

تأثیر سطوح متفاوت آرد میوه بلوط بر بیان ژن کیموتریپسین پانکراس در جوجه‌های گوشتی

Effect of different levels of oak acorn on pancreatic chymotrypsin gene expression in broilers chicken

مصطفی محقق دولت‌آبادی^{۱*}، عصمت رضوی^۱، علی جعفری دلگانی^۱

۱- به‌ترتیب دانشیار، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام، استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده
کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

Muhagheh Dolatabady M^{*1}, Razavi E¹, Jafari Deligani A¹

1- Associate Professor, MSc Graduated of Genetics and Animal Breeding, Assistant
Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science, University
of Yasouj, Yasouj, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mmuhagheh@yu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۸)

چکیده

در این پژوهش، تأثیر جایگزینی ذرت جیره با آرد میوه بلوط بر میزان بیان ژن کیموتریپسین پانکراس در جوجه‌های گوشتی بررسی شد. استفاده از میوه بلوط در جیره طیور، به دلیل غلظت بالای تانن آن می‌تواند باعث کاهش مصرف خوراک، هضم مواد مغذی و عملکرد طیور گردد. از این رو، هدف از این مطالعه بررسی میزان بیان ژن کیموتریپسین پانکراس در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سطوح متفاوت آرد میوه بلوط بود. برای این منظور، جوجه‌های گوشتی با سه تیمار غذایی (کنترل، ۱۵ درصد و ۲۰ درصد آرد میوه بلوط) از سن ۱ تا ۴۲ روزگی تغذیه شدند. در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی، بافت پانکراس از ۳۶ قطعه جوجه (۶ قطعه از هر تیمار در هر سن) پس از کشتار، توزین و RNA کل استخراج شد. به منظور بررسی بیان ژن، بیان ژن کیموتریپسین با ژن بتا اکتین به عنوان ژن مرجع، مورد مقایسه قرار گرفت. برای آنالیز داده‌های بیان ژن از نرم‌افزارهای REST, 2009, V2.0.13 و SAS 9.1 استفاده شد. در سن ۲۱ روزگی، اختلاف معنی‌داری در وزن نسبی پانکراس بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($p > 0.05$)، در حالی که در سن ۴۲ روزگی، وزن نسبی پانکراس در تیمار ۲۰ درصد آرد میوه بلوط نسبت به تیمارهای ۱۵ درصد آرد میوه بلوط و کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$). در سن ۲۱ روزگی، بیان ژن کیموتریپسین پانکراس جوجه‌های گوشتی بین تیمارهای حاوی بلوط نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی که در سن ۴۲ روزگی، بیان ژن کیموتریپسین در تیمارهای ۱۵ و ۲۰ درصد آرد میوه بلوط، افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P < 0.05$). به طور کلی افزایش سطح بلوط در جیره جوجه‌های گوشتی به علت افزایش ترکیبات فنولی (تانن‌ها) جیره و اتصال آن‌ها با پروتئین‌های جیره و آنزیم‌های گوارشی می‌تواند باعث کاهش جذب پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه در دستگاه گوارش و افزایش بیان آنزیم‌های هضم‌کننده پروتئین در دستگاه گوارشی شود.

واژه‌های کلیدی

بیان ژن
جوجه گوشتی
کیموتریپسین
میوه بلوط

مقدمه

در صنعت پرورش طیور بیشترین هزینه‌ها به تغذیه اختصاص دارد، به همین دلیل تهیهی خوراک ارزان قیمت و مناسب که بتواند احتیاجات طیور را برآورده سازد از اولین اهداف یک پرورش دهنده، به ویژه در صنعت پرورش جوجه‌گوشتی محسوب می‌شود. بر این اساس، جایگزین کردن مواد خوراکی ارزان قیمت مانند میوه بلوط ایرانی با منبع انرژی بالا به جای مواد خوراکی گران قیمت جیره، می‌تواند موجب متعادل شدن قیمت خوراک شود. استفاده از میوه بلوط به علت بالا بودن میزان مواد مغذی، ارزان بودن، دارا بودن خواص دارویی، روش نگهداری و دسترسی آسان به ویژه در فصل پاییز مقرون به صرفه است (Rajablu 2010). این میوه سرشار از کربوهیدرات نشاسته بوده به طوری که انرژی قابل متابولیسم آن ۳۳۰۰ کیلو کالری به ازای هر کیلوگرم تخمین زده شده و می‌تواند به عنوان یک منبع مهمی از انرژی در جیره طیور مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این، درصد پروتئین خام، چربی و عصاره عاری از ازت میوه بلوط به ترتیب ۴/۷، ۵ و ۶۵/۵ می‌باشد (Fani Maleki 1998). اگرچه استفاده از میوه بلوط می‌تواند منجر به کاهش هزینه پرورش طیور شود ولی باید توجه داشت مشکل اساسی میوه بلوط، وجود میزان قابل توجهی از ترکیبات ضد تغذیه‌ای (تانن‌ها) می‌باشد که مقدار آن‌ها ممکن است به ۹ درصد هم برسد (Varmaghani et al. 2006). تانن‌ها ترکیبات پلی فنلی مشتق شده از گیاه با جرم‌های مولکولی متفاوت هستند. آن‌ها را می‌توان به دو گروه اصلی، تانن‌های قابل هیدرولیز و تانن‌های متراکم، که به عنوان پروآنتوسیانیدین‌ها نیز شناخته می‌شوند، طبقه‌بندی کرد. تانن‌های قابل هیدرولیز حاوی گالتانین یا الاژیک تانن هستند. پس از هیدرولیز، گالتانین‌ها گلوکز و اسید گالیک تولید می‌کنند، در حالی که الاژیک تانن‌ها اسید الاژیک را به عنوان یک محصول تجزیه تولید می‌کنند (Nam et al. 2001). کاهش مصرف خوراک به دلیل تانن بالای جیره حقیقتی آشکار است، اما حضور مقداری متوسط تانن در لگوم‌ها منجر به بهبود جذب پروتئین و کاهش نفخ می‌شود (Tanner et al. 1995). نتایج یک مطالعه بر اساس تجزیه و تحلیل متا، مشخص شد که سطوح بالای تانن جیره تأثیر منفی بر میانگین افزایش وزن روزانه و میانگین مصرف خوراک روزانه جوجه‌های گوشتی دارد

(Hidayat et al. 2021). همچنین تانن‌های غذایی باعث کاهش وزن کبد، بورس فابریسیوس و وزن طحال می‌شوند. در همین حال، سایر صفات لاشه (یعنی ران، بال‌ها و چربی بدن) تحت تأثیر تانن‌های رژیم غذایی قرار نگرفتند. با توجه به قابلیت هضم اسیدهای آمینه، غلظت بالای تانن جیره باعث ایجاد پاسخ منفی بر قابلیت هضم ایزولوسین، لوسین و متیونین شد (Hidayat et al. 2021). در مورد عملکرد جوجه‌های گوشتی، جیره‌های حاوی سطوح پایین تانن اثرات مشابهی با جیره‌های بدون تانن دارند. به عنوان مثال، غلظت ۰/۱۲ درصد تانن در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، هیچ اثر نامطلوبی بر قابلیت هضم اسیدهای آمینه در روده نداشت (Woyengo and Nyachoti 2012). به طور کلی، گروه هیدروکسیل ترکیبات فنولی با تمایل باندی شدیدی به گروه‌های دارای بار مثبت موجود در مواد مغذی مانند پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، کاتیون‌های چندظرفیتی و مواد معدنی از قبیل آهن، روی و کلسیم منجر به کاهش ارزش تغذیه‌ای این مواد مغذی جیره می‌شوند (Khandelwal et al. 2010). علاوه بر این، ترکیبات فنولی نه تنها فعالیت آنزیم‌های مختلف را تحت تأثیر قرار می‌دهد بلکه در بیان ژن‌های آن‌ها نیز مؤثر بوده به طوری که نقش ویژه‌ای در تنظیم فرآیند رونویسی ژن‌ها به عهده دارند (Kumari and Jain 2012; Nobakhtand Muhaghegh Dolatabady 2019). پلی پپتیدهای غذایی توسط پروتئازهای گوارشی به پلی پپتیدها و اسیدهای آمینه کوچکتر تبدیل می‌شوند که آنزیم‌های پپسین، کیموتریپسین و تریپسین مهم‌ترین پروتئازهای دستگاه گوارش هستند. از طرف دیگر، مصرف خوراک‌های حاوی ترکیبات پلی فنولی مانند تانن‌ها، از طریق تشکیل کمپلکس با پروتئین‌ها و آنزیم‌های گوارشی باعث اختلال در فعالیت آنزیم‌ها می‌شود (Siebert et al. 1996; Koo and Noh 2007) به طوری که این نقش بازدارندگی ارتباط مستقیمی با مقدار و نوع ترکیبات پلی فنولی موجود در مواد خوراکی دارد (Santos-Buelga and Scalbert 2000). از این رو، با توجه به نقش بازدارندگی تانن بر فعالیت آنزیم‌های دستگاه گوارش، هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر تانن بر بیان ژن کیموتریپسین پانکراس در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سطوح مختلف میوه بلوط در مقایسه با جوجه‌های شاهد و تغذیه شده با جیره‌های فاقد تانن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، تعداد ۱۳۲ قطعه جوجه یک روزه گوشتی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار برای یک دور ۴۲ روزه پرورش داده شدند. در تیمار اول، جوجه‌ها از جیره کنترل تغذیه شدند (فاقد بلوط)، در حالی که جوجه‌های تیمارهای ۲ و ۳ به ترتیب از جیره‌های حاوی ۱۵ و ۲۰ درصد آرد میوه بلوط تغذیه شدند. جیره‌های غذایی مورد استفاده در آزمایش براساس توصیه‌های انجمن ملی تحقیقات (NRC 1994) تنظیم شدند. در پایان هر یک از مراحل آغازین و رشد دوره، یعنی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی، تعداد ۱۸ جوجه (۶ جوجه از هر تیمار) از سالن مرغداری دانشگاه یاسوج انتخاب شدند و پس از وزن‌کشی و کشتار، لوزالمعده آن‌ها از بدن خارج، توزین و به سرعت درون تانک ازت انتقال داده شد. سپس با استفاده از کیت استخراج (ترایزول) و بر پایه دستور العمل شرکت سازنده، RNA کل از هر نمونه لوزالمعده استخراج شد. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از ژل الکتروفورز و همچنین با روش طیف سنجی توسط اسپکتوفتومتری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر تعیین شد. به منظور از بین بردن احتمالی در نمونه‌های RNA و بهتر شدن کیفیت RNA قبل از واکنش نسخه‌برداری معکوس، نمونه‌ها در معرض آنزیم DNase قرار گرفتند. مرحله نسخه‌برداری معکوس و سنتز cDNA توسط کیت لیوفیلیزه بایونیر شرکت تکاپوزیست انجام گرفت. برای این منظور، مقدار ۱۰ پیکومول از آغازگرهای تصادفی هم‌زمر به همراه ۵ میکروگرم RNA استخراج شده به میکروتیوب‌های حاوی مستر میکس لیوفیلیزه اضافه شد و

در نهایت حجم نهایی مواد افزوده شده به تیوب توسط آب عاری از DNase به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. سپس از برنامه حرارتی زیر جهت سنتز cDNA استفاده شد: دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه و دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه. همچنین کیفیت cDNA سنتز شده با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد تعیین شد. برای بررسی بیان ژن کیوتریپسین با استفاده از برنامه Primer3plus و توالی این ژن در بانک اطلاعات، آغازگرهای اختصاصی طراحی شدند (جدول ۱).

اندازه‌گیری بیان ژن‌ها از روش تکثیر ژن طی واکنش Real Time PCR در دستگاه Bio Rad مدل CFX 96 و با استفاده از مستر میکس HotTaq EvaGreen qPCR kit شرکت سینا ژن صورت گرفت. در این واکنش، برای هر نمونه در هر تیوب ۵ میکرولیتر مستر میکس سایبرگرین، ۰/۵ میکرولیتر از هر آغازگر رفت و برگشت با غلظت ۱۰ پیکومول، ۵۰ نانوگرم cDNA سنتز شده و ۳ میکرولیتر آب عاری از DNase اضافه شد به طوری که حجم نهایی هر واکنش به ۱۰ میکرولیتر رسید. برای هر نمونه نیز دو تکرار در نظر گرفته شد. برنامه گرمایی استفاده شده در واکنش Real Time PCR جهت تکثیر قطعات مورد نظر شامل دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و مرحله اتصال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه بود که دو مرحله آخر به تعداد ۴۰ بار تکرار شد. در انتهای واکنش RT-PCR، نرم‌افزار دستگاه به طور خودکار خط آستانه را رسم و نتایج را به صورت چرخه آستانه (Ct) گزارش می‌کند.

جدول ۱- توالی، شماره دسترسی و طول قطعات تکثیر شده

Primer	Sequence	Size bp	Accession No.	References
Chymotrypsin	F: 5'- TGTGGAGGAACCCTCATTTC -3'	155	NM_001277917.2	Designed by Primer3plus
	R: 5'- TCGTGCACAACGATCTTCTC -3'			
β-actin	F: 5'- CTGTGCCCATCTATGAAGGCTA-3'	139	NM_205518	(Yang et al. 2013)
	R: 5'-ATTTCTCTCTCGGCTGTGGTG-3'			

معنی داری مشاهده نشد، در حالی که در سن ۴۲ روزگی، بیان این ژن در تیمارهای حاوی ۱۵ و ۲۰ درصد آرد میوه بلوط، افزایش معنی داری ($P < 0.05$) نسبت به گروه شاهد آشکار شد (جدول ۲). میزان بیان ژن کیموتریپسین در سن ۴۲ روزگی برای تیمارهای ۱۵ و ۲۰ درصد آرد میوه بلوط، به ترتیب ۴/۹۳ و ۸/۸۷ برابر میزان بیان این ژن در گروه شاهد بود (جدول ۲).

بحث

تانن‌ها مواد سمی بالقوه ای برای حیوانات تک معده‌ای محسوب می‌شوند (Santos-Buelgaand Scalbert 2000) و گنجاندن آن‌ها در جیره غذایی طیور می‌تواند منجر به کاهش مصرف خوراک، افزایش وزن و کارایی استفاده از خوراک شود. برای مثال، تانن باقلا (Longstaffand McNab 1991) و دانه‌های سورگوم (Mitaru et al. 1983) باعث کاهش قابلیت هضم اسیدهای آمینه، نشاسته و لیپیدها در تغذیه جوجه‌های جوان و خروس‌های بالغ شده است. تأثیر تانن‌ها بر قابلیت هضم پروتئین نتیجه اتصال فنولیک‌ها به پروتئین‌های رژیم غذایی از یک طرف و اتصال آن‌ها به پروتئین‌های درون‌زا مانند آنزیم‌های گوارشی، پروتئین‌های بزاق، مخاط معده و روده و سایر پروتئین‌های درون‌زا در دستگاه گوارش است (Mahmoodand Smithard 1993; Siebert et al. 1996; Kooand Noh 2007). درجه تشکیل کمپلکس تانن-پروتئین به نسبت تانن به پروتئین بستگی دارد (Schaffert et al. 1974)، به طوری که در نسبت ۱:۱، تانن به صورت کامل به پروتئین جیره متصل می‌شود (Feenyand Bostock 1968).

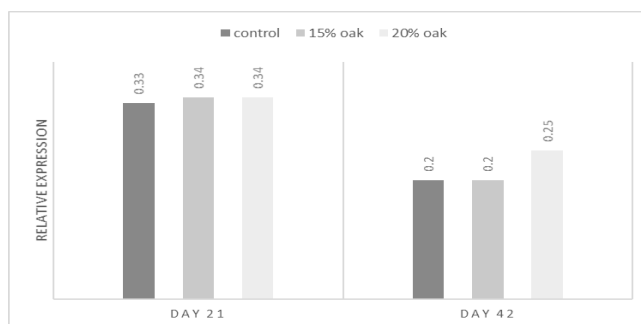
نتایج

در تحقیق حاضر تغییرات نسبی بیان ژن کیموتریپسین نسبت به ژن β -Actin نرمال شد. برای مقایسه بیان ژن کیموتریپسین در تیمارهای حاوی آرد میوه بلوط نسبت به گروه شاهد از نرم‌افزار REST 2009 (REST, <http://rest.gene-quantification.info>) و برای بررسی ارتباط وزن نسبی پانکراس با تیمارهای مختلف از رویه ANOVA نرم‌افزار آماری SAS 9.1 استفاده شد.

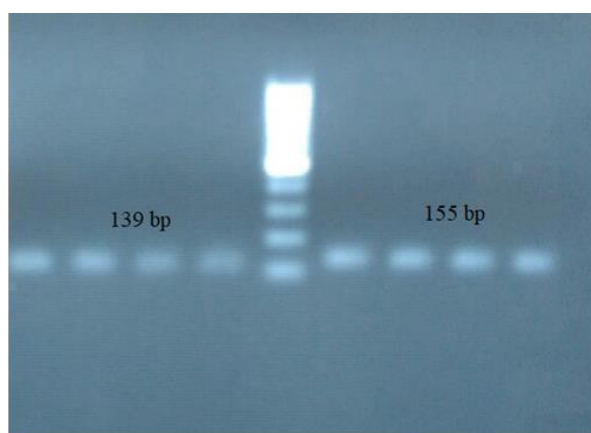
بر اساس نتایج آماری، وزن نسبی پانکراس در سن ۲۱ روزگی در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری با یکدیگر مشاهده نشد ($p > 0.05$)، در حالی که وزن نسبی پانکراس در تیمار ۲۰ درصد آرد میوه بلوط در سن ۴۲ روزگی افزایش معنی داری نسبت به تیمارهای ۱۵ درصد آرد میوه بلوط و کنترل نشان داد ($p < 0.05$) که در شکل ۱ مقادیر وزن نسبی در هر تیمار آمده است. البته در سن ۴۲ روزگی، اختلاف معنی داری در وزن نسبی پانکراس بین تیمار شاهد و ۱۵ درصد آرد بلوط مشاهده نشد (شکل ۱).

پس از تکثیر موفق قطعه‌های مورد نظر از ژن‌های کیموتریپسین و بتاکتین توسط آغازگرها اختصاصی، مشاهده محصولات در ژل آگارز همراه با نشانگر، درستی اندازه قطعه‌های مورد نظر را تأیید می‌کند (شکل ۲). همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌شود اندازه قطعات تکثیر شده برای ژن‌های کیموتریپسین و بتا اکتین به ترتیب ۱۵۴ و ۱۳۹ جفت‌باز است.

در سن ۲۱ روزگی، بیان ژن کیموتریپسین پانکراس جوجه‌های گوشتی بین تیمارهای حاوی بلوط نسبت به شاهد اختلاف



شکل ۱- وزن نسبی پانکراس در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با تیمارهای مختلف در دو سن ۲۱ و ۴۲ روزگی



شکل ۲- قطعه‌های تکثیر شده توسط آغازگرها همراه با نشانگر لدر ۱۰۰ جفت‌باز. سمت چپ) قطعه تکثیر شده از ژن بتا اکتین به طول ۱۳۹ جفت‌باز. سمت راست) قطعه تکثیر شده از ژن کیموتریپسین به طول ۱۵۵ جفت‌باز

جدول ۲- بیان ژن کیموتریپسین پانکراس در جوجه گوشتی در سن ۲۱ روزگی

Chymotrypsin	Treatment	Expression rate	P value	Results
Day 21	15% oak acorn	0.77	0.80	-
	20% oak acorn	0.61	0.73	-
Day 42	15% oak acorn	4.93	0.02	Up regulation
	20% oak acorn	8.87	0.01	Up regulation

پپسین، تریپسین، کیموتریپسین و الاستاز گزارش شده است (Rawel et al. 2002; Taylor et al. 2007; Gan et al. 2016). در این تحقیق، افزایش وزن پانکراس در سن ۴۲ روزگی برای تیمار ۲۰ درصد آرد میوه بلوط، می‌تواند ناشی از غیر فعال شدن آنزیم کیموتریپسین توسط اتصال با تانن جیره بوده که این پدیده منجر به کمبود آنزیم کیموتریپسین و نهایتاً افزایش فعالیت پانکراس جهت جبران آن می‌باشد. همچنین، در این سن، بیان ژن کیموتریپسین در هر دو تیمار حاوی آرد میوه بلوط افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد. به‌طوری کلی تنظیم سنتز آنزیم‌های پانکراس توسط ترکیب رژیم غذایی مشخص شده است (Brannon 1990). همچنین، افزایش اندازه پانکراس در دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی (هایپرتروفی) به وجود تانن‌ها نسبت داده شده است (Mahmood and Smithard 1993). علاوه بر این، فرآوری کنجاله سالیسید با ماده قلیایی باعث کاهش هایپرتروفی پانکراس در جوجه‌های گوشتی شد (Mahmood et

شرایط واکنش مانند pH و دما نیز می‌توانند اتصال و برهمکنش بین پلی‌فنل‌ها و پروتئین‌ها را تغییر دهند (Helal et al. 2014; Cai et al. 2015). از آنجایی که واکنش ترکیبات فنلی در مکان‌های مختلف آنزیم (گروه‌های آمینه و تیول، زنجیره‌های جانبی تریپتوفان) انجام می‌شود، ساختار آنزیم (ترکیب مولکول) و در نتیجه فعالیت آنزیم تغییر می‌کند (Rohn et al. 2002; Kooand Noh 2007; Thieleckeand Boschmann 2009). فعالیت بازدارندگی آنزیم‌ها توسط ترکیبات فنولی، به نوع آن‌ها نیز بستگی دارد. برای مثال، فعالیت بازدارندگی بالاتر فلاونوئیدها در مقایسه با اسیدهای فنولیک، به نظر می‌رسد با پیچیدگی ساختار فلاونوئیدها در تعامل با آنزیم مرتبط باشد. به‌طور کلی، به نظر می‌رسد ارتباط مستقیمی بین ساختار پیچیده پلی‌فنول‌ها و میل ترکیبی آن‌ها با آنزیم‌ها وجود دارد (Sergent et al. 2012; You et al. 2012). در مطالعات متعددی، تأثیر ترکیبات فنولی بر فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها، از جمله پروتئازهای گوارشی مانند

فعالیت آنزیم آلفا-کیموتریپسین در شرایط آزمایشگاهی، تأثیر منفی ترکیبات فنولی را بر هضم پروتئولیتیکی پروتئین‌های غذا توسط کیموتریپسین را تأیید کرد (Rohn et al. 2001). همچنین، اپی گالوکاتچین گالات، پلی فنول چای، قادر به اتصال کیموتریپسین با میل ترکیبی بالا بوده و با تثبیت ساختار کیموتریپسین، فعالیت پروتئازی این آنزیم را مهار می‌کند (Bonfili et al. 2008; Yang et al. 2011).

به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که اثرات مضر تانن‌ها زمانی آشکارتر می‌شود که در سطوح بالایی در جیره موجود باشند و این افزایش سطح تانن با واکنش با پروتئین‌های جیره و پروتئازهای گوارشی، نه تنها قابلیت هضم پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه را سرکوب می‌کند، بلکه بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های گوارشی مانند کیموتریپسین را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه یاسوج به‌خاطر پشتیبانی مالی این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌شود.

al. 1997). این محققین نشان دادند فعالیت کیموتریپسینوزن و آلفا-آمیلاز به‌طور معنی‌داری توسط تانن‌های جیره کاهش یافت اما فعالیت تریپسین تحت تأثیر قرار نگرفت و فرآوری با قلبا، اسید و آب به‌طور معنی‌داری فعالیت کیموتریپسینوزن و آلفا-آمیلاز پانکراس جوجه‌های گوشتی را بهبود داد که این افزایش کارایی در فعالیت آنزیم‌های پانکراس (کیموتریپسین و تریپسین) احتمالاً به‌دلیل کاهش تشکیل کمپلکس تانن-آنزیم در دستگاه گوارش اتفاق می‌افتد (Mahmood et al. 1997).

کاهش قابلیت هضم مواد مغذی در سطوح بالای تانن در مقایسه با سطح پایین تانن در جوجه‌گوشتی (Ahmed et al. 1991)، خوک (Buraczewska et al. 1989)، و موش (Horigome et al. 1988) گزارش شده است. گلیکوزیدهای فنیل پروپانوید، از ترکیبات پلی فنولی مهم در چای تلخ کودینگچا، می‌توانند فعالیت آنزیم‌های گوارشی را با الگوی غیر رقابتی مهار کنند. همچنین، این ترکیبات ممکن است اثر اتصال بر روی آنزیم‌های گوارشی پپسین، تریپسین و کیموتریپسین داشته باشند، قطبیت و ساختار آنزیم‌ها را تغییر داده و منجر به کاهش فعالیت آنزیم شوند (Wu et al. 2013). از طرف دیگر، بررسی ترکیبات فنلی مختلف بر

منابع

Ahmed A, Smithard R., Ellis M (1991) Activities of enzymes of the pancreas, and the lumen and mucosa of the small intestine in growing broiler cockerels fed on tannin-containing diets. *British Journal of Nutrition* 65:189-97.
Bonfili L, Cekarini V, Amici M, Cuccioloni M, Angeletti M, Keller J.N, Eleuteri AM (2008) Natural polyphenols as proteasome modulators and their role as anti-cancer compounds. *The FEBS journal* 275:5512-26.
Brannon P (1990) Adaptation of the exocrine pancreas to diet. *Annual review of nutrition* 10:85-105.
Buraczewska L, Gdala J, Grala W (1989) Ileal digestibility of protein in pigs fed diets with peas of variable content of protein and tannins. In: *Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds* (pp. 181-4. Pudoc, Wageningen, The Netherlands.
Cai X, Yu J, Xu L, Liu R, Yang J (2015) The mechanism study in the interactions of sorghum procyanidins trimer with porcine pancreatic α -amylase. *Food chemistry* 174:291-8.
Fani Maleki F (1998) Application of oak fruit in broiler diets. Master Thesis in Animal Science, Faculty of

Agriculture, Islamic Azad University, Khorasgan Branch (Isfahan). (In Farsi).
Feeny P, Bostock H (1968) Seasonal changes in the tannin content of oak leaves. *Phytochemistry* 7:871-880.
Gan J, Chen H, Liu J, Wang Y, Nirasawa S, Cheng Y (2016) Interactions of β -Conglycinin (7S) with Different Phenolic Acids—Impact on Structural Characteristics and Proteolytic Degradation of Proteins. *International journal of molecular sciences* 17:1671.
Helal A, Tagliazucchi D, Verzelli E, Conte A. (2014) Bioaccessibility of polyphenols and cinnamaldehyde in cinnamon beverages subjected to in vitro gastro-pancreatic digestion. *Journal of Functional Foods* 7:506-16.
Hidayat C, Irawan A, Jayanegara A, Sholikin MM, Prihambodo TR, Yanza YR, Wina E, Sadarman S, Krisnan R, Isbandi I (2021) Effect of dietary tannins on the performance, lymphoid organ weight, and amino acid ileal digestibility of broiler chickens: A meta-analysis. *Veterinary World* 14:1405.
Horigome T, Kumar R, Okamoto K (1988) Effects of condensed tannins prepared from leaves of fodder plants

- on digestive enzymes in vitro and in the intestine of rats. *British Journal of Nutrition* 60:275-85.
- Khandelwal S, Udipi SA, Ghugre P (2010) Polyphenols and tannins in Indian pulses: Effect of soaking, germination and pressure cooking. *Food research international* 43:526-530.
- Koo SI, Noh SK (2007) Green tea as inhibitor of the intestinal absorption of lipids: potential mechanism for its lipid-lowering effect. *The Journal of nutritional biochemistry* 18:179-183.
- Kumari M, Jain S (2012) Tannins: An antinutrient with positive effect to manage diabetes. *Research Journal of Recent Sciences* 2277:2502.
- Longstaff M, McNab J (1991) The inhibitory effects of hull polysaccharides and tannins of field beans (*Vicia faba L.*) on the digestion of amino acids, starch and lipid and on digestive enzyme activities in young chicks. *British Journal of Nutrition* 65:199-216.
- Mahmood S, Smithard R (1993) A comparison of effects of body weight and feed intake on digestion in broiler cockerels with effects of tannins. *British Journal of Nutrition* 70:701-709.
- Mahmood S, Smithard R, Sarwar M (1997) Effects of salseed (*Shorea robusta*) tannins, restricted feed intake and age on relative pancreas weight and activity of digestive enzymes in male broilers. *Animal feed science and technology* 65:215-30.
- Mitaru BN, Reichert RD, Blair R (1983) Improvement of the nutritive value of high tannin sorghums for broiler chickens by high moisture storage (reconstitution). *Poultry Science* 62:2065-2072.
- Nam S, Smith DM, Dou QP (2001) Tannic acid potently inhibits tumor cell proteasome activity, increases p27 and Bax expression, and induces G1 arrest and apoptosis. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* 10:1083-1088.
- Nobakht E, Muhagheh Dolatabady M (2019) Effect of Feeding Oak Acorn on Expression of IL-2, IL-13 and IFN- γ Genes in Bursa Fabricius Tissue of Broiler Chickens. *Poultry Science Journal* 7:95-100.
- Rajablu M (2010) The use of oak fruit in animal feed. *nternal newsletter of Golestan Agricultural Jihad Organization*, 4. (In Farsi).
- Rawel HM, Czajka D, Rohn S, Kroll J (2002) Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins. *International Journal of Biological Macromolecules* 30:137-150.
- Rohn S, Rawel HM, Kroll J (2002) Inhibitory effects of plant phenols on the activity of selected enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:3566-71.
- Rohn S, Rawel HM, Pietruschinski N, Kroll J (2001) In vitro inhibition of α -chymotryptic activity by phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81:1512-1521.
- Santos-Buelga C, Scalbert A (2000) Proanthocyanidins and tannin-like compounds—nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:1094-1117.
- Schaffert R, Lechtenberg V, Oswald D, Axtell J, Pickett R, Rhykerd C (1974) Effect of Tannin on In Vitro Dry Matter and Protein Disappearance in Sorghum Grain 1. *Crop Science* 14:640-643.
- Sergent T, Vanderstraeten J, Winand J, Beguin P, Schneider YJ (2012) Phenolic compounds and plant extracts as potential natural anti-obesity substances. *Food chemistry* 135:68-73.
- Siebert KJ, Troukhanova NV, Lynn PY (1996) Nature of polyphenol– protein interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44:80-85.
- Tanner CC, Clayton JS, Upsdell MP (1995) Effect of loading rate and planting on treatment of dairy farm wastewaters in constructed wetlands—I. Removal of oxygen demand, suspended solids and faecal coliforms. *Water Research* 29:17-26.
- Taylor J, Bean SR, Ioerger BP, Taylor JR (2007) Preferential binding of sorghum tannins with γ -kafirin and the influence of tannin binding on kafirin digestibility and biodegradation. *Journal of Cereal Science* 46:22-31.
- Thielecke F, Boschmann M (2009) The potential role of green tea catechins in the prevention of the metabolic syndrome—a review. *Phytochemistry* 70:11-24.
- Varmaghani S.A, A. Y., Gharahdaghi A. A. and H J. (2006) Usage Of Detannified Oak Kernel (Dok) In Broiler Diets. *Pajouhesh-va-Sazandegi* 19. (In Farsi).
- Woyengo T, Nyachoti C (2012) Ileal digestibility of amino acids for zero-tannin faba bean (*Vicia faba L.*) fed to broiler chicks. *Poultry Science* 91:439-43.
- Wu X, Wang W, Zhu T, Liang T, Lu F, He W, Zhang H, Liu Z, He S, Gao K (2013) Phenylpropanoid glycoside inhibition of pepsin, trypsin and α -chymotrypsin enzyme activity in Kudingcha leaves from *Ligustrum purpurascens*. *Food research international* 54:1376-1382.
- Yang F, Lei X, Rodriguez-Palacios A, Tang C, Yue H (2013) Selection of reference genes for quantitative real-time PCR analysis in chicken embryo fibroblasts infected with avian leukosis virus subgroup J. *BMC research notes* 6:1-5.
- Yang H, Landis-Piwowar KH, Chan T, Dou Q. (2011) Green tea polyphenols as proteasome inhibitors: implication in chemoprevention. *Current cancer drug targets* 11:296-306.
- You Q, Chen F, Wang X, Jiang Y, Lin S (2012) Anti-diabetic activities of phenolic compounds in muscadine against alpha-glucosidase and pancreatic lipase. *LWT-Food science and technology* 46:164-8.