تحقیقات تولیدات دامی
سال دوم/ شماره اول/ بهار ۱۳۹۲ (۱۴-۱)

اثر سطوح مختلف نانو ذرات اکسید روی و اکسید روی بر برخی فراسنجه‌های شکمبه‌ای بزغاله‌های نر مرغوز به روش برون‌تنی و درون‌تنی

خلیل زابلی[۱] و حسن علی عربی[۲*]

۱- دانشجوی دکترای تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۲/۱۲- تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۱۹)

چکیده

در این پژوهش اثر اکسید روی (ZnO) و نانو اکسید روی (nZnO) بر برخی فراسنجه‌های شکمبه در دو آزمایش برون‌تنی و درون‌تنی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی بررسی شد. پنج تیمار آزمایشی شامل سطوح صفر (شاهد)، ۲۰ و ۴۰ قسمت در میلیون عنصر روی از منبع ZnO و ۲۰ و ۴۰ قسمت در میلیون روی از منبع nZnO بود که به جیره پایه مکمل شد. در آزمایش برون‌تنی، فراسنجه‌های روند تخمیر شکمبه‌ای در طول ۱۴۴ ساعت انکوباسیون متوالی (GP_{144}) و حجم گاز تولید شده در طول ۲۴ ساعت انکوباسیون (GP_{24}) و فراسنجه‌های تخمیر مربوطه به‌طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند. در آزمایش درون‌تنی، تعداد ۲۰ رأس بزغاله نر مرغوز ۸-۷ ماهه با میانگین وزن ۳/۷۴± ۱۷/۶۷ کیلوگرم به‌مدت ۱۴ روز از تیمارهای آزمایشی تغذیه شدند و pH، غلظت آمونیاک و کل اسیدهای چرب فرار و نیز جمعیت پروتوزوآها در مایع شکمبه تعیین شد. نتایج نشان داد GP_{144} و GP_{24} و فراسنجه‌های حاصل از آنها (به‌جز حداکثر ظرفیت تولید گاز (A) و فاز تأخیر (L)) و نیز فراسنجه‌های شکمبه‌ای در آزمایش درون‌تنی، تحت تأثیر مکمل روی قرار نگرفتند. اختلاف معنی‌داری در خصوص تعداد کل پروتوزوآها در بین تیمارها مشاهده نشد. بیشترین تعداد مربوط به جنس انتودینیوم و کمترین آن مربوط به جنس ایزوتریشا بود. به‌طورکلی استفاده از سطوح ۲۰ و ۴۰ قسمت در میلیون روی از طریق هر دو مکمل ZnO و nZnO بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای به دو روش برون‌تنی و درون‌تنی اثر معنی‌داری نداشت.

واژه های کلیدی: اکسید روی، فراسنجه های شکمبه، قابلیت هضم، نانو اکسید روی

* نویسندهٔ مسئول: h_aliarabi@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

عنصر روی (Zn) یک عنصر کم‌مصرف ضروری برای کلیه موجودات زنده است. این عنصر در عملکرد بیش از ۳۰۰ نوع آنزیم و سایر اعمال حیاتی بدن از قبیل رونویسی RNA، دفاع در برابر رادیکالهای آزاد و تکثیر و بازسازی DNA نقش دارد (Yang *et al.*, 2009) و به‌دلیل وظایف متابولیک فراوانی که دارد، باید به‌صورت روزانه به جیره حیوانات افزوده شود (Croteau *et al.*, 2010) و برای تغذیه نشخوارکنندگان و میکروارگانیسم‌های شکمبه آنان لازم و ضروری است (Eryavuz and Dehority, 2009). نقش روی به‌عنوان ماده مغذی در فرآیندهای فیزیولوژیک موجودات تک‌سلولی و پرسلولی به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است (Saravanan1 *et al.*, 2003). مصرف روی در جیره نشخوارکنندگان، با تغییر جمعیت میکروبی شکمبه، فرآیند هضم شکمبه‌ای را تغییر می‌دهد (Salem *et al.*, 2011). افزودن روی به جیره به‌مقدار بیش از نیاز حیوان، سبب تغییر فرآیند تخمیر در شکمبه شده و سبب افزایش نسبت اسید پروپیونیک و کاهش نسبت استات به پروپیونات شده و باعث افزایش ارزش انرژی‌زایی جیره می‌شود (Bateman *et al.*, 2004).

در حال حاضر منابع اصلی عنصر روی که در تغذیه حیوانات استفاده می‌شوند، شامل نمکهای معدنی آن است (Garg *et al.*, 2008). در این میان، اکسید روی (ZnO) به‌طور گسترده‌ای در صنعت تغذیه دام و طیور استفاده می‌شود (Wedekind and Baker, 1990). نانو اکسید روی، ماده جدیدی است که با استفاده از علم نانوتکنولوژی تولید و به بازار عرضه شده است. تغییر اندازه ذرات به نانو ذره (اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر) سبب افزایش نسبت سطح به حجم و تغییر در سایر خصوصیات آنها می‌شود. فعالیت ضدباکتری فلزاتی از قبیل روی بستگی به سطح تماس و غلظت آنها دارد. افزایش سطح تماس در نانوذرات اجازه می‌دهد که فعل و انفعالات آنها با مولکول‌های آلی و غیرآلی افزایش پیدا کند و فعل و انفعالات این ماده با مولکولهای آلی و غیرآلی به‌صورت متفاوتی صورت گیرد. بیشتر این خصوصیات و فعل و انفعالات در ذرات نانو هنوز به‌درستی تعیین نشده‌اند (Francisco *et al.*, 2008).

در آزمایشات تغذیه‌ای، روشهای برون‌تنی (*in vitro*) یک ابزار ساده، سریع و راحت برای مطالعه اثرات مواد مصنوعی و ناشناخته است و چون اجازه می‌دهد که تعداد زیادی نمونه در یک زمان کوتاه آزمایش شود، لذا در تغذیه نشخوارکنندگان دارای اهمیت زیادی است (Makkar, 2010).

با توسعه استفاده از نانو اکسید روی در صنایع مختلف، با توجه به امکان استفاده از آن در صنعت تغذیه دام و از آنجا که اطلاعاتی در این زمینه موجود نبود، تصمیم گرفته شد تا اثر عنصر روی از دو منبع اکسید روی و نانو اکسید روی بر فرآیند تخمیر شکمبه به دو روش برون‌تنی و درون‌تنی مورد بررسی و مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب دو آزمایش جداگانه به‌صورت برون‌تنی و درون‌تنی به شرح ذیل انجام شد:

آزمایش برون تنی (*in vitro*)

برای اجرای این آزمایش ابتدا مواد خوراکی مورد استفاده با آسیاب (Glen Creston، انگلستان) مجهز به الک ۱ میلی‌متری آسیاب شدند. جهت اعمال تیمارهای مورد نظر، جیره پایه بر اساس نیاز گوسفندان در حال رشد (گوسفند نر پرواری) و پیشنهاد NRC (2007) تهیه شد (جدول ۱). مواد معدنی مورد نیاز شامل اکسید روی و نانو اکسید روی[1] به‌ترتیب از شرکت مرک آلمان (شماره سریال ۶۱۷۵۷۵۱۰۰۰) و وارداتی توسط شرکت نانو پارس لیما از محصولات شرکت US-nano (آمریکا، شماره سریال US۳۵۹۰) تهیه شدند و تعداد ۵ تیمار آزمایشی شامل سطوح صفر (شاهد)، ۲۰ و ۴۰ قسمت در میلیون عنصر روی به‌شکل مکمل معدنی اکسید روی (ZnO) و سطوح ۲۰ و ۴۰ پی پی ام عنصر روی به شکل نانو اکسید روی (nZnO) فراهم شدند. مایع شکمبه مورد نیاز از تعداد ۳ راس گوسفند نر مهربان مجهز به فیستولا که از جیره‌ای بر پایه علوفه و کنسانتره و مطابق نیاز نگهداری تغذیه می‌کردند به‌دست آمد. مایع شکمبه گرفته شده (قبل از خوراک‌دهی صبح) سریعاً در شرایط بیهوازی و داخل فلاسک به آزمایشگاه تغذیه دام منتقل و توسط پارچه متقال چهار لایه صاف شده و در یک ارلن درب‌دار ریخته شد و پس از وارد نمودن گاز دی‌اکسیدکربن درب آن محکم بسته و در انکوباتور در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد

۱- ترکیبات نانو اکسید روی شامل ۹۹ ٪ ≤ ZnO، ۳ ppm ≤ Cu، ۵ ppm ≤ Mn، ۹ ppm ≤ Pb و ۹ ppm ≤ Cd است.

Archive of SID

www.SID.ir

قرار داده شد تا جهت تعیین آزمون تولید گاز مورد استفاده قرار گیرد. به‌منظور بررسی فراسنجه‌های شکمبه به‌روش آزمون تولید گاز دو آزمایش جداگانه به شرح ذیل در نظر گرفته شد:

بررسی فراسنجه‌های روند تخمیر شکمبه‌ای

برای انجام این آزمایش، تعداد ۱۵ عدد سرنگ برای تیمارهای آزمایشی (۵ تیمار با ۳ تکرار)، همچنین ۳ عدد سرنگ به‌عنوان بلانک و ۲ عدد سرنگ به‌عنوان استاندارد آماده شده و به داخل آنها مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم جیره آسیاب شده خشک (به‌جز سرنگ‌های بلانک) و ۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بافری شده ریخته شد. برای تهیه مایع شکمبه بافری شده از محلول کشت و مایع شکمبه به نسبت ۳ به ۱ استفاده شد و مقدار تولید گاز (برحسب میلی‌لیتر) در ساعات ۰، ۱، ۴، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۹/۵، ۲۳، ۲۶، ۲۹، ۳۲، ۳۶، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۵، ۶۱، ۶۹/۵، ۸۰، ۹۶، ۱۲۰ و ۱۴۴ انکوباسیون براساس دستورالعمل موجود ثبت شد (Menke and Steingass, 1988). فراسنجه‌های مربوط به آزمایش شامل ضریب تجزیه‌پذیری ظاهری ماده خشک (D_{144})، وسعت تخمیر در شکمبه براساس نرخ عبور تعریف شده (E) k =۰/۰۳ براساس روش Ammar *et al.* (2005)، حجم گاز تولیدی در طول ۱۴۴ ساعت انکوباسیون (GP_{144})، حداکثر ظرفیت تولید گاز برحسب میلی لیتر (A)، زمانی از انکوباسیون بر حسب ساعت که در آن نصف حداکثر ظرفیت تولید گاز صورت می‌گیرد ($T_{½}$)، سرعت تجزیه‌پذیری برحسب ساعت (μ)، فاز تأخیر در رشد باکتریها[1] و ثابت‌های تولید گاز (b و c) بر اساس معادلات France *et al.* (2000) به‌صورت زیر محاسبه شد:

رابطه ۱ : $D_{144} = (A-B)/A$

در رابطه ۱، A وزن نمونه خشک خوراک قبل از انکوباسیون (گرم) و B وزن ماده خشک هضم نشده بعد از انکوباسیون (گرم) می‌باشد.

رابطه ۲ : $E = D_{144} \cdot e^{-kL} \cdot \mu/(\mu + k)$

در رابطه ۲، D_{144} ضریب قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، μ سرعت تجزیه‌پذیری (h^{-1}) و k نرخ عبور مواد از شکمبه که معادل ۰/۰۳ h^{-1} برای گوسفندی است که در سطح نگهداری تغذیه می‌شود.

رابطه ۳ : $GP_{144} = A\{1 - e^{-[b(t-L)+c(\sqrt{t}-\sqrt{L})]}\}$

در رابطه ۳، GP_{144} حجم گاز تولید شده (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی) در طول ۱۴۴ ساعت انکوباسیون، A حداکثر ظرفیت تولید گاز (میلی‌لیتر بر گرم ماده آلی)، b ثابت تولید گاز (h^{-1})، c ثابت تولید گاز ($h^{-1/2}$) و L زمان تأخیر رشد باکتری‌ها است.

رابطه ۴ :

$$T_{1/2} = \left[\frac{-c/2 + \sqrt{\{c^2/4 + b[bL + c\sqrt{L} - \ln(0.5)]\}}}{b}\right]^2$$

در رابطه ۴، b ثابت تولید گاز (h^{-1})، c ثابت تولید گاز ($h^{-1/2}$) و L زمان تأخیر رشد باکتری‌ها است.

رابطه ۵ :

$$\mu = b + \frac{c}{\sqrt{T_{1/2}}}$$

در رابطه ۵، μ سرعت تجزیه‌پذیری (h^{-1}) در زمان $T_{1/2}$، $T_{1/2}$ زمانی از انکوباسیون (h^{-1}) که در آن نصف حداکثر ظرفیت تولید گاز صورت گیرد، b ثابت تولید گاز (h^{-1}) و c ثابت تولید گاز ($h^{-1/2}$) است.

آزمون تولید گاز و تعیین قابلیت هضم

روند اجرای این آزمایش کاملاً مشابه آزمایش قبل (انکوباسیون ۱۴۴ ساعته) بود، به‌استثنای اینکه مقدار جیره آسیاب شده خشک که به داخل هر سرنگ ریخته می‌شد ۵۰۰ میلی‌گرم و حجم مخلوط مایع شکمبه و محلول کشت که به‌داخل سرنگها تزریق می‌شد، ۴۰ میلی‌لیتر بود. فرآیند تولید گاز در طول ۲۴ ساعت انکوباسیون (GP_{24}) براساس روش Makkar (2010) تعیین شد. در پایان انکوباسیون (پس از ۲۴ ساعت) محتویات باقی‌مانده در داخل سرنگها (مواد هضم نشده) با دقت به‌داخل لوله‌های فالکون ۵۰ میلی‌لیتری تخلیه شده (وزن خالی این لوله ها قبلاً ثبت شد) و سریعاً pH محتویات داخل آنها با استفاده از pH متر دیجیتالی (مدل Weilheim کشور آلمان) ثبت شد. سپس، محتویات داخل لوله‌های فالکون سانتریوفوژ شده (با دور ۲۵۰۰، به مدت ۲۰ دقیقه و دمای ۴ درجه) و از مایع بالایی آن برای اندازه‌گیری غلظت آمونیاک، کل اسیدهای چرب فرار نمونه‌برداری و به فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. سپس باقی‌مانده مایع بالایی داخل لوله‌ها دور ریخته شد و لوله‌های فالکون به‌همراه رسوب داخل آنها به آون (۶۵ درجه و به مدت ۴۸ ساعت) منتقل شدند تا پس از خشک شدن، فراسنجه‌های مربوط به این آزمایش محاسبه شود (Makkar, 2010).

[1] - Lag phase

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- اجزا و ترکیب مواد مغذی در مواد خوراکی و جیره‌های پایه

Table 1. Ingredients and nutrient composition of feed stuff and basal diets

Nutrients	Alfalfa	Barley grain	Wheat straw	Soybean meal	Basal diet [1] (*in vitro*)	Basal diet [2] (*in vivo*)
Dry matter (%DM)	93.42	93.36	95.92	93.56	93.38	93.82
Organic matter (%DM)	90.25	91.50	92.38	93.5	91.22	91.11
Crude protein (%DM)	15.06	10.35	5.62	43.2	12.61	11.57
Ether extract (%DM)	3.01	1.40	1.23	1. 8	1.85	2.06
Neutral detergent fiber (%DM)	43.35	31.28	67.35	12.08	33.96	42.60
Ash (%DM)	9.75	8.50	7.62	8.05	8.82	8.89
Non fiber carbohydrate (%DM)	28.83	48.47	18.18	36.42	42.81	34.88
Calcium (%DM)	1.69	0.09	0.04	0.37	0.53	0.77
Phosphorus (%DM)	0.23	0.32	0.05	0.6	0.30	0.24
Zinc (mg/kg DM)	23.01	27.79	6.48	61	27.50	22.11
Cupper (mg/kg DM)	11.47	8	3.84	19	9.27	8.78
Iron (mg/kg DM)	377	95.34	156.6	194.1	174.35	226.87
Metabolizable energy [3] (Mcal/kg)	2.1	3	1.5	3	2.76	2.36

1- The basal diet in *in vitro* trial containing 430 g/kg DM of alfalfa, 400 g/kg DM of barley grain and 170 g/kg DM of wheat straw

2- The basal diet in *in vivo* trial containing 270 g/kg DM of alfalfa hay, 700 g/kg DM of barley grain and 30 g/kg DM of Soybean meal

3- Metabolizable energy was calculated based on NRC (2007)

قابلیت هضم ظاهری ماده خشک (AIVDMD)، قابلیت هضم حقیقی ماده آلی (IVTOMD) و ضریب تفکیک[1] (مقدار ماده آلی ناپدید شده واقعی (برحسب میلی‌گرم) به حجم گاز تولیدی (بر حسب میلی‌لیتر) در طول ۲۴ ساعت انکوباسیون) براساس روش Makkar (2010) تعیین شد:

رابطه ۶ : $AIVDMD = (A - B) / A$

در رابطه ۶، A وزن نمونه خشک قبل از انکوباسیون و B وزن ماده خشک هضم نشده بعد از انکوباسیون است.

رابطه ۷ : $IVTOMD = (A - B) / A$

در رابطه ۷، A وزن ماده آلی موجود در نمونه قبل از انکوباسیون و B وزن ماده آلی هضم نشده بعد از انکوباسیون است.

برای تعیین تولید پروتئین میکروبی (MB)، محتویات داخل هر کدام از لوله‌های فالکون (بقایای هضم نشده) در محلول ان دی اف جوشانده شد و رسوب باقی‌مانده با استفاده از کاغذ صافی و پمپ خلا صاف شد و مطابق رابطه ۸ محاسبه گردید (Makkar, 2010):

رابطه ۸ : $MB = A - B$

در رابطه ۸، A وزن رسوب قبل از جوشاندن در محلول ان دی اف و B وزن رسوب بعد از جوشاندن است.

غلظت آمونیاک در نمونه‌ها با استفاده از روش فنل هیپوکلرید (Broderick and Kang, 1980) و مقدار کل اسیدهای چرب فرار در آنها با استفاده از دستگاه مارخام اندازه گیری شد (Barnett and Reid, 1957).

آزمایش درون تنی (*in vivo*)

برای اجرای این آزمایش از تعداد ۲۰ راس بزغاله نر نژاد مرغوز ۸-۷ ماهه (با میانگین وزنی ۳/۷۴ ± ۱۷/۶۷) استفاده شد. قبل از شروع آزمایش حیوانات به مدت ۲ روز متوالی قبل از خوراک‌دهی صبح با ۱۶ ساعت گرسنگی قبلی وزن‌کشی شدند (فدایی فر، ۱۳۸۹). سپس به‌صورت تصادفی (بر اساس وزن زنده) در ۵ تیمار مشابه آزمایش قبل دسته‌بندی شدند و به‌مدت ۱۴ روز با جیره‌های آزمایشی به‌صورت کاملاً مخلوط شده در دو وعده صبح (۹:۰۰) و عصر (۱۷:۰۰) تغذیه شدند (جدول ۱). در پایان آزمایش، ۳/۵ ساعت پس از خوراک دهی صبح، با استفاده از لوله مری از کلیه دامها در حدود ۵۰ سی‌سی مایع شکمبه گرفته شد (Kincaid *et al.*, 1997; Spears *et al.*, 2004). pH نمونه‌های مایع شکمبه سریعاً با استفاده از pH متر رومیزی (Metrohm 744) ثبت شد و سپس نمونه‌ها به‌داخل دو ظرف جداگانه (یکی جهت شمارش پروتوزوآ و دیگری جهت تعیین آمونیاک و کل اسیدهای چرب فرار) منتقل شدند. جهت شمارش پروتوزوآها، به ظروف حاوی نمونه به نسبت ۱:۱ فرمالین ۵۰٪ اضافه شد (Dehority, 2003).

1. Partitioning factor

Archive of SID

www.SID.ir

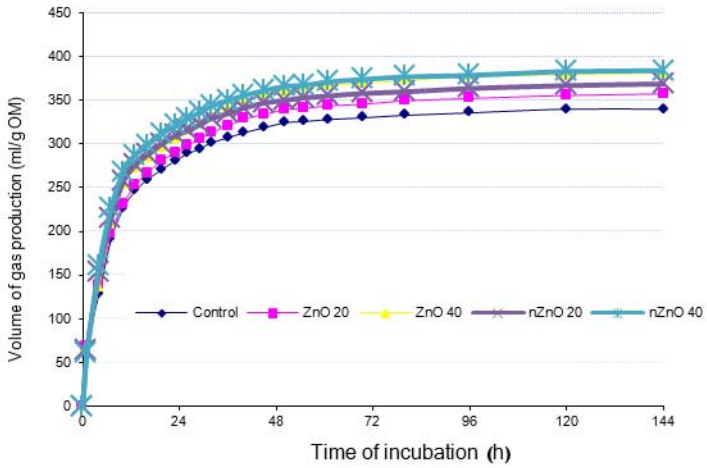

Fig. 1. Cumulative gas production curves in experimental treatments at different times

شکل ۱- منحنی‌های تولید گاز تجمعی در تیمارهای آزمایشی در زمان‌های متفاوت

پس از پایان نمونه‌گیری، کلیه نمونه‌های مایع شکمبه در جعبه حاوی یخ سریعاً به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه، نمونه مایع شکمبه فاقد فرمالین سانتریوفوژ (با ۳۰۰۰ دور در دقیقه، به‌مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) شد و از مایع بالایی آن جهت اندازه‌گیری آمونیاک و کل اسیدهای چرب فرار نمونه‌برداری شده و به فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد منتقل شد. غلظت آمونیاک و مقدار کل اسیدهای چرب فرار مطابق آزمایش قبل اندازه گیری شد. برای شمارش و تعیین جنس پروتوزوآهای شکمبه، چند قطره از مایع شکمبه فرمالینی شده با استفاده از یک پیپت به آرامی روی لام مخصوص شمارش (Sedgwick-Rafter) ریخته شده و سپس در زیر میکروسکوپ نوری (با عدسی شیئی ×۱۰) شمارش شد و بر اساس تعداد نواحی مژکی و پراکندگی مژکها بر روی سلول، جنس آنها تعیین گردید (Dehority, 1993).

ترکیب شیمیایی مواد خوراکی (ماده خشک، پروتئین خام، خاکستر، چربی خام و ماده آلی) با استفاده از روش AOAC (2000)، کربوهیدرات غیر الیافی[1] بر اساس NRC (2001) و ان-دی-اف نیز با استفاده از روش Van Soest *et al.* (1991) تعیین شد. چون در برخی موارد امکان تعیین ترکیب شیمیایی و مواد معدنی در خوراک‌های مورد استفاده در چند تکرار فراهم نبود. لذا، به‌خاطر حفظ یکنواختی جدول۱، از درج انحراف معیار در جدول فوق صرفه نظر شد.

کلیه داده‌ها با استفاده از رویه GLM و در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شدند (SAS, 2001). مدل آماری استفاده شده $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ بود که در آن Y_{ij} مقدار مشاهده تیمار i ام در تکرار j ام، μ اثر میانگین، T_i اثر تیمار i ام و e_{ij} اثر خطای آزمایش مربوط به تیمار i ام در تکرار j ام بود. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P<۰/۰۵$ انجام گرفت.

نتایج

تولید گاز در طول ۱۴۴ ساعت انکوباسیون در تیمارهای حاوی مکمل روی از نظر عددی بیشتر از تیمار شاهد بود، اما تفاوت بین تیمارها معنی‌دار نبود (شکل ۱).

حداکثر ظرفیت تولید گاز (A) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و مقدار آن در سطح ۴۰ قسمت در میلیون عنصر روی از هر دو منبع اکسید روی (۳۶۰/۷ میلی لیتر) و نانو اکسید روی (۳۷۵/۶ میلی لیتر) از نظر عددی بیشتر از تیمار شاهد (۳۱۷/۶ میلی لیتر) بود (جدول ۲؛ $P<۰/۱۱$).

مقدار μ (نرخ تخمیر) و ضریب تجزیه‌پذیری ظاهری ماده خشک خوراک در طول ۱۴۴ ساعت انکوباسیون (D_{144}) نیز تحت تأثیر مصرف مکمل روی در جیره قرار نگرفت و مقدار آن در تیمارهای حاوی روی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌داری نشان نداد. هر چند که مقدار آن در تیمارهایی که در آنها از اکسید روی استفاده

2. Non fiber carbohydrate

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- فراسنجه‌های برآورد شده از آزمون تولید گاز برون تنی ۱۴۴ ساعته (به‌ازای ۱ گرم ماده آلی) در تیمارهای آزمایشی

Table 2. Estimated parameters of *in vitro* gas production 144 h (per 1 g organic matter) in experimental treatments

Estimated parameter *	Treatment [1]					SEM [2]	*P*-value
	Control	ZnO (20)	ZnO (40)	nZnO (20)	nZnO (40)		
GP_{144} (ml/g OM)	339.9	357.3	381	368.7	383.8	14.146	0.293
A (ml/g OM)	317.6 [b]	353.2 [ab]	375.9 [a]	360.7 [ab]	375.6 [a]	13.721	0.113
b (/h)	0.036 [ab]	0.034 [b]	0.036 [ab]	0.045 [ab]	0.047 [a]	0.003	0.081
L	0.002 [b]	0.003 [b]	0.007 [ab]	0.007 [ab]	0.011 [a]	0.001	0.008
C (h ½)	0.211	0.213	0.199	0.216	0.213	0.021	0.976
$T_{1/2}$ (/h)	5.57	5.78	6.17	5.08	5.09	0.473	0.424
µ (/h)	0.125	0.123	0.120	0.143	0.140	0.010	0.397
D_{144} (%)	74	77.63	79.43	75.07	75.62	0.029	0.668
E (k = 0.03)	0.59	0.62	0.63	0.59	0.59	0.021	0.424

Means with different superscript letters in the same row are significantly different ($P<0.05$).

*: Parameters were estimated using the generalized Mitscherlich model : GP 144 = volume of gas after 144 h of incubation, A= asymptotic GP,

b= fractional rate of gas production (/h), L= lag time, c= fractional rate of gas production (h ½), $T_{1/2}$= the time when half of A is produced, µ= fermentation rate, D144= dry matter disappearance after 144 h of incubation *in vitro*, E= estimated extent of dry matter degradation in rumen for k=0.03.

1- Control : basal diet (Zn = 22.12 mg/kg DM); ZnO (20) : basal diet + zinc oxide (added 20 mg Zn/kg DM); ZnO (40) : basal diet + zinc oxide (added 40 mg Zn/kg DM); nZnO (20) : basal diet + nano zinc oxide (added 20 mg Zn/kg DM); nZnO (40) : basal diet + nano zinc oxide (added 40 mg Zn/kg DM).

2- Standard error of means.

جدول ۳- فراسنجه‌های تخمیر در آزمون تولید گاز برون تنی ۲۴ ساعته (به‌ازای ۱ گرم ماده آلی) و قابلیت هضم در تیمارهای آزمایشی

Table 3. Fermentation parameters of *in vitro* gas production 24 h (per 1 g organic matter) and digestibility in experimental treatments

Parameters *	Treatment [1]					SEM [2]	*P*-value
	Control	ZnO (20)	ZnO (40)	nZnO (20)	nZnO (40)		
GP_{24} (ml/g OM)	286.6	307.6	301.9	304.6	298.5	8.328	0.558
TVFAs (mmol)	238.1	257.4	239.2	255.6	244.4	8.563	0.401
NH_3 (mmol)	45.65	46.50	46.57	45.77	44.13	1.110	0.514
pH	6.72	6.74	6.72	6.72	6.73	0.015	0.921
MB (mg)	350	348.2	347	346.7	334.7	23.531	0.993
PF	2.70	2.53	2.45	2.57	2.60	0.083	0.460
AIVDMD (%)	61.13	59.55	62.92	60.55	62.13	1.592	0.580
IVTOMD (%)	77.30	78.55	76.38	77.95	77.04	1.607	0.886

Means with different superscript letters in the same row are significantly different ($P<0.05$).

* GP24= volume of gas after 24 h of incubation, TVFA= total volatile fatty acids, MB= microbial biomass, PF= partitioning factor, AIVDMD= apparent *in vitro* dry matter digestibility, IVTOMD= *in vitro* true organic matter digestibility.

1- Control : basal diet (Zn = 22.12 mg/kg DM); ZnO (20) : basal diet + zinc oxide (added 20 mg Zn/kg DM); ZnO (40) : basal diet + zinc oxide (added 40 mg Zn/kg DM); nZnO (20) : basal diet + nano zinc oxide (added 20 mg Zn/kg DM); nZnO (40) : basal diet + nano zinc oxide (added 40 mg Zn/kg DM).

2- Standard error of means.

شده بود، در مقایسه با نانو اکسید روی از نظر عددی بیشتر بود. همچنین، مقدار E (وسعت تخمیر ماده خشک برای نرخ عبور فرضی (۰/۰۳ درصد در ساعت) در کلیه تیمارهای آزمایشی یکسان بود و اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد. افزودن مکمل روی به جیره، تأثیری بر تولید گاز در مدت زمان ۲۴ ساعت (GP_{24}) نداشت (جدول ۳). همچنین، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، آمونیاک و pH مایعات شکمبه، قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و قابلیت هضم حقیقی ماده آلی نیز تحت تأثیر مصرف مکمل قرار نگرفت. ضریب تفکیک و توده میکروبی در تیمار شاهد هر چند از نظر عددی بیشتر از تیمارهای حاوی مکمل روی بود، ولی تفاوت بین تیمارهای آزمایشی معنی‌دار نبود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴- اثر مکمل روی بر پارامترهای شکمبه در بزغاله‌ها به روش درون‌تنی (۳/۵ ساعت بعد از خوراک‌دهی صبح)

Table 4. Effect of dietary supplementation of Zn on the *in vivo* rumen parameters of kids (3.5 h after morning feeding)

Item	Treatment [1]					SEM [2]	*P*-value
	Control	ZnO (20)	ZnO (40)	nZnO (20)	nZnO (40)		
pH	6.77	6.77	6.71	6.72	6.76	0.089	0.971
Total volatile fatty acids (mmol)	82	71.97	86.22	73.71	76.13	7.294	0.613
NH_3 (mmol)	2.40	3.10	2.69	2.44	1.99	0.946	0.925

1- Control : basal diet (Zn = 22.12 mg/kg DM); ZnO (20) : basal diet + zinc oxide (added 20 mg Zn/kg DM); ZnO (40) : basal diet + zinc oxide (added 40 mg Zn/kg DM); nZnO (20) : basal diet + nano zinc oxide (added 20 mg Zn/kg DM); nZnO (40) : basal diet + nano zinc oxide (added 40 mg Zn/kg DM).
2- Standard error of means.

جدول ۵- جمعیت پروتوزوآهای شکمبه ($\times 10^4$ در هر میلی‌لیتر) در بزغاله‌ها

Table 5. Ruminal protozoa population ($\times 10^4$/ml) in kids

Item	Treatment [1]					SEM [2]	*P*-value
	Control	ZnO (20)	ZnO (40)	nZnO (20)	nZnO (40)		
Total protozoa	73.75	75.60	75.74	75.68	78.14	12.938	0.999
Isotricha spp.	1.014	2.569	2.489	1.759	3.917	0.982	0.331
Dasytricha spp.	1.875	2.028	5.589	3.806	2.527	1.368	0.297
Entodinium spp.	60.930	61.875	55.614	55.519	68.917	12.874	0.942
Diplodinium spp.	1.056 [b]	4.584 [a]	3.341 [ab]	2.370 [ab]	1.708 [ab]	0.331	0.042
Epidinium spp	8.875	4.541	8.709	13.222	1.069	5.513	0.622

Means with different superscript letters in the same row are significantly different ($P<0.05$).
1- Control : basal diet (Zn = 22.12 mg/kg DM); ZnO (20) : basal diet + zinc oxide (added 20 mg Zn/kg DM); ZnO (40) : basal diet + zinc oxide (added 40 mg Zn/kg DM); nZnO (20) : basal diet + nano zinc oxide (added 20 mg Zn/kg DM); nZnO (40) : basal diet + nano zinc oxide (added 40 mg Zn/kg DM).
2- Standard error of means.

مقدار pH شکمبه و سایر فراسنجه‌های شکمبه تحت تأثیر تیمار آزمایشی قرار نگرفتند (جدول ۴). مقدار pH شکمبه در کلیه تیمارها در حدود ۰/۱۶± ۶/۷ بود. اما غلظت کل اسیدهای چرب فرار و آمونیاک در بین تیمارها روند مشخصی نداشتند.

تعداد کل پروتوزوآهای شکمبه در بین تیمارها تقریباً در یک محدوده بوده ($\times 10^4$ ۷۵) و تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (جدول ۵). در رابطه با جنس‌های مختلف پروتوزوآهای شکمبه، بیشترین تعداد مربوط به جنس انتودینیوم و کمترین تعداد مربوط به جنس ایزوتریشا بود. اما تفاوت بین تیمارها معنی‌دار نبود.

بحث

در رابطه با اثر مکمل روی در جیره و اثر آن بر تولید گاز به روش برون‌تنی، پژوهش‌های زیادی در دسترس نیست. در مطالعه‌ای که با استفاده از مایع شکمبه بز انجام شد، تولید گاز در طول ۴۸ ساعت انکوباسیون در تیماری که حاوی ۵/۶ میلی‌گرم روی به‌ازای هرکیلوگرم ماده خشک جیره بود، به میزان ۱۱۱/۲۹ میلی‌لیتر به‌ازای هر گرم ماده خشک خوراک بود که با تیمار شاهد (۱۴۹/۴۰ میلی لیتر) تفاوت معنی‌داری داشت (Vázquez-Armijo *et al.*, 2011). برخلاف نتایج فوق، در این آزمایش مقدار تولید گاز در طول ۱۴۴ ساعت انکوباسیون در تیمارهای حاوی مکمل روی تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت و این نشان می‌دهد که مقدار عنصر روی موجود در جیره پایه (۲۷/۵۰ میلی گرم روی به‌ازای هرکیلوگرم ماده خشک جیره) نیاز میکروب‌های شکمبه را از نظر این عنصر تأمین کرده است. با توجه به اینکه افزایش غلظت روی در شکمبه (به دلیل خاصت ضد باکتریایی که دارد) سبب کاهش رشد باکتری‌ها می‌شود (Arelovich *et al.*, 2000)، مشخص می شود که مقدار روی اضافه شده به تیمارهای حاوی مکمل روی به اندازه‌ای زیاد نبوده است که اثر ضد باکتری روی این میکروارگانیسم‌ها داشته باشد و لذا افزودن روی به جیره بر میکروارگانیسم‌هایی که در فرآیند تولید گاز نقش دارند، احتمالاً اثرگذار نبوده است و به همین دلیل میزان تولید گاز در تیمارهای حاوی مکمل روی نسبت به تیمار شاهد افزایش یا کاهش معنی‌داری نداشته است.

Archive of SID

www.SID.ir

در مطالعه Vázquez-Armijo *et al.* (2011) که بر روی بزها انجام شد، حداکثر ظرفیت تولید گاز (A) در طول ۹۶ ساعت انکوباسیون، در تیمار حاوی مکمل روی ۲۸۵/۹۵ میلی‌لیتر به‌ازای یک گرم خوراک بود که تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد (۲۳۸/۳۳ میلی‌لیتر) داشت که با نتایج پژوهش حاضر مشابه است.

در فاز تأخیر (L)، جمعیت میکروبی شکمبه شروع به تکثیر و ایجاد کلونی روی ذرات خوراک می‌کنند. انجام این فرآیند جهت هضم اجزای نامحلول خوراک ضروری است (Dehority, 2003; Talebzadeh *et al.*, 2012). نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که عنصر روی به دیواره سلولی باکتریها می‌چسبد و فاز تأخیر رشد باکتری‌ها را افزایش می‌دهد و لذا هر باکتری برای رشد خود به‌مدت زمان بیشتری نیاز دارد (Atmaca and Cicek, 1998). همچنین، باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری به عنصر روی دارند که به‌دلیل تفاوت ساختمان پروتئینی دیواره سلولی آنها است (Atmaca and Cicek, 1998). در پژوهش حاضر، به‌جز سطح ۴۰ قسمت در میلیون روی از طریق مکمل نانو اسید روی، احتمالاً مقدار عنصر روی اضافه شده به محیط کشت باکتری‌ها به اندازه‌ای زیاد نبوده است که بتواند بر فاز تأخیر (L) باکتری‌ها اثرگذار باشد. در مطالعه Vázquez-Armijo *et al.* (2011) مقدار L تحت تأثیر مکمل روی قرار نگرفت و مقدار آن در تیمار حاوی عنصر روی مقدار ۰/۷۷ بود که نسبت به تیمار شاهد (۰/۴۱) تفاوت معنی‌داری نداشت.

مقدار μ (نرخ تخمیر) تحت تأثیر مصرف مکمل روی قرار نگرفت و این نشان می‌دهد که افزودن عنصر روی به جیره، تغییری در نرخ تخمیر و هضم مواد مغذی در شکمبه نداشته است.

ضریب تجزیه‌پذیری ظاهری ماده خشک خوراک در طول ۱۴۴ ساعت انکوباسیون (D_{144}) نیز تحت تأثیر مصرف روی در جیره قرار نگرفت و مقدار آن در تیمارهای حاوی روی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌داری نشان نداد. هر چند که مقدار آن در تیمارهایی که در آنها از اکسید روی استفاده شده بود، در مقایسه با نانو اکسید روی از نظر عددی بیشتر بود. در یک آزمایش مشاهده شد که مقدار قابلیت هضم ظاهری ماده خشک خوراک پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون تحت تأثیر مصرف روی قرار نگرفت و مقدار آن در تیمار حاوی مکمل روی معادل ۷۲ درصد و در تیمار شاهد ۷۰/۳۷ درصد بود که با نتایج پژوهش ما مشابه است (Vázquez-Armijo *et al.*, 2011).

حجم گاز تولیدی پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (GP_{24}) به‌عنوان شاخصی از قابلیت هضم و ارزش انرژی‌زایی خوراک درنظر گرفته می‌شود (Ammar *et al.*, 2005). همان‌طورکه ملاحظه می‌شود، افزودن مکمل روی به جیره، تأثیری بر تولید گاز در مدت زمان ۲۴ ساعت (GP_{24}) نداشت. در مطالعه Vázquez-Armijo *et al.* (2011)، تولید گاز در طول ۲۴ ساعت انکوباسیون، تحت تأثیر مصرف روی قرار گرفت و مقدار آن از ۸۸/۱۷ میلی‌لیتر به‌ازای یک گرم خوراک در تیمار شاهد به ۵۶/۸۶ میلی‌لیتر در تیمار حاوی مکمل روی کاهش یافت. عدم مشابهت با نتایج مطالعه حاضر می‌تواند نشان دهد که سطح مکمل روی در مطالعه ما برخلاف مطالعه Vázquez-Armijo *et al.* (2011)، به اندازه‌ای بالا نبوده است که اثر بازدارندگی بر فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه داشته باشد.

الگوی تولید گاز در آزمایش ۲۴ ساعته، مشابه نمودار ۱ (آزمون تولید گاز در مدت زمان ۱۴۴ ساعت) نیست. در هر دو آزمون تولید گاز (آزمون ۱۴۴ ساعت و آزمون ۲۴ ساعت)، مقدار عنصر روی اضافه شده به جیره بر اساس مقدار ماده خشک جیره محاسبه شده است. نسبت ماده خشک خوراک به مایع شکمبه بافری شده در آزمون تولید گاز اول، ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک به ازای ۳۰ میلی‌لیتر و در آزمون تولید گاز دوم، ۵۰۰ میلی‌گرم ماده خشک به ازای ۴۰ میلی‌لیتر بود و این می‌تواند دلیل اختلاف الگوی تخمیر در آزمون اول و دوم را نشان دهد. زیرا بر اساس موارد فوق، مقدار عنصر روی اضافه شده به محیط کشت در داخل سرنگها در آزمون اول و دوم با یکدیگر متفاوت است.

بر اساس گزارش محققین، مقدار عنصر روی موجود در مایع شکمبه گاوهایی که مقدار ۴۷۰ قسمت در میلیون عنصر روی از طریق جیره دریافت کرده بودند، معادل ۱۸ میکروگرم به ازای هر میلی‌لیتر مایع شکمبه بود (Arelovich *et al.*, 2000). بر اساس محاسبات، مقدار ۲۵ میکروگرم عنصر روی به ازای هر میلی‌لیتر مایع شکمبه، معادل ۱۰۰۰ قسمت در میلیون عنصر روی در جیره است (Bonhomme *et al.*, 1979). در آزمایش حاضر، مقدار ۲۰ و ۴۰ قسمت در میلیون عنصر روی در جیره به‌ترتیب معادل ۰/۵ و ۱ میکروگرم به‌ازای هر میلی‌لیتر عنصر روی در مایع شکمبه است.

Archive of SID

www.SID.ir

با توجه به اینکه عوامل مختلفی از قبیل نوع منبع روی، غلظت روی در جیره، ترکیب جیره، روش تغذیه، حضور سایر مواد معدنی، نوع میکروارگانیسم‌های شکمبه و ... در تأثیر روی بر تخمیر و میکروارگانیسم‌های شکمبه نقش دارند (Arelovich *et al.*, 2003; Arelovich *et al.*, 2000)، لذا در مقالات مختلف، نیاز روی برای میکروبهای شکمبه به‌صورت ثابت و مشخص گزارش نشده است. به‌عنوان مثال، بر اساس گزارش Martinez and Church (1970) در شرایط برون‌تنی سطح ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مایع شکمبه باعث افزایش قابلیت هضم سلولز شد. در تحقیقات Bonhomme *et al.* (1979) به روش برون تنی، مصرف روی با غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مایع شکمبه (معادل ۴۰۰ میلی‌گرم روی بر کیلوگرم ماده خشک در جیره) فعالیت باکتری‌های تجزیه کننده سلولز را کاهش داد. در حالیکه بر اساس تحقیقات Eryavuz and Dehority (2009) مصرف مقادیر ۵ تا ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مایع شکمبه (معادل ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم روی بر کیلوگرم ماده خشک در جیره) اثر اندکی بر هضم سلولز داشت، ولی مصرف مقدار ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مایع شکمبه (معادل ۲۰۰۰ میلی‌گرم روی بر کیاوگرم ماده خشک در جیره) سبب کاهش هضم سلولز شد. همچنین بر اساس نظر Kumar and Kayastha (2009)، مصرف ۵۰۰ میلی‌گرم روی بر کیلوگرم ماده خشک در جیره، اثری بر متابولیسم شکمبه نداشت. به‌طور کلی با بررسی آزمایشات درون‌تنی و برون‌تنی متعدد، Arelovich *et al.* (2000) پیشنهاد کردند که مصرف روی تا مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم روی بر کیلوگرم ماده خشک در جیره، اثر منفی بر تخمیر شکمبه ندارد.

در پژوهش حاضر، در دوره پیش آزمایش مربوط به آزمون تولید گاز، سطح عنصر روی (از طریق دو منبع اکسید روی و نانو اکسید روی) تا ۱۰۰ قسمت در میلیون نیز استفاده شد که اثر منفی بر فرآیند تولید گاز و تخمیر شکمبه و در نتیجه بر رشد باکتری‌های شکمبه مشاهده نشد.

در آزمایشاتی که به‌منظور بررسی اثر مکمل روی بر هضم سلولز به روش برون‌تنی صورت گرفت، استفاده از غلظت ۵۰ میلی‌گرم روی به‌ازای هر میلی‌لیتر (به صورت محلول سولفات روی) سبب شد که در طول ۲۴ ساعت انکوباسیون، pH محیط کشت در تیمارهای حاوی مکمل روی به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یابد. اما در ساعات ۴۸ و ۷۲ انکوباسیون، تفاوت معنی‌داری در pH محیط کشت بین تیمار شاهد و تیمار حاوی مکمل روی مشاهده نشد (Eryavuz and Dehority, 2009).

در مطالعات Bateman *et al.* (2002) مقدار ۴۰۰ قسمت در میلیون عنصر روی به جیره‌ای بر پایه علوفه با کیفیت بالا اضافه شد و فرآیند تخمیر شکمبه به‌صورت برون تنی بررسی شد. آنها نتیجه گرفتند که مقدار کل اسیدهای چرب فرار و نیز غلظت آمونیاک شکمبه تحت تأثیر مصرف روی در جیره قرار نگرفت و مقدار کل اسیدهای چرب فرار و آمونیاک به‌ترتیب در تیمار شاهد ۳۷۵/۵ و ۷۳/۸۹ میلی‌مول و در تیمار حاوی مکمل روی ۳۷۴/۸ و ۶۷/۶۳ میلی‌مول بود.

در مطالعات Arelovich *et al.* (2000) سطوح صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ قسمت در میلیون عنصر روی به جیره‌ای بر پایه کاه برنج اضافه شد و مشاهده شد که pH و غلظت آمونیاک شکمبه تحت تأثیر مصرف روی در جیره قرار نگرفت و مقدار آن بعد از ۲۴ ساعت به‌ترتیب بین ۶/۶۲ تا ۶/۷۱ و ۰/۸۲ تا ۱/۲ میلی‌مول بود.

در آزمایشات Wang *et al.* (2013) سطوح صفر، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم عنصر روی بر میلی‌لیتر مایع شکمبه را به روش برون‌تنی در مایع شکمبه گرفته شده از گاوهای هلشتاین به کار بردند و اثر آنرا پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون بر تخمیر شکمبه بررسی کردند و مشاهده نمودند که مقادیر pH و آمونیاک شکمبه تحت تأثیر سطح مصرفی روی قرار نگرفت. آنها مقدار pH را در سه تیمار فوق به ترتیب ۷/۰۹، ۷/۰۸ و ۷/۰۴ و مقدار آمونیاک را نیز به‌ترتیب ۱۱/۱۱، ۱۱/۰۹ و ۱۱/۱۲ میلی‌مول در لیتر گزارش کردند. مقدار کل اسیدهای چرب فرار در تیمارهای فوق به‌ترتیب ۷۹/۷۳، ۷۸/۵۳ و ۷۱/۷۴ میلی‌مول بر لیتر بود که نشان داد مقدار این ماده در سطح ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مایع شکمبه به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها کاهش داشته است.

مطابق جدول ۳، قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و قابلیت هضم حقیقی ماده آلی نیز تحت تأثیر مصرف روی قرار نگرفت. گزارش شده است که افزودن ۱۰ میلی‌گرم روی به‌ازای هرکیلوگرم ماده خشک جیره به جیره حاوی کاه برنج در طول ۴۸ ساعت انکوباسیون به روش برون‌تنی قابلیت هضم ظاهری ماده خشک را نسبت به تیمار شاهد در حدود ۱۲/۷ درصد کاهش داد (Kathirvelan and

Archive of SID

www.SID.ir

Balakrishnan, 2008). همچنین، در مطالعات Arelovich *et al.* (2000) وقتی که غلظت روی در جیره حاوی علف چمن در طول ۲۴ ساعت انکوباسیون به روش برون‌تنی، افزایش یافت (سطوح صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ قسمت در میلیون عنصر روی)، قابلیت هضم ظاهری ماده خشک به‌صورت خطی کاهش نشان داد. به گفته این محققین، عنصر روی ممکن است اثر بازدارندگی بر روی هضم میکروبی فیبر در شکمبه داشته باشد. با توجه به اینکه سطح مکمل روی در آزمایش حاضر با آزمایشات اشاره شده تقریباً به یک اندازه بوده است، لذا احتمالاً اختلاف در نتایج به دست آمده می‌تواند به‌دلیل نوع جیره مصرفی باشد. به‌طوریکه در مطالعه ما جیره مصرف شده حاوی سطح قابل توجهی از دانه جو بوده است (۷۰ درصد). درحالیکه در آزمایشات مذکور جیره بر پایه علوفه بوده است.

همانطور که گفته شد، مقدار ضریب تفکیک و توده میکروبی در تیمارهای آزمایشی تحت تأثیر مصرف مکمل روی قرار نگرفت. ضریب تفکیک عبارت است از نسبت بین ماده آلی تجزیه شده (برحسب میلی‌گرم) بر مقدار گاز تولید شده (برحسب میلی‌لیتر). این فراسنجه شاخصی از بازده سنتز توده میکروبی در شکمبه است و اگر مقدار تولید گاز نسبت به مقدار سوبسترای تجزیه شده کمتر باشد (ضریب تفکیک بالاتر)، نشان‌دهنده سنتز توده میکروبی بیشتر است (Taghavi *et al.*, 2011). در شرایطی که مقدار ضریب تفکیک افزایش می‌یابد، احتمالاً مقدار بیشتری از مواد آلی هضم شده به‌جای اینکه صرف تولید اسیدهای چرب فرار شود، جهت رشد جمعیت میکروبی شکمبه مصرف می‌شود و سبب می‌گردد که سنتز توده میکروبی افزایش یابد (Taghavi *et al.*, 2011). افزایش سنتز توده میکروبی با خاصیت ضدباکتریایی در تضاد است و کاهش آن (افت سنتز توده میکروبی) نشان دهنده وجود خاصیت ضدباکتریایی در محیط شکمبه است. از آنجا که مقدار ضریب تفکیک و سنتز توده میکروبی تحت تأثیر مصرف روی قرار نگرفته است، لذا می‌توان نتیجه گرفت که مکمل روی اضافه شده به محیط کشت شکمبه تأثیری بر مسیر متابولیسم مواد مغذی (تولید گاز و یا پروتئین میکروبی) نداشته است. همچنین، می‌توان نتیجه گرفت که مقدار عنصر روی موجود در جیره پایه برای رشد میکروب‌های شکمبه کافی بوده است و اضافه کردن عنصر روی در سطوح ۲۰ و ۴۰ قسمت در میلیون تأثیری بر بهبود تخمیر شکمبه نداشته است.

در یک آزمایش که از مکمل روی به میزان ۲۵۰ قسمت در میلیون در جیره بزهای آنقوره به مدت ۸ ماه استفاده کردند، میانگین pH و غلظت آمونیاک شکمبه تحت تأثیر مصرف روی قرار نگرفت (Eryavuz *et al.*, 2002). همچنین، وقتی که مقدار ۴۰۰ قسمت در میلیون عنصر روی به صورت سولفات روی در جیره گاوهای هلشتاین به‌کار برده شد، مشاهده شد که بین مقدار pH، غلظت آمونیاک و مقدار کل اسیدهای چرب فرار شکمبه در تیمار شاهد و تیمار مصرف کننده روی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (Bateman *et al.*, 2002).

در آزمایشات Froetschel *et al.* (1990) از غلظت ۱۱۴۲ قسمت در میلیون عنصر روی به‌صورت سولفات روی در جیره گوساله های نر جرسی استفاده شد و مشاهده گردید که غلظت کل اسیدهای چرب فرار، آمونیاک و pH شکمبه تحت تأثیر مصرف روی در جیره قرار نگرفت. آنها گزارش کردند که مقادیر فوق در تیمار شاهد به ترتیب ۷۹/۰۸، ۱۱/۱۰ و ۶/۶۹ و در تیمار حاوی مکمل روی ۸۱/۳۰، ۱۰/۳۵ و ۶/۷۰ بود که با نتایج این پژوهش هم‌راستا است. در یک آزمایش دیگر نیز وقتی غلظت ۴۳۰ قسمت در میلیون عنصر روی از طریق مصرف کلرید روی در جیره گاوهای آبردین آنگوس به کار برده شد، مشاهده گردید که غلظت کل اسیدهای چرب فرار، آمونیاک و pH شکمبه تحت تأثیر مصرف روی قرار نگرفت (Arelovich *et al.*, 2008). همچنین، مقدار کل اسیدهای چرب فرار شکمبه در بره‌های پرواری (Ott *et al.*, 1966) و گاوهای گوشتی (Spears *et al.*, 2004) و نیز غلظت آمونیاک شکمبه در گوساله های از شیر گرفته شده (Kincaid *et al.*, 1997) تحت تأثیر مصرف روی در جیره قرار نگرفت که با نتایج این پژوهش هم‌راستا است.

افزودن مکمل روی به جیره از طریق تغییر نسبت اجزای اسیدهای چرب فرار در شکمبه، فرایند تخمیر شکمبه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. یعنی با کاهش نسبت اسید استیک و افزایش اسید پروپیونیک، بازده تولید انرژی جیره افزایش می‌یابد (Bateman *et al.*, 2002; Eryavuz and Dehority, 2009). همچنین، افزودن مکمل روی به جیره، با ممانعت از تجزیه شدن پروتئین در شکمبه، از تجمع آمونیاک در شکمبه جلوگیری می‌کند (Kathirvelan

Archive of SID

www.SID.ir

and Balakrishnan, 2006). براساس نتایج فوق می‌توان نتیجه گرفت که اضافه کردن سطوح ۲۰ و ۴۰ قسمت در میلیون عنصر روی از هر دو منبع اکسید روی و نانو اکسید روی، تأثیری بر تخمیر شکمبه به روش درون‌تنی نداشته است.

براساس نظر برخی از محققین، پروتوزوآهای شکمبه نقش مهمی در متابولیسم فلزات در شکمبه ندارند (Notes, 1982). در آزمایشات Eryavuz *et al.* (2002) که از مکمل روی به میزان ۲۵۰ قسمت در میلیون در جیره بزهای آنقوره به‌مدت ۸ ماه استفاده کرده بودند، تعداد کل پروتوزوآهای شکمبه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. تعداد کل پروتوزوآهای شکمبه در انتهای آزمایش این محققین در تیمار شاهد و تیمار مصرف‌کننده مکمل روی به‌ترتیب $۵۱/۳ \times ۱۰^{۴}$ و $۵۲/۲ \times ۱۰^{۴}$ بود. همچنین، آنها جمعیت جنس ایزوتریشا را در تیمارهای فوق به‌ترتیب $۰/۰۶۷ \times ۱۰^{۴}$ و $۰/۰۳۳ \times ۱۰^{۴}$، داسی تریش را $۰/۲ \times ۱۰^{۴}$ و $۰/۰۵ \times ۱۰^{۴}$، انتودینیوم را $۹/۴ \times ۱۰^{۴}$ و $۹/۶ \times ۱۰^{۴}$ و دیپلودینیوم را $۰/۲۷ \times ۱۰^{۴}$ و $۰/۲۸ \times ۱۰^{۴}$ گزارش کردند، که با نتایج مطالعه حاضر هم‌راستا است.

اما برخلاف نتایج تحقیق حاضر، Froetschel *et al.* (1990) غلظت ۱۱۴۲ قسمت در میلیون عنصر روی را از طریق سولفات روی در جیره گوساله‌های نر جرسی استفاده کردند و مشاهده نمودند که تعداد پروتوزوآهای شکمبه تحت تأثیر مصرف روی قرار گرفت. آنها تعداد کل پروتوزوآهای شکمبه را در تیمار شاهد $۲/۵۴ \times ۱۰^{۶}$ و در تیمار حاوی مکمل روی $۱/۸۲ \times ۱۰^{۶}$ عدد در هر میلی‌لیتر از مایع شکمبه گزارش کردند. جمعیت پروتوزوآهای شکمبه در هر دو تیمار فوق در محدوده طبیعی است و برای حذف آنها از شکمبه به غلظت‌های بالاتری از عنصر روی نیاز است. همچنین گزارش شده است که استفاده از سولفات روی در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰۰ قسمت در میلیون در جیره نشخوارکنندگان باعث حذف پروتوزوآها در شکمبه می شود (Bonhomme *et al.*, 1979; Durand and Kawashima, 1980). در مطالعه حاضر نیز غلظت عنصر روی به‌کار رفته در تیمارهای آزمایشی به اندازه‌ای زیاد نبود که بتواند بر فرآیند تخمیر و جمعیت این ارگانیسم ها اثرگذار باشد.

به‌طور کلی، نتایج به‌دست آمده از این آزمایش نشان داد که استفاده از سطوح ۲۰ و ۴۰ قسمت در میلیون عنصر روی از طریق اکسید روی و نانو اکسید روی اثری بر فرآیند تخمیر شکمبه به روش برون‌تنی و درون‌تنی نداشته است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از زحمات کلیه اساتید و کارکنان محترم گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا به‌دلیل همکاری صمیمانه‌شان تشکر و قدردانی می‌شود.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

فدایی فر، الف. ۱۳۸۹. اثر منابع مختلف روی بر رشد، برخی فراسنجه های شکمبه و پلاسمای بره های نر مهربان. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشگاه بوعلی سینا.

Ammar H., L´opez S. and Gonz´alez J. S. 2005. Assessment of the digestibility of some Mediterranean shrubs by *in vitro* techniques. Animal Feed Science and Technology, 119: 323–331.

Arelovich H. M., Amela M. I., Martinez M. F., Torrea M. B. and Laborde H. E. 2003. Diferentes fuentes de zinc en el suplemento proteico de ovinos alimentados con un forraje de baja calidad. 2. Parámetros ruminales. Argentina de Produccion Animal., 23(Supp 1), 88. [In Spanish].

Arelovich H. M., Laborde H. E., Amela M. I., Torrea M. B. and Martínez M. F. 2008. Effects of dietary addition of zinc and (or) monensin on performance, rumen fermentation and digesta kinetics in beef cattle. Spanish Journal of Agricultural Research, 6(3): 362-372.

Arelovich H. M., Owens F. N., Horn G. W. and Vizcarra J. A. 2000. Effects of supplemental zinc and manganese on ruminal fermentation, forage intake, and digestion by cattle fed prairie hay and urea. Journal of Animal Science, 78: 2972–2979

Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official Methods of Analysis, 16th ed. USDA, Washington, DC.

Atmaca S., Gul K. and Cicek R. 1998. The effect of zinc on microbial growth. Turkish Journal of Medical Sciences, 28: 595-597.

Barnett A. G. and Reid R. L. 1957. Studies on the production of volatile fatty acid production from fresh grass. Journal of Agriculture Science, 48: 315-321.

Bateman H. G., Williams C. C. and Chung Y. H. 2002. Effects of supplemental zinc in high quality diets on ruminal fermentation and degradation of urea *in vitro* and *in vivo*. The Professional Animal Scientist, 18: 363-367.

Bateman H. G., Williams C. C., Gantt D. T., Chung Y. H., Beem A. E., Stanley C. C., Goodier G. E., Hoyt P. G.,Ward J. D., and Bunting L. D. 2004. Effects of zinc and sodium monensin on ruminal degradation of lysine-HCl and liquid 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid. Journal of Dairy Science, 87: 2571–2577.

Bonhomme A., Durand M., Dumay C. and Beaumatin P., 1979. Etude *in vitro* du comportement des populations microbiennes du rumen en presence de zinc sous forme de sulfate. Annales De Biologie Animale, Biochimie, Biophysique. 19: 937–942.

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, 63: 64-75.

Croteau M. N., Dybowska A. D., Luoma S. N. and Valsami-Jones E. 2010. A novel approach reveals that zinc oxide nanoparticles are bioavailable and toxic after dietary exposures. Nanotoxicology, ISSN 1743-5404 Online, © 2010, In formal UK, Ltd.

Dehority B. A. 2003. Rumen Microbiology. Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp: 372.

Dehority B. A. 1993. Laboratory manual for classification and morphology of rumen ciliate protozoa. CRC Press, Boca Raton, FL, ISBN: 0849348757, pp: 120.

Durand M. and Kawashima R. 1980. Influence of minerals in rumen microbial digestion. In: Y. Ruckenbush and P. Thivend (Ed.) Digestive physiology and Metabolism in the Ruminant. pp 375-408. AVI Publ. Co., Westport, CT.

Eryavuz A. and Dehority B. A. 2009. Effects of supplemental zinc concentration on cellulose digestion and cellulolytic and total bacterial numbers *in vitro*. Animal Feed Science and Technology, 151: 175–183.

Eryavuz A., Durgan Z. and Keskun E. 2002. Effects of ration supplemented with zinc on some rumen and blood parameters, mohair production and quality in faunated and defaunated Angora goats. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 26 :753-760.

France J., Dijkstra J., Dhanoa M. S., Lopez S. and Bannink A. 2000. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profile observed in vitro: derivation of models and other mathematical considerations. British Journal of Nutrition, 83: 143–150.

Francisco H.-S. J., Facundo R., Diana C. C. C. P., Fidel M.-G, Alberto E. M., Amaury D. J. P. G., Humberto T.-P and Gabriel M. C. 2008. The antimicrobial sensitivity of Streptococcus mutans to nanoparticles of silver, zinc oxide and gold. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 4: 237-240.

Froetschel M. A., Martin A. C., Amos H. E. and Evans J. J. 1990. Effects of zinc sulfate concentration and feeding frequency on ruminal protozoal numbers, fermentation patterns and amino acid passage in steers. Journal of Animal Science, 68: 2874–2884.

Garg A. K., Vishal M. and Dass R. S. 2008. Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization and mineral profile in lambs. Animal Feed Science and Technology, 144: 82-96.

Kathirvelan C. and Balakrishnan V. 2006. Effect of zinc supplemental on urea hydrolysis in an *in vitro* fermentation using rumen liquor. Malaysian Journal of Nutrition, 12: 93-99.

Archive of SID

www.SID.ir

Kathirvelan C. and Balakrishnan V. 2008. Effect of supplemental zinc at 10 ppm on apparent, true digestibility, microbial biomass production and exploring means to overcome ill effects in cattle. Trends in Applied Science Research, 3: 103–108.

Kincaid R. L., Chew B. P., and Cronrath J. D. 1997. Zinc oxide and amino acids as sources of dietary zinc for calves: Effects on uptake and immunity. Journal of Dairy Science, 80: 1381-1388.

Kumar S. and Kayastha A. M. 2009. Inhibition studies of soybean (Glycine max) urease with heavy metals, sodium salts of mineral acids, boric acid, and boronic acids. Journal of Enzyme Inhibtion and Medicinal Chemistry, 1: 1–7.

Makkar H. P. S. 2010. *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: Vercoe, P.E., Makkar, H.P.S., Schlink, A.C. (Eds.), *In vitro* Screening of Plant Resources for Extra-nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. IAEA, Dordrecht, the Netherlands, pp. 107–144.

Martinez A. and Church D. C. 1970. Effect of various mineral elements on *in vitro* rumen cellulose digestion. Journal Animal Science, 31: 982–990

Menke K. H. and Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Animal Research Development, 28: 7–55.

National Research Council. 1980. Mineral tolerance of domestic animals. National Academy of Sciences, Washington, DC, USA.

National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. The National Academies Press, Washington, D.C., USA.

National Research Council. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants. The National Academies Press, Washington, D.C., USA.

Notes. 1982. Duodenal flow and soluble proportions of zinc, manganes, copper and iron in the rumen fluid and duodenal digesta of faunated and defaunated sheep. Canadian Journal of Animal Science, 62: 979-982.

Ott E. A., Smith W. H., Harrington R. B., Stob M., Parker H. E. and Beeson W. M. 1966. Zinc toxicity in ruminants. III Physiological changes in tissues and alterations in rumen metabolism in lambs. Journal of Animal Science, 25: 424-431

Salama Ahmed A. K., Cajat G., Albanell E., Snch X. and Casals R. 2003. Effects of dietary supplements of zinc-methionine on milk production, udder health and zinc metabolism in dairy goats. Journal of Dairy Science, 70: 9–17.

Salem A. Z. M., Ammar H., Lopez S., Gohar Y. M. and González J. S. 2011. Sensitivity of ruminal bacteria isolates of sheep, cattle and buffalo to some heavy metals. Animal Feed Science and Technology, 163: 143–149

Saravanan1 V. S., Subramoniam S. R. and Raj S. A. 2003. Assessing in vitro solubilization potential of different zinc solubilizing bacterial (ZBC) isolates. Brazilian Journal of Microbiology, 34: 121-125.

Spears J. W., Schlegel P., Seal M.C. and Lloyd K. E. 2004. Bioavailability of zinc from zinc sulfate and different organic zinc sources and their effects on ruminal volatile fatty acid proportions. Livestock Production Science, 90: 211-217.

Statistical Analysis System. 2001. User's Guide: Statistics, Version 8.2. SAS Institute, Carry, NC, USA.

Taghavi Nezhad M., Alipour D. Torabi Goudarzi M. Zamani P. and Khodakaramian G. 2011. Dose response to carvone rich essential oils of spearmint (Mentha spicata L.): *in vitro* ruminal fermentation kinetics and digestibility. Journal of Agriculture Science and Technoligy, 13: 1013-1020.

Talebzadeh R., Alipour D., Saharkhiz M. J., Azarfar A. and Malecky M. 2012. Effect of essential oils of *Zataria multiflora* on *in vitro* rumen fermentation, protozoal population, growth and enzyme activity of anaerobic fungus isolated from Mehraban sheep. Animal Feed Science and Technology, 172: 115– 124.

Van Soest P. J., Robertson J. B. and Lewis B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch carbohydrates in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583–3597.

Vázquez-Armijo J. F., Daniel Lopez J. J. M. T. and Rolando Rojo A. F. Z. M. S. 2011. *In vitro* gas production and dry matter degradability of diets consumed by goats with or without copper and zinc supplementation. Biological Trace Element Research, 144: 580–587.

Wang R. L., Liang J. G., Lu L., Zhang L. Y., Li S. F. and Luo X. G. 2013. Effect of zinc source on performance, zinc status, immune response, and rumen fermentation of lactating cows. Biological Trace Element Research, 152: 4-16.

Wedekind K. J. and Baker D. H. 1990. Zinc bioavailability in feed-grade sources of zinc. Journal of Animal Science, 68: 684-689.

Yang S., Leonard S. W., Traber M. G. and Ho E. 2009. Zinc deficiency affects DNA damage, oxidative stress, antioxidant defenses, and DNA repair in rats. The Journal of Nutrition, 139: 1626–1631.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of different levels of zinc oxide nano particles and zinc oxide on some ruminal parameters by *in vitro* and *in vivo* methods

Kh. Zaboli[1], H. Aliarabi[2*]

1. Ph.D student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
2. Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

(Received: 2-3-2013- Accepted: 9-6-2013)

Abstract

In this study the effects of zinc oxide (ZnO) and zinc oxide nano particles (nZnO) were investigated on some parameters of rumen with either *in vitro* or *in vivo* experiments based on a completely randomized design. The experimental treatments (5 treatments) were included levels of zero (control), 20 and 40 ppm zinc as ZnO and 20 and 40 ppm zinc as nZnO that were added to the basal diets. In *in vitro* experiments, rumen fermentation kinetics parameters during 144 h continuous incubation (GP_{144}) and the volume of gas produced during the 24 h incubation (GP_{24}) and the relevant fermentation parameters were analyzed separately. In *in vivo* experiments, 20 male Markhoz goat kids aged 7-8 months were fed for 14 days with experimental treatments and the pH, ammonia and total volatile fatty acids concentration and protozoa populations in rumen fluid were determined. Results showed, GP_{144} and GP_{24} and the relevant parameters (except for asymptotic gas production (A) and lag time (L)) and rumen parameters in *in vivo* experiment were not affected by zinc sources. No significant difference was observed between treatments for total number of protozoa. Highest number was seen for Entodinium spp. and lowest for Isotricha spp. . Overall, the levels of 20 and 40 ppm zinc as ZnO and nZnO had no effect on rumen parameters by either *in vitro* or *in vivo* methods.

Keywords: Zinc oxide, Nano zinc oxide, Rumen parameters, Digestibility

Archive of SID

*Corresponding author: h_aliarabi@yahoo.com

www.SID.ir