اثر افزودن پیه به جیره‌های حاوی ذرت و جو بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و بیان ژن GLUT4 ماهیچه بره‌های ماده بلوچی

عطیه بهلولی قائن[1*]، عباسعلی ناصریان[2]، رضا ولی‌زاده[2]، محمدرضا نصیری[3]، حسین ولی‌زاده دالنجان[4]

[1]دانشجوی دکتری، [2] استاد، [3]دانشیار و [4]دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

email: at_bohluli@yahoo.com

چکیده

بیست و هفت راس بره ماده بلوچی با میانگین سن ۹/۶ هفته و وزن ۲۶/۴ کیلوگرم از جیره‌های آزمایشی به صورت آزمایش فاکتوریل ۲ × ۲ در قالب طرح کاملا تصادفی به مدت ۱۰ هفته تغذیه کردند. تیمارها، جیره‌های حاوی ذرت، جو، ذرت-پیه، و جو-پیه بودند. مصرف جیره‌های آزمایشی اثری بر میانگین مصرف ماده خشک، افزایش وزن بدن، بازدهی خوراک و ویژگی‌های بیومتری بره‌ها نداشت و تنها موجب افزایش مساحت دنبه در تیمارهای حاوی جو در مقایسه با ذرت شد. افزودن پیه به جیره، سبب افزایش غلظت سرمی تری‌گلیسیرید و کلسترول و در مقابل کاهش غلظت گلوکز سرم در طول دوره آزمایش شد. درحالی‌که، غلظت انسولین و نسبت گلوکز به انسولین، تحت تاثیر نوع غله قرار گرفته، در تیمارهای حاوی جو در مقایسه با ذرت، به‌ترتیب افزایش و کاهش یافتند. میانگین غلظت پروژسترون سرم، تا حدودی تحت تاثیر اثر چربی و نوع غله قرار گرفت. بیان ژن GLUT4 در ماهیچه اسکلتی بره-های مصرف کننده پیه در مقایسه با بره‌های مصرف کننده غلات کاهش یافت. با توجه به نتایج این آزمایش به نظر می‌رسد منبع نشاسته و مقدار چربی جیره بتواند بر مولفه‌های حساسیت انسولینی نشخوارکنندگان اثرگذار باشد.

واژه‌های کلیدی: بازدهی خوراک- پروژسترون- تری‌گلیسیرید- حساسیت انسولینی- کلسترول- مساحت دنبه.

مقدمه

مقاومت انسولینی و بیماری‌های مرتبط با آن، مهمترین مساله سلامت در جهان امروز است. مطالعات مختلف ارتباط مصرف قندهای ساده و چربی‌ها به ویژه چربی‌های اشباع را با مقاومت انسولینی در حیوانات و انسان نشان داده‌اند (بسسن، ۲۰۰۱). مهمترین فرضیه در مورد انسولین این است که غلظت آن با جیره‌های حاوی نشاسته بالا، افزایش و با جیره‌های حاوی چربی بالا، کاهش می‌یابد (گرانسورثی و همکاران، ۲۰۰۸). در مطالعه چان و همکاران (۲۰۱۰)، مصرف خوراک‌های با چربی یا کربوهیدرات بالا، سبب مقاومت انسولینی و کاهش انتقال وابسته به انسولین گلوکز در ماهیچه شد که با افزایش چربی احشایی، سطح تری‌گلیسیرید و انسولین پلاسما همبستگی مثبت داشت. ماهیچه اسکلتی، مکان اصلی بررسی حساسیت انسولینی در پستانداران است. دریافت گلوکز توسط سلول‌های ماهیچه‌ای توسط ۲ ناقل پروتئینی غیروابسته (GLUT1) و وابسته به انسولین (GLUT4) انجام می‌شود. ناقل GLUT4 در وزیکول-های سیتوپلاسمی ذخیره و با ترشح انسولین، به غشای پلاسمایی منتقل می‌شود (کان، ۱۹۹۶). زیراث و همکاران (۱۹۹۷)، گزارش کردند در جیره‌های با چربی بالا بیان ژن GLUT4 ماهیچه تغییر نکرد، اما مقدار پروتئین آن تا ۵۰ درصد کاهش یافت. از طرفی، در رت‌های تغذیه شده با سوکروز بالا، بیان ژن GLUT4 در ماهیچه تا ۲ برابر افزایش یافت، درحالیکه مقدار پروتئین آن تغییر نکرد یا کاهش یافت (کلایمز و همکاران،۱۹۹۴). بالاگ و همکاران (۱۹۹۷)، کاهش بیان ژن GLUT4 ماهیچه اسکلتی در بزهای شیرده را مسوول کاهش حساسیت انسولینی در آنها ذکر کردند. در مقابل، دالمایر و همکاران (۲۰۰۵)، نقص در انتقال وزیکول‌های GLUT4 به غشا در نشخوارکنندگان را دلیل مهم‌تری برای پایین بودن حساسیت انسولینی در نشخوارکنندگان دانستند. با توجه به اطلاعات اندکی که در زمینه اثر تغذیه چربی و نشاسته بر حساسیت انسولینی در نشخوارکنندگان وجود دارد، در این مطالعه با افزودن پیه به جیره‌های

حاوی جو یا ذرت، اثر چربی و نشاسته از دو منبع مختلف بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و بیان ژنGLUT4 ماهیچه راسته بره‌های ماده در یک دوره ۱۰ هفته‌ای بررسی شد.

مواد و روش‌ها

بیست و هفت راس بره ماده بلوچی با میانگین سن ۲/۱±۹/۶ هفته و وزن ۴/۶±۲۶/۴ کیلوگرم از جیره‌های حاوی پیه یا بدون آن، بر پایه ذرت یا جو، به صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۲ در قالب طرح کاملا تصادفی به مدت ۱۰ هفته تغذیه کردند (جدول۱). خوراک روزانه ۲ بار در ساعات ۰۸۰۰ و ۱۴۰۰ و به مقدار ۱۰ درصد بیش از احتیاجات برآورد شده در جداول ARC (۱۹۹۱) در اختیار بره‌ها قرار داده‌شد. در زمان آماده‌سازی، کنسانتره‌ها بدون چربی تهیه شده و در زمان مصرف، چربی به صورت هفتگی به کنسانتره افزوده می‌شد. در طول دوره آزمایش، نمونه‌گیری از خون، وزن‌کشی، و همچنین ویژگی‌های بیومتری بره‌ها به‌صورت هفتگی و باقیمانده خوراک به‌صورت روزانه انجام شد. در پایان هفته دهم بیوپسی از ماهیچه راسته بین دنده ۱۲ و ۱۳ به منظور اندازه‌گیری بیان ژن GLUT4 انجام شد. نمونه ماهیچه در تیوب‌های مخصوص در داخل نیتروژن مایع و سپس به فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد منتقل شد. آغازگرهای رفت و برگشتی ژن اختصاصی و مرجع، بر اساس آزمایش مولهاسلر و همکاران (۲۰۰۹)، به شرکت بتاژن سفارش داده شد(جدول ۲). به منظور استخراج RNA، از کیت(GeneJET RNA Purification Kit (Thermo Scientific و به منظور سنتز cDNA، از کیت Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR (Thermo Scientific) استفاده شد. انجام واکنشReal Time PCR نیز در دستگاه Applied Biosystem 7300، با استفاده از کیت Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific)، صورت گرفت.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب جیره‌های آزمایشی.

	تیمارهای آزمایشی			
	بدون پیه		با پیه	
درصد اجزا	ذرت	جو	ذرت	جو
یونجه خشک	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰
ذرت	۳۰	–	۱۰	–
جو	–	۳۸	–	۱۵
کنجاله کلزا	۹	۸	۸	۸
روغن پیه	–	–	۴	۴
تفاله‌چغندربی‌ملاس	۱۹	۱۲	۳۶	۳۱
موادمعدنی- ویتامین	۱/۲	۱/۲	۱/۲	۱/۲
دی کلسیم فسفات	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
نمک	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
مواد مغذی در ۱۰۰ گرم ماده خشک خوراک				
ماده خشک	۹۲/۲	۹۱/۹	۹۲/۲	۹۲/۱
ماده آلی	۸۴/۹	۸۴/۵	۸۳/۹	۸۲/۷
پروتئین خام	۱۳/۴	۱۳/۹	۱۲/۶	۱۲/۸
عصاره اتری	۲/۳۷	۱/۹۰	۵/۷۶	۵/۴۸
NDF	۳۰/۶	۲۸/۱	۳۳/۸	۳۲/۰
NFC	۴۰/۹	۴۲/۹	۳۴/۶	۳۵/۲
ME(مگاکالری درروز)	۲/۵۳	۲/۵۵	۲/۶۳	۲/۶۵

جدول ۲. ترتیب توالی آغازگرهای رفت و برگشتی ژن اختصاصی و مرجع.

ژن	ترتیب توالی آغازگر رفت	ترتیب توالی آغازگر برگشت	نام اختصاصی
Glut4	5’-gtggccatctttggcttcgtg-3’	5’-cggctgagatctggtcaaac-3’	(AY949177)
RPPO	5’-caaccctgaagtgcttgacat-3’	5’-aggcagatgcatcagcca-3’	(BT021080)

آنالیز داده‌های هفتگی با استفاده از رویه MIXED نرم افزار SAS، با استفاده از مقادیر تکرار شده در زمان به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. آنالیز داده‌های بیان ژن با استفاده از روش دلتا دلتا CT انجام شد. جهت مقایسه میانگین‌ها، لگاریتم داده‌های دلتا دلتا CT محاسبه شد که معادله کلی آن در زیر آمده‌است:

$$-\mathrm{Log}\,(2^{-\Delta\Delta CT}) = \log 2^{\wedge}\,[(CT_{\text{نمونه}} - CT_{\text{میانگین}})\text{ ژن هدف} - (CT_{\text{نمونه}} - CT_{\text{میانگین}})\text{ ژن مرجع}]$$

جدول ۲- میانگین مصرف خوراک، وزن بدن و فراسنجه‌های خونی بره‌ها در طول دوره آزمایش.

موارد	جیره‌های آزمایشی				خطای استاندارد	سطح معنی داری				
	بدون پیه		با پیه			اثر چربی	اثر غله	چربی × غله	اثر هفته	چربی×غله ×هفته
	ذرت	جو	ذرت	جو						
مصرف ماده خشک (گرم در روز)	۱۱۷۸/۵	۱۱۳۲/۵	۱۲۳۱/۶	۱۱۸۸/۸	۱۷/۹۴	۰/۴۰	۰/۴۸	۰/۹۸	<۰/۰۱	<۰/۰۱
افزایش وزن بدن (گرم در روز)	۱۴۲/۰	۱۴۰/۳	۱۶۵/۲	۱۴۴/۳	۷/۶۲	۰/۳۱	۰/۳۹	۰/۴۶	<۰/۰۱	۰/۶۵
بازدهی خوراک[1] (گرم:گرم)	۰/۱۱۶	۰/۱۲۶	۰/۱۳۸	۰/۱۲۰	۰/۰۰۶۳	۰/۳۹	۰/۷۰	۰/۱۲	<۰/۰۱	۰/۷۶
مساحت دنبه[2] (سانتی‌مترمربع)	۳۰۱/۸ b	۳۳۲/۸ a	۳۱۶/۵ ab	۳۳۷/۲ a	۷/۳۵۰	۰/۳۶	۰/۰۱	۰/۶۱	<۰/۰۱	۰/۱۱
گلوکز(میلی‌گرم بردسی‌لیتر)	۱۰۲/۸	۱۰۱/۷	۹۵/۸	۹۷/۴	۱/۰۱	۰/۰۳	۰/۹۳	۰/۵۷	۰/۲۲	۰/۲۶
انسولین(µIU بر میلی‌لیتر)	۴۱/۵ b	۶۱/۰ a	۴۶/۳ ab	۵۵/۷ a	۳/۱۸	۰/۴۵	۰/۰۱	۰/۱۸	۰/۰۳	۰/۸۰
گلوکز:انسولین	۳/۴۵a	۲/۴۲b	۲/۵۵ab	۲/۳۹b	۰/۱۲۷	۰/۲۱	۰/۰۱	۰/۱۳	۰/۰۵	۰/۷۵
تری‌گلیسرید(میلی‌گرم بردسی‌لیتر)	۲۵/۱ b	۲۴/۰ b	۳۲/۲ a	۲۹/۲ ba	۰/۶۲	<۰/۰۱	۰/۱۹	۰/۵۰	<۰/۰۱	۰/۳۵
کلسترول(میلی‌گرم بردسی‌لیتر)	۵۷/۷ ab	۵۴/۲ b	۶۵/۱a	۶۵/۶ a	۱/۲۲	<۰/۰۱	۰/۴۹	۰/۴۳	<۰/۰۱	<۰/۰۱
پروژسترون(µIU بر میلی‌لیتر)	۱/۸۶ab	۱/۵۰ b	۲/۱۷a	۱/۸۸ab	۰/۱۲۳	۰/۱۴	۰/۱۵	۰/۸۱	<۰/۰۱	۰/۳۹

[1]افزایش وزن بدن: مصرف خوراک در هر هفته، [2] مساحت دنبه= طول دنبه×عرض دنبه

نتایج وبحث

با توجه به جدول ۲، مصرف جیره‌های آزمایشی اثری بر میانگین افزایش وزن بدن، مصرف ماده خشک روزانه و بازدهی خوراک بره-های ماده نداشت. همچنین اندازه‌های طول بدن، قد از جدوگاه، دورسینه، عرض سینه و دور شکم بره‌ها تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفتند، و تنها مساحت دنبه در تیمارهای حاوی جو در مقایسه با ذرت افزایش یافت (P<۰/۰۱). افزودن پیه به جیره، سبب افزایش غلظت‌های سرمی تری‌گلیسرید و کلسترول بره‌ها در طول دوره آزمایش شد (P<۰/۰۱) و غلظت گلوکز سرم را کاهش داد (P<۰/۰۵). از طرفی، غلظت انسولین، به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر نوع غله قرار گرفته و در تیمارهای حاوی جو بالاتر از ذرت (P=۰/۰۱) و نسبت گلوکز: انسولین در تیمارهای حاوی ذرت بالاتر بود (P=۰/۰۱). بنابراین، تغییرات غلظت گلوکز سرم تحت تاثیر غلظت نشاسته و انسولین تحت تاثیر منبع نشاسته جیره (ذرت یا جو) قرار گرفتند. اوبا و الن (۲۰۰۳)، نشان دادند با افزایش غلظت نشاسته در جیره، میانگین غلظت روزانه گلوکز و انسولین پلاسما افزایش و غلظت NEFA کاهش یافت. اما، هیچ‌یک تحت تاثیر تجزیه‌پذیری نشاسته جیره قرار نگرفتند. اما، در مطالعه موریل وهمکاران (۲۰۰۸)، غلظت انسولین سرم با افزایش نشاسته تجزیه‌پذیر در شکمبه افزایش یافت. غلظت پروژسترون سرم، اگرچه به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر اثر چربی (P=۰/۱۴)، یا نوع غله (P=۰/۱۵) قرار نگرفت، میانگین آن در طول دوره آزمایش در تیمار پیه-ذرت بالاتر از تیمار بدون پیه-جو بود (P<۰/۰۵). در مطالعات مختلف، افزودن مکمل چربی سبب افزایش نرخ آبستنی و پروژسترون پلاسما (سان و همکاران، ۱۹۹۶)، و یا کاهش آن (لوسی و همکاران، ۱۹۹۳) شده‌است. موریل و همکاران (۲۰۰۸) نیز، ارتباطی بین تجزیه‌پذیری نشاسته و غلظت پروژسترون در گاوها مشاهده نکردند.

کاهش معنی‌دار بیان نسبی ژن GLUT4 نمونه‌ها در تیمارهای حاوی پیه (P<۰/۰۱)، نشان‌دهنده بیان کمتر ژن پروتئین ناقل گلوکز در ماهیچه بره‌های مصرف کننده پیه در مقایسه با بره‌های مصرف کننده غلات بود (جدول ۳). این نتیجه نشان می‌دهد که بیان ژن GLUT4 در ماهیچه بره‌های ماده، تحت تاثیر ماهیت منبع انرژی جیره قرار گرفته که بر خلاف نتایج زیراث و همکاران (۱۹۹۷) است، اما با نتایج کلایمز و همکاران (۱۹۹۴) مطابقت دارد.

جدول ۳- میانگین حداقل مربعات تغییرات نسبی بیان ژن پروتئین ناقل گلوکز در ماهیچه راسته بره‌ها.

موارد	جیره‌های آزمایشی				خطای استاندارد	سطح معنی داری		
	بدون پیه		با پیه					
	ذرت	جو	ذرت	جو		اثر چربی	اثر غله	چربی × غله
بیان نسبی ژن GLUT4	۰/۰۶۰[ab]	۰/۴۲۵[a]	−۰/۰۸۷[b]	−۰/۲۳۲[b]	۰/۰۷۶۵	<۰/۰۱	۰/۴۱	۰/۰۶

منابع

Balage, M., J. F. Hocquette, B. Graulet, P. Ferre and J. Grizard. 1997. Skeletal muscle glucose transporter (GLUT-4) protein is decreased in lactating goats. Animal Science. 65 (2): 257-265.

Bessesen, D. 2001. The role of carbohydrates in insulin resistance. American Society for Nutritional Science. Symposium: Carbohydrates - Friend or Foe: 2782-86.

Bradford B. J. and M. S. Allen. 2007. Depression in feed intake by a highly fermentable diet is related to plasma insulin concentration and insulin response to glucose infusion. J. Dairy Sci. 90:3838–3845.

Chun, M. R., Y. J. Lee, K. H. Kim, Y. W. Kim, S. Y. Park, K. M. Lee, J. Y. Kim, and Y. K. Park. 2010. Differential Effects of High-carbohydrate and High-fat Diet Composition on Muscle Insulin Resistance in Rats. J Korean Med Sci,25: 1053-1059.

Garnsworthy p. c., a. Lock, G. e. mann, K. D. Sinclair, and r. 2008. nutrition, metabolism, and Fertility in Dairy cows: 1. Dietary energy Source and Ovarian Function. J. Dairy Sci. 91:3814–3823.

Kahn, BB. 1996. Glucose transport: pivotal step in insulin action. Diabetes 45: 1644-1654.

Klimeš, I., E. Šeböková, A. Minchenko, T. Maassen, R. Moss, A. Mitková, M. Wiersma, P. Bohov. 1994. GLUT4 gene expression and GLUT4 protein levels in muscle of high sucrose-fed rats: effect of dietary fish oil. J. Nutritional Biochemistry. 5 (8): 389-396.

Lucy MC, De La Sota RL, Staples CR,Thatcher WW. Ovarian follicular populationsin lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (sometribove) orsaline and fed diets differing in fat content andenergy. J Dairy Sci 1993, 76: 1014–1027.

Moriel P., T. S. Scatena, O. G. SáFilho, R. F. Cooke, and J. L. M. Vasconcelos. 2008. Concentrations of progesterone and insulin in serum of nonlactating dairy cows in response to carbohydrate source and processing. J Dairy Sci. 91: 4616-4621.

Oba M. and M. S. Allen. 2003. Effects of corn grain conservation method on feeding behavior and productivity of lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. J. Dairy Sci. 86:174–183.

Son J, Grant RJ, Larson LL. Effects of tallowand escape protein on lactional and reproductiveperformance. J Dairy Sci 1996, 79: 822–830.

Zierath JR, Houseknecht KL, Gnudi L, Kahn BB. 1997. High-fat feeding impairs insulin-stimulated GLUT4 recruitment via an early insulin-signaling defect. Diabetes. 46(2):215-23.

The Effect of Supplemented Tallow *vs.* Corn or Barley on Performance, Blood Metabolites and Skeletal Muscle GLUT4 of Female Baloochi Lambs

Atiyeh Bohluli Ghaen[1*], Abasali Naserian[2], Reza Valizadeh[2], Mohammad Reza Nassiry[3], Hossein Valizade Dalenjan[4]

[1]Ph. D. student, [2] professors, [3]Associate professor, and [4]M. Sc. graduated in Animal Science department, Agriculture College, Ferdowsi University of Mashhad, Email: at_bohluli@yahoo.com

Abstract

Twenty seven Baloochi female lamb with average of 9.6 wk old and 26.4 kg BW were fed experimental rations with 2×2 factorial experiment in a completely randomized design for 10 wk. Treatments were ration containing corn, barley, corn-tallow, and barley-tallow. Treatments were not affected dry matter intake, body weight gain, feed efficiency and biometry characteristics of lambs, but increased rump area in barley groups vs. corn. Supplementing tallow, increased serum triglyceride and cholesterol concentrations and decreased glucose concentration in the experimental period. But, blood insulin and glucose to insulin ratio, were affected by cereal, and were respectively higher and lower in barley vs. corn treatments. The average of serum progesterone was trend to affect by fat and cereal. Gene expression of GLUT4 in skeletal muscle was declined in lambs were fed tallow vs. others. In conclusion, it seems source of starch and fat content of the ratio would be effective on insulin sensitivity of ruminants.

Key words: feed efficiency- progesterone- triglyceride- insulin sensitivity- chollesterol- rump area.