

تأثیر اسید فولیک و پیریدوکسین بر محتوای ۵-متیل تتراهیدروفولات

زرده تخم و عملکرد بلدرچین های ژاپنی

• زینال همتی

دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

• محسن دانشیار (نویسنده مسئول)

دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

• پرویز فرهومند

استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۴۱۴۰۲۷۵۹

Email: m.daneshyar@urmia.ac.ir

چکیده

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.120212.1615

این تحقیق به منظور ارزیابی اثرات اسید فولیک (صفر، ۴ و ۸ میلی گرم در هر کیلوگرم) و پیریدوکسین (صفر، ۳ و ۶ میلی گرم در هر کیلوگرم) بر عملکرد و محتوای ۵-متیل تتراهیدروفولات در زرده تخم بلدرچین های ژاپنی با استفاده از ۳۶۰ قطعه بلدرچین تخم گذار در سن ۶ هفتگی، به مدت ۴۲ روز بر پایه طرح کاملاً تصادفی و در قالب یک آزمایش فاکتوریل ۳×۳ انجام شد. نتایج نشان داد که مکمل سازی سطوح مختلف اسید فولیک و پیریدوکسین به جیره های بلدرچین های تخمگذار ژاپنی تأثیر معنی داری بر مصرف خوراک، تعداد تخم تولیدی، ضریب تبدیل خوراک، وزن محتویات تخم، درصد زرده، درصد سفیده و واحد هاو تخم های تولیدی نداشت ($p > 0/05$). محتوای ۵-متیل تتراهیدروفولات زرده تحت تأثیر مکمل سازی اسید فولیک قرار گرفت و مقدار آن از ۸۰۹ میکروگرم در هر ۱۰۰ گرم زرده برای تیمار شاهد به ترتیب به ۸۴۱ و ۱۱۶۵ میکروگرم در هر ۱۰۰ گرم زرده تخم تیمارهای حاوی ۴ و ۸ میلی گرم اسید فولیک در هر کیلوگرم جیره افزایش یافت. به طور کلی مکمل سازی اسید فولیک و پیریدوکسین به جیره های بلدرچین های تخمگذار ژاپنی تأثیر معنی داری بر عملکرد نداشت ولی مصرف ۸ میلی گرم در کیلوگرم اسید فولیک منجر به افزایش محتوای ۵-متیل تتراهیدروفولات زرده گردید.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 121 pp: 219-230

The effects of folic acid pyridoxine on yolk 5- methyltetrahydrofolate content and laying quails performanceBy: Zeynal Hemati¹, Mohsen Daneshyar^{2*}, Parviz Farhoomand³¹PhD student, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Urmia University²Associate professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Urmia University³ Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Urmia University.**Received: January 2018****Accepted: April 2018**

This study was conducted by 360 laying Japanese quail (6 wk old) in a 3*3 factorial arrangement (9 treatments and 5 replicates each) to investigate the effects of folic acid (0.0, 4.0 or 8.0 mg/kg) and pyridoxine (0.0, 0.3 or 6 mg/kg) on laying performance and egg yolks 5-methyl tetrahydrofolate content. The results showed that folic acid or pyridoxine had no effects on feed intake, egg production, feed conversion ratio, yolk and white percentage, egg content weight and haugh unit of the eggs ($P>0.05$). The 5- methyl tetrahydrofolate content of the eggs was affected by folic acid supplementation and it was increased from 808.62 microgarm/g for control birds to 840.84 and 1164.77 microgarm/g respectively for 4 and 8 mg/kg folic acid fed birds ($P<0.01$). In conclusion, dietary supplementation of folic acid to laying Japanese quail diets had no effects on performance but consumption of 8 mg/kg folic acid increases the 5-methyl tetrahydrofolate content of yolk.

Key words: Folic acid, Japanese quail, pyridoxine, performance, 5-methyltetrahydrofolate**مقدمه**

اضافی با فرآیند مربوطه جدا شده و به شکل مونوگلو تامات جذب شوند (Henderson, 1990). متابولیسم متیونین در بدن موجودات زنده باعث بوجود آمدن هموسیستین می گردد. لذا کاهش میزان هموسیستین موجود در منابع غذایی از طریق تبدیل هموسیستین به متیونین در تغذیه از اهمیت فراوانی برخوردار است، چراکه افزایش سطح هموسیستین پلازما با افزایش خطر ابتلا به آترواسکلروزیس، بروز بیماریهای قلبی-عروقی و کاهش تواناییهای شناختی مغز و افسردگی، سکت، آلزایمر و اختلال در رشد جنین انسان می گردد (Hebert و همکاران، 2005). اصولاً کاهش محتوای هموسیستین از طریق متیلاسیون مجدد هموسیستین و تبدیل آن به متیونین با استفاده از منابع تامین کننده گروه متیل مانند اسید فولیک، بتائین و ... و یا از طریق تبدیل آن به سیستاتین و سیستین

اسید فولیک به عنوان یکی از مهمترین ویتامینهای گروه ب برای برخی از فعالیتهای متابولیکی بدن انسان مورد نیاز است. فولات به عنوان دهنده یا گیرنده واحد تک کربنی در واکنشهای متابولیکی از اهمیت بالایی برخوردار است. نقش اسید فولیک در انتقال واحد های تک کربنه به خصوص ساخت پورین ها و پریمیدین های موجود در ساختار DNA و RNA، متابولیسم برخی از اسیدهای آمینه نظیر سرین و گلیسین و نیز سنتز متیونین در نتیجه متیلاسیون دوباره هموسیستین از اهمیت بالایی برخوردار است (Paul و همکاران، 2010). از اینرو توجه به محتوای اسید فولیک در جیره های طیور تخم گذار و گوشتی همواره از سوی انجمن ملی تحقیقات¹ NRC (1994) مورد توجه بوده است. فولاتهای موجود در مواد غذایی عمدتاً به صورت پلی گلو تامات هستند و از اینرو لازم است که گلو تامات های

¹ National Research Council

حیوانی و گیاهی متفاوت است. بافتهای گیاهی بیشتر حاوی پیریدوکسین هستند در حالیکه بافت های حیوانات شامل مخلوطی از پیریدوکسال و پیریدوکسامین می باشند (خاکپور ایرانی، ۱۳۹۱).

تاکنون بیش از ۶۰ نوع آنزیم شناخته شده است که وابسته به کوآنزیمهای ویتامین B6 می باشند. نقش پیریدوکسال فسفات در واکنشهای مربوط به متابولیسم اسیدهای آمینه، شامل ترانس آمیناسیون، دکربوکسیلاسیون، دامیناسیون، دسولفیدراسیون و متابولیسم اسیدهای آمینه است (McDowell، 2000).

پیریدوکسین به عنوان کوآنزیم آنزیمهای سیستاتونین بتاسیتاز و سیستاتونین گاما لیاژ در متابولیسم (ترانس سولفوراسیون) متیونین نقش دارند. این آنزیمها در کاهش و کنترل میزان هموسیستین خون (شاخص بروز بیماری های قلبی و عروقی) دارای نقش و اهمیت ویژه ای است (Selhub and Rosenberg، 1996).

از اینرو اندازه گیری و ارزیابی میزان هموسیستین پلاسما می تواند به عنوان شاخصی از چگونگی تأثیر و عملکرد پیریدوکسین باشد به نحوی که محتوای هموسیستین سرم در کمبود پیریدوکسین افزایش پیدا می کند (McDowell، 2000؛ Martinez و همکاران، 2000).

از اینرو می توان از هموسیستین پلاسما به عنوان بیو مارکر مفیدی برای تخمین میزان و کفایت محتوای پیریدوکسین جیره های طیور نام برد (Selhub and Rosenberg، 1996). احتیاج به پیریدوکسین در طیور مختلف بسته به نژاد، سن، جنس، فلور میکروبی، شرایط پرورش و محتوای پروتئین جیره متغیر است (McDowell، 2000). اگرچه محتوای پیریدوکسین در جیره های طیور تخمگذار و گوشتی همواره مورد توجه بوده است (Sadegheymojarad و همکاران، 2018).

احتیاجات واقعی طیور به پیریدوکسین توسط محققین متعددی بر اساس پاسخ رشد و کارآئی خوراک ارزیابی شده است. انجمن ملی تحقیقات NRC (1994) سطوح ۱ و ۳ میلی گرم را به ترتیب برای اسید فولیک و پیریدوکسین در جیره بلدرچین های تخمگذار و گوشتی پیشنهاد کرده است. Scott و همکاران (1982) گزارش دادند که سطوح بالای تریپتوفان و متیونین و سایر اسیدهای آمینه در صورت عدم تامین پیریدوکسین کافی باعث کاهش عملکرد طیور گوشتی می گردد، به عبارت بهتر

(ترانس سولفوراسیون) تحت تأثیر آنزیمهای سیستاتونین بتا سنتاز و سیستاتونین هیدرولاز در مجاورت پیریدوکسین (B6) امکان پذیر است (Yvo and Henk، 2011).

متیلاسیون دوباره هموسیستین و تبدیل آن به متیونین برای تامین بخشی از متیونین مورد نیاز توسط آنزیم متیونین سینتاز صورت می گیرد (House و همکاران، 2003).

مصرف گروه های حاوی متیل مانند متیونین، نیاز به متیلاسیون مجدد را کاهش می دهد بنابراین، هموسیستین احتمالاً بیشتر به سمت ترانس سولفوراسیون پیش می رود (and Mudd and Poole، 1975). لذا یکی از مهمترین شاخص های ارزیابی میزان نیاز به فولات، اندازه گیری میزان هموسیستین سرم خون است (House و همکاران، 2003).

مسیر تبدیل هموسیستین به سیستین یک طرفه بوده و امکان برگشت مسیر و تبدیل سیستین به هموسیستین وجود ندارد.

بنابراین، سیستین نمی تواند به متیونین تبدیل شود ولی متیونین می تواند به سیستین تبدیل گردد. در تحقیقات تغذیه ای، سیستین اسید آمینه غیر ضروری است که توسط متیونین کافی در جیره تامین می شود، در صورتی که مصرف سیستین نمی تواند جایگزین کمبود متیونین شود. واکنش های ترانس سولفوراسیون در بافت های محدودی مانند کبد، کلیه ها، روده کوچک و لوزالمعده انجام می گیرد. این مسیر نقش مهمی را در تدارک سیستین برای تولید گلوکاتون بازی می کند (Reed and Beatty، 1980).

غنی سازی جیره طیور تخمگذار با اسید فولیک موجب افزایش محتوای میزان فولات تخم پرندگان شده است (Sadegheymojarad و همکاران، 2018؛ Hebert و همکاران، 2005؛ Hoey و همکاران، 2009؛ Tactacan و همکاران، 2010؛ Dickson و همکاران، 2010).

ویتامین B6 یک اصطلاح عمومی برای تشریح فعالیت ویتامین پیریدوکسین (پیریدوکسول)، پیریدوکسال، پیریدوکسامین و فسفاتهای آن می باشد. اشکال آزاد تمام این مواد ویتامینی فعالیت مشابهی در همه گونه های پرندگان و پستانداران آزمایش شده دارند. اشکال شیمیایی اکثر این مواد، بین غذاهایی با منشاء

برای بررسی اثرات سطوح اسید فولیک (صفر، ۴ و ۸ میلی گرم در کیلوگرم) و پیریدوکسین (صفر، ۳ و ۶ میلی گرم در کیلوگرم) در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل ۳×۳ با ۹ تیمار و ۵ تکرار (۱۰ بلدرچین در هر تکرار) در فارم آموزشی و تحقیقاتی بلدرچین گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. پس از یک دوره عادت دهی ۷ روزه، بلدرچین های هر واحد آزمایشی توزین و بر اساس میانگین وزن مشابه به واحدهای آزمایشی تخصیص داده شدند و جیره های آزمایشی به مدت شش هفته به تغذیه بلدرچین ها رسید. در طول دوره پرورش ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت خاموشی تنظیم گردید.

جیره ها بر اساس توصیه های انجمن ملی تحقیقات NRC (1994) و با استفاده از نرم افزار UFFDA تنظیم شد. جیره ها بر پایه ذرت - سویا تهیه و تیمارهای آزمایشی از روز اول تا انتهای دوره اعمال شدند (جدول ۱). مقادیر مورد نیاز اسید فولیک سنتتیک (Adisseo Co. Ltd., Antony City, France) و پیریدوکسین (Adisseo Co. Ltd., Antony City, France) ابتدا به صورت یک پرمیکس در یک کیلوگرم از سویای آسیاب شده با استفاده از میکسر آزمایشگاهی مخلوط شد و سپس پرمیکس فوق به جیره اضافه گردید.

مصرف خوراک، میانگین وزن تخم های تولیدی، توده تخم تولیدی (وزن تخم تولیدی × درصد تخم تولیدی)، ضریب تبدیل خوراک، درصد زرده، درصد سفیده، درصد پوسته، واحد ها و رنگ زرده به طور هفتگی مورد ارزیابی و نتایج برای کل دوره مورد مقایسه قرار گرفت.

در پایان دوره، تعداد ۳ تخم از هر تکرار به مدت ۳ روز به عنوان نمونه جمع آوری و محتوای ۵- متیل تترا هیدروفولات در تخم بلدرچین های جمع آوری شده و مطابق روش گزارش شده توسط House و همکاران (2002) اندازه گیری شد. ابتدا زرده تخم بلدرچین ها جدا سازی و وزن شدند. جداسازی و اندازه گیری مقدار ۵-متیل تترا هیدروفولات در نمونه های زرده تخم بعد از جداسازی در بافر اسکوربات (pH 7/8) در یک اتمسفر نیتروژن در دستگاه HPLC (آجگلینت سری ۱۱۰۰، تکنولوژی آجگلینت، ویلمینگتون، ایالات متحده آمریکا) اندازه گیری شد. برای جداسازی از ستون C18 (۲۵cm × ۴/۶mm i.d) استفاده

میزان احتیاج به پیریدوکسین با افزایش سطح پروتئین جیره افزایش پیدا می کند. Haddad and Daghir (1981) گزارش نمودند که استفاده از جیره های فاقد پیریدوکسین در تغذیه جوجه های جوان باعث فرسایش سنگدان، ناهنجاریهای راه رفتن در پاها و در نهایت منجر به مرگ می شود. Scott و همکاران (1982) گزارش نمودند که کمبود مزمن پیریدوکسین باعث بروز پروزیس در جوجه های گوشتی می شود، کمبود پیریدوکسین در طیور بالغ باعث کاهش اشتها می شود که در نتیجه منجر به کاهش تولید تخم مرغ و کاهش قدرت جوجه درآوری می شود. در کمبود شدید با تحلیل سریع تخمدان، اویدوکت در مرغ و تغییر شکل و تحلیل تاج، غبغب، بیضه و فعالیت جنسی خروس می شود (Weise, 1976). اگرچه تحقیقات اخیر بعمل آمده از سوی باقری و همکاران (۱۳۹۵) و نیز Sadeghy و همکاران (2018) نشان داد که استفاده از اسید فولیک در جیره بلدرچین های تخمگذار باعث افزایش محتوی ۵- متیل تترا هیدرو فولات زرده تخم می - گردد ولی با توجه به نقش اسید فولیک و پیریدوکسین در متابولیسم هموسیستین و متیونین (Selhub and Rosenberg, 1996)، تاکنون تحقیقی در رابطه با تاثیر استفاده توأم اسید فولیک و پیریدوکسین بر بلدرچین های تخم گذار ژاپنی صورت نگرفته است. هموسیستین از دو مسیر به متیونین تبدیل می شود. مسیر اول انتقال متیل به هموسیستین از ۵-متیل تترا هیدروفولات و تشکیل متیونین است که بیشترین میزان چرخه متیلاسیون در بدن را به خود اختصاص می دهد. مسیر دیگر تبدیل هموسیستین به متیونین، متیلاسیون مجدد از طریق بتائین و تبدیل آن به دی متیل گلايسین و در نهایت تشکیل متیونین است. اولین آنزیم در این مسیر سیستاتیونین بتا سنتتاز وابسته به ویتامین B6 است. متعاقباً سیستاتیونین توسط آنزیم سیستاتیونین لیاز به کمک ویتامین B6 به سیستین تبدیل می شود. از اینرو مطالعه حاضر به منظور بررسی تاثیر استفاده از مکمل های اسید فولیک و پیریدوکسین با توجه به نقش و تاثیر مهم متابولیک هریک از آنها بر عملکرد، فراسنجه - های خونی و محتوای ۵-متیل تترا هیدروفولات تخم بلدرچین های ژاپنی انجام شد.

مواد و روش ها

این آزمایش با استفاده از ۳۶۰ بلدرچین تخمگذار ژاپنی ۴۲ روزه

به آزمایشگاه منتقل گردید. پلاسماهای این نمونه ها بعد از سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در دور ۵۰۰۰ جدا شد و تا اندازه گیری های آزمایشگاهی در دمای ۲۰- درجه ی سانتی گراد ذخیره گردید. سپس میزان گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید و پروتئین کل پلاسما با دستگاه اسپکتروفوتومتر (Alcyon 300, USA) و توسط کیت پارس آزمون اندازه گیری شد.

گردید. کنترل مراحل با استفاده از نرم افزار Chemstation صورت گرفت. استاندارد ۵-متیل تتراهیدروفولات به صورت نمک سدیم ۵-متیل تتراهیدروفولیک اسید (شرکت سیگما) استفاده شد.

در پایان دوره تحقیق (سن ۱۲ هفتگی)، ۳ بلدرچین از هر قفس جهت خونگیری انتخاب و کشتار شدند. نمونه خون در لوله های حاوی مواد ضد انعقادی (EDTA) جمع آوری گردید و فوراً

جدول ۱- اجزای خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه (بر اساس وضعیت موجود)

درصد	اجزا خوراکی
۵۴/۲۶	ذرت
۳۴/۸۱	سویا
۳/۲۲	روغن سویا
۰/۱۵	متیونین
۱/۴۵	دی کلسیم فسفات
۵/۲۵	کربنات کلسیم
۰/۲۰	نمک
۰/۱۷	بیکربنات سدیم
۰/۲۵	مکمل معدنی ^۱
۰/۲۵	مکمل ویتامینی ^۱
میزان مواد مغذی محاسبه شده جیره (درصد)	
۲۹۰۰	انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری در کیلو گرم)
۲۰	پروتئین خام
۰/۴۵	متیونین
۰/۷۰	متیونین + سیستین
۱/۰۰	لیزین
۰/۷۴	ترئونین
۲/۵	کلیسم
۰/۳۵	فسفر قابل دسترس
۰/۱۵	سدیم
۱	اسید فولیک (میلی گرم)
۳	پیریدوکسین (میلی گرم)

^۱ هر کیلو گرم خوراک حاوی ۵۵۰۰ واحد بین المللی رتینول، ۱۲۵۰ واحد بین المللی کوله کلسیفرول، ۱/۰۸ میلی گرم آلفاتوکوفرول، ۱/۲۵ میلی گرم منادیون، ۱ میلی گرم تیامین، ۴ میلی گرم ریبو فلاوین، ۵/۹ میلی گرم نیاسین، ۱۸/۰۸ میلی گرم اسید پانتوتینیک، ۱/۷۵ میلی گرم پیریدوکسین، ۰/۷۱ میلی گرم فولاسین، ۱ میلی گرم کوبالامین، ۱۵۰ میلی گرم کولین کلراید، ۶ میلی گرم سولفات منگنز، ۴۰ میلی گرم اکسید روی، ۳ میلی گرم سولفات مس، ۲۷ میلی گرم سولفات آهن، ۰/۰۶ میلی گرم سلنیت سدیم و ۲۰ میلی گرم یدید پتاسیم بود.

جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف اسید فولیک و پیریدوکسین بر شاخص های کمی و کیفی تخمهای تولیدی در بلدرچین ژاپنی (از سن ۶ هفتگی تا ۱۲ هفتگی)

واحد هاو	درصد سفیده	درصد زرده	وزن محتویات گرم	ضریب تبدیل خوراک	تعداد تخم	مصرف خوراک گرم	اسید فولیک (mg/kg)	پیریدوکسین (mg/kg)
۹۳/۶۷	۶۰/۶۹	۳۰/۶۳	۱۱/۰۱	۳/۰۳	۴۲/۸۵	۱۷۶/۹۶	صفر	
۹۳/۶۶	۶۰/۳۹	۳۰/۴۴	۱۰/۹۱	۳/۰۵	۴۲/۰۸	۱۷۰/۷۹	۴	
۹۳/۶۹	۶۱/۲۸	۳۰/۶۵	۱۰/۸۵	۳/۱۱	۴۲/۸۱	۱۶۸/۸۸	۸	
پیریدوکسین (mg/kg)								
۹۳/۰۷	۶۱/۲۴	۳۰/۵۵	۱۰/۸۶	۳/۱۰	۴۲/۲۷	۱۷۴/۹۰	صفر	
۹۳/۰۲	۶۰/۵۱	۳۰/۲۸	۱۰/۹۶	۳/۰۴	۴۲/۴۷	۱۷۳/۳۶	۳	
۹۲/۸۴	۶۰/۶۱	۳۰/۹۱	۱۰/۹۵	۳/۰۶	۴۲/۵۳	۱۶۹/۳۸	۶	
							اسید فولیک	پیریدو کسین
۹۴/۱۷	۶۱/۰۳	۳۰/۴۷	۱۰/۹۹	۳/۰۲	۴۳/۵۳	۱۷۲/۹۴	۰	۰
۹۲/۸۶	۶۰/۰۵	۳۰/۷۵	۱۱/۰۳	۲/۹۷	۴۲/۷۲	۱۶۰/۶۷	۵	۰
۹۳/۹۵	۶۰/۹۷	۳۰/۶۴	۱۱/۰۲	۳/۰۵	۴۲/۱۴	۱۷۳/۰۳	۱۰	۰
۹۲/۵۴	۶۱/۹۴	۳۰/۲۱	۱۰/۸۵	۳/۱۲	۴۰/۶۱	۱۷۷/۸۱	۰	۴
۹۳/۴۵	۶۰/۱۴	۲۹/۹۷	۱۱/۱۳	۳/۰۵	۴۲/۴۴	۱۶۹/۴۳	۵	۴
۹۳/۴۱	۵۹/۹۷	۳۰/۴۱	۱۰/۷۵	۳/۱۲	۴۲/۷۱	۱۶۵/۱۴	۱۰	۴
۴۲/۴۹	۶۰/۶۳	۳۱/۰۰	۱۰/۷۳	۳/۰۷	۴۲/۳۵	۱۷۳/۹۴	۰	۸
۹۲/۶۱	۶۰/۲۸	۳۰/۲۸	۱۰/۷۳	۳/۱۰	۴۲/۱۱	۱۷۵/۰۴	۵	۸
۸۹/۹۸	۶۱/۸۱	۳۰/۶۱	۱۱/۰۸	۳/۰۷	۴۲/۴۲	۱۸۱/۹۰	۱۰	۸
۰/۷۴	۰/۷۴	۰/۵۱	۰/۱۹	۰/۱۲	۱/۱۴	۴/۸۰	خطای استاندارد	
منابع تغییر								
۰/۲۱	۰/۳۲	۰/۸۷	۰/۵۳	۰/۴۷	۰/۶۹	۰/۱۱	اسید فولیک	
۰/۴۹	۰/۴۱	۰/۲۱	۰/۷۱	۰/۷۴	۰/۹۴	۰/۲۳	پیریدوکسین	
۰/۳۴	۰/۰۹	۰/۲۷	۰/۴۲	۰/۶۹	۰/۶۱	۰/۱۸	اسید فولیک × پیریدوکسین	

تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و رویه GLM صورت گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به روش فاکتوریل ۳×۳ با استفاده از ۳ سطح پیریدوکسین و ۳ سطح اسید فولیک به مرحله اجرا درآمد. نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کلموگرواسمیرنوف (Kolmogrov-Smirnov) بررسی گردید. میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح معنی داری ۰/۰۵ مقایسه شدند.

نتایج عملکرد

همکاران (2002) اعلام نمودند که استفاده از اسید فولیک در سطوح بیش از ۸ میلی گرم در هر کیلوگرم جیره اثر معنی داری بر وزن تخم و توده تخم تولیدی ندارد. همچنین Keshavarz و همکاران (2003) نشان داد که استفاده از مکمل اسید فولیک به میزان ۰/۷ تا ۰/۵ میلی گرم در هر کیلوگرم جیره طیور تخم گذار تاثیری بر تولید تخم و عملکرد مرغ‌های تخمگذار ندارد. and Kachana Bunchasak (2009) اعلام نمودند که استفاده از سطوح بالای اسید فولیک (۶ میلی گرم در هر کیلوگرم جیره) در جیره‌های بر پایه ذرت در مرغ‌های تخمگذار تاثیری بر تعداد و توده تخم مرغ تولیدی ندارد. البته مخالف با نتایج تحقیق اخیر، Shain و همکاران (2003) گزارش کردند که اضافه کردن یک میلی گرم اسید فولیک به هر کیلوگرم از جیره‌های آزمایشی در شرایط تنش حرارتی می‌تواند باعث بهبود عملکرد و افزایش وزن زنده گردد. احتمالاً عدم تاثیر مکمل سازی اسید فولیک بر برخی از صفات مورد مطالعه در تحقیق اخیر به دلیل عدم وجود تنش و همچنین تامین نیاز بلدرچین های تخم گذار به متیونین از طریق جیره بوده به نحوی که تیمارهای آزمایشی نیازی به استفاده از منابع مکمل اسید فولیک به منظور استفاده از آن جهت تامین گروه‌های متیل مورد نیاز جهت سنتز متیونین از هموسیستین را نداشته‌اند لذا اضافه کردن اسید فولیک به جیره های آزمایشی اثر قابل ملاحظه ای بر عملکرد حیوان نداشته است. البته تامین مقدار کافی اسید فولیک و پیریدوکسین برای حمایت از عملکرد استاندارد نیز می‌تواند دلیل عدم تاثیر سطوح اضافی این دو ویتامین بر عملکرد باشد. به ترتیب مقادیر اسید فولیک و پیریدوکسین محاسبه شده در جیره پایه، ۱ و ۳ میلی گرم در کیلوگرم بود که مطابق توصیه انجمن ملی تحقیقات تامین شده بود (Scott و همکاران، 1982).

تأثیر استفاده از سطوح مختلف اسید فولیک و پیریدوکسین بر مصرف خوراک، تعداد تخم تولیدی و ضریب تبدیل خوراک، وزن محتویات تخم، درصد زرده، درصد سفیده و واحد هاو، در بلدرچین‌های تخم گذار ژاپنی از سن ۶ هفتگی تا ۱۲ هفتگی در جدول ۲ آمده است. هیچکدام از شاخصهای کمی و کیفی تخم بلدرچین تحت تاثیر استفاده از سطوح مختلف اسید فولیک و پیریدوکسین قرار نگرفت ($p > 0/05$).

محتوای ۵- متیل تترا هیدرو فولات زرده تخم

نتایج مربوط به تاثیر سطوح مختلف استفاده از اسید فولیک و پیریدوکسین بر محتوای ۵- متیل تترا هیدرو فولات زرده تخم در جدول ۳ آمده است. محتوای ۵- متیل تترا هیدرو فولات زرده به طور معنی داری تحت تاثیر سطح مکمل سازی جیره‌های آزمایشی با اسید فولیک قرار گرفت ($0/01 < p$) و با افزایش میزان اسید فولیک مکمل سطح ۵- متیل تترا هیدرو فولات زرده نیز افزایش یافت به نحوی که مقدار آن از ۸۰۸ میکرو گرم در هر ۱۰۰ گرم زرده تخم تیمار شاهد به ترتیب به ۸۴۰ و ۱۱۶۴ میکرو گرم در هر ۱۰۰ گرم زرده تخم تیمارهای حاوی ۴ و ۸ میکروگرم اسید فولیک در هر کیلوگرم جیره افزایش یافت. همچنین هیچ یک از فراسنجه های خونی گلوکز، کلسترول، تری گلیسیرید و پروتئین کل نمونه‌های خون پرندگان تیمارهای آزمایشی تحت تاثیر استفاده از سطوح مختلف اسید فولیک و پیریدوکسین قرار نگرفتند ($p > 0/05$). اثرات متقابل پیریدوکسین و اسید فولیک نیز برای هیچکدام از فراسنجه های خونی معنی دار نبود ($p > 0/05$).

بحث

نتایج تحقیق اخیر عدم تاثیر افزودن اسید فولیک یا پیریدوکسین بر پارامترهای عملکردی بلدرچین‌های تخم- گذار ژاپنی را نشان داد. به طور مشابهی، House و

(Henderson, 1990). نتایج اخیر بیانگر ارتباط خطی و مثبت سطح ۵- متیل ترا هیدرو فولات زرده با سطح اسید فولیک جیره است و همچنین با ظرفیت بالای پلاسمای خون بلدرچین های ژاپنی برای نگهداری و حمل فولات در ارتباط است چرا که بر اساس نتایج تحقیقات قبلی، سطح فولات زرده به طور مستقیم از محتوای فولات موجود در پلازما تاثیر می‌گیرد و حد نهائی فولات زرده با توجه به حد یا ظرفیت اشباع فولات در پلازما مشخص می‌شود. به عبارت بهتر پلازما به عنوان یک منبع وظیفه تامین فولات برای بارگذاری در زرده را برعهده دارد (Sherwood و همکاران، 1993). Tactacan و همکاران (2010) یک سیستم حمل کننده اسید فولیک در دئودنوم روده مرغ‌های تخمگذار را شناسایی و اعلام کردند که بالاترین جذب اسید فولیک در روده اسیدی (pH=۶) اتفاق افتاد. بیشترین مقدار جذب اسید فولیک در دئودنوم و ژژنوم و کمترین جذب در ایلئوم و سکوم مشاهده شد. ممکن است تفاوت‌های دستگاه گوارش بلدرچین های ژاپنی در مقایسه با سایر طیور به گونه‌ای بوده است که زمینه را برای جذب بالاتر اسید فولیک مساعد نموده باشد. همچنین احتمال این وجود دارد که میزان بالای ۵- متیل ترا هیدرو فولات مشاهده شده در زرده تخم بلدرچین های ژاپنی تغذیه شده با جیره‌های حاوی اسید فولیک و پیریدوکسین در مقایسه با تیمار شاهد با سن بلدرچین های تحت آزمایش (که در ابتدای دوره تخمگذاری و در سن ۶ هفتگی بودند) در ارتباط باشد. نتایج مطالعه Dickson و همکاران (۲۰۱۰) در مرغ‌های لاین تخمگذار نشان داد که بیشترین میزان فولات تخم مرغ در اولین دوره های شروع آزمایش بدست آمد و با بالغ شدن مرغها (بعد از سن ۲۸ هفتگی) توانایی آنها در جذب فولات کاهش یافت و ذخیره فولات در زرده از طریق مگنوم توسط پروتئینهای باند شونده با فولات کاهش پیدا کرد. از اینرو مشاهده سطوح بالای فولات در زرده بلدرچین های مورد آزمایش (که در ابتدای دوره تخمگذاری بودند) احتمالاً در ارتباط با توانائی بالای دستگاه گوارش در انتقال فولات موجود در روده به مگنوم قابل توجهی باشد.

نتایج فراسنجه‌های خونی بلدرچین های ژاپنی در تحقیق اخیر نشان داد که هیچکدام از فراسنجه‌های خونی مورد ارزیابی تحت تاثیر افزودن اسید فولیک و یا پیریدوکسین قرار نگرفت. احتمالاً علت مشاهده این نتایج در ارتباط با مکفی بودن سطح پروتئین جیره‌های پایه در ارتباط باشد و بیانگر این موضوع باشد که نرخ ترانس سولفوراسیون هموسیستئین پلاسمای خون تیمارهای آزمایشی نسبت به ری متیلاسیون آن به مراتب بیشتر بوده است و از اینرو میزان متیونین و به طبع آن پروتئین کل نمونه‌های خونی تحت تاثیر استفاده از مکمل‌های اسید فولیک و یا پیریدوکسین قرار نگرفته است. به نظر می‌رسد که پیریدوکسین با تحریک عملکرد آنزیم های سیستاتیونین بتا سنتتاز و سیستاتیونین گاما لیگاز ترانس سولفوراسیون هموسیستئین را تحریک نموده است (Selhub and Rosenberg, 1996).

محققین متعددی گزارش نموده اند که افزایش محتوای ۵- متیل ترا هیدرو فولات تخم مرغ با افزودن فولات به جیره تنها تا حد مشخصی امکان پذیر می‌باشد و یا به عبارت بهتر افزایش محتوای ۵- متیل ترا هیدرو فولات زرده تخم دارای محدودیت بوده و در بالاتر از سطوح مشخصی از اسید فولیک مکمل به حد اشباع می‌رسد (Sherwood و همکاران، 1993; House و همکاران، 2003; Hebert و همکاران، 2005; Dickson و همکاران، 2010; Tactacan و همکاران، 2010). محتوای ۵- متیل ترا هیدرو فولات موجود در زرده تخم بلدرچین‌های تیمارهای مختلف آزمایشی تحت تاثیر سطح مکمل سازی با اسید فولیک قرار گرفت و با افزایش سطح مکمل سازی محتوای ۵-متیل ترا هیدرو فولات زرده نمونه‌های تیمارهای مختلف نیز افزایش یافت. احتمالاً دلیل مشاهده نتایج اخیر با بالانس بودن انرژی و پروتئین جیره های آزمایشی در ارتباط باشد و احتمالاً بیانگر این است که اسید فولیک مکمل شده در جیره به عنوان منبع تامین کننده واحد تک کربنه (متیل) برای متیلاسیون مجدد هموسیستئین از سوی بلدرچین‌های تخمگذار مورد استفاده قرار نگرفته است و پس از تبدیل شدن به فرم فعال بیولوژیکی خود در کبد (۵-متیل ترا هیدرو فولات) عیناً به زرده تخم بلدرچین‌ها وارد شده است

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف اسید فولیک و پیریدوکسین بر محتوای فولات زرده و فراسنجه های خونی

پروتئین کل گرم/دسی لیتر	تری گلیسرید میلی گرم/دسی لیتر	کلسترول میکرو گرم/دسی لیتر	گلوکز میکرو گرم/دسی لیتر	فولات ۱۰۰ گرم زرده میکرو گرم	اسید فولیک (mg/kg)	
۲/۳۷	۱۴۷/۱۱	۱۷۴/۴۴	۲۵۷/۷۲	۸۰۸/۶۲ ^b	صفر	
۲/۳۳	۱۳۴/۸۴	۱۷۵/۰۵	۲۴۹/۷۵	۸۴۰/۸۴ ^b	۴	
۲/۳۴	۱۳۷/۵۱	۱۷۷/۵۲	۲۴۶/۱۱	۱۱۶۴/۷۷ ^a	۸	
پیریدوکسین (mg/kg)						
۲/۲۸	۱۲۹/۳۴	۱۷۷/۲۷	۲۴۳/۵۱	۹۲۲/۵۸	صفر	
۲/۳۱	۱۳۸/۷۸	۱۸۰/۸۳	۲۴۴/۲۷	۱۰۱۶/۴۴	۳	
۲/۳۴	۱۴۶/۳۳	۱۷۷/۸۸	۲۵۳/۰۱	۸۷۵/۲۱	۶	
					پیریدوکسین	اسید فولیک
					سین	
۲/۲۱	۱۳۸/۲۷	۱۷۲/۳۴	۲۵۷/۵۸	۹۰۲/۴۱	۰	۰
۲/۳۴	۱۴۴/۴۲	۱۷۷/۱۶	۲۶۴/۱۷	۷۹۹/۵۴	۵	۰
۲/۶۱	۱۴۲/۶۴	۱۷۵/۰۹	۲۴۷/۱۴	۷۲۳/۸۹	۱۰	۰
۲/۲۱	۱۲۹/۸۱	۱۶۸/۸۹	۲۴۲/۳۴	۸۳۲/۹۲	۰	۴
۲/۳۳	۱۲۵/۳۱	۱۸۹/۸۴	۲۳۷/۵۲	۹۱۳/۵۷	۵	۴
۲/۴۱	۱۳۸/۴۵	۱۷۵/۵۰	۲۴۷/۳۴	۷۷۶/۱۲	۱۰	۴
۲/۱۸	۱۴۱/۳۵	۱۹۱/۸۳	۲۵۲/۳۱	۱۰۳۲/۳۱	۰	۸
۲/۲۴	۱۴۰/۰۱	۱۶۴/۵۱	۲۴۷/۰۱	۱۳۳۶/۲۱	۵	۸
۲/۵۴	۱۲۶/۳۷	۱۸۳/۱۶	۲۵۴/۲۳	۱۱۲۵/۶۴	۱۰	۸
۰/۰۹	۷/۴۷	۸/۲۴	۰/۱۷	۹۲/۸۸	خطای استاندارد	
P - value اثرات اصلی و متقابل					منابع تغییر	
۰/۵۱	۰/۱۸	۰/۴۳	۰/۱۴	۰/۰۰۱	اسید فولیک	
۰/۱۱	۰/۱۴	۰/۵۴	۰/۳۷	۰/۱۲	پیریدوکسین	
۰/۸۴	۰/۴۷	۰/۲۴	۰/۵۱	۰/۲۱	اسید فولیک × پیریدوکسین	

^{a-c} میانگین های دارای اندیس های متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی دار هستند ($p < 0.05$)

نتیجه گیری

بالتر اسید فولیک (۸ میلی گرم در کیلوگرم خوراک) منجر به افزایش محتوای ۵- متیل تتراهیدروفولات زرده می گردد.

نتایج کلی بدست آمده از این تحقیق نشان داد که اگرچه مکمل سازی جیره های بلدرچین های تخمگذار ژاپنی با اسید فولیک و پیریدوکسین تأثیر معنی داری بر عملکرد ندارد ولی مصرف سطوح

منابع

- Hebert, K; House, J.D. and Guenter, W. (2005). Effect of dietary folic acid supplementation on egg folate content and the performance and folate status of two strains of laying hens. *Poultry Science*. 84:1533-1538.
- Henderson, G.B. (1990). Folate-Binding proteins. *Annual review of nutrition*. 10:3 19-335.
- Henk, J.B. and Yvo, S. (2011). Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *Journal of inherited metabolic disease*. 34:75-81.
- Herbert, V. (1987). Recommended dietary intakes (RDI) of folate in humans. *The American journal of clinical nutrition*. 45(4):661-670.
- Hoey L.1., McNulty H., McCann E.M., McCracken K.J., Scott J.M., Marc B.B., Molloy A.M., Graham, C. and Pentieva K. (2009). Laying hens can convert high doses of folic acid added to the feed into natural folates in eggs providing a novel source of food folate. *The British journal of nutrition*. 101:206-212.
- House, J.D., Braun, K., Balance, D.M., O'Connor, C.P. and Guenter, W. (2002). The enrichment of eggs with folic acid through supplementation of laying hen diet. *Poultry Science*. 81:1332-1337.
- House, J.D.; O'Connor, C.P.; and Guenter, W. (2003). Plasma homocysteine and glycine are sensitive indices of folate status in a rodent model of folate depletion and repletion. *Journal of agricultural and food chemistry*. 51:4461-4467.
- Keshavarz, K. (2003). Effects of reducing dietary protein, methionine, choline, folic acid, and vitamin B12 during the late stages of the egg production cycle on performance and eggshell quality. *Poultry Science*. 82:1407-1414.
- خاکپور ایرانی، ف. (۱۳۹۱). بررسی اثرات سطوح مختلف لیزین و پیریدوکسین بر عملکرد، خصوصیات لاشه و وضعیت آنتی اکسیدانی بدن جوجه‌های گوشتی تحت استرس گرمایی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه.
- باقری، س.، جانمحمدی، ح.، ملکی، ر.، استاد رحیمی، ع. و کیانفر، ر. (۱۳۹۵). اثرات افزودن اسید فولیک و روی بر محتوای ۵-متیل تتراهیدروفولات زرده، کیفیت تخم مرغ و عملکرد مرغ‌های تخمگذار
- Paul, M. C., Joseph M. B., Marc R. B., Gordon M. C., Mark, L., Joel, M. and Jeffrey D.W. (2010). Folate. In *Encyclopedia of Dietary Supplements*. CRC Press, New York. 219-228.
- Beatty, P.W. and Reed, D.J. (1980). Involvement of the cystathionine pathway in the biosynthesis of glutathione by isolated rat hepatocytes. *Archives of biochemistry and biophysics*. 204:80-87.
- Bunchasak, C and Kachana, S. (2009). Dietary folate and vitamin B12 supplementation and consequent vitamin deposition in chicken eggs. *Tropical Animal Health and Production*. 41:1583-1589.
- Daghir N. J and Haddad K. S. (1981). Vitamin B6 in the etiology of gizzard erosion in growing chickens. *Poultry Science*. 60: 988-992.
- Dickson, T.M., Tactacan; G.B., Hebert; K., Guenter, W. and House, J.D. (2010). Optimization of folate deposition in eggs through dietary supplementation of folic acid over the entire production cycle of Hy-Line W36, Hy-Line W98, and CV20 laying hens. *The journal of applied poultry research*. 19:80-91.

- Lima, C.P., Davis, S.R., Mackey, A.D., Scheer, J.B., Williamson, J and Gregory J.F. III.(2006). Vitamin B-6 deficiency suppresses the hepatic transsulfuration pathway but increases glutathione concentration in rats fed AIN-76A or AIN-93G diets. *The Journal of nutrition*. 136:2141-2147.
- Martinez, M., Cuskelly, G.J., Williamson, J., Toth, J.P. and Gregory J.F. (2000). Vitamin B-6 deficiency in rats reduces hepatic serine hydroxymethyltransferase and cystathionine β -synthase activities and rates of in vivo protein turnover, homocysteine remethylation and transsulfuration. *The Journal of nutrition*. 130:1115-1123.
- McDowell L.R. (2000). Vitamins in animal and human nutrition. Second edition. *Iowa State University Press*.
- Mudd, S.H. and Poole, J.R. (1975). Labile methyl balances for normal humans on various dietary regimes. *Metabolism: clinical and experimental*. 24: 721-735.
- NRC. (1994). Nutrient requirements of poultry, 9th rev ed. National Research council, National Academy Press, Washington, DC.
- Sadegheymojarad, R., Farhomand, P. and Daneshyar, M. (2018). Effect of dietary betaine and folic acid supplementation on performance, egg folate content and egg production of Japanese quail. *Iranian Journal of Applied Animal Science (IJAS)*, in press.
- Scott M. L., Nesheim M.C. and Young R.J. (1982). Nutrition of the chicken.. Scott, Ithaca, New York. P. 119
- Selhub, J. and Rosenberg, I.H. (1996). Folic acid. In "Present Knowledge in Nutrition" (E.E. Ziegler and L.J. Filer, Jr., eds), 7th ed., ILSI Press, Washington, D.C. papers. 206-219.
- Sahin, K.M., Onderci, M., Sahin, N., Gursu, M.F., Kucuk, O. (2003). Dietary vitamin C and folic acid supplementation Ameliorates the detrimental effects off heat stress in Japanese quail. *The Journal of nutrition*. 133: 1882-1886.
- Sherwood, T.A.; Alphin; R.L., Saylor W.W. and White, H.B. III. (1993). Folate metabolism and deposition in eggs by laying hens. *Archives of biochemistry and biophysics*. 307:66-72.
- Tactacan, G.B, Jing, M., Thiessen, S., Rodriguez-Lecompte, J.C, O'Connor, D.L., Guenter, W. and House, J.D. (2010). Characterization of folate-dependent enzymes and indices of folate status in laying hens supplemented with folic acid or 5-methyltetrahydrofolate. *Poultry. Science*. 89:688-696.
- Weise F.G. (1976). An investigation of the role of fiber, Kilocalories and vitamin B6 on serum and egg cholesterol in the laying hen. M. Sc, Thesis, Cornell Univ.

■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■

