



تحقیقات تولیدات دامی

سال نهم/شماره دوم/تابستان ۱۳۹۹ (۵۵-۶۵)



مقاله پژوهشی

تأثیر سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا-۳ بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط تنش فیزیولوژیکی القاء شده با دگزامتاژون

عاطفه بونجیان^۱، سید داود شریفی^{۲*}، عبدالله محمدی سنگ‌چشم^۳، محمدرضا بختیاریزاده^۴

۱- دانشجوی دکتری تغذیه طیور، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۲- دانشیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۳- استادیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۴/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۱۴)

چکیده

تأثیر اسیدهای چرب امگا-۳ بر عملکرد و صفات فیزیکی تخمر مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط تنش فیزیولوژیکی با استفاده از قطعه مرغ تخم‌گذار لوهمن سفید (LSL-Lite) در یک آزمایش فاکتوریل 3×2 با دو سطح تنش (تنش و بدون تنش) و سه سطح اسیدهای چرب امگا-۳ (صفرا، $0/۲۴$ و $۰/۴۸$ درصد جیره) در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۷۰ روز بررسی شد. از سن ۳۵ تا ۴۰ هفتگی، پرندگان با جیره پایه به همراه سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا-۳ تغذیه شدند و در سن ۴۱ هفتگی، تنش فیزیولوژیکی با استفاده از افزودن $1/۵$ میلی‌گرم دگزامتاژون در کیلوگرم جیره به مدت یک هفته القاء شد. سپس دگزامتاژون از جیره حذف و پرندگان به مدت سه هفته دیگر با جیره‌های قبل از تنش تغذیه شدند (دوره پس از تنش). درصد تولید، مصرف خوراک، توده تخم-مرغ و همچنین صفات فیزیکی تخمر مرغ در دوره‌های تنش و بعد از آن بررسی شدند. در دوره تنش، درصد تولید تخمر مرغ، وزن و توده تخمر و ضخامت پوسته کاهش و ضریب تبدیل خوراک افزایش یافت ($P < 0.05$). مصرف خوراک پرندگان متحمل تنشی که با جیره‌های حاوی سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا-۳ تغذیه شدند، کمتر بود ($P < 0.05$). کمترین شاخص زرده مربوط به پرندگان متحمل تنش تغذیه شده با سطوح $۰/۲۴$ و $۰/۴۸$ درصد اسیدهای چرب امگا-۳ بود. در دوره پس از تنش، درصد تولید، توده تخم مرغ و مصرف خوراک در پرندگان متحمل تنش، در مقایسه با پرندگان بدون تنش کمتر بود و ضریب تبدیل بالاتری داشتند ($P < 0.05$). در این دوره، ضخامت پوسته تخم پرندگان متحمل تنشی که سطح $۰/۴۸$ درصد اسیدهای چرب امگا-۳ دریافت کرده بودند، کمتر بود ($P < 0.05$). به طور کلی، استفاده از اسیدهای چرب امگا-۳ در مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط تنش، با تشدید کاهش مصرف خوراک در این پرندگان می‌تواند آثار زیان‌بار تنش بر عملکرد تولید و کیفیت پوسته تخمر مرغ را افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب امگا-۳، توده تخم مرغ، دگزامتاژون، ضخامت پوسته، عملکرد

* نویسنده مسئول: sdsharifi@ut.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2020.13823.1427

مقدمه

و محور (Coiro *et al.*, 2007) HPA (al., 2006) است که هر دو سیستم در ارتباط با پاسخ‌های تنفس فیزیولوژیکی عمل می‌کنند. علاوه بر آن، امروزه در صنعت پرورش مرغ تخم‌گذار از منابع مختلف اسیدهای چرب امگا-۳ جهت بهبود پروفایل اسیدهای چرب در زرده تخممرغ استفاده می‌شود (Al-Nasser *et al.*, 2011; Ao *et al.*, 2015; Hoan and Khoa, 2016).

در مرغ‌های تخم‌گذار پرورش یافته در شرایط تجاری، تنفس یک مسئله رایج است که هموستانزی فیزیولوژیکی و عملکرد تخم‌گذاری را سرکوب می‌کند. دگزاماتازون یک گلوکوکورتیکوئید سنتتیک است که تمایل بالایی برای اتصال به گیرندهای گلوکوکورتیکوئیدی دارد، از این رو از آن برای القاء تنفس فیزیولوژیکی در مطالعات مختلف استفاده می‌شود (Foucaud *et al.*, 1998).

مطالعات مختلفی، آثار ضد تنفسی اسیدهای چرب امگا-۳ را در انسان و موش نشان داده‌اند، اما تاکنون تأثیر این ترکیبات در شرایط تنفس فیزیولوژیکی در طیور بررسی نشده است. لذا هدف از این پژوهش، بررسی آثار تنفس فیزیولوژیکی بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار و تاثیر اسیدهای چرب امگا-۳ بر کاهش آثار تنفس بود.

مواد و روش‌ها

برای اجرای این پژوهش از ۹۶ قطعه مرغ تخم‌گذار لوهمن سفید (LSL-Lite) در سن ۳۵ هفتگی با میانگین وزن بدن $۱۳۴۱ \pm ۳۸/۳۵$ گرم استفاده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل ۲×۲ با دو سطح تنفس (تنفس و بدون تنفس) و سه سطح اسیدهای چرب امگا-۳ (صفر، $۰/۲۴$ و $۰/۴۸$ درصد جирه) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و چهار قطعه مرغ در هر تکرار به مدت ۱۰ هفته اجرا شد. لازم به ذکر است به دلیل وجود مقداری اسید چرب امگا-۳ در مواد خوراکی، جیره‌های مربوط به سطح صفر نیز حاوی مقداری جزئی از این اسیدهای چرب بود (جدول ۱). در سن ۴۱ هفتگی، برای القای تنفس فیزیولوژیکی، از دگزاماتازون (قرص‌های $۰/۵$ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره به مدت یک هفته استفاده شد. از مکمل سالومگا (محصول شرکت Agritech ایرلند) به عنوان منبع تامین‌کننده اسیدهای چرب امگا-۳ از

پرندگان در محیط زندگی خود در معرض انواع عوامل تنفس-زا از جمله تراکم بالا، دما، رقابت بر سر مواد غذایی (Raouf (Vallarino *et al.*, 2006)، وجود انگل‌های خارجی (Thaxton *et al.*, 2006; Delezze *et al.*, 2007) et al., 2006) و بیماری‌ها قرار دارند (Hypothalamo-Pituitary-Adrenal, HPA) (Trush می‌کنند. HPA نقش مهمی در حفظ هموستانزی بدن به وسیله مقابله با انواع عوامل تنفس-زا دارد (Sapolsky *et al.*, 2000; Romero *et al.*, 2009). افزایش فعالیت HPA در نتیجه عوامل تنفس-زا منجر به افزایش ترشح کورتیکوسترون می‌شود که به نوبه خود موجب واکنش‌های فیزیولوژیکی و سوخت و ساز از جمله کاهش نرخ رشد، کاهش تخم‌گذاری و وزن اویداکت (Hull *et al.*, 2007)، بسیج ذخایر انرژی و افزایش حساسیت به بیماری‌ها می‌شود (Nieuwenhuizen and Rutters, 2008). گلوکوکورتیکوئیدها اطلاعات مربوط به شرایط محیطی را به محور هیپوپاتالاموس-هیپوفیز-آدرنال انتقال داده و در نهایت تولید تخممرغ را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Wang *et al.*, 2017). اسیدهای چرب غیراشباع ترکیباتی هستند که در ساختار فسفولیپیدهای غشای سلولی نقش دارند و بیشترین غلظت آنها در سیستم عصبی مرکزی است، و عملکرد و خصوصیات بیوشیمیایی غشاهای سلولی در بافت‌های مختلف را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Stillwell and Wassall, 2003). اسیدهای چرب غیراشباع زنجیر بلند، رفتارهای ادراکی، اضطراب، خشونت و افسردگی را تعدیل می‌کنند. اسیدهای Fedorova (Fedorova and Salem, 2006; Appleton *et al.*, 2008) چرب امگا-۳ نقش مهمی در ممانعت از رفتارهای خشونت-آمیز و تهاجمی دارند. افزایش رفتارهای تهاجمی در نتیجه کاهش سطوح اسید لینولنیک و دکوزاهگزانوئیک اسید در انسان، سگ و موش گزارش شده است (Augier *et al.*, 2003; De Vriese *et al.*, 2004; Re *et al.*, 2008). آثار ضدتنفسی اسیدهای چرب غیراشباع در نتیجه (Du Bois *et al.*, 2008) تغییرات عملکردی در سیستم سروتونوژنیک

که در این رابطه، Y_{ijk} ، مقدار هر مشاهده در آزمایش؛ μ میانگین جامعه؛ A_i ، اثر تنش؛ B_j ، اثر اسیدهای چرب امگا-۳؛ AB_{ijk} ، اثر متقابل تنش × اسیدهای چرب امگا-۳ و e_{ijk} ، خطای آزمایشی است.

دادهای عملکرد مربوط به دوره پس از تنش با استفاده از اندازه‌گیری‌های تکرار شده در زمان با استفاده از رویه Mixed تجزیه شدند. همچنین برای دادهای عملکرد در دوره پس از تنش، سن پرندگان به عنوان متغیر کمکی در نظر گرفته شد و تجزیه کوواریانس برای آنها انجام شد. با توجه به معنی دار نشدن متغیر کمکی، این عامل از مدل حذف شد و مدل ساده‌تر برای تجزیه داده‌ها در نظر گرفته شد:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ijk} + \sum_{k=1}^3 P_k + AP_{ik} + BP_{jk} + ABP_{ijk} + e_{ijk}$$

که در این رابطه، Y_{ijk} ، مقدار هر مشاهده در آزمایش؛ μ ، خطای تصادفی؛ P_k ، اثر دوره؛ AP_{ik} ، اثر متقابل تنش × دوره؛ BP_{jk} ، اثر متقابل اسیدهای چرب امگا-۳ × دوره و ABP_{ijk} ، اثر متقابل تنش × اسیدهای چرب امگا-۳ × دوره است.

نتایج و بحث

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد در دوره تنش در جدول ۲ آرائه شده است. تنش فیزیولوژیکی موجب کاهش درصد تولید، توده تخم مرغ، وزن تخم مرغ و افزایش ضریب تبدیل خوراک شد ($P < 0.05$). اثر اصلی اسیدهای چرب امگا-۳ و همچنین اثر متقابل تنش و اسیدهای چرب امگا-۳ بر صفات مذکور معنی دار نبود ($P > 0.05$). مصرف خوراک در پرندگان تحت تنش که با جیره‌های حاوی اسیدهای چرب امگا-۳ تغذیه شدند، کمتر بود، به گونه‌ای که پرندگان تحت تنش تغذیه شده با $48/48$ درصد جیره اسیدهای چرب امگا-۳ کمترین خوراک مصرفی را داشتند و از این نظر تفاوت معنی داری با سایر تیمارها داشتند ($P < 0.05$). میزان مصرف خوراک در گروههای تحت تنش بدون افزودنی و سطح $24/24$ درصد جیره اسیدهای چرب امگا-۳ بیشتر از پرندگان تحت تنش تغذیه شده با سطح $48/48$ درصد اسیدهای چرب امگا-۳ بود ($P < 0.05$).

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد در دوره پس از تنش در جدول ۳ نشان داده شده است. در دوره پس از تنش، توده

ابتدا تا پایان دوره آزمایش استفاده شد. مکمل سالومگا مورد استفاده حاوی 52 درصد چربی، 16 درصد الیاف، 3 درصد پروتئین خام، 17 درصد اسیدهای چرب امگا-۳، $1/5$ درصد خاکستر و $4/5$ درصد رطوبت بود. جیره‌های آزمایشی برای تأمین نیازمندی‌های مواد مغذی مرغ‌های تخم‌گذار مطابق با توصیه راهنمای پرورش LSL-Lite تنظیم شدند (جدول ۲). درجه حرارت و رطوبت سالن به ترتیب در محدوده $22-20$ درجه سلسیوس و $50-60$ تا 60 درصد کنترل شد.

صفات مربوط به عملکرد در دو دوره تنش (استفاده از دگزامتاژون به مدت یک هفته در جیره) و پس از تنش (بعد از حذف دگزامتاژون از جیره تا پایان دوره آزمایش) به صورت هفتگی بررسی شدند. صفات فیزیکی تخم مرغ در پایان دوره‌های تنش (پایان ۴۱ هفتگی) و پس از تنش (پایان ۴۴ هفتگی) اندازه‌گیری شدند. برای بررسی صفات فیزیکی تخم مرغ، دو عدد تخم مرغ از هر تکرار آزمایشی به صورت تصادفی انتخاب شد. طول و عرض تخم مرغ با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد. بعد از شکستن تخم مرغ و خشک کردن پوسته، ضخامت آن با استفاده از ریزسنج از سه ناحیه میانی و دو انتهای پهن و باریک تخم مرغ اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری کیفیت داخلی تخم مرغ از Egg Multi Tester (EMT-5200) استفاده شد. شاخص شکل تخم مرغ از تقسیم عرض تخم مرغ به طول تخم مرغ و همچنین شاخص زرده از تقسیم ارتفاع به قطر زرده ضرب در 100 محاسبه شد. از ارتفاع سفیده و وزن تخم مرغ برای اندازه‌گیری واحد هاو طبق رابطه زیر استفاده شد:

$$(W^{1/3}) = 100 \times \log_{10}(H^{1/7} - 1/57^{1/7} \times (W))^{1/3}$$

که در این رابطه، H ، ارتفاع سفیده بر حسب میلی‌متر و W وزن تخم مرغ بر حسب گرم است.

داده‌های حاصل پس از تایید همگنی واریانس‌ها و نرمال بودن، با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) رویه مدل خطی عمومی با استفاده از مدل آماری زیر تجزیه و میانگین‌ها با روش توکی در سطح احتمال پنج درصد با هم مقایسه شدند:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ij}$$

نتایج این آزمایش مطابق با نتایج قبلی در خصوص آثار تیمار کورتیکوسترون و دگراماتازون در مرغ‌های تخم‌گذار و بلدرچین ژاپنی است. در مطالعه قبلی، استفاده از ۰/۶ میلی- گرم دگراماتازون در کیلوگرم وزن بدن در بلدرچین ژاپنی (Berenjian *et al.*, 2018) مصرف خوراک را کاهش داد. همچنین گزارش شده است که استفاده از سطوح مختلف کورتیکوسترون در بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار موجب کاهش خوراک مصرفی تا یک هفته بعد از حذف کورتیکوسترون HPA (Wall and Cockrem, 2010). فعال شدن محور موجب ترشح هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین می‌شود. این هورمون یک پیتید موثر در اشتها است و با کاهش اشتها موجب کاهش مصرف خوراک در این پرنده‌گان می‌شود (Richardson *et al.*, 2000).

تخممرغ در پرنده‌گانی که تنفس را تجربه کرده بودند، در مقایسه با پرنده‌گان بدون تنفس کمتر بود، در حالی که ضریب تبدیل خوراک بالاتری داشتند ($P < 0.05$). درصد تولید تخممرغ در پرنده‌گان تحت تنفس و تغذیه شده با سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا-۳ در مقایسه با پرنده‌گان بدون تنفس کمتر بود ($P < 0.05$). اثر متقابل هفته و تنفس بر درصد تولید و خوراک مصرفی معنی‌دار بود ($P < 0.05$) و با افزایش طول دوره از آثار منفی تنفس بر این صفات کاسته شد. اثر متقابل هفته و تنفس و اسیدهای چرب امگا-۳ بر ضریب تبدیل خوراک معنی‌دار بود ($P < 0.05$). با افزایش طول دوره و حذف دگراماتازون از جیره و مصرف اسیدهای چرب امگا-۳، ضریب تبدیل در پرنده‌گان بهبود یافت. وزن تخممرغ تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب جیره‌های آزمایشی

Table 1. Ingredients and composition of experimental diets

Ingredient (%)	Total omega-3 fatty acids (% of diet)		
	0	0.24	0.48
Corn	52.2	50.6	49.0
Soybean meal	30.8	31.2	31.5
wheat Bran	2.5	2.5	2.5
Salomega	0	1.5	3
Canola oil	1.83	1.60	1.37
Dicalcium phosphate	1.52	1.51	1.52
Limestone	6.50	6.50	6.50
Oyster shell	3.66	3.66	3.66
Vitamin-mineral premixa ¹	0.5	0.5	0.5
DL-Methionine	0.18	0.15	0.16
Sodium chloride	0.15	0.15	0.15
Bicarbonate sodium	0.15	0.15	0.15
Calculated Nutrients			
AMEn (Kcal/kg)	2620	2620	2620
Crude Protein (%)	18.5	18.5	18.5
Crude fiber (%)	2.64	2.67	2.71
Calcium (%)	4.25	4.25	4.25
Phosphorus (%)	0.43	0.43	0.43
Total omega-3 fatty acid (%)	0.031	0.245	0.507
Lysine (%)	1.04	1.016	1.022
Methionine (%)	0.48	0.44	0.44
Methionine + cysteine (%)	0.78	0.74	0.74

¹ Vitamin and mineral Premix supplied per kilogram of diet: Vitamin A, 9000 IU. Vitamin D3, 2000 IU. Vitamin E, 18 IU. Vitamin K3, 2 mg. thiamin, 1.8 mg. riboflavin, 6.6 mg. Niacin, 30 mg. Calcium pantothenate, 10 mg. Vitamin B6, 3 mg. Folic acid 1 mg. Vitamin B12, 0.015 mg., Biotin 0.1 mg., Choline 500 mg., manganese oxide 100 mg., ferrous sulfate 50 mg., zinc oxide 100 mg., copper sulphate 10 mg., calcium iodate 1 mg., sodium selenite, 0.2

جدول ۲- اثر تنفس فیزیولوژیکی و اسیدهای چرب امگا-۳ بر فرآیندهای عملکردی مرغ‌های تخم‌گذار طی دوره تنفس (سن ۴۱ هفتگی)

Table 2. Effect of physiological stress and omega-3 fatty acids on production performance in laying hens during stress period (41 weeks of age)

Item	Egg production (%)	Egg mass (g/hen/day)	Egg weight (g/egg)	Feed intake (g/hen/day)	Feed conversion ratio
Condition					
Non stress	98.11 ^a	61.48 ^a	62.68 ^a	108.50 ^a	1.76 ^b
Stress	88.09 ^b	54.08 ^b	61.40 ^b	98.71 ^b	1.82 ^a
SEM	1.05	0.65	0.42	0.56	0.02
Omega-3 fatty acids (%)					
0	94.94	58.68	61.82	106.19 ^a	1.81
0.24	92.41	57.16	61.82	103.44 ^b	1.81
0.48	91.96	57.50	62.49	101.20 ^b	1.76
SEM	1.29	0.80	0.52	0.69	0.02
Condition × Omega-3 fatty acids					
Non stress	0	97.91	61.14	62.46	110.92 ^a
Non stress	0.24	98.21	61.39	62.53	107.10 ^a
Non stress	0.48	98.21	61.92	63.05	107.50 ^a
Stress	0	91.96	56.23	61.18	101.45 ^b
Stress	0.24	86.60	52.93	61.11	99.79 ^b
Stress	0.48	85.71	53.08	61.93	94.90 ^c
SEM	1.83	1.13	0.73	0.98	0.03
P-value					
Condition	< .0001	< .0001	0.04	< .0001	0.04
Omega-3 fatty acids	0.24	0.39	0.58	0.0003	0.28
Condition×Omega-3 fatty	0.18	0.19	0.97	0.04	0.14

^{a-c} Means with different superscripts within a column are significantly different at P<0.05.

این تحقیق در درجه نخست می‌تواند به دلیل کاهش مصرف خوراک باشد. بدیهی است که با کاهش مصرف خوراک، انرژی لازم جهت تولید پیش‌سازهای زرده در کبد تامین نمی‌شود و در نتیجه، توسعه فولیکول‌ها و تخم‌گذاری در نتیجه کاهش دسترسی به پیش‌سازهای زرده مهار می‌شود. از طرفی، آبشار تغییرات فیزیولوژیکی، سوخت و سازی و رفتاری که در نتیجه ترشح گلوكورتيکوئیدها در بدن به راه می‌افتد، ذخایر انرژی را از تولیدمثل به سمت زندemanی انتقال می‌دهد (Wingfield and Sapolsky, 2003). در خصوص تاثیر استفاده از مکمل اسیدهای چرب امگا-۳ در زمان تنفس، اطلاعاتی در این زمینه در پرنده‌گان وجود ندارد، با این حال در پستانداران از جمله انسان، موش و خرگوش مطالعاتی مبنی بر آثار ضدتنفسی مکمل اسیدهای چرب امگا-۳ گزارش شده است (Pérez et al., 2013; Nemeth et al., 2014).

با حذف دگرامتاژون از جیره پرنده‌گان تحت تنفس، در دوره پس از تنفس، پرنده‌گان تحت تنفس همچنان مصرف خوراک پایین‌تری در مقایسه با پرنده‌گان بدون تنفس داشتند، که این می‌تواند در نتیجه افزایش فعالیت محور HPA در دوره تنفس باشد، که حتی بعد از حذف دگرامتاژون از جیره بر رفتار تغذیه‌ای حیوان موثر است. با پیشرفت دوره آزمایش آثار منفی تنفس بر اشتها حیوان بهبود یافت. تنفس فیزیولوژیکی القاء شده به وسیله دگرامتاژون در این تحقیق موجب کاهش عملکرد تخم‌گذاری شد. هم‌سو با نتایج این تحقیق، گزارش شده است که استفاده از دو میلی‌گرم کورتیکوسترون در کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش تخم‌گذاری و وزن تخم مرغ شد (Wang et al., 2013). همچنین تجویز دو میلی‌گرم کورتیکوسترون در کیلوگرم وزن بدن در روز سبب کاهش مصرف خوراک، نرخ تخم‌گذاری و توده تخم شد (Liu et al., 2012). کاهش عملکرد تخم‌گذاری در

جدول ۳- اثر تنفس فیزیولوژیکی و اسیدهای چرب امگا-۳ بر فراسنجه‌های عملکردی مرغ‌های تخم‌گذار در دوره پس از تنفس (سن هفتگی ۴۲-۴۴)

Table 3. Effect of physiological stress and omega-3 fatty acids on production performance in laying hens during post-stress period (42-44 weeks of age)

Item	Egg production (%)	Egg mass (g/hen/day)	Egg weight (g/egg)	Feed intake (g/hen/day)	Feed conversion ratio
Condition					
Non stress	95.22 ^a	59.01 ^a	61.83	107.72 ^a	1.82 ^b
Stress	91.42 ^b	55.81 ^b	61.12	104.98 ^b	1.88 ^a
SEM	0.65	0.58	0.43	0.85	0.01
Omega-3 fatty acids (%)					
0	93.05	57.15	61.40	107.92	1.89
0.24	94.17	58.16	61.52	105.72	1.82
0.48	92.87	56.91	61.50	105.41	1.85
SEM	0.83	0.71	0.53	1.05	0.02
Condition × Omega-3 fatty acids					
Non stress	0	95.83 ^a	59.22	61.80	109.74
Non stress	0.24	94.31 ^{ab}	58.89	61.97	105.75
Non stress	0.48	95.53 ^a	58.91	61.71	107.66
Stress	0	90.27 ^b	55.09	60.99	106.10
Stress	0.24	93.79 ^b	57.43	61.06	105.69
Stress	0.48	90.21 ^b	54.91	61.29	103.16
SEM	1.17	1.008	0.75	1.48	0.03
P-value					
Condition	0.0001	0.003	0.25	0.03	0.05
Omega-3 fatty acids	0.53	0.42	0.98	0.19	0.14
Condition × Omega-3 fatty	0.05	0.33	0.94	0.29	0.87
Week	0.41	0.82	0.93	0.78	0.92
Condition × week	0.003	0.22	0.87	0.004	0.62
Omega-3 fatty acids × week	0.35	0.61	0.97	0.85	0.36
Condition × Omega-3 fatty acids × week	0.08	0.06	0.96	0.14	0.003

^{a-b} Means with different superscripts within a column are significantly different at $P<0.05$.

کاهش مصرف غذا می‌شوند (Parra *et al.*, 2008). اسیدهای چرب امگا-۳ به طور مستقیم با انتقال مولکول‌های تنظیم-کننده اشتها مانند دوبامین (Shashoua and Hesse, 1996) و همچنین برهمکنش با عوامل نورواندوکرینی مختلف مانند انسولین (Pérez-Nettleton and Katz, 2005) و لپتین (Pérez-Matute *et al.*, 2007) نقش مهمی در سوخت و ساز انرژی و مصرف غذا دارند. گزارش شده است که اسیدهای چرب امگا-۳ در افراد چاق سبب افزایش سطح لپتین و کاهش اشتها در این افراد می‌شوند (Gray *et al.*, 2013). از طرفی بیان شده است که هورمون کورتیزول باعث تحریک سطوح بیان ژن هورمون لپتین می‌شود (Houseknecht *et al.*, 1998). با توجه به این نتایج می‌توان نتیجه گرفت که در مرغ‌های تخم‌گذار با توجه به داشتن سطوح تری‌گلیسرید

مطالعات زیادی در مورد استفاده از مکمل امگا-۳ در طیور از جمله مرغ‌های تخم‌گذار در جهت غنی‌سازی تخم مرغ صورت گرفته است که در بسیاری از این تحقیقات، اسیدهای چرب امگا-۳ تأثیری بر فراسنجه‌های عملکردی نداشته است (Küçükersan *et al.*, 2010; Al-Nasser *et al.*, 2011; Zhang and Kim, 2014) در این تحقیق، استفاده از اسیدهای چرب امگا-۳ در پرنده‌گان تحت تنفس در دوره تنفس، سبب کاهش مصرف خواراک شد. همچنین مصرف این اسیدهای چرب در پرنده‌گان تحت تنفس، درصد تولید و توده تخم مرغ را نسبت به عدم مصرف آن به وسیله پرنده‌گان تحت تنفس به صورت عددی کاهش داد. مطابق نتایج این آزمایش، نشان داده شده است که مکمل اسیدهای چرب امگا-۳ در افراد چاق با تعديل پیامرسان‌های گرسنگی و سیری باعث

چرب امگا-۳ و همچنین اثر اصلی اسیدهای چرب امگا-۳ بر این صفت معنی دار نبود. شاخص زرده در پرندهان بدون تنفس و تغذیه شده با سطح ۰/۴۸ درصد اسیدهای چرب امگا-۳ در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود، و از این نظر با گروههای تحت تنفس تغذیه شده با سطح ۰/۲۴ و ۰/۴۸ درصد اسیدهای چرب امگا-۳ و گروه بدون تنفس و بدون مکمل امگا-۳ در جیره تفاوت معنی دار نشان دادند ($P<0.05$). در دوره پس از تنفس، ضخامت پوسته در پرندهان تحت تنفس و تغذیه شده با اسیدهای چرب امگا-۳ کاهش یافت و از این نظر پرندهان تحت تنفس تغذیه شده با سطح ۰/۴۸ درصد اسیدهای چرب امگا-۳ کمترین کیفیت پوسته را داشتند و تفاوت معنی دار با سایر تیمارها بجز گروه تحت تنفس و تغذیه شده با سطح ۰/۲۴ درصد اسیدهای چرب امگا-۳ نشان دادند ($P<0.05$). شاخص شکل تخم مرغ، وزن پوسته تخم مرغ، وزن زرده، شاخص زرده و واحد هاو تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند.

جدول ۴- اثر تنفس فیزیکی و اسیدهای چرب امگا-۳ بر صفات فیزیکی تخم مرغ در دوره تنفس (سن ۴۱ هفتگی)

Table 4. Effect of physiological stress and omega-3 fatty acids on physical traits of egg during stress period (41 weeks of age)

Item	Egg index	Shell weight (g)	Shell thickness (mm)	Yolk weight (g)	Yolk index	Haugh units
Condition						
Non stress	75.15	6.49	0.51 ^a	16.82	54.38 ^a	109.20
Stress	75.87	6.74	0.49 ^b	16.29	52.53 ^b	108.23
SEM	0.49	0.11	0.007	0.22	0.29	0.64
Omega-3 fatty acids (%)						
0	75.38	6.51	0.51	16.83	53.54	109.85
0.24	75.55	6.71	0.49	16.70	52.95	107.88
0.48	75.61	6.64	0.50	16.14	53.88	108.42
SEM	0.60	0.13	0.009	0.26	0.36	0.78
Condition × Omega-3 fatty acids						
Non stress	0	74.54	6.60	0.52	17.26	53.38 ^b
Non stress	0.24	75.59	6.48	0.50	16.79	53.93 ^{ab}
Non stress	0.48	75.32	6.40	0.51	16.41	55.85 ^a
Stress	0	76.21	6.42	0.49	16.40	53.71 ^{ab}
Stress	0.24	75.51	6.94	0.48	16.61	51.97 ^b
Stress	0.48	75.90	6.88	0.49	15.87	51.91 ^b
SEM	0.85	0.19	0.01	0.38	0.51	1.10
P-value						
Condition	0.31	0.13	0.05	0.10	0.0004	0.30
Omega-3 fatty acids	0.96	0.60	0.69	0.18	0.21	0.21
Condition × Omega-3 fatty acids	0.59	0.19	0.93	0.67	0.002	0.24

^{a-b} Means with different superscripts within a column are significantly different at $P<0.05$.

بالا در پاسخ به استروژن و به ویژه مرغهای تخم‌گذار تحت تنفس که دارای سطوح بالایی از لیپیدها در خون و کبد در نتیجه فرایندهای سوخت و سازی ناشی از کورتیکوسترون هستند، با توجه به نتایج محققان در خصوص تاثیر اسیدهای چرب امگا-۳ بر افزایش سطح لیپین، به نظر می‌رسد استفاده از اسیدهای چرب امگا-۳ در این آزمایش از راه افزایش سطوح لپتین به عنوان هورمون سیری سبب کاهش مصرف خوراک در پرندهان تحت تنفس شد. به طور کلی تنفس فیزیولوژیکی و اسیدهای چرب امگا-۳ با آثار هم‌افزایی موجب کاهش مصرف خوراک شدند. کاهش عملکرد تولید در پرندهان تحت تنفس می‌تواند به وسیله کاهش مصرف خوراک در این پرندهان توجیه شود.

اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات فیزیکی و کیفیت تخم مرغ در دوره تنفس و پس از تنفس در جداول ۴ و ۵ ارائه شده است. در دوره تنفس، تنفس فیزیولوژیکی موجب کاهش ضخامت پوسته شد ($P<0.05$). اثر متقابل تنفس و اسیدهای

جدول ۵- اثر تنفس فیزیولوژیکی و اسیدهای چرب امگا-۳ بر صفات فیزیکی تخممرغ در دوره پس از تنفس (۴۴ هفتگی)

Table 5. Effect of physiological stress and omega-3 fatty acids on physical traits of egg during post-stress period (44 weeks of age)

Item	Egg index	Shell weight (g)	Shell thickness (mm)	Yolk weight (g)	Yolk index	Haugh units
Condition						
Non stress	75.96	6.26	0.42 ^a	16.63	51.46	109.34
Stress	76.22	6.51	0.38 ^b	16.24	51.72	108.97
SEM	0.57	0.05	0.006	0.27	0.57	0.75
Omega-3 fatty acids (%)						
0	76.09	6.47	0.42 ^a	16.51	51.71	110.51
0.24	74.88	6.34	0.39 ^{ab}	16.55	51.12	108.43
0.48	77.30	6.33	0.38 ^b	16.24	51.93	108.51
SEM	0.70	0.06	0.008	0.33	0.71	0.92
Condition × Omega-3 fatty acids						
Non stress	0	76.00	6.33	0.41 ^{ab}	16.55	51.10
Non stress	0.24	74.67	6.20	0.41 ^{ab}	16.77	51.09
Non stress	0.48	77.22	6.26	0.43 ^a	16.57	52.18
Stress	0	76.18	6.63	0.43 ^a	16.47	52.32
Stress	0.24	75.10	6.49	0.37 ^{bc}	16.33	51.15
Stress	0.48	77.38	6.41	0.34 ^c	15.92	51.68
SEM	0.99	0.09	0.01	0.47	1.004	1.31
P-value						
Condition	0.75	0.06	0.001	0.32	0.75	0.73
Omega-3 fatty acids	0.07	0.27	0.01	0.77	0.70	0.22
Condition × Omega-3 fatty acids	0.98	0.64	0.001	0.83	0.69	0.48

^{a-c} Means with different superscripts within a column are significantly different at $P<0.05$.

تنفس در این پرندگان شد. این کاهش می‌تواند در نتیجه اثر مکمل امگا-۳ در مصرف خوراک پرندگان تحت تنفس باشد که در صفات مربوط به کیفیت تخممرغ نیز خود را نشان داده است. در خصوص استفاده از مکمل اسیدهای چرب امگا-۳ در مرغ‌های تخم‌گذار، گزارش شده است که استفاده از روغن کتان و جلبک دریابی در جیره تاثیری بر وزن مخصوص، واحد هاو و ضخامت پوسته نداشته است (Ao *et al.*, 2015) همچنین در مطالعه دیگری استفاده از روغن ماهی در جیره مرغ‌های تخم‌گذار تاثیری بر ساختار زرد، ضخامت پوسته، واحد هاو و سایر صفات کیفی تخممرغ نداشت (Küükokersan *et al.*, 2010).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش، تنفس فیزیولوژیکی القاء شده با دگزاماتازون آثار منفی بر عملکرد تولید و کیفیت پوسته تخممرغ دارد و استفاده از مکمل امگا-۳ در سطوح مورد آزمایش در این تحقیق (۰/۲۴ و ۰/۴۸ درصد)،

نشان داده شده است که تزریق دو میلی‌گرم کورتیکوسترون در کیلوگرم وزن بدن در مرغ‌های تخم‌گذار تاثیری بر ضخامت پوسته نداشت (Liu *et al.*, 2012). از طرفی استفاده از جیره حاوی ۳۰ میلی‌گرم کورتیکوسترون در کیلوگرم جیره موجب افزایش ضخامت پوسته تخممرغ شد (Kim *et al.*, 2015) هم‌سو با نتایج آزمایش حاضر، کاهش ضخامت پوسته تخممرغ در نتیجه تنفس گرمایی گزارش شده است (Mashaly *et al.*, 2004; Song *et al.*, 2012). گزارش شده است که دگزاماتازون باعث کاهش بیان ژن کالبیندین در غدد پوسته‌ساز مرغ‌های تخم‌گذار می‌شود. کالبیندین در کلسیفیه کردن تخممرغ نقش دارد (Bar *et al.*, 1996). کاهش ضخامت پوسته در این آزمایش، می‌تواند در نتیجه کاهش مصرف خوراک و در نتیجه مواد مغذی مانند کلسیم و همچنین کاهش جذب کلسیم از دستگاه گوارش در پرندگان تحت تنفس باشد. استفاده از مکمل امگا-۳ در جیره سبب کاهش شاخص زده در پرندگان تحت تنفس در دوره تنفس و همچنین کاهش ضخامت پوسته در دوره پس از

دامغان جهت فراهم نمودن امکانات لازم برای اجرای طرح ابراز می‌نمایند. همچنین از مدیریت محترم شرکت گلبار نوید بهار جهت تأمین محصول سالمگا سپاس‌گزاری می‌شود.

تأثیری بر کاهش آثار منفی تنفس ندارد و حتی سبب تسهیل کاهش مصرف خوراک شد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نگارندگان مراتب قدردانی خود را از مرکز آموزش جهاد کشاورزی حضرت رسول اکرم (ص) شهرستان

فهرست منابع

- Al-Nasser A.Y., Al-Saffar A. E., Abdullah F. K., Al-Bahouh M. E., Ragheb G. and Mashaly M. M. 2011. Effect of adding flaxseed in the diet of laying hens on both production of omega-3 enriched eggs and on production performance. *International Journal of Poultry Science*, 10: 825-831.
- Ao T., Macalintal L., Paul M., Pescatore A., Cantor A., Ford M., Timmons B. and Dawson K. 2015. Effects of supplementing microalgae in laying hen diets on productive performance, fatty-acid profile, and oxidative stability of eggs. *Journal of Applied Poultry Research*, 24: 394-400.
- Appleton K., Rogers P. and Ness A. 2008. Is there a role for n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in the regulation of mood and behaviour? A review of the evidence to date from epidemiological studies, clinical studies and intervention trials. *Nutrition Research Reviews*, 21: 13-41.
- Augier S., Penes M., Debilly G. and Miachon A. 2003. Polyunsaturated fatty acids in the blood of spontaneously or induced muricidal male Wistar rats. *Brain Research Bulletin*, 60: 161-165.
- Bar A., Vax E., Hunziker W., Halevy O. and Striem S. 1996. The role of gonadal hormones in gene expression of calbindin (Mr28, 000) in the laying hen. *General and Comparative Endocrinology*, 103: 115-122.
- Berenjian A., Sharifi S. D., Mohammadi-Sangcheshmeh A. and Ghazanfari S. 2018. Effect of chromium nanoparticles on physiological stress induced by exogenous dexamethasone in Japanese quails. *Biological Trace Element Research*, 184(2): 474-481.
- Coiro V., Casti A., Rubino P., Manfredi G., Maffei M., Melani A., Saccani Jotti G. and Chiodera P. 2007. Free fatty acids inhibit adrenocorticotropin and cortisol secretion stimulated by physical exercise in normal men. *Clinical Endocrinology*, 66: 740-743.
- Delezie E., Swennen Q., Buyse J. and Decuyper E. 2007. The effect of feed withdrawal and crating density in transit on metabolism and meat quality of broilers at slaughter weight. *Poultry Science*, 86: 1414-1423.
- De Vriese S., Christophe A. and Maes M. 2004. In humans, the seasonal variation in poly-unsaturated fatty acids is related to the seasonal variation in violent suicide and serotonergic markers of violent suicide. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 71: 13-18.
- Du Bois T., Deng C., Bell W. and Huang X. F. 2006. Fatty acids differentially affect serotonin receptor and transporter binding in the rat brain. *Neuroscience*, 139: 1397-1403.
- Fedorova I. and Salem N. 2006. Omega-3 fatty acids and rodent behavior. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 75: 271-289.
- Foucaud L., Niot I., Kanda T. and Besnard P. 1998. Indirect dexamethasone down-regulation of the liver fatty acid-binding protein expression in rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1391(2): 204-212.
- Gray B., Steyn F., Davies P. and Vitetta L. 2013. Omega-3 fatty acids: a review of the effects on adiponectin and leptin and potential implications for obesity management. *European Journal of Clinical Nutrition*, 67: 1234.
- Hoan N. D. and Khoa M. A. 2016. The effect of different levels of sesame oil on productive performance, egg yolk and blood serum lipid profile in laying hens. *Open Journal of Animal Sciences*, 6: 85.
- Houseknecht K. L., Baile C. A., Matteri R. L. and Spurlock M. E. 1998. The biology of leptin: a review. *Journal of Animal Science*, 76: 1405-1420.
- Hull K., Cockrem J., Bridges J., Candy E. and Davidson C. 2007. Effects of corticosterone treatment on growth, development, and the corticosterone response to handling in young Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 148: 531-543.

- Kim Y. H., Kim J., Yoon H. S. and Choi Y. H. 2015. Effects of dietary corticosterone on yolk colors and eggshell quality in laying hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28: 840.
- Küçükseran K., Yeşilbağ D. and Küçükseran S. 2010. Influence of different dietary oil sources on performance and cholesterol content of egg yolk in laying hens. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 4: 117-122.
- Liu L., Song Z., Sheikhahmadi A., Jiao H. and Lin H. 2012. Effect of corticosterone on gene expression of feed intake regulatory peptides in laying hens. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 162: 81-87.
- Mashaly M., Hendricks G., Kalama M., Gehad A., Abbas A. and Patterson P. 2004. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poultry Science*, 83: 889-894.
- Nemeth M., Millesi E., Wagner K. H. and Wallner B. 2014. Effects of diets high in unsaturated fatty acids on socially induced stress responses in guinea pigs. *PLoS One*, 9: e116292.
- Nettleton J. A. and Katz R. 2005. n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in type 2 diabetes: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 105: 428-440.
- Nieuwenhuizen A. G. and Rutters F. 2008. The hypothalamic-pituitary-adrenal-axis in the regulation of energy balance. *Physiology and Behavior*, 94: 169-177.
- Parra D., Ramel A., Bandarra N., Kiely M., Martínez J. A. and Thorsdottir I. 2008. A diet rich in long chain omega-3 fatty acids modulates satiety in overweight and obese volunteers during weight loss. *Appetite*, 51: 676-680.
- Pérez-Matute P., Pérez-Echarri N., Martínez J. A., Martí A. and Moreno-Aliaga M. J. 2007. Eicosapentaenoic acid actions on adiposity and insulin resistance in control and high-fat-fed rats: role of apoptosis, adiponectin and tumour necrosis factor- α . *British Journal of Nutrition*, 97: 389-398.
- Pérez M. Á., Terreros G. and Dagnino-Subiabre A. 2013. Long-term ω -3 fatty acid supplementation induces anti-stress effects and improves learning in rats. *Behavioral and Brain Functions*, 9: 25.
- Raouf S. A., Smith L. C., Brown M. B., Wingfield J. C. and Brown C. R. 2006. Glucocorticoid hormone levels increase with group size and parasite load in cliff swallows. *Animal Behaviour*, 71: 39-48.
- Re S., Zanoletti M. and Emanuele E. 2008. Aggressive dogs are characterized by low omega-3 polyunsaturated fatty acid status. *Veterinary Research Communications*, 32: 225-230.
- Richardson R. D., Boswell T., Woods S. C. and Wingfield J. C. 2000. Intracerebroventricular corticotropin-releasing factor decreases food intake in white-crowned sparrows. *Physiology and Behavior*, 71: 213-216.
- Romero L. M., Dickens M. J. and Cyr N. E. 2009. The reactive scope model—a new model integrating homeostasis, allostasis, and stress. *Hormones and Behavior*, 55: 375-389.
- Sapolsky R. M., Romero L. M. and Munck A. U. 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*, 21: 55-89.
- Shashoua V. E. and Hesse G. W. 1996. N-docosahexaenoyl, 3 hydroxytyramine: a dopaminergic compound that penetrates the blood-brain barrier and suppresses appetite. *Life Sciences*, 58: 1347-1357.
- Song Z., Liu L., Sheikhahmadi A., Jiao H. and Lin H. 2012. Effect of heat exposure on gene expression of feed intake regulatory peptides in laying hens. *BioMed Research International*, 2012: 484869.
- Stillwell W. and Wassall S. R. 2003. Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid. *Chemistry and Physics of Lipids*, 126: 1-27.
- Thaxton J., Dozier W., Branton S., Morgan G., Miles D., Roush W., Lott B. and Vizzier-Thaxton Y. 2006. Stocking density and physiological adaptive responses of broilers. *Poultry Science*, 85: 819-824.
- Vallarino A., Wingfield J. and Drummond H. 2006. Does extra corticosterone elicit increased begging and submissiveness in subordinate booby (*Sula nebouxii*) chicks? *General and Comparative Endocrinology*, 147: 297-303.
- Wall J. and Cockrem J. 2010. Effects of corticosterone treatment in laying Japanese quail. *British Poultry Science*, 51: 278-288.
- Wang X. J., Li Y., Song Q. Q., Guo Y. Y., Jiao H. C., Song Z. G. and Lin H. 2013. Corticosterone regulation of ovarian follicular development is dependent on the energy status of laying hens. *Journal of Lipid Research*, 54: 1860-1876.
- Wang X., Liu L., Zhao J., Jiao H. and Lin H. 2017. Stress impairs the reproduction of laying hens: an involvement of energy. *World's Poultry Science Journal*, 73: 845-856.
- Wingfield J. and Sapolsky R. 2003. Reproduction and resistance to stress: when and how. *Journal of Neuroendocrinology*, 15: 711-724.
- Zhang Z. and Kim I. 2014. Effects of dietary olive oil on egg quality, serum cholesterol characteristics, and yolk fatty acid concentrations in laying hens. *Journal of Applied Animal Research*, 42: 233-237.



Research paper

Influence of different levels of omega-3 fatty acids on the performance of laying hens under physiological stress induced by dexamethasone

A. Berenjian¹, S. D. Sharifi^{2*}, A. Mohammadi-Sangcheshmeh³, M. R. Bakhtiarizadeh²

1. Ph.D Student, Department of Animal and Poultry Science, Aburaihan Campus, University of Tehran, Pakdasht, Iran

2. Associate Professor, Department of Animal and Poultry Sciences, Aburaihan Campus, University of Tehran, Pakdasht, Iran

3. Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Sciences, Aburaihan Campus, University of Tehran, Pakdasht, Iran

(Received: 16-07-2019 – Accepted: 05-12-2019)

Abstract

The effect of omega-3 fatty acids on performance and physical characteristics of eggs in laying hens under physiological stress was evaluated using 96 LSL-Lite layers in a 2×3 factorial experiment with two levels of stress (stress and non-stress) and three levels of omega-3 fatty acids (0, 0.24 and 0.48% of diet) in a completely randomized design for 70 days. From age of 35 to 40 weeks, birds were fed with basal diet and various levels of omega-3 fatty acids, at 41 weeks of age. Physiological stress was induced by adding 1.5 mg dexamethasone/kg of diet for one week. Dexamethasone was then removed from the diet and the birds were fed with pre-stressed diets for three weeks (post-stress period). Percentage of production, feed intake, egg mass, as well as physical traits of eggs in stress and post-stress periods were evaluated. During the stress period, the percentage of egg production, weight and egg mass, shell thickness decreased under stress while feed conversion ratio increased ($P < 0.05$). Feed intake of stressed birds fed diets containing different levels of omega-3 fatty acids was lower than other groups ($P < 0.05$). The lowest yolk index was observed in the stressed birds fed diets containing levels of 0.24 and 0.48 % omega-3 fatty acids. In the post-stress period, the egg production, egg mass, feed intake in birds that experienced stress was lower than non-stressed birds and had higher feed conversion ratio ($P < 0.05$). During this period, the shell thickness of the stressed birds receiving level of 0.48% of the omega-3 fatty acids was lower than other groups ($P < 0.05$). In general, the use of omega-3 fatty acids in stressed laying hens with the intensification of reduced feed intake can increase adverse effects of stress on the performance and egg quality.

Keywords: Omega-3 fatty acids, Egg mass, Dexamethasone, Shell thickness, Performance

*Corresponding author: sdsharifi@ut.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2020.13823.1427