

# اندازه گیری اکسیداسیون اسید آمینه شاخص روشی برای تعیین احتیاجات اسید آمینه در نیمچه های مرغ مادر

احمد حسن آبادی<sup>۱\*</sup> حسن نصیری مقدم<sup>۲</sup> حسن کرمانشاهی<sup>۲</sup>

(۱) گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان - ایران.

(۲) گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد - ایران.

(دریافت مقاله: ۲ بهمن ماه ۱۳۸۴، پذیرش نهایی: ۱۲ تیر ماه ۱۳۸۶)

## چکیده

در این آزمایش، دو قطعه نیمچه مرغ مادر سویه راس در سن ۱۷ هفتگی انتخاب، و عمل جراحی به منظور قرار دادن سوند در سیاه رنگ گردن برای تزریق مدام اسید آمینه فنیل آلانین نشان دار انجام شد. پرندگان به صورت انفرادی در داخل قفس متابولیکی قرارداده شدند. هر پرنده در روزهای مختلف آزمایش به صورت تصادفی یک سطح لیزین (۰/۰۵، ۰/۰۵، ۰/۰۴، ۰/۰۳، ۰/۰۲، ۰/۰۱) در صد جیره (راز طریق جیره غذایی دریافت کرد. در شروع اندازه گیری اکسیداسیون برای هر جیره مورد آزمایش، یک ذرات بتابانی KBq/KgBW ۷۵ فنیل آلانین نشان دار از طریق سوند به پرنده تزریق شد. متعاقباً فنیل آلانین نشان دار، به مدت ۴ ساعت با سرعت KBq.h<sup>-۱</sup>.KgBW<sup>-۱</sup> KBq.h<sup>-۱</sup>.KgBW تزریق گردید و دی اکسید کربن نشان دار تنفسی اندازه گیری شد. نقطه شکست منحنی تولید دی اکسید کربن نشان دار حاصل از اکسیداسیون اسید آمینه شاخص، به عنوان میزان احتیاج اسید آمینه لیزین مورد استفاده قرار گرفت. احتیاج انفرادی اسید آمینه لیزین برای پرندگان ۱۰۲ به ترتیب ۴۶۳ و ۴۵۸ درصد جیره بدست آمد. میانگین احتیاج لیزین در پرنده ۴۶۱ دو درصد جیره بود.

واژه های کلیدی: لیزین، احتیاجات انفرادی، اکسیداسیون اسید آمینه شاخص، کربن نشان دار، نیمچه مرغ مادر.

می آید<sup>(۱)</sup>). در حال حاضر اطلاعات بسیار کمی در مورد احتیاجات اسید آمینه ای مرغان مادر وجود دارد. توصیه های تغذیه ای انجمن ملی تحقیقات در مورد این دسته از پرندگان بر اساس احتیاجات بدست آمده از انواع دیگر پرندگان می باشد<sup>(۲)</sup>). علاوه بر این، مرغان مادر برای پیشگیری از چاقی به صورت محدود تغذیه می شوند<sup>(۳)</sup> و لذا تعیین احتیاجات اسید آمینه ای آنها با استفاده از روش های متداول مانند آزمایش های رشدی (Growth assays) و تعادل ازت (Nitrogen balance) با دشواری مواجه می گردد<sup>(۴)</sup>). هدف از این آزمایش، ارزیابی قابلیت استفاده از روش اکسیداسیون اسید آمینه شاخص برای تعیین احتیاج به اسید آمینه لیزین در نیمچه های مرغ مادر بود.

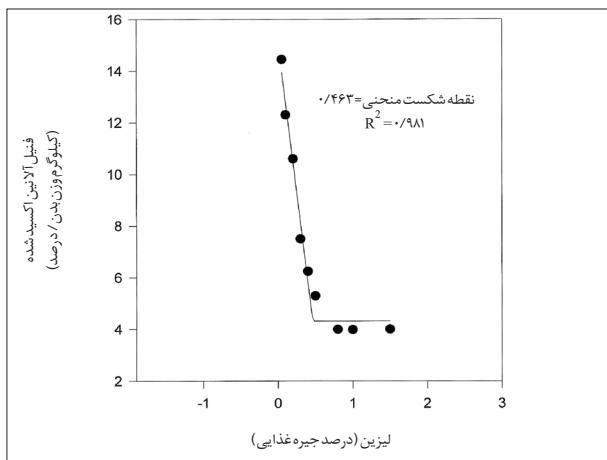
## مواد و روش کار

دو قطعه نیمچه مرغ مادر سویه راس در سن ۱۷ هفتگی از گله مرغ مادر، انتخاب، توزین و در داخل قفس های مخصوص مرغ تخمگذار قرار داده شدند. وزن پرنده شماره ۱۰۲ در شروع آزمایش به ترتیب ۲۲۷۳ و ۲۳۰۷ گرم بود. شرایط محیطی اتاق به صورت اتوماتیک کنترل می شد، به طوری که ساعت روشنایی ۸ ساعت و دما به طور متوسط ۲۳ درجه سانتیگراد بود. آب بدون هیچ گونه محدودیتی تأمین می شد. مرغ ها در مدت سه هفته آزمایش، روزانه ۷۵ گرم جیره غذایی متداول در گله را به صورت انفرادی دریافت می کردند. پرندگان در دو هفته اول آزمایش، با جیره آردی متعارف نیمچه های مرغ مادر بر طبق توصیه های انجمن ملی تحقیقات تغذیه شدند<sup>(۵)</sup> و سپس جیره کنترل را دریافت کردند که دارای یک درصد لیزین بود. این جیره به شکل پلت و خالص تهیه گردید<sup>(۶)</sup>. برای اطمینان از اینکه لیزین تنها اسید

## مقدمه

اساس روش اکسیداسیون اسید آمینه شاخص oxidation technique (Indicator amino acid) برای تعیین احتیاجات اسیدهای آمینه، بر این واقعیت استوار است که اسیدهای آمینه در بدن یا در سنتز پروتئین شرکت می کنند و یا اکسیده می شوند<sup>(۷)</sup>. هنگامی که مقدار اسید آمینه مورد مطالعه در جیره ناکافی است ولی دیگر اسیدهای آمینه به اندازه کافی و یا بیشتر از احتیاج حیوان وجود دارد، در ساخت پروتئین شرکت نکرده و همراه با اسید آمینه شاخص اکسیده می شوند. ولی هنگامی که اسید آمینه مورد مطالعه تأمین می گردد، در نقطه تأمین احتیاج و یا بالاتر از آن، سنتز پروتئین به حداقل را اکسیداسیون اسید آمینه شاخص به حداقل می رسد. در این روش اسید آمینه مورد مطالعه نشان دار نیست و تنها میزان کمی اسید آمینه شاخص که دارای کربن نشان دار (کربن ۱۴) است، به جیره افزوده می شود و یا با سرعتی ثابت و مدام به بدن حیوان تزریق می گردد. نقطه شکست در تولید دی اکسید کربن نشان دار حاصل از اکسیداسیون اسید آمینه شاخص، به عنوان میزان احتیاج اسید آمینه مورد آزمایش شناخته و تعیین می گردد<sup>(۸)</sup>. روش اکسیداسیون اسید آمینه شاخص، به طور موقتی آزمایزی در خوک برای تعیین احتیاجات اسیدهای آمینه هیستیدین<sup>(۹)</sup>، متیونین<sup>(۱۰)</sup>، لیزین<sup>(۱۱)</sup>، ترئونین<sup>(۱۲)</sup> و تریپتوفان<sup>(۱۳)</sup> و همچنین در طیور<sup>(۱۴)</sup> و انسان<sup>(۱۵)</sup> مورد استفاده قرار گرفته است. به عقیده اوینگ، تعیین احتیاجات با روش اکسیداسیون، روشی انعطاف پذیر است و نتایج دقیقی به بار می آورد. تعیین احتیاجات اسید آمینه با این روش ۴ تا ۶ ساعت طول می کشد و بنابراین احتیاج اسید آمینه برای زمان خیلی کوتاه و دوره های زمانی خاص بدست





نمودار ۱- احتیاج انفرادی اسید آمینه لیزین پرندۀ شماره ۱.

(تجزیه کربن نشاندار در هر ثانیه) می‌باشد. هر پرندۀ Disintegrations per minute (دینتی‌تریکس) با سرعت  $h^{-1}$  برابر است. در مدت زمان  $t$  که تجزیه پرندگان مورد آزمایش به صورت انفرادی در داخل قفسه‌های انفرادی قرار داشته‌اند و امکان حرکت محدود در داخل قفس وجود داشت. سوند از روزنه باریکی به داخل قفس متابولیکی راه یافت و به منظور جلوگیری از آسیب دیدن توسط پرنده، داخل مجرای محافظه قرار گرفت. هر یک از جیره‌های آزمایشی به مدت ۴۳ ساعت تغذیه شدند. نیمی از خوارک مجاز روزانه ۷۵ گرم به چهار قسمت مساوی تقسیم شد و به صورت ساعتی بلا فاصله قبل از شروع تزریق مداوم در اختیار پرندگان قرار داده شد. این روش تغذیه برای به حداقل رساندن تغییرات بازیافت  $\text{CO}_2$  تنفسی در اثر وارد شدن مقادیر زیادی غذا به دستگاه گوارش در نظر گرفته شد. نصف دیگر خوارک مجاز روزانه از جیره آزمایشی بعدی که به صورت تصادفی انتخاب می‌شد، به پرندگان داده می‌شد. تجهیزات مورد استفاده برای جمع آوری دی اکسید کربن نشان دار در این آزمایش مشابه تجهیزات مورد استفاده در آزمایش Tabiri و همکاران (۱۸) بود. بدین صورت که هوای داخل قفسه‌های متابولیکی توسط پمپ خالاً ۱۰۲۸-۱۰۱۰-G608X، Gast Pump Manufacturing Corp (Model 20) با سرعت جريان ۲۰ لیتر در دقیقه از میان سه محفظه که هر یک دارای ۱۰۰ میلی لیتر جاذب دی اکسید کربن (منواتانول آمین و ۲-متوكسی اتانول به نسبت حجمی ۱ به ۲) عبور داده می‌شد. بطری‌های جمع آوری دی اکسید کربن تنفسی هر ۳۰ دقیقه یک بار در مدت انجام آزمایش تعویض می‌شدند. جاذب دی اکسید کربن موجود در دو بطری اول با هم مخلوط، توزین و ۱۰ میلی لیتر نمونه به طور جداگانه (نمونه A) در داخل ویال در پوش دار گرفته می‌شد. مایع جاذب دی اکسید کربن بطری سوم به صورت جداگانه توزین و ۱۰ میلی لیتر نمونه (نمونه B) گرفته می‌شد. یک میلی لیتر از هر نمونه A و B به داخل ویال‌های شمارش دی اکسید کربن نشان دار انتقال داده می‌شد و

جدول ۱- اجرای تشکیل دهنده جیره مورد آزمایش.

درصد	اجزای جیره
۶۲/۵	نشاسته ذرت
۱۰/۰	روغن ذرت
۲/۰/۹	سلولز
۵/۳/۷	پیش مخلوط مواد معدنی <sup>۱</sup>
۱/۰	پیش مخلوط و بتامینی <sup>۲</sup>
۱۸/۹/۴	پیش مخلوط اسید آمینه <sup>۳</sup>

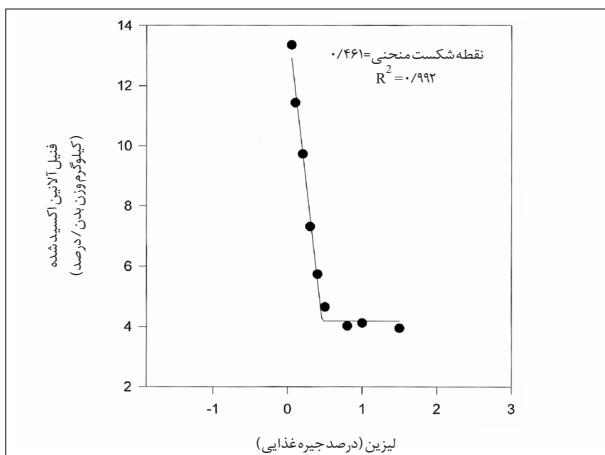
۱- در هر کیلو گرم جیره، ۳ گرم کربنات کلسیم، ۲۸ گرم  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ، ۹ گرم نمک طعام، ۳/۵ گرم سولفات منیزیوم، ۶۵ میلی گرم سولفات منگنز، ۵۰۰ میلی گرم  $\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)$ ، ۱۰۰ میلی گرم کربنات روی، ۲۰ میلی گرم سولفات مس، ۹ میلی گرم  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ، ۶ میلی گرم هولیبدات سدیم، ۴۰ میلی گرم بید پتامین، ۱ میلی گرم سولفات کالات و ۲/۰ میلی گرم  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  تاتین می‌کرد.

AIN-93-VX; 960402, ICN Biomedicals, Aurora, OH -۲

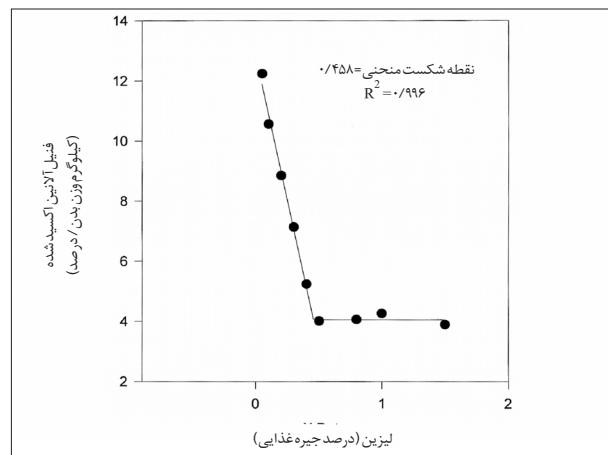
۲- هر کیلو گرم پیش مخلوط اسید آمینه شامل: ۸/۲ گرم ال- آرزنین، ۶/۵ گرم ال- سیستین، ۲/۷ گرم ال- هیستین، ۲/۵ گرم ال- ایزو لوسین، ۲/۹ گرم ال- لوسین، ۴ گرم ال- فیلآلین، ۳/۵ گرم ال- ترۇنین، ۸ گرم ال- تیرۇنافان، ۶/۱ گرم ال- والین و مابقی پرکننده سبوس گندم.

آمینه محدود کننده در این آزمایش باشد، جیره طوری تنظیم شد که تمام اسیدهای آمینه ضروری به جز لیزین، ۵ درصد بیشتر از توصیه انجمن ملی تحقیقات برای مرغان مادر گوشتش باشد (۱۳). این جیره سه روز قبل از عمل جراحی به پرندگان داده شد و تا شروع آزمایش اکسید اسیون (سن بیست هفتگی)، ادامه یافت. ترکیب جیره خالص در جدول انشان داده شده است. علاوه بر این، سه جیره پایه تنظیم گردید که دارای سطوح مختلف ال- لیزین کلراید (صفر، ۵/۰ و ۵/۱ درصد جیره) بودند. این جیره‌ها به ترتیب با ۱۳/۵، ۱۲/۹ و ۱۲/۱ درصد ال- گلوتامات به منظور حفظ هم ازتی جیره هامکمل شدند. هر کدام از ۹ جیره آزمایشی با سطوح مختلف لیزین (۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۴، ۰/۰۵، ۰/۰۸، ۰/۰۱ و ۰/۰۵ درصد جیره) از مخلوط کردن جیره‌ها با هم دیگر با نسبت مناسب بدست آمد. عمل جراحی به منظور قرار دادن سوند در سیاه‌رگ گردن در سن ۱۹ هفتگی انجام شد. پس از سپری شدن دوره نقاوت، نیمچه‌های درسن ۲۰ هفتگی توزین و در داخل قفسه‌های متابولیکی قرار داده شدند. در ابتدا هر پرنده با جیره شاهد (دارای ۱ درصد لیزین) تغذیه شد و اکسید اسیون اسید آمینه شاخص تعیین گردید. متعاقباً هر پرنده یکی از ۸ سطح آزمایشی لیزین (۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۴، ۰/۰۵، ۰/۰۸ و ۰/۰۵ درصد جیره) را برای یک دوره عادت‌پذیری ۴۳ ساعتی قبل از هر مطالعه اکسید اسیون دریافت کردند. جیره هر پرنده به صورت تصادفی انتخاب می‌شد تا تمام سطوح آزمایشی لیزین را دریافت کند. میزان اکسید آمینه شاخص طی یک دوره ۴ ساعتی با استفاده از روش اکسید اسیون اسید آمینه شاخص اندازه‌گیری شد. در این آزمایش، اسید آمینه فیلآلین نشان دار ( $\text{L}-[1-^{14}\text{C}] \text{Phenylalanine}$ ) با غلظت  $37 \text{KBq}/\text{ml}$  به عنوان اسید آمینه شاخص مورد استفاده قرار گرفت ( $\text{KBq}$  مخفف عبارت Becquerel است. یک Becquerel می‌باشد. مخفف Kilo second dps می‌باشد).





نمودار-۳- میانگین احتیاجات اسید آمینه لیزین پرنده شماره ۱ و ۲.



نمودار-۲- احتیاج انفرادی اسید آمینه لیزین پرنده شماره ۲.

اسید آمینه فنیلآلانین بیشتری اکسیده نشد. میانگین ضریب تغییرات (CV) در حالت پلاتوبرای همه اکسیداسیون‌های انجام شده ۱۲/۲۸ درصد بر کیلوگرم وزن بدن بود. میانگین درصد فنیلآلانین نشان دار اکسید شده (نمودار ۳) به صورت خطی از ۰/۰۵ تا ۰/۰۵ درصد لیزین در جیره کاهش یافته و از ۰/۰۵ تا ۰/۱ درصد لیزین در جیره ثابت باقی ماند. میزان احتیاج اسید آمینه لیزین هر پرنده و همچنین میانگین احتیاجات لیزین دوپرنده مورد استفاده در این آزمایش توسط مدل رگرسیون غیرخطی (Nonlinear regression) با استفاده از نرم افزار Sigma Stat (۱۷) تعیین شد. احتیاجات انفرادی اسید آمینه لیزین (نقطه شکست منحنی) برای پرنده‌گان ۱ و ۲ به ترتیب ۰/۴۶۱ و ۰/۴۵۸ درصد لیزین در جیره و یا به ترتیب ۳/۴۷ و ۳/۴۳ میلی گرم لیزین برای هر پرنده در روز بود. میانگین احتیاج پرنده‌گان ۱ و ۲ درصد لیزین در جیره و یا ۳/۴۶ میلی گرم لیزین برای هر پرنده در روز تعیین گردید.

## بحث

اطلاعات علمی بسیار کمی در مورد احتیاجات اسید آمینه‌ای نیمچه‌های مرغ مادرگزارش شده است و این مسئله تبدیل روش‌های سنتی تعیین احتیاجات اسیدهای آمینه را به روش‌های جدیدتر دشوار می‌نماید. انجمن ملی تحقیقات (۱۲) احتیاجات مواد مغذی مرغان مادر افقط در یک تولید تخم مرغ فراهم می‌کند. برخی از این توصیه‌ها نیز حاصل اطلاعات آزمایش شده نیستند بلکه احتیاجات مرغان تخمگذار تجارتی و جوجه‌های گوشتشی هستند (۱۳). جوجه‌های گوشتشی در حال رشد گرچه از نظرزنگرهی با نیمچه‌های مرغ مادر گوشتشی مشابه‌تر دارند، اما از نظر فیزیولوژیکی کاملاً متفاوت هستند و مرغان تخمگذار نیاز از نظرزنگرهی که برای صفات تولیدی کاملاً متفاوتی انتخاب شده‌اند. در این آزمایش با استفاده از روش اکسیداسیون اسید آمینه شاخص مشخص شد که میزان احتیاج اسید آمینه لیزین در دو نیمچه مرغ مادر مورد آزمایش بسیار کمتر از مقدار توصیه شده توسط انجمن ملی تحقیقات برای مرغان مادر بالغ در اوچ تولید (۳/۴۶ میلی گرم در روز) برای هر نیمچه مرغ در مقابل ۷۶۵ میلی گرم در روز برای هر مرغ) می‌باشد (۱۳).

میلی لیتر مایع درخشان‌ساز Canada, Mississauga, ON, Canada (Atomlight, Dupont CA) به آن افزوده می‌شد. تجزیه کربن نشان دارد دقیقه (Disintegrations per minute(dpm)) توسط دستگاه شمارشگر (Scintillation Counter, Beckman Instruments Inc., Irvine, CA) در مدت ۱۰ دقیقه به ازای هر نمونه اندازه‌گیری شد. در هر یک از سطوح لیزین،  $\text{CO}_2$  نشان دار تفسی در مقابل زمان، به صورت منحنی نشان داده شد. به منظور تعیین دقیق درصد اکسیداسیون اسید آمینه شاخص، منحنی اکسیداسیون می‌باشد در حالت پلاتو باشد. به عبارت دیگر میزان اکسیداسیون اسید آمینه شاخص با گذشت زمان افزایش پیدا نکند. حالت پلاتوی منحنی ابتدا با چشم تعیین شدو سپس با رگرسیون خطی غیرمعنی دار تایید گردید (۱۶). درجه اکسیداسیون و بازیافت  $\text{CO}_2^{14}$  تفسی برای ابقای آن در ذخایر بی کربنات بدن تصحیح گردید. بدین منظور درصد اکسیداسیون آن بر میزان بازیافت کربن نشان دار ( $0/۰۸۶$ ) که توسط تبییری و همکاران تعیین شده بود تقسیم گردید. در آزمایش مذکور از تزریق مداوم بیکربنات نشان دار به صورت وریدی به مدت ۴ ساعت برای تعیین ابقای کربن نشان دار استفاده شده بود (۱۸).

## نتایج

در مدت انجام آزمایش اکسیداسیون، پرنده‌گان از سلامت و شرایط فیزیولوژیکی خوبی برخوردار بوده و علائمی از استرس در آنها مشاهده نمی‌شود. شاخص عدم وجود استرس در نیمچه‌های مورد آزمایش، اشتهاهی طبیعی، فعالیت و پاسخ به محیط بود. میانگین اضافه وزن بدن در مدت ۱۷ روز آزمایش ۱۶۲ گرم بود. تغییرات وزن بدن در محاسبات اکسیداسیون‌های مختلف در نظر گرفته می‌شود. نمودار تولید  $\text{CO}_2^{14}$  برای دو پرنده مورد استفاده در این آزمایش که سطح اسید آمینه لیزین را دریافت کرده در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است. به موازات افزایش میزان اسید آمینه لیزین در جیره، اکسیداسیون اسید آمینه فنیلآلانین نشان دار و در نتیجه تولید  $\text{CO}_2^{14}$  کاهش یافت. در این مرحله با دریافت اسید آمینه لیزین بیشتر،



در حالت فیزیولوژیکی حیوان تغییری بوجود آید. احتیاجات اسید آمینه‌ای نیمچه‌های مرغ مادر با افزایش سن و جثه، رسیدن به سن بلوغ جنسی، رسیدن به اوج تولید و سپس با کاهش تولید تغییرمی‌یابد. با استفاده از روش اکسیداسیون اسید آمینه شاخص می‌توان احتیاجات اسید آمینه‌ای پرندگان در هر یک از این مراحل تعیین نمود و جیره‌های دقیق‌تری را برای مرغان مادر فراهم کرد.

احتیاجات اسید آمینه‌ای نیمچه‌ها کمتر از مرغان بالغ است زیرا نیمچه‌ها سرعت رشد کمی دارند و احتیاجات تخمگذاری نیز ندارند.<sup>(۷)</sup> معتقد است که احتیاج لیزین برای مرغان مادر گوشتی تابعی از احتیاجات نگهداری، رشد، تولید و تنوع در گله است. پرندگان مورد آزمایش Fisher با پرندگان مورد آزمایش در این مطالعه از نظر سن و وزن بدن مشابه بودند، به جز اینکه پرندگان این آزمایش تحریک نوری برای شروع تخمگذاری دریافت نکرده بودند. بنابراین منطقی است که فرض شود احتیاج لیزین پرندگان این آزمایش معادل آزمایش فیشر منهای احتیاج تولید تخم مرغ باشد.<sup>(۸)</sup> Fisher برآورده نمود که ۵۰ درصد از احتیاجات لیزین در اوج تولید مریوط به تولید تخم مرغ می‌باشد. بنابراین می‌بایست ۴۷ میلی گرم لیزین در روز برای هر پرندگان برای فعالیت‌های دیگر مثل رشد و نگهداری باشد. انجمن ملی تحقیقات<sup>(۹)</sup> نیز تقسیم‌بندی مشابهی برای لیزین دارد (۷۶۵ میلی گرم لیزین برای هر پرندگان در روز بود که با احتیاج لیزین غیرتخمگذاری (رشد و نگهداری) بدست آمده از انجمن ملی تحقیقات<sup>(۱۰)</sup> تا حدودی مطابقت دارد. روش اکسیداسیون اسید آمینه شاخص نسبت به تغییرات سریع در ذخیره اسید آمینه (ستنتر پروتئین داخل سلولی) بدن حساس است و به پاسخ‌های غیرمستقیم مثل رشد و تولید متکی نمی‌باشد. بنابراین روش اکسیداسیون اسید آمینه شاخص روشنی ایده‌آل برای تعیین احتیاجات انفرادی اسیدهای آمینه می‌باشد<sup>(۱۱)</sup>. نتایج بدست آمده از این روش برای وارد کردن در مدل‌های ریاضی متابولیسم اسیدهای آمینه در پرندگان و احتیاجات نگهداری، تولید تخم مرغ و رشد مناسب است.<sup>(۷)</sup> نیز روش اکسیداسیون را برای بدست آوردن احتیاجات دقیق تریپیشنهاد کرده است. به طور کلی، این روش امکان تعیین احتیاجات اسیدهای آمینه را به صورت انفرادی در مدت زمان کوتاه و تعیین میزان تنوع را در داخل جمعیت که در مدل‌های ریاضی ضروری هستند امکان‌پذیر می‌نماید. علاوه بر این، اطلاعات بدست آمده در مورد تنوع موجود در گله به متخصصین تغذیه‌آجازه می‌دهد تا لیزین مورد نیاز گله را بدقت محاسبه نمایند. این نتایج به محاسبه احتیاجات اسید آمینه ایده‌آل برای نیمچه‌های مرغ مادر با استفاده از لیزین به عنوان یک اسید آمینه مرجع کمک می‌نماید. در سال‌های اخیر متخصصین تغذیه خوک احتیاجات اسید آمینه ایده‌آل را مورد استفاده قرار داده‌اند. این شیوه در تغذیه طیور نیز مقبولیت خوبی کسب کرده است<sup>(۱۲)</sup>. مدل فاکتوریل نیز برای تعیین احتیاجات انرژی و اسیدهای آمینه در پرندگان مورد استفاده قرار گرفته است<sup>(۷)</sup>. اطلاعات بدست آمده از روش اکسیداسیون اسید آمینه شاخص، در روش فاکتوریل به نحو بهتری قابل استفاده است. تا کنون روش مناسبی برای تعیین احتیاجات انفرادی در پرندگان وجود نداشت. با روش اکسیداسیون اسید آمینه شاخص می‌توان بر روی یک حیوان اندازه‌گیری‌های مکرر انجام داد بدون اینکه در مدت آزمایش



## References

- Baker, D.H., Han, Y. (1994) Ideal amino acid profile for chicks during the first three weeks post hatching. *Poult. Sci.* 73: 1441-1447.
- Ball, R.O., Bayley, H.S. (1984) Influence of dietary protein concentration on the oxidation of phenylalanine by the young pig. *Br. J. Nutr.* 55: 651-658.
- Ball, R.O., Mohn, S., Bertolo, R.F.P., Korver, D.R. (2002) Rapid new methods for measuring amino acid requiring and true amino acid availability in feeds for swine and poultry. 23<sup>rd</sup> Western Nutrition Conference, Edmonton, Alberta, Canada. pp. 151-161.
- Bartov, I., Bornstein, S., Lev, Y., Pines, M., Rosenberg, J. (1988) Feed restriction in broiler breeder pullets: skip-a-day versus skip-two-days. *Poult Sci.* 67: 809-813.
- Coleman, R.A., Bertolo, R.F., Moehn, S., Leslie, M.A., Ball, R.O. and Korver, D. R. (2003) Lysine requirements of pre-*lay* broiler breeder pullets: determination by indicator amino acid oxidation. *J. Nutr.* 133: 2826-2829.
- Emmert, J.L., Baker, D.H. (1997) Use of the ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in broiler diets. *J. Appl. Poult. Res.* 6: 462-470.
- Fisher, C. (1998) Amino acid requirements of broiler breeders. *Poult. Sci.* 77: 124-133.
- Kim, K.I., Bayley, H.S. (1983) Amino acid oxidation by young pigs receiving diets with varying levels of sulfur amino acids. *Br. J. Nutr.* 50: 383-390.
- Kim, K.I., Elliott, J.I., Bayley, H.S. (1983) Oxidation of an indicator amino acid by young pigs receiving diets with varying levels of lysine or threonine, and an assessment of amino acid requirements. *Br. J. Nutr.* 50: 391-399.
- Kim, K.I., McMillan, I., Bayley, H.S. (1983) Determination of amino acid requirements of young pigs using and indicator amino acid. *Br. J. Nutr.* 50: 369-382.
- Lin, F.D., Smith, T.K. and Bayley, H.S. (1986a) Tryptophan requirement of growing swine as determined by the oxidation of an indicator amino acid. *J. Anim. Sci.* 62: 660-664.
- Lin, F.D., Smith, T.K., Bayley, H.S. (1986b) Influence of dietary lysine concentration on the oxidation of an indicator amino acid by growing boars. *J. Anim. Sci.* 63: 1179-1183.
- National Research Council, (1994) Nutrient requirements of poultry. 9<sup>th</sup> rev. ed. National Academy Press, Washington, Dc.
- Pencharz, P.B., Ball, R.O. (2003) Different approaches to define individual amino acid requirements. *Ann. Rev. Nutr.* 23: 101-116.
- Pettit-Ewing, H., Pesti, G.M., Bakalli, R.I. (2001) Development of procedures for determining the amino acid requirements of chickens by the indicator amino acid oxidation method. *Poult. Sci.* 80: 182-186.
- SAS. (1988) Statistics. User's Guide, Version 6 ed., SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Sigma stat for windows (Jandel Science Software, Version1.03, San Rafael CA), USA.
- Tabiri, H.Y., Bertolo, R.F.P., Ball, R.O., Korver, D.R. (2002) Development of the indicator amino acid oxidation technique in chickens: L-[1-14C] phenylalanine infusion dose and phenylalanine oxidation. *Poult. Sci.* 81: 1516-1521.
- Zello, G.A., Pencharz, P.B., Ball, R.O. (1993) Dietary lysine requirement of young adult males determined by oxidation of L-[1-13C] phenylalanine. *Am. J. Physiol.* 264: 677-685.
- Zuidhof, M.J., Robinson, F.E., Feddes, J.J., Hardin, R.T., Wilson, J.L., McKay, R.I. and Newcombe, M. (1995) The effects of nutrient dilution on the well-being and performance of female broiler breeders. *Poult. Sci.* 74: 441-456.



# MEASUREMENT OF INDICATOR AMINO ACID OXIDATION AS A METHOD FOR DETERMINATION OF AMINO ACID REQUIREMENTS IN BROILER BREEDER PULLETS

Hassanabadi, A.<sup>1\*</sup>, Nassiri Moghaddam, H.<sup>2</sup>, Kermanshahi, H.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Animal Science, University of Zanjan, Zanjan- Iran.*

<sup>2</sup>*Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad- Iran.*

(Received 21 January 2006 , Accepted 3 July 2007)

## **Abstract:**

In this experiment two pre-laying broiler breeder pullets from Ross strain at 17 weeks of age were selected, weighed and allocated in layer cages. Surgery was achieved to implant a jugular vein catheter. The birds were placed individually in metabolic chamber. Each bird was fed, in random order, test diets containing one of nine levels of lysine (0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.8, 1.0 and 1.5 percent of the diet). Indicator oxidation was determined for primed dose (75 KBq/KgBw) and 4 hours continuous infusion of indicator ( $44 \text{ KBq.h}^{-1}.\text{KgBW}^{-1}$ ) too.  $^{14}\text{Co}_2$  exhalation breakpoint was used to determine lysine requirement of the experimental birds. Individual lysine requirement for bird 1 and 2 was 0.463 and 0.458 percent of diet, respectively. Mean lysine requirements for two birds was 0.461 percent of diet.

**Key words:**lysine, individual requirements, indicator amino acid oxidation, radiolabel carbon, broiler breeder pullet.

\*Corresponding author's email: hassanabadi@znu.ac.ir, Tel: 0241-5152801, Fax: 0241-2283202

