نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۱، زمستان ۱۳۹۷
ص‌ص: ۲۱۹~۲۳۰

تاثیر اسیدفولیک و پیریدوکسین برمحتوای ۵–متیل تتراهیدروفولات زرده تخم و عملکرد بلدرچین های ژاپنی

- **زینال همتی**
ددانشجوی 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

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.120212.1615

چکیده

این تحقیق به منظور ارزیابی اثرات اسید فولیک (صفر، ٤ و ٨ میلی گرم در هر کیلوگرم) و پیریدوکسین (صفر، ٣ و ٦ میلی‌گرم در هر کیلوگرم) بر عملکرد و محتوای ٥-متیل تتراهیدروفولات در زرده تخم بلدرچین‌های ژاپنی با استفاده از ٣٦٠ قطعه بلدرچین تخم گذار در سن ٦ هفتگی، به مدت ٤٢ روز بر پایه طرح کاملاً تصادفی و در قالب یک آزمایش فاکتوریل ٣×٣ انجام شد. نتایج نشان داد که مکمل‌سازی سطوح مختلف اسید فولیک و پریدوکسین به جیره‌های بلدرچین‌های تخمگذار ژاپنی تاثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک، تعداد تخم تولیدی، ضریب تبدیل خوراک، وزن محتویات تخم، درصد زرده، درصد سفیده و واحد هاو تخم‌های تولیدی نداشت ($p > ۰/۰۵$). محتوای ٥- متیل تترا هیدرو فولات زرده تحت تاثیر مکمل‌سازی اسید فولیک قرار گرفت و مقدار آن از ٨٠٩ میکرو گرم در هر ١٠٠ گرم زرده برای تیمار شاهد به ترتیب به ٨٤١ و ١١٦٥ میکروگرم در هر ١٠٠ گرم زرده تخم تیمارهای حاوی ٤ و ٨ میلی گرم اسید فولیک در هر کیلوگرم جیره افزایش یافت. به طور کلی مکمل‌سازی اسید فولیک و پیریدوکسین به جیره‌های بلدرچین‌های تخمگذار ژاپنی تاثیر معنی داری بر عملکرد نداشت ولی مصرف ٨ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید فولیک منجر به افزایش محتوای ٥- متیل تتراهیدروفولات زرده گردید.

واژه‌های کلیدی: اسید فولیک، بلدرچین ژاپنی، پیریدوکسین، عملکرد، ٥- متیل تترا هیدرو فولات

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

The effects of folic acid pyridoxine on yolk 5- methyltetrahydrofolate content and laying quails performance

By: Zeynal Hemati[1], Mohsen Daneshyar[2]*, Parviz Farhoomand[3]
[1]PhD student, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Urmia University
[2]Associate professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Urmia University
[3] Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Urmia University.

Received:January 2018 **Accepted: April 2018**

This study was conducted by 360 lying 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 respectivly for 4 and 8 mg/kg folic acid fed birds (P<0.01). In conclusion, dietary supplementation of folic acid to lying 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

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 به‌خصوص ساخت پورین‌ها و پریمیدین‌های موجود در ساختار DNA وRNA، متابولیسم برخی از اسیدهای آمینه نظیر سرین و گلایسین و نیز سنتز متیونین در نتیجه متیلاسیون دوباره هموسیستئین از اهمیت بالایی برخوردار است (Paul و همکاران، 2010). از اینرو توجه به محتوای اسید فولیک در جیره‌های طیور تخم گذار و گوشتی همواره از سوی انجمن ملی تحقیقات NRC[1] (1994) مورد توجه بوده است. فولاتهای موجود در مواد غذایی عمدتاً به صورت پلی‌گلوتامات هستند و از اینرو لازم است که گلوتامات‌های اضافی با فرآیند مربوطه جدا شده و به شکل مونوگلوتامات جذب شوند (Henderson، 1990).

متابولیسم متیونین در بدن موجودات زنده باعث بوجود آمدن هموسیستئین می‌گردد. لذا کاهش میزان هموسیستئین موجود در منابع غذائی از طریق تبدیل هموسیستئین به متیونین در تغذیه از اهمیت فراوانی برخوردار است، چراکه افزایش سطح هموسیستئین پلاسما با افزایش خطر ابتلا به آترواسکلروزیس، بروز بیماریهای قلبی-عروقی و کاهش توانایی‌های شناختی مغز و افسردگی، سکته، آلزایمر و اختلال در رشد جنین انسان می‌گردد (Hebert و همکاران، 2005). اصولاً کاهش محتوای هموسیستئین از طریق متیلاسیون مجدد هموسیستئین و تبدیل آن به متیونین با استفاده از منابع تامین‌کننده گروه متیل مانند اسید فولیک، بتائین و ... و یا از طریق تبدیل آن به سیستاتیونین و سیستئین

[1] National Research Council

(ترانس سولفوراسیون) تحت تاثیر آنزیم‌های سیستاتیونین بتا سنتتاز و سیستاتیونین هیدرولاز در مجاورت پیریدوکسین (B6) امکان پذیر است (Yvo and Henk، 2011).

متیلاسیون دوباره هموسیستئین و تبدیل آن به متیونین برای تامین بخشی ازمتیونین موردنیاز توسط آنزیم متیونین سینتازصورت می‌گیرد (House و همکاران، 2003). مصرف گروه‌های حاوی متیل مانند متیونین، نیازبه متیلاسیون مجدد را کاهش می‌دهد بنابراین، هموسیستئین احتمالاً بیشتر به سمت ترانس سولفوراسیون پیش می‌رود (and Mudd Poole، 1975). لذا یکی از مهمترین شاخص‌های ارزیابی میزان نیازبه فولات، اندازه‌گیری میزان هموسیستئین سرم خون است (House و همکاران، 2003).

مسیرتبدیل هموسیستئین به سیستئین یک طرفه بوده وامکان برگشت مسیر و تبدیل سیستئین به هموسیستئین وجود ندارد. بنابراین، سیستئین نمی‌تواند به متیونین تبدیل شود ولی متیونین می‌تواند به سیستئین تبدیل گردد. در تحقیقات تغذیه‌ای، سیستئین اسیدآمینه غیرضروری است که توسط متیونین کافی درجیره تامین می‌شود، درصورتی‌که مصرف سیستئین نمی‌تواند جایگزین کمبود متیونین شود. واکنش-های ترانس سولفوراسیون دربافت‌های محدودی مانند کبد، کلیه ها، روده کوچک و لوزالمعده انجام می‌گیرد. این مسیر نقش مهمی را در تدارک سیستئین برای تولید گلوتاتیون بازی می‌کند (Reed and Beatty، 1980).

غنی‌سازی 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 می‌باشد. اشکال آزاد تمام این مواد ویتامینی فعالیت مشابهی در همه گونه‌های پرندگان و پستانداران آزمایش شده دارند. اشکال شیمیایی اکثر این مواد، بین غذاهایی با منشاء 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، دآمیناسیون، دسولفیدراسیون و متابولیسم اسیدهای آمینه است (McDowell، 2000).

پیریدوکسین به‌عنوان کوآنزیم آنزیم‌های سیستاتیونین بتاسینتاز و سیستاتیونین گاما لیاز در متابولیسم (ترانس سولفوراسیون) متیونین نقش دارند. این آنزیمها درکاهش و کنترل میزان هموسیستئین خون (شاخص بروز بیماری های قلبی و عروقی) دارای نقش و اهمیت ویژه‌ای است (Selhub and Rosenberg، 1996). از اینرو اندازه‌گیری و ارزیابی میزان هموسیستئین پلاسما می‌تواند به عنوان شاخصی از چگونگی تاثیر و عملکرد پیریدوکسین باشد به نحوی که محتوای هموسیستئین سرم در کمبود پیریدوکسین افزایش پیدا می‌کند (McDowell، 2000: Martinez و همکاران، 2000). از اینرو می توان از هموسیستئین 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 جیره‌های 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 میلی‌گرم را به ترتیب برای اسید فولیک و پیریدوکسین در جیره بلدرچین‌های 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 می‌گردد، به عبارت بهتر

میزان احتیاج به پیریدوکسن با افزایش سطح پروتئین جیره افزایش پیدا می‌کند. 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 جوجه‌های گوشتی می شود، کمبود پیریدوکسین در طیور بالغ باعث کاهش اشتها می‌شود که در نتیجه منجر به کاهش تولید تخم مرغ و کاهش قدرت جوجه‌درآوری می‌شود. درکمبود شدید با تحلیل سریع تخمدان، اویدوکت در مرغ و تغیر شکل و تحلیل تاج، غبغب، بیضه و فعالیت جنسی خروس می شود (Weise، 1976). اگرچه تحقیقات اخیر بعمل آمده ازسوی باقری و همکاران (۱۳۹۵) و نیز Sadeghey و همکاران (2018) نشان داد که استفاده از اسید فولیک در جیره بلدرچین‌های تخمگذار باعث افزایش محتوی ۵- متیل تترا هیدرو فولات زرده تخم می-گردد ولی با توجه به نقش اسید فولیک و پیریدوکین در متابولیسم هموسیستئن و متیونین (Selhub and Rosenberg، 1996)، تاکنون تحقیقی در رابطه با تاثیر استفاده توام اسید فولیک و پیریدوکسین بر بلدرچین های تخم گذار ژاپنی صورت نگرفته است. هموسیستئین از دو مسیر به متیونین تبدیل می شود. مسیر اول انتقال متیل به همو سیستئین از ۵-متیل تتراهیدروفولات و تشکیل متیونین است که بیشترین میزان چرخه متیلاسیون در بدن را به خود اختصاص می‌دهد. مسیر دیگر تبدیل همو سیستئین به متیونین، متیلاسیون مجدد از طریق بتائین و تبدیل آن به دی‌متیل گلایسین و در نهایت تشکیل متیونین است. اولین آنزیم در این مسیر سیستاتیونین بتا سنتتازوابسته به ویتأمین B6 است. متعاقباً سیستاتیونین توسط آنزیم سیستاتیونین لیاز به کمک ویتامین B6 به سیستئین تبدبل می‌شود. از اینرو مطالعه حاضر به منظور بررسی تاثیراستفاده از مکمل های اسیدفولیک و پیریدوکسین با توجه به نقش و تاثیر مهم متابولیک هریک از آنها بر عملکرد، فراسنجه-های خونی ومحتوای ۵-متیل تتراهیدروفولات تخم بلدرچین های ژاپنی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با استفاده از ۳۶۰ بلدرچین تخمگذار ژاپنی ۴۲ روزه 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 روشنائی و ۸ ساعت خاموشی تنظیم گردید.

جیره‌ها بر اساس توصیه‌های انجمن ملی تحقیقات NRC (1994) و با استفاده از نرم‌افزار UFFDA تنظیم شد. جیره‌ها برپایه 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 پریمیکس در یک کیلوگرم از سویای آسیاب شده با استفاده از میکسر آزمایشگاهی مخلوط شد و سپس پریمیکس 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 هاو و رنگ زرده به‌طور 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 تتراهیدروفولات در نمونه های زرده تخم بعد از جداسازی در بافر اسکوربات (pH ۷/۸) در یک اتمسفر نیتروژن در دستگاه HPLC (آجگلیینت سری ۱۱۰۰، تکنولوژی آجگلیینت، ویلمینگتون، ایالات متحده آمریکا) اندازه‌گیری شد. برای جداسازی ازستون C18 (۲۵cm×۴/۶mm i.d) استفاده

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 لوله‌های حاوی مواد ضدّ انعقادی (EDTA) جمع آوری گردید و فورا به آزمایشگاه منتقل گردید. پلاسمای این نمونه ها بعد از سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در دور ۵۰۰۰ جدا شد و تا اندازه گیری‌های آزمایشگاهی در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد 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.

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

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

[۱]هر کیلوگرم خوراک حاوی ۵۵۰۰ واحد بین المللی رتینول، ۱۲۵۰ واحد بین المللی کوله کلسیفرول، ۱/۰۸ میلی‌گرم آلفاتوکوفرول، ۱/۲۵ میلی‌گرم منادیون، ۱ میلی‌گرم تیامین ، ۴ میلی‌گرم ریبو فلاوین، ۵/۹ میلی‌گرم نیاسین، ۱۸/۰۸ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۱/۷۵ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۰/۷۱ میلی‌گرم فولاسین، ۱ میلی‌گرم کوبالامین، ۱۵۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۶ میلی‌گرم سولفات منگنز، ۴۰ میلی‌گرم اکسید روی، ۳ میلی‌گرم سولفات مس، ۲۷ میلی‌گرم سولفات آهن، ۰/۰۶ میلی‌گرم سلنیت سدیم و ۲۰ میلی‌گرم 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 ٦ هفتگی تا ۱۲ هفتگی)

اسید فولیک (mg/kg)	مصرف خوراک گرم	تعداد تخم	ضریب تبدیل خوراک	وزن محتویات گرم	درصد زرده	درصد سفیده	واحد هاو
صفر	۱۷۶/۹۶	۴۲/۸۵	۳/۰۳	۱۱/۰۱	۳۰/۶۳	۶۰/۶۹	۹۳/۶۷
۴	۱۷۰/۷۹	۴۲/۰۸	۳/۰۵	۱۰/۹۱	۳۰/۴۴	۶۰/۳۹	۹۳/۶۶
۸	۱۶۸/۸۸	۴۲/۸۱	۳/۱۱	۱۰/۸۵	۳۰/۶۵	۶۱/۲۸	۹۳/۶۹
پیریدوکسین (mg/kg)							
صفر	۱۷۴/۹۰	۴۲/۲۷	۳/۱۰	۱۰/۸۶	۳۰/۵۵	۶۱/۲۴	۹۳/۰۷
۳	۱۷۳/۳۶	۴۲/۴۷	۳/۰۴	۱۰/۹۶	۳۰/۲۸	۶۰/۵۱	۹۳/۰۲
۶	۱۶۹/۳۸	۴۲/۵۳	۳/۰۶	۱۰/۹۵	۳۰/۹۱	۶۰/۶۱	۹۲/۸۴
اسید فولیک	**پیریدوکسین**						
۰	۰	۱۷۲/۹۴	۴۳/۵۳	۳/۰۲	۱۰/۹۹	۳۰/۴۷	۶۱/۰۳	۹۴/۱۷
۰	۵	۱۶۰/۶۷	۴۲/۷۲	۲/۹۷	۱۱/۰۳	۳۰/۷۵	۶۰/۰۵	۹۲/۸۶
۰	۱۰	۱۷۳/۰۳	۴۲/۱۴	۳/۰۵	۱۱/۰۲	۳۰/۶۴	۶۰/۹۷	۹۳/۹۵
۴	۰	۱۷۷/۸۱	۴۰/۶۱	۳/۱۲	۱۰/۸۵	۳۰/۲۱	۶۱/۹۴	۹۲/۵۴
٤	۵	۱۶۹/۴۳	۴۲/۴۴	۳/۰۵	۱۱/۱۳	۲۹/۹۷	۶۰/۱۴	۹۳/۴۵
٤	۱۰	۱۶۵/۱۴	۴۲/۷۱	۳/۱۲	۱۰/۷۵	۳۰/۴۱	۵۹/۹۷	۹۳/۴۱
۸	۰	۱۷۳/۹۴	۴۲/۳۵	۳/۰۷	۱۰/۷۳	۳۱/۰۰	۶۰/۶۳	۴۲/۴۹
۸	۵	۱۷۵/۰۴	۴۲/۱۱	۳/۱۰	۱۰/۷۳	۳۰/۲۸	۶۰/۲۸	۹۲/۶۱
۸	۱۰	۱۸۱/۹۰	۴۲/۴۲	۳/۰۷	۱۱/۰۸	۳۰/۶۱	۶۱/۸۱	۸۹/۹۸
خطای استاندارد		۴/۸۰	۱/۱۴	۰/۱۲	۰/۱۹	۰/۵۱	۰/۷۴	۰/۷۴
منابع تغییر								
اسید فولیک		۰/۱۱	۰/۶۹	۰/۴۷	۰/۵۳	۰/۸۷	۰/۳۲	۰/۲۱
پیریدوکسین		۰/۲۳	۰/۹۴	۰/۷۴	۰/۷۱	۰/۲۱	۰/۴۱	۰/۴۹
اسید فولیک ×**پیریدوکسین**		۰/۱۸	۰/۶۱	۰/۶۹	۰/۴۲	۰/۲۷	۰/۰۹	۰/۳۴

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 اسیدفولیک 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 معنی‌داری ۰/۰۵ مقایسه شدند.

نتایج

عملکرد

تاثیر 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 ($p > ۰/۰۵$).

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 معنی‌داری تحت تاثیر سطح مکمل سازی جیره‌های آزمایشی با اسید فولیک قرار گرفت ($p < ۰/۰۱$) 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 گلیسرید و پروتئین کل نمونه‌های خون پرندگان تیمارهای آزمایشی تحت تاثیر استفاده از سطوح مختلف اسید فولیک و پیریدوکسین قرار نگرفتند ($p > ۰/۰۵$). اثرات متقابل پیریدوکسین و اسید فولیک نیز برای هیچکدام از فراسنجه های خونی معنی‌دار نبود ($p > ۰/۰۵$).

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 همکاران (2002) اعلام نمودند که استفاده از اسید فولیک در سطوح بیش از ۸ میلی گرم در هر کیلوگرم جیره اثر معنی‌داری بر وزن تخم و توده تخم تولیدی ندارد. همچنین Keshavarz و همکاران (2003) نشان داد که استفاده از مکمل اسیدفولیک 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 میلی‌گرم اسید فولیک به هر کیلوگرم از جیره‌های آزمایشی در شرایط تنش حرارتی می‌تواند باعث بهبود عملکرد و افزایش وزن زنده گردد. احتمالاً عدم تاثیر مکمل‌سازی 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 هموسیستئین 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 میلی‌گرم در کیلوگرم بود که مطابق توصیه انجمن ملی تحقیقات تامین شده بود (Scott و همکاران، 1982).

نتایج فراسنجه‌های خونی بلدرچین‌های 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 می رسد 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 تترا 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 تترا هیدرو فولات زرده تخم دارای محدویت بوده و در بالاتر از سطوح مشخصی از اسید فولیک مکمل به حد اشباع می رسد (Sherwood و همکاران، 1993: House و همکاران 2003: Hebert و همکاران، 2005: Dickson و همکاران، 2010: Tactacan و همکاران، 2010). محتوای ۵- متیل تترا هیدرو فولات موجود در زرده تخم بلدرچین‌های تیمارهای مختلف آزمایشی تحت تاثیر سطح مکمل سازی با اسید فولیک قرار گرفت و با افزایش سطح مکمل‌سازی محتوای ۵-متیل تترا 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 تامین‌کننده 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 تترا هیدرو فولات) عیناً به زرده تخم بلدرچین‌ها وارد شده است (Henderson، 1990). نتایج اخیر بیانگر ارتباط خطی و مثبت سطح ۵- متیل تترا 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 پلاسما تاثیر می‌گیرد و حد نهائی فولات زرده با توجه به حد یا ظرفیت اشباع فولات در پلاسما مشخص می‌شود. به عبارت بهتر پلاسما به عنوان یک منبع وظیفه تامین فولات برای بارگذاری در زرده را برعهده دارد (Sherwood و همکاران، 1993). Tactacanو همکاران (2010) یک سیستم حمل کننده اسید فولیک در دئودنوم روده مرغ‌های تخمگذار را شناسایی و اعلام کردند که بالاترین جذب اسیدفولیک 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 تترا 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 تخگمذار 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 توجیه باشد.

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

اسید فولیک (mg/kg)	فولات ۱۰۰گرم زرده میکرو گرم	گلوکز میکرو گرم/دسی لیتر	کلسترول میکرو گرم/دسی لیتر	تری گلیسرید میلی گرم/دسی لیتر	پروتئین کل گرم/دسی ایتر
صفر	۸۰۸/۶۲[b]	۲۵۷/۷۲	۱۷۴/۴۴	۱۴۷/۱۱	۲/۳۷
۴	۸۴۰/۸۴b	۲۴۹/۷۵	۱۷۵/۰۵	۱۳۴/۸۴	۲/۳۳
۸	۱۱۶۴ /۷۷[a]	۲۴۶/۱۱	۱۷۷/۵۲	۱۳۷/۵۱	۲/۳۴
پیریدوکسین (mg/kg)					
صفر	۹۲۲/۵۸	۲۴۳/۵۱	۱۷۷/۲۷	۱۲۹/۳۴	۲/۲۸
۳	۱۰۱۶/۴۴	۲۴۴/۲۷	۱۸۰/۸۳	۱۳۸/۷۸	۲/۳۱
۶	۸۷۵/۲۱	۲۵۳/۰۱	۱۷۷/۸۸	۱۴۶/۳۳	۲/۳۴
اسید فولیک / پیریدوکسین					
۰ / ۰	۹۰۲/۴۱	۲۵۷/۵۸	۱۷۲/۳۴	۱۳۸/۲۷	۲/۲۱
۰ / ۵	۷۹۹/۵۴	۲۶۴/۱۷	۱۷۷/۱۶	۱۴۴/۴۲	۲/۳۴
۰ / ۱۰	۷۲۳/۸۹	۲۴۷/۱۴	۱۷۵/۰۹	۱۴۲/۶۴	۲/۶۱
٤ / ۰	۸۳۲/۹۲	۲۴۲/۳۴	۱۶۸/۸۹	۱۲۹/۸۱	۲/۲۱
٤ / ۵	۹۱۳/۵۷	۲۳۷/۵۲	۱۸۹/۸۴	۱۲۵/۳۱	۲/۳۳
٤ / ۱۰	۷۷۶/۱۲	۲۴۷/۳۴	۱۷۵/۵۰	۱۳۸/۴۵	۲/۴۱
۸ / ۰	۱۰۳۲/۳۱	۲۵۲/۳۱	۱۹۱/۸۳	۱۴۱/۳۵	۲/۱۸
۸ / ۵	۱۳۳۶/۲۱	۲۴۷/۰۱	۱۶۴/۵۱	۱۴۰/۰۱	۲/۲۴
۸ / ۱۰	۱۱۲۵/۶۴	۲۵۴/۲۳	۱۸۳/۱۶	۱۲۶/۳۷	۲/۵۴
خطای استاندارد	۹۲/۸۸	۰/۱۷	۸/۲۴	۷/۴۷	۰/۰۹
منابع تغییر	P – value اثرات اصلی و متقابل				
اسید فولیک	۰/۰۰۱	۰/۱۴	۰/۴۳	۰/۱۸	۰/۵۱
پریدوکسین	۰/۱۲	۰/۳۷	۰/۵۴	۰/۱۴	۰/۱۱
اسید فولیک ×**پریدوکسین**	۰/۲۱	۰/۵۱	۰/۲۴	۰/۴۷	۰/۸۴

[a-c] میانگین های دارای اندیس های متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی دار هستند ($p < ۰/۰۵$)

نتیجه‌گیری

نتایج کلی بدست آمده از این تحقیق نشان داد که اگرچه مکمل سازی جیره‌های بلدرچین‌های تخمگذار ژاپنی با اسید فولیک و پیریدوکسین تاثیر معنی‌داری بر عملکرد ندارد ولی مصرف سطوح بالاتر اسید فولیک (۸ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک) منجر به افزایش محتوای ۵- متیل تتراهیدروفولات زرده می‌گردد.

منابع

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 تترا هیدروفولات زرده، کیفیت تخم مرغ و عملکرد مرغ های 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.

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). Folae-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.

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. *Lowa 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 prees.

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.