Archive of SID

اثر استفاده از سطوح مختلف اکسیدمنیزیم با خلوص بالا بر ویژگی‌های هضمی-تخمیری و تولید متان یک جیرهٔ پرکنسانتره در محیط کشت ثابت

- **محسن کاظمی***: گروه علوم دامی، مجتمع آموزش عالی تربت‌جام، تربت‌جام، ایران
- **موسی وطن‌دوست**: گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۷

چکیده

از تغییر الگوی تخمیر در شکمبه، می‌توان در جهت متعادل کردن تولید متان استفاده نمود. اکسید منیزیم علاوه بر تأمین بخش اعظمی از منیزیم مورد نیاز دام، از ظرفیت بافری ویژه‌ای نیز برخوردار است و می‌تواند الگوی تخمیر در شکمبه را دستخوش تغییراتی نماید. در این پژوهش اثر استفاده از یک اکسیدمنیزیم تجاری به‌مقدار ۱، ۲، ۳ و ٤ درصد یک جیرهٔ پرکنسانتره در یک محیط کشت تهیه شده ازمایع شکمبهٔ گوسفند درشرایط in vitro بررسی شد. برخی پارامترهای تخمیری، تجزیه پذیری، تولیدمتان وفراسنجه‌های‌تولید گاز ناشی از انکوباسیون جیره در محیط کشت اندازه‌گیری شدند. در اثر افزودن اکسیدمنیزیم، pH محیط کشت، افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ولی اسیدهای چرب فرار کل (TVFA) تغییر نکرد. کم‌ترین مقدار نیتروژن آمونیاکی (۲۳/۲٦ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) در سطح ٤ درصد اکسیدمنیزیم مشاهده شد. فراسنجه‌های تولید گاز (گاز ۱۲، ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت و نرخ ثابت تولید گاز) و تولید متان در تیمارهای دارای اکسیدمنیزیم، کاهش معنی‌داری نسبت به تیمارشاهد نشان داد. اگرچه ضریب تفکیک پذیری(PF)و تودهٔ میکروبی تولیدی، تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت، اما راندمان سنتز تودهٔ میکروبی در تیمارهای دارای اکسیدمنیزیم افزایش معنی‌داری نشان داد. به‌نظر می‌رسد که کاربرد اکسیدمنیزیم می‌تواند الگوی تخمیر شکمبه را از طریق کاهش نرخ متان، افزایش قابلیت هضم ماده آلی و راندمان سنتز تودهٔ میکروبی، بهبود بخشد، هرچند که انجام آزمایشات بیش‌تر درخصوص تعیین اثرات اکسیدمنیزیم بر روی حیوانات زنده نیز در آینده نیاز است.

کلمات کلیدی: اکسید منیزیم، بافر، محیط کشت، تخمیر، تولید متان

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: phd1388@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

متان حاصل از تخمیر مواد خوراکی در شکمبه، یک گاز گلخانه‌ای بوده که در حدود ۳۷ درصد از متان تولید شده در طبیعت را شامل می‌شود و می‌تواند نقش مخرب زیست محیطی داشته باشد (Benchaar و Greathead، ۲۰۰۱). هم‌چنین متان فرآوان‌ترین گاز آلی موجود در اتمسفر بوده که رهاسازی بی‌رویهٔ آن می‌تواند تأثیر به‌سزایی بر افزایش‌دمای کرهٔ زمین و نیز افزایش گازهای گلخانه‌ای داشته باشد(Beauchemin و همکاران، ۲۰۰۸). لذا جلوگیری از تولید متانِ بیش‌تر با هدف بهبود کارآیی تغذیهٔ دام و حفظ محیط زیست ضروری می‌باشد. اگر شرایط تخمیر در شکمبه به گونه‌ای باشد که منجر به تولید متان مازاد گردد، این گاز می‌تواند بهره‌وری انرژی خام برای دام را ۱۰-۷ درصد کاهش دهد (Moss و Givens، ۱۹۹۳). ازجمله روش‌های بهبود تخمیر در شکمبه، استفاده از بافرها می‌باشد (Cottle و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه بر این تولید مازاد بر ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک در شکمبه، نیز ضمن کاهش عملکرد دام، می‌تواند منجر به انتشار آلاینده‌ها از طریق دفع بیش‌تر نیتروژن در محیط زیست شود (Nooriyan Soroor و Moeini، ۲۰۱۵). فرآورده‌های اولیهٔ تخمیر در شکمبه شامل اسیدهای چرب‌فرار (استات، پروپیونات و بوتیرات)، اسیدهای تخمیری (لاکتات)، الکل‌ها (اتانول)، سوکسینات و سایر اسیدهای چرب فرار شاخه‌دار می‌باشند (Hill و همکاران، ۲۰۱۶). در مجموع مهم‌ترین گازهای تولید شده در شکمبه شامل متان، دی‌اکسیدکربن، هیدروژن و آمونیاک می‌باشند. تولید متان، مهم‌ترین مسیر برای برداشت یون‌های هیدروژن از محیط شکمبه است (Hill و همکاران، ۲۰۱۶). بیش‌تر گاز متان تولیدی در شکمبه از طریق آروغ زدن، خارج می‌گردد و در حدود ۱۵-۱۰ درصد آن از طریق تهویهٔ ششی و یا از طریق خروج گاز در نتیجهٔ هضم در قسمت‌های پایین‌تر دستگاه گوارش، حذف می‌گردد (Huhtanen و همکاران، ۲۰۱۵). اگرچه که گاز تولید شده در اثر فرآیند تخمیر در شکمبه، جزو فرآورده‌های زائد و بدون ارزش برای نشخوارکنندگان تلقی می‌گردد ولی از آزمایشات تولید گاز عمدتاً برای برآورد میزان تجزیه پذیری خوراک‌ها به‌دلیل ارتباطشان با تولید گاز استفاده می‌شود (Blummel و همکاران، ۱۹۹۷). بهبود تخمیر در شکمبه از طریق کاهش اتلاف منابع انرژی و پروتئین (از طریق کاهش تولید گاز متان و آمونیاک) در نهایت می‌تواند منجر به بهبود تولید در نشخوارکنندگان که یکی از اهداف مدیریت صحیح تغذیه‌ای می‌باشد، گردد. باکتری‌های متانوژنز نقش مهمی در بازدهی تولید انرژی در نشخوارکنندگان ایفا کرده و اندازه‌گیری آن می‌تواند کمک شایان توجهی به متخصصین تغذیه در جهت تهیهٔ یک جیرهٔ پربازده داشته باشد (Mitsumori و همکاران، ۲۰۱۲). به‌عنوان مثال افزایش در عملکرد دام را می‌توان به‌وسیلهٔ کاهش تولید متان از طریق به‌دام انداختن یون‌های هیدروژن برای تولید اسیدهای چرب فرار بیش‌تر و یا تغییر مسیرهای بیوشیمیایی مطلوب، بهبود بخشید (Mitsumori و همکاران، ۲۰۱۲). چندین تکنیک متفاوت برای ارزیابی برخی مواد خوراکی و یا افزودنی‌ها ارائه شده است که در بین آن‌ها تکنیک تولید گاز در عین سریع الاجرا بودن، پیاده‌سازی آن نسبت به آزمایشات حیوان زنده (in vivo)، ارزان‌تر تمام می‌شود (Kazemi و همکاران، ۲۰۰۹) و توسط بسیاری از محقیقن استفاده شده‌است (کاظمی و همکاران، ۱۳۹۷؛ Kazemi و همکاران، ۲۰۰۹). تکنیک تولید گاز در ابتدا از روی هضم کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول اندازه‌گیری شده و مقدار گاز تولید شده در محیط کشت، نشان‌دهندهٔ تولید اسیدهای چرب فراری خواهدبود که یک منبع اصلی انرژی برای نشخوارکنندگان محسوب می‌شوند و گاز تولیدی در محیط کشت، مستقیماً نشأت گرفته از تجزیهٔ میکروبی خوراک توسط میکروارگانیسم‌ها بوده و به‌طور غیرمستقیم نیز از بافری بودن اسیدهای تولید شده در نتیجهٔ تخمیر، حاصل می‌شود (Getachew و همکاران، ۲۰۰۴). در تغذیهٔ نشخوارکنندگان، بافرها به‌اکسیدها یا هیدروکسیدهایی اطلاق می‌گردند که باعث خنثی سازی اسیدهای موجود در خوراک‌های دامی (مثل سیلاژ ذرت) یا اسیدهای تولید شده در طی فرآیند تخمیر شکمبه‌ای، می‌شوند (Erdman، ۱۹۸۸). اکسیدمنیزیم از دستهٔ ترکیبات بافری بوده که در مطالعه‌ای افزودن آن به یک جیرهٔ پر کنسانتره در محیط کشت منجر به تغییر الگوی تخمیر و نیز افزایش pH شد (Herod و همکاران، ۱۹۷۸). این بافرها عموماً از طریق مکانیسم‌هایی هم‌چون افزایش pH، مقاومت در برابر کاهش pH و یا افزایش نرخ عبور مواد از شکمبه از طریق تأثیر بر نرخ رقت شکمبه‌ای، منجر به تغییر الگوی تخمیر در شکمبه می‌گردند (Nagaraja و همکاران، ۱۹۹۷). در مطالعه‌ای اگرچه افزودن بیکربنات به‌عنوان یک بافر در محیط کشت تأثیری بر تولید متان نداشت، ولی باکتری‌های متانوژنز تمایل به افزایش نشان دادند (Patra و Yu، ۲۰۱۳). هم‌چنین مکمل کردن جیرهٔ بزها با عنصر منیزیم در مقایسه با هیدروکسیدمنیزیم منجر به کاهش غلظت اسیدهای چرب فرار کل، نسبت استات به پروپیونات و تعداد قارچ‌های شکمبه‌ای شده ولی در مقابل درصد مولاریته اسیدپروپیونیک، تعداد کپی نامبرهای باکتری‌های متانوژنز و رهاسازی متان افزایش یافتند (Wang و همکاران، ۲۰۱۷). بافرها می‌توانند از طریق خنثی‌سازی اسیدهای مازاد تولیدشده در شکمبه که در اثر ترشح ناکافی بزاق و یا جیرهٔ پرکنسانتره ایجاد

www.SID.ir

Archive of SID

شده‌اند، باعث افزایش تولید و عملکرد دام‌های نشخوارکننده گردند. تغییر الگوی تخمیر شکمبه با روش‌های مختلف در جهت کاهش متان تولیدی و بهبود فراسنجه‌های هضمی- تخمیری، می‌تواند در ارتقای عملکرد دام مؤثر باشد و با توجه به این‌که آزمایشات بر روی حیوانات زنده هزینه‌بر و مستلزم زمان طولانی می‌باشد، این آزمایش در شرایط آزمایشگاهی و با هدف بررسی اثر استفاده از سطوح مختلف یک اکسیدمنیزیم تجاری بر پارامترهای هضمی-تخمیری، فراسنجه‌های تولید گاز و تولید متان یک جیرهٔ پرکنسانتره در یک محیط کشت ثابت انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ اکسیدمنیزیم: اکسیدمنیزیم (باخلوص ۳±۸۷ درصد و نام تجاری مگنوفید) پودر شده با مش شمارهٔ ۳۲۵ (۴۵ میکرون) از گروه دانش بنیان ویوان تهیه شد. هم‌چنین این محصول در کورهٔ با دمای ۱۲۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۲ ساعت فرآوری گردید و خلوص منیزیم آن ۲±۵۲ درصد بود. ترکیبات تشکیل‌دهندهٔ آن شامل MgO ۸۷/۰۸٪، SiO2 ۱/۱۵٪، Al2O3 ۰/۴۵٪، Na2O ۰/۰۶٪، CaO ۵/۹۳٪، Fe2O3 ۰/۵۴٪، TiO2 ۰/۰۱٪ و LOI ۴/۶۴ درصد بودند. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت انتقال داده شد تا رطوبت احتمالی آن گرفته شود.

کشت ثابت: شرایط کشت ثابت برای تخمین فراسنجه‌های تولید گاز، براساس روش ارائه شدهٔ Menke و Steingass (۱۹۸۸) تهیه شد. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم سوبسترا (جدول ۱، تهیه شده برای بره‌های پرواری نر بلوچی با وزن ۴۰ کیلوگرم)، به‌داخل شیشه‌های با حجم ۱۲۰ میلی‌لیتر ریخته شد. در ادامه اکسیدمنیزیم به‌مقدار صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد ماده خشک سوبسترا (معادل صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌گرم) به‌محتوای درون شیشه‌ها اضافه گردید. سپس مایع شکمبه و بزاق مصنوعی (با نسبت یک به دو و با حجم کلی ۳۰ میلی‌لیتر) به‌داخل شیشه‌ها اضافه شد و بلافاصله درب آن‌ها (۴ تکرار برای هر تیمار) با درپوش‌های لاستیکی بسته شد. درب‌های لاستیکی با سرپوش‌های آلومینیومی توسط کریمپر پلمپ شده و در حمام آب گرم با دمای ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد برای زمان‌های ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوبه شدند. اصول اندازه‌گیری و ثبت تولید گاز براساس روش Theodorou و همکاران (۱۹۹۴) انجام شد. مایع شکمبهٔ از دو رأس برهٔ نر بلوچی (۳/۵±۳۰ کیلوگرم) دارای فیستولای شکمبه‌ای و قبل از تغذیه صبحگاهی تهیه شد. نمونهٔ مایع شکمبه، بلافاصله با پارچهٔ متقال چهار لایه صاف شده و درون فلاکس مخصوص ریخته شد. پس از اتمام زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون، بلافاصله درب برخی شیشه‌ها (۴ عدد برای هر تیمار) باز و محتوای شیشه‌ها با کمک قیف بوخنر دارای صافی از جنس پلی استر با قطر ۴۵ میکرون، صاف گردید. در ادامه بلافاصله pH مایع فیلتر شده اندازه‌گیری و محتوای رویی کیسه، به‌داخل کروزه‌های از قبل شماره‌گذاری انتقال داده شد. کروزه‌ها در آون با دمای ۶۰ درجه به‌مدت ۴۸ ساعت تا خشک شدن نهایی نگه‌داری شد و درنهایت میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک تعیین شد. در ادامه با خاکستر کردن نمونه‌های باقی‌مانده، درصد تجزیه‌پذیری ماده آلی نمونه‌های خوراکی اضافه شده به محیط کشت نیز تعیین شد. جهت تعیین نیتروژن آمونیاکی، پس از فیلتر کردن محتوای شیشه‌ها، مقدار ۵ میلی‌لیتر از آن با ۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده و در نهایت، مقدار نیتروژن آمونیاکی به‌روش کجلدال تعیین شد (Komolong و همکاران، ۲۰۰۱). نمونه‌گیری از محیط کشت و ذخیره‌سازی آن‌ها برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار کل براساس روش Getachew و همکاران (۲۰۰۴)، انجام شد. تعیین مقدار کل اسیدهای چرب فرار (TVFA) براساس روش گزارش شدهٔ Barnett و Reid (۱۹۵۷) و به‌کمک دستگاه مارخام انجام شد. پس از ثبت حجم گاز تولیدی در انتهای زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون برای اندازه‌گیری مقدار متان تولید شده، ۴ میلی‌لیتر NaOH (۱۰ مولار) به محتوای هر یک از شیشه‌ها اضافه گردید. در حقیقت با تزریق NaOH، گاز دی‌اکسیدکربن توسط آن جذب شده و در نهایت حجم گاز باقی‌مانده در هر شیشه به‌عنوان حجم نهایی گاز متان اندازه‌گیری شد (Fievez و همکاران، ۲۰۰۵).

تعیین برخی پارامترهای میکروبی: از یک محیط کشت مشابه آزمون گاز (Menke و Steingass، ۱۹۸۸) برای تعیین پارامترهای این بخش استفاده شد. هم‌چنین از روش Makkar (۲۰۱۰) برای تعیین ضریب تفکیک‌پذیری (PF) استفاده شد به‌طوری‌که این ضریب عبارت بود از میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده تقسیم بر میلی‌لیتر گاز تولیدی که مطابق با معادلهٔ (۱) تعیین شد (Vercoe و همکاران، ۲۰۱۰):

معادلهٔ (۱): $PF = OMD/IVGP = c - (a - b)/IVGP$

در واقع انتخاب جیره براساس ضریب PF یعنی انتخاب قابلیت تجزیه‌پذیری بیش‌تر به‌ازای گاز تولیدشدهٔ کم‌تر می‌باشد. در معادلهٔ (۱)، c، b و a به‌ترتیب معادل ماده آلی ریخته شده در هر شیشه، مقدار خاکستر مواد هضم نشدهٔ واقعی در هر شیشه (میلی‌گرم) و مقدار ماده خشک تجزیه نشدهٔ واقعی در هر شیشه (میلی‌گرم) می‌باشد (البته مواد هضم نشده بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، پس

www.SID.ir

Archive of SID

از جمع‌آوری از شیشه‌ها با هدف شستن و زدودن بقایای میکروبی با محلول شویندهٔ خنثی شسته شدند). هم‌چنین IVGP نیز معادل گاز خالص تجمعی تولیدشده در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون می‌باشد.

جدول ۱: اقلام و ترکیبات شیمیایی سوبسترای به‌کار رفته در محیط کشت ثابت

اقلام	میزان (درصدی از ماده خشک)
یونجهٔ خشک	۳۰/۳۸
ذرت آسیاب شده	۲۱/۱۸
جو آسیاب شده	۲۱/۱۸
گندم آسیاب شده	۶/۰۰
سبوس گندم زبر	۱۰/۵۵
کنجالهٔ سویا	۷/۹۹
مکمل ویتامینی- معدنی[1]	۰/۷۲
نمک	۰/۵۶
کربنات سدیم	۰/۸۸
کربنات کلسیم	۰/۵۶
ترکیب شیمیایی	
انرژی قابل متابولیسم (Mcal/kgDM)	۲/۷۴
NFC (درصد)	۲۹/۶
NDF (درصد)	۲۴/۹
پروتئین خام (درصد)	۱۶/۲
چربی خام (درصد)	۴/۲
خاکستر (درصد)	۷/۶

۱- حاوی ۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کبالت، ۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ید، ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس، ۲۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، ۳۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم آهن، ۳٪ کلسیم، ۱/۲٪ فسفر، ۴٪ سدیم، ۱۱۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم منیزیم، ۲۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۱۰ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۲۰ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۴۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین D. این جیره برای بره‌های پرواری نر بلوچی با وزن ۴۰ کیلوگرم و براساس انجمن تحقیقات ملی (۲۰۰۷) تهیه شده است.

پس‌ازاتمام‌زمان‌ثبت‌گازتولیدی‌درطی۲۴ساعت انکوباسیون، محتویات داخل شیشه‌ها به‌داخل کیسه‌های پلی‌استری انتقال و با کمک دستگاه حرارتی پلمپ و به‌داخل دستگاه انکوم دارای محلول شویندهٔ خنثی انتقال داده شد. پس از اتمام زمان شستشو با محلول، کیسه‌ها به‌داخل آون با دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت انتقال و پس از خشک شدن و توزین (تفاضل کیسهٔ همراه نمونه هضم نشده بعد از استفاده از محلول NDS و خشک شدن در آون، از کیسهٔ خالی=a، میلی‌گرم)، به‌داخل کروزه‌های از پیش وزن شده انتقال و در کورهٔ با دمای ۵۵۰ درجهٔ سانتی‌گرادبه‌مدت ۴ساعت خاکستر شدند (وزن خاکستر خالص:b، میلی‌گرم).هم‌چنین چند کیسهٔ خالی به‌عنوان عامل تصحیح برای تولیدخاکستر موجود در آن‌ها درنظرگرفته شد و از خاکستر نمونهٔ هضم نشده واقعی کسر گردید. در نهایت از تفاضل مقدار b از a، مقدار ماده آلی تجزیه‌نشدهٔ واقعی برحسب میلی‌گرم محاسبه شد (Vercoe و همکاران، ۲۰۱۰). هم‌چنین میزان تودهٔ میکروبی تولیدی و راندمان سنتز تودهٔ میکروبی نیز براساس معادلهٔ (۲) و براساس روش Makkar (۲۰۱۰) محاسبه شد که در این رابطه MM معادل میلی‌گرم تودهٔ میکروبی تولید شده، NG معادل میلی‌لیتر گاز خالص تولیدی در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون و ۲/۲ نیز ضریب استوکیومتری می‌باشد. معادلهٔ (۲):

$$MM\ (\text{میلی‌گرم}) = [c-(a-b)] - [NG\ (\text{میلی‌لیتر}) \times ۲.۲] \quad (۲)$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های این آزمایش به‌کمک نرم‌افزار SAS (۲۰۰۲) و در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند. اختلاف آماری بین تیمارها در سطح ۵ درصد و با آزمون توکی تعیین شد. در این طرح از مدل آماری $Yij = \mu + Ti + eij$ استفاده شد که در آن Yij= مقدار هر مشاهده، μ= میانگین کل، Ti= اثر تیمار و eij= خطای آزمایشی بود.داده‌های تست گاز با کمک معادلهٔ Ørskov و McDonald (۱۹۹۷) $[Y = b(۱ - e^{-ct})]$ آنالیز شدند که در آن، Y= حجم گاز تولیدی در زمان t، b= گاز تولید شده از بخش دارای پتانسیل تولید گاز پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون(میلی‌لیتر به‌ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده‌خشک)، c= ثابت نرخ تولید گاز برای b (میلی‌لیتر در ساعت) و t معادل زمان انکوباسیون (h) بود.

نتایج

پارامترهای تخمیری: برخی پارامترهای تخمیری حاصل از افزودن سطوح مختلف اکسیدمنیزیم در محیط کشت در جدول ۲ ارائه شده است. میزان pH در تیمارهای دارای اکسیدمنیزیم نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود. اگرچه که با افزایش سطوح اکسیدمنیزیم در جیره،نیتروژن‌آمونیاکی در محیط کشت کاهش یافت اما کم‌ترین مقدار نیتروژن آمونیاکی مربوط به سطح ۴ درصد اکسیدمنیزیم بود. اسیدهای چرب فرار کل تحت تأثیر افزودن اکسید منیزیم به جیره قرار نگرفت.

فراسنجه‌های تولید گاز: فراسنجه‌های تولید گاز حاصل از افزودن سطوح مختلف اکسیدمنیزیم در محیط کشت در جدول ۳ ارائه شده است. اگرچه که پتانسیل تولید گاز تحت تأثیر افزودن سطوح مختلف اکسیدمنیزیم به جیره قرار نگرفت اما ثابت نرخ تولید گاز(c_{gas})و تولیدتجمعی گاز در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲

www.SID.ir

Archive of SID

ساعت انکوباسیون، در مقایسه با تیمار شاهد، کاهش معنی‌داری نشان داد. با افزودن اکسیدمنیزیم به جیره نیز تولید گاز متان به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد کاهش نشان داد به‌طوری‌که کم‌ترین میزان متان تولید شده در سطوح ۳ و ۴ درصد اکسیدمنیزیم مشاهده شد.

جدول ۲: برخی پارامترهای تخمیری حاصل از افزودن سطوح مختلف اکسیدمنیزیم در محیط کشت

پارامتر تخمیری	سطوح مختلف اکسید منیزیم					SEM	p-value
	صفر (شاهد)	۱	۲	۳	۴		
pH	۶/۶۶^{b}	۶/۷۸^{a}	۶/۸۱^{a}	۶/۸۳^{a}	۶/۷۸^{a}	۰/۰۴	۰/۰۵
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۳۲/۶۴^{a}	۳۱/۷۴^{ab}	۳۰/۹۷^{ab}	۲۷/۳۳^{ab}	۲۳/۲۶^{b}	۲/۳۰	۰/۰۵
اسیدهای چرب فرار کل (میلی‌مول/لیتر)	۳۱/۶۲	۳۰/۱۷	۳۳/۵۰	۳۴/۱۷	۳۲/۷۵	۲/۱۳	۰/۸

حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها می‌باشد ($p<0/05$)، نیتروژن آمونیاکی: NH_3-N؛ اسیدهای چرب فرار کل:TVFA

جدول۳: فراسنجه‌های تولید گاز حاصل از افزودن سطوح مختلف اکسیدمنیزیم در محیط کشت

فراسنجه‌های تولید گاز	سطوح مختلف اکسید منیزیم					SEM	P-value
	صفر(شاهد)	۱	۲	۳	۴		
GP_{12} (میلی‌لیتر)	۴۱/۰۵^{a}	۳۴/۸۵^{b}	۳۲/۶۱^{bc}	۳۱/۶۴^{c}	۳۲/۶۲^{bc}	۱/۶۳	۰/۰۲
GP_{24} (میلی‌لیتر)	۴۷/۳۵^{a}	۴۲/۲۷^{b}	۳۹/۰۲^{c}	۴۰/۶۸^{bc}	۴۱/۴۰^{bc}	۰/۸۷	۰/۰۰۰۳
GP_{48} (میلی‌لیتر)	۵۵/۳۲^{a}	۴۹/۹۷^{b}	۴۸/۹۶^{b}	۴۹/۶۹^{b}	۴۹/۵۷^{b}	۰/۹۵	۰/۰۰۳
GP_{72} (میلی‌لیتر)	۵۸/۸۲^{a}	۵۴/۲۷^{b}	۵۳/۹۶^{b}	۵۳/۵۲^{b}	۵۴/۷۵^{b}	۱/۰۰	۰/۰۲
پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر)	۵۷/۱۶	۵۴/۱۵	۵۳/۹۰	۵۴/۲۶	۵۵/۰۶	۰/۹۸	۰/۲
ثابت نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر)	۰/۱^{a}	۰/۰۷۶^{b}	۰/۰۶۵^{c}	۰/۰۶۴^{c}	۰/۰۶۳^{c}	۰/۰۰۲	<۰/۰۰۰۱
تولید متان (میلی‌لیتر/۲۰۰میلی‌گرم ماده خشک)	۱۴/۴۲^{a}	۱۱/۸۵^{b}	۱۰/۴۱^{bc}	۹/۵۲^{c}	۹/۹۳^{c}	۰/۴۶	<۰/۰۰۰۱

حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها می‌باشد ($p<0/05$)، GP12, 24, 48 and 72، شامل تولید تجمعی گاز در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از انکوباسیون می‌باشند. پتانسیل تولید گاز:b_{gas}؛ ثابت نرخ تولید گاز: c_{gas}

پارامترهای هضمی-میکروبی: اثر افزودن سطوح مختلف اکسیدمنیزیم بر برخی پارامترهای هضمی- میکروبی برآورد شده از محیط کشت در جدول ۴ آورده شده است. تجزیه‌پذیری ماده آلی، تحت تأثیر افزودن سطوح مختلف اکسیدمنیزیم به محیط کشت افزایش معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد، ولی در بین تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری برای ضریب PF و تودهٔ میکروبی تولیدی مشاهده نشد. بیش‌ترین راندمان سنتز تودهٔ میکروبی در تیمارهای دارای سطوح مختلف اکسید منیزیم مشاهده شد.

جدول۴: اثر افزودن سطوح مختلف اکسید منیزیم بر برخی پارامترهای هضمی-میکروبی برآورد شده از محیط کشت

مورد	سطوح مختلف اکسید منیزیم					SEM	P-value
	صفر(شاهد)	۱	۲	۳	۴		
تجزیه‌پذیری ماده‌خشک (درصد)	۷۷/۳۹^{ab}	۸۰/۹۱^{a}	۷۴/۶۹^{b}	۷۳/۳۲^{b}	۷۳/۱۴^{b}	۱/۳۶	۰/۰۰۵
تجزیه‌پذیری ماده آلی (درصد)	۸۰/۹۷^{c}	۸۶/۱۱^{a}	۸۳/۷۴^{ab}	۸۲/۷۳^{bc}	۸۴/۴۰^{ab}	۰/۷۶	۰/۰۰۳
ضریب PF (میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده/میلی‌لیتر گاز تولیدی)	۳/۱۱	۳/۲۲	۳/۲۸	۳/۲۸	۳/۲۳	۰/۰۵	۰/۲
تودهٔ میکروبی تولیدی (میلی‌گرم/۲۰۰میلی‌گرم سوبسترا)	۵۳/۲۸	۵۸/۵۶	۶۰/۷۹	۶۰/۶۸	۵۸/۷۹	۲/۱۲	۰/۲
راندمان سنتز تودهٔ میکروبی (درصد)	۲۸/۹۹^{b}	۵۸/۵۶^{a}	۶۰/۷۵^{a}	۶۰/۶۸^{a}	۵۸/۷۹^{a}	۱/۸۴	<۰/۰۰۰۱

حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها می‌باشد ($p<0/05$)، PF: Partitioning Factor: ضریب تفکیک‌پذیری

بحث

پارامترهای تخمیری: اسیدهای چرب فرار (اسیدپروپیونیک، بوتیریک و استیک)، محصول نهایی تخمیر در شکمبهٔ نشخوارکنندگان بوده که بخش اعظم انرژی مورد نیاز این گروه از دام‌ها از طریق این اسیدها تأمین می‌گردد. در این مطالعه، اگر چه که تولید اسیدهای چرب فرار کل (TVFA) تحت تأثیر افزودن

www.SID.ir

Archive of SID

سطوح مختلف اکسیدمنیزیم به محیط کشت قرار نگرفت، ولی تمایل به افزایش داشت. تولیدآمونیاک در شکمبه در نتیجهٔ فعالیت باکتری‌های پروتئولیتیک و باکتری‌های تولیدکنندهٔ آمونیاک بالا (Hyper-ammonia producing) می‌باشد (McIntosh و همکاران، ۲۰۰۳) به‌طوری که باکتری‌های تولیدکنندهٔ آمونیاک بالا در شکمبه، با وجود پایین بودن جمعیت آن‌ها، فعالیت دآمیناسیون بالایی دارند (Russell و همکاران، ۱۹۸۸). در مطالعهٔ حاضر با توجه به کاهش نیتروژن آمونیاکی تولیدشده در محیط کشت در اثر استفاده از سطح بالای اکسید منیزیم (۴ درصد)، به‌نظر می‌رسد که اکسید منیزیم الگوی تخمیر را در محیط کشت تغییر داده که متعاقباً نیتروژن آمونیاکی دستخوش تغییرات شده است. گزارش شده است که نوع و مقدار مصرف خوراک‌های دامی نیز می‌تواند بر پاسخ بافرها در شکمبه تأثیرگذار باشد و از طرفی فرموله کردن یک جیره براساس پتانسیل بافری اجزای تشکیل‌دهندهٔ آن نیز می‌تواند بر فرآیند تخمیر و یا پاسخ بافری شکمبه تأثیرگذار باشد (Erdman، ۱۹۸۸). هم‌چنین گزارش شده است که ظرفیت بافری یک جیره بستگی به میزان کاتیون‌ها و خاکستر موجود در آن دارد (Jasaitis و همکاران، ۱۹۸۷). اگرچه که در مطالعهٔ حاضر تعادل کاتیون- آنیون جیرهٔ کاربردی در محیط کشت محاسبه نشد ولی ماهیت این جیره پر از غلات بود که می‌تواند شرایط اسیدی را در نبودیک بافر افزایش دهد از طرفی افزودن اکسیدمنیزیم در هریک از سطوح، منجر به افزایش pH محیط کشت شد. یک رابطهٔ منفی بین pH مایع شکمبه و غلظت یون Mg^{+2} زمانی مشاهده شده که در جیرهٔ بزها از عنصر منیزیم استفاده شده بود (Wang و همکاران، ۲۰۱۷).

گزارش شده است که بافرها از طریق افزایش pH شکمبه و افزایش نرخ خروج مواد از شکمبه، باعث تغییر الگوی تخمیر در شکمبه می‌شوند (Le Ruyet و Tucker، ۱۹۹۲). بافرها هم‌چنین از طریق کنترل نرخ رقت شکمبه‌ای و pH، باعث تعادل و افزایش فعالیت گونه‌های میکروبی شده و در نهایت باعث در دسترس قرار گرفتن سوبسترا برای هضم تخمیری توسط میکروارگانیسم‌ها خواهند شد (Chalupa، ۱۹۸۱). مواد قلیایی هم‌چون اکسیدمنیزیم در کنترل اسیدوز مؤثر بوده به‌طوری که از آن در جیره‌های دارای غلات فراوان، به‌ویژه در جهت کاهش افت چربی شیر بوفور استفاده شده است (Calsamiglia و همکاران، ۲۰۱۲). گزارش شده است که نرخ عبور مواد از شکمبه تحت تأثیر بافرهایی هم‌چون بیکربنات سدیم و بنتونیت سدیم افزایش یافته ولی اکسیدمنیزیم و کربنات کلسیم تأثیری در این ارتباط نداشت (Rogers و همکاران، [b]۱۹۸۲). در آزمایشاتی پارامترهای تخمیری از قبیل اسیدهای چرب فرار کل، نسبت استات به پروپیونات، تجزیه‌پذیری پروتئین جیره و نیز سنتز پروتئین میکروبی، تحت تأثیر بافرهای مختلف در جیره قرار گرفتند (Erdman، ۱۹۸۸؛ Teh و همکاران، ۱۹۸۵). گزارش شده‌است که افزایش pH شکمبه منجر به افزایش هضم شکمبه‌ای فیبر (Okeke و همکاران، ۱۹۸۳) و پروتئین (Loerch و همکاران، ۱۹۸۳) می‌شود. شمار زیادی از مطالعات *in vivo* و *in vitro* نشان داده که دامنهٔ ایده‌آل برای حداکثر هضم فیبر در شکمبه در محدودهٔ ۶/۸-۶/۶ می‌باشد (Hoover، ۱۹۸۶). یک افزایش ۶۳/۶ درصدی در هضم الیاف نامحلول در شویندهٔ اسیدی زمانی مشاهده شد که ۰/۱ واحد pH محیط شکمبه افزایش یافت (Erdman، ۱۹۸۸). در آزمایش فعلی میزان pH در اثر افزودن اکسید منیزیم به جیره، به بالاتر از ۰/۱ واحد نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد که در توافق با مطالعهٔ Erdman (۱۹۸۸) می‌باشد.

در مطالعات دیگری مشخص گردید که بافرها، میزان استات شکمبه‌ای را ثابت نگه‌داشته ولی تولید پروپیونات را کاهش می‌دهند (Rogers و Davis، [a]۱۹۸۲). هم‌چنین یک رابطهٔ معکوس بین نسبت مولی پروپیونات و نرخ رقت شکمبه‌ای گزارش شده است (Thomson و همکاران، ۱۹۷۸). از بافرهایی هم‌چون اکسیدمنیزیم و جوش شیرین عمدتاً در جیرهٔ گاوهایی که دچار کمبود چربی شیر به‌دلیل مصرف زیاد غلات و در نتیجه کاهش pH و قابلیت هضم فیبر شده‌اند، استفاده می‌شود (Clark و Davis، ۱۹۸۰). گزارش شده است که مصرف بافرها در گاوهای گوشتی که کنسانترهٔ فراوانی از طریق جیره دریافت می‌کنند، با هدف حفظ pH شکمبه صورت می‌گیرد (Nagaraja و همکاران، ۱۹۹۷). مصرف خوراک‌های غنی از کنسانتره می‌تواند دام را به‌سمت اسیدوز شکمبه‌ای، لنگش و آبسه‌های کبدی سوق دهد. در حیواناتی که به جیرهٔ پر غله عادت کرده‌اند، یک اسیدوز مزمن و یا تحت حاد از طریق کاهش pH شکمبه‌ای به‌دلیل افزایش اسیدهای چرب فرار کل، اجتناب‌ناپذیر می‌باشد (Stock و همکاران، ۱۹۸۷). استفاده از بافرها در جیره‌ها در برخی موارد بی‌تأثیر یا کم و حتی منفی نیز می‌باشد (Zinno، ۱۹۹۱). میزان pH شکمبه عمدتاً توسط یون‌های بیکربنات موجود در بزاق، بافری می‌گردد. کاهش درصد علوفه در جیره منجر به کاهش جویدن و در نهایت فرآیند نشخوار شده و متعاقباً کاهش تولید بزاق را به‌همراه خواهد داشت (Kaplan و همکاران، ۲۰۱۰). مادامی‌که غلظت اسیدهای چرب فرار کل در شکمبه افزایش می‌یابد، pH شکمبه در نتیجهٔ هضم سریع کربوهیدرات‌های موجود در خوراک‌های کنسانتره‌ای کاهش یافته و در نهایت منجر به تغییرات وسیعی در جمعیت باکتری‌ها خواهد شد به‌ویژه شمار باکتری‌های تولیدکنندهٔ اسیدلاکتیک

www.SID.ir

Archive of SID

درنتیجه این اسیدوز، افزایش می‌یابند (Kaplan و همکاران، ۲۰۱۰). دراثرافزودن اکسیدمنیزیم به جیرهٔ گاوهای شیری، تولید اسیدهای چرب فرار کل و اسیداستیک افزایش یافت ولی در مقابل تولید اسید پروپیونیک با کاهش مواجه شد و هم‌چنین غلظت نیتروژن آمونیاکی تحت تأثیر این بافر قرار نگرفت (Kaplan و همکاران، ۲۰۱۰) که در تناقض با مطالعهٔ اخیر می‌باشد. مکمل کردن یک جیره با اکسیدمنیزیم درمحیط کشت، منجر به افزایش تولید گاز، ظرفیت بافری و pH محیط کشت شد (Umucalilar و Seker، ۲۰۰۰) ولی در مقابل بر اسیدهای چرب فرار کل تأثیری نداشت که در تطابق با گزارش اخیر می‌باشد.

بخش اعظمی از جیرهٔ کنسانتره‌ای گاوهای شیری را غلات، منابع پروتئینی و یا محصولات فرعی کشاورزی تشکیل می دهند که از فیبر پایین و انرژی قابل هضم بالایی برخوردار می‌باشند (Enemark، ۲۰۰۸). برای افزایش تولید روزانهٔ شیر در دامداری‌های بزرگ و کوچک، نیاز به تغذیهٔ آن‌ها با کربوهیدرات‌های سهل التخمیری هم‌چون ذرت و جو همراه با انرژی بالا می‌باشد (Bargo و همکاران، ۲۰۰۳؛ Horan و همکاران، ۲۰۰۶). از طرفی تغذیهٔ گاوهای شیرده با کربوهیدرات‌های فراوان، منجر به کاهش pH شکمبه خواهد شد. گاوها قادرند از طریق کاهش مصرف خوراک، تغییر الگوی خوراک مصرفی، افزایش نشخوار و افزایش جذب اسید از دیوارهٔ شکمبه، در برابر کاهش pH شکمبه مقاومت نمایند، اما در نهایت تغذیه با مواد پرانرژی منجر به بروز اسیدوز در آن‌ها خواهد شد (اسیدیتهٔ شکمبه‌ای ۶/۲ و ۵/۲ به‌ترتیب مشمول اسیدوز مزمن و حاد می‌گردد). امروزه استفاده از بافرهای خوراکی با هدف تعدیل تأثیر زیان‌بار کاهش pH در جیره‌های با مواد متراکم بالا، رواج یافته است (Marden و همکاران، ۲۰۰۸؛ Plaizier و همکاران، ۲۰۰۸). غلظت نیتروژن آمونیاکی در اثر افزودن ۰/۸ درصد اکسید منیزیم به جیرهٔ گوساله‌های پرواری هلشتاین کاهش و میزان pH آن‌ها نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت که در تطابق با گزارش اخیر می‌باشد (Teh و همکاران، ۱۹۸۷). باهدف کنترل pH شکمبه، مطالعات زیادی درخصوص استفاده از مکمل‌هایی از قبیل بیکربنات سدیم و اکسیدمنیزیم و یا استفاده از مخمرهای زنده صورت گرفته است (Thrune و همکاران، ۲۰۰۹؛ DeVries و Chevaux، ۲۰۰۹). در مطالعات دیگری نیز بازدهی استفاده از اکسیدمنیزیم بر افزایش pH شکمبه به اثبات رسیده است (Tebbe و همکاران، ۲۰۱۸؛ Calsamiglia و همکاران، ۲۰۱۲).

فراسنجه‌های تولید گاز: در اثر تخمیر خوراک، دسته‌ای از میکروارگانیسم‌ها قادر به تولید گاز در محیط شکمبه خواهند بود که متان یکی از اجزاء این گازها می‌باشد و می‌تواند پس از رهاسازی، باعث آلودگی محیط زیست گردد. در این مطالعه، تغییرات معنی‌داری برای فراسنجه‌های تولید گاز در بین سطوح مختلف اکسیدمنیزیم مشاهده شد و منجر به کاهش اکثر این پارامترها شد. یکی از گازهایی که در محیط شکمبهٔ دام‌های نشخوارکننده تولید می‌شود، متان بوده که رهاسازی آن از طریق آروغ به محیط، خسارت جبران ناپذیری بر لایهٔ ازن خواهد داشت و تخمین زده شده است که این گاز ۲۳ برابر بیش‌تر از دی‌اکسید کربن منجر به گرم شدن کرهٔ زمین می‌گردد (IPCC، ۱۹۹۶)، بنابراین کنترل این گاز از طریق اعمال بافرها، ازجمله راهکارهای ارزان‌قیمت و با اهمیت در حذف و یا کم‌تر تولید شدن این گاز گلخانه‌ای می‌باشد. در مطالعهٔ فعلی تولید گاز متان در تیمارهای دارای سطوح مختلف اکسیدمنیزیم به‌طور محسوسی در برابر تیمار شاهد، کاهش نشان داد. براساس مطالعات مختلف، افزودنی‌های خوراکی از قبیل بافرها می‌توانند از طریق مهار پروتوزوآ، تحریک تولید پروپیونات، کاهش تولید هیدروژن و مهار مستقیم باکتری‌های تولیدکنندهٔ متان، منجر به کاهش تولید متان گردند (Castro-Montoya و همکاران، ۲۰۱۲). گزارش شده است که عنصر منیزیم از طریق تأثیر بر میزان یون‌های هیدروژن حل شده در شکمبه، تولید متان که وابسته به این یون‌ها می‌باشد را تحت تأثیر خود قرار می‌دهند (Wang و همکاران، ۲۰۱۷).

تولید گاز عمدتاً نتیجهٔ تخمیر کربوهیدرات‌ها به استات، پروپیونات و بوتیرات می‌باشد (Blummel و Ørskov، ۱۹۹۳). گاز حاصل از تخمیر پروتئین‌ها به‌مراتب کم‌تر از گاز تولید شده از تخمیر کربوهیدرات‌ها می‌باشد (Wolin، ۱۹۶۰) و نیز گاز حاصل از تخمیر چربی‌ها اندک می‌باشد. گاز اندازه‌گیری شده به‌روش تولید گاز، مستقیماً نشأت گرفته از تخمیر مستقیم کربوهیدرات‌ها و تولید دی‌اکسیدکربن و متان بوده و به‌طور غیرمستقیم حاصل گاز تولید شده در نتیجهٔ بافری شدن اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر (دی‌اکسیدکربن رها شده از بافر بیکربنات) می‌باشد به‌طوری‌که وقتی از بافر بیکربنات برای تخمیر علوفه‌های خشبی استفاده شد، در حدود ۵۰ درصد کل حجم گاز تولیدی در نتیجهٔ بافری شدن اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و مابقی از تخمیر حاصل شد (Blummel و Ørskov، ۱۹۹۳). هم‌چنین گاز تولید شده در محیط کشت، عمدتاً نتیجهٔ تبدیل سوبستراهای موجود به استات و بوتیرات می‌باشد. سوبستراهایی که منجر به تولید پروپیونات در محیط کشت می‌گردند، عمدتاً گاز کم‌تری تولید کرده و گاز تولید شده هم در نتیجهٔ بافری شدن این اسید می‌باشد (Van Soest، ۱۹۹۴). وجود رابطهٔ منفی بین تولید اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر و تولید تودهٔ میکروبی در شرایط حیوان زنده (*in vivo*)

www.SID.ir

Archive of SID

توسط Leng (۱۹۹۳) گزارش شده است. بنابراین از نسبت مولی استات به پروپیونات برای بررسی تفاوت‌های تولید گاز استفاده می‌شود. اگر تخمیر خوراک منجر به تولید بیش‌تر استات گردد، تولید گاز بیش‌تری در مقایسه با زمانی خواهد داشت که پروپیونات تولید شود (Getachew و همکاران، ۱۹۹۸). فاکتورهای بسیاری وجوددارند که می‌توانند تخمیر توسط میکروارگانیسم را دستخوش تغییرات نمایند. در واقع وجود شرایط بی‌هوازی، دمای انکوباسیون صحیح، pH مناسب و ظرفیت بافری مناسب بر تولید گاز در شرایط محیط کشت تأثیرگذار می‌باشد (Getachew و همکاران، ۱۹۹۸). امروزه با استفاده از تکنیک تولید گاز، مصرف ماده خشک اختیاری خوراک از روی نرخ و مقدار مواد حاصل از تخمیر در شرایط آزمایشگاهی، قابل برآورد می‌باشد، اما اخیراً عنوان شده است که حجم گاز تولیدی تنها منعکس‌کنندهٔ تولیداسیدهای چرب فرار بوده و یک رابطهٔ معکوس بین تولید گاز و تولید تودهٔ میکروبی در شرایط *in vitro* وجود دارد (Khazaal و همکاران، ۱۹۹۵).

گازهای H_2 و Co_2، مهم‌ترین سوبستراها برای باکتری‌های متانوژنز در شکمبه بوده به‌طوری‌که یون‌های H_2 عمدتاً از تخمیر کربوهیدرات‌ها در شکمبه به‌وجود آمده که در تولید متان مؤثر می‌باشند (McAllister و Newbold، ۲۰۰۸). در مطالعهٔ فعلی به‌نظر می‌رسد که کاهش در تولید گاز متان در اثر افزودن اکسید منیزیم به‌دلیل از دسترس خارج کردن هیدروژن و دی‌اکسید کربن مورد نیاز در سنتز متان باشد، کما این‌که تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون (۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) در تیمارهای‌دارای سطوح‌مختلف‌اکسیدمنیزیم نسبت به تیمار شاهد کم‌تر بود. گاز تولید شده در شرایط *in vitro*، گازی است که هم مستقیماً در نتیجهٔ تخمیر (تولید متان و دی اکسیدکربن) تولید شده است و هم به‌طور غیرمستقیم از بافری شدن اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (دی‌اکسیدکربن آزاد شده از بافر بیکربنات) نشأت می‌گیرد (Getachew و همکاران، ۱۹۹۸). در مورد علوفه‌های خشبی، زمانی‌که از بافر بیکربنات استفاده شد، درحدود ۵۰ درصد کل گاز تولید شده از فرآیند بافری شدن اسیدهای چرب کوتاه زنجیر حاصل شد و مابقی به‌طور مستقیم در نتیجهٔ فرآیند تخمیر حاصل شد (Blummel و Ørskov، ۱۹۹۳). هم‌چنین عمدهٔ گاز تولیدی زمانی حاصل می‌گردد که سوبسترا به استات و بوتیرات تبدیل شود و حجم گازی که در نتیجهٔ تخمیر سوبسترا منجر به پروپیونات می‌گردد، در مقایسه با تولید بوتیرات و استات کم‌تر خواهد بود (Vans Soest، ۱۹۹۴). در مطالعهٔ فعلی اگرچه که میزان تک تک اسیدهای چرب فرار تعیین نشد، اما به‌نظر می‌رسد که تولید پروپیونات در نتیجهٔ افزودن اکسیدمنیزیم به‌محیط کشت، افزایش یافته است که متعاقباً بخشی از کاهش تولید گاز را در این تیمارها به‌دنبال داشته است. در مطالعه‌ای اختلاف آماری معنی‌داری برای پتانسیل تولید گاز زمانی‌که کربنات منیزیم به یک جیرهٔ پایه در شرایط آزمایشگاهی اضافه شد، در مقایسه با تیمار شاهد (بدون افزودنی) مشاهده نشد (مهدوی‌راد و همکاران، ۱۳۹۶) که در تطابق با گزارش اخیر می‌باشد.

پارامترهای هضمی-میکروبی: درحقیقت پایین‌بودن مقدار PF، بیان‌کنندهٔ پایین بودن راندمان سنتز پروتئین میکروبی در محیط کشت بوده و بدین معنی است که سهم بیش‌تری از مادهٔ خوراکی هضم‌شده صرف تولید گاز نسبت به سنتز پروتئین میکروبی شده است (Sallam، ۲۰۰۹). به‌نظر می‌رسد که خوراک‌های دامی را بایستی بر این اساس انتخاب نمود که دارای قابلیت هضم واقعی بیش‌تری بوده و از طرف دیگر میزان تولید گاز به‌ازای هر واحد از سوبسترای هضم شدهٔ واقعی، کم‌تر باشد (Makkar، ۲۰۰۴). هم‌چنین گزارش شده‌است که افزایش ضریب PF، نشان‌دهندهٔ بهبود راندمان تخمیر می‌باشد (Blummel و همکاران، ۱۹۹۷). در مطالعهٔ حاضر، PF تحت تأثیر افزودن اکسید منیزیم به جیره قرار نگرفت اما راندمان سنتز تودهٔ میکروبی بهبود یافت که بخشی از این بهبود شاید به‌خاطر کاهش تولید متان و نیز کاهش تولید حجم تجمعی گاز در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون در جیره‌های حاوی اکسیدمنیزیم باشد. منابع منیزیمی (به‌ویژه کربنات‌ها) در درجه حرارت‌های مختلف و در حضور برخی مواد هم‌چون آهک قرار گرفته تا در نهایت اکسیدمنیزیم مربوطه تولید شود که قاعدتاً دماهای مختلف حرارتی و قطر اندازهٔ ذرات آن بر کیفیت و نهایتاً نحوهٔ اثرگذاری آن‌ها مؤثر خواهد بود. به‌عنوان مثال، تهیهٔ اکسید منیزیم در درجه‌حرارت‌های پایین (کم‌تر از ۵۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد)، منجر به تولید محصولاتی با ساختار متخلخل دارای سطح وسیع شده که واکنش‌پذیری آن را افزایش می‌دهد (Bach و همکاران، ۲۰۱۷). در واقع خاصیت واکنش‌پذیری اکسیدمنیزیم در شکمبه بستگی به قابلیت حلالیت آن، منبع تأمین شدهٔ آن، ترکیبات شیمیایی آن، فرآیند حرارتی اعمال شده برای تولید آن و قطر اندازه ذراتش دارد (Beede، ۲۰۱۷). هم‌چنین یک رابطهٔ معکوس بین تودهٔ میکروبی تولیدی و گاز تولید شده به‌ازای هر واحد از سوبسترای هضم شدهٔ حقیقی گزارش شده است (Blummel و همکاران، ۱۹۹۷). عموماً بافرها، در دستگاه گوارش نشخوارکنندگان به‌صورت متفاوتی عمل می‌کنند و در مجموع دو سازوکار ویژه در خصوص عملکرد بافرها در شکمبه عنوان شده که شامل خنثی کردن اسید و تثبیت pH شکمبه و دیگری افزایش میزان عبور مایعات از شکمبه می‌باشد (Erdman، ۱۹۸۸). بافرها از طریق کاهش

www.SID.ir

Archive of SID

اسیدیته، افزایش نسبت استات به پروپیونات، باعث بهبود قابلیت هضم فیبر خوراک می‌شوند بنابراین این عمل منجر به افزایش مصرف خوراک گشته و متعاقباً افزایش تولید شیر و نیز چربی شیر رابه‌دنبال خواهدداشت(Beauchemin و Yang، ۲۰۰۵).در حقیقت بافرها به‌طور گسترده‌ای با هدف تعدیل اثرات زیان‌بار اسیدیته در جیره‌های دارای کنسانترهٔ فراوان استفاده می‌شوند، اما پاسخ به بافرها متنوع و غیرقابل پیش‌بینی می‌باشد (Erdman، ۱۹۸۸).

در مجموع در مطالعهٔ حاضر علی‌رغم این‌که غلظت اسیدهای چرب‌فرار کل(TVFA)،ضریب تفکیک‌پذیری(PF) و تودهٔ میکروبی تولیدی تحت تأثیر افزودن سطوح مختلف اکسید منیزیم به جیره قرار نگرفت اما pH محیط کشت، تجزیه‌پذیری ماده خشک و ماده آلی،تولیدمتان، برخی‌فراسنجه‌های تولید گاز و نیتروژن آمونیاکی در راستای بهبود آن‌ها برای عملکرد نشخوارکنندگان، دستخوش تغییرات شدند. درنتیجهٔ افزودن هر یک از سطوح اکسیدمنیزیم به سوبسترای محیط کشت، تولید گاز در زمان‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد و به‌نظر می‌رسد که با توجه به افزایش راندمان سنتز تودهٔ میکروبی در سطوح مختلف اکسیدمنیزیم، این افزودنی سوبسترای قابل تخمیر بیش‌تری را از طریق کاهش تولید گاز برای تولید تودهٔ میکروبی فراهم کرده است. در مجموع سطوح مختلف اکسید منیزیم می‌تواند الگوی تخمیر شکمبه‌ای را دستخوش تغییراتی در راستای بهبود برخی پارامترهای تخمیری نماید. هم‌چنین با توجه به این‌که تولیدگاز متان ازمنظر اتلاف انرژی قابل متابولیسم برای دام و از منظر آلودگی محیط زیست با اهمیت می‌باشد، کاهش معنی‌داری در اثر استفاده از سطوح مختلف اکسیدمنیزیم برای تولید متان مشاهده شد که اهمیت کاربرد اکسیدمنیزیم را در تغذیهٔ نشخوارکنندگان برجسته می‌نماید. به‌طورکلی پیشنهاد می‌گردد که تحقیقات بیش‌تری برای بررسی اثرات این سطوح از اکسیدمنیزیم بر پارامترهای تخمیری شکمبه‌ای، عملکرد و فراسنجه‌های خونی حیوان زنده (اعم از گاو و گوسفند) نیز انجام شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی مصوب معاونت آموزشی- پژوهشی مجتمع آموزش عالی تربت‌جام انجام گرفت و نویسندگان مقاله، مراتب تقدیر و تشکر خود را از این مجتمع و معاونت مربوطه اعلام می‌دارند. از گروه دانش بنیان ویوان به‌خاطر همکاری در اجرای این پژوهش نیز قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. **کاظمی، م.؛ ابراهیمی‌خرم‌آبادی، ا.؛ ولی‌زاده، ر.؛ حیدری، س. و اسکندری‌تربقان، آ.، ۱۳۹۷.** اثر رنگ بروموکروزول گرین بر فعالیت‌های تخمیری میکروارگانیسم‌های شکمبه و حذف آن از آب با استفاده از خاکستر پوست خربزه و بنتونیت سدیم فرآوری‌شده. نشریه علوم دامی (پژوهش و سازندگی). شماره ۱۲۰، صفحات ۲۴۱ تا ۲۵۲.

۲. **مهدوی‌راد، ن.؛ چاجی، م.؛ بوجارپور، م. و دهقان‌بنادکی، م.، ۱۳۹۶.** بررسی ظرفیت بافری چند ترکیب بافری رایج در تغذیهٔ نشخوارکنندگان با استفاده از روش عیارسنجی اسید و تأثیر آن ها بر فراسنجه های تولید گاز. نشریه علوم دامی ایران. دوره ۴۸، شماره ۴، صفحات ۵۵۹ تا ۵۷۱.

۳. **Bach, A.; Guasch, I.; Elcoso, G.; Duclos, J. and Khelil-Arfa, H., 2017.** Modulation of rumen pH by sodium bicarbonate and a blend of different sources of magnesium oxide in lactating dairy cows submitted to a concentrate challenge. Journal of Dairy Science. Vol. 101, pp: 1-12.

۴. **Bargo, F.L.; Kolver, E. and Delahoy, J., 2003.** Invited review: production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. Journal of Dairy Science. Vol. 86, No. 1, pp: 1-42.

۵. **Barnett, A.J.G. and Reid, R., 1957.** Studies on the production of volatile fatty acids from grass in artificial rumen. 1. Volatile fatty acids production from fresh grasses. The Journal of Agricultural Science (Cambridge). Vol. 48, pp: 315-321.

۶. **Beauchemin, K.A. and Yang, W.Z., 2005.** Effects of physically effective fiber on intake, chewing activity, and ruminal acidosis for dairy cows fed diets based on corn silage. Journal of Dairy Science. Vol. 88, No. 6, pp: 2117-2129.

۷. **Beauchemin, K.A.; Kreuzer, M.; O'Mara, F. and McAllister, T.A., 2008.** Nutritional management for enteric methane abatement: a review. Animal Production Science. Vol. 48, pp: 21-27.

۸. **Beede, D., 2017.** Can we differentiate supplemental magnesium sources nutritionally? pp: 99-107 in Proc. Tri-State Dairy Nutrition Conference. M. L. Eastsridge, ed. Fort Wayne, IN.

۹. **Benchaar, C. and Greathead, H., 2011.** Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. Animal Feed Science and Technology. Vol. 166-167, pp: 338-355.

۱۰. **Blummel, M. and Ørskov, E.R., 1993.** Comparison of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughage in predicting feed intake in cattle. Animal Feed Science and Technology. Vol. 40, pp: 109-119.

۱۱. **Blummel, M.; Makkar, H.P.S. and Becker, K., 1997**. *In vitro* gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. Vol. 77, pp: 24-34.

۱۲. **Blummel, M.; Makkar, H.P.S. and Becker, K., 1997.** *In vitro* gas production: a technique revisited. Journal of

www.SID.ir

Archive of SID

۱۳. **Blummel, M.; Steingass, H. and Becker, K., 1997.** The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for prediction of voluntary feed intake of roughages. British Journal of Nutrition. Vol. 77, pp: 911-921.

۱۴. **Calsamiglia, S.; Blanch, M.; Ferret, A. and Moya, D., 2012.** Is subacute ruminal acidosis a pH related problem? Causes and tools for its control. Animal Feed Science and Technology. Vol. 172, pp: 42-50.

۱۵. **Castro-Montoya, J.; De Campeneere, S.; Van Ranst, G. and Fievez, V., 2012.** Interactions between methane mitigation additives and basal substrates on *in vitro* methane and VFA production. Animal Feed Science and Technology. Vol. 176, pp: 47-60.

۱۶. **Chalupa, W., 1981.** Rumen fermentation and modification. Developments in industrial microbiology. Vol. 22, pp: 277-293.

۱۷. **Clark, J.H. and Davis, C.L., 1980.** Some aspects of feeding high producing dairy cows. Journal of Dairy Science. Vol. 63, pp: 873-85.

۱۸. **Cottle, D.J.; Nolan, J.V. and Wiedemann, S.G., 2011.** Ruminant enteric methane mitigation: A review. Journal of Animal Production Science. Vol. 51, pp: 491-514.

۱۹. **DeVries, T.J.; Beauchemin, K.A.; Dohme, F. and Schwartzkopf-Genswein K.S., 2009**. Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: Feeding, ruminating, and lying behavior. Journal of Dairy Science. Vol. 92, pp: 5067-5078.

۲۰. **Enemark, J.M.D., 2008.** The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review. Veterinary Journal. Vol. 176, No. 1, pp: 32-43.

۲۱. **Erdman, R.A., 1988.** Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: a review. Journal of Dairy Science. Vol. 71, pp: 3246-3266.

۲۲. **Fievez, V.; Babaymo, O.J. and Demeyer, D., 2005.** Estimation of direct and indirect gas production in syringes: A tool to estimate short chain fatty acid production that requires minimal laboratory facilities. Animal Feed Science and Technology. Vol. 123, pp: 197-210.

۲۳. **Getachew, G.; Blummel, M.; Makkar, H.P.S. and Becker, K., 1998.** *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. Animal Feed Science and Technology. Vol. 72, pp: 261-281.

۲۴. **Getachew, G.; Robinson, P.H.; DePeters, E.J. and Taylor, S.J., 2004.** Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology. Vol. 111, No. 1-4, pp: 57-71.

۲۵. **Herod, E.L.; Bechtle, R.M.; Bartley, E.E. and Dayton, A.D., 1978.** Buffering ability of several compounds *in vitro* and the effect of a selected buffer combination on ruminal acid production *in vitro*. Journal of Dairy Science. Vol. 61, pp: 1114-1122.

۲۶. **Hill, J.; McSweeney, C.; Andre-Denis, G.W.; Bishop-Hurley, G. and Kalantar-zadeh, K., 2016.** Measuring Methane Production from Ruminants. Trends in Biotechnology. Vol. 34, No. 1, pp: 26-35.

۲۷. **Hoover, W.H., 1986.** Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. Journal of Dairy Science. Vol. 69, No. 10, pp: 2755-2766.

۲۸. **Horan, B.; Faverdin, P.; Delaby, L.; Rath, M. and Dillon, P., 2006.** The effect of strain of Holstein-Friesian dairy cow and pasture-based system on grass intake and milk production. Journal of Animal Science. Vol. 82, No. 04, pp: 435-444.

۲۹. **Huhtanen, P.; Cabezas-Garcia, E.H.; Utsumi, S. and Zimmerman, S., 2015.** Comparison of methods to determine methane emissions from dairy cows in farm conditions. Journal of Dairy Science. Vol. 98, pp: 3394-3409.

۳۰. **IPCC. 1996.** Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories-Greenhouse Gas Inventory Reference Manual. IPCC WGI Technical Support Unit, Bracknell, UK.

۳۱. **Jasaitis, D.K.; Wohlt, J.E. and Evans, J.L., 1987.** Influence of feed ion content on buffering capacity of ruminant feedstuffs *in vitro*. Journal of Dairy Science. Vol. 70, No. 7, pp: 1391-1403.

۳۲. **Kaplan, O.; Deniz, S.; Karsli, M.A.; Nursoy, H. and Avci, M., 2010.** Effects of sodium bicarbonate, magnesium oxide and dried sugar beet pulp in diets of dairy cows on milk yield, milk composition and rumen fluid and some blood parameters. Journal of Animal and Veterinary Advances. Vol. 9, No. 11, pp: 1570-1574.

۳۳. **Kazemi, M.; Tahmasbi, A.M.; Valizadeh, R.; Naserian, A.A. and Moheghi M.M., 2009.** Assessment of nutritive value of four dominant weed species in range of Khorasan distinct of Iran by *in vitro* and *in situ* techniques. Journal of Animal and Veterinary Advances. Vol. 8, No. 11, pp: 2286-2290.

۳۴. **Khazaal, K.; Dentinho, M.T.; Ribeiro, J.M. and Ørskov, E.R., 1995.** Prediction of apparent digestibility and voluntary intake of hays fed to sheep: comparison between using fiber components, *in vitro* digestibility or characteristics of gas production or nylon bag degradation. Animal Science. Vol. 61, pp: 527-53.

۳۵. **Komolong, M.K.; Barber, D.G. and McNeill, D.M., 2001.** Post-ruminal protein supply and N retention of weaner sheep fed on a basal diet of Lucerne hay (*Medicago sativa*) with increasing levels of quebracho tannins. Animal Feed Science and Technology. Vol. 92, No. 1-2, pp: 59-72.

۳۶. **Le Ruyet, P. and Tucker, W.B., 1992.** Ruminal buffers: temporal effects on buffering capacity and pH of ruminal fluid from cows fed a high concentrate diet. Journal of Dairy Science. Vol. 75, No. 4, pp: 1047-1077.

۳۷. **Leng, R.A., 1993.** Quantitative ruminant nutrition-a green science. Australian Journal of Agricultural Research. Vol. 44, pp: 363-380.

۳۸. **Loerch, S.C.; Berger, L.L.; Gianola, D. and Fahey, J.G.C., 1983**. Effects of dietary protein source and energy level on *in situ* nitrogen disappearance of various protein sources. Journal of Animal Science. Vol. 57, pp: 1037-1047.

۳۹. **Makkar, H.P.S., 2004.** In: Assessing Quality and Safety of Animal Feeds. FAO Animal Production and Health Series 160. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. In FAO, Rome. pp: 55-88.

۴۰. **McAllister, T.A. and Newbold, C.J., 2008.** Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. Animal Physiology and Animal Nutrition. Vol. 77, pp: 24-34.

www.SID.ir

Archive of SID

supplemented with sodium bicarbonate and monensin. Journal of Dairy Science. Vol. 65, pp: 944-952.

۵۵. **Rogers, J.A.; Davis, C.L. and Clark, J.H., 1982[b].** Alteration of rumen fermentation, milk fat synthesis and nutrient utilization with minerals salts in dairy cows. Journal of Dairy Science. Vol. 65, pp: 577-586.

۵۶. **Russell, J.B.; Strobel, H.J. and Chen, G., 1988.** Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 54, pp: 872-877.

۵۷. **Sallam, S.M.A., 2009.** Bueno ICS, Brigide P, Godoy PB, Vittii, D.M.S.S. and Abdalla A.L. Efficiency of *eucalyptus* oil on *in vitro* ruminal fermentation and methane production. Nutritional and Foraging Ecology of Sheep and Goats. Vol. 85, pp: 267-272.

۵۸. **SAS Institute INC. 2002.** Sas user's Guide: statistics. Statistical Analysis Systems Institute Inc. Cary NC.

۵۹. **Stock, R.A.; Brink, D.R.; Britton, R.A.; Goedeken, F.K.; Sindt, M.H.; Kreikemeier, K.K.; Bauer, M.L. and Smith, K.K., 1987.** Feeding combinations of high moisture corn and dry-rolled grain sorghum to finishing steers. Journal of Animal Science. Vol. 65, pp: 290-302.

۶۰. **Tebbe, A.W.; Wyatt, D.J. and Weiss, W.P., 2018.** Effects of magnesium source and monensin on nutrient digestibility and mineral balance in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. Vol. 101, No 2, pp: 1152-1163.

۶۱. **Teh, T.H.; Hemken, R.W.; Bremel, D.H. and Harmon R.J., 1987.** Comparison of buffers on rumen functions, turnover rate and gastric secretions in Holstein steers. Animal Feed Science and Technology. Vol. 17, pp: 257-270.

۶۲. **Theodorou, M.K.; Williams, B.A.; Dhanoa, M.S.; McAllan, A.B. and France, J., 1994.** A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology. Vol. 48, pp: 185-197.

۶۳. **Thomson, D.J.; Beever, D.E.; Latham, M.J. and Sharpe, M.E., 1978.** The effect of inclusion of mineral salts in the diet on dilution rate, the pattern of rumen fermentation and the composition of the rumen micro flora. The Journal of Agricultural Science. Vol. 91, No. 1, pp: 1-7.

۶۴. **Thrune, M.; Bach, A.; Ruiz Moreno, M.; Stern, M.D. and Linn, J.G., 2009.** Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows. Livestock Science. Vol. 124, pp: 261-265.

۶۵. **Umucalilar, H.D. and Seker, E., 2000.** Effects of sodium bicarbonate and magnesium oxide as buffers on *in vitro* digestibility of grains. Veterinary_Bilimleri Dergisi. Vol. 16, No. 2, pp: 129-135.

۶۶. **Van Soest, P.J., 1994.** Nutritional ecology of ruminants. 2nd edition. Cornell University Press, USA.

۶۷. **Vercoe, E.P.; Makkar, H.P.S. and Schlink, A.C., 2010.** *In vitro* screening of plant resources for extra nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies (Ed.), *In vitro* Screening of Feed Resources for Efficiency of Microbial Protein Synthesis, (pp: 106-144). New York, Springer.

۶۸. **Wang, M.; Wang, R.; Zhang, XM.; Ungerfeld, EM.; Long, D.; Mao, HX.; Jiao, JZ.; Beauchemin, KA. and** Australian Journal of Experimental Agriculture. Vol. 48, pp: 7-13.

۴۱. **Makkar, H.P.S., 2010.** In: *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants. *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis (pp: 106-144). Nuclear and Related Methodologies (Ed.), New York, Springer.

۴۲. **Marden, J.P.; Julien, C.; Monteils, V.; Auclair, E.; Moncoulon, R. and Bayourthe, C., 2008.** How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? Journal of Dairy Science. Vol. 91, pp: 3528-3535.

۴۳. **McIntosh, F.M.; Williams, P.; Losa, R.; Wallace, R.J.; Beever, D.A. and Newbold, C.J., 2003.** Effects of Essential Oils on Ruminal Microorganisms and Their Protein Metabolism. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 69, No 8, pp: 5011-5014.

۴۴. **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. Vol. 28, pp: 7-55.

۴۵. **Mitsumori, M.; Shinkai, T.; Takenaka, A. and Enishi, O., 2012.** Responses in digestion, rumen fermentation and microbial populations to inhibition of methane formation by a halogenated methane analogue. British Journal of Nutrition. Vol. 108, pp: 482-491.

۴۶. **Moss, A.R. and Givens, D.I., 1993.** Effect of supplement type and grass silage: concentrate ratio on methane production by sheep. The British Society of Animal Science. Vol. 1993, pp: 51-52.

۴۷. **Nagaraja, T.G.; Newbold, C.J.; van Nevel, C.J. and Demeyer D.I., 1997.** In: Hobson P.N., Stewart C.S. (eds). Manipulation of ruminal fermentation. The Rumen Microbial Ecosystem. Springer, Dordrecht.

۴۸. **Nooriyan Soroor, M.E. and Moeini, M.M., 2015.** The effect of eucalyptus essential oil on sheep in vitro fermentation parameters and production of methane. Journal of Research in Animal Nutrition. Vol. 2, No. 3, pp: 19-26.

۴۹. **NRC. 2007.** Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids, and new world camelids. 6th Edition. Washington: National Academy Press, Washington, D.C., USA. 384 p.

۵۰. **Okeke, G.C.; Buchanan-Smith, J.G. and Grovum, W.L., 1983.** Effects of buffers on ruminal rate of passage and degradation of soybean meal in steers. Journal of Animal Science. Vol. 56, No. 6, pp: 1393-1399.

۵۱. **Ørskov, E.R. and McDonald, I., 1979.** The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science. Vol. 92, pp: 499-503.

۵۲. **Patra, A.K. and Yu, Z., 2013.** Effects of gas composition in headspace and bicarbonate concentrations in media on gas and methane production, degradability, and rumen fermentation using in vitro gas production techniques. Journal of Dairy Science. Vol. 96, pp: 4592-4600.

۵۳. **Plaizier, J.C.; Krause, D.O.; Gozho, G.N. and McBride, B.W., 2008**. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. Veterinary Journal. Vol. 176, pp: 21-31.

۵۴. **Rogers, J. and Davis, C.L., 1982[a].** Rumen volatile fatty acid production and nutrient utilization in steers fed a diet

www.SID.ir

Archive of SID

Tan, Z., 2017. Molecular hydrogen generated by elemental magnesium supplementation alters rumen fermentation and microbiota in goats. Journal of British Nutrition. Vol. 118, pp: 401-410.

۶۹. **Wilson, D.V.; Evans, A.T.; Carpenter, R.A. and Mullineaux, D.R., 2004.** The effects of four anesthetic protocols on splenic size in dogs. Veterinary Anesthesia and Analgesia. Vol. 31, No. 2, pp: 102-108.

۷۰. **Wolin, M.J., 1960.** A Theoretical Rumen Fermentation Balance. Journal of Dairy Science. Vol. 43, No. 10, pp: 1452-1459.

۷۱. **Zinno, R.A., 1991.** Comparative feeding value of steam-flaked corn and sorghum in finishing diets supplemented with or without sodium bicarbonate. Journal of Animal Science. Vol. 69, pp: 105-116.

www.SID.ir