نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد ششم، شماره اول، ۱۳۹۷
http://ejrr.gau.ac.ir

اثر مخلوط سیاه‌دانه با کروم متیونین یا روی متیونین بر فراسنجه‌های خونی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد بره‌های سنجابی تحت استرس حمل و نقل

***محمدمهدی معینی[۱]، سهیلا کاکی سومار[۲]، فردین هژبری[۱] و زهرا نیکوصفت[۳]**

[۱]دانشیار و [۲]دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

[۳]استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۰۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۲۵

چکیده

سابقه و هدف: اهمیت بررسی استرس‌ها در نشخوارکنندگان در حفظ سلامتی و افزایش ظرفیت تولیدی آن‌ها می‌باشد. نمود استرس در دام‌ها با تغییراتی در فراسنجه‌های فیزیولوژیکی و عملکردی مشخص می‌شود. دوره‌های طولانی حمل و نقل با وسایل نقلیه به‌ویژه در آب و هوای نامطلوب و یا ازدحام دام‌ها در کامیون منجر به خستگی، عدم آسایش، کاهش وزن و افزایش شیوع بیماری‌های عفونی می‌شود. به همین سبب شرایط تنش‌زای مختلف سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه استرس اکسیداتیو می‌شود. جیره‌های حاوی سطوح مناسب از آنتی‌اکسیدان‌ها، با مهار رادیکال‌های آزاد منجر به بهبود اثرات مضر استرس می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند استفاده از مواد معدنی و یا گیاهان دارویی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در تغذیه دام، شرایط فیزیولوژیکی دام را بهبود بخشیده، به‌واسطه تعدیل پرواکسیدان‌ها- آنتی‌اکسیدان‌ها، از افت ظرفیت تولیدی دام‌ها ممانعت می نمایند. تحقیق حاضر به‌منظور مقایسه اثر مخلوط سیاهدانه با کروم- متیونین یا روی- متیونین بر پیشگیری از استرس و بهبود عملکرد بره‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها: هیجده رأس بره نر نژاد سنجابی ۲۴-۲۶ هفته با وزن اولیه ۲±۳۲ کیلوگرم به‌مدت ۳۰ روز به‌طور تصادفی در سه گروه ٦ راسی به‌صورت انفرادی نگهداری شدند. تیمارها شامل گروه ۱: تیمار شاهد (جیره پایه)؛ گروه ۲: خوراک پایه + ۳۰ گرم سیاه‌دانه/ کیلوگرم ماده خشک جیره + ۱ میلی‌گرم مکمل کروم متیونین/ کیلوگرم ماده خشک و گروه ۳: خوراک پایه + ۳۰ گرم سیاه دانه/ کیلوگرم ماده خشک جیره + ۵۰ میلی‌گرم مکمل روی متیونین/ کیلوگرم ماده خشک جیره، بودند. در طول دوره آزمایش؛ عملکرد بره‌ها و فراسنجه‌های خونی مورد بررسی قرار گرفتند. حمل و نقل بره‌ها پس از دو هفته از شروع آزمایش و به‌مدت ۳ ساعت انجام شد. جهت بررسی فراسنجه‌های خونی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی، نمونه‌های خون (۱۰ میلی‌لیتر) از رگ گردنی بره‌ها قبل از حمل و نقل، بلافاصله بعد از حمل و نقل و ۲۴ ساعت بعد از حمل و نقل گرفته شد. نمونه‌های خون بلافاصله پس از جمع‌آوری روی یخ قرار داده شدند و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در g ×۳۵۰۰ برای تهیه سرم سانتریفوژ شدند. سرم در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان تجزیه، نگهداری شد.

*مسئول مکاتبه: mmoeini@razi.ac.ir

یافته‌ها: اثر تیمارهای آزمایشی بر اضافه وزن روزانه معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). مصرف خوراک در بره‌های تغذیه شده با جیره محتوی سیاه‌دانه + روی متیونین بیش از تیمارهای دیگر بود، در حالی‌که در گروه دریافت‌کننده سیاه‌دانه + کروم متیونین ضریب تبدیل خوراک نسبت به گروه شاهد بهبود یافت (P<۰/۰۵). استرس منجر به افزایش معنی‌دار میزان کورتیزول در گروه شاهد از ۰/٤٤ به ۲/۸۸ بلافاصله بعد از حمل و نقل شد در حالی‌که این مقدار در بره‌های تغذیه شده با جیره محتوی مخلوط سیاه‌دانه با مواد معدنی کمتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). اثر جیره‌های آزمایشی بر مقدار اوره، پروتئین تام، گلوبولین معنی‌دار نبود. درحالی‌که سطح گلوکز، آلبومین، لاکتات دهیدروژناز سرم در طول دوره استرس حمل و نقل تغییر کرد (P<۰/۰۵). اضافه نمودن سیاه‌دانه + کروم متیونین به جیره بره‌ها ثر مثبتی بر میزان مالون‌دی‌آلدئید داشت (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: نتایج این آزمایش نشان داد که افزودن مخلوط سیاه‌دانه با کروم متیونین یا روی متیونین در جیره به‌عنوان یک مکمل گیاهی- معدنی از دو هفته قبل از حمل و نقل دام سبب بهبود عملکرد و کاهش استرس در طول حمل و نقل بره‌ها شد.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، کورتیزول، مالون‌دی‌آلدئید، گیاه داروئی، مواد معدنی

مقدمه

به‌جز تنش حاصل از حمل و نقل، گرسنگی، تغییر محل زندگی، عدم موازنه جیره، وجود سرو صدای ناهنجارو دور ماندن دام از گله نیز از دیگر عوامل استرس‌زا هستند که بر رفاه حیوان اثر می‌گذارند (۱۷). لذا انواع محرک‌های جسمی و روحی (تغذیه‌ای، ایمنی و رفتاری) باعث استرس اکسیداتیو در دام می‌شود (۳۱). استرس اکسیداتیو در نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی ایجاد می‌شود که منجر به آسیب ملکول‌های بیولوژیکی و اختلال در متابولیسم و فیزیولوژی طبیعی آن‌ها می‌شود (۱۵). آنتی‌اکسیدان‌ها با مهار رادیکال‌های آزاد باعث حفظ هموستازی وعملکرد فیزیولوژیکی سلول‌ها می‌شوند (۲٦). عنصر کروم نقش مهمی در متابولیسم چربی و کربوهیدرات در پستانداران ایفا می‌کند (٤۳)؛ این عنصر به‌عنوان فاکتور تحمل گلوکز[1] با بالا بردن تحمل گلوکز و حساسیت سلول‌های بدن به انسولین میزان انرژی بیشتری برای تولید و رشد دام فراهم می‌کند (۳۷). همچنین استفاده از مکمل کروم باعث افزایش وزن، بهبود بازده غذایی و کاهش استرس اکسیداتیو در دام‌های تحت استرس حمل و نقل می‌شود (۲۸). روی در عملکرد بهینه سیستم ایمنی، سلول‌های تیموس، سلول‌های مغز استخوان و عملکرد ایمینوگلوبولین‌ها دخیل است (۳۳). علاوه‌بر نقش عنصر روی در بسیاری از فعالیت‌های بدن، می‌توان به نقش آنتی‌اکسیدانی آن به‌عنوان جزیی از آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و سنتز متالوتیونین‌ها اشاره کرد (۳۰). در گوسفندان تحت شرایط استرس، استفاده از مکمل روی در جیره باعث بهبود سیستم ایمنی و عملکرد دام شد (۲۱). گیاه سیاه‌دانه با نام علمی *(Nigella Sativa)* از خانوادهٔ آلاله می‌باشد که در نواحی مختلف اروپا و آسیا از جمله در ایران (به‌ویژه اراک و اصفهان) روییده و یا کشت می‌شود (٤٥). تحقیقات نشان می‌دهد که روغن و اجزای فعال تشکیل‌دهنده سیاه‌دانه به‌ویژه تیموکینون دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می‌باشند (۳٤). بررسی اثرات آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند سیاه‌دانه همراه با ویتامین E، سلنیوم و روی متیونین بر نرخ رشد، فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی در بزهای نژاد بلدی بهبود معنی‌داری را در بازدهی رشد و سیستم ایمنی بدن در تیمارها نشان داد (۲). نتایج حاصل از اثرات آنتی‌اکسیدانی سیاه‌دانه در میش‌ها، افزایش فعالیت

1- Glucose tolerance test (GTT)

آنتی‌اکسیدانی سرم را نشان می‌دهد (۱۳). علاوه‌بر آن سیاه‌دانه منجربه سرکوب رادیکال‌های آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود (۷). محققین نشان دادند که استفاده از کروم متیونین باعث افزایش عملکرد و بهبود اثرات مضر استرس در بره‌های تحت تنش حمل و نقل می‌شود (۲۸). از طرفی، بهبود بازدهی خوراک و عملکرد دام در بره‌های مکمل‌شده با روی آلی در مقایسه با گروه شاهد گزارش شده است (۱٦). در آزمایشات قبلی اثر عناصر کروم متیونین، روی متیونین یا سیاه‌دانه به‌طور جداگانه بر فراسنجه‌های عملکرد تولیدی و خواص آنتی‌اکسیدانی بررسی شده است و اثرات مشابه و بعضاً اثرات تکمیلی آن‌ها را بر فراسنجه‌های مورد مطالعه نشان داده‌اند. تحقیقی مبنی بر اثرات تجمعی آن‌ها در جیره خوراکی مشاهده نشد و فرض بر این است که حضور آن‌ها با هم احتمالاً اثرات همافزایی بیشتری داشته باشد به‌خصوص در این فرضیه می‌توان از اثرات مطلوب دیگر سیاه‌دانه که عمدتاً ناشی از وجود ترکیبات ثانویه در گیاه است، بهره گرفت. لذا با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی مکمل‌های معدنی و سیاه‌دانه، هدف از انجام این آزمایش مقایسه اثرات ترکیبی مخلوط این عناصر با سیاه‌دانه بر بهبود عملکرد تولیدی و فراسنجه‌های خونی و فیزیولوژیکی بره‌ها تحت استرس حمل و نقل بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش با استفاده از ۱۸ رأس بره نر نژاد سنجابی ۲٤-۲٦ هفته با وزن اولیه ۲±۳۲ کیلوگرم به‌مدت ۳۰ روز از اواخر مرداد ماه تا اواخر شهریور ماه سال ۱۳۹۵ در مزرعهٔ تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه انجام شد. ۱۸ بره به‌صورت تصادفی از بین گله انتخاب شدند و به سه گروه ٦ راسی (هر تیمار با ٦ تکرار) تقسیم‌بندی شدند. تغذیه و نگهداری دام‌ها به‌صورت باکس‌های انفرادی بود. تیمارها شامل گروه ۱: تیمار شاهد (جیره پایه)؛ گروه ۲: خوراک پایه + ۳۰ گرم سیاه‌دانه/ کیلوگرم ماده خشک جیره + ۱ میلی‌گرم کروم متیونین /کیلوگرم ماده خشک و گروه ۳: خوراک پایه + ۳۰ گرم سیاه‌دانه/ کیلوگرم ماده خشک جیره + ۵۰ میلی‌گرم روی متیونین /کیلوگرم ماده خشک جیره، بودند. دوره آزمایش شامل ۱۰ روز عادت‌دهی و ۳۰ روز دوره آزمایش اصلی بود. قبل از شروع دوره آزمایش از قرص‌های ضد انگل آلبندازول به میزان ۷/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده دام استفاده شد. جیره خوراکی بره‌ها بر اساس احتیاجات وزن زنده و افزایش وزن ۳۰۰ گرم در روز طبق انجمن ملی تحقیقات (۲۹) تنظیم شد (جدول ۱). بره‌ها آزادانه به آب دسترسی داشتند. دام‌های مورد آزمایش خوراک مصرفی روزانه خود را در دو وعده و به‌صورت کاملا مخلوط دریافت نمودند و مقدار خوراک مصرفی و باقی‌مانده خوراک به تفکیک هر دام اندازه‌گیری شد. بره‌ها هر هفته یکبار از زمان شروع آزمایش پس از ۱٦ ساعت گرسنگی توزین شدند. پس از جمع‌آوری داده‌های مربوط به خوراک مصرفی روزانه، خوراک مصرفی کل دوره آزمایش، اضافه وزن دوره آزمایش و اضافه وزن روزانه، ضریب تبدیل هر گروه به تفکیک محاسبه شد.

جمع‌آوری نمونه‌های خون: حمل و نقل بره‌ها پس از دو هفته از شروع آزمایش به‌مدت ۳ ساعت انجام شد. نمونه‌های سرم خون بره‌ها در قبل از شروع حمل و نقل، بلافاصله بعد از پایان حمل و نقل و ۲٤ ساعت پس از حمل و نقل از رگ گردنی بره‌ها جمع‌آوری شدند.

جدول ١: اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی (بر اساس ماده خشک).

Table 1. Ingredient and nutrient composition of experimental diets (dry matter bases).

میزان (درصد) Amount (%)	اجزای جیره (درصد) Ingredient of diets (%)
30	یونجه خشک Alfalfa hay
10	کاه گندم Wheat straw
10	کنجاله سویا Soybean meal
20	جو Barely
6	سبوس گندم Wheat bran
20	ذرت دانه‌ای Corn grain
1	بی‌کربنات سدیم Bicarbonate sodium
1	اوره Urea
0.25	نمک Salt
0.75	دی کلسیم فسفات Di calcium phosphat
1	مکمل معدنی و ویتامینی Vitamin and Mineral*
	ترکیبات شیمیایی Chemical composition
2.57	انرژی قابل متابولیسم ME Mcal/kg
16.2	پروتئین خام CP %
15.6	دیواره سلولی NDF %
58	کربوهیدرات غیر فیبری % NFC
3.75	چربی خام Ether extract %
7.00	خاکستر Ash %
5.3	کلسیم % Ca
3.8	فسفر P %

*روزانه به ازای هر راس ١٠ گرم به جیره پایه اضافه شد و ترکیب مکمل معدنی و ویتامینی (Dami mix) شامل: (ویتامین A ٥٠٠٠٠٠ IU در کیلوگرم، ویتامین D_3 ١٠٠٠٠٠ IU در کیلوگرم، ویتامین E ١٠٠ IU در کیلوگرم، منگنز ٢٠٠٠ mg/kg، آهن ٣٠٠٠ mg/kg، روی ٣٠٠٠ mg/kg، مس ٢٨٠ mg/kg، ید ١٠٠ mg/kg، منیزیم ٢٠٠٠٠ mg/kg، سلنیوم ١ mg/kg، کبالت ١٠٠ mg/kg، سدیم ٥٥٠٠٠ mg/kg، کلسیم ١٩٥٠٠٠ mg/kg و فسفر ٩٠٠٠٠ mg/kg) بود.

*The daily ration was increased to 10 grams per animal. vitamin and mineral composition included (Unit/Kg): vit A (500000 IU), vit D_3 (100000 IU), vit E (100 IU), Mn (2000 mg), Fe (3000 mg), Zn (3000 mg), Cu (280 mg), I (100 mg), Mg (20000 mg), Se (1 mg), Co (100 mg), Na (55000 mg), Ca (195000 mg), P (90000 mg).

جداسازی سرم خون با دستگاه سانتریفیوژ به‌مدت ۱۵دقیقه در ۳۵۰۰×g انجام و نمونه‌های سرم تا زمان آزمایش در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری شدند. غلظت سرمی گلوکز با استفاده از کیت‌های اختصاصی شرکت پارس آزمون (ایران- تهران) به روش اسپکتروفتومتری توسط دستگاه اتوآنالایزر تعیین گردید. کورتیزول سرم با استفاده از کیت تجاری کورتیزول به روش الایزا اندازه‌گیری شد. غلظت کلسترول خون توسط کیت مخصوص شرکت زیست شیمی (ایران- تهران) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای تعیین غلظت مالون‌دی‌آلدئید ابتدا یک میلی‌لیتر از سرم با یک میلی‌لیتر از تری کلرواستیک اسید در ۰/٦ مولار اسید کلریدریک افزوده شد، پس از مخلوط نمودن، در ۲۰۰۰ دور به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس ۰/۳ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱۲ مولار اسید تیوباربیتوریک در ۰/۲٦ مولار تریس با pH=۷ را به ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول بالایی سانتریفیوژ شده افزوده و به‌مدت ۱۵ دقیقه در حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس لوله‌ها را خنک نموده و جذب آن‌ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت گردید. ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی[1] سرم با استفاده از روش قدرت آنتی‌اکسیدانی کاهنده- آهن انجام شد. در این روش، توانایی پلاسما در احیای یون فریک اندازه‌گیری می‌شود. در pH اسیدی، زمانی‌که کمپلکس Fe^{+3} به Fe^{+2} احیا می‌گردد، رنگ آبی تولید می‌شود، که در طول موج ۵۹۳ نانومتر توسط کیت (رندوکس، انگلیس) با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری اندازه‌گیری شد. غلظت تیروکسین، تری یدوتیرونین با استفاده کیت‌های اندازه‌گیری پارس آزمون (تهران- ایران) توسط دستگاه الایزا اندازه‌گیری شدند.

تجزیه آماری

آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. در فراسنجه‌های خونی و آنتی اکسیدانی که علاوه‌بر اثر تیمار، زمان نیز مطرح است با استفاده از رویه Mixed نرم‌افزار (SPSS 16, 2007) انجام شد (۳٦). و به‌صورت اندازه‌گیری‌های تکرار شده در واحد زمان تجزیه و تحلیل شدند. مقایسات میانگین‌ها با استفاده از آزمون مقایسه‌ای دانکن انجام شد. مدل آماری به شرح زیر بود:

$Y_{ijk}= \mu + Treat_i + Animal_j + Time_k + (Treat*Time)_{ik} + e_{ijk}$

در مدل آماری فوق Y_{ijk} برابر با عملکرد حیوان، μ= میانگین جامعه، $Treat_i$= اثر تیمار iام، $Animal_j$ =اثر تصادفی حیوان jام، $Time_k$= اثر زمان kام، $(Treat*Time)_{ik}$= اثر متقابل زمان در تیمار و e_{ijk}= اثر باقیمانده یا خطا بود.

نتایج و بحث

مطالعه حاضر به‌منظور مقایسه اثر مخلوط سیاهدانه با کروم- متیونین یا روی- متیونین بر کاهش استرس و بهبود عملکرد بره‌ها در طول دوره آزمایش انجام شد. تغییرات وزن در جدول ۲ نیز برای نشان دادن اثرات استرس حمل و نقل و تأثیرگذاری مکمل بر تغییرات مصرف خوراک و وزن در طول دوره آزمایش بوده است. اضافه وزن روزانه بره‌ها در طول دوره آزمایش بین تیمارها، تفاوت معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$) به نحوی که افزودن سیاه‌دانه + روی- متیونین یا سیاه‌دانه + کروم متیونین باعث افزایش وزن روزانه بره‌ها نسبت به گروه شاهد شد (جدول ۲). استفاده از مکمل سیاه‌دانه + کروم متیونین در جیره افزایش وزن روزانه قابل توجهی نسبت به تیمار شاهد نشان داد (۱۰٦/٦٤ نسبت به ۱٦۳/۵٦ گرم در روز).

همچنین کاهش خوراک مصرفی با تغذیه مکمل سیاه‌دانه + روی متیونین نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد (P<۰/۰۵). ضریب تبدیل خوراک در طول دوره آزمایش بین تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵) به نحوی که افزودن سیاه‌دانه + کروم متیونین به جیره بره‌ها باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک نسبت به گروه شاهد شد (جدول ۲). در مطالعه‌ای با بررسی اثرات کروم (۰/۸ میلی‌گرم/ کیلوگرم ماده خشک) به جیره بره‌های پرورای تحت استرس حمل و نقل، ضریب تبدیل غذایی، اضافه وزن روزانه و خوراک مصرفی مثبت و معنی‌دار گزارش شده است (۲۸). از طرفی، محققین گزارش کردند که استفاده از مکمل کروم در هر دو شرایط طبیعی و استرس موجب افزایش مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل خوراک می‌شود (٤ و ۳۵). اضافه وزن روزانه بالاتر در گروه‌های دریافت‌کننده سیاه‌دانه + روی یا سیاه‌دانه + کروم نشان‌دهنده افزایش مؤثر بافت‌ها دراین گروه‌ها بوده که بهبود ضریب تبدیل خوراک به‌ویژه در گروه سیاه‌دانه + کروم را نیز به‌همراه داشته است. در مطالعه حاضر بهبود ضریب تبدیل خوراک در گروه دریافت‌کننده سیاه‌دانه + کروم احتمالاً نشان‌دهنده آن است که در بره‌های تحت استرس حمل و نقل، حضور این مکمل نقش مؤثری در استفاده بهینه بره‌ها از خوراک مصرفی در جهت رشد داشته است. در حالی‌که بعضی از محققان هیچ‌گونه تأثیر مثبتی در جیره‌های حاوی کروم بر عملکرد رشد مشاهده نکردند (۲۵ و ۱۲). اثرات مفید کروم که با نقش آن در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها در ارتباط است به همراه سیاه‌دانه قابل تامل است. گزارش شده است کروم باعث افزایش اثر انسولین از طریق افزایش اتصال آن به سلول‌های هدف و یا بهبود سیگنال‌های پس از اتصال شده و انسولین نیز با افزایش انتقال اسیدهای آمینه منجر به افزایش تولید پروتئین‌ها و کاهش میزان تجزیه آن می‌شود (۱۱)؛ انرژی آزاد شده از این فرایندها در نهایت منجر به بهبود عملکرد دام می‌شود (۱۲). از طرفی نشان داده شده است افزودن سیاه‌دانه به جیره نشخوارکنندگان در افزایش بازدهی رشد و بهبود ضریب تبدیل خوراک مؤثر می‌باشد (۱) و اضافه‌کردن سیاه‌دانه، سبب بهبود معنی‌داری در افزایش وزن روزانه و خوراک مصرفی شده است (١٤، ۲۲ و ۲۷). به‌نظر می‌رسد اثرات مطلوب سیاه‌دانه بر افزایش عملکرد دام به‌دلیل بالا بودن مواد مغذی، علاوه‌بر مواد دارویی فعال موجود در سیاه‌دانه باشد (۳۹). از طرفی گزارش شده است که سیاه‌دانه دارای اثرات تحریکی بر دستگاه گوارش بوده و در نهایت با افزایش جذب مواد مغذی منجر به افزایش عملکرد دام می‌شود (۱۹). افزودن سیاه‌دانه در جیره با افزایش جریان صفراوی باعث افزایش فعالیت امولفیکاسیون آنزیم لیپاز پانکراس شده که در نهایت منجر به افزایش هضم چربی‌ها و جذب ویتامین‌های محلول در چربی می‌شود (۲۳).

تغییرات خوراک مصرفی به تفکیک تیمارها در طول دوره آزمایش در نمودار ۱ آمده است. اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان خوراک مصرفی در طول دوره آزمایش معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). افزایش خوراک مصرفی در گروه دریافت‌کننده سیاه‌دانه + روی متیونین یک هفته پس از شروع استرس نیز مشاهده شد (P<۰/۰۵). به‌عبارتی با گذشت زمان یا افزایش طول دوره آزمایش، این افزایش مصرف خوراک همچنان در گروه سیاه‌دانه + روی متیونین مؤثر و معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). به‌نظر می‌رسد که افزایش مصرف خوراک در گروه سیاه‌دانه + روی متیونین در این آزمایش به خصوصیات آنتی‌اکسیدانی روی و اثرات آنتی‌میکروبی و اشتهاآوری ترکیبات فعال موجود در سیاه‌دانه در بره‌های تحت استرس حمل و نقل باشد.

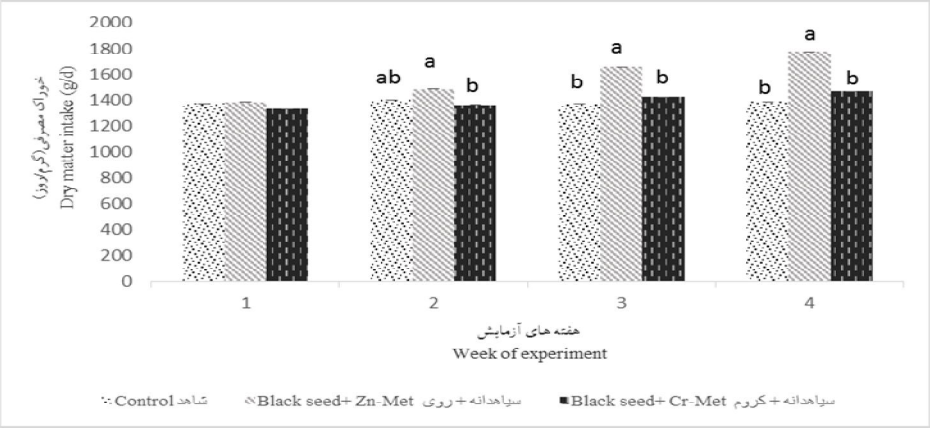
جدول ۲: میانگین اضافه وزن روزانه، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک در طول دوره آزمایش.

Table 2. Mean daily gain, feed intake and feed conversion ratio during the experimental period.

ضریب تبدیل Feed conversion ratio (FCR)	خوراک مصرفی روزانه (کیلوگرم) Daily feed intake (g/d)	اضافه وزن روزانه (گرم) Daily weight gain (gram)	تیمار Treatment	
12.64±2.53[a]	138۰±0.093[b]	106.64±22.24[c]	Control	شاهد
11.32±1.47[a]	1572±0.139[a]	138.92±12.52[b]	Black seed +Zn-Met	سیاه دانه+روی
8.55±0.650[b]	1392±0.040[b]	163.56±13.64[a]	Black seed +Cr-Met	سیاه دانه+ کروم
0.008	0.004	0.001	P-value	
0.617	0.034	7.40	SEM	

*میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشند.

* Means with different superscript are significantly different (P<0.05).



شکل ۱: اثر تیمارها بر میزان خوراک مصرفی در طول دوره استرس حمل و نقل.

Figure 1. The effect of treatments on feed intake during the transportation stress.

در جدول ۳ میانگین کل غلظت گلوکز، کورتیزول، اوره، پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین و نسبت آلبومین به گلوبولین در طول دوره آزمایش نشان داده شده است. تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی نظیر غلظت گلوکز، کورتیزول و آلبومین مؤثر بودند (P<۰/۰۵). گزارشات متعدد نشان می‌دهد که استرس‌ها با افزایش میزان تجزیه گلیکوژن کبد و یا تخلیه ذخایر گلوکز ماهیچه‌های اسکلتی، منجربه افزایش میزان گلوکز خون می‌شوند (٦، ٢٠ و ٣٨). در مطالعه حاضر، افزایش میزان گلوکز تنها در بره‌های گروه شاهد مشاهده شد در حالی‌که استفاده از مکمل سیاه‌دانه + کروم متیونین یا سیاه‌دانه + روی متیونین باعث کاهش میزان گلوکز خون شد (P<۰/۰۵). اعتقاد بر این است که در هنگام استرس، کورتیزول از طریق بازدارندگی انسولین، از ورود گلوکز به بافت عضلانی و بافت چربی جلوگیری کرده و آزادسازی آن برای بافت‌هایی با نیاز بالا (مغز و کبد) عمل می‌کند. با توجه به این‌که کروم فعالیت انسولین را افزایش می‌دهد، نقش ضد استرسی کروم اثبات شده است (۹). همچنین، به‌نظر می‌رسد که مکمل روی به واسطه تأثیر مثبت بر عملکرد سلول‌های بتا، منجر به بهبود ترشح انسولین می‌شود (۱۰). از میان مکانیسم‌های احتمالی تأثیر روی بر سلول‌های بتا می‌توان به تأثیر روی بر بیان و یا حفظ پروتئین‌های مربوط به پردازش انسولین مانند ناقل روی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی روی- مس- دیسموتاز اشاره کرد (۳۲ و ٤٠). اثر هیپوگلیسمی سیاه‌دانه ممکن است از طریق افزایش متابولیسم محیطی گلوکز و در

نتیجه افزایش ترشح انسولین، یا به‌دلیل کاهش جذب روده‌ایی گلوکز، یا بخشی از آن ممکن است به‌دلیل تحریک سلول‌های بتای جزایر پانکراس، و در نهایت افزایش ترشح انسولین باشد (٥). نشان داده شده است که استفاده از سیاه‌دانه در جیره اثرات مثبتی بر فراسنجه‌های خونی دارد (٤٢ و ٤٤). همچنین اثرات سیاه‌دانه بر عملکرد بره‌های پرورای افزایش معنی‌داری را در پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین و غلظت تستوسترون داشته است (٤٤).

جدول ٣: میانگین مقادیر گلوکز، کورتیزول، اوره، پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین سرم خون بره‌ها در طول استرس حمل و نقل.

Table 3. Mean glucose, cortisol, urea, total protein, albumin, globulin, and albumin / globulin concentrations of lambs during the transportation stress.

SEM	P-value	سیاه دانه+ کروم Black seed + Cr-Met	سیاه دانه+ روی Black seed + Zn-Met	شاهد Control	روز خونگیری Blood sampling	فراسنجه‌های خونی Blood Parameters
1.08	0.472	67.51±1.50	65.1±4.73	64.20±5.49	BT**	گلوکز Glucose (mg/dl)
4.92	0.001	78.40±9.31[b]	52.00±5.70[c]	93.16±8.21[a]	AT_1**	
1.69	0.765	66.20±5.35	65.75±9.33	63.20±5.26	AT_2**	
0.029	0.371	0.46±0.05	0.54±0.05	0.44±0.18	BT	کورتیزول Cortisol (µg/dl)
0.161	0.001	1.94±0.054[b]	1.47±0.044[c]	2.88±0.277[a]	AT_1	
0.097	0.001	1.44±0.089[b]	1.34±0.089[b]	1.90±0.001[a]	AT_2	
1.22	0.685	32.76±2.98	30.00±7.07	31.20±3.83	BT	اوره Urea (mg/dl)
1.57	0.329	35.60±9.07	36.25±3.56	30.80±3.70	AT_1	
1.37	0.136	34.18±2.80	32.80±7.39	27.80±2.94	AT_2	
0.052	0.601	7.66±0.194	7.52±0.303	7.56±0.040	BT	پروتئین تام Total protein (g/dl)
0.039	0.183	7.63±0.164	7.60±0.167	7.77±0.079	AT_1	
0.075	0.507	7.36±0.260	7.42±0.277	7.58±0.349	AT_2	
0.014	0.531	3.22±0.083	3.17±0.054	3.20±0.001	BT	آلبومین Albumin (g/dl)
0.025	0.001	2.95±0.045[b]	3.00±0.001[a]	2.91±0.016[c]	AT_1	
0.021	0.164	3.20±0.001	3.24±0.134	3.30±0.001	AT_2	
0.050	0.763	4.44±0.181	4.35±0.303	4.36±0.040	BT	گلوبولین Globulin (g/dl)
0.033	0.458	4.43±0.164	4.36±0.133	4.47±0.079	AT_1	
0.078	0.343	4.40±0.262	4.42±0.277	4.66±0.355	AT_2	
0.009	0.945	0.726±0.036	0.733±0.056	0.733±0.006	BT	نسبت آلبومین به گلوبولین (Albumin /globulin)
0.007	0.561	0.722±0.026	0.742±0.042	0.737±0.013	AT_1	
0.012	0.175	0.671±0.041	0.680±0.042	0.626±0.050	AT_2	

* میانگین‌های هر سطر در هر دوره با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار (P<٠/٠٥) می‌باشند.

** روزهای خونگیری: قبل از استرس حمل و نقل، بعد از استرس حمل و نقل و ٢٤ ساعت بعد از استرس حمل و نقل می‌باشد.

* Means with different superscript are significantly different (P<0.05).

** BT =before transportation, AT_1=after transportation and AT_2 = 24 h after transportation.

در مطالعه حاضر، استرس منجر به افزایش میزان کورتیزول خون شد. در مقایسه با گروه شاهد میزان کورتیزول سرم خون در بره‌های مکمل‌شده با سیاه‌دانه + کروم متیونین یا سیاه‌دانه + روی متیونین به‌طور معنی‌داری پس از حمل و نقل کاهش یافت (P<٠/٠٥). به‌نظر می‌رسد روی و سیاه‌دانه با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی و اثر مستقیم بر رادیکال‌های آزاد، و کروم با اثر بر متابولیسم گلوکز و بهبود عملکرد انسولین باعث کاهش میزان کورتیزول می‌شوند. در جدول ٤ میانگین کل هورمون‌های کلسترول، تیروئید، آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و لاکتات

دهیدروژناز سرم خون در طول دوره آزمایش نشان داده شده است. اثر تیمارهای آزمایشی بر سطح کلسترول، آسپارتات آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز و تیروکسین سرم خون در طول دوره آزمایش معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). استرس منجربه افزایش میزان کلسترول در گروه شاهد شد ولی در بره‌های تیمارشده با سیاه‌دانه + روی متیونین کاهش معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵).

در مطالعه‌ای، تغذیه ۳ درصد دانه‌های آسیاب‌شده سیاه‌دانه منجر به کاهش غلظت کلسترول و تری‌گلیسریدهای پلاسما شد (۳). کاهش سطح کلسترول ممکن است به‌علت مواد فعال موجود در سیاه‌دانه مانند تیموکینون و ترکیباتی مانند اسیدهای چرب غیراشباع باشد که باعث کاهش سنتز کلسترول توسط سلول‌های کبدی و کاهش جذب آن از روده کوچک می‌شود (۸). مکمل روی، با بهبود ترشح انسولین و یا کاهش مقاومت به انسولین، لیپولیز را در بافت‌های چربی مهار می‌کند، از طرف دیگرمنجر به کاهش آزادسازی اسیدهای چرب در گردش خون و کبد و در نهایت کاهش سنتز لیپوپروتئین‌ها می‌شود (٤١). علاوه‌بر تأثیر بر ترشح و عملکرد انسولین، روی به‌طور مستقیم بر متابولیسم لیپیدها نیز اثر می‌گذارد. اخیرا نشان داده شده است که کمبود روی، استفاده از اسیدهای چرب در میتوکندری‌ها و پروکسیزوم‌ها را کاهش، و سنتز لیپد در کبد موش‌های صحرایی را با تأثیر بر بیان ژن آنزیم‌های مربوط به هموستازی لیپیدها در کبد، افزایش می‌دهد (٤١).

در این مطالعه، استرس حمل و نقل منجر به افزایش غلظت آنزیم آمینوترانسفراز شد (P<۰/۰۵). از طرفی، در بره‌های تغذیه شده با سیاه‌دانه + روی متیونین کاهش میزان آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵). سطح آمینوترانسفراز معیار مناسبی جهت بررسی میزان آسیب بافت‌ها به‌ویژه بافت‌های ماهیچه‌ایی می‌باشد (٢٤). کاهش میزان آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در گروه سیاه‌دانه + روی متیونین و لاکتات دهیدروژناز در هر دو تیمار ممکن است به‌دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی و تأثیر مستقیم آن‌ها بر کاهش میزان رادیکال‌های آزاد باشد.

در جدول ۵ غلظت مالون‌دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بره‌ها در طول دوره آزمایش نشان داده شده است. ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی سرم خون در دام‌هایی که از سیاه‌دانه + کروم متیونین یا سیاه‌دانه + روی متیونین در جیره مصرفی استفاده شد، بیشتر بود. مکمل سیاه‌دانه + کروم متیونین نسبت به گروه شاهد بهبود قابل ملاحظه‌ای در غلظت مالون‌دی‌آلدئید داشت (P<۰/۰۵). غلظت مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخصی برای پراکسیداسیون لیپیدها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۸). گزارش شده است که استفاده از سیاه دانه در جیره میش سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم میش‌های مکمل‌شده شد (۱۳).

اثرات آنتی‌اکسیدانی سیاه‌دانه ممکن است به‌دلیل اجزاء فعال موجود در آن مانند تیموکینون، کارواکرول، آنیتول و ٤- توکوفرول باشد (۱۸). در بره‌های تحت استرس حمل و نقل زمانی که با کروم متیونین تغذیه شدند، غلظت مالون‌دی‌آلدئید کاهش و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت (۲۸).

جدول ٤: میانگین مقادیر فراسنجه‌های خونی بره‌ها در طول استرس حمل و نقل.

Table 4. Mean blood parameters of lambs during the transportation stress.

SEM	P-value	سیاه دانه+ کروم Black seed +Cr-Met	سیاه دانه+ روی Black seed + Zn-Met	شاهد Control	روز خونگیری Blood sampling	فراسنجه‌های خونی Blood Parameters
1.96	0.277	52.00±8.77	45.60±8.26	44.80±4.20	BT**	کلسترول Cholesterol (mg/dl)
1.38	0.039	50.20±7.19[a]	43.00±1.58[b]	50.00±2.12[a]	AT_1**	
1.71	0.058	49.00±7.90[a]	39.80±4.32[b]	47.00±3.93[ab]	AT_2**	
2.11	0.588	134.60±9.76	139.40±8.26	139.56±7.17	BT	آسپارتات آمینوترانسفراز AST (IU/L)
5.98	0.095	144.20±10.82[ab]	133.40±10.58[b]	164.20±32.19[a]	AT_1	
3.36	0.510	124.13±0.180	123.70±2.76	132.60±22.85	AT_2	
0.872	0.484	10.00±0.001	7.80±4.49	10.25±3.89	BT	آلانین آمینوترانسفراز ALT (IU/l)
0.321	0.953	13.80±2.16	14.00±0.001	13.75±0.829	AT_1	
0.777	0.299	9.25±0.825	9.50±1.11	12.00±4.89	AT_2	
31.52	0.119	944.60±127.29	977.00±141.21	1094.60±21.25	BT	لاکتات دهیدروژناز LDH (IU/l)
43.71	0.001	985.60±143.36[b]	988.67±3.58[b]	1288.00±65.86[a]	AT_1	
33.85	0.001	914.60±99.79[b]	925.12±33.25[b]	1145.00±82.50[a]	AT_2	
0.039	0.736	1.43±0.083	1.36±0.181	1.36±0.194	BT	تری یدوتیرونین T3 (ng/dl)
0.043	0.765	1.36±0.151	1.38±0.130	1.30±0.234	AT_1	
0.016	0.162	1.34±0.054	1.41±0.052	1.35±0.070	AT_2	
0.093	0.531	8.60±0.452	8.86±0.415	8.66±0.194	BT	تیروکسین T4(µg/dl)
0.041	0.001	5.42±0.048[b]	5.76±0.114[a]	5.53±0.044[b]	AT_1	
0.055	0.696	7.58±0.238	7.70±0.187	7.66±0.240	AT_2	
0.003	0.947	0.166±0.015	0.164±0.015	0.164±0.009	BT	نسبت تری یدوتیرونین به تیروکسین(T3 / T4)
0.007	0.747	0.247±0.025	0.232±0.021	0.231±0.043	AT_1	
0.002	0.306	0.176±0.005	0.183±0.009	0.185±0.010	AT_2	

[*] میانگین‌های هر سطر در هر دوره با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشند.

[**] روزهای خونگیری: قبل از استرس حمل و نقل، بعد از استرس حمل و نقل و ٢٤ ساعت بعد از استرس حمل و نقل می‌باشد.

* Means with different superscript are significantly different (P<0.05).

** BT =before transportation, AT_1=after transportation and AT_2 = 24 h after transportation.

جدول ٥: میانگین غلظت مالون‌دی‌آلدئیدو ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل سرم خون در طول استرس حمل و نقل.

Table 5. Mean malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (TAC) during the transportation stress.

SEM	P-value	سیاه دانه+ کروم Black seed +Cr-Met	سیاه دانه+روی Black seed +Zn-Met	شاهد Control	روز خونگیری Blood sampling	فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی Antioxidant parameters
0.031	0.980	1.49±0.196	1.51±0.074	1.49±0.087	BT**	مالون دی آلدئید MDA (nanomol/ml)
0.065	0.030	1.20±0.070[b]	1.38±0.216[ab]	1.60±0.273[a]	AT_1**	
0.048	0.108	0.980±0.216	1.16±0.089	1.22±0.178	AT_2**	
0.011	0.157	0.700±0.073	0.726±0.008	0.670±0.001	BT**	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام TAC(micromole/ml)
0.010	0.284	0.652±0.045	0.650±0.045	0.614±0.027	AT_1**	
0.012	0.719	0.670±0.001	0.682±0.081	0.656±0.030	AT_2**	

[*] میانگین‌های هر سطر در هر دوره با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشند.

[**] روزهای خونگیری: قبل از استرس حمل و نقل، بعد از استرس حمل و نقل و ٢٤ ساعت بعد از استرس حمل و نقل می‌باشد.

* Means with different superscript are significantly different (P<0.05).

** BT =before transportation, AT_1=after transportation and AT_2 = 24 h after transportation.

نتیجه‌گیری

نتیجه کلی حاصل از تحقیق حاضر نشـان داد کـه استفاده از مخلوط سیاه دانـه بـا مـواد معـدنی کـروم- متیـونین یـا روی- متیـونین در کـاهش اثـرات مضـر استرس حمل و نقـل در بـره هـا مـؤثر اسـت. بهبـود عملکرد بره‌هـا و تغییـر مطلـوب سـطح غلظـت‌هـای گلوکز، کورتیزول، آلبومین، لاکتات دهیدروژنـاز سرم خون نیز در طـ«ول دوره حمل و نقل نشـان داد کـه استفاده از این مکمل‌هـای مخلـوط نقـش مناسـبی در کنترل آسیب‌های حین یا پس از حمل و نقل جـاده‌ای است. استفاده از سیاه دانه + کـروم متیـونین نقـش بـه سـزایی در کـاهش اسـترس اکسـیداتیو و میـزان مالون‌دی‌آلدئید در طول آزمایش مشهودتر بود.

منابع

1.Abdel-Magid, S., El-Kady, R., Gad, S.M., and Awadalla, I. 2007. Using cheep and local non-conventional protein meal (Nigella sativa) as least cost rations formula on performance of crossbreed calves. International Journal of Agriculture and Biology. 9: 877-880.

2.Abou-Zeina, H.A., Nasr, S.M., Abdel-Aziem, S.H., Nassar, S.A., and Mohamed, A.M. 2015. Effect of Different Dietary Supplementation with Antioxidants on Gene Expression and Blood Antioxidant Markers as Well as Thyroid Hormones Status in Goat Kids. Middle-East Journal of Scientific Research. 23: 993-1004.

3.Al-Beitawi, N.A., El-Ghousein, S.S., and Nofal, A.H. 2009. Replacing bacitracin methylene disalicylate by crushed Nigella sativa seeds in broiler rations and its effects on growth, blood constituents and immunity. Journal of Livestock Science. 125: 304-307.

4.Al-Saiady, M., Al-Shaikh, M., Al-Mufarrej, S., Al-Showeimi, T., Mogawer, H., and Dirrar, A. 2004. Effect of chelated chromium supplementation on lactation performance and blood parameters of Holstein cows under heat stress. Journal of Animal Feed Science and Technology. 117: 223-233.

5.Astrup, A., Grunwald, G., Melanson, E., Saris, W., and Hill, J. 2000. The role of low-fat diets in body weight control: a meta-analysis of ad libitum dietary intervention studies. International Journal of Obesity. 24: 1545-1552.

6.Averós, X., Martin, S., Riu, M., Serratosa, J., and Gosalvez, L. 2008. Stress response of extensively reared young bulls being transported to growing-finishing farms under Spanish summer commercial conditions. Journal of Livestock Science. 119: 174-182.

7.Badary, O.A., Taha, R.A., Gamal-el-Din, A.M., and Abdel-Wahab, M.H. 2003. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. Drug Chemistry Toxicology. 26: 87-98.

8.Brunton, L.L. 1996. Agents affecting gastrointestinal water flux and motility; emesis and antiemetics; bile acids and pancreatic enzymes. In: J. Hardman, A. Gilman, L. Limbird (Eds.) Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. McGraw-Hill, New York. 1996: 917–937.

9.Burton, J., Mallard, B., and Mowat, D. 1993. Effects of supplemental chromium on immune responses of periparturient and early lactation dairy cows. Journal of Animal Science. 71: 1532-1539.

10.Cooper-Capetini, V., de Vasconcelos, D.A.A., Martins, A.R., Hirabara, S.M., Donato Jr, J., Carpinelli, A.R., and Abdulkader, F. 2017. Zinc Supplementation Improves Glucose Homeostasis in High Fat-Fed Mice by Enhancing Pancreatic β-Cell Function. Nutrients. 10: 1150-1161.

11.Dębski, B., Zalewski, W., Gralak, M.A., and Kosla, T. 2004. Chromium-yeast supplementation of chicken broilers in an industrial farming system. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 18: 47-51.

12.Domínguez-Vara, I., González-Muñoz, S., Pinos-Rodríguez, J., Bórquez-Gastelum, J., Bárcena-Gama, R., Mendoza-Martínez, G., Zapata, L., and Landois-Palencia, L. 2009.

Effects of feeding selenium-yeast and chromium-yeast to finishing lambs on growth, carcass characteristics, and blood hormones and metabolites. Journal of Animal Feed Science and Technology. 152: 42-49.
13. El-Far, A., Bazh, E.K., and Moharam, M. 2014. Antioxidant and Antinematodal Effects of Nigella Sativa and Zingiber Officinale Supplementations in Ewes. International journal of Pharm Science Research. 26: 222-227.
14. El-Rahman, H.A., Abedo, A., Salman, F.M., Mohamed, M., and Shoukry, M. 2011. Partial substitution of cumin seed meal by Jatropha meal as a potential protein source for feed. African Journal of Biotechnology. 10: 15456-15461.
15. Esteghamati, A., Dosti, M., and Zarban, A. 2001. Evaluation of antioxidant status and oxidative stress indices in patients with type 2 diabetes mellitus. Iran Endocrine and Metabolism Journal. 4: 239-245.
16. Garg, A.K., Mudgal, V., and Dass, R.S. 2008. Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization and mineral profile in lambs. Journal of Animal Feed Science Technology. 144: 82–96.
17. Griffin, J.F.T. 1989. Stress and immunity: a unifying concept. Veterinary Immunology and Immunopathology. 20: 263-312.
18. Guler, T., Ertas, O., Kızıl, M., Dalkilic, B., and Cıftcı, M. 2007. Effect of dietary supplemental black cumin seeds on antioxidant activity in broilers. Medycyna Weterynaryjna. 63: 1060-1063.
19. Jamroz, D., and Kamel, C. 2002. Plant extracts enhance broiler performance. In non-ruminant nutrition: Antimicrobial agents and plant extracts on immunity, health and performance. Journal of Animal Science. 80: 41-46.
20. Kannan, G., Terrill, T., Kouakou, B., Gazal, O., Gelaye, S., Amoah, E., and Samake, S. 2000. Transportation of goats: effects on physiological stress responses and live weight loss. Journal of Animal Science. 78: 1450-1457.
21. Kegley, E., and Spears, J. 1995. Immune response and performance of sheep fed supplemental zinc as zinc oxide or zinc methionine. Sheep and Goat Research Journal. 11: 127-131.
22. Khattab, H., El-Basiony, A., Hamdy, S., and Marwan, A. 2011. Immune response and productive performance of dairy buffaloes and their offspring supplemented with black seed oil. Iranian Journal of Applied Animal Science. 1: 227-234.
23. Lewis, J.J. 1980. Lewis's pharmacology, fifth ed. Churchill Livingstone, London.
24. Lindemann, M., Cromwell, G., Monegue, H. and Purser, K. 2008. Effect of chromium source on tissue concentration of chromium in pigs. Journal of Animal Science. 86: 2971-2978.
25. Luseba, D. 2006. The effect of selenium and chromium on stress level, growth performance, selected carcass characteristics and mineral status of feedlot cattle. National Research Fundation. http://nrfnexus.nrf.ac.za/handle/20.500.11892/174857.
26. Mathew, B.B., Tiwari, A., and Jatawa, S.K. 2011. Free radicals and antioxidants: a review. Journal of Pharmacy Research. 4: 4340-4343.
27. Mohamed, I. 2007. Evaluation of growth performance for growing Maghraby camel fed on un-conventional feed. International of Agriculture Biologycal. 9: 18-21.
28. Mousaie, A., Valizadeh, R., Naserian, A.A., Heidarpour, M., and Mehrjerdi, H.K. 2014. Impacts of feeding selenium-methionine and chromium-methionine on performance, serum components, antioxidant status, and physiological responses to transportation stress of baluchi ewe lambs. Biological Trace Element Research. 162: 113-123.
29. NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camellias. National Research Council. National Academies Press. Washington. USA.
30. Prasad, A.S., Bao, B., Beck, F.W., Kucuk, O., and Sarkar, F.H. 2004. Antioxidant effect of zinc in humans. Free Radical Biology and Medicine. 37: 1182-1190.

31.Rajion, M., Saat, I.M., Zulkifli, I., and Goh, Y. 2001. The effects of road transportation on some physiological stress measures in goats. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 14: 1250-1252.
32.Raum, J.C., Soleimanpour, S.A., Groff, D.N., Coré, N., Fasano, L., Garratt, A.N., Dai, C., Powers, A.C., and Stoffers, D.A. 2015. Tshz1 regulates pancreatic β-cell maturation. Diabetes. 64: 2905-2914.
33.Sahin, K., Sahin, N., Kucuk, O., Hayirli, A., and Prasad, A. 2009. Role of dietary zinc in heat-stressed poultry: A review. Poultry Science. 88: 2176-2183.
34.Salem, M.L. 2005. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed. International Immunopharmacology. 5: 1749-1770.
35.Soltan, M. 2010. Effect of dietary chromium supplementation on productive and reproductive performance of early lactating dairy cows under heat stress. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 94: 264-272.
36.SPSS. 2007. The SPSS base 16.0. User's guide. Chicago, IL: SPSS Inc.
37.Swanson, K., Harmon, D., Jacques, K., Larson, B., Richards, C., Bohnert, D., and Paton, S. 2000. Efficacy of chromium-yeast supplementation for growing beef steers. Journal of Animal Feed Science and Technology. 86: 95-105.
38.Tadich, N., Gallo, C., Bustamante, H., Schwerter, M., and Van Schaik, G. 2005. Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian-cross steers in Chile. Journal of Livestock Production Science. 93: 223-233.
39.Takruri, H.R., and Dameh, M.A. 1998. Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture. 76: 404-410.
40.Tang, X.-h., and Shay, N.F. 2001. Zinc has an insulin-like effect on glucose transport mediated by phosphoinositol-3-kinase and Akt in 3T3-L1 fibroblasts and adipocytes. The Journal of Nutrition. 131: 1414-1420.
41.Tom Dieck, H., Döring, F., Fuchs, D., Roth, H.-P., and Daniel, H. 2005. Transcriptome and proteome analysis identifies the pathways that increase hepatic lipid accumulation in zinc-deficient rats. Journal of Nutrition.135: 199-205.
42.Tousson, E., El-Moghazy, M., and El-Atrsh, E. 2011. The possible effect of diets containing Nigella sativa and Thymus vulgaris on blood parameters and some organs structure in rabbit. Toxicology and Industrial Health. 27: 107-116.
43.Vincent, J.B. 2001. The bioinorganic chemistry of chromium (III). Polyhedron. 20: 1-26.
44.Zanouny, A., Abd-El Moty, A., El-Barody, M., Sallam, M., and El-Hakeam, A.A. 2013. Effect of supplementation with Nigella sativa seeds on some blood metabolites and reproductive performance of Ossimi male lambs. Egyptian Journal of Sheep and Goat Sciences. 8: 47-56.
45.Zargari, A. 1990. Herbal Medicinal. Tehran University Press. 4: 4-43.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 6(1), 2018
http://ejrr.gau.ac.ir

The effect of black seed with chromium-methionine or zinc-methionine on the blood parameters, antioxidant capacity and performance of Sanjabi lambs under transport stress

***M.M. Moeini[1], S. Kaki Soumar[2], F. Hozhabri[1] and Z. Nikousefat[3]**
[1]Associate Prof., and [2]Ph.D Student, Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, [3]Assistant Prof., Dept. of Clinical Sciences, Razi University, Kermanshah
Received: 12/26/2017; Accepted: 05/15/2017

Abstract

Background and objectives: The importance of stress assessment in ruminants is in maintaining health and increasing their productive capacity. Stress in livestock is characterized by changes in physiological and functional parameters. Long periods of transportation with vehicles, especially in unfavorable weather conditions, or congestion of livestock in trucks are a source of fatigue, discomfort, weight loss and an increased incidence of infectious diseases. Due to this, different stress conditions increase the production of free radicals and thus oxidative stress. Diets containing appropriate levels of antioxidants, by inhibiting free radicals, resulting in improved harmful effects of stress. Studies have shown that the use of minerals and medicinal plants with antioxidant properties in livestock feeding improves the physiological status of the livestock and prevents decline in production capacity of the animals by modifying prooxidants-antioxidants. The purpose of this study was to assess the effect of mixture of black seed with chromium methionine or zinc methionine on the prevention of stress and livestock performance improvement.

Materials and methods: Eighteen Sanjabi male lambs (24-26 weeks of age) with an initial weight of 32 ± 2 kg for 30 days were randomly divided into three groups of six in each and were kept, individually. Treatments were included: group 1: control (basic diet); group 2: basic feed + 30 grams of black seed, kg dry matter of diet + 1 mg chromium- methionine, kg dry matter and group 3: basic feed + 30 grams of black seed, kg dry matter of diet + 50 mg of zinc-methionine, kg dry matter of diet. During the experimental period, performance and blood parameters were evaluated. Lambs were transported after two weeks of starting the experiment for 3 hrs. Blood samples (10 ml) were taken via jugular vein before transportation (BT), immediately after transportation (AT1), as well as 24 hrs after transportation (AT2), to determine blood parameters and antioxidant status. Blood samples were placed on ice at once after collection and centrifuged at 3500 × *g* for 15 min at 4°C for serum harvesting. The serum was maintained at -20°C until analysis.

Results: The effect of experimental treatments on daily gain was significant ($P<0.05$). Feed intake in lambs fed on the diet containing black seed + zinc methionine was higher than other treatments. While in the group receiving black seed + chrome methionine feed conversion ratio improved than the control group ($P<0.05$). Stress increased the level of cortisol in the control group from 0.44 to 2.88 µg/dl immediately after transportation, while this amount was lower in treatments with mixture of black seed and minerals in comparison to the control group ($P< 0.05$). The effect of experimental diets on the amount of urea, total protein and globulin was not significant, whereas, the level of glucose, albumin, and lactate dehydrogenase of serum was

*Corresponding author: mmoeini@razi.ac.ir

changed during the period of transportation stress ($P<0.05$). Adding black seed + chromium methionine to the diet of lambs had a positive effect on the level of malondialdehyde ($P<0.05$).

Conclusion: The results of this experiment showed that the addition of the mixture of black seed and chrome-methionine or zinc methionine as a herbal-mineral supplement to lambs diet two weeks before livestock transportation improved the performance and reduced stress during transportation.

Keywords: Antioxidant, Cortisol, Malondialdehyde, Medicinal plant, Minerals