بررسی اثر جایگزینی بخشی از متیونین جیره با بتائین بر بیان ژن اسید چرب سنتاز در مرغ‌های تخم‌گذار تحت تنش حرارتی

سوسن رادپور[۱*]، محمدتقی بیگی‌نصیری[۲]، هدایت‌اله روشنفکر[۳] و محمود نظری[۴]

تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۱۲

چکیده

تحقیق حاضر به منظور ارزیابی اثر جایگزینی بخشی از متیونین جیره با بتائین بر بیان ژن اسید چرب سنتاز در مرغ‌های تخم‌گذار تحت تنش حرارتی اجرا شد. این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی با یک آزمایش فاکتوریل ۲×۲ با استفاده از ۹۶ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه‌ی های‌لاین W36، در سن ۶۵ هفتگی انجام شد. فاکتور اول با دو جیره (دارای دو سطح: ۱۰۰ درصد متیونین، سطح ۸۷ درصد متیونین +۱۳ درصد بتائین) و فاکتور دوم دارای دو سطح بدون تنش حرارتی (سالن با دمای ۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد) و دارای تنش حرارتی (سالن با دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) با چهار تیمار و سه تکرار (۸ پرنده در هر تکرار) انجام شد. جهت اعمال تنش حرارتی، مرغ‌های یک سالن روزانه شش ساعت در معرض دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از دو ماه تغذیه، در انتهای آزمایش چهار پرنده از هر تکرار کشتار شد و نهایتاً بیان ژن اسید چرب سنتاز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و دستگاه Real time PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزودن بتائین به جیره و اعمال تنش حرارتی به ترتیب سبب کاهش معنی‌دار بیان ژن اسید چرب سنتاز به میزان ۱/۹۸ و ۲/۱۵ واحد در بافت کبد شد ($P<0/01$). بنابراین افزودن بتائین و اعمال تنش حرارتی سبب مهار بیان ژن اسید چرب سنتاز در سطح mRNA می‌شود. کاهش سنتز چربی در بدن به واسطه‌ی کاهش بیان ژن اسید چرب سنتاز به علت مصرف بتائین ممکن است عوارض جانبی ناشی از تنش حرارتی در طیور را بهبود بخشد (محمدی ۱۳۸۶).

کلمات کلیدی: اسید چرب سنتاز، بتائین، بیان ژن، تنش حرارتی، مرغ تخم‌گذار

مقدمه

تنش حرارتی به عنوان یک مشکل جدی در پرورش صنعتی طیور تلقی می‌شود. دمای محیطی بالا ممکن است با تغییر در حجم آب سلول از طریق دهیدراسیون، باعث اختلال در تعادل آبی و تغییرات اسمولیتیکی در سلول گردد، به طوری که این امر می‌تواند فعالیت سلول را مختل سازد (Tucker and Remus 2001). همچنین تنش حرارتی باعث کاهش مصرف خوراک و رشد در طیور می‌شود (Yeh and Leveille 1969). استفاده از مکمل‌های خوراکی در تغذیه‌ی طیور به عنوان راه حلی در به کارگیری هر چه بهتر خوراک به ویژه در شرایط تنش حرارتی، محسوب می‌شود . از جمله مکمل‌هایی که کاربرد آن در حال افزایش است، می‌توان به بتائین اشاره نمود (Tucker and Remus 2001). بتائین یک تری‌متیل مشتق شده از گلیسین بوده که این ماده‌ی سفید رنگ و گرانوله یکی از متابولیت‌های کولین می‌باشد که در بسیاری از سلول‌ها یافت می‌شود و قادر است اثرات منفی استرس حرارتی را در طیور کاهش دهد (Konca et al. 2008). خاصیت متیل‌دهندگی بتائین در حدود ۳/۷۵

[۱*] دانشجوی دکتری اصلاح نژاد دام، دانشکده‌ی علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

(نویسنده‌ی مسئول) E-mail: s.radpoor90@yahoo.com

[۲] استاد گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

[۳] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

[۴] استادیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

برابر متیونین می‌باشد و هر مولکول بتائین قادر به تبدیل کردن ۳ مولکول هموسیستئین به متیونین است. بنابراین بتائین مؤثرترین ترکیب برای جایگزینی متیونین در جیره است که به عنوان گروه دهنده‌ی متیل عمل می‌کند (Sun et al. 2008). نقش بتائین در متابولیسم لیپیدها، مربوط به اثر آن در تحریک متابولیسم اکسیداتیو اسیدهای چرب از طریق شرکت در سنتز ترکیبات متیله شده نظیر کارنیتین و فسفولیپیدها است. بتائین موجب افزایش ترکیبات متیله شده می‌شود و در سنتز فسفاتیدیل کولین و اکسیداسیون اسید چرب در متابولیسم لیپیدها نقش دارد (Carter et al. 1995). وضعیت تغذیه (انرژی) و به دنبال آن واکنش‌های هورمون‌های متابولیکی پلاسما (انسولین، گلوکاگون و T3) عوامل مهم در تعیین میزان لیپوژنز کبدی در طیور هستند (Hillgartner et al. 1995). تمامی واکنش‌های بیوسنتز اسیدهای چرب توسط یک کمپلکس چندآنزیمی، به نام اسید چرب سنتاز، کاتالیز می‌شود (محمدی ۱۳۸۶). اسید چرب سنتازهای موجود در مهره‌داران نیز کمپلکس‌های چندآنزیمی هستند که در تمامی فعالیت‌های آنزیمی آن (شامل پروتئین حامل آسیل، استیل-کوآ –ACP ترانس استیلاز، β- کتو آسیل-ACP سنتاز، مالونیل –کوآ-ACP ترانسفراز، β- کتو آسیل-ACP ردوکتاز، β- هیدروکسی آسیل- ACP دهیدراتاز، انویل- ACP ردوکتاز) به همراه یک فعالیت هیدرولیتیک، اسید چرب خاتمه یافته را از بخش ACP- مانند کمپلکس آنزیمی جدا می‌کنند (Murray et al. 2009). تنش حرارتی سطح پلاسمایی اسیدهای چرب، تری گلیسریدها ،کلسترول و آنزیم‌های دخیل در انتقال و اکسیداسیون اسیدهای چرب را افزایش می‌دهد (Mujahid et al. 2007). همچنین تنش حرارتی باعث کاهش ضریب تنفسی پرندگان می‌شود (Mckee et al. 1997) که حاکی از آن است که گرمازدگی تشدید کننده‌ی اکسیداسیون اسیدهای چرب است. گمان می‌رود اکسیداسیون اسیدهای چرب به منظور دستیابی به انرژی مورد نیاز پرندگان در معرض استرس گرمایی، افزایش یافته است و اکسیداسیون شدید اسیدهای چرب و تجمع آن‌ها در میتوکندری منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود (Mckee et al. 1997). بنابراین در رفع این عارضه از بتائین به عنوان یک عامل ضداسترس و عاملی مؤثر در توزیع مجدد چربی‌ها در بدن حیوانات استفاده می‌شود (Saunderson and Mckinlay 1990). بنابراین این مطالعه جهت بررسی اثر جایگزینی بخشی از متیونین جیره با بتائین بر بیان ژن اسید چرب سنتاز در مرغ‌های تخم‌گذار تحت شرایط تنش حرارتی به کمک روش Real-Time PCR انجام شد.

مواد و روش کار

این پژوهش در فصل بهار (ماه‌های اردیبهشت و خرداد) در ایستگاه دامپروری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان با استفاده از ۹۶ قطعه مرغ تخم‌گذار با میانگین وزنی ۵۰±۱۵۰۰ گرم در سن ۶۵ هفتگی از سویه‌ی تجاری های‌لاین W36 در سیکل دوم تولید به صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و هشت مشاهده در هر تکرار اجرا شد. فاکتورها شامل دو عامل جیره و تنش حرارتی، که عامل جیره شامل جیره‌ی صددرصد متیونین (Evonik، برزیل) با درصد خلوص ۹۹ درصد به عنوان شاهد و جیره‌ی حاوی ۸۷ درصد متیونین+۱۳ درصد بتائین و عامل تنش شامل سالن پرورشی بدون تنش حرارتی (۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد) و سالن دارای تنش حرارتی (۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) بود. برای محاسبه میزان مواد مغذی موجود در مواد خوراکی، از راهنمای آنالیز مواد خوراکی NRC (1994)[1] و برای تعیین احتیاجات مرغ‌های تخم‌گذار از راهنمای های‌لاین استفاده شد. تنظیم جیره‌های آزمایشی ابتدا با استفاده از نرم‌افزار اکسل صورت گرفت و سپس برای اطمینان از آن، مجدداً با برنامه‌ی جیره‌نویسی UFFDA بررسی شد. مقادیر مختلف سطوح جایگزینی بتائین با متیونین جیره، سطوح تنش حرارتی و جدول ترکیب مواد خوراکی جیره‌ها به ترتیب در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

1- National Research Council

جدول ۱: مقادیر مختلف سطوح جایگزینی بتائین با متیونین جیره و سطوح تنش حرارتی

	سطوح جایگزینی بتائین با متیونین		سطوح تنش حرارتی	
	٪۰	٪۱۳	۲۳ °C	۳۵ °C
جیره	۱	۲	۱	۲

جدول ۲: ترکیب مواد خوراکی جیره‌ها (برحسب درصد)

مواد خوراکی	جیره	
	۱	۲
ذرت	۶۱	۶۱
کنجاله سویا	۲۳/۳	۲۳/۳
پودر ماهی	۱	۱
روغن گیاهی	۲/۵	۲/۵
دی کلسیم فسفات	۲/۰۵	۲/۰۵
پودر صدف	۴/۶	۴/۶
نمک	۰/۱۷	۰/۱۷
مکمل معدنی	۰/۵	۰/۵
مکمل ویتامینه	۰/۵	۰/۵
دی ال- متیونین	۰/۱۴	۰/۰۸۶۷
بیکربنات سدیم	۰/۲۵	۰/۲۵
آهک	۴	۴
بتائین آنهیدروس[۳]	۰	۰/۰۲۶۶
سولفات روی[۴]	۰/۰۱۷۷	۰/۰۱۷۷
انرژی متابولیسمی(kcal/kg)	۲۸۲۱	۲۸۲۱
پروتئین خام (٪)	۱۶	۱۶
متیونین (٪)	۰/۴۱	۰/۳۵۶۷
لیزین (٪)	۰/۸۳	۰/۸۳
کلسیم (٪)	۳/۸۵	۳/۸۵
فسفر قابل دسترس (٪)	۰/۵	۰/۵
روی تامین شده از جیره بدون مکمل (mg/kg)	۲۰/۱۱	۲۰/۱۱

مرغ‌های تحت تنش حرارتی روزانه به مدت شش ساعت (از ساعت یازده صبح تا ۵ عصر) تحت تنش حرارتی قرار گرفتند. ۴۸ قطعه مرغ در یک سالن در دمای (۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد) نگهداری شدند و جهت انجام تنش حرارتی، ۴۸ قطعه مرغ دیگر روزانه به مدت شش ساعت تحت دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲ ماه پرورش یافتند. در انتهای آزمایش چهار پرنده از هر تکرار کشتار شده و کبد آن‌ها در ازت مایع نگهداری و به فریزر با دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شد.

در این پژوهش، استخراج RNA از ۳۰ میلی‌گرم بافت کبد با استفاده از کیت استخراج SV Total RNA Isolation System (محصول شرکت promega، آمریکا) انجام شد. نمونه‌ها تا زمان ساخت cDNA در فریزر ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد، نگهداری شدند. غلظت RNA با استفاده از قرائت جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر نانودراپ (ترمو، آمریکا) محاسبه گردید و چنانچه نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ بالای ۱/۸ بود نمونه‌ها برای ساخت cDNA مورد استفاده قرار می‌گرفتند.

برای ساخت cDNA، از کیت cDNA Synthesis Revert Aid First Strand (Fermentas، آلمان) استفاده گردید. اولین رشته‌ی cDNA با کمک آغازگر Oligo dT ساخته شد. مقدار ۵ میکرولیتر با غلظت ۰/۵ نانوگرم به میکرولیتر از RNA همراه با ۰/۵ میکروگرم آغازگر Oligo dT اضافه شد و حجم محلول با استفاده از آب عاری از نوکلئاز به ۱۱ میکرولیتر رسانده شد. مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و پس از آن به سرعت روی یخ سرد قرار داده شد، سپس ۴ میکرولیتر بافر واکنش و ۲ میکرولیتر dNTP با غلظت ۱۰ میکرومول و ۲۰ واحد RNase inhibitor (u) به هر تیوب افزوده شد و حجم محلول با آب عاری از نوکلئاز به ۱۹ میکرولیتر رسانده شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۲۰۰ واحد (U) آنزیم Revert Aid M-Mulv به محلول فوق اضافه و مخلوط شد. آن گاه به مدت یک ساعت در دمای ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن به منظور غیرفعال نمودن واکنش، تیوب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفتند. طراحی آغازگر برای کمیت سنجی با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای ژن-های اسید چرب سنتاز و ژن خانه‌دار بتا اکتین با استفاده از نرم‌افزار vector NTI advance 11 انجام شد . توالی، شماره‌ی دسترسی مورد استفاده در سایت NCBI و خصوصیات آغازگر ژن اختصاصی و ژن خانه‌دار در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳: نام، توالی و مشخصات ژن اختصاصی و ژن خانه‌دار برای انجام Real time PCR

نام ژن	شماره دسترسی	توالی آغازگر ژن	طول محصول	دمای اتصال (^{o}C)
اسیدچرب سنتاز	J03860	F:5′- AAGCAATTCGTCACGGACAG -3′ R:5′- GGCACCATCAGGACTAAGCA -3′	۱۱۶ bp	۵۹
بتا اکتین	NM-205518	F: 5′-GTGATGGACTCTGGTGATGG-3′ 5′-TGGTGAAGCTGTAGCCTCTC-3′:R	۱۵۰ bp	۵۹

برای انجام Real time PCR از دستگاه Step one plus ساخت شرکت Applied Biosystem آمریکا استفاده شد. واکنش‌ها در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر از Master mix SYBER Green ساخت شرکت ABI آمریکا صورت گرفت . ۱۲/۵ میکرولیتر Master mix، ۴ میکرولیتر آغازگر رفت (غلظت ۴ پیکومول به میکرولیتر)، ۴ میکرولیتر آغازگر برگشت (غلظت ۴ پیکومول به میکرولیتر)، ۳/۵ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز و ۱ میکرولیتر cDNA مورد نظر بود . سپس تیوپ‌ها در دستگاه قرار داده شد و PCR طبق پروتکل جدول ۴ در ۴۰ سیکل انجام شد.

جدول ۴: پروتکل دمایی Real-time PCR

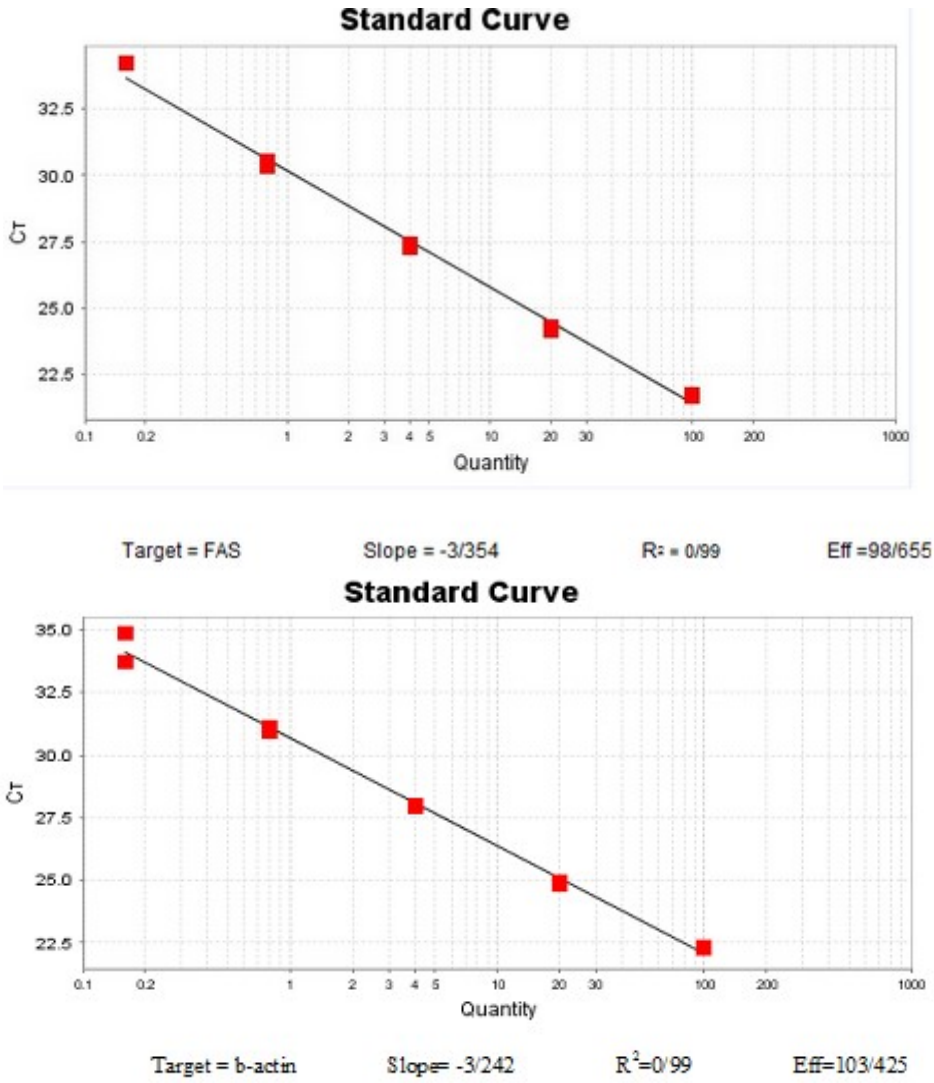
1X	۲ دقیقه	۹۵ درجه سانتی‌گراد	فعال‌سازی اولیه آنزیم
40 X	۱۵ثانیه	۹۵ درجه سانتی‌گراد	دناتوره شدن
	۳۰ثانیه	۵۹ درجه سانتی‌گراد	اتصال
	۳۰ ثانیه	۷۲ درجه سانتی‌گراد	تکثیر

در این تحقیق جهت بررسی کارآیی و شرایط حاکم بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، از نمودار استاندارد استفاده گردید. برای این کار، رقت‌های مختلف از cDNA را تهیه کرده و روی آن‌ها تست Real-Time PCR انجام شد. بدین منظور cDNA سنتز شده به عنوان رقت ۱۰۰ در نظر گرفته شد، سپس چهار رقت دیگر نسبت به cDNA اولیه به ترتیب با مقادیر رقت‌های ۲۰، ۴، ۰/۸، ۰/۱۶ تعیین شدند.

روش بررسی تغییرات بیان ژن در این پژوهش روش $\Delta\Delta C_T$ (آستانه‌ی مقایسه‌ای) و نسبت به بیان ژن بتا اکتین بود. در روش مقایسه‌ی نسبی تفاوت نسبی نمونه‌ی مورد آزمایش در مقابل نمونه‌ی کنترل با فرمول: $2^{-\Delta\Delta CT}$ به روش Pfaffl و همکاران در سال ۲۰۰۲ انجام گردید. بررسی آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS و آزمون LSD در سطح معنی‌داری ۱٪ (P<۰/۰۱) انجام شد.

نتایج

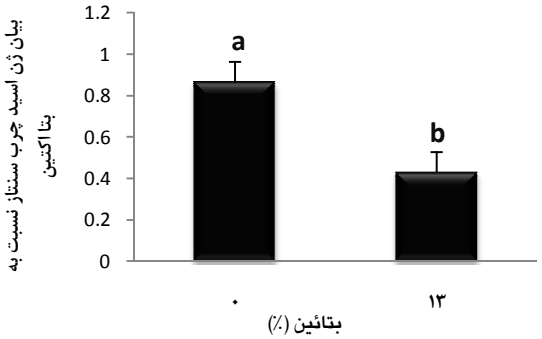
در این پژوهش فرض بر این است که بازدهی ژن مورد نظر و ژن مرجع، برابر و نزدیک به ۱۰۰ درصد است و به منظور تعیین کردن این فرض، از منحنی استاندارد استفاده شد. نتایج، بازدهی مناسبی را برای ژن‌ها نشان داد (شکل ۱).



شکل ۱: نمودار استاندارد ژن بتا اکتین (راست) و ژن اسید چرب سنتاز (چپ)

اثر بتائین بر بیان ژن اسید چرب سنتاز

نتایج نشان داد که بیان ژن اسید چرب سنتاز در تیمار مصرف کننده ۱۳ درصد بتائین نسبت به گروه شاهد، به طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) کاهش داشت (شکل ۲).

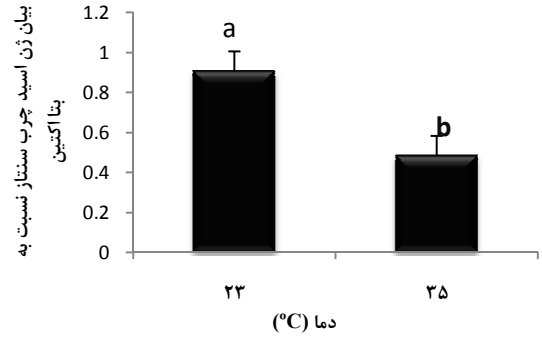


شکل ۲: اثر بتائین بر بیان ژن اسید چرب سنتاز

a-b: حروف غیرمتشابه در هر نمودار نشان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد است.

اثر تنش حرارتی بر بیان ژن اسید چرب سنتاز

نتایج نشان داد که بیان ژن اسید چرب سنتاز در تیمار دمایی ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نسبت به گروه شاهد، به طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) کاهش داشته است (شکل ۳). یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج Mujahid و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطابقت دارد. این محققین بیان کردند که در طی تنش حرارتی بیان ژن‌های سنتزکننده‌ی اسید چرب کاهش می‌یابد.



شکل ۳: اثر تنش حرارتی بر بیان ژن اسید چرب سنتاز

a-b: حروف غیرمتشابه در هر نمودار نشان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد است.

بحث

اثرات بتائین بر متابولیسم چربی و همچنین بر بیان ژن اسید چرب سنتاز در گونه‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است (Etherton 2000, Huang et al. 2007, Xing and Jiang 2012) که نتایج مشابهی را با مطالعه‌ی حاضر گزارش کردند. نظری و همکاران در سال ۱۳۹۱ گزارش کردند که افزودن بتائین به جیره‌ی مرغ تخم‌گذار سبب کاهش کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم خون خواهد شد. یکی از دلایل اثر بتائین بر غلظت تری‌گلیسرید را می‌توان به اثر آنزیم بتائین هموسیستئین متیل ترانسفراز نسبت داد که در متابولیسم لیپیدها دخیل است (Zou et al. 1998). Huang و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که افزودن بتائین در سطح ۱۲۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به جیره، علاوه بر بهبود عملکرد رشد، در پی کاهش بیان ژن اسید چرب سنتاز و آنزیم مالیک، باعث کاهش چربی بافتی و افزایش گوشت لاشه می‌شود. البته باید ذکر کرد که سوخت و ساز چربی در بدن توسط یک مجموعه فاکتورهای به هم مرتبط از قبیل مواد مغذی، هورمون‌ها، فاکتورهای رونویسی هسته و آنزیم‌های لیپوژنیک تحت تأثیر قرار می‌گیرند (Mersmann et al. 1973). از طرف دیگر، آنزیم اسید چرب سنتاز آخرین مرحله‌ی ساخت چربی را در مسیر متابولیکی لیپوژنیک کاتالیز می‌کند که یک تعیین کننده‌ی اصلی برای حداکثر ظرفیت ساخت چربی توسط بافت بدن می‌باشد. بنابراین با کاهش بیان mRNA اسید چرب سنتاز، به دلیل همبستگی معنی‌داری که بین فعالیت آنزیم اسیدچرب سنتاز با سطح mRNA آن وجود دارد، می‌تواند این مطلب را برساند که اسیدچرب سنتاز در مرحله‌ی قبل از ترجمه توسط بتائین تنظیم گردد (Huang et al. 2007). در مطالعه‌ای دیگر، Clarke در سال ۱۹۹۳ این مطلب را بیان کرد که تنظیم بیان ژن اسیدچرب سنتاز ممکن است سرعت رونویسی ژن را تغییر دهد. این یافته‌ها پیشنهاد می‌کنند که بتائین ظرفیت بافت چربی را برای سنتز لیپید کاهش داده که به تبع آن

نیز می‌تواند منجر به کاهش تجمع چربی در بدن گردد که نتایج پژوهش Xing و Jiang در سال ۲۰۱۲ روی مرغ‌های تخم‌گذار که کاهش چربی در بافت چربی را در اثر گنجاندن بتائین در جیره مشاهده کردند، نیز می‌تواند تاییدی بر این مطلب باشد. این محققین پیشنهاد دادند که بتائین می‌تواند سنتز چربی مرغ‌های تخم‌گذار را با تأثیر بر رونویسی ژن اسیدچرب سنتتاز تنظیم نماید. Sun و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که جایگزینی ۲۵ درصد متیونین جیره با بتائین غلظت هورمون رشد و فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) را در سرم افزایش داده و از این طریق باعث افزایش در میزان پروتئین و گوشت سینه و کاهش میزان چربی کبد و حفره‌ی شکمی می‌گردد که دلیل این مطلب را بدین ترتیب بیان کردند که بتائین فعالیت و بیان ژن آنزیم‌های لیپوژنیک را با افزایش غلظت هورمون رشد کاهش می‌دهد.

تنش حرارتی اثرات مضر زیادی در پرندگان دارد از جمله این که می‌تواند باعث کاهش مصرف خوراک و وزن بدن (Azad et al. 2010, Awwad Al-Fataftah and Abu-Dieyeh 2007)، سرکوب سیستم ایمنی، افزایش مرگ و میر و تحریک تنش اکسیداتیو شود (Lin et al. 2006). Mujahid و همکاران در سال ۲۰۰۷ بیان کردند که با شروع تنش حرارتی، رونویسی ژن‌های سنتزکننده‌ی چربی کاهش یافته در حالی که رونویسی ژن آنزیم‌های بتااکسیداسیون و فعالیت آن‌ها افزایش یافته که با افزایش سطوح اسید چرب غیر استریفیه پلاسما، بیان ژن‌های انتقال اسیدچرب میتوکندری نیز افزایش می‌یابد. این افزایش ناگهانی در اکسیداسیون سوبسترای میتوکندری باعث تولید سوپراکسید بیش‌تری می‌گردد. این محققین همچنین بیان کردند که تنش حرارتی باعث کاهش رونویسی ژن پروتئین جفت نشده مرغی (avUCP[1]) می‌گردد که این نیز به نوبه خود می‌تواند تنش اکسیداتیو را بیش‌تر تحریک کند، که در مطالعه‌ی حاضر نیز همان طوری که ذکر گردید کاهش بیان ژن اسید چرب سنتاز در راستای مطالعات ذکر شده در این زمینه می‌باشد. با توجه به اقتصادی بودن بتائین و این که متیونین نیز قابلیت تبدیل به هموسیستئین و سیستاتیون را دارد، می‌تواند اثرات مضر تنش اکسیداتیو ناشی از تنش حرارتی را کاهش دهد. همچنین کاهش سنتز چربی در بدن به واسطه‌ی کاهش بیان ژن اسید چرب سنتاز به علت مصرف بتائین می‌تواند در پیش‌گیری از عارضه‌ی کبد چرب در شرایط تنش حرارتی مؤثر باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که جایگزینی مقداری از متیونین جیره‌ی مرغ‌های تخم‌گذار با بتائین می‌تواند با مهار بیان ژن اسید چرب سنتاز، ظرفیت بافت چربی را برای سنتز لیپید کاهش دهد و ممکن است عوارض ناشی از تنش حرارتی در طیور را بهبود بخشد.

منابع

نظری، محمود؛ سالاری، سمیه؛ قربانی، محمدرضا؛ ثعلبی، فاطمه و رادپور، سوسن (۱۳۹۱). اثر مکمل روی و بتائین جایگزین شده با درصدی از متیونین بر متابولیت‌های سرم خون مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط تنش گرمایی. پنجمین کنگره علوم دامی ایران. اصفهان. صفحات ۲۴۸-۲۴۴.

محمدی، رضا (۱۳۸۶)، بیوشیمی لنینجر، تألیف کاکس، مایکل. انتشارات تهران، جلد دوم، آییژ. صفحه ۶۱۶.

Awwad Al-Fataftah, A.R. and Abu-Dieyeh, Z.H.M. (2007). Effect of chronic heat stress on broiler performance in Jordan. Poultry Science, 6: 64-70.

Azad, K.M.A.; Kikusato, M.; Hoque, A.M. and Toyomizu, M. (2010). Effect of chronic heat stress on performance and oxidative damage in different strains chickens. Poultry Science, 47: 333-337.

1- Avian uncoupling protein

Carter, A.L.; Abney, T.O. and Lapp, D.F. (1995). Biosynthesis and metabolism of carnitine. Journal of Child Neurology, 10 (suppl2), s3-s7.

Clarke, S.D. (1993). Regulation of fatty acid synthase gene expression: an approach for reducing fat accumulation. Journal of Animal Science, 71: 1957-1965.

Etherton, T.D. (2000). The biology of somatotropin in adipose tissue growth and nutrient partitioning. Journal of Nutrition, 130: 2623-2625.

Hillgartner, F.; Salati, B. and Goodridg, A.G. (1995). Physiological and molecular mechanisms involved in nutritional regulation of fatty acid synthesis. Physiological Reviews, 75: 47-76.

Huang, Q.C.; Xu, Z.R.; Han, X.Y. and Li, W.F. (2007). Effect of dietary betaine supplementation on lipogenic enzyme activities and fatty acid synthase mRNA expression in finishing pigs. Animal Feed Science and Technology, 140: 365-375.

Konca, Y.; Kirkpinar, F.; Mert, S. and Yaylak, E. (2008). Effect of betaine on performance, carcass, bone and blood characteristics of broilers during natural summer temperatures. Journal of Animal and Veterinary Advances, 7: 930-937.

Lin, H.; Decuypere, E. and Buyse, J. (2006). Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. Comparative Biochemistry and Physiology, 144: 11-17.

Mckee, J.S.; Harrison, P.C. and Riskowski, G.L. (1997). Effect of supplemental ascorbic acid on the energy conversion of Broiler Chicks during Heat Stress and Feed Withdrawal. Poultry Science, 76: 1278-1286.

Mersmann, H.J.; Houk, J.M.; Phinney, G. and Underwood, M.C. (1973). Effect of diet and weaning age on in vitro lipogenesis in young swine. Journal of Nutrition, 103, 821-828.

Mujahid, A.; Pumford, N.R.; Bottje, W.; Nakagawa, K.; Miyazawa, T.; Akiba, Y. and Toyomizu, M. (2007). Mitochondrial oxidative damage in chicken skeletal muscle induced by acute heat stress. Journal of Poultry Science, 44: 439-445.

Murray, R.K.; Granner, D.K. and Rodwell, V.W. (2009). Harper's illustrated biochemistry. Arjmand Publisher, Tehran, P: 792.

Pfaffl, M.W.; Horgan, G.W. and Dempfle, L. (2002). Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. Nucleic Acids Research, 30: 1-10.

Saunderson, C.L. and Mckinlay, J. (1990). Changes in body weight, composition and hepatic enzyme activities in response to dietary methionine, betaine and choline levels in growing chicks. British Journal of Nutrition, 63: 339-349.

Sun, H.; Yang, W.R.; Yang, Z.B.; Wang, Y.; Jiang, S.Z. and Zhang, G.G. (2008). Effects of betaine supplementation to methionine deficient diet on growth performance and carcass characteristics of broilers. American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 3: 78-84.

Tucker, L.A. and Remus, J. (2001). The effect of betaine on performance, water balance and gut Integrity of coccidiosis-infected poultry and its potentioal benefit in AGP-free diets. British Poultry Science, 42: 108-109.

Xing, J. and Jiang, Y. (2012). Effect of dietary betaine supplementation on mRNA level of lipogenesis genes and on promoter CpG methylation of fatty acid synthase (FAS) gene in laying hens. African Journal of Biotechnology, 11: 6633-6640.

Yeh, Y.Y. and Leveille, G.A.. (1969). Effect of dietary protein on hepatic lipogenesis in the growing chick. Journal of Nutrition, 98: 356-366.

Zou, X.T.; Ma, Y.L. and Xu, Z.R. (1998). Effects of betaine and thyroprotein on laying performance and approach to mechanism of the effects in hens. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 10, 144-149.

Evaluation of a part of the dietary methionine substitution by betaine on fatty acid synthase gene expression in laying hens under heat stress

Radpoor, S.[1]; Beigi Nassiri, M.T.[2]; Roshanfekr, H.A.[3] and Nazari, M.[4]

Received: 18.10.2015 Accepted: 01.05.2016

Abstract

Current study was performed to evaluate a part of the dietary methionine substitution by betaine on fatty acid synthase gene expression in laying hens under heat stress. Present study was conducted in a completely randomized design (CRD) with a 2 ×2 factorial experiment using 96 (65-week) hens in Line strains W36. First factor was done with 2 dietary treatments with 2 levels; 100% methionine, 87% methionine and 13% betaine and second factor with 1 level without heat stress and 1 with (salon with 35 ^{o}C); (Salon with 23 ^{o}C) with 4 treatments and 3 repetition (8 birds in each repetition). To achieve appropriate stress, the hens were daily exposed under 35 ^{o}C for 6 hours. After 2 month of feeding, 4 birds were eventually slaughtered and fatty acid synthase gene expression was assessed by means of specific primer and real time PCR analysis. The results indicated that addition of betaine to died and exposure heat stress caused a significant decline in fatty acid synthase gene expression being 1.98 and 2.15 fold in liver tissue, respectively ($P<0.01$). Hence, addition of betaine and heat stress exposure might inhibit fatty acid synthase gene expression in mRNA state and reduce fat synthesis in the body by reducing the expression of fatty acid synthase. There for, betaine may adverse the effects of heat stress in poultry.

Key words: Betaine, Fatty acid synthase, Gene expression, Heat stress, Laying hen

1- PhD Student of Animal Breeding, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
3- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
4- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
Corresponding Author: Radpoor, S., E-mail: S.Radpoor90@yahoo.com