



وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور

گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی

اثر منبع انرژی در جیره حاوی کود مرعی عمل
آوری شده بر گوارش پذیری و بیوسنتز شکمبه
گوسفند

حسن فضائی

۱۳۹۲

۴۳۷۶۷

۱

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

عنوان پروژه: اثر منبع انرژی در جیره حاوی کود مرغی عمل آوری شده بر گوارش پذیری و بیوسنتز شکمبه
گوسفند

- شماره مصوب: ۴-۱۳-۱۳-۹۰۰۴۴

- نام و نام خانوادگی مجری: حسن فضائلی

- نام و نام خانوادگی همکاران: مجتبی زاهدی فر، نادر پاپی، ناصر تیمور نژاد، ایوب عزیزی شترخفت

- نام و نام خانوادگی ناظر(ان):

- علمی مشاور (ان):

- محل اجراء: مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور (کرج)

- تاریخ شروع: اسفند ۱۳۹۰

- مدت اجراء: ۱۸ ماه سال

- ناشر: موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

- شماره گان (تیتراژ):

- تاریخ انتشار: مهر ماه ۱۳۹۲

این اثر در مورخ ۱۳۹۲/۰۷/۲۷ با شماره ۴۳۶۷۶ در مرکز اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی به ثبت رسیده است.

حق چاپ محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۴.....	چکیده
۵.....	فصل اول
۵.....	مقدمه
۷.....	فصل دوم
۷.....	مروری بر منابع
۱۶.....	فصل سوم
۱۶.....	مواد و روشها
۲۵.....	فصل چهارم
۲۵.....	نتایج
۳۰.....	فصل پنجم
۳۰.....	بحث و نتیجه گیری
۳۶.....	پیشنهادات
۳۷.....	فهرست منابع
۴۴.....	پیوست ها
۵۳.....	چکیده به زبان انگلیسی

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر منبع انرژی به همراه کود مرغی بر ارزش غذایی و بیوسنتز شکمبه، با استفاده از سه جیره حاوی انرژی و پروتئین یکسان بر روی گوسفند انجام گرفت. سه جیره غذایی بر پایه یونجه و کاه (هر یک به نسبت ۲۶ درصد) با نسبت مساوی کود مرغی (۲۴ درصد) تنظیم شد و ۲۴ درصد باقی مانده آن در جیره های اول، دوم و سوم به ترتیب با استفاده از بلغور ذرت، بلغور جو و ملاس چغندر تامین گردید. آزمایش بر روی ۱۵ راس گوسفند نر مغانی با میانگین وزن زنده ۶۲ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار (جیره غذایی) و ۵ تکرار صورت گرفت. طول دوره آزمایش بر روی دام ها ۲۸ روز بود که ۲۱ روز به عنوان دوره سازگاری و یک هفته برای جمع آوری نمونه اختصاص داده شد.

نتایج نشان داد که استفاده از ملاس سبب بهبود قابلیت هضم ماده خشک (DM)، پروتئین خام (CP) و دیواره سلولی منهای خاکستر (NDFom) گردید ($p < 0/05$) ولی قابلیت هضم ماده آلی (DOM)، قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک (DOMD) و انرژی قابل متابولیسم (ME) تحت تاثیر منبع انرژی جیره قرار نگرفت. در گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی ملاس، نسبت به سایر جیره های آزمایشی، تولید پروتئین میکروبی (MP) و ابقاء نیتروژن به طور معنی داری بهبود یافت ($p < 0/05$). مقدار pH شکمبه در گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی ملاس در مقایسه با جیره حاوی ذرت یا جو به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0/05$). غلظت آمونیاک شکمبه در حیوانات تغذیه شده با جیره حاوی ملاس در مقایسه با جیره حاوی ذرت کاهش یافت ($p < 0/05$). مصرف ملاس سبب افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار شکمبه و نیز بوتیرات شد ($p < 0/05$). غلظت نیتروژن اوره ای خون تحت تاثیر مصرف ملاس کاهش یافت ($p < 0/05$) اما سایر متابولیت های اندازه گیری شده در خون تحت تاثیر منبع انرژی جیره غذایی قرار نگرفت. به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از ملاس چغندر به عنوان مکمل انرژی، همراه با مصرف کود مرغی عمل آوری شده در جیره غذایی سبب بهبود سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه، ابقاء نیتروژن و غلظت کل اسیدهای چرب فرار شد. بنا بر این با توجه به این که مصرف کود مرغی از نظر تامین منابع نیتروژن در جیره غذایی نشخوارکنندگان دارای اهمیت می باشد، با استفاده از ملاس به همراه کود مرغی می توان بازده نیتروژن را در تولید پروتئین میکروبی بهبود بخشید.

کلید واژه: کود مرغی فرآوری شده، منبع انرژی، بیوسنتز شکمبه، گوسفند

فصل اول

مقدمه

کمبود خوراک دام، و به طبع آن بالا رفتن قیمت مواد خوراکی، در بسیاری از مناطق جهان، طی نیم قرن اخیر، موجب بالا رفتن سهم هزینه تغذیه در دامپروری گردیده است و درآمدهای ناشی از تولید فرآورده‌های دامی را تحت تاثیر قرار داده است. به منظور جبران این کمبود، بهره‌گیری و عمل‌آوری مناسب از پس‌ماندها و تولیدات جنبی کشاورزی به عنوان خوراک در تغذیه نشخوارکنندگان برای بهبود تولیدات دامی امری اجتناب‌ناپذیر است (فضائلی، ۱۳۸۸). از طرفی دستگاه گوارش چهار قسمتی ویژه نشخوارکنندگان و نیز هضم میکروبی بی‌نظیر در شکمبه آن‌ها توانایی مصرف و هضم پس‌ماندهای کشاورزی را فراهم نموده است (ایلیمام^۱ و همکاران، ۲۰۰۹). در این زمینه تاکنون پژوهش‌های زیادی انجام گرفته و تجربیات مختلفی نیز به دست آمده است که از آن جمله عمل‌آوری و مصرف کود مرگی در تغذیه نشخوارکنندگان را می‌توان نام برد.

کود مرگی شامل فضولات طیور به همراه مواد مورد استفاده در بستر می‌باشد که غنی از مواد نیتروژن دار بوده و نشخوارکنندگان می‌توانند از آن به خوبی استفاده کنند. علاوه بر این کود مرگی حاوی مقادیر قابل توجهی از مواد معدنی مورد نیاز دام‌ها از جمله کلسیم، فسفر، منیزیم، مس و روی بوده که در تامین نیازهای مواد معدنی دارای اهمیت می‌باشد. پرورش طیور در کشور به صورت قفسی و بستری رایج می‌باشد. در روش بستری، کودی که در پایان دوره پرورش در سالن‌های جوجه‌های گوشتی به جا می‌ماند شامل مواد بستر (پوسته شلتوک، پوسته بادام زمینی، تراشه چوب، علوفه، باگاس، خاک اره، گاه و کاغذ)، فضولات پرنده، ریخت و پاش خوراک و تا حدودی نیز پر می‌باشد که در صورت انجام فراوری مناسب می‌تواند در تغذیه نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار بگیرد.

با توجه به رشد سریع واحدهای مرغداری به صورت متمرکز در کشور سالانه حجم نسبتاً انبوهی از کود مرگی تولید می‌شود که حمل و نقل آن به صورت خام سبب انتشار عوامل بیماری‌زا شده و صنعت دام و طیور کشور را با مشکل مواجه می‌سازد که هزینه‌های سنگین بهداشتی و اقتصادی را در بر خواهد داشت (استاین فیلد^۲ و همکاران، ۲۰۰۶). سالانه بیش از ۹۰۰ میلیون قطعه جوجه گوشتی در کشور پرورش داده می‌شود (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۹). اگر از هر قطعه جوجه گوشتی در طول دوره پرورش حدود ۱/۵ کیلوگرم کود خشک (شامل فضولات، مواد بستر، ریخت و پاش خوراک و پر) به دست آید، مجموع تولید کود خشک جوجه گوشتی در کشور، سالانه بیش از ۱/۴ میلیون تن تخمین زده می‌شود. Steinfeld

با توجه به مشکلات ناشی از حمل و انتقال کود مرگی به صورت خام، عمل‌آوری مناسب کود مرگی می‌تواند در پیش‌گیری از مشکلات مزبور موثر باشد. بنا بر این با بهبود و دستیابی به روش مناسب مدیریت استفاده از این

¹ Elemam

² Steinfeld

فراورده فرعی، می توان آلودگی های زیست محیطی را کاهش داده و به این طریق فرصت مناسبی را برای هر دو بخش صنعت طیور و دامپروری فراهم نمود (رانکینز^۳ و همکاران، ۲۰۰۲). مزایای کود مرغی به عنوان خوراک دام بیشتر به دلیل محتوای پروتئین خام و مواد معدنی آن است (جوردن^۴، ۲۰۰۴). با این حال استفاده از این فراورده فرعی در تغذیه دام دارای محدودیت هایی نیز می باشد.

از جمله محدودیت های مصرف سطوح بالای کود مرغی در جیره غذایی نشخوارکنندگان، محتوای انرژی کم به دلیل میزان خاکستر زیاد آن است. از آنجا که کود مرغی حاوی منابع نیتروژن دار غیر پروتئینی مانند اسید اوریک است، استفاده از آن منوط به وجود همزمان منابع انرژی (با سرعت و میزان مناسب تخمیر در محیط شکمبه) می باشد.

طی سالیان گذشته پژوهش های قابل توجهی در زمینه کاربرد این ماده در تغذیه نشخوارکنندگان در جهان (کیچینگ^۵، ۱۹۸۶؛ پیوک^۶ و همکاران، ۱۹۹۴؛ المارسی و زرکاوی^۷، ۱۹۹۹؛ ماومبلا^۸، ۲۰۰۰؛ دانیال و اولسن^۹، ۲۰۰۵) و پژوهش هایی نیز در ایران (شریفی، ۱۳۷۰؛ صالح طریق، ۱۳۸۸؛ فضائلی و همکاران، ۱۳۸۹، ۱۳۹۰، ۱۳۹۱) انجام گرفته است و توصیه هایی نیز در جهت نحوه استفاده از آن در تغذیه دام انتشار یافته است. در پژوهش های قبلی (فضائلی و همکاران، ۱۳۹۰؛ ۱۳۹۱) روش های عمل آوری کود مرغی مورد بررسی قرار گرفت و اثر کاربرد سطوح مختلف کود مرغی در خوراک پایه (مخلوط کاه و یونجه) بر مصرف اختیاری خوراک و گوارش پذیری در گوسفند مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده، تعیین منبع انرژی به همراه کود مرغی در جیره غذایی ضروری تشخیص داده شد و پیشنهاد گردید که در این زمینه پژوهش هایی انجام شود.

بنا براین، پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر منبع انرژی به همراه کود مرغی در جیره غذایی بر قابلیت هضم و بیوستز پروتئین در شکمبه جهت دستیابی به منبع مناسب انرژی در زمان مصرف کود مرغی طراحی و اجرا شد.

³ Rankins

⁴ Jordan

⁵ Kitching

⁶ Pugh

⁷ Al-Marsi and Zarkawi

⁸ Mawimbela

⁹ Daniel and Olson

فصل دوم

مروری بر منابع :

۱-۲- ارزش تغذیه‌ای کود مرغی و عوامل موثر بر آن

در زمینه ارزش تغذیه‌ای کود مرغی در تغذیه نشخوارکنندگان تحقیقاتی انجام شده است (شریفی، ۱۳۷۰؛ ماومبیل، ۲۰۰۰؛ دانیال و اولسن، ۲۰۰۵). کود مرغی عموماً در زمره خوراک‌های پروتئینی حجیم طبقه‌بندی می‌شود (کیچینگ، ۱۹۸۶). طبیعت قلیایی و نیز تعادل کاتیون-آنیون مثبت (پیوک و همکاران، ۱۹۹۴) منجر به افزایش ظرفیت بافرینگ این فرآورده فرعی می‌گردد. در هر صورت، ارزش غذایی کود مرغی قبل از استفاده از آن در جیره غذایی بایستی تعیین شده و از نظر کیفیت و بهداشتی بودن آن نیز اطمینان حاصل شود. پایین بودن محتوای خاکستر خام در حد قابل قبول و عاری بودن از هر گونه جسم خارجی نیز از جمله موارد قابل توجه در مصرف کود مرغی به عنوان مکمل خوراک دام به شمار می‌روند. دامنه تغییرات ترکیب شیمیایی کود جوجه گوستی در جدول ۱-۲ ارائه شده است.

از مهم ترین عوامل موثر بر ارزش غذایی کود مرغی می‌توان به نوع جیره غذایی مصرف شده در تغذیه طیور (فرگوسن^{۱۰} و همکاران، ۱۹۹۸)، میزان آلودگی فضولات و بستر پرورش به گرد و خاک و مواد خارجی، نوع پرنده تراکم طیور پرورش یافته و مدیریت گله (رفین و مکاسکی^{۱۱}، ۱۹۹۳)، طول دوره و مدت زمان پرورش (گویتچ^{۱۲} و همکاران، ۱۹۹۸)، نوع مواد استفاده شده به عنوان بستر (تراشه چوب، پوسته بادام زمینی، کاه، علوفه یا کاغذ) و روش فرآوری کود مورد نظر قبل از مصرف در تغذیه دام (المارسی و زرکاوی، ۱۹۹۹) اشاره نمود. از طرفی سن طیور در زمان برداشت کود و محتوای رطوبت آن نیز از عوامل تعیین کننده موثر بر ترکیب شیمیایی کود مرغی است.

۲-۲- عمل آوری کود مرغی

مصرف بستر طیور در تغذیه دام ممکن است با خطرات احتمالی ناشی از باکتری‌هایی مانند سالمونلا و باقی مانده مواد دارویی مورد استفاده در طول دوره پرورش (مانند آنتی بیوتیک و کوکسیديواستات، کبالت) همراه باشد. از این رو قبل از مصرف می‌بایستی عمل آوری و سالم سازی شود. بنابراین عمل آوری کود مرغی به

10 Ferguson

11 Raffin and McCaskey

12 Goetsch

منظور حذف عوامل بیماری زا، بهبود خصوصیات فیزیکی حمل و نقل و حفظ یا افزایش خوش خوراکی آن امری ضروری به نظر می آید (فونتینوت^{۱۳}، ۲۰۰۰).

از معمول ترین روش های عمل آوری، می توان به روش حرارتی اشاره نمود که طی آن مواد تحت فرآیند حرارت غیر مستقیم، با دمای مشخص و زمان مشخص فراوری شده به نحوی که ضمن حفظ ارزش غذایی، عوامل نامطلوب آن نیز از بین برود.

در مورد پروتئین و تغذیه آن در نشخوارکنندگان، تیمار حرارتی تحت شرایط بهینه سبب افزایش پروتئین عبوری از شکمبه می شود بدون اینکه اثر منفی بر روی قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش بگذارد. چندین روش برای عمل آوری حرارتی مواد خوراکی وجود دارد که این روش ها بر اساس ویژگی هایی همچون حضور یا عدم حضور رطوبت قابل تشخیص هستند.

فرآوری حرارتی مواد خوراکی، محلولیت و سرعت تجزیه پروتئین را در شکمبه کاهش می دهد. درجه حرارت و مدت زمان بیشتر، میزان نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی را از طریق تشکیل واکنش میلارد بین قندها و اسیدهای آمینه افزایش می دهد. اگرچه حرارت ملایم ممکن است سبب افزایش جریان پروتئین به روده شود اما حرارت دادن بیش از اندازه سبب کاهش کیفیت بعضی از اسیدهای آمینه و کاهش قابلیت هضم این مواد مغذی در روده کوچک می شود. در آزمایشی کاسویل^{۱۴} و همکاران (۱۹۷۵) کود بستر جوجه های گوشتی را در مدت زمان های ۱۰، ۱۵ و ۳۰ دقیقه اتوکلاو نموده و نشان دادند که اتوکلاو نمودن اثری بر میزان کل نیتروژن پروتئینی نداشت اما زمان های ۱۵ یا ۳۰ دقیقه، نیتروژن غیر پروتئینی، نیتروژن اسید اوریک و نیتروژن آمونیاکی را کاهش داد.

۲-۳- استفاده از کود مرغی در تغذیه دام

آزمایش های متفاوتی در زمینه کاربرد کود مرغی در تغذیه دام صورت گرفته است. کاسویل و همکاران، (۱۹۷۵) قابلیت هضم پروتئین خام کود بستر جوجه گوشتی را در تغذیه گوسفند ۶۴/۸ تا ۶۷/۱ درصد گزارش نمود. هم چنین پژوهشگران مزبور (۱۹۷۷)، در آزمایش دیگری با تامین نمودن ۵۰ درصد نیتروژن جیره با کود بستر جوجه های گوشتی حاوی پوسته بادام زمینی، در تغذیه گوسفند، ضرایب هضم پروتئین خام را برای سطوح صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد کود، به ترتیب ۷۱/۳، ۷۰/۴، ۶۸/۳ و ۵۷/۷ درصد گزارش نمودند.

هارمون^{۱۵} و همکاران (۱۹۷۴) روش های مختلف عمل آوری کود بستر جوجه گوشتی بر قابلیت هضم و مصرف نیتروژن در تغذیه بره ها را بررسی نمودند. تمام جیره ها حاوی علوفه خشک، چوب بلال و دانه ذرت و چهار منبع از ته به شکل ذیل بود:

13 Fontenot
14 Caswell
15 Harmon

۱- کود بستر اتو کلاو شده ۲- کود بستر حرارت خشک دیده ۳- اسید سولفوریک + کود بستر حرارت خشک دیده ۴- شاهد (کنجاله سویا). نیتروژن هر ۴ جیره به یک میزان و ۵۰ درصد کل نیتروژن جیره با استفاده از کود تامین شد. ضرایب هضم ظاهری پروتئین خام برای جیره‌های ۱ تا ۴ به ترتیب ۵۹/۹، ۵۸/۶، ۵۶/۳، ۶۳/۳ درصد بود، ضرایب هضم ظاهری ماده خشک برای همین جیره‌ها به ترتیب ۶۶/۸، ۶۸/۸، ۶۵/۱، ۷۲/۹ درصد گزارش شد.

اسمیت^{۱۶} و کاورت (۱۹۷۶) نیز با مقایسه فضولات خشک جوجه گوشتی و کنجاله سویا به عنوان مکمل نیتروژنه در تغذیه گوسفند قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و نیتروژن فضولات را به ترتیب ۶۵/۴ و ۶۵/۲ و ۶۶/۴ و برای کنجاله سویا به ترتیب ۶۵/۴، ۵۳/۷، ۵۷/۹ درصد گزارش نمودند و دریافتند که اختلاف معنی‌داری میان این دو تیمار وجود نداشت.

خلیل^{۱۷} و همکاران (۱۹۹۵) اثر مصرف کود بستر خشک جوجه‌های گوشتی را بر قابلیت هضم جیره، افزایش وزن زنده و ضرایب تبدیل غذایی گوساله‌های فریزین بررسی نمودند. به این منظور کود بستر در سطوح صفر، ۲۵ و ۵۰ درصد جایگزین کنسانتره گردید. هضم پذیری ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام، الیاف خام و کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی (ان.اف.ای.) به ترتیب برای جیره شاهد ۷۵/۰۱، ۷۸، ۸۶/۹، ۸۱/۲۹، ۷۳/۹، ۸۴/۴ درصد؛ برای جیره ۲۵ درصد کود ۸۳/۶، ۸۶، ۸۷/۴۴، ۸۱/۵ و ۸۶/۶ و برای جیره ۵۰ درصد کود ۶۸/۳، ۷۷/۷، ۷۴/۹۴، ۶۹/۸، ۸۳/۵ درصد بود. متوسط ماده خشک مصرفی روزانه به ترتیب ۷/۸۵، ۸/۱۱، ۸/۱۸، کیلوگرم، ضریب تبدیل غذایی نیز ۹/۶۴، ۸/۹۱، ۸/۵۱ بود. افزایش وزن روزانه در طول دوره آزمایشی بین جیره‌ها معنی‌دار نبود.

آریلی^{۱۸} و همکاران (۱۹۹۱) مدت زمان عادت‌پذیری به مصرف کود مرغی را در تلیسه‌های فریزین با جیره‌های حاوی سطوح صفر، ۱۷/۵ و ۳۵ درصد کود بستر طیور (به صورت سیلو شده) برای مدت ۷ هفته مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که قابلیت هضم ماده خشک در هفته اول کاهش و سپس به تدریج افزایش یافت تا با جیره شاهد یکسان شد.

یاشیم^{۱۹} و همکاران (۲۰۰۸) اثر مصرف علوفه سورگوم به همراه کود جوجه گوشتی را روی مصرف خوراک، قابلیت هضم ماده خشک و تغییرات وزن زنده گاوهای گوشتی در حال رشد بررسی نمودند. برای این منظور از ۵۰ راس گاو گوشتی ۱۸ تا ۲۴ ماهه با وزن ۱۱۵ کیلوگرم استفاده شد. نتایج نشان داد که با مصرف کود طیور مصرف ماده خشک، قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و پروتئین افزایش یافت. دام‌هایی که فقط علوفه سورگوم مصرف کرده‌اند کاهش وزن داشتند، در حالی که افزودن کود مرغی سبب افزایش وزن دام‌ها گردید.

16 Smith
17 Khalil
18 Arieli
19 Yashim

اوبیدات^{۲۰} و همکاران (۲۰۱۱) اثر کود جوجه گوشتی را در جیره بره‌های آواسی بررسی نمودند. برای این منظور سه جیره آزمایشی حاوی صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد کود جوجه گوشتی مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد که مصرف مواد مغذی (ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، NDF و ADF) در بین تیمارها مشابه بود. قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، NDF و ADF جیره حاوی ۲۰ درصد کود مرغی از دیگر جیره‌ها کمتر بود اما تغذیه کود جوجه گوشتی روی افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی تأثیری نداشت.

تالیب^{۲۱} و همکاران (۲۰۰۸) اثر سطوح مختلف کود طیور (صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد کنسانتره جیره) تلنبار شده را در تغذیه گوساله‌های بومی (زیبو) بررسی کردند. افزایش وزن روزانه با جایگزینی کود طیور تا ۴۰ درصد کل جیره، تحت تأثیر قرار نگرفت ولی در سطح ۶۰ درصد کاهش یافت. ماده خشک مصرفی و خوش خوراکی با تغذیه کود طیور فرآوری شده تحت تأثیر قرار نگرفت.

کروس^{۲۲} و همکاران (۱۹۷۸) نسبت‌های مختلف کود مرغی را به همراه علوفه ذرت سیلو نموده و محصول به دست آمده را با ۳۰ درصد کنسانتره در تغذیه گوساله‌های گوشتی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که افزایش وزن روزانه گوساله‌های دریافت کننده سیلاژ حاوی ۳۰ درصد کود جوجه گوشتی بیشترین مقدار بود. تغذیه سیلاژ حاوی کود جوجه گوشتی اثرات مضر روی خصوصیات لاشه نداشت و قیمت جیره غذایی برای افزایش یک کیلوگرم وزن زنده تقریباً ۲۳ درصد کاهش یافت.

ایلمام و همکاران (۲۰۰۹) جیره‌های حاوی صفر، ۵، ۳۰ و ۴۵ درصد کود جوجه گوشتی را در تغذیه ۳۰ راس بره با وزن اولیه ۳۲ کیلوگرم مورد آزمایش قرار داده و دریافتند که مصرف مواد مغذی (ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، NDF، ADF) و قابلیت هضم جیره‌های غذایی تا سطح ۳۰ درصد کود مرغی مشابه بود اما در سطح ۴۵ درصد کاهش یافت. افزایش وزن روزانه و بازده غذایی نیز با مصرف جیره حاوی ۴۵ درصد کود مرغی کاهش معنی داری نشان داد.

خان^{۲۳} و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای اثر تغذیه کود جوجه گوشتی و کود مرغ تخمگذار را بر مصرف خوراک و افزایش وزن بدن گوساله‌های در حال رشد و قیمت خوراک بررسی نمودند. همه حیوانات با کاه برنج و علوفه سبز به صورت آزاد و ۲۵ درصد کنسانتره تغذیه شدند. کنسانتره‌ها به ترتیب شامل صفر، ۲۰ و ۴۰ درصد بستر جوجه گوشتی و یا صفر، ۲۰ و ۴۰ درصد کود مرغ تخمگذار بود. نتایج حاکی از عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها بود.

در مطالعه تامیر^{۲۴} و همکاران (۲۰۰۸) جیره‌های حاوی نسبت‌های صفر، ۱۴، ۲۸ و ۴۵ درصد کود طیور را در تغذیه بزهای نر مورد بررسی قرار دادند. میزان مصرف روزانه خوراک (برحسب ماده خشک) با جایگزین

20 Obeidata

21 Talib

22 Cross

23 Khan

24 Tamir

کردن کود جوجه گوشتی تا ۲۸ درصد جیره به طور معنی داری افزایش یافت ولی سطح ۴۵ درصد کود نتیجه عکس داشت. افزایش وزن بدن نیز در جیره حاوی ۴۵ درصد کود، کاهش یافت.

۲-۳-۱- ماهیت نیتروژنی کود مرغی

اسید اوریک و پروتئین‌های هضم نشده دو بخش مهم از اجزای فضولات طیور می‌باشند. به دلیل فقدان آنزیم آرژیناز کبدی در پرندگان (یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های چرخه اوره در حیوانات)، چرخه اوره در بدن آن‌ها وجود ندارد. بنابراین اوره در پرندگان یا سنتز نشده و یا به مقدار اندکی تولید می‌شود (آندروود^{۲۵}، ۱۹۷۱). نیتروژنی که از تجزیه بازهای آدنین و گوانین ایجاد می‌شود، به شکل اسید اوریک [پرندگان به دلیل نداشتن آنزیم یوریکاز (Uricase) قادر به تجزیه اسید اوریک نیستند] بوده و بخش عمده نیتروژن دفعی طیور را شامل می‌شود (رایت^{۲۶}، ۱۹۹۵).

سهم اسید اوریک و نیتروژن هضم نشده در مدفوع به مقدار زیادی تحت تاثیر جیره حیوان قرار دارد. عواملی چون جیره‌های با قابلیت هضم پایین، حضور عوامل ضد تغذیه‌ای نظیر منابع فیبری متفاوت، مهار کننده‌های تریپسین، کیموتریپسین، لسیتین، ترکیبات فنولیک، تانن‌ها، ضریب تبدیل گونه‌های مختلف، سن حیوان، مواد بستر و آب مصرفی نیز روی محتوای نیتروژن مدفوع طیور تاثیر دارند (ناهم^{۲۷}، ۲۰۰۳). طی مطالعاتی مشخص شد که میکروارگانسم‌های شکمبه نشخوارکنندگان توانایی استفاده از منابع نیتروژن غیر پروتئینی مانند اسید اوریک با بازدهی مناسب را دارند (چرچ^{۲۸}، ۱۹۷۹). مطالعات زیادی برتری پروتئین طبیعی بر اوره را در جیره‌های با مواد خشکی بالا بر سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه نشان داده است. ظاهراً به این علت است که هیدرولیز اوره به آمونیاک در مقایسه با پروتئین طبیعی سریع‌تر از تبدیل ترکیبات لیگنوسلولزی به کتواسیدهای ضروری که برای تولید پروتئین میکروبی مورد نیاز هستند، می‌باشند که نتیجه آن دفع مقدار زیادی اوره از طریق ادرار است (سوینگل^{۲۹} و همکاران، ۱۹۷۷). زین^{۳۰} و همکاران (۱۹۹۶) برآورد کردند که حدود ۹۶ درصد اسید اوریک در شکمبه تجزیه می‌شود. در مقایسه با سایر منابع نیتروژن غیر پروتئینی، تعداد میکروب‌های کمتری قادرند اسید اوریک را به عنوان سوبسترا مورد تجزیه قرار دهند (جخمولا^{۳۱} و همکاران، ۱۹۸۸). این امر سبب می‌شود تا اسید اوریک موجود در کود مرغی با سرعت آهسته‌تری نسبت به اوره تجزیه شود و آمونیاک به آهستگی آزاد شده که می‌تواند با روند مناسبی در اختیار میکروب‌ها قرار گیرد. بازتاب این امر بالا رفتن بهره‌وری آمونیاک بوده که سبب کاهش میزان ورود آمونیاک به خون و کاهش مسمومیت احتمالی با آمونیاک می‌شود (چرچ و همکاران، ۱۹۷۹).

²⁵ Underwood

²⁶ Wright

²⁷ Nahm

²⁸ Church

²⁹ Swingle

³⁰ Zinn

³¹ Jakhmola

۲-۳-۲- تاثیر کود مرغی بر pH شکمبه

مقدار pH شکمبه تحت تاثیر زمان خوراک دادن (هیندریشن و همکاران^{۳۲}، ۲۰۰۲) و غلظت اسیدهای چرب تولیدی در مایع شکمبه قرار می گیرد (سیندر و همکاران^{۳۳}، ۲۰۰۶) فرار). همچنین، تفاوت در مقدار فیبر و بخش های پروتئین جیره های غذایی، جمعیت میکروبی و به دنبال آن تولیدات تخمیری شکمبه را تغییر داده که منجر به تغییرات pH و غلظت آمونیاک شکمبه می شود (میرچن^{۳۴}، ۱۹۸۸).

تغییرات pH شکمبه با به کارگیری کود مرغی در جیره نتایج متناقضی به دنبال داشته است. به عنوان مثال، در آزمایشی با جایگزین کردن ۲۰ درصد کود مرغی با بخش کنسانتره در جیره گوساله، مقدار pH شکمبه افزایش نشان داده است (کیولینسن^{۳۵} و همکاران، ۱۹۷۶). هم چنین، مصرف کود مرغی به میزان ۳۵ درصد در جیره غذایی در مقایسه با جیره شاهد در تغذیه گوساله های نژاد آنگوس، افزایش معنی دار مقدار pH شکمبه را در پی داشته است (کپوسیل^{۳۶} و همکاران، ۲۰۰۴). در گزارش دیگری (آیبی^{۳۷} و همکاران، ۲۰۰۴) مقدار pH بیشتر شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره های حاوی کود مرغی افزایش داشته است. بر خلاف گزارشات بالا، بر اساس پژوهش مویا^{۳۸} و همکاران (۲۰۰۱) با مکمل کردن علوفه گراس با مقادیر ۰/۹۱، ۳/۶۵ و ۶/۳۵ کیلوگرم کود مرغی به صورت روزانه، مقدار pH مایع شکمبه در گوساله های هلشتاین روند کاهشی نشان داد. در آزمایش مشابه دیگری که توسط نیگیسی^{۳۹} و همکاران (۲۰۰۷) بر روی گوزن اسپانیایی انجام شد، با افزایش سطح کود مرغی در جیره غذایی، مقدار pH روند کاهشی نشان داد. کاهش مقدار pH شکمبه با استفاده از کود مرغی در جیره بره پرواری (ایلما و همکاران، ۲۰۰۹) نیز گزارش شده است. به طور کلی، جایگزینی کود مرغی با علوفه در بیشتر آزمایش های انجام شده، کاهش مقدار pH شکمبه را به دنبال داشته است که احتمالاً می تواند به دلیل افزایش خوراک مصرفی (کلارک^{۴۰} و همکاران، ۱۹۹۲) و کاهش نسبت NDF موثر و در نتیجه کاهش ترشح بزاق (فینگ^{۴۱} و همکاران، ۱۹۹۳) بوده باشد.

۲-۳-۳- تاثیر کود مرغی بر تولید آمونیاک در شکمبه

از تجزیه پروتئین ها در شکمبه، آمونیاک و اسیدهای آمینه تولید می شوند که منبع نیتروژن برای رشد میکروبی هستند. بیش از ۵۰ درصد نیتروژن کود مرغی از نوع اسید اوریک بوده (بهاتا چاریا و تایلر^{۴۲}، ۱۹۶۵) که توسط

³² Hindrichsen

³³ Synder

³⁴ Merchen

³⁵ Cullison

³⁶ Capucille

³⁷ Abebe

³⁸ Muia

³⁹ Negesse

⁴⁰ Clark

⁴¹ Feng

⁴² Bhattacharya and Taylor

میکروارگانسیم‌های شکمبه به آهستگی در مقایسه با اوره به آمونیاک تبدیل می‌شود (اولتجین^{۴۳} و همکاران، ۱۹۶۸). به منظور بهینه کردن خوراک مصرفی و قابلیت هضم، غلظت آمونیاک مایع شکمبه می‌بایستی در دامنه ۱۰ تا ۳۰ میلی‌گرم در هر دسی‌لیتر مایع شکمبه باشد (مکدونالد^{۴۴} و همکاران، ۲۰۰۲) هر چند که دامنه ۵ تا ۲۴ میلی‌گرم نیز ذکر شده است (بووچیر^{۴۵} و همکاران، ۲۰۰۷). تغذیه کود مرغی در جیره نشخوارکنندگان به دلیل محتوای نیتروژن غیر پروتئینی زیاد (بیشتر از نوع اسید اوریک)، سبب افزایش غلظت آمونیاک در مایع شکمبه می‌شود. با مکمل کردن علوفه گراس با سطوح مختلف کود مرغی، غلظت آمونیاک مایع شکمبه با افزایش سطح کود مرغی در جیره (به دلیل افزایش مصرف پروتئین خام نسبت به ماده آلی) افزایش نشان داده است (موییا و همکاران، ۲۰۰۱). در یک مقایسه بین کنجاله آفتابگردان و کود مرغی به عنوان بخشی از کنسانتره گوساله‌های هلشتاین، غلظت آمونیاک مایع شکمبه در جیره حاوی کود، به دلیل سرعت تجزیه‌پذیری بیشتر نیتروژن در شکمبه، بیشتر از جیره حاوی کنجاله آفتابگردان بود (موییا و همکاران، ۲۰۰۱). غلظت آمونیاک مایع شکمبه با جایگزینی کود مرغی با بخش کنسانتره جیره شاهد در گوساله‌های آنگوس (کپوسیلی و همکاران، ۲۰۰۴) و هلشتاین (بیونتینگ^{۴۶} و همکاران، ۲۰۰۲)، به طور معنی‌داری بیشتر شده است که علت آن وجود مقادیر زیاد نیتروژن محلول و انرژی قابل تخمیر پایین در جیره حاوی کود بوده است (پاتیل^{۴۷} و همکاران، ۱۹۹۵). نتایجی مشابه برای سایر منابع نیتروژن غیر پروتئینی نیز گزارش شده است (ون هوتیرت^{۴۸}، ۱۹۹۳).

۳-۳-۴- تاثیر کود مرغی بر اسیدهای چرب فرار شکمبه

غلظت‌های کل اسیدهای چرب فرار شدیداً تحت تاثیر نوع جیره حیوان و زمان طی شده پس از آخرین وعده غذا بوده ولی در حالت طبیعی محدوده آن بین ۷۰ تا ۱۵۰ میلی‌مول در لیتر مایع شکمبه است (مکدونالد و همکاران، ۲۰۰۲). غلظت کل اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه گوساله‌های هلشتاین در جیره‌ای که کود مرغی به میزان ۵۵ درصد جایگزین بخشی از جیره شاهد (کنجاله سویا، دانه ذرت و علوفه پنبه دانه) شد، روند کاهشی نشان داد (بیونتینگ و همکاران، ۲۰۰۲). علت آن را می‌توان به وجود مقادیر بیشتر کربوهیدرات‌های قابل تخمیر در جیره شاهد نسبت به جیره حاوی کود مربوط دانست. در آزمایش مذکور غلظت اسید استیک و اسید پروپیونیک در جیره حاوی کود نسبت به جیره شاهد به ترتیب بیشتر و کمتر شد که به علت مقدار فیبر بیشتر در جیره حاوی کود می‌باشد. همچنین، با جایگزین کردن ۳۵ درصد کود مرغی با بخش کنسانتره (کنجاله سویا و پنبه دانه) در جیره گوساله‌های آنگوس، غلظت کل اسیدهای چرب فرار به طور معنی‌داری کاهش یافت ولی غلظت اسید استیک و اسید پروپیونیک تحت تاثیر قرار نگرفت (کپوسیلی و همکاران، ۲۰۰۴).

⁴³ Oltjen

⁴⁴ McDonald

⁴⁵ Boucher

⁴⁶ Bunting

⁴⁷ Patil

⁴⁸ Van Houtert

۲-۳-۵- تاثیر کود مرغی بر سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه

فرایند میکروبی در شکمبه در واقع توانایی تبدیل خوراک‌های خشبی، حتی نیتروژن غیر پروتئینی به مواد مغذی ارزشمند برای نشخوارکنندگان می‌باشد. بیش از نیمی از اسیدهای آمینه جذب شده توسط حیوان نشخوارکننده و اغلب دو سوم تا سه چهارم آن از پروتئین میکروبی مشتق می‌گردد (AFRC, 1992). عوامل مختلفی در موثر بودن ترکیبات نیتروژن غیر پروتئینی جهت سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه نقش دارند که عبارتند از: ماده خشک مصرفی، انرژی قابل تخمیر جیره و نوع کربوهیدرات‌ها (نسبت کربوهیدرات‌های ساختمانی به غیر ساختمانی)، غلظت نیتروژن جیره و نسبت نیتروژن قابل تجزیه به نیتروژن غیر قابل تجزیه در شکمبه، هم زمانی بین آزاد سازی انرژی و نیتروژن جیره، میزان گوگرد، فسفر و سایر مواد معدنی مورد نیاز میکروبی‌ها و عادت‌پذیری میکروبی‌های شکمبه به استفاده از ترکیبات نیتروژن غیر پروتئینی (ارسکف^{۴۹}، ۱۹۹۲ و ونسوست^{۵۰}، ۱۹۹۴).

همانگی در آزاد سازی نیتروژن آمونیاکی و انرژی قابل استفاده در شکمبه بازدهی استفاده از نیتروژن را بهبود می‌بخشد (سلتر^{۵۱} و همکاران، ۱۹۷۹). هم زمانی سرعت تخمیر مواد مغذی انرژی‌زا (مانند نشاسته قابل تخمیر) و منابع پروتئینی قابل تجزیه در شکمبه سبب بهبود تولید پروتئین میکروبی و میزان ورودی آن به دودنوم می‌شود (سیئو^{۵۲} و همکاران، ۲۰۱۰). در بین میکروارگانیسم‌های مختلفی که در شکمبه حضور دارند، تعداد کمی از آنها قادرند اسید اوریک را تجزیه کنند (جخمولا و همکاران، ۱۹۸۸). نیتروژن (اسید اوریک) موجود در کود طیور در مقایسه با پروتئین طبیعی خوراک سریع‌تر و نسبت به اوره به طور آهسته‌تری در شکمبه به آمونیاک تبدیل می‌شود. این خود باعث کاهش مسمومیت با آمونیاک و بهبود راندمان به کارگیری از آمونیاک در مقایسه با اوره شده که نهایتاً موجب سنتز پروتئین میکروبی بیشتری می‌شود (مکدونالد و همکاران، ۲۰۰۲).

اولین فاکتور محدود کننده رشد میکروبی در شکمبه تامین انرژی است (سلتر و همکاران، ۱۹۷۹). از طرفی، کود مرغی از نظر انرژی کمبود دارد (ونرازین^{۵۳}، ۲۰۰۰). بنابر این، در زمان تغذیه سطوح بالای کود طیور در جیره، معمولاً ملاس به عنوان یک منبع انرژی به آسانی قابل دسترس به آن اضافه می‌شود تا باکتری‌های شکمبه بتوانند از غلظت زیاد نیتروژن کود حداکثر بازدهی را برای تولید پروتئین میکروبی داشته باشند (مویمیلا و همکاران، ۱۹۹۷).

۲-۳-۶- تاثیر کود مرغی بر متابولیت‌های خون

بررسی تاثیر کود مرغی بر فراسنجه‌های خونی نشخوارکنندگان مخصوصاً نیتروژن اوره‌ای و اسید اوریک خون به خاطر احتمال مسمومیت با آمونیاک اهمیت ویژه‌ای دارد. بنابراین مکمل کردن کود مرغی با منابع سهل الهضم انرژی در جیره ضروری به نظر می‌رسد. انتظار می‌رود سطح نیتروژن اوره‌ای خون با بکارگیری کود مرغی در

⁴⁹ Orskov

⁵⁰ Van Soest

⁵¹ Salter

⁵² Seo

⁵³ Van Ryssen

جیره افزایش یابد. نیتروژن اوره‌ای خون در بزهای تغذیه شده با کود مرغی، افزایش معنی‌داری را در مقایسه با جیره شاهد نشان داده است (میکاشا^{۵۴} و همکاران، ۲۰۰۴). در آزمایش دیگری (نیگیسی و همکاران، ۲۰۰۷) روی گوزن‌های اسپانیایی، با افزایش جایگزینی کود مرغی تا ۶۰ درصد کنسانتره، غلظت نیتروژن اوره‌ای پلاسما به طور معنی‌داری نسبت به جیره شاهد و جیره‌های با سطح کم‌تر کود مرغی، بیشتر شد. جایگزینی کود مرغی با منابع پروتئینی جیره در گوساله‌های هلستاین نیز باعث افزایش معنی‌دار نیتروژن اوره‌ای پلاسما و کاهش معنی‌داری در سطح گلوکز پلاسما شد (بیونتینگ و همکاران، ۲۰۰۲). علت کاهش غلظت گلوکز پلاسما، کاهش تولید کل اسیدهای چرب فرار و همچنین اسید پروپیونیک در جیره حاوی کود در آزمایش مذکور بوده است. در مطالعات دیگری، بکارگیری کود مرغی در جیره شتر، اثری بر کل پروتئین خون، آلبومین، گلوکز و کلسترول نداشته ولی غلظت نیتروژن اوره‌ای خون و اسید اوریک افزایش معنی‌داری نشان داده است (ناصر و فتحی، ۲۰۱۰) که احتمالاً به خاطر محتوای نیتروژن غیر پروتئینی بالای کود مرغی بوده است. در مقایسه نیتروژن کود مرغی با اوره نیز نشان داده شد (ریودی^{۵۵} و همکاران، ۱۹۹۴) که نیتروژن اوره‌ای خون در گوسفندان تغذیه شده با کود مرغی با روش‌های مختلف فرآوری، به طور معنی‌داری کمتر بود ولی فاکتورهای پروتئینی خون مانند کل پروتئین خون و آلبومین تحت تاثیر قرار نگرفت.

⁵⁴ Mekasha

⁵⁵ Rude

فصل سوم

مواد و روش ها :

۳-۱- تهیه و عمل آوری کود مرغی

عمل آوری کود مرغی با هدف سالم سازی آن (از نظر میکروارگانیسم های شاخص) در کارگاه (پایلوت) احداث شده در حومه شهرستان سبزوار انجام شد. توضیح این که کارگاه مزبور در پی موفقیت هایی که طی پژوهش های قبل در خصوص عمل آوری کود مرغی در مقیاس آزمایشگاهی به دست آمد، احداث گردید.

در این مرحله، ابتدا کود مرغی به اندازه مورد نیاز، از یک سالن جوجه گوشتی تهیه شده و تحت فرآیند حرارتی، عمل آوری شد. عمل آوری، به صورت حرارت غیر مستقیم و با استفاده از فشار بخار آب در مخزن دو جداره انجام شد. حرارت در قسمت داخلی مخزن یعنی محلی که کود تحت فرآیند قرار می گرفت بین ۷۵ تا ۸۵ درجه سانتیگراد تنظیم شد. مراحل کار به این صورت بود که کود تهیه شده مورد بازرسی ظاهری قرار گرفت و اجسام خارجی احتمالی موجود در آن (سنگ، تکه های چوب، شیشه و ...) جدا سازی شد و سپس، به منظور جلوگیری از بلند شدن گرد و خاک در حین عبور از مجرای حلزونی به دستگاه پخت و نیز تولید بخار و نفوذ آن در توده کود، طی عمل پخت) به آن رطوبت اضافه شد (با هدف تامین رطوبت حدود ۲۳ درصد) و سپس از طریق مسیر انتقال دهنده حلزونی شکل به مخزن ذخیره موقت در نزدیک مخزن پخت وارد شده و از آن جا نیز پس از بازبینی مجدد و جداسازی اجسام خارجی وارد مخزن می گردید. جریان ورود و خروج کود به داخل مخزن به صورت متوالی بود به نحوی که از زمان ورود تا خروج به مدت ۲۰ دقیقه به طول می انجامید که طی آن رطوبت داخل کود به حالت بخار تبدیل می شد. کود حرارت دیده از مخزن خارج و به صورت جریان مداوم بلافاصله وارد ماشین پرس شده و به حالت تکه های فشرده شده خارج می گردید. تکه های کود طی عبور از مسیر انتقال دهنده حلزونی که به آسیاب منتهی می شد، تا حد زیادی حرارت خود را از دست داده و سپس آسیاب می شد. کود آسیاب شده پس از خنک شدن بسته بندی و به محل آزمایش (ایستگاه تحقیقات موسسه تحقیقات علوم دامی کشور واقع در کرج) انتقال داده شد.

قبل از مصرف کود عمل آوری شده در جیره های غذایی آزمایشی، از آن نمونه برداری به عمل آمد و از نظر بهداشتی (کلی فرمها، سالمونلا و اشرشیا کلای) مورد بررسی قرار گرفت (روح بخش، ۱۳۶۹) و مشخص شد که عاری از عوامل مذکور است. هم چنین ترکیب مواد مغذی نمونه های کود عمل آوری شده در آزمایشگاه تعیین گردید و از اطلاعات به دست آمده جهت تنظیم جیره های آزمایشی استفاده شد.

۳-۲- حیوانات مورد استفاده

آزمایش بر روی ۱۵ راس گوسفند نر نژاد مغانی، با وزن متوسط $۶۳ \pm ۲/۳$ کیلوگرم و سن ۳/۵ سال که در شرایط نسبتاً یکنواخت در موسسه تحقیقات علوم دامی کشور نگهداری می شدند و از سلامت کامل برخوردار بودند انجام شد.

۳-۳- جیره‌های غذایی مورد آزمایش

نیاز غذایی روزانه گوسفندان بر اساس جداول احتیاجات غذایی مشاور تحقیقات ملی^{۵۶} (۱۹۸۵) برآورد گردید و جیره‌های آزمایشی مورد نظر تنظیم شد. سه جیره غذایی بر پایه کاه گندم و یونجه خشک (به نسبت ۲۶ : ۲۶ درصد)، و نسبت ثابت ۲۴ درصد کود مرغی در هر کدام، تنظیم شد که کسری جیره از رقم ۱۰۰ درصد (یعنی ۲۴ درصد)، در جیره اول با استفاده از بلغور ذرت، در جیره دوم با بلغور جو و در جیره سوم با ملاس چغندر تامین گردید. اقلام خوراکی مورد استفاده و ترکیبات آن‌ها در جدول ۳-۱ و نیز ترکیبات جیره‌های آزمایشی در جدول ۳-۲ ارائه شده است.

۳-۴- مدیریت و تغذیه دام‌ها

دام‌ها به صورت انفرادی در قفس‌های متابولیکی که از قبل در سالن آماده شده بود، قرار گرفتند. در هر مرحله قبل از شروع آزمایش به همه گوسفندان مورد مطالعه قرص‌های ضد انگل خورانده شد. برای نوردهی سالن آزمایش، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی اعمال شد. در هر مرحله از آزمایش، جیره‌های غذایی ۲ بار در روز (۸ صبح و ۴ عصر) به میزان مشخص و در سطح تامین احتیاجات در اختیار دام‌ها قرار گرفت. آب تازه و آجر مواد معدنی و ویتامینی نیز در اختیار دام‌ها قرار داده شد. برای سهولت کار، سهم ملاس جیره به کود مرغی اضافه شد و با روش دستی به خوبی مخلوط شد.

۳-۵- نمونه برداری از خوراک مصرفی، مدفوع و ادرار

در هر مرحله از خوراک مصرفی نمونه برداری صورت گرفت، طوری که از هر جیره پس از مخلوط کردن اجزاء مختلف آن، حدود یک کیلوگرم نمونه برداشت و برای تجزیه شیمیایی به آزمایشگاه انتقال داده شد. پس از عادت کردن دام‌ها به جیره‌های آزمایشی، هر روز صبح ساعت ۸ و ۳۰ دقیقه قبل از خوراک دادن، کل مدفوع روز گذشته هر دام به صورت جداگانه از سینی‌های مخصوصی که در زیر جایگاه آن‌ها تعبیه شده بود، به مدت ۷ روز جمع آوری و بعد از ثبت وزن آن، یک نمونه ۱۰۰ گرمی برداشته و در کیسه‌های پلاستیکی ریخته شد و در داخل فریزر در دمای ۲۰- سانتیگراد قرار داده شد (هریس^{۵۷}، ۱۹۷۰). بعد از اتمام دوره جمع آوری، کل نمونه‌های مدفوع هر گوسفند با هم مخلوط و یک نمونه ۱۰۰ گرمی نهایی برای تجزیه شیمیایی به آزمایشگاه منتقل شد.

همچنین، نمونه‌های ادرار نیز به مدت ۷ روز برای هر گوسفند به طور جداگانه در ظرف‌های حاوی ۱۰۰ میلی-لیتر اسید سولفوریک ۱۰٪ جمع آوری و ۱۰ درصد از حجم کلی ادرار برای هر گوسفند به آزمایشگاه منتقل شد.

جدول ۱-۳: ترکیب شیمیایی (بر حسب درصد) اقلام خوراکی مورد استفاده

مواد خوراکی	ماده خشک*	ماده آلی	پروتئین خام	فیبر نامحلول در شوینده خنثی	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی
یونجه	۹۲	۹۲/۹	۱۴	۵۹	۴۵
کاه گندم	۹۳	۹۳/۵	۳	۸۱	۵۸
دانه ذرت	۹۱	۹۸	۹	۱۰	۳/۵
دانه جو	۹۲	۹۷	۱۰	۲۱	۷/۲
ملاس چغندر قند	۷۸	۸۸/۸	۸	-	-
کود مرغی فرآوری شده	۹۳	۸۱/۶	۲۳/۸	۴۶	۱۴/۷

* به جز ماده خشک (بر حسب وزن تر) سایر مقادیر بر حسب درصد در ماده خشک می باشد.

جدول ۲-۳: اقلام، ترکیب شیمیایی (% و انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم خشک) جیره های آزمایشی

جیره های آزمایشی			اقلام مورد استفاده و درصد آن ها در جیره ها
۳ (ملاس)	۲ (جو)	۱ (ذرت)	
۲۶	۲۶	۲۶	یونجه
۲۶	۲۶	۲۶	کاه گندم
۲۴	۲۴	۲۴	کود مرغی فرآوری شده
-	-	۲۴	بلغور ذرت
-	۲۴	-	بلغور جو
۲۴	-	-	ملاس چغندر قند
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	کل
ترکیب شیمیایی (درصد) و انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) جیره ها			
۹۰/۱	۹۲/۸	۹۲/۶	ماده خشک
۱۲/۱	۱۲/۵	۱۲/۳	پروتئین خام
۴۲/۸	۴۷/۸	۴۵/۲	^۱ NDFom
۲۷/۳	۲۹/۱	۲۸/۲	^۲ ADFom
۱۰/۶	۸/۷	۸/۴	خاکستر خام
۰/۶۹	۰/۶۷	۰/۶۶	کلسیم
۰/۲۶	۰/۳۵	۰/۳۴	فسفر
۸/۷۰	۸/۹۱	۹/۰۴	انرژی قابل متابولیسم

۱- فیبر نامحلول در شوینده خنثی منهای خاکستر، ۲- فیبر نامحلول در شوینده اسیدی منهای خاکستر.

۳-۶- اندازه‌گیری قابلیت هضم به روش جمع آوری کل مدفوع

۳-۶-۱- مرحله سازگاری

در این مرحله دام‌ها به مدت دو هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. افزودن کود مرغی از سطوح کم در جیره‌ها آغاز شد و به تدریج میزان آن افزایش یافت، طوری که در پایان این مرحله مصرف کود مرغی به سطوح مورد نظر رسید. هدف از این مرحله عادت کردن میکروارگانیسم‌های شکمبه با کود مرغی فرآوری شده با حرارت بود. در این مرحله نیز خوراک در دو وعده صبح و عصر در اختیار دام‌ها قرار داده شد.

۳-۶-۲- مرحله پیش آزمایش

بعد از مرحله سازگاری، به مدت یک هفته جیره‌های غذایی اصلی در اختیار دام‌ها قرار داده شد. هدف از این مرحله اطمینان از خورده شدن مقدار خوراک تعیین شده و نیز حصول اطمینان از وجود خوراک مورد آزمایش در دستگاه گوارش دام بود.

۳-۶-۳- مرحله اصلی آزمایش

قبل از انجام این مرحله دام‌ها وزن کشی و به مدت یک هفته خوراک‌های مورد آزمایش در دو نوبت صبح و عصر در اختیارشان قرار داده شد. در پایان این مرحله دام‌ها دوباره توزین شدند.

۳-۶- نمونه‌برداری از خوراک مصرفی، مدفوع و ادرار

در هر مرحله از خوراک مصرفی نمونه‌برداری صورت گرفت، طوری که از هر جیره پس از مخلوط کردن اجزاء مختلف آن، حدود یک کیلوگرم نمونه برداشت و برای تجزیه شیمیایی به آزمایشگاه انتقال داده شد. پس از عادت کردن دام‌ها به جیره‌های آزمایشی، هر روز صبح ساعت ۸ و ۳۰ دقیقه قبل از خوراک دادن، کل مدفوع روز گذشته هر دام به صورت جداگانه از سینی‌های مخصوصی که در زیر جایگاه آن‌ها تعبیه شده بود، به مدت ۷ روز جمع‌آوری و بعد از ثبت وزن آن، یک نمونه ۱۰۰ گرمی برداشته و در کیسه‌های پلاستیکی ریخته شد و در داخل فریزر در دمای ۲۰- سانتیگراد قرار داده شد (هریس، ۱۹۷۰). بعد از اتمام دوره جمع‌آوری، کل نمونه‌های مدفوع هر گوسفند با هم مخلوط و یک نمونه ۱۰۰ گرمی نهایی برای تجزیه شیمیایی به آزمایشگاه منتقل شد.

همچنین، نمونه‌های ادرار نیز به مدت ۷ روز برای هر گوسفند به طور جداگانه در ظرف‌های حاوی ۱۰۰ میلی-لیتر اسید سولفوریک ۱۰٪ جمع‌آوری و ۱۰ درصد از حجم کلی ادرار برای هر گوسفند به آزمایشگاه منتقل شد.

۳-۷- تجزیه شیمیایی نمونه خوراک‌ها، پس‌مانده خوراک و مدفوع

ابتدا نمونه‌های خوراک، پس‌مانده خوراک و مدفوع به وسیله غربال ۱ میلی‌متری آسیاب شد. سپس مطابق استاندارد (AOAC, 1990) مقادیر ماده خشک، خاکستر خام و پروتئین خام مورد تجزیه تقریبی قرار گرفت.

۳-۷-۱- اجزای دیواره سلولی

۳-۷-۲- دیواره سلولی

میزان NDF با استفاده از محلول شوینده خنثی مطابق روش ون سوئست و همکاران (۱۹۹۱) تعیین شد.

این بخش نیز توسط محلول شوینده اسیدی مطابق روش (AOAC, 1990) تعیین شد.

۳-۸- نحوه محاسبه قابلیت هضم

پس از پایان مراحل میدانی و گرفتن نمونه مدفوع و خوراک، قابلیت هضم جیره‌های آزمایشی طبق فرمول زیر بدست آمد (گیونز^{۵۸} و همکاران، ۲۰۰۰)

$$\text{قابلیت هضم ظاهری} = \frac{\text{مقدار ماده دفع شده} - \text{مقدار ماده خورده شده}}{\text{مقدار ماده خورده شده}} \times 100$$

برای محاسبه قابلیت هضم پروتئین خام کود مرغی به روش تفاوت (by difference) نیز از فرمول زیر استفاده - شد (مکدونالد^{۵۹} و همکاران، ۲۰۰۲):

$$\text{قابلیت هضم پروتئین کود مرغی} = \frac{\text{مقدار CP در مدفوع غذای پایه} - \text{مقدار CP در مدفوع} - \text{مقدار CP در غذای آزمایشی}}{\text{مقدار CP در غذای آزمایشی}}$$

۳-۹- نمونه‌گیری از مایع شکمبه و تعیین متابولیت‌ها در آن

برای اندازه‌گیری پارامترهای شکمبه شامل: pH، غلظت آمونیاک و اسیدهای چرب فرار (VFA)، پس از عادت کردن دام‌ها به جیره‌های آزمایشی، روز قبل از انتهای هر مرحله در زمان‌های صفر (قبل از تغذیه صبح)، ۳ و ۶ ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح، نمونه مایع شکمبه با استفاده از لوله مری از گوسفندان گرفته شد و پس از صاف نمودن با دو لایه کرباس در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد برای تجزیه آزمایشگاهی نگهداری شد.

۳-۹-۱- اندازه‌گیری pH

پس از نمونه‌گیری از مایع شکمبه در زمان‌های مختلف، pH هر نمونه بلافاصله (توسط pH متر H196107) اندازه‌گیری و ثبت شد.

۳-۹-۲- اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار

اسیدهای چرب بر اساس طول زنجیره یا همان تعداد کربن به ۴ دسته زنجیر کوتاه^{۶۰} (کمتر از شش کربن)، زنجیر متوسط^{۶۱} (۶-۱۲ کربن)، زنجیر بلند^{۶۲} (۱۲-۲۲ کربن) و زنجیر خیلی بلند^{۶۳} (بیش از ۲۲ کربن) تقسیم بندی می- شوند. اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار زنجیر کوتاه (اسید استیک، اسید پروپیونیک، اسید بوتیریک، ایزووالریک

58 Givens

59 McDonald

60 Short-Chain Fatty Acids (SCFA)

61 Medium-Chain Fatty Acids (MCFA)

62 Long-Chain Fatty Acids (LCFA)

63 Very-Long-Chain Fatty Acids (VLCFA)

و والریک اسید) طی دو مرحله و با استفاده از استاندارد داخلی^{۶۴} انجام گرفت (فیت فول^{۶۵} ۲۰۰۲). شرح جزئی روش در بخش ضمیمه آورده شده است.

۳-۹-۳- اندازه گیری آمونیاک مایع شکمبه

میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با استفاده از روش فنل-هیپوکلریت^{۶۶} تعیین گردید (برودریک و کنگ^{۶۷}، ۱۹۸۰). شرح بیشتر روش کار در بخش ضمیمه آورده شده است.

۳-۱۰-۱- تعیین مشتقات پورینی^{۶۸} در ادرار

۳-۱۰-۱- جمع آوری ادرار

در دوره اصلی آزمایش (جمع آوری اطلاعات)، ادرار هر گوسفندان به مدت ۷ روز، به طور جداگانه در سطل های مخصوص حاوی ۱۰۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۱۰٪ (به منظور حفظ pH در سطح زیر عدد ۳)، که برای این منظور در زیر قفس تعبیه شده بود، جمع آوری گردید. برای هر روز، ادرار جمع شده وزن و ثبت گردید و ۱۰ درصد از حجم ادرار به آزمایشگاه انتقال و pH آنها اندازه گیری شد. سپس به منظور جلوگیری از رسوب اسید اوریک در نمونه ها، هر نمونه ادرار به مقدار ۴ برابر با آب مقطر رقیق شد و ادرار رقیق شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد یخچال قرار داده شد. بعد از پایان روز های جمع آوری، نمونه های ادرار هر گوسفند به طور جداگانه با هم مخلوط شد و حدود ۲۰۰ میلی لیتر آن برداشته و در دمای ۲۰- درجه برای اندازه گیری های بعدی ذخیره گردید (مقدار ادرار مورد نیاز جهت انجام این آزمایش ۱۲ میلی لیتر کافی است). شرح روش آزمایشگاهی اندازه گیری مشتقات پورینی در بخش ضمیمه آورده شده است.

۳-۱۰-۲- محاسبه پروتئین میکروبی

برآورد پروتئین میکروبی تولید شده بر اساس کل مشتقات پورینی دفعی ادرار و به روش چن و گومیز^{۶۹} (۱۹۹۵) انجام شد.

۱- محاسبه کل مشتقات پورینی (TPD) دفع شده در ادرار به صورت میلی مول در روز: از جمع مقادیر آلانتوئین، اسید اوریک، گزانتین و هیپوگزانتین به دست آمد.

۲- محاسبه TPD جذب شده و TPD دفع شده: با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید:

$$Y = 0.84X + (0.150W^{0.75}e^{-0.25x})$$

TPD = Y دفع شده از طریق ادرار (بر حسب میلی مول در روز)

TPD = X جذب شده توسط دام (بر حسب میلی مول در روز)

$W^{0.75}$ = وزن متابولیکی حیوان،

⁶⁴ Internal Standard

⁶⁵ Faithfull

⁶⁶ Phenol Hypochlorite Assay

⁶⁷ Broderick and Kang

⁶⁸ Purine derivatives (PD)

⁶⁹ Chen and Gomez

e = عدد نپری

سپس برای محاسبه X مشتق رابطه بالا را گرفته و در رابطه زیر جایگزین و آنگاه مقدار X برآورد گردید.

$$X(n+1) = Xn - \frac{f(Xn)}{f'(Xn)}$$
$$f(x) = 0.84X + (0.150W^{0.75} e^{-0.25x}) - Y$$
$$f'(x) = (0.84 - 0.038W^{0.75} e^{-0.25x})$$

۳- محاسبه جذب پورین روزانه: با توجه به معادله بالا و جایگزین کردن مقدار Y (TPD دفع شده از طریق ادرار) مقدار X برآورد گردید.

۴- محاسبه جریان روده‌ای نیتروژن میکروبی:

$$\text{Microbial N (gN/d)} = \frac{X \text{ (mmol/d)} \times 70}{0.116 \times 0.83 \times 1000} = 0.727X$$

0.83 = ضریب قابلیت هضم پورین‌های میکروبی، 70 = مقدار نیتروژن میکروبی (بر حسب میلی گرم نیتروژن در میلی مول)

0.116 = نسبت نیتروژن پورینی به کل نیتروژن در مخلوط میکروبی شکمبه (100 ÷ 11.6)

۳-۱۱- اندازه‌گیری متابولیت‌های خون

۳-۱۱-۱- خون‌گیری

در روز ششم از دوره هفت روزه جمع‌آوری اطلاعات، از دام‌ها طی ۳ مرحله زمانی یعنی شامل قبل از تغذیه صبح‌گاهی، ۳ و ۶ ساعت پس از آن از سیاهرگ گردنی (وداج) نمونه خون گرفته شد. عمل خون‌گیری با استفاده از لوله‌های ونوجکت حاوی EDTA صورت گرفت و بلافاصله نمونه‌ها به منظور جداسازی پلاسما در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و تا روز آزمایش در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. برای اندازه‌گیری متابولیت‌های خون، از کیت شیمیایی شرکت پارس آزمون استفاده شد.

۳-۱۱-۲- پروتئین تام^{۷۰}

برای تعیین میزان کل پروتئین پلاسما طبق روش بیورت استفاده شد. پروتئین در محیط قلیایی با یون‌های مس تشکیل رنگ لاجوردی می‌دهد و شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار پروتئین نمونه است. برای اندازه‌گیری کل پروتئین پلاسما تغییرات جذب با طول موج ۵۴۶ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (بر حسب گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) اندازه‌گیری شد.

۳-۱۱-۳- آلبومین

محتوای آلبومین نمونه‌های پلاسما به روش فتومتریک محاسبه گردید. آلبومین موجود در پلاسما با بروموکرزول گرین^{۷۱} (در pH اسیدی) ایجاد یک کمپلکس رنگی سبز-آبی می‌کند که شدت رنگ ایجاد شده متناسب با

⁷⁰ Total Protein (TP)

⁷¹ Bromocresol Green

مقدار آلبومین نمونه است. تغییرات جذب در طول موج ۵۴۶ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (بر حسب گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) قرائت شد.

۳-۱۱-۴-کراتینین^{۳۲}

مقدار کراتینین موجود (بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) بر اساس روش آنزیمی و بدون حذف پروتئین‌ها صورت گرفت. در این روش، کراتینین با آلکالن پیکرات تشکیل یک کمپلکس رنگی می‌دهد و شدت رنگ ایجاد شده متناسب با غلظت کراتینین در نمونه است. طول موج مورد نیاز برای تغییرات جذب، ۵۰۰ نانومتر و توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر می‌باشد.

۳-۱۱-۵-نیروژن اوره‌ای خون (BUN)

آنزیم اوره‌آز با هیدرولیز اوره باعث آزاد شدن دی‌اکسید کربن و آمونیاک می‌شود. آمونیاک حاصله در محیط، به یون آمونیوم (NH_4^+) تبدیل می‌شود. در واکنش بعدی، یون آمونیوم با آلفا کتوگلوکوتارات در حضور NADH تحت اثر آنزیم گلوکوتامات دهیدروژناز وارد عمل شده، گلوکوتامات و NAD^+ را بوجود می‌آورد. مقدار اوره در طول موج ۳۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) خوانده شد. سپس، مقدار BUN از فرمول زیر محاسبه شد:

$$BUN (mg / dl) = Urea (mg / dl) \times 0.467$$

۳-۱۱-۶-گلوکز

در روش محاسبه غلظت گلوکز، آب اکسیژنه آزاد شده از گلوکز در مجاورت آنزیم گلوکز اکسیداز با فنول و ۴-آمینو آنتی پیرین، در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) در طول موج ۵۴۶ نانومتر با مقدار گلوکز رابطه مستقیم دارد.

۳-۱۱-۷-کلسترو

محتوای کلسترو نمونه‌ها نیز (بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) در طول موج ۵۴۶ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. در این آزمایش، پراکسید هیدروژن تولید شده در نتیجه هیدرولیز و اکسیداسیون کلسترو، به همراه فنول و ۴-آمینو آنتی پیرین در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده با مقدار کلسترو رابطه مستقیم دارد.

۳-۱۲- طرح آزمایشی و تجزیه آماری داده ها

این تحقیق در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تیمار (سه جیره حاوی ۲۴ درصد کود مرغی) با منابع مختلف انرژی شامل ذرت، جو و ملاس و ۵ تکرار (گوسفند) با الگوی آماری زیر انجام شد.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

که در آن:

Y_{ij} مقدار عددی هر مشاهده،

μ میانگین هر صفت،

T_i اثر منبع انرژی

e_{ij} خطای آزمایشی بود.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (۲۰۰۱) و الگوی خطی عمومی (GLM) صورت گرفت. معنی‌داری اثرات خطی (Linear) و غیر خطی (Quadratic) نیز با استفاده از مقایسات اورتوگونال (متعامد) و طبق فرمول‌های زیر انجام شد:

contrast ' linear ' T -3-1+1+3;

contrast ' quadratic ' T +1-1-1+1;

مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

فصل چهارم

نتایج

۴-۱- قابلیت هضم

قابلیت هضم مواد مغذی و برآورد انرژی قابل متابولیسم در جیره‌های غذایی با منابع مختلف انرژی در جدول ۴-۱ آورده شده است. استفاده از ملاس به عنوان منبع تکمیل کننده انرژی جیره غذایی، قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، NDFom و ADFom را در مقایسه با جیره حاوی جو و ذرت به صورت معنی داری افزایش داد ($p < 0/05$). در عین حال، از نظر قابلیت هضم ماده آلی، ماده آلی قابل هضم در ماده خشک و انرژی قابل متابولیسم بین جیره‌ها اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p < 0/05$).

۴-۲- دفع مشتقات پورینی ادرار و تولید پروتئین میکروبی در شکمبه

مقادیر دفعی آلانتوئین، اسید اوریک، گزانتین به علاوه هیپوگزانتین، کل مشتقات پورینی دفع شده، کل مشتقات پورینی جذب شده، و نهایتاً پروتئین میکروبی تولید شده در جدول ۴-۲ آورده شده است. گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی ملاس، مقدار آلانتوئین بیشتری در مقایسه با گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی ذرت یا جو دفع کردند ($p < 0/05$)، ولی بین جیره‌های حاوی جو یا ذرت تفاوتی وجود نداشت. مقدار گزانتین به علاوه هیپوگزانتین در گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی ملاس در مقایسه با جیره حاوی جو افزایش معنی داری نشان داد ($p < 0/05$)، ولی دفع ادراری اسید اوریک تحت تاثیر نوع منبع انرژی قرار نگرفت ($p < 0/05$). کل مشتقات پورینی دفع شده، کل مشتقات پورینی جذب شده و به دنبال آن پروتئین میکروبی تولید شده در جیره حاوی ملاس در مقایسه با سایر جیره‌ها افزایش معنی داری را نشان داد ($p < 0/05$). از طرفی پارامترهای مذکور بین جیره حاوی ذرت و جو اختلاف معنی داری با هم نداشت.

۴-۳- توازن نیتروژن

نتایج مربوط به مقادیر نیتروژن مصرفی، نیتروژن دفعی از طریق مدفوع و ادرار، کل نیتروژن دفعی و نیتروژن ابقاء شده در جدول ۴-۳ ارائه شده است. مکمل کردن کود مرغی با ذرت، جو یا ملاس تاثیری روی مقادیر نیتروژن مصرفی و نیتروژن دفعی از طریق مدفوع نداشت ($p < 0/05$). در گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی ذرت، نیتروژن دفعی از طریق ادرار و کل نیتروژن دفعی به طور معنی داری بیشتر از گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ملاس یا جو بود ($p < 0/05$).

مقدار نیتروژن ابقاء شده بین همه جیره‌ها مثبت بود و مکمل کردن کود مرغی با ملاس بیشترین مقدار ابقاء نیتروژن را در مقایسه با سایر جیره‌ها شامل شد ($p < 0/05$). ابقاء نیتروژن بیشتر در گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی ملاس در مقایسه با سایر جیره‌ها احتمالاً به دلیل تولید پروتئین میکروبی بیشتر (جدول ۴-۳) و نیز دفع کمتر نیتروژن از طریق ادرار با تغذیه جیره مذکور بود.

جدول ۴-۱: قابلیت هضم مواد مغذی (گرم در کیلو گرم ماده خشک) و انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلو گرم ماده خشک)

جیره‌های آزمایشی

سطح معنی داری ^۲	اشتباه معیار ^۱	جیره‌های آزمایشی			متغیرها
		ملاس	جو	ذرت	
۰/۰۴۳	۶/۹	۶۷۳ ^a	۶۴۵ ^b	۶۵۰ ^b	ماده خشک
۰/۱۱۷	۷/۸	۶۸۹	۶۷۰	۶۷۸	ماده آلی
۰/۰۲۵	۶/۴	۷۰۶ ^a	۶۸۲ ^b	۶۷۱ ^b	پروتئین خام
۰/۰۲۱	۷/۳	۶۳۸ ^a	۵۸۸ ^b	۶۰۱ ^b	فیبر نامحلول در شوینده خنثی ^۳
۰/۰۴۰	۹/۶	۵۸۶ ^a	۵۳۸ ^b	۵۷۳ ^{ab}	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ^۴
۰/۵۱	۵/۳	۶۱۲	۶۰۹	۶۱۸	ماده آلی قابل هضم در ماده خشک ^۵
۰/۵۳	۰/۰۷۷	۹/۶۱	۹/۵۶	۹/۷۰	انرژی قابل متابولیسم ^۶

۱: SEM ، ۲: P-value ، ۳: NDFom ، ۴: ADFom ، ۵: DOMD ،

۶: براساس فرمول $ME (MJ/kg DM) = DOMD \times 0.0157$ ، برآورد شد (AFRC, 1992).

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

جدول ۴-۲: مشتقات پورینی دفع شده (میلی مول در روز) و پروتئین میکروبی تولید شده (گرم در روز)

سطح معنی داری ^۲	اشتباه معیار ^۱	نوع منبع انرژی مورد استفاده در جیره			متغیر
		ملاس	جو	ذرت	
۰/۰۱۱	۰/۳۸	۱۲/۵ ^a	۱۱/۲ ^b	۱۰/۷ ^b	آلانئین ^۳
۰/۲۷	۰/۲۱۴	۲/۰۹	۲/۱۷	۲/۰۵	اسید اوریک ^۴
۰/۰۲۱	۰/۰۵۵	۱/۰۴ ^a	۰/۸۴ ^b	۰/۹۲ ^{ab}	گراتین+هیپوگراتین ^۵
۰/۰۱۳	۰/۷۶	۱۵/۶ ^a	۱۴/۲ ^b	۱۳/۷ ^b	مشتقات پورینی دفع شده ^۶
۰/۰۱۴	۰/۸۳	۱۷/۸ ^a	۱۶/۱ ^b	۱۵/۴ ^b	مشتقات پورینی جذب شده ^۷
۰/۰۱۵	۴/۱۳	۸۰/۷ ^a	۷۲/۹ ^b	۷۰/۲ ^b	پروتئین میکروبی ^۸

۱: SEM ، ۲: P-value ، ۳: AL ، ۴: UA ، ۵: X+H ،

۶: TPD excreted ، ۷: TPD absorbed ، ۸: MP ،

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

جدول ۴-۳: اثر جیره‌های آزمایشی روی توازن نیتروژن (گرم در روز)

سطح معنی داری ^۲	اشتباه معیار ^۱	نوع منبع انرژی مورد استفاده در جیره			متغیرها
		ملاس	جو	ذرت	
۰/۱۳	۰/۵۰	۲۵/۶	۲۴/۵	۲۳/۸	نیتروژن مصرفی
۰/۹۴	۰/۱۸۲	۷/۵۲	۷/۶۰	۷/۶۰	نیتروژن دفعی مدفوع
۰/۰۴۵	۰/۴۱۳	۶/۴۸ ^b	۶/۹۸ ^b	۸/۱۱ ^a	نیتروژن دفعی ادرار
۰/۰۳۵	۰/۴۰	۱۴/۱ ^b	۱۴/۶ ^b	۱۵/۷ ^a	کل نیتروژن دفعی
۰/۰۱۵	۰/۴۷	۱۱/۴ ^a	۹/۸۳ ^b	۸/۲۰ ^b	نیتروژن ابقاء شده

SEM: ۱، P-value: ۲

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

۴-۴- پارامترهای شکمبه

نتایج مربوط به میانگین پارامترهای شکمبه شامل pH، آمونیاک و اسیدهای چرب فرار در زمان‌های صفر، ۳ و ۶ ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح، در جدول ۴-۴ نشان داده شده است.

جدول ۴-۴: اثر جیره‌های آزمایشی بر روی پارامترهای شکمبه

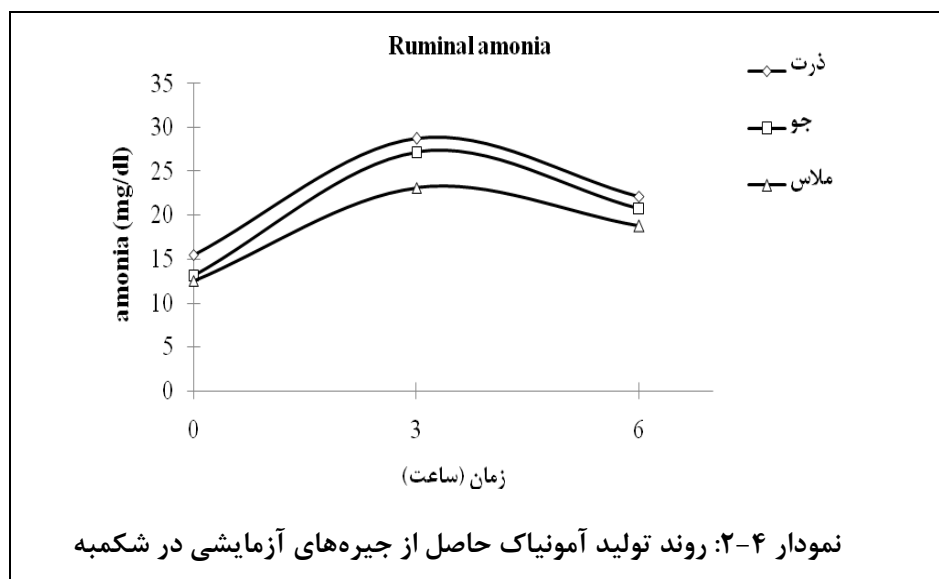
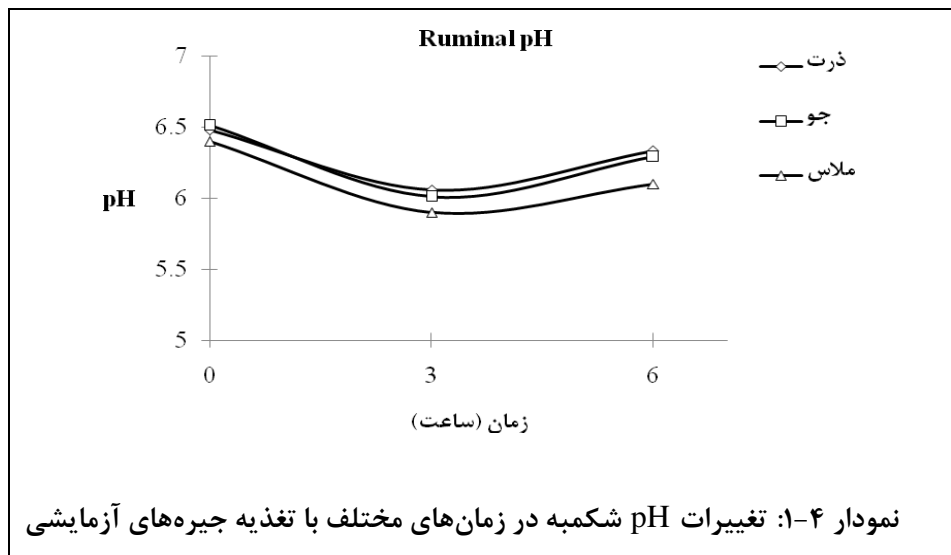
سطح معنی داری ^۲	اشتباه معیار ^۱	نوع منبع انرژی مورد استفاده در جیره			متغیرها
		ملاس	جو	ذرت	
۰/۰۴۸	۰/۰۵۰	۶/۱۲ ^b	۶/۲۷ ^a	۶/۲۹ ^a	pH
۰/۰۳۷	۱/۵	۱۸/۱ ^b	۲۰/۴ ^{ab}	۲۲/۱ ^a	آمونیاک (میلی گرم در دسی لیتر)
					اسیدهای چرب فرار (میلی مول در لیتر)
۰/۰۳۲	۳/۵۰	۱۰۶/۸ ^a	۹۹/۲ ^b	۱۰۱/۱ ^b	کل اسیدهای چرب فرار
۰/۱۹	۲/۷۰	۶۶/۶	۶۴/۴	۶۴/۷	استات
۰/۳۰	۲/۲۰	۲۰/۱	۲۱/۸	۲۲/۵	پروپیونات
۰/۰۰۲	۰/۵۹	۱۶/۶ ^a	۱۳/۱ ^b	۱۱/۹ ^b	بوتیرات
۰/۶۰	۰/۱۷۱	۱/۲۲	۱/۴۶	۱/۲۹	ایزوالرات
۰/۷۳	۰/۲۰۲	۱/۳۸	۱/۶۰	۱/۵۴	والرات
۰/۴۷	۰/۱۶۹	۳/۰۷	۳/۰۱	۲/۹۶	نسبت استات به پروپیونات

SEM: ۱، P-value: ۲، نمونه‌گیری از مایع شکمبه در زمان‌های صفر، ۳ و ۶ ساعت پس از خوراک‌دهی وعده

صبح انجام شد. حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

مقدار pH قبل از خوراک دادن نسبتاً بالا بوده اما بعد از خوراک دادن کاهش و دوباره افزایش یافت. میانگین مقدار pH شکمبه در گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی ملاس در مقایسه با سایر جیره‌ها به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). غلظت آمونیاک مایع شکمبه با تغذیه جیره حاوی ملاس به طور معنی داری کمتر از جیره حاوی ذرت بود ($p < 0.05$) ولی تفاوتی با جیره حاوی جو نداشت. میانگین مقدار کل اسیدهای چرب فرار و بوتیرات در گوسفندان تغذیه شده با ملاس به طور معنی داری بیشتر از گوسفندان تغذیه شده با ذرت یا جو بود ($p < 0.05$) ولی نوع منبع انرژی تأثیری بر میانگین غلظت استات، پروپیونات، ایزووالرت، والرات و نسبت استات به پروپیونات نداشت.

نمودار ۱-۴ روند تغییرات مقدار pH در زمان‌های صفر، ۳ و ۶ ساعت پس از خوراک وعده صبح و نمودار ۲-۴ روند تغییرات غلظت آمونیاک مایع شکمبه را در زمان‌های مذکور نشان می‌دهد.



۴-۵- متابولیت‌های خون

اطلاعات مربوط به میانگین غلظت پروتئین تام، آلبومین، نیتروژن اوره‌ای خون، کراتینین، گلوکز و کلسترول خون در زمان‌های صفر، ۳ و ۶ ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح در جدول ۴-۵ نشان داده شده است. به جز نیتروژن اوره‌ای خون که در گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی ملاس کمتر از گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی ذرت بود ($p < 0.05$) ولی نوع منبع انرژی تأثیری بر سایر متابولیت‌های خون نداشت.

جدول ۴-۵: اثر جیره‌های آزمایشی روی متابولیت‌های خون

P-value	SEM	نوع منبع انرژی مورد استفاده در جیره			متغیرها
		ملاس	جو	ذرت	
۰/۲۸	۰/۳۵۵	۷/۴۹	۷/۹۷	۷/۴۷	پروتئین تام ^۱ (گرم در دسی لیتر)
۰/۴۵	۰/۱۷۱	۳/۳۷	۳/۴۲	۳/۱۶	آلبومین (گرم در دسی لیتر)
۰/۰۴۰	۰/۱۰۹	۳/۲۰ ^b	۳/۵۰ ^{ab}	۳/۷۴ ^a	نیتروژن اوره‌ای خون ^۲ (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۱۲	۰/۰۴۰	۱/۰	۰/۹۰	۱/۰۲	کراتینین (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۳۸	۱/۲۴	۶۶/۴	۶۷/۶	۶۸/۳	گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۲۱	۱/۵۲	۷۲/۰	۷۴/۷	۷۵/۳	کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)

۱- Total protein، ۲- Blood Urea Nitrogen (BUN)، حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

فصل پنجم

بحث و نتیجه گیری

در این آزمایش کود مرغی به عنوان یک منبع غنی از نیتروژن غیر پروتئینی با منابع مختلف انرژی شامل ذرت، جو و ملاس مورد آزمایش قرار گرفت. جو و ذرت مهم‌ترین غلاتی هستند که در سیستم دامپروری کشور مورد استفاده قرار می‌گیرند. ملاس نیز خوراکی انرژی‌زا و سرشار از کربوهیدرات‌های محلول بوده که بیش از ۶۰ درصد قند آن ساکارز با نرخ تخمیر شکمبه‌ای زیاد می‌باشد. منبع عمده انرژی ذرت و جو نشاسته بوده که به ترتیب ۷۲ و ۵۸-۵۷ درصد از ماده خشک این غلات را تشکیل می‌دهد، این در حالی است که مقدار و سرعت تخمیر شکمبه‌ای نشاسته ذرت و جو به ترتیب ۷۰-۵۵ و ۹۰-۸۰ درصد می‌باشد (هونتینگتون^{۷۳}، ۱۹۹۷). قندها در مقایسه با غلات با سرعت بیشتری در شکمبه تخمیر می‌شوند (چمبر لین^{۷۴} و همکاران، ۱۹۹۳؛ اوبا^{۷۵}، ۲۰۱۱) به منظور ارزیابی اثر دقیق نوع منبع انرژی به عنوان تنها عامل تغییر، کاهش اثرات ناشی از نوع اجزاء خوراکی استفاده شده و سطح خوراک‌دهی (سیو^{۷۶} و همکاران، ۲۰۱۰)، اجزاء خوراکی به کار رفته و نسبت آن‌ها در همه جیره‌ها یکسان بود. هم چنین مقدار خوراک روزانه یکسانی هم در اختیار دام‌ها قرار گرفت. به دلیل این که ذرت، جو و ملاس از نظر مقدار و نرخ تخمیر شکمبه‌ای اختلاف دارند، فرضیه این بود که هم زمانی انرژی (با استفاده از هر یک از منابع مذکور) با کود مرغی به عنوان یک منبع غنی از نیتروژن غیر پروتئینی ممکن است محصول پروتئین میکروبی و متابولیسم نیتروژن در شکمبه را متاثر سازد. بنا بر این در این آزمایش، اثر مکمل کردن کود مرغی با هر یک از منابع انرژی ذرت، جو یا ملاس در جیره غذایی و اثر آن‌ها روی جریان پروتئین میکروبی به دئودنوم، قابلیت هضم، تعادل نیتروژن، پارامترهای شکمبه و متابولیت‌های شیمیایی خون در گوسفند مورد بررسی قرار گرفت.

۵-۱- قابلیت هضم جیره‌ها

قابلیت هضم جیره غذایی در زمانی که گوسفندان از جیره حاوی ملاس تغذیه نمودند بیشترین مقدار بود که این پدیده احتمالاً به خاطر محتوای کربوهیدرات‌های قابل هضم ملاس می‌باشد که سرعت تخمیر بیشتری در مقایسه با نشاسته دارد (چمبر لین و همکاران، ۱۹۹۳). محتوای فیبر کمتر (NDFom و ADFom) در جیره حاوی ملاس نیز از دیگر موارد احتمالی موثر بر افزایش قابلیت هضم می‌باشد. مطابق با نتایج حاضر (برودریک و رادلوف^{۷۷}، ۲۰۰۴) با جایگزین کردن سطوح ۴، ۸ و ۱۲ درصد ملاس خشک به جای نشاسته ذرت در جیره گاو شیری، افزایش خطی قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، NDF و ADF را

⁷³ Huntington

⁷⁴ Chamberlain

⁷⁵ Oba

⁷⁶ Seo

⁷⁷ Broderick and Radloff

گزارش کردند. همین محققین با جایگزین کردن ۳، ۶ و ۹ درصد ملاس مایع به جای نشاسته ذرت نیز افزایش معنی‌دار ضریب هضمی NDF و ADF را تا سطح ۶ درصد جایگزینی گزارش دادند. در مطالعه‌ای دیگری (هچ و بیسون^{۷۸}، ۱۹۷۲)، جایگزین کردن سطوح ۱۰ یا ۱۵ درصد ملاس به جای ذرت، قابلیت هضم ماده خشک را در جیره گوساله افزایش داد. قابلیت هضم ماده آلی جیره نیز با افزودن ملاس به جای جو در تغذیه گاو گوشتی در جیره‌های بر پایه سیلاژ ذرت بهبود یافت (هیوهتانین^{۷۹}، ۱۹۸۸).

این در حالی است که با تغذیه ساکارز به جای ذرت، در جیره گاو شیری، قابلیت هضم تمام اجزاء جیره تحت تاثیر قرار نگرفت (پنیر^{۸۰} و همکاران، ۲۰۰۹). در پژوهشی دیگر (مارتین و وینگ^{۸۱}، ۱۹۶۶)، جایگزین کردن ملاس به جای ذرت در جیره گوساله شیری قابلیت هضم انرژی، ماده خشک و سلولز را کاهش داد. پاتی^{۸۲} (۱۹۸۳) گزارش داد که در بسیاری موارد بکارگیری سطوح مختلف ملاس در جیره قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جیره را کاهش داده است و نتیجه‌گیری کرد که اثر منفی ملاس روی ضریب هضمی مواد مغذی ممکن است در ارتباط با عدم پروتئین کافی برای رفع نیاز نیتروژنی میکروب‌های شکمبه، در حیوان میزبان و یا هر دو مورد مزبور باشد.

قابلیت هضم کمتر پروتئین خام در جیره حاوی ذرت احتمالاً به دلیل نشاسته عبوری بیشتر آن به روده باریک است، زیرا نشاسته وارد شده به روده باریک، ممکن است بخشی از آن در سکوم سبب تولید پروتئین میکروبی شود که به دلیل نبود مکانیسمی برای هضم آنزیمی، پروتئین میکروبی تولید شده در روده وارد مدفوع شده که در نهایت منجر به کاهش قابلیت هضم پروتئین خام می‌شود (ارسکف و همکاران، ۱۹۷۰).

۵-۲- دفع مشتقات پورینی ادرار و تولید پروتئین میکروبی در شکمبه

برآورد پروتئین میکروبی تولید شده بر اساس کل مشتقات پورینی دفعی ادرار و به روش چن و گومیز (۱۹۹۵) انجام شد. طبق نظر این محققین، مقادیر عددی بدست آمده برای پروتئین میکروبی (بر حسب گرم در روز) با این روش ممکن است مقدار واقعی تولید شده توسط دام نباشد، ولی عملاً روش مذکور به منظور مقایسه جیره‌های آزمایشی از نظر پروتئین میکروبی تولید شده روش مناسبی است.

مشتقات پورینی ادرار برای تخمین تولید پروتئین میکروبی در شکمبه حیوانات نشخوارکننده استفاده می‌شود (یانیز رویز^{۸۳} و همکاران، ۲۰۰۴) زیرا یک همبستگی میان جریان دودنومی اسیدهای نوکلئیک و مشتقات پورینی گزارش شده است (چن و همکاران، ۱۹۹۵؛ بن سالم^{۸۴} و همکاران، ۱۹۹۹). در گوسفند، آلانتوئین بیشترین سهم را در تولید پروتئین میکروبی داشته و حدود ۸۰-۶۰ درصد کل مشتقات پورینی دفعی ادرار را

⁷⁸ Hatch and Beeson

⁷⁹ Huhtanen

⁸⁰ Penner

⁸¹ Martin and Wing

⁸² Pate

⁸³ Yanez Ruiz

⁸⁴ Ben Salem

شامل می‌شود. اسید اوریک و گزانتین+هیپوگزانتین نیز به ترتیب ۳۰-۱۰ و ۱۰-۵ درصد از کل مشتقات پورینی را در بر می‌گیرد. پروتئین میکروبی در تامین نیاز پروتئینی نشخوارکنندگان نقش مهمی دارد به نحوی که اکثر اسیدهای آمینه مورد نیاز برای رشد، نگهداری و تولید حیوان میزبان را فراهم می‌کند (ویتیانان^{۸۵} و همکاران، ۲۰۰۶).

برای تولید پروتئین میکروبی در شکمبه نه تنها وجود دو منبع اصلی یعنی یکی نیتروژن و دیگری انرژی لازم است بلکه همزمانی در دسترس بودن این دو منبع نیز دارای اهمیت می‌باشد. بهبود رشد و توسعه میکروبی در جیره‌های حاوی کود مرغی احتمالاً به خاطر محتوای پروتئین بیشتر جیره‌های مذکور می‌باشد، زیرا جهت تولید بهینه پروتئین میکروبی در شکمبه، غلظت مناسب پروتئین جیره باید بین ۱۳-۱۱ درصد باشد (ساتر و روفلیر^{۸۶}، ۱۹۷۸). در آزمایش حاضر مقدار پروتئین خام جیره‌های حاوی کود مرغی در این دامنه قرار داشت.

افزایش تولید پروتئین میکروبی در جیره حاوی ملاس احتمالاً به دلیل همزمانی بهتر بین کربوهیدرات‌های محلول ملاس با نیتروژن محلول کود مرغی بوده است. غلظت کمتر آمونیاک شکمبه (جدول ۴-۳) در گوسفندان تغذیه شده با ملاس می‌تواند دلیل خوبی برای افزایش تولید پروتئین میکروبی باشد، زیرا گزارش شده است که بین غلظت آمونیاک مایع شکمبه و سنتز پروتئین میکروبی رابطه نزدیکی وجود دارد (هیونتاین، ۱۹۸۷).

همچنین، مطالعات صورت گرفته توسط چمیرلین و همکاران (۱۹۹۳)، نشان داد که قندها، به ویژه ساکارز، به عنوان منبع انرژی در مقایسه با نشاسته، غلظت آمونیاک شکمبه را کاهش داده و تاثیر مطلوب‌تری بر سنتز پروتئین میکروبی دارد. بر اساس گزارش مزبور گوسفندان تغذیه شده با ساکارز (۱۴/۸ گرم در روز) پروتئین میکروبی بیشتری در مقایسه با نشاسته گندم (۱۱/۹ گرم در روز) تولید کردند که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. تزریق شکمبه‌ای ساکارز در قوچ نیز پروتئین میکروبی تولیدی را افزایش داده است (کیم^{۸۷} و همکاران، ۲۰۰۵).

بر اساس اطلاعات سیستم CNCPS نیز مشخص شده است که باکتری‌های تخمیر کننده ساکارز در مقایسه با باکتری‌های تخمیر کننده نشاسته حدود ۱۸ درصد تولید پروتئین میکروبی بیشتری دارند.

مغایر با نتایج این تحقیق، در پژوهشی بر روی گاو شیری، تغذیه سطوح مختلف ساکارز به جای ذرت، کل مشتقات پورینی دفع شده در ادرار را تحت تاثیر قرار نداد و محصول پروتئین میکروبی تولیدی در شکمبه را کاهش داد (سانیز و همکاران^{۸۸}، ۲۰۰۲). بر اساس مطالعه دیگری (برودریک و همکاران، ۲۰۰۸)، جایگزین کردن ساکارز به جای نشاسته در جیره گاو شیری سنتز پروتئین میکروبی را تحت تاثیر قرار نداد.

⁸⁵ Vaithyanathan

⁸⁶ Sattar and Roffler

⁸⁷ Kim

⁸⁸ Sannes

۵-۴- اثر منبع انرژی بر توازن نیتروژن

همان طوری که در جدول (۴-۳) مشاهده می شود، مصرف ملاس سبب بهبود میزان نیتروژن ابقا شده در بدن گوسفندان مورد آزمایش گردیده است. نتایج مشابهی نیز توسط هیچ و بیسون (۱۹۷۲) گزارش گردید به نحوی که با جایگزین کردن ۱۰ یا ۱۵ درصد ملاس به جای ذرت در جیره غذایی گوساله ها، ابقاء نیتروژن به طور معنی داری افزایش یافت. استفاده از مواد قندی (ساکارز) به عنوان مکمل انرژی زا در جیره غذایی نیز ابقاء نیتروژن را در گوسفند افزایش داده است (سیوتوه^{۸۹} و همکاران، ۱۹۹۶). گزارش های دیگری نشان داده است که افزودن قندها به جیره نشخوارکنندگان، متابولیسم نیتروژن را در مقایسه با نشاسته افزایش می دهد (چمبرلین و توماس^{۹۰}، ۱۹۸۳؛ چمبرلین و چونگ^{۹۱}، ۱۹۹۵؛ ولیمونت^{۹۲} و همکاران، ۲۰۰۴). این در حالی است که بنا به گزارش بودریک و ردلوف (۲۰۰۴)، بکارگیری سطوح مختلف ساکارز در جیره گاو شیری، بازدهی استفاده از نیتروژن را به طور خطی کاهش داد.

۵-۵- اثر منبع انرژی بر پارامترهای شکمبه

به طوری که در جدول ۴-۴ مشاهده می شود، میانگین مقدار pH شکمبه با مصرف ملاس در جیره غذایی کاهش (۶/۱۲ در مقابل ۶/۲۷ و ۶/۲۹) نشان داد. البته لازم به ذکر است که میزان pH شکمبه در همه گوسفندان تحت آزمایش در دامنه طبیعی قرار داشت. مقدار pH شکمبه به طور طبیعی در دامنه ۶/۸-۶/۱ گزارش شده است (ون سوست، ۱۹۹۴).

چند دلیل مبنی بر کاهش مقدار pH شکمبه با تغذیه ملاس در مقایسه با جیره های حاوی ذرت یا جو وجود دارد. یکی از دلایل احتمالی مربوط به کاهش مقدار pH شکمبه در نتیجه مصرف ملاس بالا بودن سرعت تخمیر ملاس در مقایسه با نشاسته غلات در شکمبه می باشد (ساهو^{۹۳} و همکاران، ۱۹۹۹). زیرا بر اساس سیستم CNCPS سرعت تخمیر قندها در شکمبه زیاد است به نحوی که طی مدت زمان ۲۰ دقیقه به طور ۱۰۰ درصد تخمیر می شوند (سنیفین^{۹۴} و همکاران، ۱۹۹۲)، ولی نرخ تخمیر شکمبه ای نشاسته حدود ۶۰-۶ درصد در ساعت است (کرویر،^{۹۵} ۲۰۰۷). بعلاوه، خصوصیات شیمیایی ملاس به گونه ای است که به خاطر محتوای زیاد پتاسیم و کلسیم باعث ایجاد اثرات اسمزی شده، معمولا مصرف آب را افزایش داده و در نتیجه ترشح بزاق کاهش می یابد که این پدیده ممکن است از دیگر دلایل احتمالی کاهش pH شکمبه بوده باشد (بیناویدز و رودریگوز^{۹۶}، ۱۹۷۱).

⁸⁹ Sutoh

⁹⁰ Chamberlain and Thomas

⁹¹ Chamberlain and Choung

⁹² Vallimont

⁹³ Sahoo

⁹⁴ Sniffen

⁹⁵ Carver

⁹⁶ Benavides and Rodriguez

خصوصیات فیزیکی ملاس نیز به دلیل کاهش روند نشخوار و به طبع آن کاهش ترشح بزاق ممکن است شرایط را برای کاهش pH مهیا سازد (ارابا⁹⁷ و همکاران، ۲۰۰۲). مقدار pH شکمبه شدیداً تحت تاثیر غلظت اسیدهای چرب فرار در شکمبه قرار می‌گیرد. در این آزمایش نیز بین مقدار pH و کل اسیدهای چرب فرار تولید شده در شکمبه رابطه معکوس وجود داشته است. مطابق با نتایج پژوهش حاضر، جایگزین کردن سطوح ملاس به جای سبوس گندم مقدار pH شکمبه را در گوساله کاهش داده است (ساهو و همکاران، ۱۹۹۹). استفاده از مواد قندی به جای دانه سورگوم در جیره گاو شیری نیز مقدار pH شکمبه را کاهش داده است (کیلوگ⁹⁸، ۱۹۶۹) اما برخلاف این یافته‌ها، نتایج یک آزمایش حاکی از آن است که افزودن ملاس تاثیری بر مقدار pH شکمبه نداشته است (کاردیناس گارسیا⁹⁹ و همکاران، ۱۹۹۳). هم چنین نتایج تحقیق دیگری (ارابا و همکاران، ۲۰۰۲)، نشان داد که مقدار pH شکمبه گاوهای تغذیه شده با سطوح مختلف ملاس در مقایسه با جو به طور معنی‌داری بیشتر شد. تفسیر این محققین این بود که وجود مقادیر زیاد کاتیون‌هایی مانند پتاسیم، کلسیم و منیزیم در ملاس، ممکن است ظرفیت بافرینگ شکمبه را در مقابل کاهش pH شکمبه افزایش داده و اثر گاز تولیدی بر pH شکمبه را کاهش داده است.

میانگین غلظت آمونیاک مایع شکمبه با تغذیه جیره‌های آزمایشی در دامنه مطلوب یعنی ۳۰-۸/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر مایع شکمبه گزارش شده است (مکدونالد و همکاران، ۲۰۰۲). مقادیر بدست آمده بالاتر از حداقل مقدار مورد نیاز پیشنهاد شده (۵ میلی‌گرم در هر دسی‌لیتر مایع شکمبه) جهت رشد مطلوب میکروبی باکتری‌های شکمبه مناسب است (ساتیر و سلایتیر¹⁰⁰، ۱۹۷۴). غلظت کمتر آمونیاک در مایع شکمبه در گوسفندان تغذیه شده با ملاس احتمالاً به خاطر تولید پروتئین میکروبی بیشتر (چمبرلین و همکاران، ۱۹۹۳) در جیره مذکور از طریق بازدهی بالاتر میکروب‌های شکمبه جهت استفاده از ترکیبات نیتروژن غیر پروتئینی کود مرغی بوده است. نتایج مشابهی توسط چمبرلین و همکاران (۱۹۹۳)؛ اوبارا و دیلو¹⁰¹ (۱۹۹۳) بر روی گوسفند بدست آمد. در آزمایش دیگری، با افزایش جایگزین کردن سطوح ملاس به جای جو در گاوهای نر فستوله شده، غلظت آمونیاک مایع شکمبه به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (ارابا و همکاران، ۲۰۰۲). این در حالی است که بر اساس یافته‌های دیگر محققین (ساهو و همکاران، ۱۹۹۳) افزودن ملاس، مقدار آمونیاک مایع شکمبه را افزایش داد که علت این امر را جذب کمتر آمونیاک از دیواره شکمبه به دلیل کاهش مقدار pH شکمبه دانستند.

غلظت کل اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه بسته به نوع جیره، سطح خوراک و مواد افزودنی به جیره غذایی متفاوت است. افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار در گوسفندان تغذیه شده با ملاس احتمالاً به دلیل بهبود ضریب هضمی مواد مغذی در این جیره بود. در نتیجه مصرف ملاس به عنوان مکمل جیره غذایی نتایج مشابهی

⁹⁷ Araba

⁹⁸ Kellogg

⁹⁹ Cardenas Garcia

¹⁰⁰ Satter and Slyter

¹⁰¹ Obara and Dellow

مبنی بر افزایش معنی دار کل اسیدهای چرب فرار گزارش شده است (ساهو و همکاران، ۱۹۹۳). اما دیگر محققین (ارابا و همکاران، ۲۰۰۲) با مکمل کردن ملاس به جای جو، کاهش معنی داری در غلظت کل اسیدهای چرب فرار بدست آوردند و علت آن را به وجود پروتوزوا در شکمبه حیوانات تغذیه شده با ملاس مربوط دانستند که غلظت اسید چرب فرار را کاهش می دهد.

مطابق با نتایج بدست آمده، در اغلب تحقیقات انجام شده که با هدف بررسی اثر ملاس روی پارامترهای شکمبه انجام گرفته است، افزایش غلظت بوتیرات مشاهده شده است (هیوهتانین، ۱۹۸۸؛ پیتی و ویرا^{۱۰۲}، ۱۹۹۴؛ جواری^{۱۰۳}، ۱۹۹۶؛ فریگینز^{۱۰۴} و همکاران، ۱۹۹۸). بعلاوه، با جایگزین کردن سطوح بالای ملاس به جای جو (ارابا، ۲۰۰۲) یا ذرت (هچ و بیسون، ۱۹۷۲؛ کلارک^{۱۰۵} و همکاران، ۱۹۷۳) نیز مقدار بوتیرات به طور معنی دار افزایش یافته است. بالا رفتن غلظت بوتیرات احتمالاً به خاطر تحریک افزایش جمعیت پروتوزوا در جیره های حاوی ملاس می باشد که اسید بوتیریک را به عنوان محصول نهایی تخمیر بیشتر از سایر میکروارگانیسم ها تولید می کند (ابواکادا و هووارد^{۱۰۶}، ۱۹۶۰؛ ایدای^{۱۰۷} و همکاران، ۱۹۷۰). حالت عکس این مورد نیز صادق بوده است، زیرا حذف پروتوزوا، تولید بوتیرات را کاهش داده است (میندوزا^{۱۰۸} و همکاران، ۱۹۹۳؛ چودری^{۱۰۹} و همکاران، ۱۹۹۵). در مواردی نیز تغذیه ملاس ممکن است سبب تولید الکل در شکمبه گردد یعنی این که در تشکیل اسیدهای با بیش از چهار کربن نقش داشته باشد (ارابا و همکاران، ۲۰۰۲). بوتیرات موثرترین اسید چرب فرار به منظور رشد و توسعه پرزهای شکمبه است (ریوسیل^{۱۱۰}، ۲۰۰۲).

۵-۶- اثر منبع انرژی بر متابولیت های خون

کاهش غلظت نیتروژن اوره ای خون با تغذیه ملاس احتمالاً به خاطر تولید پروتئین میکروبی بیشتر (۴-۵) و غلظت کمتر آمونیاک مایع شکمبه (جدول ۴-۴) در جیره مذکور بوده است. دفع ادراری کمتر نیتروژن در نتیجه مصرف جیره حاوی ملاس نیز می تواند دلیل دیگری باشد، زیرا گزارش شده است که دفع ادراری نیتروژن با نیتروژن اوره ای خون مرتبط می باشد (سیزوک و گیبیرینگ زیابیر،^{۱۱۱} ۱۹۹۴). نتایج گزارش شده توسط دیگر پژوهشگران (مورفی، ۱۹۹۹؛ سانیز و همکاران، ۲۰۰۲) بر روی گاو شیری نیز (مبنی بر کاهش نیتروژن اوره ای خون در اثر مصرف ملاس) با یافته های پژوهش حاضر همخوانی دارد.

غلظت گلوکز خون تحت تاثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفت. در اکثر شرایط تغذیه ای، استفاده از منابع کربوهیدراتی سهل الهضم در جیره غذایی نشخوارکنندگان، به دلیل نرخ تخمیرپذیری بالای شکمبه ای، جذب

¹⁰² Petit and Veira

¹⁰³ Jouary

¹⁰⁴ Friggens

¹⁰⁵ Clark

¹⁰⁶ Abu Akkada and Howard

¹⁰⁷ Eadie

¹⁰⁸ Mendoza

¹⁰⁹ Chaudhry

¹¹⁰ Russell

¹¹¹ Ciszuk and Gebregziabher

روده‌ای گلوکز را محدود می‌کند. از طرفی، پروپیونات تولید شده در شکمبه که مهم‌ترین پیش‌ساز گلوکز در نشخوارکنندگان می‌باشد، با تغذیه جیره‌های آزمایشی تحت تاثیر قرار نگرفت (جدول ۴-۴). پروپیونات در کبد، توسط چرخه گلوکونئوز تبدیل به گلوکز شده و حدود ۷۵ درصد گلوکز ورودی به جریان خون را تولید می‌کند (بروکمن^{۱۱۲}، ۱۹۹۳).

به طور کلی نتایج بدست آمده، از پژوهش حاضر، نشان داد که در زمان استفاده از کود مرعی عمل آوری شده در جیره غذایی نشخوارکنندگان، مصرف ملاس به عنوان منبع انرژی در جیره غذایی، تولید پروتئین میکروبی، ابقاء نیتروژن و کل اسیدهای چرب فرار تولید شده در شکمبه را در مقایسه با جیره حاوی ذرت یا جو در گوسفند افزایش داد که این پدیده می‌تواند منتج به بهبود عملکرد دام گردد.

پیشنهادات

- ۱- اثر هم زمانی فرایند تخمیر نیتروژن کود مرعی با منابع مختلف انرژی در شکمبه مورد ارزیابی قرار گیرد.
- ۲- به منظور بررسی تفصیلی متابولیسم نیتروژن کود مرعی در دستگاه گوارش، آزمایش‌های تکمیلی روی عملکرد دام‌های پرواری با منابع مختلف انرژی به ویژه ملاس انجام شود.

فهرست منابع

- آمار نامه کشاورزی سال ۱۳۸۹. دفتر آمار و فناوری اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی، جلد دوم محصولات وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی.
- روح بخش، ع. و ف. حق شناس. ۱۳۶۹. کنترل بهداشتی مواد خوراکی (نمونه برداری، آزمایش، تفسیر). انتشارات چهر. ۲۷۴ ص.
- شریفی، ک. (۱۳۷۰). کاربرد کود مرغی بستر (جوجه های گوشتی) در تغذیه گوسفند و بررسی اثرات آن بر تعدادی از پارامترهای خونی. پایان نامه دکترا، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران.
- صالح طریقی، ع. (۱۳۸۸). اثر تیمار حرارتی بر بار میکروبی و ارزش تغذیه ای کود بستر جوجه های گوشتی با و بدون افزودن ملاس، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد (واحد ورامین). دانشکده کشاورزی، ص ۱۰۰.
- فضائلی، ح. ۱۳۸۸. استفاده بهینه از پس ماند های کشاورزی در تغذیه دام. چهارمین همایش ملی بررسی ضایعات محصولات کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس. ص. ۱۹۸-۲۰۴.
- فضائلی، ح.، ق. مقصودی نژاد، س.ا. میرهادی، ن. واسجی، م. عاملی، د. ابراهیمی و ن. تیمورنژاد. ۱۳۸۹. دستیابی به فناوری تولید مکمل خوراک دام بر اساس ملاس و فضولات طیور. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.
- فضائلی، ح.، ح. غلامی، م. زاهدی فر، ف. امینی، ق. مقصودی نژاد، ا. اکبری و ن. تیمور نژاد. ۱۳۹۰. اثر سطوح مختلف کود مرغی عمل آوری شده در جیره غذایی بر قابلیت هضم و مصرف اختیاری خوراک در گوسفند. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.
- فضائلی، ح.، ع. صابری، ع. شبانی، ب. مهدوی، آفاشاهی و ز. عبادی. ۱۳۹۱. اثر کاربرد سطوح مختلف کود مرغی عمل آوری شده در جیره غذایی گوساله پرواری. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.
- فضائلی، ح.، ن. پاپی، ز. عبادی، ا. اکبری و ا. عزیزی شتر خفت. ۱۳۹۱. اثر کاربرد سطوح مختلف کود مرغی عمل آوری شده در جیره غذایی گوسفند پرواری. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.
- Abebe, G., Merkel, R.C., Animut, G., Sahl, T. and Goetsch, A.L. (2004). Effects of ammoniation of wheat straw and supplementation with soybean meal or broiler litter on feed intake and digestion in yearling Spanish goat wethers. *Small Ruminant Research*, 51:37-46.
- Abu Akkada, A.R. and Howard, B.H. (1960). The biochemistry of rumen protozoa. 3. The carbohydrate metabolism of *Entodinium*. *Biochemistry Journal*, 76:445-451.
- Agricultural and Food Research Council, (1992). Technical committee on responses of nutrients, Report No 9. Nutritive requirements of ruminant animal: Protein. *Nutrition Abstract and Review.*, Series b, 62(12), 787-835, CAB International, Wallingford, Oxon.
- Al-Marsi, M.R. and Zarkawi, M. (1999). Digestibility and composition of broiler litter, as effect by gamma irradiation. *Bioresearch Technology*, 69:129-132.
- AOAC. (1990). Official method of analysis, 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Araba, A., Byers, F.M. and Guessous, F. (2002). Patterns of rumen fermentation in bulls fed barley/molasses diets. *Animal Feed Science and Technology*, 97:53-64.
- Arieli, A., Petch, H., Zamwell, S. and Tagari, H. (1991). Nutritional adaptation of herfers to diets containing poultry litter. *Journal of Livesock Production Science*, 28:53-63.

- Ben Salem, H., Nefzaoui, A., Ben Salem, L. and Tisserand, J.L. (1999). Intake, digestibility, urinary excretion of purine derivatives and growth by sheep given fresh, air dried polyethylene glycol-treated foliage of *Acacia cyanophylla Lindl.* *Animal Feed Science and Technology*, 78:297-311.
- Benavides, M.C. and Rodriguez, J. (1971). Salivary secretion and its contribution to ruminal fluid flow in animals fed on liquid molasses/based diets. *Rev. Cuban Scienc of Agricultural Engineering*, 5:31-40.
- Bhattacharya, A.N. and Fontenot, J.P. (1965). Utilization of different levels of poultry litter nitrogen by sheep. *Journal of Animal Science*, 24:1174-1178.
- Boucher S.E., Ordway, R.S., Whitehouse, N.L., Lundy, F.P., Kononoff, P.J. and Schwab, C.G. (2007). Effect of incremental urea supplementation of a conventional cor silage-based diet on ruminal ammonia concentration and synthesis of microbial protein. *Journal of Dairy Science*. 90:5619-5633.
- Brockman, R.P. (1993). Glucose and short-chain fatty acid metabolism. Pages 249–265 in *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. J. M. Forbes, ed. CABI Publ., Cambridge, MA.
- Broderick, G.A, and Kang, J.H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 54: 1176-1183.
- Broderick, G.A. and Radloff, W.J. (2004). Effect of molasses supplementation on the production of lactating dairy cows fed diets based on alfalfa and corn silage. *Journal of Dairy Science*, 87:2997-3009.
- Bunting, L.D., Yavuz, M., Fernandez, J.M. and Solaiman, S.G. (2002). Growth and metabolic responses of Holstein calves fed broiler litter-based diets supplemented with L- carnitine. *Animal Feed Science and Technology*, 98:61-71.
- Capucille, D.J., Poore, M.H. and Rogers, G.M. (2004). Growing and finishing performance of steers when fed recycled poultry bedding during the growing period. *Journal of Animal Science*, 82:3038-3048.
- Cardenas Garcia, D., Newbold, C.J., Galbraith, H., Topps, J.H., Chen, X.B. and Rooke, J.A. (1993). Rice polishings as an alternative to sugar cane molasses as a supplement with urea to low-quality forage diets for ruminants. *Animal Production*, 56:85-92.
- Carver, L.A. (2007). Sugar aids lactating dairy cattle production. *Feedstuffs*. Vol. 79, No. 02, January 8.
- Caswell, L.F., Fontenot, J.P. and Webb, K.E. (1975). Effect of processing method on pasteurization and nitrogen components of broiler litter and on nitrogen utilisation by sheep. *Journal of Animal Science*, 40:750-759.
- Caswell, L.F., Webb K.E. and Fontenot, J.P. (1977). Fermentation nitrogen utilization, digestibility and palatability of broiler litter ensiled with high moisture corn grain. *Journal of Animal Science*, 44:803-813.
- Chamberlain, D.G. and Choung, J.J. (1995). The importance of rate of ruminal fermentation of energy sources in diets for dairy cows. Pages 3-27 in *Recent Advances in Animal Nutrition*. P.C. Garnsworthy and D.J.A. Col, eds. Nottingham University Press, Nottingham, U.K.
- Chamberlain, D.G. and Thomas, P.C. (1983). The effect of supplemental methionine and inorganic sulphate on the ruminal digestion of grass silage in sheep. *Journal of Food Science and Agriculture*, 34:440-446.

- Chamberlain, D.G., Robertson, S. and Choung, J.J. (1993). Sugars versus starch as supplements to grass silage: effects on ruminal fermentation and the supply of microbial protein to the small intestine, estimated from the urinary excretion of purine derivatives in sheep. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 63:189-194.
- Chaudhry, L.C., Srivastava, A. and Singh, K.K. (1995). Rumen fermentation pattern and digestion of structural carbohydrates in buffalo (*Bubalus bubalis*) calves as affected by ciliate protozoa. *Animal Feed Science and Technology*, 56:111-117.
- Chen, X. B. and Gomes, J. M. (1995). Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives an Overview of the Technical Details. Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen AB2 9SB. UK.
- Church, D.C. (1979). Digestive physiology and nutrition of ruminants. Second edition, Vol 2. O&B Books. Inc. 36-37.
- Ciszuk, A.U. and Gebregziabher, T. (1994). Milk urea as an estimate of urine nitrogen of dairy cows and goats. *Acta Agriculture Scandinavia*, 44:87-95.
- Clark, J., Greeken, C.M., Preston, T.R. and Zamora, A. (1973). Molasses as energy source in low fiber diets for milk production. Part3. The effect of varying the molasses: grain ratio in a low fiber basal diet. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 7:155-167.
- Clark, J.H., Klusmeyer, T.H. and Cameroon, M.R. (1992). Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. Symposium: nitrogen metabolism and amino acid nutrition in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 75:2304-2323.
- Cross, D.L., Skelley, G.C. and Thompson, C.S. (1978). Efficacy of broiler litter silage for beef steers. *Journal of Animal Science*, 47:544-551.
- Cullison, A.E., Campell, H.C., Cunnigham, A.C., Lowery, R.S., Warren, E.P., Mclendon, B.D. and Sherwood, D.H. (1976). Use of poultry manures in steer finishing rations. *Journal of Animal Science*, 42:219-228.
- Daniel, J. and Olson, K.C. (2005). Feeding poultry litter to beef cattle. Department of Animal Science, University of Missouri Extension Publication, G277. Available in: <http://extension.missouri.edu/xplor/agguides/ansci/g02077.html>.
- Eadie, J.M., Hyldgraard-Jensen, J., Mann, S.O., Ried, R.S. and Whitelaw, F.G. (1970). Observation of the microbiology and biochemistry of the rumen in the cattle given different quantities of a pellets barley ration. *British Journal of Nutrition*, 24:157-177.
- Elemam, M.B., Fadelelseed, A.M. and Salih, A.M. (2009). Growth performance, digestibility, N-balance and rumen fermentation of lambs fed different levels of deep-stack broiler litter. *Research Journal of Animal and Veterinary Science*, 4:9-16.
- Faithfull, N.T., 2002. *Methods in Agricultural Chemical Analysis: A Practical Handbook*. CAB International, 304 pp.
- Feng, P., Hoover, W.H., Miller, T.K. and Blauwie, R. (1993). Interaction of fiber and nonstructural carbohydrates on lactation and ruminal function. *Journal of Dairy Science*, 76:1324-1333.
- Ferguson, N.S., Gates, R.S., Taraba, J.L., Cantor, R.H., Pescatore, A.J., Straw, M.L., Ford, M.J. and Burnham, D.J. (1998). The effect of dietary protein and phosphorous on ammonia concentration and litter composition in broilers. *Poultry Science*, 77:1085-1093.
- Fontenot, J.P. (2000). Utilization of poultry litter as feed for beef cattle. *Animal Residuals Management*. 19:234-252.

- Friggens, N.C., Oldham, J.D., Dewhurst, R.J. and Horgan, G. (1998). Proportions of volatile fatty acids in relation to the chemical composition of feeds based on grass silage. *Journal of Dairy Science*, 81:1331-1344.
- Givens, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E. and Omed, H.M. (2000). *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*, First Ed. CABI Publishing, Walingford, Oxon, Ox108 DE.
- Goetsch, A.L., Anthony, N.B., Woodley, M.A. and Tabler, G.T. (1998). Chemical constituents in broiler litter in two areas of a production unit after different numbers of growing periods. *Bioresearch Technology*, 65:151-157.
- Harmon, B.W.A., Fontenot, J.P. and Webb, K.E. (1974). Effect of processing method of broiler litter on nitrogen utilization by lambs. *Journal of Animal Science*, 39:942-946.
- Harris, L.E. (1970). *Nutrition research techniques for domestic and wild animals*. Vol. 1. Utah State University, Logan, Utah. USA.
- Hatch, C.F. and Besson, W.M. (1972). Effect of different levels of cane molasses on nitrogen and energy utilization in urea rations for steers. *Journal of Animal Science*, 35:854-858.
- Hindrichsen, I.K., Osuji, P.O., Odenyo, A.A., Madsena, J. and Hvelplund, T. (2002). Effects of supplementation of basal diet of maize stover with different amounts of *Leucaena diversifolia* on intake, digestibility, nitrogen balance and rumen parameters in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 98:131-142.
- Huhtanen, P. (1988). The effects of barley, unmolassed sugar-beet pulp and molasses supplements on organic matter, nitrogen and fiber digestion in the rumen of cattle given a silage diet. *Animal Feed Science and Technology*, 20:259-278.
- Huntington, G.B. (1997). Starch utilization by ruminants: From basics to bunk. *Journal of Animal Science*, 75:825-867.
- Jakhmola, R.C., Kundu, S.S., Panj, M.L., Kiran Singh, Kamara, D.N. and Singh, R.S. (1988). Animal excreta as ruminants feed-scope and limitations under Indian conditions. *Animal Feed Science and Technology*, 19:1-32.
- Jordaan, J.D. (2004). The influence of bedding material and collecting period on the feeding value of broiler and layer litter. Department of Animal, Game and Grassland Science, University of the Free State. South Africa.
- Jouary, J.P. (1996). Effect of rumen protozoa on nitrogen utilization by ruminants. *Journal of Nutrition*, 126:1335S-1346S.
- Kellogg, D.W. (1969). Influence of sucrose on rumen fermentation pattern and milk fat content of cows fed a high-grain ration. *Journal of Dairy Science*, 52:1601-1604.
- Khalil, I.A., El-Sayaad, G.A.E., Khalil, H.H. and Redman, M. (1995). Inclusion of dehydrated broiler litter in friesian calves diets. 1- Effect on digestibility, body weight gain and feed conversion. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*. 33:137-145.
- Khan, M.J., Alam, M.S., Akbar, M.A. and Kamruzzaman, M. (2008). Broiler litter and layer manure in the diet of growing bull calves. *The Bangladesh Veterinarian*, 25:62- 67.
- Kim, K.H., Lee, S.S. and Kim, K.J. (2005). Effect of intraruminal sucrose infusion on volatile fatty acid production and microbial protein synthesis in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 18:350-353.
- Kitching, (1986). The uses and dangers of poultry litter in feeding in cattle. South African Veterinary Association. Biannual Congress, August 1986.

- Martin, R.J. and Wing, J.M. (1966). Effect of molasses level on digestibility of a high concentrate ration and on molar proportions of volatile fatty acid produced in the rumen of dairy steers. *Journal of Dairy Science*, 49:846-849.
- Mavimbela, D.T., (2000). The nutritional value of broiler litter as a feed source for sheep during periods of feed shortage. PhD Thesis, University of Pretoria.
- McDonald, P., Edwards, R.A., and Greenhalgh, J.F.D. (2002). *Animal Nutrition*. 6th ed., Longman Group UK, Harlow, UK, Pp 693.
- Mekasha, Y., Merkel, R.C., Goetsch, A.L., Sahlu, T. and Tesfai, K. (2004). Effects of method of offering broiler litter and level of prairie hay intake on growth of Boer × Spanish wethers. *Small Ruminant Research*, 55:123-133.
- Mendoza, G.D., Britton, R.A. and Stock, R.A. (1993). Influence of ruminal protozoa on site and extent of starch digestion and ruminal fermentation. *Journal of Animal Science*, 71: 1572-1578.
- Merchen, N.R. (1988). Digestion, absorption and excretion in ruminants. Page 172 in *The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*. D.C. Church, ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Muia, J.M.K., Tamminga, S., Mbugua, P.N. and Kariuki, J.N. (2001). Effect of supplementing napier grass (*Pennisetum purpureum*) with poultry litter and sunflower meal based concentrates on feed intake and rumen fermentation in Friesian steers. *Animal Feed Science and Technology*, 92:113-126.
- Murphy, J.J. (1999). The effects of increasing the proportion of molasses in the diet of milking dairy cows on milk production and composition. *Animal Feed Science and Technology*, 78:189-198.
- Nahm, K.H., (2003). Evaluation of nitrogen content in poultry manure. *Journal of World Poultry Science*. 59:77-88.
- Negesse, T., Patra, A.K., Dawson, L.J., Tolera, A., Merkel, R.C., Sahlu, T. and Goetsch, A.L. (2007). Performance of Spanish and Boer×Spanish doelings consuming diets with different levels of broiler litter. *Small Ruminant Research*, 69:187-197.
- Oba, M. (2011). Effects of feeding sugars on productivity of lactating dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 91:37-46.
- Obara, Y. and Dellow, D.W. (1993). Effects of intraruminal infusions of urea, sucrose or urea plus sucrose on plasma urea and glucose kinetics in sheep fed chopped Lucerne hay. *Journal of Agricultural Science*, 121:125-130.
- Obeidat, B.S., Awawdeh, M.S., Abdullah, A.Y., Muwalla, M.M., Abu Ishmais, M.A., Telfah, B.T., Ayrout, A.J., Matarneh, S.K., Subih, H.S. and Osaili, T.O. (2011). Effects of feeding broiler litter on performance of Awassi lambs fed finishing diets. *Animal Feed Science and Technology*, 165:15-22.
- Oltjen, R.R., Slyter, L.L., Kozak, A.S. and Williams E.E. (1968). Evaluation of urea, biuret, urea phosphate and uric acid as NPN sources for cattle. *Journal of Nutrition*, 94:193-202.
- Ørskov, E.R. (1992). *Protein in ruminants*. Second ed. Academic press limited London.
- Pate, F.M. (1983). *Molasses in beef nutrition*. National Feed Ingredients Association, West Des Moines, Iowa.
- Patil, A.R., Goetsch A.L., Kouakou, B., Galloway, D.L., Forster, L.A. and Park, K.K. (1995). Effects of corn vs. corn plus wheat in forage-based diets containing broiler litter on feed

- intake, ruminal digesta characteristics and digestion in cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 55:87-103.
- Penner, G.B., Guan, L.L. and Oba, M. (2009). Effect of feeding fermenten on ruminal fermentation in lactating Holstein cows fed two dietary sugar concentrations. *Journal of Dairy Science*, 92:1725-1733.
- Petit, H.V. and Veira, D.M. (1994). Digestion characteristics of beef steers fed and different levels of energy with or without protein supplementation. *Journal of Animal Science*, 72: 3213-3220.
- Pugh, D.G., Rankins, D.L., Eason, J.T., Wenzel, J.G.W. and Spano, J.S. (1994). The effect of feeding broiler litter on the serum calcium, phosphorous and magnesium concentration of beef brood cows. *Veterinary Clinics North American Food Animal Practice*, 1:18-22.
- Rankins, D.L., Poore, M.H., Capucille, D.J. and Rogers, G.M. (2002). Recycle poultry bedding as cattle feed. *Veterinary Clinics North American Food Animal Practice*, 18:253-266.
- Rude, B.J., Rankins, D.L. and Dozier, W.A. (1994). Nitrogen and energy metabolism and serum constituents in lambs given poultry litter processed three deep-staking methods. *Animal Production*, 58(1):95-101.
- Ruffin, B.G. and McCaskey, T.A. (1993). Practical feeding of biodegradable animal wastes to farm animals. *Proceeding Poultry Waste Management and Water Quality Workshop*.
- Russell, J.B. (2002). *Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition*. Cornell University, Ithaca, NY.
- Sahoo, A., Agarwal, N., Kamra, D.N., Chaudhary, L.C. and Pathrak, N.N. (1999). Influence of level of molasses in de-oiled rice bran-based concentrate mixture on rumen fermentation patterns in crossbred cattle calves. *Animal Feed Science and Technology*, 80:83-90.
- Salter, D.N., Daneshvar, k. and Smith, R.H. (1979). The origin incorporated into compounds in the rumen bacteria of steers given protein and urea containing diets. *British Journal of Nutrition*, 41(1):197-209.
- Sannes, R.A., Messman, M.A. and Vagnoni, D.B. (2002). Form of rumen-degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85:900-908.
- Sattar, L.D. and Roffler, R.E. (1978). *Influence of nitrogen and carbohydrate inputs on rumen fermentation*. Inc., Boston. MA.
- Satter, L.D. and Slyter, L.L. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of Nutrition*, 32:199-208.
- Seo, J.K., Yang, J., Kim, H.J., Upadhaya, S.D., Cho, W.M. and Ha, J.K. (2010). Effect of synchronization of carbohydrate and protein supply on ruminal fermentation, nitrogen metabolism and microbial protein synthesis in Holstein steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 23:1455-1461.
- Smith, L.W. and Cavert, C.C. (1976). Dehydrated broiler excreta versus soybean meal as nitrogen supplements for sheep. *Journal of Animal Science*, 43:1286-1292.
- Sniffen, C.J., Connor, J.D., Van Soest, P.J., Fox, D.G. and Russell, J.B. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, 70:3562-3577.
- Stewart, C.S. and Duncan, S.H. (1985). The effect of avoparcin on cellulolytic bacteria of the ovine rumen. *Journal of General Microbiology*, 131:427-435.

- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., de Haan, C., (2006). Livestock's Long Shadow. Environmental Issues And Options. Livestock, Environment and Development Initiative. United Nations Food and Agriculture Organization, Rome.
- Sutoh, M., Obara, Y., and Miyamoto, S. (1996). The effect of sucrose supplementation on kinetics of nitrogen, ruminal propionate and plasma glucose in sheep. *Journal of Agricultural Science*, 126:99-105.
- Swingle, R.S., Araiza, A. and Urias, A.R. (1977). Nutrition utilization by lambs fed wheat straw alone or with supplement containing dried poultry waste, cotton seed meal or urea. *Journal of Animal Science*, 45:1435-1441.
- Talib, N.H. and Ahmed, F.A. (2008). Performance and carcass characteristics of intact Zebu Bulls fed different levels of deep stacked poultry litter. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(11):1467-1473.
- Tamir, B., Tsadik, A.G. and Melaku, S. (2008). Inclusion of different proportions of poultry litter in the rations of yearling Hararghe Highland Gats. *Livestock Research for Rural Development*, 20 (3).
- Underwood, E.J. (1971). Trace elements in Human and Animal nutrition. Third. Ed. Academic press. P:124.
- Vaithyanathan, S., Bhatta, R., Mishra, A.S., Prasad, R., Verma, D.L. and Singh, N.P. (2006). Effect of feeding graded levels of *prosopis cineraria* leaves on rumen ciliate protozoa, nitrogen balance and microbial protein synthesis in lambs and kids. *Animal feed Science and Thechnology*, 133(3):177-191.
- Vallimont, J.E., Bargo, F., Cassidy, T.W., Luchini, N.D., Broderick, G.A. and Varga, G.A. (2004). Effects of replacing dietary starch with sucrose on ruminal fermentation and nitrogen metabolism in continuous culture. *Journal of Dairy Science*, 87: 4221-4229.
- Van Houtert, M.F.J. (1993). The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants fed roughage: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 43:189-225.
- Van Ryssen, J.B. and Mavimbela, D.T. (1999). Broiler litter as a source of selenium for sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 78:894-902.
- Van Ryssen, J.B.J. (2000). Poultry litter as a feed ingredient for ruminant: the South African situation. *South African Society of animal science*. Available in: [http://www.sasas.co.za/Popular/ Popular.html](http://www.sasas.co.za/Popular/Popular.html)
- Van Soest, P.J. (1994). Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Cornell University Press, New York.
- Wright, P.A. (1995). Review: Nitrogen excretion: three end product, many physiological roles. *Journal of Experimental Biology*. 198:273-281.
- Yanez Ruiz, D.R., Martin Garsia, A.I., Momen, A. and Molina, A.E. (2004). Ruminal fermentation and degradation patterns, protozoa population and urinary purine derivatives excretion in goats and wethers fed diets based on two stage olive cake: Effect of PEG supply. *Journal of Animal Science*, 82:2023-2032.
- Yashim, S.M., Abdul, S.B. and Jokthan, G.E. (2008) Effects of Supplementing Sorghum Stover with Poultry Litter on Performance of Wadara Cattle. *American Eurasian Journal of Agronomy*, 1:16-18.
- Zinn, R.A., Barajas, R., Montano, M. and Shen, Y. (1996). Protein and energy values in dehydrated poultry excreta for feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 74:2331-2335.

فصل ششم

پیوست ها

اندازه گیری اسیدهای چرب فرار

محلول ۲- اتیل بوتیریک اسید به عنوان استاندارد داخلی استفاده گردید. مرحله اول شامل آماده سازی نمونه‌ها در داخل لوله‌های ۲ میلی‌لیتری "اپندورف" بوده و مرحله بعدی قرائت میزان اسیدهای چرب فرار بر حسب میلی‌مول در لیتر می‌باشد. این فرایند دارای دو مرحله است:

۱- آماده سازی نمونه

۲- انجام آزمایش اندازه گیری اسید چرب فرار زنجیر کوتاه توسط گاز کروماتوگرافی.

مرحله اول: آماده سازی نمونه‌ها

روش کار و محلول‌های مورد نیاز:

۱- محلول اورتوفسفریک اسید ۲۰ درصد به مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر.

۲- اتیل بوتیریک اسید ۲۰ میلی مولار:

۳- محلول OPAEB

۱- تهیه اورتوفسفریک اسید ۲۰ درصد

از آن جایی که اورتوفسفریک خالص موجود در آزمایشگاه ۸۵ درصد است لذا با استفاده از فرمول زیر مقدار مورد نیاز جهت تهیه اورتوفسفریک ۲۰ درصد محاسبه شد (چند میلی‌لیتر از اورتوفسفریک ۸۵ درصد را برداشته و با به حجم رسانیدن اورتوفسفریک ۲۰ درصد تهیه می‌شود).

$$N_1.V_1=N_2.V_2$$

$$85\%. V_1=20\% . 100$$

$$V_1=23.529 \text{ ml}$$

در صورتی که حجم ۲۳/۵۲۹ میلی‌لیتر اسید اورتوفسفریک ۸۵ درصد توسط ۷۶/۴۷ میلی‌لیتر آب مقطر به ۱۰۰ رسانیده شود، ۱۰۰ میلی‌لیتر اورتوفسفریک ۲۰ درصد بدست می‌آید.

۲- اتیل بوتیریک اسید ۲۰ میلی مولار

محلول ۲- اتیل بوتیریک اسید، به عنوان اسید چرب زنجیر کوتاه استاندارد داخلی در این آزمایش به کار برده شد. وزن مولکولی ۲- اتیل بوتیریک اسید ۱۱۶/۱۶ می‌باشد. بنابراین ۲/۳۲۳ گرم به مول از این اسید معادل ۲۰ میلی مولار ۲- اتیل بوتیریک اسید می‌باشد. به دلیل اینکه درجه خلوص ۲- اتیل بوتیریک اسید ۰/۹۹٪ است، بنابراین:

$$2/323 \div 0/99 = 2/35 \text{ g}$$

پس ۱ گرم از ۲- اتیل بوتیریک اسید معادل ۱ میلی‌لیتر از این اسید می‌باشد.

۱- ۲۳۵ میکرولیتر از این اسید (۲- اتیل بوتیریک اسید) به ۱۰۰ میلی‌لیتر از اورتوفسفریک اسید ۲۰ درصد اضافه می‌شود و مخلوط این دو اسید (OPAEB) نامیده می‌شود.

$$\text{OPAEB} = 235 \text{ میکرولیتر } 2\text{- اتیل بوتیریک اسید} + 100 \text{ میلی لیتر اورتوفسفریک اسید } 20\%$$

۲- محلول بالا (OPAEB) می بایستی به خوبی مخلوط گردد.

۳- ۱/۵ میلی لیتر از هر نمونه (مایع شکمبه) با ۰/۳۷۵ میلی لیتر محلول (OPAEB) (۳۷۵ میکرولیتر) درون میکروتیوب های ۲ میلی لیتری ریخته شد به نحوی که نسبت نهایی مایع شکمبه به محلول تهیه شده ۴ به ۱ بود (۴ مایع شکمبه به ۱ محلول OPAEB).

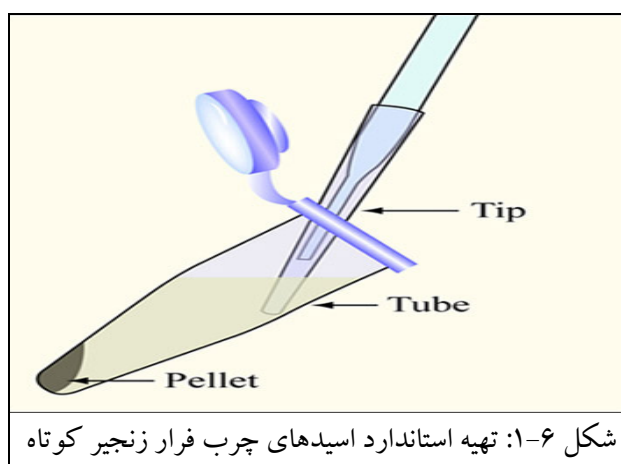
۴- مخلوط حاصل ورتکس شد تا به خوبی همگن گردد.

۵- در نهایت محتویات درون میکروتیوب ها (مخلوط مایع شکمبه و محلول OPAEB) با دور ۱۴۰۰۰ rpm برای ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید.

۷- محلول رویی (Supernatant) حاصل از سانتریفیوژ جهت ذخیره در دمای ۲۰- سانتیگراد نگهداری شد تا بعداً اسیدهای چرب آن را توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی قرائت شود.

مرحله دوم: قرائت توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی

برای تعیین محل پیک هر یک از اسیدهای چرب مورد مطالعه ابتدا استاندارد هر یک از اسیدهای چرب فرار اسیداستیک، اسید پروپیونیک، اسید بوتیریک، ایزووالریک، والریک اسید و اسید استاندارد ۲-اتیل بوتیریک اسید به شرح زیر تهیه شد (شکل ۱-۶).



مقدار ۱ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر و ۵ میکرولیتر از هر کدام از اسیدهای چرب زنجیر کوتاه خالص در داخل لوله های اپندورف ۱/۵ میلی لیتری ریخته و به خوبی یکنواخت شد. سپس ستون مویی (کاپیلاری) روی دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) نصب نموده و مقادیر ۰/۲ میکرولیتر از هر استاندارد تهیه شده به ترتیب اسیداستیک، اسید پروپیونیک، اسید بوتیریک، ایزووالریک، والریک اسید و اسید استاندارد ۲-اتیل بوتیریک به دستگاه تزریق گردید. بعد از تزریق، زمان تشکیل پیک مورد نظر را مشخص نموده و نتایج به صورت چاپ شده دریافت گردید. در پایان آزمایش، دستگاه زمان های زیر را برای هر پیک نشان داد. بعد از تشخیص زمان تشکیل هر پیک برای هر اسید چرب فرار، اقدام به تزریق ۰/۲ میکرولیتر از هر نمونه مورد آزمایش به دستگاه شد.

جدول ۶-۱- زمان تشکیل پیک اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر

ردیف	اسید چرب فرار	زمان تشکیل پیک / دقیقه	تعداد کربن	فرمول شیمیایی
۱	اسید استیک	۰/۶۸۳	C ₂	CH ₃ COOH
۲	اسید پروپیونیک	۱/۱۰	C ₃	CH ₃ CH ₂ COOH
۳	اسید بوتیریک	۱/۵۵۸	C ₄	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH
۴	اسید ایزو والریک	۱/۷۹۲	C ₅	CH ₃ (CH ₂) ₃ COOH
۵	اسید والریک	۲/۱۶۷	C ₅	CH ₃ (CH ₂) ₃ COOH
۶	۲-اتیل بوتیریک اسید	۲/۲۵۸	C ₄	(C ₂ H ₅) ₂ CHCOOH

تقریباً زمان اتمام قرائت کامل هر تزریق ۱۵ دقیقه می باشد. به منظور جلوگیری از بروز خسارت به ستون مویی و افزایش دقت در برآورد مقدار هر اسید چرب ضرورت دارد مدت ۱۵ دقیقه کامل برای هر تزریق رعایت شود. با استفاده از فرمول زیر مقدار هر یک از اسیدهای چرب فرار زنجیر کوتاه محاسبه شد (ستیوارت و دانکن^{۱۱۳}، ۱۹۸۵).

$$VFA_{mM} = \frac{xArea \times \left[\frac{20mM}{Int.Area} \right]}{W_{RF}}$$

VFA_{mM}: مقدار اسید میلی مولار، xArea: سطح زیر پیک اسید چرب مجهول

Int. Area: سطح زیر پیک اسید اینترنال، W_{RF}: وزن ۱/۵ میلی لیتر مایع شکمبه که برابر با ۱/۵۲ گرم است

اندازه گیری آمونیاک مایع شکمبه

ابتدا از هر گوسفند مقدار ۲۰ میلی لیتر مایع شکمبه گرفته شد و با استفاده از چهار لایه پارچه متقال صاف گردید. سپس این شیرابه با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال (۱۶/۵ میلی لیتر HCl با آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانده شود) به نسبت ۵ به ۱ (پنج شیرابه به یک HCl ۰/۲ نرمال) رقیق گردید و تا روز آزمایش فریز شد.

۱- محلول های مورد نیاز

الف) هیپوکلریت قلیایی: برای ساخت این محلول به روش زیر عمل شد:

۱- ۱۵ گرم سود در ۲ لیتر آب مقطر حل گردید.

۲- سپس ۱۱۳/۶ گرم دی سدیم هیدروژن فسفات ۷ آبه (Na₂HPO₄.7H₂O) اضافه شد و به وسیله حرارت ملایم مخلوط شدند.

۳- مخلوط سرد شد و ۱۵۰ میلی لیتر محلول ۵/۲۵ درصد هیپوکلریت سدیم به آن اضافه گردید.

۴- محلول بالا با آب مقطر به حجم ۳ لیتر رسانده شد.

۵- سپس بوسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عمل فیلتر انجام شد و در بطری پلی اتیلنی و دور از نور در دمای ۲-۶ درجه ی سانتیگراد نگهداری شد (محلول حاصل برای ۸ ماه قابل نگهداری و استفاده می باشد).

¹¹³ Stewart and Duncan

ب) محلول فنول:

۱- ۰/۱۵ گرم سدیم نیتروفریسیانید (سدیم نیتروپروسید) (Sodium Nitroprusside (Sodium Nitroferri-cyanide) در ۱/۵ لیتر آب مقطر حل شد.

۲- ۳۳ میلی لیتر فنول مایع ۹۰٪ به آن اضافه گردید.

۳- عمل مخلوط انجام شد و با آب مقطر به حجم ۳ لیتر رسانده شد.

۴- محلول حاصل در بطری شیشه‌ای قهوه‌ای رنگ در دمای ۶-۲ درجه‌ی سانتیگراد نگهداری شد (این محلول برای ۸ ماه قابل نگهداری و استفاده است).

ج) استاندارد آمونیاک (محلول استوک ۱۰۰ میلی مولار آمونیاک):

برای ساخت این محلول، ۰/۶۶۰۷ گرم سولفات آمونیوم (این ترکیب به علت داشتن رطوبت به مدت یک شب در ۱۰۰ درجه سانتیگراد خشک شود) در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر ۰/۱ نرمال اسید کلریدریک (۸/۲۵ میلی لیتر HCl با آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانده شود) حل گردید.

۲- سری محلول‌های استاندارد

جهت آماده‌سازی محلول‌های استاندارد ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ و ۰/۸ میلی مولار با رقیق‌سازی نسبت‌های مختلف محلول استوک تهیه گردید:

۱- محلول استاندارد صفر میلی مولار: ۱۰ میلی لیتر آب مقطر (بدون نیاز به استوک)

۲- محلول استاندارد ۰/۱ میلی مولار: ۰/۱ میلی لیتر از محلول استوک ساخته شده بالا با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده شد.

۳- محلول استاندارد ۰/۲ میلی مولار: ۰/۲ میلی لیتر از محلول استوک ساخته شده بالا با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده شد.

۴- محلول استاندارد ۰/۴ میلی مولار: ۰/۴ میلی لیتر از محلول استوک ساخته شده بالا با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده شد.

۵- محلول استاندارد ۰/۶ میلی مولار: ۰/۶ میلی لیتر از محلول استوک ساخته شده بالا با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده شد.

۶- محلول استاندارد ۰/۸ میلی مولار: ۰/۸ میلی لیتر از محلول استوک ساخته شده بالا با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده شد.

د) مایع شکمبه:

۳- روش کار

ابتدا ۳ میلی لیتر مایع شکمبه درون لوله‌های ۵۰ میلی لیتری ریخته شد و برای ۱۰ دقیقه عمل سانتریفیوژ با ۱۵۰۰ دور در دقیقه انجام شد. سپس نمونه‌ها به مقدار کافی رقیق شدند. مقدار ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه یا استاندارد در لوله آزمایش ریخته (بلانک ۵۰ میکرولیتر آب مقطر است)، سپس به هر کدام مقدار ۲/۵ میلی لیتر محلول فنول و ۲ میلی لیتر هیپوکلریت قلیایی پیست شد. ورتکس انجام شد و برای ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد (۵ دقیقه در ۹۰ درجه سانتیگراد) قرار داده شد. پس از خنک شدن، جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت شد.

محاسبات:

انتقال داده‌ها بر روی نرم‌افزار EXCEL، رسم منحنی استاندارد و تعیین معادله رگرسیونی، با توجه به این معادله مقدار هریک از نمونه‌ها تعیین شد.

تعیین مشتقات پورینی :

۱- رقیق‌سازی نمونه‌های ادرار

نمونه‌های ادراری که قبل از ذخیره‌سازی رقیق شده بود، دوباره بر روی آن‌ها رقیق‌سازی انجام گرفت. رقیق‌سازی مجدد به این دلیل بود که غلظت نمونه‌های نهایی باید در دامنه‌ی استانداردها قابل اندازه‌گیری باشد. به طور معمول برای این که غلظت تک تک مشتقات پورینی نمونه‌ها در دامنه استانداردها (۴۰-۱۰ میلی گرم در لیتر) قابل اندازه‌گیری باشد، نمونه‌های ادرار برای اندازه‌گیری آلانتوئین به طور معمول ۶۸-۱۷ بار (متوسط ۵۵ بار) و برای اسید اوریک ۱۲-۳ بار (متوسط ۵ بار) با آب مقطر رقیق شد.

برای این کار از ۴ عامل شامل: مصرف خوراک روزانه، ماده خشک جیره، ماده آلی جیره و قابلیت هضم ماده آلی استفاده شد و رقیق‌سازی طبق مراحل زیر تعیین گردید:

الف) تعیین ماده آلی قابل هضم در شکمبه (Digestible Organic Matter Fermented in the Rumen= DOMR)
 $MOMR = \text{feed intake} \times \text{DM content} \times \text{OM content} \times t \text{ OM digestibility} \times 0.65$

ب) محاسبه نیتروژن میکروبی (Microbial Nitrogen= MN)

$$MN = 32 \text{g/kg DOMR}$$

پ) محاسبه مقدار مشتقات پورینی جذب شده بوسیله حیوان (Pa)

$$Pa \text{ (mmol/d)} = MN \text{ (gM/d)} \div 0.727$$

ت) محاسبه مشتقات پورینی دفع شده (Purine Derivatives Excretion= PDe)

$$PDe = 0.84 Pa + 2$$

۲) مقدار مشتقات پورینی آندوژنوس (mmol/d)

س) محاسبه آلانتوئین دفع شده (Allantoin Excretion= Ae)

$$Ae \text{ (mmol/d)} = PDe \times 0.85$$

ج) محاسبه اسید اوریک دفع شده (Uric Acid Excretion= UAe)

$$UAe \text{ (mmol/d)} = PDe \times 0.15$$

ه) محاسبه فاکتور رقت (Dilution Factor)

آلانتوئین:

$$\text{Allantoin (mg/L of urine)} = Ae \text{ (mg/d)} \div \text{urine produced daily}$$

اسید اوریک:

$$\text{Uric acid (mg/L of urine)} = UAe \text{ (mg/d)} \div \text{urine produced daily}$$

۲- اندازه‌گیری آلانتوئین به وسیله روش رنگ سنجی (Colorometric Method)

در این روش ابتدا آلانتوئین تحت شرایط بازی ضعیف در دمای بالا هیدرولیز شده و اسید آلانتوئیک تولید می‌گردد. این اسید در محیط اسیدی ضعیف به اوره و اسید گلای اگزالیک تبدیل می‌شود. اسید گلای اگزالیک با فنیل هیدرازین هیدروکلرید واکنش داده و فنیل هیدرازون تولید می‌گردد. این واکنش به واکنش ریمینی-اسکریور معروف است.

۲-۱- دستگاه‌های مورد نیاز

اسپکتروفتومتر، بن ماری التراسونیک و آب گرم در حال جوش.

۲-۲- مواد مورد نیاز

- سود ۰/۵ مولار- سود ۰/۰۱ مولار- اسید کلریدریک ۰/۵ مولار- فنیل هیدرازین
- هیدروکلرید ۰/۰۲۳ مولار به صورت تازه - پتاسیم فریک سیانید ۰/۰۵ مولار به صورت تازه
- اسید کلریدریک ۱۱/۴ نرمال سرد شده حداقل در ۲۰ دقیقه قبل از استفاده- حمام الکل ۰/۴۰ نگهداری شده یا محلول اشباع آب و نمک نگهداری شده در دمای ۲۰- درجه سلسیوس- استاندارد آلانتوئین (شرکت سیگما)

۲-۳- تهیه استاندارد

- الف- ابتدا ۵۰ میلی گرم آلانتوئین در ۱۰۰ میلی لیتر سود ۰/۰۱ مولار حل شد و سپس به وسیله آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسانیده شد.
- ب- برای تهیه ۵۰ میلی لیتر استاندارد با غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ میلی گرم در لیتر، به ترتیب ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میلی لیتر از محلول فوق درون بالون‌های ۵۰ میلی لیتری ریخته شد و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد.
- ج- استانداردها در داخل فریز نگهداری و در موقع لزوم یخ گشایی و مورد استفاده قرار گرفت (بهتر است استانداردها روزانه و به صورت تازه تهیه شوند).

۲-۴- تهیه محلول فنیل هیدرازین هیدروکلرید

مقدار ۰/۱۶۶۳ گرم از فنیل هیدرازین هیدروکلرید در ۲۵ میلی لیتر آب مقطر حل گردید و به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد.

۲-۵- تهیه محلول پتاسیم فریک سیانید

مقدار ۰/۸۳۵ گرم از پتاسیم فریک سیانید در ۲۵ میلی لیتر آب مقطر حل گردید و به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد (این مقدار ۵۰ میلی لیتر برای ۱۰ نمونه به ۲ تکرار کافی است).

قبل از آنالیز موارد زیر در نظر گرفته شود:

- الکل یا آب نمک اشباع به مدت یک شب داخل فریزر قرار داده شده باشد.
- اسید کلریدریک غلیظ فقط قبل از استفاده داخل فریزر قرار داده شده باشد.
- بن ماری آب جوش روشن شده باشد.
- اگر نمونه‌ها دارای رسوب‌اند، نمونه‌ها در بن ماری اولتراسونیک به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شود تا ذرات ته نشین شده شکسته شوند.
- محلول فنیل هیدرازین هیدروکلرید و پتاسیم فریک سیانید به صورت تازه تهیه شود.

۲-۶- روش کار

این روش نیازمند ثبت دقیق زمان برای انجام واکنش‌ها می‌باشد. قرائت استانداردها باید در کمترین زمان ممکن صورت گیرد، زیرا با گذشت زمان میزان جذب کاهش می‌یابد. بنابراین، در هر بار قرائت، نمونه‌ها نباید بیشتر از ۱۰ عدد به صورت دوتایی باشد:

- ۱- مقدار یک میلی لیتر از نمونه، استاندارد و آب مقطر (شاهد) درون لوله های ۱۵ میلی لیتری ریخته شد.
 - ۲- به هر لوله ۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد.
 - ۳- یک میلی لیتر سود ۰/۵ مولار اضافه گردید.
 - ۴- محتویات لوله ها توسط همزن به خوبی مخلوط شد.
 - ۵- لوله ها ۷ دقیقه در آب جوش قرار داده شد.
 - ۶- لوله ها از آب جوش خارج شده و در آب سرد خنک شد.
 - ۷- به هر لوله ۱ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۵ مولار اضافه شد (در این مرحله مقدار pH باید بین ۲-۳ باشد).
 - ۸- یک میلی لیتر از محلول فیلیدرازین هیدروکلرید به لوله ها اضافه و مخلوط انجام شد و دوباره به مدت ۷ دقیقه لوله ها در آب جوش قرار داده شد.
 - ۹- لوله ها از آب جوش خارج شده و به منظور کم کردن سرعت واکنش از طریق کاهش دما، در حمام سرد الکل یا آب و نمک یخ زده به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد.
 - ۱۰- مقدار ۳ میلی لیتر از اسید کلریدریک ۱۱/۴ نرمال به هر لوله اضافه شد.
 - ۱۱- مقدار یک میلی لیتر از محلول پتاسیم فریک سیانید به هر لوله اضافه شده و پس از مخلوط کردن محتویات لوله ها، بعد از ۲۰ دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری در طول موج ۵۲۲ نانومتر خوانده شد.
 - ۱۲- فاصله بین قرائت استاندارد ها و نمونه ها باید در کمترین زمان ممکن صورت گیرد.
- نکته: بین مراحل ۸ تا ۱۲ نباید فاصله زمانی پیش بیاید (مراحل باید پشت سر هم انجام شود).

۲-۷- محاسبات

انتقال داده ها بر روی نرم افزار EXCEL و رسم منحنی استاندارد و جذب نوری خوانده شده برای هر نمونه، مقدار آلانتوئین هریک از نمونه ها تعیین شد.

۳- تعیین گزارتین به علاوه هیپوگزارتین به روش آنزیمی

۳-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز

- بافر دی هیدروژن پتاسیم فسفات ۰/۲ مولار با $pH=7/35$. تنظیم pH باید فقط با H_3PO_4 یا KOH صورت گیرد.
- ال- هیستیدین ۴/۳ میلی مولار (۶۶/۸ میلی گرم ال- هیستیدین در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد).
- زانتین اکسیداز: ۲۵ میکرو لیتر از محلول زانتین اکسیداز به ۳ میلی لیتر بافر اضافه شد. (شرکت سیگما، شماره X-1875). این آنزیم ۵۰ واحد (Unit) بوده و حاوی ۲/۶ میلی لیتر محلول می باشد که قبل از استفاده باید در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شود)

- اسید اوریک

۳-۲- تهیه محلول اسید اوریک

۱- ۵۰ میلی گرم اسید اوریک در ۱۰۰ میلی لیتر سود ۰/۰۱ مولار حل گردید و سپس با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسانیده شد.

۲- برای تهیه ۵۰ میکرو لیتر استانداردهای ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی گرم در لیتر، به ترتیب ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی لیتر از محلول بالا درون بالن های ۵۰ میلی لیتری به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد.

۳- استانداردها را در فریزر قرار داده و در موقع لزوم به مقدار لازم برداشته و یخ‌گشایی می‌کنیم که به صورت تازه در دسترس باشند.

۳-۳- روش کار

ابتدا درون لوله‌های ۱۵ میلی‌لیتری یک میلی‌لیتر از هر نمونه، استانداردهای تهیه شده و آب مقطر به عنوان شاهد ریخته شد. این محلول‌ها در ۲ سری تهیه گردید. سپس به ترتیب ۲/۵ و ۰/۳۵ میلی‌لیتر بافر فسفات و ال-هیستیدین اضافه شد و مخلوط شد. در سری اول ۱۵۰ میکرولیتر بافر و در سری دوم ۱۵۰ میکرولیتر محلول زانتین اکسیداز اضافه شد و پس از مخلوط کردن در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ دقیقه قرار داده شد. سپس به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری در طول موج ۲۹۳ نانومتر خوانده شد.

۳-۴- محاسبات

از جذب نوری استانداردهایی که به آن‌ها زانتین اکسیداز اضافه نشده است جهت بدست آوردن معادله استاندارد استفاده می‌شود.

پس از بدست آوردن معادله x, y لگاریتم طبیعی (\ln) را محاسبه کرده معادله خطی زیر بدست می‌آید:

$$\ln(y) = a + \ln(x)$$

میزان افزایش جذب نوری نمونه‌ها (ΔOD) را در اثر افزودن آنزیم زانتین اکسیداز (XO) محاسبه شد:

$$\Delta OD = (\text{میزان جذب بدون افزودن } XO) - (\text{میزان جذب با افزودن } XO)$$

با استفاده از ΔOD محاسبه شده و بر اساس a, b محاسبه شده در معادله استاندارد میزان غلظت نمونه‌های مجهول طبق

رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$C = \text{Exp}((\ln(\Delta OD) - a)/b)$$

C : میزان غلظت نمونه‌های مجهول، ΔOD : میزان افزایش جذب در اثر افزودن آنزیم زانتین اکسیداز، a : عرض از مبدا،

b : شیب خط.

۴- تعیین اسید اوریک به وسیله روش آنزیمی اوریکاز

۴-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز

- بافر دی هیدروژن پتاسیم فسفات ۰/۶۷ مولار و با $pH = 9/4$. تنظیم pH فقط با KOH صورت گیرد.

- آنزیم اوریکاز (شرکت سیگما، شماره U-9375)

- اسید اوریک

۴-۲- تهیه استاندارد

۱- ۵۰ میلی‌گرم اسید اوریک در ۱۰۰ میلی‌لیتر سود ۰/۰۱ مولار حل گردید و سپس با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد.

۲- برای تهیه ۵۰ میلی‌لیتر استانداردهای ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر، به ترتیب ۲/۵، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۳۰ میلی‌لیتر از محلول بالا درون بالن‌های ۵۰ میلی‌لیتری به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شد

۳- حجم کمی از هر استاندارد در فریزر تا زمان استفاده ذخیره شد.

۴-۳- تهیه آنزیم

با استفاده از بافر فسفات محلولی ساخته شد که به ازاء ۱ میلی لیتر ۰/۱۲ واحد اوریکاز داشته باشد. برای جلوگیری از فعالیت آنزیمی، محلول آنزیمی در یخچال قرار داده شد.

۴-۴- روش کار

دو سری از استاندارد و شاهد و نمونه آماده شد.

۱- ۲/۵ میلی لیتر از استاندارد، نمونه و آب مقطر درون لوله های ۱۰ میلی لیتری ریخته شد.

۲- ۱ میلی لیتر بافر فسفات اضافه گردید و محتوای لوله ها به وسیله ورتکس مخلوط شد.

۳- در سری اول، ۱۵۰ میکرولیتر بافر و در سری دوم ۱۵۰ میکرولیتر محلول اوریکاز اضافه شد. دوباره به وسیله ورتکس مخلوط کردن انجام شد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شدند. پس از برداشتن نمونه ها از بن-ماری دوباره مخلوط کردن انجام و سپس به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری در طول موج ۲۹۳ نانومتر خوانده شد. (اگر تغییرات آنزیمی لوله ها کامل شود جذب استانداردهای حاوی آنزیم اوریکاز باید صفر شود، در غیر این صورت نمونه ها را مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری آب گرم قرار داده و مجدداً جذب نوری قرائت می شود).

۴-۵- محاسبات

با استفاده از نرم افزار EXCEL منحنی استاندارد رسم و با توجه به آن مقدار اسید اوریک هر یک از نمونه ها تعیین شد.

Effect of energy source with processed poultry litter on the digestibility and rumen biosyntheses of Sheep

In a completely randomized design, fifteen male Moghani sheep were used to determine the influence of supplementing processed broiler litter (BPL) with different carbohydrate sources (i.e., corn, barley or molasses) on the nutrients digestibility, microbial protein (MP) production, ruminal parameters and blood metabolites. The three dietary treatments, which were iso-caloric and iso-nitrogenous, were corn diet (alfalfa hay, wheat straw, processed BPL, corn grain), barley diet (alfalfa hay, wheat straw, processed BPL, barley grain) and molasses diet (alfalfa hay, wheat straw, processed BPL, molasses). The digestibility of dry matter, crude protein and neutral detergent fiber and MP in sheep fed molasses diet were higher ($P < 0.05$) compared with those fed diets containing corn or barley. However, sheep fed diet containing molasses had lower ($P < 0.05$) ruminal pH and ammonia concentration than those of fed other diets. The rumen volatile fatty acid (VFA) and butyrate concentration were increased ($P < 0.05$) in sheep received molasses diet. From blood metabolites only the blood urea-N concentration in sheep fed diet containing molasses was lower ($P < 0.05$) than that of diet containing corn. In conclusion, adding molasses to processed BPL-containing diet improved microbial protein synthesis and nitrogen retention in sheep.

Keywords: processed poultry litter, energy source, ruminal biosynthesis, sheep

Title: Effect of energy source with processed poultry litter on the digestibility and rumen biosyntheses of Sheep

Approved No: 4-13-13-90044

Research Worker: Hassan Fazaeli

Research Fellow (S): Mojtaba Zahedifar, Nader Papi, Naser Taimournejad, Ayoub Azizi-Shotorkhoft

Research Institute: Animal Science Research Institute (ASRI)

Publisher: Animal Science Research Institute (ASRI)

Circulation: 20

Date of Publishing: October 2013

This Scientific work has been registered with the registration number 43676

19/Oct/2013 of in the Agricultural Information and Scientific Documents Center.

All rights reserved. No Part of this Publication may reproduce or transmitted without the original reference.



Ministry of Jahade-Keshavarzi
Agricultural Research, Education and Extension Organization
Animal Sciences Research Institute

FINAL REPORT OF RESEARCH PLAN

**Effect of energy source with processed
poultry litter on the digestibility
and rumen biosyntheses of Sheep**

Hassan Fazaeli

**Published in: 2013
R/N:43676**