



تأثیر کنسانتره آردی و پلت و بافر بی کربنات سدیم و سسکویی سدیم بی کربنات جیره بر فعالیت برخی از آنزیم‌های هیدرولیتیک بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه، ابقای نیتروژن و خون‌شناسی در بره‌های پرواری دالاق

محمد اسدی^۱، *عبدالحمید توغدوری^۲، تقی قورچی^۳ و شهریار کارگر^۴

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد، ^۲ استادیار و ^۳ استاد گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی،

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرجان، ^۴ استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: ۹۷/۱/۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۲۸

چکیده

سابقه و هدف: در پروار بندی گوسفندان، به دلیل مصرف جیره‌ای که حاوی مقدار کنسانتره زیاد و علوفه کم، بر هم خوردن تعادل محیط شکمبه امری محتمل به نظر می‌رسد. با توجه به تحقیقات صورت گرفته فعالیت آنزیم‌های شکمبه نیز با توجه به وضعیت شکمبه به خصوص pH تغییر می‌کند و خاصیت ذاتی بافرها مبنی بر بهبود شرایط محیطی شکمبه و همچنین تأثیر احتمالی شکل فیزیکی کنسانتره بر فعالیت شکمبه، تحقیق حاضر جهت بررسی تأثیر شکل فیزیکی کنسانتره (پلت و آردی) و نوع بافر جیره (بی کربنات سدیم و سسکویی سدیم بی کربنات) بر فعالیت برخی آنزیم‌های هیدرولیتیک شکمبه شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، پروتاز و آلفا آمیلاز در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه (شامل بخش جامد، خارج سلولی و درون سلولی) و ابقای نیتروژن و همچنین خون‌شناسی بره‌های پرواری دالاق انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی تأثیر کنسانتره آردی و پلت و بافر بی کربنات سدیم و سسکویی سدیم بی کربنات جیره بر فعالیت برخی از آنزیم‌های هیدرولیتیک بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه، ابقای نیتروژن و خون‌شناسی در بره‌های پرواری دالاق از ۲۸ رأس بره ۵ تا ۷ ماهه با میانگین وزن $28 \pm 2/7$ استفاده شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل 2×2 و در دوره ۹۸ روزه (۱۴ روز عادت‌پذیری و ۸۴ روز دوره اصلی) با ۴ تیمار و ۷ تکرار انجام شد. نمونه‌گیری از مایع شکمبه جهت اندازه‌گیری فعالیت برخی آنزیم‌های هیدرولیتیک شکمبه (شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، پروتاز و آلفا آمیلاز) در هفته پایانی دوره اصلی صورت گرفت تا آزمایش‌های مربوط به این پارامتر انجام شود. همچنین در روز ۶۰ پروار بندی ۴ رأس بره از هر تیمار به‌طور تصادفی انتخاب و به قفس‌های متابولیکی منتقل شدند و بعد از ۳ روز عادت‌پذیری به مدت ۶ روز متوالی، ادرار و مدفوع گوسفندان جمع‌آوری شد تا تعادل نیتروژن نیز با استفاده از مقادیر مصرف و دفع نیتروژن از طریق ادرار و مدفوع برآورد شد. برای تعیین فراسنجه‌های خونی روز پایانی ۳ ساعت بعد از وعده خوراک مصرفی صبح، خون‌گیری از سیاهرگ و داج گرفته شد و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافت. پارامترهای خونی از جمله گلبول‌های سفید خون، نوتروفیل، ائوزینوفیل، لمفوسیت و مونوسیت اندازه‌گیری شد و گلبول‌های قرمزخون،

*مسول مکاتبه: Toghdory@yahoo.com

هموگلوبین، همتوکریت، حجم متوسط گلبول‌های قرمز، میانگین هموگلوبین سلولی و میانگین غلظت هموگلوبین سلولی نیز تعیین گردید.

یافته‌ها: براساس نتایج به دست آمده تغییر شکل فیزیکی کنسانتره و نوع بافر تأثیر معنی‌داری در فعالیت کل آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز (آویسلاز)، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و پروتاز ندارد. با وجود این که جیره تیمارهای آزمایشی در فعالیت بخش‌های مختلف آنزیم پروتاز و فعالیت تجزیه کاغذ صافی اثر گذار بوده است اما این تأثیر به حدی نبوده که فعالیت کل این آنزیم‌ها را تغییر دهد. در رابطه با توازن نیتروژن نیز اختلاف معنی‌داری بین نیتروژن مصرفی، مجموع نیتروژن دفعی و ابقا نیتروژن در بین گروه‌های آزمایشی یافت نشد و تنها نیتروژن دفعی از طریق مدفوع تحت تأثیر بافر سسکوئی سدیم کربنات نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده بافر بی‌کربنات سدیم افزایش یافت. همچنین هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین پارامترهای خون‌شناسی بره‌ها نیز مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه مشخص نمود که شکل فیزیکی کنسانتره و نوع بافر اختلاف معنی‌داری را در فعالیت کل آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و پروتاز و توازن نیتروژن و همچنین اختلاف معنی‌داری بین پارامترهای خون‌شناسی بره‌ها ندارد.

واژه‌های کلیدی: ابقای نیتروژن، بافر، شکل فیزیکی کنسانتره، فعالیت آنزیمی شکمبه، همتولوژی

مقدمه

بسیاری از تحقیقات صورت گرفته در رابطه با شکل فیزیکی کنسانتره نشان دادند که پلت کردن کنسانتره سبب بهبود مصرف خوراک و افزایش وزن و بازده غذایی می‌شود (۴، ۱۸ و ۲۵). پلت کردن جیره به دلیل افزایش مصرف کربوهیدرات‌های سهل الهضم، سطح دسترسی باکتری‌های شکمبه به ذرات خوراک منجر به افزایش سرعت تجزیه مواد در شکمبه و کاهش pH شکمبه می‌شود (۱۰). از طرفی جیره‌های آردی باعث افزایش سرعت تخمیر در شکمبه و کاهش pH شکمبه و در نتیجه بروز اسیدوز می‌شود. در تنظیم جیره غذایی نشخوارکنندگان تأمین نیازمندی‌های حیوان (میزبان) و میکروارگانیسم‌های موجود در شکمبه هر دو اهمیت دارند. جیره‌هایی که اکنون مورد استفاده قرار می‌گیرند، دارای مقادیر بالای کربوهیدرات‌های محلول بوده و از نظر اندازه ذرات کوچک می‌باشند. به علاوه میزان مصرف غذاهای تخمیر شده در جیره‌ها نسبت به سال‌های گذشته

افزایش یافته که به طور کلی دارای مقادیر pH پایین و مقادیر بالایی محتوای آب می‌باشند (۲۸). اندازه ذرات خوراک مصرفی و شکلی که خوراک به دام عرضه می‌شود و فرآیندهایی که برای تهیه خوراک به کار برده می‌شود عوامل اصلی تأثیرگذار بر اکولوژی شکمبه هستند (۱۵ و ۳۵). استفاده از بافرهای افزودنی به خوراک یکی از ابزارهای کنترل pH شکمبه است. بافرها نسبت به تغییر در اسیدیته مقاومت ایجاد می‌کنند. بافرهای حقیقی از افزایش pH شکمبه جلوگیری میکنند. اما pH را بالاتر از حد معینی افزایش نمی‌دهند. بی‌کربنات سدیم^۱، سدیم سسکوئی کربنات^۲، سنگ آهک^۳ و سدیم بتونیت بافرهای حقیقی هستند. متداول‌ترین بافری که در صنعت پرورش دام استفاده می‌شود، بی‌کربنات سدیم است (۳۶). با توجه به این که شکل پلت خوراک باعث

1- NaHCO₃

2- Na₂CO₃.2H₂O

3- CaCO₃

میکروبی شکمبه، تعیین وضعیت آنزیم‌های هیدرولیتیک در اکوسیستم مزبور یکی از مهمترین فراسنجه‌ها به‌شمار می‌رود، زیرا این آنزیم‌ها نشان‌دهنده میزان حضور میکروب‌های تجزیه‌کننده الیاف هستند (۳۳).

جمعیت میکروبی شکمبه به نوع خوراک مصرفی دام و تغییرات الگوی آنزیمی ناشی از مصرف خوراک بسیار حساس است. تغییرات میکروبی شکمبه و الگوی آنزیمی با تغییر نسبت علوفه به کنسانتره در جیره توسط کامرا و همکاران (۱۷) و آگاروال و همکاران (۲) گزارش شده است. این محققین گزارش کردند که میزان فعالیت کربوکسی متیل سلولاز و زایلاناز با افزایش میزان علوفه در جیره افزایش می‌یابد. در حالی که هرستو و همکاران (۱۴) و مارتین و مایکلت‌دورها (۲۱) نشان دادند که با تغییر جیره از علوفه به سطوح بالای کنسانتره، فعالیت سلولاز و زایلاناز کاهش، ولی فعالیت آمیلاز افزایش می‌یابد. بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر شکل فیزیکی کنسانتره و نوع بافر جیره بر فعالیت برخی از آنزیم‌های هیدرولیتیک بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه، ابقای نیتروژن و هماتولوژی در بره‌های پرواری دالاق انجام شد.

مواد و روش‌ها

دام، طرح آزمایشی و جیره‌های آزمایشی: به‌منظور انجام این آزمایش ۲۸ راس بره نر نژاد دالاق با میانگین وزن 28 ± 2.7 و سن ۵-۷ ماهه انتخاب شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به‌صورت فاکتوریل 2×2 با ۴ تیمار و ۷ تکرار انجام شد. تیمارها شامل ۱- کنسانتره پلت شده + سسکویی سدیم کربنات، ۲- کنسانتره پلت شده + بی‌کربنات سدیم، ۳- کنسانتره آردی + سسکویی سدیم کربنات و ۴- کنسانتره آردی + بی‌کربنات سدیم بودند. دام‌ها در هر

افزایش مصرف خوراک و بالا رفتن سریع سطح انرژی می‌شود (۴، ۱۸ و ۲۵) احتمال ابتلا به اختلال متابولیکی اسیدوز افزایش می‌یابد (۲۸) که با کاهش pH شکمبه، فعالیت‌های آنزیم‌های شکمبه نیز تغییر می‌یابد.

آنزیم‌های خارج سلولی مترشحه باکتری‌ها وقتی در محیط شکمبه رها میشوند، باکتری‌هایی که ترشحات آنزیمی برون سلولی ندارند نیز می‌توانند از محصولات استفاده نمایند. راحت‌ترین بخش برای نمونه‌برداری از محتویات شکمبه، بخش مایع است. باکتری‌های شناور آزاد از مواد تجزیه خوراک توسط آنزیم‌های میکروبی شکمبه باعث فراهم شدن کربن، انرژی، آمینواسیدها و ویتامین‌ها برای میزبان می‌شود. فعالیت آنزیمی شکمبه شامل آنزیم‌های تجزیه‌کننده پلیمرهای دیواره سلولی (سلولازها، زایلانازها، بتاگلوکونازها، پکتینازها)، آمیلازها، پروتئازها، فیتازها و آنزیم‌های تجزیه‌کننده سموم گیاهی می‌باشد. تجزیه مؤثر خوراک در شکمبه نیازمند وجود کمپلکس کاملی از آنزیم‌های مختلف است و این امر اهمیت دانستن فعالیت آنزیمی در شکمبه دام را نشان می‌دهد (۳۴). برخی از باکتری‌ها از مواد مغذی محلول استفاده می‌کنند، اما این مواد به سرعت ناپدید می‌شوند. بسیاری از باکتری‌های شناور آزاد در یک فاز انتقالی به سر می‌برند. برخی باکتری‌ها متصل به خوراک هستند و در مورد آن‌ها اطلاعات کمتری وجود دارد. کمپلکس میکروبی شکمبه شامل آنزیم‌هایی است که به‌صورت همکوش عمل می‌کنند (۳۰). پلی‌ساکاریدهای موجود در جیره‌های نشخوارکنندگان توسط ترکیبی از فعالیت باکتری‌ها، پروتوزوا و قارچ‌های شکمبه به کمک آنزیم‌های هیدرولیتیک مختلف تجزیه می‌شوند. فعالیت آنزیم‌های میکروبی انعکاس کیفی از میکروب‌های دخیل در هضم خوراک است. به‌منظور بررسی فعالیت

بره‌ها قرار می‌گرفت. خوراک روزانه به‌صورت کاملاً مخلوط به دام‌ها عرضه می‌شد. در تمام مدت آزمایش، حیوانات به‌طور آزاد به آب آشامیدنی تمیز و بلوک‌های مواد معدنی- ویتامینی دسترسی داشتند. ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ آمده است.

تیمار بعد از گذراندن دوره عادت‌پذیری دو هفته‌ای، در قفس‌های انفرادی جهت شروع یک دوره پرواربندی ۸۴ روزه نگهداری شدند. جیره‌های مورد استفاده در این آزمایش بر اساس جداول انجمن ملی تحقیقات (۲۷) شامل ۲۵ درصد علوفه و ۷۵ درصد کنسانتره تهیه و تنظیم شدند و در حد اشتها در دو نوبت صبح (ساعت ۸) و عصر (ساعت ۱۶) در اختیار

جدول ۱: جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در تیمارهای مختلف و ترکیب مواد مغذی جیره.

Table 1. Diets used in different treatments and nutrient composition of the diet.

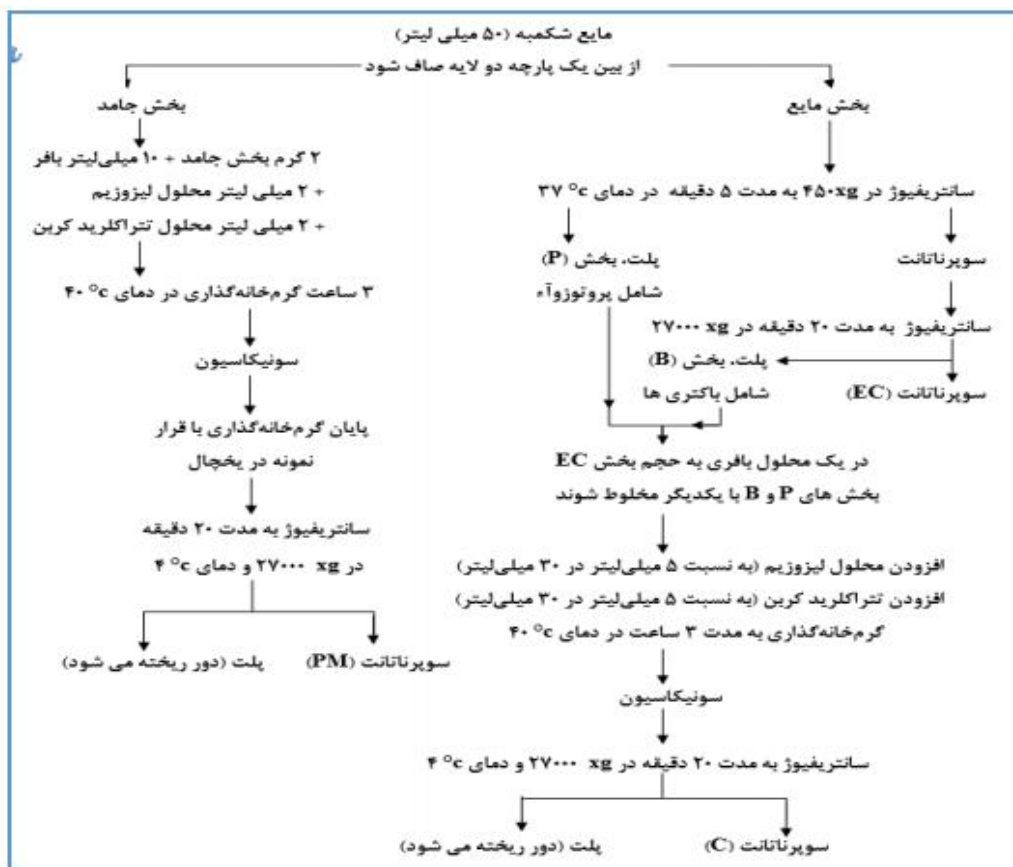
تیمارها (Treatments) (درصد)				اجزای جیره‌های آزمایشی (Experimental diet's components)	
آردی، بی‌کربنات سدیم Mash-Sodium bicarbonate	آردی، سسکویی Mash-sesqui	پلت، بی‌کربنات سدیم Pellet- Sodiumbicarbonate	پلت، سسکویی Pellet-sesqui		
25	25	25	25	(Alfalfa)	یونجه
23	23	23	23	(Barely grain)	دانه جو
26	26	26	26	(Corn grain)	دانه ذرت
6	6	6	6	(Soy meal)	کنجاله سویا
11	11	11	11	(Wheat bran)	سبوس گندم
6	6	6	6	(Beet pulp)	تفاله چغندر قند
0.5	0.5	0.5	0.5	(Oyster shell)	پودر صدف
0.3	0.3	0.3	0.3	(Salt)	نمک
0.2	0.2	0.2	0.2	(Dicalcium phosphate)	دی کلسیم فسفات
1	1	1	1	(Minerals and vitamins supplement)	مکمل ویتامینی و معدنی
1	-	1	-	(Sodium bicarbonate)	بی‌کربنات سدیم
-	1	-	1	(Sodiumsesquicarbonate)	سسکویی کربنات سدیم
مواد مغذی و ترکیب شیمیایی (Nutrient and Chemical Composition)					
0.42	فسفر، درصد (%) Phosphorus	2.62	انرژی قابل متابولیسم، مگا کالری در کیلوگرم Metabolizable energy (mcal/kgDM)		
30.28	فیبر نامحلول در خشتی، درصد Neutral detergent fiber (%)	13.88	پروتئین خام، درصد (%) Crude Protein		
19.48	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی، درصد Acid detergent fiber (%)	0.66	کلسیم، درصد (%) Calcium		

میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و پروتئاز نمونه‌های شیرابه شکمبه توسط لوله مری ۶ ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح از

نمونه‌گیری از شیرابه شکمبه: در هفته آخر دوره آزمایش، به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک شکمبه شامل کربوکسی متیل سلولاز،

برای جداسازی بخش‌های پروتوزوایی و باکتریایی، ابتدا شیرابه با دور ۴۵۰g به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پلت به دست آمده به‌عنوان بخش پروتوزوایی در نظر گرفته شد. مایع شفاف رویی (سوپرناتانت) مجدداً با دور ۲۷۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پلت به دست آمده در این مرحله به‌عنوان بخش باکتریایی مشخص شد. در نهایت، مایع شفاف رویی به‌عنوان منبع آنزیم‌های خارج سلولی مورد استفاده قرار گرفت.

دام‌ها (۴ حیوان به ازای هر تیمار) جمع‌آوری و بلافاصله توسط یک فلاسک عایق با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه انتقال داده شدند. بخش‌بندی شیرابه شکمبه: آنزیم‌های میکروبی موجود در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه طبق روش ارائه شده توسط هریستوف و همکاران (۱۴) استخراج گردید. به‌منظور بخش‌بندی آنزیم‌های مورد بررسی در شیرابه شکمبه به سه بخش جامد، خارج سلولی و درون سلولی، ابتدا شیرابه (حدود ۵۰ میلی‌لیتر) توسط دو لایه پارچه متقال صاف گردید و مواد باقیمانده روی پارچه به‌عنوان بخش جامد در نظر گرفته شد.



شکل ۱: بخش‌بندی شیرابه شکمبه و استخراج آنزیم‌های هیدرولیتیک، برگرفته از آگاروال (۲۰۰۰).

PM، میکروب‌های چسبیده به مواد خوراکی در شکمبه؛ EC، بخش خارج سلولی (شیرابه شکمبه)؛ C، بخش درون سلولی (میکروب‌های معلق در مایع شکمبه)

pH برابر با ۶/۸)، ۰/۵ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و ۰/۵ میلی‌لیتر کربوکسی متیل سلولوز ۱ درصد (به‌عنوان سوبسترا) بود در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت مورد انکوباسیون قرار گرفت. به‌منظور محاسبه فعالیت کاغذ صافی، مخلوط واکنش شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۱ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و ۰/۵ گرم کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (به‌عنوان سوبسترا)، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت انکوبه گردید. جهت اندازه‌گیری فعالیت آلفا آمیلاز، مخلوط واکنش محتوی ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته ۱ درصد (به‌عنوان سوبسترا) در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید. در همه آزمون‌های مذکور، واکنش با افزودن ۳ میلی‌لیتر محلول دی‌نیتروسالیسیلیک اسید متوقف گردید. گلوکز آزاد شده در اثر فعالیت هر یک از آنزیم‌های مورد آزمون بر اساس روش میلر (۲۲) تخمین زده شد. فعالیت‌های آنزیمی بر اساس این فرض که یک واحد آنزیم توانایی تولید ۱ میکرو مول گلوکز آزاد شده در هر ساعت در هر میلی‌لیتر از مایع شکمبه را تحت شرایط مخلوط واکنش دارد محاسبه گردید. برای تخمین فعالیت پروتئازهای شیرابه شکمبه (میکروگرم پروتئین هیدرولیز شده در ساعت)، مخلوط واکنش شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۲۵ میلی‌لیتر محلول کازئین (۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بود و در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت انکوبه گردید. پس از متوقف نمودن واکنش با افزودن تری کلرواستیک اسید (۲۰۰ میلی‌لیتر در لیتر)، پروتئین طبق روش لوری و همکاران (۲۰) تخمین زده شد.

محاسبه ابقاء نیترोजن: در روز ۶۰ آزمایش، ۴ راس گوسفند از هر تیمار به‌طور تصادفی انتخاب شد و

استخراج آنزیم‌ها از بخش‌های مختلف و تخمین فعالیت آنزیمی: آنزیم‌های شکمبه‌ای مورد آزمایش در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه طبق روش هرستو و همکاران (۱۴) استخراج گردید. به‌منظور استخراج آنزیم موجود در بخش جامد شکمبه، ۲ گرم از بخش جامد در ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸) قرار داده شد و ۲ میلی‌لیتر محلول ۰/۴ درصد لیزوزیم و ۲ میلی‌لیتر تتراکلرید کربن به آن افزوده شد. فرآیند با لیزوزیم به وسیله بن ماری التراسونیک حاوی آب یخ با نرخ پالس ۳۰ ثانیه و قدرت ۰/۵ صورت گرفت. سوسپانسیون در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت انکوبه گردید و جهت متوقف نمودن واکنش در یخ قرار داده شد. پس از سانتریفیوژ سوسپانسیون با دور ۲۷۰۰۰ g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۰ دقیقه، سوپرناتانت حاصل به‌عنوان منبع آنزیمی برای بخش جامد شکمبه مورد استفاده قرار گرفت. برای استخراج آنزیم‌های موجود در بخش‌های پروتوزوایی و باکتریایی، پلت‌های به‌دست آمده از این دو بخش باهم مخلوط شده و به آن حجمی از بافر فسفات معادل با مایع خارج سلولی خارج شده از آن افزوده شد. سپس به سوسپانسیون حاصل از هر کدام از محلول‌های لیزوزیم ۰/۴ درصد و تتراکلرید کربن به نسبت ۲ میلی‌لیتر در ۱۲ میلی‌لیتر سوسپانسیون (مشابه بخش جامد که قبلاً توضیح داده شد)، مایع شفاف رویی تهیه شده به‌عنوان منبع آنزیم‌های بخش داخل سلولی مورد آزمون قرار گرفت.

محاسبه فعالیت آنزیمی: فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک در هر حیوان در هر یک از سه بخش شیرابه شکمبه طبق روش آگاروال (۱) محاسبه گردید. برای تخمین فعالیت کربوکسی متیل سلولوز، مخلوط واکنش شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با

آماری SAS نسخه ۹/۱ (۳۲) تجزیه و تحلیل شدند. مدل آماری و فرضیات آزمایش به صورت زیر بوده و مقایسات میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد.

$$Y_{ij} = \mu + P_i + B_j + PB_{ij} + e_{ij}$$

در این مدل:

Y_{ij} = متغیر وابسته

μ = میانگین کل

P_i = اثر شکل فیزیکی کنسانتره

B_j = اثر نوع بافر

PB_{ij} = اثر متقابل شکل فیزیکی کنسانتره و نوع بافر

e_{ij} = اثرات باقی مانده (خطای آزمایشی)

نتایج و بحث

تأثیر شکل فیزیکی کنسانتره و نوع بافر بر فعالیت آنزیم‌های بخش‌های مختلف شکمبه: نتایج تأثیر جیره‌های آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک بخش‌های مختلف شکمبه در جدول ۳ و ۲ ارائه شده است. در همه آنزیم‌های مورد بررسی (شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز (آویسلاز)، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و پروتئاز) بیشترین میزان فعالیت آنزیمی در بخش جامد (وابسته به ذرات) و کمترین در بخش خارج سلولی شیرابه شکمبه مشاهده گردید. اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز و آلفا آمیلاز در بخش سلولی، بخش خارج سلولی، بخش جامد و کل (مجموع هر سه بخش) شیرابه بره‌های پرواری دریافت کننده جیره‌های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). همچنین میزان فعالیت آنزیم پروتئاز در رابطه با اثر شکل فیزیکی کنسانتره در بخش خارج سلولی افزایش معنی‌داری در گروه دریافت کننده پلت

به مدت ۶ روز، هر روز قبل از خوراک‌دهی وعده صبح میزان کل مدفوع هر دام جمع‌آوری و توزین شد و سپس یک نمونه ۱۰۰ گرمی از آن (۱۲) جهت اندازه‌گیری مقدار پروتئین خام گرفته شد. همچنین، در این مدت میزان ادرار روزانه هر حیوان در ظرف‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱۰ درصد جمع‌آوری گردید و ۱۰ درصد از حجم کلی آن به آزمایشگاه منتقل شد. مقدار نیتروژن ابقاء شده ظاهری از اختلاف نیتروژن مصرفی و نیتروژن دفعی (مجموع نیتروژن دفع شده از طریق مدفوع و ادرار) تعیین گردید.

اندازه‌گیری متابولیت بیوشیمیایی خون: برای تعیین فراسنجه‌های خونی روز پایانی ۳ ساعت بعد از وعده خوراک مصرفی صبح، تقریباً ۵ میلی‌لیتر خون از سیاهرگ و داج گرفته شد و ۳ میلی‌لیتر آن به لوله‌های حاوی محلول اتیلن دی‌آمین تترایک اسید^۱ انتقال داده شد و برای آزمایش‌های هماتولوژی منظور شد و بلافاصله در داخل یخ به آزمایشگاه انتقال یافت. پارامترهای خون‌شناختی از جمله گلبول‌های سفید خون، نوتروفیل، ائوزینوفیل، لمفوسیت و مونوسیت اندازه‌گیری شد و گلبول‌های قرمز خون، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط گلبول‌های قرمز، میانگین هموگلوبین سلولی و میانگین غلظت هموگلوبین سلولی نیز تعیین گردید.

طرح آزمایش و تجزیه آماری داده‌ها: متغیرهای آزمایش شامل دو شکل فیزیکی کنسانتره و دو نوع بافر بود. اطلاعات حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۲ که شامل شامل دو شکل فیزیکی کنسانتره و دو نوع بافر با ۴ تیمار و ۷ تکرار می‌باشد با رویه GLM نرم‌افزار

1- Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)

بیشترین فعالیت هیدرولایتیکی آنزیم‌ها مربوط به بخش میکروب‌های متصل به ذرات ریز، پس از آن آنزیم‌های درون سلولی و در نهایت آنزیم‌های خارج سلولی می‌باشد (۱). در این آزمایش فعالیت آنزیم‌های وابسته به ذرات بیشتر از حدود فعالیت آنزیم‌های دو بخش سلولی و خارج سلولی به دست آمد. این پاسخ می‌تواند به دلیل سرعت کونلیزاسیون^۱ ذرات خوراکی با میکروب‌ها باشد (۱). میزان فعالیت کل به دست آمده از آنزیم‌های مورد بررسی در این آزمایش مشابه با میزان فعالیت کل گزارش شده توسط میرمحمدی (۲۴) در بره‌های پروراری است که فعالیت کل در آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، آلفا آمیلاز و فعالیت تجزیه کاغذ صافی را به ترتیب در دامنه ۵۲۴-۲۸۲، ۲۰۳-۱۴۳، ۱۶۰۲-۱۲۴۲ و ۳۲۴-۲۱۹ نانومول گلوکز آزاد شده در هر دقیقه گزارش نمودند. مشخص شده است که تعداد بیشتر میکروب‌های وابسته به بخش جامد سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های فیبرولیتیک شده و عمدتاً در هضم فیبر دخیل هستند (۷، ۸ و ۲۹). همچنین قورچی و دوستی (۱۱) گزارش کردند، میزان کل فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستال سلولاز (به ترتیب از راست به چپ) در مقایسه مایع شکمبه‌ای دام کشتار شده با دام فیستولایی در دامنه، ۴۴۰-۱۸۵، ۵۳۷-۳۱۱، وابسته به ذرات ۶۰-۱۷، ۲۶۸-۵۵، خارج سلولی ۱۳۸-۵۶، ۱۷۳-۸۴، داخل سلولی ۲۴۵-۴۸، ۲۴۹-۱۶۴ (نانومول در دقیقه) بوده است. گستره میزان فعالیت سه بخش آنزیم‌های به دست آمده از آنزیم‌های مورد بررسی در این آزمایش متفاوت با میزان فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز گزارش شده توسط قورچی و دوستی (۱۱) می‌باشد. این تفاوت و دامنه را میتوان به علت خوراک،

نسبت به گروه آردی را نشان داد همچنین در رابطه با اثر نوع بافر مصرفی نیز در بخش‌های سلولی و خارج سلولی، فعالیت آنزیم پروتئاز در گروه دریافت کننده بافر سسکویی سدیم بی‌کربنات نسبت به بافر بی‌کربنات سدیم افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$). اما در رابطه با فعالیت تجزیه کاغذ صافی تنها در بخش خارج سلولی شیرابه، افزایش معنی‌داری در گروه مصرف کننده بافر سسکویی سدیم بی‌کربنات نسبت به بافر بی‌کربنات سدیم مشاهده شد ($P < 0/05$) و در فعالیت سایر بخش‌ها تفاوت معنی‌داری یافت نشد ($P > 0/05$). در میان فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی شده تنها در رابطه با آنزیم پروتئاز اثرات متقابل بین شکل فیزیکی کنسانتره و نوع بافر وجود داشت بدین ترتیب که در بخش خارج سلولی، تیمار دریافت کننده کنسانتره آردی و بافر سدیم بی‌کربنات از سایر تیمارها کمترین میزان فعالیت و در بخش جامد، تیمار دریافت کننده کنسانتره پلت و بافر سدیم بی‌کربنات از سایر تیمارها کمترین میزان فعالیت را نشان دادند ($P < 0/05$).

فعالیت آنزیم‌های شکمبه منعکس کننده میکروب‌هایی می‌باشد که در هضم ذرات خوراکی درگیر هستند (۲۹). آنزیم‌های تجزیه کننده فیبر شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی می‌باشند (۱). کربوکسی متیل سلولاز در تجزیه سلولزهای بی‌نظم و میکروکریستالین سلولاز در تجزیه سلولزهای با نظم درگیر می‌باشند (۲۹). فعالیت این آنزیم‌ها در سه بخش مجزا از محتویات شکمبه شامل ذرات ریز (میکروب‌های متصل به بخش ذرات شکمبه)، بخش درون سلولی (سلول‌هایی که به صورت آزادانه در بخش مایع از مایع شکمبه معلق هستند) و بخش خارج سلولی (آنزیم‌های موجود در بخش مایع) اندازه‌گیری می‌شوند (۱). در بین این سه بخش

1- Colonization

سویسترای بیشتر برای آن باشد و مطابق با یافته‌های سایر محققین است (۲۴ و ۲۹).

در رابطه با تأثیر عامل شکل فیزیکی در میزان فعالیت آنزیم‌های شکمبه‌ای در تغذیه بره‌های پرواری از کنسانتره آردی و بلوک، میرمحمدی و همکاران (۲۴) نشان دادند که عامل شکل فیزیکی موجب کاهش معنی‌داری در فعالیت کل آلفا آمیلاز و کربوکسی متیل سلولز شد. همچنین فعالیت تجزیه شدن کاغذ صافی تحت تأثیر شکل فیزیکی جیره قرار نگرفت و اثر متقابل نیز در میکروکریستالین سلولاز و پروتئاز معنی‌دار بود.

تأثیر بلوک کردن جیره بر کاهش فعالیت آلفا آمیلاز می‌تواند به سبب کاهش قدرت انتخاب در دام مرتبط باشد، در مقایسه جیره‌های با کنسانتره بالا و جیره‌های با علوفه بالا مشخص گردید کاهش نسبت علوفه به کنسانتره موجب افزایش معنی‌داری در کل فعالیت آلفا آمیلازی شکمبه می‌شود (۱۳ و ۲۱) که می‌توان این تأثیر را در کنسانتره‌های پلت نیز به صورت خفیف تر انتظار داشت. با این توجیحات می‌توان تفاوت در نتایج به دست آمده در این تحقیق را به نوع جیره و شرایط نگهداری دام (۱۶) و همچنین زمان نمونه‌گیری از مایع شکمبه (۱۹) نسبت داد. آزمایشی به منظور بررسی ارتباط پلی ساکاریدهای هضم شده در شکمبه با تغییرات گروه‌های باکتریایی نشان داد میکروب‌های تجزیه کننده فیبر در ۸ تا ۱۲ ساعت پس از تغذیه بیشترین تعداد را دارند (۱۹). تحقیقات دیگری نیز یک تأخیر مشابه را در بیان فعالیت کربوکسی متیل سلولازها از میکروب‌های متصل به ذرات گزارش نموده‌اند (۳۳ و ۳۷). با توجه به این‌که در آزمایش حاضر نمونه‌گیری از مایع شکمبه در ۶ ساعت پس از تغذیه صورت گرفته است، احتمال داده می‌شود اثر زمان نمونه‌گیری باعث تغییر جزئی در پاسخ این تحقیق شده باشد.

محل نگهداری و مدیریت متفاوت دانست. به عبارت دیگر نوع جیره تغذیه شده به حیوانات، باعث تغییر جمعیت میکروبی و متعاقب آن تغییر در الگوی آنزیمی شده است (۱۶). میزان فعالیت آنزیمی کمتر در بخش سلولی شیرابه به این سبب است که میکروب‌های سلولولیتیک به ذرات خوراکی متصل شده‌اند و جمعیت میکروب‌های آزاد در بخش مایع بسیار کمتر است (۱ و ۲۹). حداقل غلظت آنزیم‌های تجزیه کننده الیاف در بخش خارج سلولی شیرابه شکمبه قابل انتظار بود، زیرا این آنزیم‌ها به پوشش سلولی متصل هستند و تنها مقدار کمی از آن‌ها به دلیل تخریب یا تجزیه مکانیکی میکروب‌های تجزیه کننده الیاف به بخش مایع سلولی آزاد می‌شود (۱ و ۲۳). نتایج آزمایش حاضر مطابق با یافته‌های میرمحمدی (۲۴) در بره‌های پرواری است که فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک (شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، آلفا آمیلاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی و پروتئاز) در بخش جامد، درون سلولی و خارج سلولی شکمبه را به ترتیب در دامنه ۷۲-۸۱، ۲۱-۱۴ و ۹-۶ درصد از کل فعالیت گزارش کردند. همچنین، میناتو و همکاران (۲۳) دریافتند که ۵۰-۷۰ درصد باکتری‌های شکمبه متصل به ذرات خوراک هستند. میزان فعالیت کربوکسی متیل سلولاز در بخش جامد، خارج سلولی، درون سلولی و کل شیرابه شکمبه نسبت به بخش‌های مربوطه در آنزیم میکروکریستالین سلولاز بیشتر بود. آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز بر روی بخش میانی زنجیر سلولز اثر نموده و از طریق هیدرولیز آنرا پاره می‌نماید و تولید دو زنجیر کوتاه‌تر میکند. اما میکروکریستالین سلولاز به قسمت انتهایی آزاد زنجیره حمله نموده و طی مراحل متوالی سلوبیوز را تولید می‌نماید (۹). بنابراین، افزایش فعالیت کربوکسی متیل سلولاز نسبت به میکروکریستالین سلولاز احتمالاً به خاطر وجود

جدول 2- تاثیر شکل فیزیکی کنسانتره و نوع بافر جیره بر فعالیت آنزیم‌های شکمبه.

Table2: Effect of the physical form of the concentrate and the type of buffer of the diet on the activity of the rumen enzymes									
پروتئاز Protease					فعالیت تجزیه کاغذ صافی Filter paper degradation activity				
(Micromole of casein hydrolyzate per hour per ml of ruminal fluid)					(Micro-molar glucose released per hour per ml of ruminal fluid)				
کل		بخش جامد		بخش سلولی		کل		بخش سلولی	
Total	Solid part	Extracellular section	Cell section	Total	Solid part	Extracellular section	Cell section	Total	Solid part
شکل فیزیکی:		Alfa آمیلاز Alpha amylase		Alfa آمیلاز Alpha amylase		Alfa آمیلاز Alpha amylase		Alfa آمیلاز Alpha amylase	
Physical shape		Pellet concentrate		Pellet concentrate		Pellet concentrate		Pellet concentrate	
کسائتره پلت		کسائتره پلت		کسائتره پلت		کسائتره پلت		کسائتره پلت	
SEM		SEM		SEM		SEM		SEM	
سطح احتمال		سطح احتمال		سطح احتمال		سطح احتمال		سطح احتمال	
P-value		P-value		P-value		P-value		P-value	
1207.50	716.50	120.47 ^a	370.37	560.25	492.37	21.75	46.25	1012.25	745.75
1198.87	723.37	113.80 ^b	361.87	568.75	500.12	23.62	44.87	1023	763.62
11.48	5.82	1.68	4.54	13.64	13.51	0.84	0.91	18.29	11.04
0.60	0.42	0.01	0.21	0.66	0.69	0.14	0.31	0.68	0.27
1215.75	720.87	121.10 ^a	373.75 ^a	555.00	846.12	24.22 ^a	44.62	1020.87	766.87
1190.62	719.00	113.17 ^b	358.50 ^b	574.00	506.37	21.15 ^b	46.50	1014.37	742.5
11.48	5.82	1.68	4.54	13.64	13.51	0.84	0.91	18.29	11.04
0.14	0.82	0.006	0.03	0.34	0.31	0.02	0.17	0.80	0.14
نوع بافر:									
Type of buffer									
سسکویی									
Sesqui									
سدیم بیگرنات									
Sodium bicarbonate									
خطای استاندارد									
SEM									
سطح احتمال									
P-value									
اثر متقابل:									
Intrraction effect									
پلت سسکویی									
Sesqui Pellet									
پلت سدیم بیگرنات									
Pellet Sodium									
آردی سسکویی									
Mash Sesqui									
آردی سدیم بیگرنات									
Mash Sodium bicarbonate									
خطای استاندارد									
SEM									
سطح احتمال									
P-value									

کردند که میزان فعالیت کربوکسی متیل سلولاز و زایلاناز با افزایش میزان علوفه در جیره افزایش می‌یابد. در حالی که هریستو و همکاران (۱۴) و مارتین و مایکلت- دورها (۲۱) نشان دادند که با تغییر جیره از علوفه به سطوح بالای غلات، فعالیت سلولاز و زایلاناز کاهش، ولی فعالیت آمیلاز افزایش می‌یابد.

جمعیت میکروبی شکمبه به نوع خوراک مصرفی دام و تغییرات الگوی آنزیمی ناشی از مصرف خوراک بسیار حساس است. تغییرات میکروبی شکمبه و الگوی آنزیمی با تغییر نسبت علوفه به کنسانتره در جیره توسط کامرا و همکاران (۱۷) و آگاروال و همکاران (۲) گزارش شده است. این محققین گزارش

جدول ۳: تأثیر شکل فیزیکی کنسانتره و نوع بافر جیره بر فعالیت آنزیم‌های شکمبه.

Table 3. Effect of the physical form of the concentrate and the type of buffer of the diet on the activity of the rumen enzymes.

میکروکریستالین سلولاز Microcrystalline Cellulase (Avislas) (میکرومول گلوکز آزاد شده در ساعت در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه) (Micro-molar glucose released per hour per ml of ruminal fluid)				کربوکسی متیل سلولاز Carboxymethyl cellulase (میکرومول گلوکز آزاد شده در ساعت در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه) (Micro-molar glucose released per hour (per ml of ruminal fluid)				صفات traits تیمارها treatments
کل Total	بخش جامد Solid part	بخش خارج سلولی Extracellular section	بخش سلولی Cell section	کل Total	بخش جامد Solid part	بخش خارج سلولی Extracellular section	بخش سلولی Cell section	
شکل فیزیکی:								
کنسانتره پلت								
197.5	152.37	8.85	36.25	449.12	375	29.73	44.37	Pellet concentrate
کنسانتره آردی								
192.37	147.37	8.83	36.2	438.62	367	28.71	42.87	Mash Concentrate
خطای استاندارد								
9.72	7.31	0.50	2.11	12.96	12.41	2.63	3.98	SEM
سطح احتمال								
0.71	0.63	0.98	0.96	0.57	0.65	0.78	0.79	P-value
نوع بافر:								
سسکوئی								
196.12	151.50	8.73	35.75	443.12	369.25	29.61	44.25	Sesqui
سدیم بیکربنات								
193.75	148.25	8.95	36.62	444.62	372.75	28.83	43.00	Sodium bicarbonate
خطای استاندارد								
9.72	7.31	0.50	2.11	12.96	12.41	2.63	3.98	SEM
سطح احتمال								
0.86	0.75	0.77	0.77	0.93	0.84	0.83	0.82	P-value
اثر متقابل:								
پلت سسکوئی								
204.50	159.25	8.85	36.25	457.00	381.50	30.30	45.25	Sesqui Pellet
پلت سدیم بیکربنات								
190.50	145.50	8.85	36.25	441.25	368.50	29.17	43.50	Pellet Sodium bicarbonate
آردی سسکوئی								
187.75	143.75	8.62	35.25	429.25	357.00	28.92	43.25	Mash Sesqui
آردی سدیم بیکربنات								
197.00	151.00	9.05	37.00	448.00	377.00	28.50	42.50	Mash Sodium bicarbonate
خطای استاندارد								
13.75	10.34	0.71	2.99	18.33	17.55	3.73	5.64	SEM
سطح احتمال								
0.41	0.33	0.77	0.77	0.36	0.36	0.92	0.93	P-value

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<0/05).

تأثیر شکل فیزیکی کنسانتره و نوع بافر بر ظاهر نیتروژن: اطلاعات مربوط به ابقانیتروژن در جدول ۴ آمده است. همان‌طور که نشان داده شد اختلاف معنی‌داری در نیتروژن مصرفی از طریق خوراک، نیتروژن دفعی از طریق ادرار و ابقا نیتروژن در بین تیمارهای مختلف وجود ندارد ($P > 0/05$). تنها اختلاف معنی‌داری موجود در میزان دفع نیتروژن از طریق مدفوع، تحت تأثیر عامل بافر می‌باشد که نیتروژن دفعی مدفوع تیمارهای دریافت‌کننده سسکویی سدیم کربنات بیشتر از تیمارهای دریافت‌کننده بی‌کربنات سدیم می‌باشد ($P < 0/05$). همچنین هیچ‌گونه اثر متقابل در مصرف و دفع و ابقا نیتروژن در بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P < 0/05$). متابولیسم نیتروژن به ترکیب جیره و گونه حیوان بستگی دارد (۳۸). با توجه به این‌که محتوای جیره‌های آزمایشی تقریباً یکسان بوده است می‌توان عدم اختلاف معنی‌دار بین نیتروژن مصرفی و مجموع نیتروژن دفعی و در نتیجه ابقا نیتروژن را به این موضوع نسبت داد. همچنین در پژوهش‌های آروکی و همکاران (۳) و راگوانسی و همکاران (۲۹) نیز آمده است افزایش فعالیت آنزیم‌های فیبرولیتیک شکمبه سبب بهبود توازن تأمین انرژی و نیتروژن در شکمبه شده که متعاقب آن رشد میکروبی، مصرف خوراک و بازدهی استفاده از مواد مغذی بهبود یافته است. در پژوهشی تأثیر دو شکل فیزیکی مش و بلوک در تغذیه بزهای بربری (۳۱) و همچنین تأثیر استفاده از کود مرغی در دو شکل فیزیکی آردی و بلوک در تغذیه بره‌های پرواری (۲۴) نشان داده شد که تغییر شکل فیزیکی کنسانتره جیره تأثیر معنی‌داری بر تعادل نیتروژن در دام‌های آزمایشی ندارد، که موافق با نتایج پژوهش حاضر بود.

تأثیر شکل فیزیکی کنسانتره و نوع بافر بر ظاهر نیتروژن: اطلاعات مربوط به ابقانیتروژن در جدول ۴ آمده است. همان‌طور که نشان داده شد اختلاف معنی‌داری در نیتروژن مصرفی از طریق خوراک، نیتروژن دفعی از طریق ادرار و ابقا نیتروژن در بین تیمارهای مختلف وجود ندارد ($P > 0/05$). تنها اختلاف معنی‌داری موجود در میزان دفع نیتروژن از طریق مدفوع، تحت تأثیر عامل بافر می‌باشد که نیتروژن دفعی مدفوع تیمارهای دریافت‌کننده سسکویی سدیم کربنات بیشتر از تیمارهای دریافت‌کننده بی‌کربنات سدیم می‌باشد ($P < 0/05$). همچنین هیچ‌گونه اثر متقابل در مصرف و دفع و ابقا نیتروژن در بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P < 0/05$). متابولیسم نیتروژن به ترکیب جیره و گونه حیوان بستگی دارد (۳۸). با توجه به این‌که محتوای جیره‌های آزمایشی تقریباً یکسان بوده است می‌توان عدم اختلاف معنی‌دار بین نیتروژن مصرفی و مجموع نیتروژن دفعی و در نتیجه ابقا نیتروژن را به این موضوع نسبت داد. همچنین در پژوهش‌های آروکی و همکاران (۳) و راگوانسی و همکاران (۲۹) نیز آمده است افزایش فعالیت آنزیم‌های فیبرولیتیک شکمبه سبب بهبود توازن تأمین انرژی و نیتروژن در شکمبه شده که متعاقب آن رشد میکروبی، مصرف خوراک و بازدهی استفاده از مواد مغذی بهبود یافته است. در پژوهشی تأثیر دو شکل فیزیکی مش و بلوک در تغذیه بزهای بربری (۳۱) و همچنین تأثیر استفاده از کود مرغی در دو شکل فیزیکی آردی و بلوک در تغذیه بره‌های پرواری (۲۴) نشان داده شد که تغییر شکل فیزیکی کنسانتره جیره تأثیر معنی‌داری بر تعادل نیتروژن در دام‌های آزمایشی ندارد، که موافق با نتایج پژوهش حاضر بود.

جدول ۴: توازن ظاهری نیتروژن (گرم در روز) در جیره‌های آزمایشی.

Table 4. Externally nitrogen balance (g / day) in experimental diets.

نیتروژن ابقا شده Nitrogen retention (G/DAY)	کل نیتروژن دفعی Total Nitrogen Excretion (G/DAY)	نیتروژن دفعی مدفوع faecal nitrogen excretion (G/DAY)	نیتروژن دفعی ادرار Urinary Nitrogen Excretion (G/DAY)	نیتروژن مصرفی Nitrogen Intake (G/DAY)	صفات Traits	تیمارها Treatments
					شکل فیزیکی: Physical Shape	
12.85	19.21	8.88	10.32	32.06		کنسانتره پلت Pellet Concentrate
11.52	19.40	8.80	10.59	30.93		کنسانتره آردی Mash Concentrate
2.32	1.42	0.04	1.45	1.67		خطای استاندارد SEM
0.69	0.92	0.26	0.89	0.64		سطح احتمال P-Value
					نوع بافر: Type of Buffer	
12.49	18.96	8.93 ^A	10.02	31.45		سسکویی Sesqui
11.88	19.65	8.76 ^B	10.89	31.54		سدیم بیکربنات Sodium Bicarbonate
2.32	1.42	0.04	1.45	1.67		خطای استاندارد SEM
0.85	0.73	0.03	0.68	0.96		سطح احتمال P-Value
					اثر متقابل: Interaction Effect	
12.35	19.72	9.03	10.69	32.06		پلت سسکویی Sesqui Pellet
13.35	18.70	8.74	9.96	32.06		پلت سدیم بیکربنات Pellet Sodium Bicarbonate
12.63	18.20	8.83	9.36	30.83		آردی سسکویی Mash Sesqui
10.42	20.60	8.78	11.82	31.02		آردی سدیم بیکربنات Mash Sodium Bicarbonate
3.28	2.01	0.06	2.06	2.36		خطای استاندارد SEM
0.63	0.42	0.12	0.46	0.96		سطح احتمال P-Value

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

جدول 5: تأثیر شکل فیزیکی کنسانتره و نوع بافر جیره بر خون‌شناسی بره‌های پرواری.

Table 5. Effect of concentrate physical form and type of buffer on hematology of fattening lambs.

صفات TRAITS											تیمارها TREATMENTS
میانگین غلظت هموگلوبین سلولی MCHC	میانگین هموگلوبین سلولی MCH	حجم متوسط گلبول‌های قرمز MCV	هماتوکریت HCT	هموگلوبین HGB	گلبول قرمز RBC	مونوسیت MON	لمفوسیت LYM	آتوزینوفیل EOS	نوتروفیل NEUT	گلبول سفید WBC	
											شکل فیزیکی: PHYSICAL SHAPE
47.00	15.12	33.12	20.65	9.75	5.62	3.00	56.75	2.37	37.02	9.12	کنسانتره پلت PELLET CONCENTRATE
46.87	15.00	35.12	21.00	10.00	5.87	3.12	55.37	2.00	41.00	9.00	کنسانتره آردی MASH CONCENTRATE
1.33	0.58	1.05	1.05	0.56	0.21	0.48	2.83	0.47	3.02	0.60	خطای استاندارد SEM
0.94	0.88	0.20	0.80	0.76	0.43	0.85	0.73	0.58	0.39	0.88	سطح احتمال P-VALUE
											نوع بافر: TYPE OF BUFFER
46.75	15.21	34.62	21.25	10.00	5.37 ^B	3.00	53.25	2.12	41.50	8.75	سسکویی SESQUI
47.12	14.87	33.62	20.37	9.75	6.12 ^A	3.12	58.87	2.25	36.75	9.37	سدیم بیکربنات SODIUM BICARBONATE
1.33	0.58	1.05	1.05	0.56	0.21	0.48	2.83	0.47	3.02	0.60	خطای استاندارد SEM
0.84	0.65	0.51	0.56	0.76	0.03	0.85	0.18	0.85	0.28	0.47	سطح احتمال P-VALUE
											اثر متقابل: INTREACTION EFFECT
46.75	15.00	33.75	22.00	9.75	5.25	2.75	53.00	2.25	39.50	8.75	پلت سسکویی SESQUI PELLET
47.25	15.25	32.50	19.25	9.75	6.00	3.25	60.50	2.50	35.00	9.5	پلت سدیم بیکربنات PELLET SODIUM BICARBONATE
46.75	15.50	35.50	20.50	10.25	5.50	3.25	53.50	2.00	43.50	8.75	آردی سسکویی MASH SESQUI
47	14.50	34.75	21.50	9.75	6.25	3.00	57.25	2.00	38.50	9.25	آردی سدیم بیکربنات MASH SODIUM BICARBONATE
1.88	0.82	1.49	1.49	0.80	0.3	0.68	4.00	0.67	4.25	0.85	خطای استاندارد SEM
0.94	0.46	0.87	0.23	0.76	0.95	0.59	0.64	0.85	0.95	0.88	سطح احتمال P-VALUE

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

نتیجه گیری

به طور کلی این آزمایش نشان داد که شکل فیزیکی کنساتره و نوع بافر اختلاف معنی داری را در فعالیت کل آنزیم های کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و پروتئاز ندارد. با وجود این که جیره تیمارهای آزمایشی در فعالیت بخش های مختلف آنزیم پروتئاز و فعالیت تجزیه کاغذ صافی اثر گذار بوده است اما این تأثیر به حدی نبوده که فعالیت کل این آنزیم ها را

تغییر دهد. در رابطه با توازن نیتروژن نیز اختلاف معنی داری بین نیتروژن مصرفی، مجموع نیتروژن دفعی و ابقا نیتروژن در بین گروه های آزمایشی یافت نشد و تنها نیتروژن دفعی از طریق مدفوع تحت تأثیر بافر سسکویی سدیم کربنات نسبت به گروه های دریافت کننده بافر بی کربنات سدیم افزایش یافت. همچنین هیچ گونه اختلاف معنی داری بین پارامترهای خون شناسی بره ها نیز مشاهده نشد.

منابع

1. Agarwal, N. 2000. Estimation of fibre degrading enzyme. In: Feed Microbiology (eds Chaudhary, L.C., Agarwal, N., Kamra, D.N., and Agarwal D.K.,). CAS Animal Nutrition, IVRI, Izatnagar, India. 283-290.
2. Agarwal, N., Saxena, J., Saha, S., Chaudhary, L.C., and Kamra, D.N. 2004. Changes in fermentation characteristics, microbial populations and enzyme profile in the rumen of buffaloes affected by roughage level in the diet. *Bubalus bubalis*. 111: 81-90.
3. Arroquy, J.I., Cochran, R.C., Villarreal, M., Wickersham, T.A., Llewellyn, D.A., Titgemeyer, E.C., Nagaraja, T.G., Johnson, D.E., and Gnad, D. 2004. Effect of level of rumen degradable protein and type of supplemental non-fibre carbohydrate on intake and digestion of low quality hay by beef cattle. *Journal Of Animal Feed Science and Technology*. 115: 83-99.
4. Babker, I.A., Mukhtar, A.M.S., and Khidir, E.L. 2009. Feedlot performance of Baggara Bulls fed Pelleted and Unpelleted baggase Based Diets. *Pakistan Journal of Nutrition*. 8: 384-387.
5. Cao, G.R., English, P.B., Filippish, L.J., and Inglis, S. 1987. Experimental induced lactic acidosis in goat. *Australian Veterinary Journal*. 64(12): 367-370.
6. 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. International feed resources unit, Rowett Research Institute, Bucksburn Aberdeen AB2 9SB, UK.
7. Cheng, K.J., and McAllister, T.A. 1997. Comport mentation in the rumen. In *The rumen microbial ecosystem* (eds PN Hobson and CS Stewart). Chapman and Hall, London. 492-522.
8. Cheng, K.J., Stewart, C.S., Dinsdate, D., and Cosertor, J.W. 1984. Electron microscopy of bacteria involved in the digestion of plant walls. *Journal Of Animal Feed Science and Technology*. 10: 93-120.
9. Danesh Mesdaran, M., Tahmasbi, A.M., and Vakili, A.R. 2011. Digestion and Metabolism in Ruminants. Ferdowsi University of Mashhad Publication, 261. (In Persian)
10. Faichney, G.J., Teleki, E., and Brown, G.H. 2004. Effect of physical form of lucene hay on digestion and rate of passage in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*. 55: 1253-1262.
11. Ghoorchi, T., and Dosti, F. 1394. Evaluation of the activity of cellulase enzymes in rumen fluid in fattening lambs slaughtered in slaughterhouse. Final report of Gorgan University of Agricultur and Natural Resources. 33. (In Persian)
12. Harris, L.E. 1970. Nutrition research techniques for domestic and wild animals. Vol. 1. Utah State University, Logon, Utah. USA.

13. Hristov, A.N., Ivan, M., Rode, L.M., and McAllister, T.A. 2001. Fermentation characteristics and ruminal ciliate protozoal populations in cattle fed medium- or high-concentrate barley-based diets. *Journal of Animal Science*. 79: 515-524.
14. Hristov, A.N., McAllister, T.A., and Cheng, K.J. 1999. Effect of diet, digesta processing, freezing and extraction procedure on some polysaccharide degrading activities of ruminal contents. *Canadian Journal of Animal Science*. 79: 73-81.
15. Hungate, R.E. 1996. *The Rumen and its Microbes*. Academic Press, New York, USA. 533.
16. Kamra, D.N., Agarwal, N., and McAllister, T.A. 2010. Screening for compounds enhancing fiber degradation. In: Vercoe P.E, Makkar H.P.S. Schlink A.C. (Eds.), *In vitro Screening of Plant Resources for Extranutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies*. IAEA, Dordrecht, the Netherlands. 85-107.
17. Kamra, D.N., Saha, S., Bhatt, N., Chaudhary, L.C., and Agarwal, N. 2003. Effect of diet on enzyme profile, biochemical changes and in sacco degradability of feeds in the rumen of buffalo. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 16: 374-379.
18. Karimizadeh, E., Chaji, M., and Mohammadabadi, T. 2017. The effects of physical form of diet on nutrient digestibility, rumen fermentation, rumination, growth performance and protozoa population of finishing lambs. *Journal Of Animal Nutrition*. 3(2): 139-144.
19. Leedle, J.A.Z., Barsuhn, I., and Hespell, R.B. 1986. Postprandial trends in estimated ruminal digesta polysaccharides and their relation to changes in bacterial groups and rumen fluid characteristics. *Journal of Animal Science*. 62: 789-803.
20. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Pholin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193: 262-275.
21. Martin, C., and Michalet-Doreau, B. 1995. Variations in mass and enzyme activity of rumen microorganisms: Effect of barley and buffer supplements. *Journal of Agricultural Science*. 67: 407-413.
22. Miller, J.L. 1959. Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry*. 31: 426-429.
23. Minato, H., Endo, A., Higuchi, M., Ootomo, Y., and Uemura, T. 1966. Ecological treatise on the rumen fermentation. I. The fractionation of bacteria attached to the rumen digesta solids. *Journal of General and Applied Microbiology*. 12: 39-53.
24. Mirmohammadi, D. 2013. Effect of physical form in diets with and without broiler litter on the performance of fattening lambs. M.Sc. Thesis, Tarbiat Modares University. (In Persian)
25. Munasik, C., Sutrisno, I., Anwar, S., and Prayitno, S. 2013. Physical Characteristics of Pressed Complete Feed for Dairy Cattle. *International Journal of Science and engine*. 4: 61-65.
26. Nour, M.S.M., Abusamara, M.T., and Hago, B.E.D. 1999. Experimentally induced lactic acidosis in Nubian goats clinical. *Biochemical and Pathological Investigation. Journal Of Small Ruminant* . 31(1): 7-17.
27. NRC. 2007. *National Research Council: Nutrient Requirements of Small Ruminants, Sheep, Goats, Cervide and New York Camelids*. National Academy of Science, Washington, D.C.
28. Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., and Gill, D.R. 1998. Acidosis in cattle: A Review. *Journal of Animal Science*. 76: 275-286.
29. Raghuvansi, S.K.S., Prasad, R., Tripathi, M.K., Mishra, A.S., Chaturvedi, O.H., Mishra, A. K., Saraswat, B.L., and Jakhmola, R.C. 2007. Effect of complete feed blocks or grazing and supplementation of lambs on performance, nutrient utilisation, rumen fermentation and rumen microbial enzymes. *Journal Of Animal Science*. 1: 221-226.
30. Russel, J.B. 2002. *Rumen Microbiology and Its Role in Ruminant Nutrition*. J.B. Russell Publ. Co., Ithaca, NY.
31. Samanta, A.K., Singh, K.K., Das, M.M., Maity, S.B., and Kundu, S.S. 2003. Effect of complete feed block on nutrient utilisation and rumen fermentation in Barbari goats. *Journal Of Small Ruminant*. 48: 95-102.
32. SAS. 2002. *Statistical Analysis System: Users Guide, Statistics, version 9.1*. SAS Institute. Carry, N.C., USA.

33. Silva, A.T., Wallace, R.J., and Arskov, E.R. 1987. Use of particle-bound microbial activity to predict the rate and extent of fibre degradation in the rumen. *British Journal of Nutrition*. 57: 407-415.
34. Sinclair, L.A., Garnsworthy, P.C., Newbold, J.R., and Buttery, P.J. 1993. Effect of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in the sheep. *Journal of Agricultural Science*. 120: 251-263.
35. Wahdo, D.R., and Smith, L.W. 1972. Model of cellulose disappearance from the rumen. *Journal of Dairy Science*. 55: 125-129.
36. Wenping, H., and Murphy, M.R. 2004. Statistical evaluation of early and mid-lactation dairy cow responses to dietary sodium bicarbonate addition. *Journal Of Animal Feed Science and Technology*. 119: 43-54.
37. Williams, A.G., Withers, S.E., and Strachan, N.H. 1989. Postprandial variations in the activity of polysaccharide degrading enzymes in microbial populations from the digesta solids and liquor fractions of rumen contents. *Journal Of Applied Bacteriology*. 66: 15-26.
38. Woodward, A., and Reed, J.D. 1997. Nitrogen metabolism of sheep and goats consuming *Acacia brevispica* and *Sesbania sesban*. *Journal of Animal Science*. 75: 1130-1139.



The effect of physical form of concentrate and buffer type on the activity of some hydrolytic enzymes of different segments of rumen fluid, nitrogen Retention and hematology in Dalagh fattening lambs

M. Asadi¹, *A. Toghdary², T. Ghoorchi³ and Sh. Kargar⁴

¹M.Sc. graduated, ²Assistant Prof., and ³Professor, Dept. of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

⁴Assistant Prof., Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University

Received: 03/23/2018; Accepted: 06/17/2018

Abstract

Background and objectives: In fattening lambs, due to highly concentrated diets and low forage, disruption of balance in ruminal environment is possible. According to researches, the activity of rumen enzymes also varies with regard to the rumen status, especially pH, and the inherent nature of buffers in improving the rumen's environmental conditions, as well as the possible effect of the physical form of the concentrate on ruminal fermentation. The present study aimed to investigate the effect of the physical form of the concentrate (pellet and mash) and buffer type of ration (bicarbonate sodium and sesquisodium carbonate) on the activity of some ruminal hydrolytic enzymes including carboxymethyl cellulose, microcrystalline cellulose, filter paper degrading activity, protease and alpha amylase in different segments of rumen fluid (including solid, extracellular and intracellular sections) and nitrogen retention and blood hematology of Dalagh fattening lambs.

Materials and methods: In order to investigate the effect of the physical form of the concentrate and the buffer type of diet on the activity of some hydrolytic ruminal enzymes, nitrogen retention and blood hematology in Dalagh fattening lambs, 28 male lambs in 6 ± 1.2 months of age and average weight of 28 ± 2.7 were used. This experiment was conducted in a completely randomized design with a 2×2 factorial arrangement and a 98-day period (14 days of adaptation and 84 days of the main period) with four treatments and seven replications. Rumen fluid sampling was performed to measure the activity of some hydrolytic enzymes during the final week of the experiment. Also, on day 60, four lambs were randomly selected from each treatment and transferred to metabolic cages. After three days of adaptation, urine and feces were collected, daily for six days. The nitrogen balance was measured using nitrogen consumption and excretion. It was estimated through urine and feces. To determine the blood parameters, in final day, 3 hours after the morning feeding, blood was taken from the vein and immediately transferred to the laboratory. Blood parameters such as white blood cells, neutrophils, eosinophil's, lymphocytes and monocytes were measured and red blood cells, hemoglobin, hematocrit, mean blood cell counts, mean hemoglobin, and mean hemoglobin concentration were also determined.

Results: Based on the results, change in physical form of the concentrate and the buffer type did not have a significant effect on the activity of the total carboxymethyl cellulose enzymes, microcrystalline cellulase, and activity of filter paper decomposition, alpha amylase and protease. Although the experimental diets have been effective in the activity of various

*Corresponding author; toghdory@yahoo.com

segments protease enzymes and filter paper decomposition activity. This effect has not been sufficient to alter the overall activity of these enzymes. In relation to nitrogen balance, no significant difference was found between nitrogen intake, total nitrogen and nitrogen retention in experimental groups, and only excreted nitrogen through feces under the influence of sesquisodium carbonate buffer increased compared to those receiving sodium bicarbonate buffer. Also, no significant differences were found between the hematological parameters of the lambs.

Conclusion: This study showed that the physical form of the concentrate and the buffer type had no significant effect in the activity of the total carboxymethyl cellulose enzymes, microcrystalline cellulose, activity of filter paper decomposition, alpha amylase and protease and nitrogen balance, furthermore, there was no difference between hematological parameters.

Keywords: Nitrogen retention, Buffer, Physical form of concentrate, Enzyme activity of rumen, Hematology

