‌های آزمایشی (درصد از کل اسیدهای چرب)	۲۴
جدول ۳-۴- الگوی اسیدهای چرب روغن‌های مورد استفاده (گرم در هر ۱۰۰ گرم استر متیلی اسید چرب)	۲۵
جدول ۳-۵- مشخصات و توالی آغازگرهای مورد بررسی	۳۵
جدول ۴-۱- تاثیر نوع روغن جیره بر افزایش وزن جوجه‌های گوشتی (گرم)	۳۹
جدول ۴-۲- تاثیر نوع روغن جیره بر مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی (گرم)	۴۱
جدول ۴-۳- تاثیر نوع روغن جیره بر ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی (گرم/گرم)	۴۳
جدول ۴-۴- تاثیر نوع روغن جیره بر نسبت راندمان انرژی جوجه‌های گوشتی (گرم/کیلوکالری)	۴۵
جدول ۴-۵- تاثیر نوع روغن جیره بر نسبت راندمان پروتئین جوجه‌های گوشتی (گرم/گرم)	۴۵
جدول ۴-۶- تاثیر نوع روغن جیره بر ترکیب لاشه جوجه‌های گوشتی (گرم)	۴۷
جدول ۴-۷- تاثیر نوع روغن جیره بر ترکیب لاشه جوجه‌های گوشتی (درصد از وزن زنده)	۴۷
جدول ۴-۸- تاثیر نوع روغن جیره بر الگوی اسیدهای چرب سینه جوجه‌های گوشتی (درصد) ..	۵۰
جدول ۴-۹- تاثیر نوع روغن جیره بر الگوی اسیدهای چرب گوشت ران جوجه‌های گوشتی (درصد)	۵۲
جدول ۴-۱۰- تاثیر طول مدت مصرف روغن کتان بر افزایش وزن جوجه‌های گوشتی (گرم)	۵۹
جدول ۴-۱۱- تاثیر طول مدت مصرف روغن کتان بر مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی (گرم) ...	۶۱
جدول ۴-۱۲- تاثیر طول مدت مصرف روغن کتان بر ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی (گرم/گرم)	۶۲
جدول ۴-۱۳- تاثیر طول مدت مصرف روغن کتان بر نسبت راندمان انرژی جوجه‌های گوشتی (گرم/کیلوکالری)	۶۴

فهرست جدول‌ها

صفحه

عنوان

جدول ۴-۱۴- تاثیر طول مدت مصرف روغن کتان بر نسبت راندمان پروتئین جوجه‌های گوشتی (گرم/گرم).....	۶۴
جدول ۴-۱۵- تاثیر طول مدت مصرف روغن کتان بر ترکیب لاشه جوجه‌های گوشتی (گرم).....	۶۸
جدول ۴-۱۶- تاثیر طول مدت مصرف روغن کتان بر ترکیب لاشه جوجه‌های گوشتی (درصد از وزن زنده).....	۶۸
جدول ۴-۱۷- تاثیر طول مدت مصرف روغن کتان بر الگوی اسیدهای چرب گوشت سینه جوجه‌های گوشتی (میلی‌گرم/گرم).....	۷۱
جدول ۴-۱۸- تاثیر طول مدت مصرف روغن کتان بر مقدار اسیدهای چرب ران جوجه‌های گوشتی (میلی‌گرم/گرم).....	۷۴

فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
۵۷	شکل ۴-۱- تاثیر منبع روغن جیره بر بیان ژن FADS2 در کبد جوجه‌های گوشتی
	شکل ۴-۲- مدت زمان مورد نیاز برای غنی‌سازی گوشت ران و سینه جوجه‌های گوشتی با
۷۵	اسیدهای چرب امگا-۳
	شکل ۴-۳- تاثیر طول مدت مصرف روغن کتان در جیره جوجه‌های گوشتی بر بیان ژن
۷۶	FADS2 در کبد

فصل اول

مقدمه

۱-۱- کلیات

با توجه به تاریخچه مصرف گوشت به عنوان یک ماده غذایی، مصرف کنندگان گوشت معمولاً از آن تنها به عنوان یک منبع پروتئینی استفاده می‌کردند. ولی با گذشت زمان، شاخص‌هایی از قبیل ارزش غذایی، کیفیت و طول مدت زمان نگهداری گوشت نیز مورد توجه مصرف‌کنندگان قرار گرفته است. بطوریکه امروزه مصرف‌کنندگان گوشت، انتظار دارند علاوه بر موارد ذکر شده، گوشت باید در حفظ سلامت آن‌ها نیز نقش کلیدی داشته باشد. از مهمترین مسائلی که امروزه تولیدکنندگان و صنعت گوشت با آن روبرو می‌باشند آن است که گوشت‌های تولیدی نه تنها دارای کیفیت بالایی باشند بلکه عاری از هرگونه خطری که سلامت مصرف‌کنندگان را تهدید کند، باشد (لین و همکاران، ۲۰۰۳).

اخیراً مصرف‌کنندگان توجه زیادی به نقش گوشت در جلوگیری از بروز بیماری از طریق تغییر سیستم‌های فیزیولوژیکی دارند (دنتالی، ۲۰۰۲) که زمینه نوینی از کاربردهای مواد غذایی را شامل می‌شود. در این راستا، بخش فرآوری گوشت تلاش می‌کند بازار جدیدی را برای تامین خواسته‌های مصرف‌کنندگان از طریق کاهش مقدار چربی گوشت، تغییر در ترکیب اسیدهای چرب، وارد کردن مواد مغذی خاص به گوشت، کاهش محتوای انرژی، نیتريت‌ها و کلسترول گوشت (خیمنز-کولمنرو و همکاران، ۲۰۰۱)، ایجاد کند.

اگرچه اسیدهای چرب ضروری برای رشد و تولید مثل طبیعی حیوانات ضروری هستند ولی هیچگاه به عنوان یک مشکل اساسی در تغذیه دام مطرح نبوده‌اند. به لحاظ افزایش توجه به اسیدهای چرب ضروری در تغذیه و سلامت انسان و امکان افزایش این ترکیبات در غذای انسان از طریق خوراندن اسیدهای چرب ضروری به حیوانات، این موضوع در تغذیه دام بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ جزء اسیدهای چرب ضروری بوده و با توجه به تعداد پیوند دوگانه و آخرین کربن متیل که اصطلاحاً امگا نامیده می‌شود، نامگذاری می‌شوند (شائفر، ۲۰۰۲). اسیدهای چرب ضروری که از نظر تغذیه اهمیت دارند شامل اسید لینولئیک^۱ (۶-n-۲:۱۸ C) و اسید آلفالینولئیک^۲ (۳-n-۳:۱۸ C) می‌باشند که به ترتیب پیش‌ساز اسیدهای چرب امگا-۶ و امگا-۳ هستند. اسید لینولئیک و اسید آلفالینولئیک می‌توانند در بدن به اسید آراشیدونیک^۳ (۶-n-۴:۲۰ C)، اسید

¹ Linoleic Acid

² Alpha Linolenic Acid

³ Arachidonic Acid