نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۵، زمستان ۱۳۹۸
ص‌ص: ۲۹~۴۰

بررسی اثر میوه بلوط و جنس بر چربی محوطه شکمی و بیان ژن لیپاز پانکراس در جوجه‌های گوشتی

- **اسما مرادعلی‌پور** (نویسنده مسئول)
دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج.
- **مصطفی محقق دولت‌آبادی**
دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج.
- **محمد هوشمند**
دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج.

تاریخ دریافت : مهر ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش : آذر ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۷۵۴۰۰۱۲۸
Email: moradalipoor.a70@gmail.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.123585.1784

چکیده

این پژوهش با هدف ارزیابی بیان ژن لیپاز پانکراس و ذخیره‌سازی چربی شکمی در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سطوح مختلف میوه بلوط انجام شد. تعداد ۲٦٤ قطعه جوجه یک‌روزه از دو جنس نر و ماده سویه کاب ۵۰۰ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به ۳ گروه آزمایشی هر یک با ٤ تکرار (هر یک شامل ۲۲ قطعه جوجه) اختصاص یافتند. در تیمار اول (شاهد)، جوجه‌ها با جیره بر پایه ذرت (بدون استفاده از بلوط) تغذیه شدند درحالی‌که در تیمارهای دوم و سوم، جیره‌های مصرفی به ترتیب حاوی ۱۵ و ۲۰ درصد میوه بلوط بود. به‌منظور تعیین اثر تیمارها بر میزان بیان ژن لیپاز، در سن ۲۱ و ٤۲ روزگی از هر تیمار ٦ قطعه جوجه کشتار گردید و از بافت پانکراس آن‌ها نمونه‌گیری شد. داده‌های بیان ژن با استفاده از نرم‌افزارهای SAS و REST آنالیز گردید. نتایج نشان داد در سن ۲۱ روزگی بیان ژن لیپاز پانکراس در تیمارهای ۱۵ و ۲۰ درصد بلوط، بالاتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵) اما در سن ٤۲ روزگی تفاوت معنی‌داری در بیان ژن لیپاز مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بیان ژن لیپاز پانکراس تحت تأثیر معنی‌دار جنس جوجه‌ها قرار نگرفت (P>۰/۰۵). در سن ٤۲ روزگی وزن نسبی چربی شکمی در هر دو تیمار بلوط به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵) و میزان آن در جنس ماده نسبت به نر بیشتر بود (P<۰/۰۵). به‌طورکلی نتایج نشان داد مصرف جیره‌های حاوی ۱۵ و ۲۰ درصد میوه بلوط در سن ۲۱ روزگی بیان ژن لیپاز پانکراس را افزایش داده اما در سن ٤۲ روزگی، اثری بر بیان این ژن نداشت. تغذیه جوجه‌ها با میوه بلوط وزن چربی شکمی را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: بلوط، بیان ژن، جوجه گوشتی کاب، چربی محوطه شکمی، لیپاز

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 125 pp: 29-40

The effect of oak acorn and sex on abdominal fat and gene expression of pancreatic lipase in broilers

By: A. Moradalipour[1*], M. Muhaghegh-Dolatabady[2], M. Houshmand[3]
1. M.Sc Graduated of Genetics and Animal Breeding, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Science, University of Yasouj.
2. Associate professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science, University of Yasouj.

Received: October 2018 **Accepted: December 2018**

This study was conducted to investigate the expression of pancreatic lipase gene and abdominal fat deposition in broilers fed with different levels of oak acorn (OA). A total of 264 one-day old Cobb 500 male and female chicks in a completely randomized design were assigned to 3 experimental groups with 4 replicates (22 birds/replicate). In the first treatment (as the control), the chicks were fed corn-based diets (without OA), while in the second and third treatments, experimental diets contained 15 or 20% OA, respectively. In order to determine the effect of treatments on lipase gene expression at the age of 21 and 42 days, 6 birds from each treatment were slaughtered and pancreatic samples were taken. Gene expression data were analyzed using SAS and REST software's. The results showed that the expression of the pancreatic lipase gene was significantly higher in 15 and 20% OA treatments than the control group ($P<0.05$) on day 21, but significant difference in expression of lipase gene was not observed on day 42 ($P>0.05$). Pancreatic lipase gene expression was significantly not influenced by bird's sex ($P>0.05$). At 42 days of age, the relative weight of abdominal fat significantly increased in both OA treatments and its amount was higher in female chicks than the males ($P<0.05$). In conclusion, the current results indicated that consumption of diets containing 15 and 20% OA increased expression of pancreatic lipase gene on 21 days of age but it had no effect on gene expression at 42 days of age. Feeding birds with OA increased abdominal fat weight.

Key words: Abdominal fat, Broiler, Gene expression, Lipase, Oak acorn.

مقدمه

انتخاب ژنتیکی مداوم در جوجه‌های گوشتی اگرچه موجب بهبود صفات تولیدی مانند افزایش وزن بدن و راندمان تبدیل خوراک شده است اما نتایج نامطلوبی مانند افزایش ذخیره‌سازی چربی (عمدتاً چربی شکمی)، مشکلات پا و بیماری‌های متابولیک مانند آسیت و سندرم مرگ ناگهانی را به دنبال داشته است. رسوب زیاد چربی یک صفت نامطلوب برای تولیدکننده و مصرف‌کننده است چراکه از طرفی باعث اتلاف انرژی خوراک مصرفی شده و از طرف دیگر، یک فرآورده باارزش اقتصادی کم تولید می‌شود که باعث کاهش بازدهی لاشه و کاهش بازارپسندی محصول می‌شود (Emmerson, 1997). میزان چربی بدن به عوامل ژنتیکی و تغذیه‌ای وابسته است. ازاین‌رو ترکیب غذا و استراتژی‌های تغذیه‌ای می‌تواند راه‌حل عملی و کارآمد برای کاهش میزان چربی بدن در نژادهای جدید ارائه دهد. عوامل تغذیه‌ای می‌توانند با کاهش سنتز اسید چرب در کبد، سرکوب ترشح لیپاز پانکراس (کاهش جذب چربی)، افزایش بتا اکسیداسیون (کاهش سنتز) اسید چرب در عضلات، مهار فعالیت لیپوپروتئین لیپاز و یا از طریق افزایش فعالیت لیپاز حساس به هورمون، موجب کاهش اندازه و یا کاهش تعداد سلول‌های چربی شکمی شوند (Fouad and El-Senousey, 2014). در این میان ترکیبات آروماتیک با کاهش بیان آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم چربی‌ها، موجب کاهش چربی

می‌شوند (Lee و همکاران، ۲۰۰۹). ترکیبات فنلی از یک حلقه بنزنی و یک یا چند گروه هیدروکسیل تشکیل‌شده‌اند و الکترون دهنده قوی می‌باشند، بنابراین از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد و خنثی کردن آن‌ها موجب مهار واکنش‌های اکسیداسیون چربی می‌شوند (Manach و همکاران، ۲۰۰۴). از طرفی پلی‌فنول‌ها می‌توانند از طریق تعامل با چربی‌های منابع غذایی، جذب چربی‌ها را مختل کنند (Uchiyama و همکاران، ۲۰۱۱) و با تشکیل کمپلکس‌های نامحلول با پروتئین‌ها در دستگاه گوارش، موجب مهار آنزیم‌های پانکراس مانند آلفاگلوکوزیداز و لیپاز (You و همکاران، ۲۰۱۱) شوند. آنزیم لیپاز ترشح شده از پانکراس یک آنزیم کلیدی مرتبط با هضم و جذب تری‌گلیسریدهای غذایی می‌باشد که هیدرولیز ۵۰ تا ۷۰ درصد کل چربی‌های خوراک را انجام می‌دهد. کاهش جذب چربی از طریق مهار لیپاز پانکراس به عنوان یک راهکار مفید برای کاهش چربی شکمی شناخته شده است (Ahn و همکاران، ۲۰۱۲). ترکیبات طبیعی مانند پلی‌فنول‌ها، تانن‌ها، الاجی تانن‌ها و برخی از فلاونوئیدها در گیاهان وجود دارند که مصرف آن‌ها موجب مهار لیپاز پانکراس شده (Oliveira و همکاران، ۲۰۱۵) و بر هضم چربی و مصرف انرژی تأثیر می‌گذارند، بنابراین استفاده از ترکیبات فیتوژنیک (افزودنی‌های خوراکی با منشاء گیاهی)، راهکار مناسبی برای کاهش چربی شکمی خواهد بود. Uchiyama و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که پلی‌فنول‌های چای سیاه موجب مهار فعالیت آنزیم لیپاز، مهار جذب چربی در روده و سرکوب افزایش سطح تری‌گلیسرید در پلاسمای موش شد. افزودن پودر چای سبز نیز که حاوی مقادیر بالایی از پلی‌فنل‌ها است به میزان ۰/۵ درصد در جیره جوجه‌های گوشتی، با مهار لیپوژنز کبدی، چربی شکمی را به‌طور قابل‌توجهی کاهش داد (Biswas and Wakita, 2001).

میوه بلوط که برخی از گزارش‌ها نشان دهنده امکان استفاده از آن در جیره جوجه‌های گوشتی به عنوان جایگزین بخشی از ذرت جیره می‌باشد (Bojarpour و همکاران، ۲۰۱۰)، حاوی ترکیبات فنلی مانند اسید گالیک (Correia و همکاران، ۲۰۰۹) و مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیر اشباع (Bouderoua و همکاران، ۲۰۰۹) مثل اسید اولئیک و اسید لینولئیک می‌باشد (Khodadoust و همکاران، ۲۰۱۴) که می‌توانند نقش موثری در کاهش چربی شکمی داشته باشند. از آنجا که در مورد اثر میوه بلوط بر بیان ژن لیپاز پانکراس، اطلاعات و گزارشی یافت نشد، ازاین‌رو هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر سطوح مختلف میوه بلوط بر وزن چربی شکمی و بیان ژن لیپاز پانکراس جوجه‌های گوشتی نر و ماده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

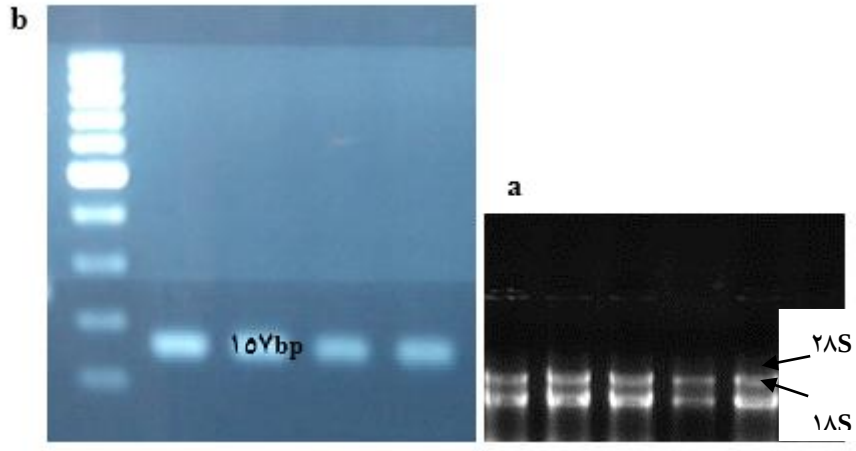
در این تحقیق تعداد ۲۶۴ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه کاب ۵۰۰ در ۳ گروه آزمایشی (تیمار) با ۴ تکرار و هر تکرار (واحد آزمایشی) شامل ۲۲ قطعه جوجه (۱۱ قطعه نر و ۱۱ قطعه ماده) در قالب یک طرح کاملاً تصادفی بین واحدهای آزمایشی توزیع شدند. جیره‌های آزمایشی بر پایه ذرت وسویا با استفاده از نرم‌افزار UFFDA و بر اساس توصیه انجمن ملی تحقیقات NRC (۱۹۹۴) تنظیم گردیدند. میزان فنل کل، تانن کل، تانن قابل هیدرولیز و تانن متراکم موجود در میوه بلوط مورد استفاده در این پژوهش به ترتیب ۸، ۶/۰۸، ۰/۸۴ و ۵/۲۴ درصد ماده خشک بود (Nedaei و همکاران، ۲۰۱۷). جوجه‌ها از سن ۱ تا ۲۱ روزگی با جیره آغازین و از ۲۲ تا ۴۲ روزگی با جیره پایانی تغذیه شدند. در پایان دوره آغازین و پایانی پرورش (بترتیب سن ۲۱ و ۴۲ روزگی)، از هر تیمار آزمایشی ۶ قطعه جوجه (۳ قطعه نر، ۳ قطعه ماده) انتخاب وکشتار شدند. پس از کشتار، از بافت پانکراس نمونه‌گیری به عمل آمده و نمونه‌ها پس از شست و شو با محلول نمکی بافر فسفات ۱۰ درصد، درون میکروتیوب استریل و سپس به داخل تانک ازت منتقل شدند. استخراج RNA از نمونه‌های پانکراس، با استفاده از کیت TRIzol شرکت دناژن تجهیز و بر اساس دستورکار شرکت سازنده انجام گرفت. کمیت و کیفیت RNA تخلیص شده با استفاده از اسپکتروفتومتر (از روی طول موج ۲۶۰nm و ۲۸۰nm) و ژل آگارز یک درصد (شکل ۱) تعیین شد. جهت سنتز cDNA تک رشته‌ای با RNA با کیفیت

(نسبت ۲۶۰/۲۸۰nm بالای ۱/۸) از کیت لیوفیلیزه بایونیر شرکت تکاپوزیست و طبق پروتکل شرکت سازنده استفاده شد. cDNA سنتز شده تا زمان بررسی بیان ژن، در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. با اخذ توالی ژن‌ها از سایت NCBI، آغازگرهای اختصاصی توسط نرم‌افزار primer 3 طراحی گردید (جدول ۱). سپس با استفاده از نرم‌افزار BLAST از عدم مکمل بودن توالی آغازگرها با توالی‌های نوکلئوتیدی بخش‌های دیگر ژنوم اطمینان حاصل شد. سنتز آغازگرها، توسط شرکت تکاپوزیست صورت گرفت. همچنین، در سن ۴۲ روزگی، چربی محوطه شکمی جدا شده و وزن آن به دقت اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در واکنش‌های Real-Time PCR.

ژن‌ها	شماره دسترسی در بانک ژن	توالی آغازگرها (۳'-۵')	طول قطعه (bp)
β-Actin	NM-205518	CTGTGCCCATCTATGAAGGCTA	۱۳۹
		ATTTCTCTCTCGGCTGTGGTG	
Lipase	NM_001277382	GAGTGGAAATGCCAGGATGT	۱۵۷
		TAGCCCAGAAATCCATCAGG	

به‌منظور یافتن دمای مناسب اتصال آغازگرها، واکنش PCR شیب دمایی با ۸ دمای مختلف (۶۳، ۶۲/۵، ۶۱/۶، ۶۰/۴، ۵۸/۸، ۵۷/۵، ۵۶/۵ و ۵۶)، انجام شد و مناسب‌ترین دمای اتصال آغازگرهای اختصاصی، دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و برای اتصال آغازگرهای ژن مرجع دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد به دست آمد. از دستگاه Real Time PCR, BIO RAD CFX, 96 به‌منظور انجام واکنش PCR استفاده شد که برنامه زمانی-گرمایی دستگاه شامل سه مرحله بود. مرحله اول مربوط به واسرشته شدن مولکول cDNA بود که در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱ دقیقه انجام شد، مرحله دوم (اتصال آغازگرها) در ۴۰ سیکل و در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه و مرحله سوم (بسط آغازگرها) در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان ۲۰ ثانیه انجام شد. مرحله نهایی جهت ترسیم منحنی ذوب (Melting Curve) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه انجام شد. برای واکنش Real time PCR ژن مرجع β-Actin از برنامه حرارتی موجود در مقاله Yang و همکاران (۲۰۱۳)، استفاده شد. واکنش Real-Time PCR به صورت دوتایی به همراه واکنش NTC و NTR برای هر ژن، در پلیت‌های ۹۶ چاهکی انجام شدند. مخلوط هر واکنش شامل ۴ میکرولیتر SYBR-Green PCR Master Mix (شرکت سیناژن)، یک میکرولیتر از آغازگرهای رفت و برگشت (۱۰ پیکومول) اختصاصی هر ژن، ۲ میکرولیتر cDNA (۱۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر) و از آب دو بار تقطیر تا حجم ۱۰ میکرولیتر استفاده شد. جهت اطمینان از تکثیر قطعات اختصاصی هر ژن و عدم جفت شدن آغازگرها، محصولات تکثیری هر ژن در ژل آگارز یک درصد بارگذاری و الکتروفورز انجام شد (شکل ۱).



شکل ۱- الکتروفورز ژل آگارز

a: RNA استخراج شده، b: محصول PCR ژن لیپاز، مارکر M100

Ct های (Cycle Thereshold) بدست آمده از واکنش Real-Time PCR برای ژن‌های هدف و ژن مرجع در فرمول $۲^{-\triangle\triangle Ct}$= مقدار هدف، قرار داده شد و بیان نسبی ژن بر طبق آن محاسبه گردید (Livak and Schmittgen, 2001). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۵) و رویه‌ی ANOVA و با مدل زیر صورت گرفت.

مدل ۱ $Y_{ij} = \mu + A_i + e_{ij}$

در این مدل Y_{ij} مقدار هر مشاهده، μ میانگین جامعه، A_i اثر سطح بلوط و e_{ij} اثر باقی‌مانده در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت (SAS 2005). جهت رسم گراف و سنجش

فرمول ۱

تعداد کپی‌های ژن از نرم‌افزار REST و روش ΔCt (فرمول ۱) استفاده شد (Pfaffl و همکاران، ۲۰۰۲).

$$Ratio = \frac{(E_{target})^{\Delta Ct_{target}(MEAN_{control} - MEAN_{sample})}}{(E_{reference})^{\Delta Ct_{reference}(MEAN_{control} - MEAN_{sample})}}$$

در این فرمول Ratio نشان‌دهنده‌ی مقایسه‌ی اختلاف بیان ژن‌ها در دو نمونه، E_{target} و E_{ref} به ترتیب بازده PCR ژن هدف و ژن مرجع و ΔCT اختلاف Ct کنترل با نمونه هدف می‌باشد.

نتایج و بحث

بر اساس یافته‌های پژوهش، وزن نسبی چربی محوطه شکمی در سن ۴۲ روزگی در تیمارهای دریافت کننده ۱۵ و ۲۰ درصد بلوط در مقایسه با شاهد، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲- اثر سطوح مختلف میوه بلوط بر وزن مطلق و وزن نسبی چربی محوطه شکمی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

صفات مورد بررسی	تیمارهای آزمایشی			SEM	P value
	شاهد	۱۵	۲۰		
وزن مطلق (گرم)	۳۲/۲۷	۴۱/۸۹	۳۶/۵۷	۱/۹۶	۰/۱۳
وزن نسبی (درصد وزن بدن)	۱/۴۴^{b}	۲/۰۸^{a}	۲/۱۴^{a}	۰/۱۳	۰/۰۳

شاهد: جیرهٔ شاهد بر پایهٔ ذرت-کنجاله سویا (بدون استفاده از بلوط)، ۱۵ درصد: جیرهٔ حاوی ۱۵ درصد آرد میوهٔ بلوط، ۲۰ درصد: جیرهٔ حاوی ۲۰ درصد آرد میوهٔ بلوط. a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر سطر با حروف غیرمشابه، معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

برخی پژوهشگران قبلی گزارش کردند استفاده از میوه بلوط به مقدار ۱۰، ۲۰ و ۲۵ درصد جیره، تأثیر معنی‌داری بر وزن نسبی چربی شکمی جوجه‌های گوشتی نداشت (Sinaei and Houshmand, 2016; Rezaei and Semnaninejad, 2016). در یک تحقیق، وزن نسبی چربی شکمی پایان دوره در جوجه‌هایی که با بلوط تغذیه شدند نسبت به گروه شاهد که با جیره غذایی بر پایه ذرت تغذیه شدند، کمتر بود (Bouderoua و همکاران، ۲۰۰۹) که با نتایج پژوهش حاضر مغایرت داشت. طی پژوهشی افزودن اسانس مرزه (غنی از ترکیب فنلی کارواکرول) به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به آب آشامیدنی مرغ، نسبت چربی شکمی به وزن لاشه را در مقایسه با مرغ‌های شاهد در سن ۲۸ روزگی کاهش داد اما با افزایش سن (۴۹ روزگی) و با ورود به مرحله رشد با افزایش حجم سلول‌های چربی، این اسانس قادر به تأثیرگذاری بر تجمع چربی در یاخته‌های چربی پرشمار و با اندازه‌های کوچک نبود (Khosravinia, 2013). یافته‌های Biswas و Wakita (۲۰۰۱) نشان داد تغذیه با جیره‌های حاوی ۱/۵-۰/۵ درصد پودر چای سبز (غنی از ترکیبات فنلی) به مدت ۳۵ روز وزن بدن جوجه‌ها را تغییر نداد، درحالی‌که میزان چربی شکمی و کلسترول خون در این جوجه‌ها به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت. محققان کاهش فعالیت و یا مهار فعالیت برخی از آنزیم‌های کبدی دخیل در سنتز چربی‌ها توسط مواد مؤثرهٔ موجود در گیاهان را دلیل کاهش وزن چربی بیان کردند (Crowell, 1999). برخی پژوهشگران گزارش کردند، جوجه‌هایی که اسیدهای چرب غیر اشباع دریافت نمودند چربی محوطه شکمی کمتری داشتند (Crespo and Esteve-Garcia, 2001). از آن‌جا که درصد بالایی از چربی موجود در میوه بلوط را اسیدهای چرب غیر اشباع ضروری مانند اسید لینولئیک تشکیل می‌دهد (Khodadoust و همکاران، ۲۰۱۴)، انتظار می‌رفت که استفاده از بلوط در جیره جوجه‌ها باعث کاهش چربی محوطه شکمی شود اما چنین اثری مشاهده نشد. با توجه به اینکه در پژوهش حاضر از نظر مصرف خوراک کل دوره (۱-۴۲ روزگی) بین سطوح مختلف بلوط تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و از طرفی گروه‌های مصرف‌کننده بلوط افزایش وزن کمتری داشتند (Moradalipour و همکاران، ۲۰۱۹)، شاید بتوان این‌طور نتیجه گرفت که مقدار قابل‌توجهی از انرژی دریافتی توسط جوجه‌ها صرف ساخت چربی شکمی شده باشد. بافت چربی شکمی در مقایسه با سایر بافت های چربی سریعتر رشد می‌کند (Butterwith, 1997).

اگرچه چربی شکمی به عنوان معیار قابل اطمینان نشان دهنده مقدار کل چربی بدن در جوجه‌های گوشتی می‌باشد اما این احتمال هم وجود دارد که کاهش چربی در بافت‌های دیگر مانند گردن، ران، پشت و چربی اطراف سنگدان اتفاق افتاده باشد که نیاز به مطالعات بیشتری دارد. اختلاف در نتایج پژوهش حاضر و پژوهش‌های قبلی در مورد اثر میوه بلوط بر میزان چربی شکمی، ممکن است به عواملی مانند سطح بلوط مورد استفاده، ترکیب جیره پایه، شرایط پرورشی، جنس، نژاد، ژنتیک حیوانی و سن جوجه‌ها بستگی داشته باشد. همچنین احتمال می‌رود که ترکیبات موثره موجود در میوه بلوط به‌طور سریع در کبد تجزیه شوند و اثرات خود را اعمال نکنند. گزارش شده است که تأثیرات سودمند ترکیبات گیاهی زمانی بروز می‌یابد که جوجه‌ها در شرایط نامطلوب پرورش یابند، برای مثال هنگامی که حیوانات با جیره‌ای با قابلیت هضم پایین تغذیه شوند و یا در شرایط محیطی آلوده قرار گیرند (Alcicek و همکاران، ۲۰۰۴).

میزان و حجم توده چربی در لاشه مرغ به عواملی مانند ژنتیک، تغذیه، جنس، وزن زنده و سن پرنده بستگی دارد (Tumova and Teimouri, 2010). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که جنس نر نسبت به جنس ماده افزایش وزن بالاتری در طول دوره پرورش داشت ($P<0/05$) و وزن نسبی چربی محوطه شکمی در جوجه‌های ماده بیشتر از جوجه‌های نر بود ($P<0/05$) (جدول ۳).

جدول ۳- اثر جنس بر وزن بدن، وزن مطلق و وزن نسبی چربی محوطه شکمی در پایان دوره پرورش (سن ٤٢ روزگی)

صفات مورد بررسی	جنس		SEM	P value
	نر	ماده		
وزن بدن (گرم)	۲۱۳۶[a]	۱۸۶۷[b]	۶۸/۶۱	۰/۰۵
وزن مطلق چربی شکمی (گرم)	۳۴/۲۸	۳۹/۵۴	۱/۹۶	۰/۱۹
وزن نسبی چربی شکمی (درصد وزن بدن)	۱/۶۱[b]	۲/۱۶[a]	۰/۱۳	۰/۰۲

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر سطر با حروف غیرمشابه، معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

همانطور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، جنسیت بر بیان ژن لیپاز پانکراس تأثیر نداشت (P>۰/۰۵). در سن ۲۱ روزگی استفاده از میوه بلوط موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن لیپاز پانکراس در مقایسه با شاهد گردید (P<۰/۰۵). دلیل این افزایش ممکن است به تانن‌ها نسبت داده شود. چرا که تانن‌ها موجب مهار آنزیم‌های گوارشی پانکراس می‌شوند و در نتیجه پانکراس برای مقابله با این اثرات، آنزیم‌های بیشتری را ترشح می‌کند. تحریک ترشح و افزایش فعالیت آنزیم‌های هضمی از جمله سازوکارهای پیشنهادی برای تأثیر ترکیبات گیاهی بر عملکرد دستگاه گوارش طیور است (Puvaca و همکاران، ۲۰۱۳).

جدول ٤- اثر تیمارها و جنس بر بیان نسبی ژن لیپاز پانکراس در سن ۲۱ و ٤۲ روزگی

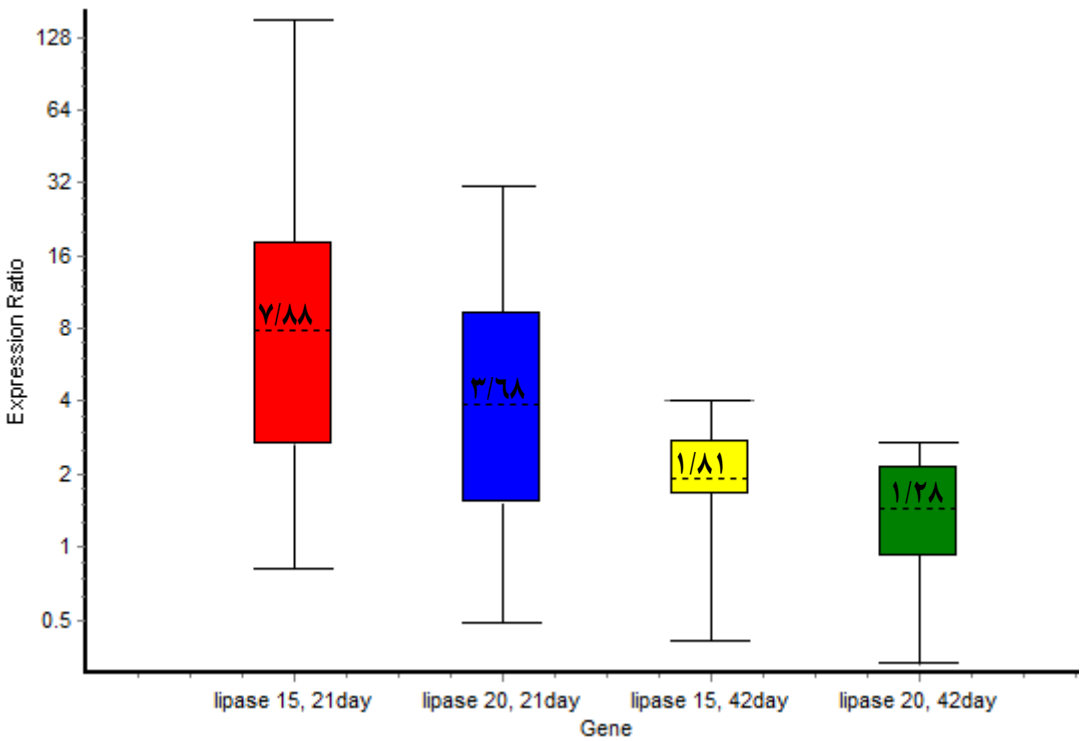
سن	تیمارهای آزمایشی			P value	جنس		SEM	P value
	شاهد	۱۵	۲۰		نر	ماده		
۲۱ روزگی	۱۴/۶۱[b]	۱۷/۵۹[a]	۱۶/۴۹[a]	۰/۰۰۳	۱۶/۲۲	۱۶/۲۴	۰/۴۱	۰/۹۹
۴۲ روزگی	۱۷/۶۱	۱۸/۴۷	۱۷/۹۷	۰/۱۹	۱۸/۱۲	۱۷/۹۷	۰/۱۹	۰/۷۱

شاهد: جیرهٔ شاهد بر پایهٔ ذرت-کنجاله سویا (بدون استفاده از بلوط)، ۱۵ درصد: جیرهٔ حاوی ۱۵ درصد آرد میوهٔ بلوط، ۲۰ درصد: جیرهٔ حاوی ۲۰ درصد آرد میوهٔ بلوط. a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر سطر با حروف غیرمشابه، معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

با توجه به افزایش بیان ژن لیپاز در جوجه‌های گوشتی ۲۱ روزه، می‌توان گفت افزودن میوه بلوط به جیره احتمالاً تأثیر مثبتی بر هضم مواد مغذی (چربی) داشته باشد. همچنین احتمال می‌رود به دلیل اینکه فرآیندهای گوارشی جوجه‌های گوشتی در سنین آغازین به‌طور کامل توسعه نیافته است، بنابراین جوجه‌ها قادر به غلبه بر اثرات مضر تانن‌ها نیستند و با افزایش بیان ژن در برابر چنین اثراتی سازگاری یافته‌اند. همان‌گونه که گفته شد میوه بلوط حاوی مقادیر بالایی چربی و اسیدهای چرب می‌باشد. افزایش چربی اشباع یا غیر اشباع در جیره منجر به افزایش سطوح لیپاز در بافت پانکراس می‌شود. در واقع بیان لیپاز پانکراس (PL) توسط مقدار چربی غذا و از طریق یک مکانیزم رونویسی ظاهری تنظیم می‌شود. همچنین سازش پانکراس با چربی‌های خوراک از طریق تغییرات رونویسی که منجر به افزایش متناسب در mRNA لیپاز می‌شود، حاصل می‌شود (Wicker and Puigserver, 1990). آنزیم‌های هضم‌کننده در پاسخ به سوبسترای جیره‌ای خود در حد بالایی تنظیم و بیان می‌شوند. این اثر ممکن است به یک مکانیسم سازشی غیراختصاصی نسبت داده شود. تحقیقات نشان دادند که افزودن ترکیبات ضد میکروبی مانند ترپن‌ها و ترکیبات فنولی همانند تیمول در سطح ppm ۱۰۰ به جیره جوجه‌های گوشتی، ترشحات آنزیمی پانکراس نظیر آمیلاز،

لیپاز، تریپسین و کیموتریپسین را با توجه به کامل نبودن ظرفیت فعالیت آنزیم‌های هضمی در جوجه‌های جوان افزایش می‌دهد (Lee و همکاران، ۲۰۰۳). مطالعات دیگر نیز نشان دادند بیشتر گیاهان باعث تحریک عملکرد آنزیم‌های لوزالمعده (لیپاز، آمیلاز و پروتئاز) و برخی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های هضم‌کننده در سلول‌های موکوسی روده می‌گردند (Alcicek و همکاران، ۲۰۰۴). پاسخ سلول‌ها به ترکیبات فیتوژنیک می‌تواند از طریق واکنش مستقیم متابولیت‌ها با گیرنده‌های سلول یا آنزیم‌های دخیل در انتقال پیام و یا از طریق تغییر در بیان ژن باشد (Williams و همکاران، ۲۰۰۴). همچنین ممکن است ترکیبات موجود در میوه بلوط با تأثیر بر قابلیت هضم چربی‌ها، موجب افزایش بیان ژن لیپاز پانکراس شده باشد. برخی از ترکیبات فنلی موجود در گیاهان نقش مهمی در فرآیندهای مولکولی دارند که برای کنش‌های سلول، حیاتی هستند (Williams و همکاران، ۲۰۰۴).

بین جوجه‌های گوشتی که به مدت ۴۲ روز با تیمارهای مختلف تغذیه شده بودند، تفاوت معنی‌داری از نظر بیان ژن لیپاز پانکراس مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (که در جدول ۴ و شکل ۱ مشاهده می‌شود)، بنابراین می‌توان اینگونه تفسیر کرد که اثرات ضد تغذیه‌ای تانن با بالا رفتن سن جوجه‌ها به دلیل توسعه کامل دستگاه گوارش کاهش می‌یابد (Bouderoua و همکاران، ۲۰۰۹). Hur و همکاران (۲۰۰۵) اظهار داشتند با افزایش سن بوقلمون‌های تغذیه شده با سورگوم غنی از تانن، دستگاه گوارش آن‌ها بهتر می‌تواند خوراک‌های حاوی تانن را تحمل کند زیرا با افزایش سن، دستگاه گوارش نسبت به تانن‌ها سازگاری پیدا می‌کند. همچنین می‌توان گفت با افزایش سن مرغ، میزان ترکیبات فنلی موجود در میوه بلوط برای تغییر در بیان ژن لیپاز و کاهش وزن چربی شکمی کافی نبوده است.



شکل ۲- رسم نمودار box-plots برای بیان نسبی ژن لیپاز پانکراس در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی

lipase 15, 21 day: بیان ژن لیپاز در تیمار ۱۵ درصد نسبت به شاهد در سن ۲۱ روزگی، lipase 20, 21 day: بیان ژن لیپاز در تیمار ۲۰ درصد نسبت به شاهد در سن ۲۱ روزگی،
lipase 15, 42 day: بیان ژن لیپاز در تیمار ۱۵ درصد نسبت به شاهد در سن ۴۲ روزگی، lipase 20, 42 day: بیان ژن لیپاز در تیمار ۲۰ درصد نسبت به شاهد در سن ۴۲ روزگی

نتایج یک پژوهش نشان داد مصرف پلی‌فنول‌های چای سبز بیان برخی از ژن‌های کلیدی مربوط به سنتز اسید چرب (FAS, ME, LXR_{α}) را کاهش و بیان برخی از ژن‌های کلیدی مرتبط با بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب در کبد جوجه‌های گوشتی (CPT-I, ACOX1, $PPAR_{\alpha}$) را افزایش می‌دهد (Huang و همکاران، ۲۰۱۳). بنابراین مصرف پلی‌فنول‌های چای سبز با سرکوب سنتز اسید چرب و تحریک لیپولیز موجب کاهش وزن و کاهش چربی خون در جوجه‌های گوشتی می‌شود. همچنین جوجه‌های تغذیه شده با پلی‌فنول‌های چای سبز چربی شکمی و حجم چربی زیر پوستی کمتری داشتند (Lee و همکاران، ۲۰۰۹). ترکیبات فنلی احتمالاً از طریق کاهش هضم و جذب چربی‌های موجود در خوراک، افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب در کبد، کاهش تولید بافت چربی به‌خصوص چربی شکمی و کاهش حجم سلول‌های چربی، همچنین کاهش میزان گلوکز موجود در خون و افزایش متابولیسم گلوکز در سلول‌ها، سبب کاهش وزن می‌گردند. به علاوه پلی‌فنول‌ها اثر مهاری بر لیپاز پانکراسی داشته و از جذب چربی در روده جلوگیری می‌کنند و نیز با کاهش بیان فاکتورهای رونویسی بافت چربی، از تمایز پری آدیپوسیت‌ها به آدیپوسیت‌ها جلوگیری می‌کنند (Meydani and Hasan, 2010). مهار لیپاز در بافت‌های چربی و سایر بافت‌ها مفید می‌باشد چرا که از آسیب پذیری اسید چرب آزاد جلوگیری می‌کند. وقتی که بافت‌ها در معرض سطوح بالایی از اسید چرب آزاد قرار می‌گیرند، چاقی مشاهده می‌شود (Nagy و همکاران، ۲۰۱۴). تانن‌های متراکم می‌توانند به نمک‌های صفراوی متصل شوند که یک عامل محدودکننده برای هضم موثر چربی در مرغ (Krogdahl, 1985) می‌باشد. مطالعات انجام شده بر روی موش نشان داده است که غلظت کم تانن‌های خوراک می‌تواند فعالیت لیپاز را در دستگاه گوارش افزایش دهد (Griffiths and Moseley, 1980) درحالی‌که غلظت‌های بالای تانن خوراک می‌تواند فعالیت‌های لیپاز گوارشی را در جوجه‌های جوان کاهش دهد (Longstaff and McNab, 1991). باتوجه به غنی بودن میوه بلوط از ترکیبات فنلی و تانن‌ها اما مصرف آن نتایج مثبتی را به دنبال نداشت. گزارش شده است که اثرات مهارکنندگی عصاره دانه انگور بر روی آنزیم‌های هیدرولیز کننده چربی (لیپاز پانکراس و لیپوپروتئین لیپاز) به مقدار آن بستگی دارد (Moreno و همکاران، ۲۰۰۳). اثر ترکیبات پلی‌فنل در جذب و ترکیب با مواد مغذی نیز به بسیاری از عوامل مانند نوع ترکیبات، مقدار، ترکیب با دیگر ترکیبات و غیره بستگی دارد (Martel و همکاران، ۲۰۱۰). پاسخ جوجه‌ها به ترکیبات فیتوژنیک نیز ممکن است تحت تأثیر عواملی مانند نوع جیره، سن حیوان، بهداشت و عامل‌های محیطی همچون دمای محیط و نوع بستر پرورش قرار گیرد (Basmacioglu و همکاران، ۲۰۱۰).

به‌طور کلی مقدار چربی موجود در بدن توسط مجموعه وسیعی از عوامل مانند ترکیب انرژی موجود در غذا، سیری حیوانات و توانایی سلول‌ها برای دفع انرژی موجود تنظیم می‌شود (Bohannon-Stewart و همکاران، ۲۰۱۴). کاهش میزان انرژی جیره یکی از مهم‌ترین عواملی است که می‌تواند درصد چربی شکمی و کل چربی بدن را کاهش دهد (Kassim and Suwanpradit, 1996؛ Fan و همکاران، ۲۰۰۸). احتمالاً بالا بودن سطح انرژی خوراک در پژوهش حاضر با افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های مرتبط با لیپوژنز، موجب افزایش چربی شکمی شده است. افزایش محتوای پروتئین خوراک می‌تواند موجب بهبود افزایش وزن روزانه، عملکرد، کیفیت لاشه و کاهش میزان چربی شکمی شود (Yalcin و همکاران، ۲۰۱۰)، بنابراین پروتئین جیره باید نقش مستقیم یا غیر مستقیم در تنظیم متابولیسم لیپید داشته باشد. کاهش سطح پروتئین جیره، نسبت انرژی به پروتئین جیره را افزایش می‌دهد که منجر به افزایش مصرف انرژی می‌گردد. این مازاد انرژی می‌تواند در راستای سنتز چربی مورد استفاده قرار گیرد و در نهایت منجر به افزایش چربی لاشه به خصوص چربی محوطه شکمی گردد (Rezaei و همکاران، ۲۰۰۴). با توجه به اینکه ترکیبات فنولی (تانن‌ها) قادر به پیوند بسیار قوی با پروتئین‌ها هستند (Frazier و همکاران، ۲۰۱۰) و این پتانسیل را دارند که ۱۲ برابر وزن خودشان پروتئین را رسوب دهند (Jansman, 1993)، بنابراین با تشکیل کمپلکس نامحلول

با پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه (از طریق ارتباط گروه‌های هیدروکسیل فعال خود با گروه کربونیل پروتئین)، باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای این ترکیبات شده و کاهش قابلیت هضم پروتئین را (Kumar و همکاران، ۲۰۰۷) به دنبال دارند. ازاین‌رو مصرف طولانی مدت بلوط به دلیل دارا بودن مقدار زیادی از تانن‌ها، با تشکیل کمپلکس تانن-پروتئین، موجب افزایش دفع اندوژنوس اسیدهای آمینه ضروری به ویژه متیونین شده و با کاهش پروتئین، وزن بدن کاهش و چربی شکمی افزایش می‌یابد، بنابراین استفاده طولانی مدت از سطح ۱۵ و ۲۰ درصد میوه بلوط در جیره طیور نیاز به مقادیر بیشتری پروتئین یا مکمل متیونین دارد و پژوهش‌های جامعی را می‌طلبد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد، استفاده از سطح ۱۵ و ۲۰ درصد بلوط در جیره به مدت ۲۱ روز، بیان ژن لیپاز پانکراس جوجه‌های گوشتی را افزایش داد اما استفاده طولانی مدت از آن (از ۱ تا ۴۲ روزگی) تغییری در بیان ژن لیپاز پانکراس ایجاد نکرد. طبق نتایج این پژوهش، استفاده از میوه بلوط در جیره جوجه‌های گوشتی در شرایط مطلوب و بدون تنش، موجب افزایش میزان چربی شکمی گردید. از طرفی این میوه غنی از ترکیبات مفید بوده که بهتر است در انتخاب مقدار، مدت استفاده و شرایط پرورش برای بهره گرفتن از حداکثر قابلیت این خوراک توجه بیشتری شود. پیشنهاد می‌شود اثر این ترکیب بر فراسنجه‌های خونی و بیان ژن‌های موثر بر اکسیداسیون چربی در بافت‌های مختلف بررسی و تحقیق بیشتری برای درک مکانیسم‌های مولکولی عملکرد ترکیبات فنلی صورت گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کارشناس آزمایشگاه مرکزی دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج، خانم مهندس حاجی‌زاده که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

Ahn, J.H. Liu, Q. Lee, C. Ahn, M.J. Yoo, H.S. Hwang, B.Y. and Lee, M.K. (2012). A new pancreatic lipase inhibitor from Broussonetia kanzinoki. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 22(8):2760-2763.

Alcicek, A. Bozkurt, M. and Çabuk, M. (2004). The effect of a mixture of herbal essential oils, an organic acid or a probiotic on broiler performance. *South African Journal of Animal Science*. 34(4):217-222.

Basmacioglu Malayoglu, H. Baysal, S. Misirlioglu, Z. Polat, M. Yilmaz, H. and Turan, N. (2010). Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat–soybean meal diets. *British poultry science*. 51(1):67-80.

Biswas, A.H. and Wakita, M. (2001). Effect of dietary Japanese green tea powder supplementation on feed utilization and carcass profiles in broilers. *The Journal of Poultry Science*. 38(1):50-57.

Bohannon-Stewart, A. Kelley, G. Kimathi, B. Subramanya, S.H.K. Donkor, J. Darris, C. Tyus, J. Payne, A. Byers, S. Hui, D. and Nahashon, S. (2014). Expression of potential regulatory genes in abdominal adipose tissue of broiler chickens during early development. *Genetics research international, 2014*.

Bojarpour, M. Bahmaninia, E. Ebrahimi, R. and Fayazi, J. (2010). Evaluate effects of different inclusion of oak kernel with determine food potential oak kernel substitute with corn seed on broiler chickens ration. *Research Journal of Biological Sciences*. 5:17-19.

Bouderoua, K. Mourot, J. and Selselet-Attou, G. (2009). The effect of green oak acorn (*Quercus ilex*) based diet on growth performance and meat fatty acid composition of broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 6:843-848.

Butterwith, S.C. (1997). Regulators of adipocyte precursor cells. *Poultry science*. 76(1):118-123.

Correia, P. Leitao, A. and Beirao-da-Costa, M.L. (2009). The effect of drying temperatures on morphological and chemical properties of dried chestnuts flours. *Journal of Food Engineering*. 90(3):325-332.

Crespo, N. and Esteve-Garcia, E. (2001). Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in broiler chickens. *Poultry science*. 80(1):71-78.

Crowell, P.L. (1999). Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. *The Journal of nutrition*. 129(3):775-778.

Emmerson, D.A. (1997). Commercial approaches to genetic selection for growth and feed conversion in domestic poultry. *Poultry Science*. 76(8):1121-1125.

Fan, H.P. Xie, M. Wang, W.W. Hou, S.S. and Huang, W. (2008). Effects of dietary energy on growth performance and carcass quality of white growing Pekin ducks from two to six weeks of age. *Poultry science*. 87(6):1162-1164.

Fouad, A.M. and El-Senousey, H.K. (2014). Nutritional factors affecting abdominal fat deposition in poultry: a review. *Asian-Australasian journal of animal sciences*. 27(7):1057-1068.

Frazier, R.A. Deaville, E.R. Green, R.J. Stringano, E. Willoughby, I. Plant, J. and Mueller-Harvey, I. (2010). Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 51(2):490-495.

Griffiths, D.W. and Moseley, G. (1980). The effect of diets containing field beans of high or low polyphenolic content on the activity of digestive enzymes in the intestines of rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 31(3):255-259.

Huang, J. Zhang, Y. Zhou, Y. Zhang, Z. Xie, Z. Zhang, J. and Wan, X. (2013). Green tea polyphenols alleviate obesity in broiler chickens through the regulation of lipid-metabolism-related genes and transcription factor expression. *Journal of agricultural and food chemistry*. 61(36):8565-8572.

Hur, S.N. Molan, A.L. and Cha, J.O. (2005). Effects of feeding condensed tannin-containing plants on natural coccidian infection in goats. *Asian- Australasian Journal of Animal Science*. 18(9):1262-1266.

Jansman, A.J.M. (1993). Tannins in feedstuffs for simple-stomached animals. *Nutrition research reviews*. 6(1):209-236.

Kassim, H. and Suwanpradit, S. (1996). The effects of dietary energy levels on the carcass composition of the broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 9(3):331-335.

Khodadoust, S. Mohammadzadeh, A. Mohammadi, J. Irajie, C. and Ramezani, M. (2014). Identification and determination of the fatty acid composition of Quercus brantii growing in southwestern Iran by GC–MS. *Natural product research*. *28*(8):573-576.

Khosravinia, H. Ghasemi, S. and Rafiei Alavi, E. (2103). Effect of savory (Satureja khuzistanica) essential oils on performance, liver and kidney functions in broiler chickens. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 22(1):50-55.

Krogdahl, A. (1985). Digestion and absorption of lipids in poultry. *The Journal of nutrition*. 115(5):675-685.

Kumar, V. Elangovan, A.V. Mandal, A.B. Tyagi, P.K. Bhanja, S.K. and Dash, B.B. (2007). Effects of feeding raw or reconstituted high tannin red sorghum on nutrient utilisation and certain welfare parameters of broiler chickens. *British poultry science*. 48(2):198-204.

Lee, K.W. Everts, H. Kappert, H.J. Frehner, M. Losa, R. and Beynen, A.C. (2003). Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British poultry science*. 44(3):450-457.

Lee, M.S. Kim, C.T. and Kim, Y. (2009). Green tea (–)-epigallocatechin-3-gallate reduces body weight with regulation of multiple genes expression in adipose tissue of diet-induced obese mice. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 54(2):151-157.

Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2− ΔΔCT method. *Methods*. 25(4):402-408.

Longstaff, M.A. and McNab, J.M. (1991). The effect of concentration of tannin-rich bean hulls (Vicia faba L.) on activities of lipase (EC 3.1. 1.3) and α-amylase (EC 3.2. 1.1) in digesta and pancreas and on the digestion of lipid and starch by young chicks. *British Journal of Nutrition*. 66(1):139-147.

Manach, C. Scalbert, A. Morand, C. Remesy, C. and Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*. 79(5):727-747.

Martel, F. Monteiro, R. and Calhau, C. (2010). Effect of polyphenols on the intestinal and placental transport of some bioactive compounds. *Nutrition research reviews*. 23(1):47-64.

Meydani, M. and Hasan, S.T. (2010). Dietary polyphenols and obesity. *Nutrients*. 2(7):737-751.

Moradalipour, A. Muhaghegh-Dolatabady, M. and Houshmand, M. (2019). Effects of Different Levels of oak acorn in the diet on Pancreatic Weight and expression of pancreatic Charboxypeptidase gene in Broiler Chickens. *Journal of Animal Science* (Pajuhesh and Sazandegi), 31(121), 39-52. (In Farsi).

Moreno, D.A. Ilic, N. Poulev, A. Brasaemle, D.L. Fried, S.K. and Raskin, I. (2003). Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. *Nutrition*. 19(10):876-879.

Nagy, H.M. Paar, M. Heier, C. Moustafa, T. Hofer, P. Haemmerle, G. Lass, A. Zechner, R. Oberer, M. and Zimmermann, R. (2014). Adipose triglyceride lipase activity is inhibited by long-chain acyl-coenzyme A. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 1841(4):588-594.

National Research Council (1994). Nutrient requirements of poultry (9th rev. ed). National Academy Press, Washington, DC.

Nedaei, F. Houshmand, M. Parsaei, S. and Meamar, M. (2017). Effect of oak acorn and dietary methionine level on performance, some organs weight and tibia characteristics in broiler chicken. Iranian Journal of Animal Science. 48(2):219-228. (In Farsi).

Oliveira, R.F. Goncalves, G.A. Inacio, F.D. Koehnlein, E.A. de Souza, C.G.M. Bracht, A. and Peralta, R.M. (2015). Inhibition of pancreatic lipase and triacylglycerol intestinal absorption by a pinhao coat (Araucaria angustifolia) extract rich in condensed tannin. *Nutrients*. 7(7):5601-5614.

Pfaffl, M.W. Horgan, G.W. and Dempfle, L. (2002). Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic acids research*. 30(9):36.

Puvaca, N. Stanacev, V. Glamocic, D. Levic, J. Peric, L. and Milic, D. (2013). Beneficial effects of phytoadditives in broiler nutrition. *World's Poultry Science Journal*. 69(1):27-34.

Rezaei, M. and Semnaninejad, H. (2016). Effects of different levels of raw and processed oak acorn (Quercus castaneifolia) on performance, small intestine morphology, ileal digestibility of nutrients, carcass characteristics and some blood parameters in broiler chickens. *Poultry Science Journal*. 4(2):127-138.

Rezaei, M. Nassiri Moghaddam, H. Pour Reza, J. and Kermanshahi, H. (2004). The effects of dietary protein and lysine levels on broiler performance, carcass characteristics and N excretion. *International Journal of Poultry Science*. 3(2):148-152.

SAS. (2005). User's Guide. Version 9. SAS Institute. Cary. NC.

Sinaei Kh and Houshmand M. (2016). Effects of Dietary Inclusion of Raw or Treated Iranian Oak Acorn (Quercus brantii Lindl.) on the Performance and Cecal Bacteria of Broilers. *Poultry Science Journal*. 4(1):73-79.

Tumova, E. and Teimouri, A. (2010). Fat deposition in the broiler chicken: a review. *Scientia Agriculturae Bohemica*. 41(2):122-128.

Uchiyama, S. Taniguchi, Y. Saka, A. Yoshida, A. and Yajima, H. (2011). Prevention of diet-induced obesity by dietary black tea polyphenols extract in vitro and in vivo. *Nutrition*. 27(3):287-292.

Wicker, C. and Puigserver, A. (1990). Expression of rat pancreatic lipase gene is modulated by a lipid-rich diet at a transcriptional level. *Biochemical and biophysical research communications*. 166(1):358-364.

Williams, R.J. Spencer, J.P. and Rice-Evans, C. (2004). Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free radical biology and medicine*. 36(7):838-849.

Yalcin, S. Ozkul, H. Ozkan, S. Gous, R. Yaşa, I. and Babacanoglu, E. (2010). Effect of dietary protein regime on meat quality traits and carcase nutrient content of broilers from two commercial genotypes. *British poultry science*. 51(5):621-628.

Yang, F. Lei, X. Rodriguez-Palacios, A. Tang, C. and Yue, H. (2013). Selection of reference genes for quantitative real-time PCR analysis in chicken embryo fibroblasts infected with avian leukosis virus subgroup. *BMC research notes*. 6(1):1.

You, Q. Chen, F. Wang, X. Luo, P.G. and Jiang, Y. (2011). Inhibitory effects of muscadine anthocyanins on α-glucosidase and pancreatic lipase activities. *Journal of agricultural and food chemistry*. 59(17):9506-9511.