نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۱۵، تابستان ۱۳۹۶
ص‌ص: ۲۵۵~۲۷۰

اثر سطوح مختلف خیساب مایع ذرت بر فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه و متابولیسم نیتروژن در بره‌های نر مغانی

- **ایوب عزیزی** (نویسنده مسئول)
دانشگاه لرستان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم دامی
- **نادر پاپی**
استادیار مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
- **افروز شریفی**
دانشگاه لرستان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم دامی
- **آرش آذرفر**
دانشگاه لرستان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم دامی
- **علی کیانی**
دانشگاه لرستان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم دامی

تاریخ دریافت : مرداد ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش : آذر ۱۳۹۵

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۰۶۳۵۸۵۰۴
Email: azizi.msc.modares@gmail.com

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثر تغذیه سطوح صفر (شاهد)، ۵۰ و ۱۰۰ گرم خیساب مایع ذرت در کیلوگرم ماده خشک جیره) بر فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک شکمبه شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و پروتئاز در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه (شامل بخش جامد، خارج سلولی و درون سلولی) و ابقای نیتروژن انجام گرفت. از ۲۷ رأس بره نر مغانی در قالب طرح کاملاً تصادفی و ۹ رأس بره در هر تیمار استفاده گردید. فعالیت کربوکسی متیل سلولاز در بخش جامد، خارج سلولی و کل (مجموع هر سه بخش جامد، خارج سلولی و داخل سلولی) شیرابه با افزایش میزان خیساب ذرت در جیره به طور خطی کاهش یافت (P<۰/۰۵). با افزایش میزان خیساب ذرت فعالیت آنزیمی میکروکریستالین سلولاز و فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده کاغذ صافی در بخش جامد و کل شیرابه شکمبه کاهش یافت (P<۰/۰۵). فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در همه بخش‌های شیرابه شکمبه تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). فعالیت آنزیم پروتئاز در بخش‌های شیرابه شکمبه به طور خطی افزایش یافت (P<۰/۰۵). همه دام‌ها در توازن مثبت نیتروژن بودند، اما با افزایش میزان خیساب مایع ذرت در جیره ابقاء نیتروژن به طور خطی کاهش نشان داد (P<۰/۰۵). در کل، استفاده از خیساب ذرت در جیره سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های فیبرولایتیک شکمبه و ابقاء نیتروژن و افزایش فعالیت پروتئاز شد. هرچند، تحلیل اقتصادی داده‌های عملکردی نشان داد که استفاده از این پسماند تا سطح ۵ درصد ماده خشک جیره، با کاهش دادن هزینه تمام شده جیره مصرفی کاهش عملکرد رشد دام‌ها را توجیه می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: بره مغانی، خیساب مایع ذرت، آنزیم‌های میکروبی شکمبه، ابقاء نیتروژن

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 115 pp: 255-270

Effect of different levels of corn steep liquor on the activity of hydrolytic enzymes in different fractions of rumen liquor and nitrogen metabolism in Moghani-male lambs

By: Azizi[1*], A., Papi[2], N., Sharifi[1], A., Azarfar[1], A., Kiani[1], A.
1- Animal Science Group, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran.
2- Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Animal Science Research Institute of Iran, Karaj, Iran.

Received: August 2016 **Accepted: December 2016**

This experiment was performed to investigate the effect of feeding corn steep liquor (CSL) at levels 0, 50 or 100 g/kg dietary dry matter (DM) as nitrogen source on nitrogen retention and activities of carboxymethyl-cellulase (CMCase), microcrystalline-cellulase (MCCase), filter paper degrading (FPD) activities, α-amylase and proteases in different fractions (*i.e.,* particulate material (PM), extra cellular (EC) or cellular) of rumen liquor. Twenty seven male Moghani lambs were used in a completely randomized design with 9 animals in each treatment. Activity of CMCase in PM, EC and total (sum of PM, EC and cellular fractions) linearly decreased ($P<0.05$) with increasing the level of CSL in the diet. The activity of MCCase and FPD activity linearly decreased ($P<0.05$) with increasing level of CSL in the diet. Activity of α-amylase activity was not affected by dietary treatments ($P>0.05$), however the protease activity linearly increased ($P<0.05$). All animals were in positive balance of nitrogen and nitrogen retention decreased linearly ($P<0.05$) with amount of CSL in the ration. Totally, using corn steep liquor in the diet of fattening lambs negatively affected nitrogen retention and activities of rumen fibrolytic enzymes and increased rumen proteases activity. However, economic analysis of performance data showed that incorporation of CSL up to 5 % of dietary DM covered reduced growth performance of animals through reducing ration cost.

Key words: Moghani lamb, Corn steep liquor, Rumen microbial enzymes, Nitrogen retention

مقدمه

کمبود جهانی خوراک دام سبب افزایش هزینه تولیدات دامی به ویژه در کشورهای در حال توسعه شده است، به طوری که در این کشورها حدود ۷۵-۷۰ درصد کل هزینه‌های تولید مربوط به خوراک است، در حالی که این رقم در کشورهای توسعه یافته حدود ۶۰-۵۰ درصد هزینه‌های تولید را به خود اختصاص می‌دهد. بنابراین، استفاده و بهره‌برداری بهینه از پسماندها و تولیدات جانبی محصولات کشاورزی به عنوان خوراک در تغذیه نشخوارکنندگان جهت کاهش هزینه خوراک و بهبود سودآوری صنعت دامپروری اجتناب ناپذیر است (Negesse و همکاران، Rogers and Poore, 1994; 2007). خیساب مایع ذرت[1] فرآورده‌ای است که در اثر خیساندن ذرت برای فرآیند آسیاب نمودن مرطوب حاصل می‌شود و معمولاً از طریق تبخیر تغلیظ می‌گردد. این فرآورده پسماند اصلی حاصل از فرآوری نشاسته ذرت است که حاوی پروتئین‌های محلول بخش کرنل ذرت پس از جداسازی در دیگ‌های حاوی آب گرم می‌باشد. در ایران تولید سالانه این فرآورده بیش از ۴ هزار تن است (گلپور، ۱۳۹۰). خیساب مایع ذرت ترکیبی چسبناک، با رنگ سفید تا قهوه‌ای تیره، بوی ترش و با pH اسیدی به دلیل محتوای بالای اسید لاکتیک

[1]- Corn Steep Liquor

(۲۵۰-۲۰۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) آن می‌باشد (Sarwar; Mirza and Mushtaq, 2006 و همکاران، 2004؛ Gupta و همکاران، 1990). این فرآورده به دلیل محتوای انرژی و پروتئین خام زیاد و محتوای فیبر اندک می‌تواند به طور بالقوه به عنوان خوراک در تغذیه نشخوراکنندگان مورد استفاده قرار گیرد (Talpada و همکاران، 1987؛ Scott و همکاران، 1997؛ Filipovic و همکاران، 2002؛ Nisa و همکاران، 2004). هم‌چنین، خیساب ذرت منبع خوبی از مواد معدنی و ویتامین‌های B بوده (Chovatiya و همکاران، 2010) و نیز می‌توان از آن به عنوان پلت چسبان نیز استفاده نمود.

مطالعات درباره اثر استفاده از خیساب مایع ذرت بر عملکرد نشخوارکنندگان متناقض است که علت آن احتمالاً به خاطر جایگزینی با نوع اقلام خوراکی و میزان و ماهیت پروتئینی آن‌ها بوده است. در مطالعه‌ای افزودن خیساب مایع ذرت به جیره گاو گوشتی تأثیری بر عملکرد رشد نداشت (Ribeiro-Filho and Trenkle, 2002). هرچند، Shahzad و همکاران (2010) با افزودن سطوح مختلف خیساب مایع ذرت به جای اوره در بره‌های پرواری، بهبود قابلیت هضم و عملکرد رشد را گزارش نمودند.

نشخوارکنندگان در شکمبه دارای سیستم آنزیمی میکروبی گسترده‌ای هستند که نقش مهمی در فرآیندهای هضمی دستگاه گوارش دارند. بیشترین مطالعات انجام شده راجع به سیستم آنزیمی شکمبه مربوط به آنزیم‌هایی است که در هضم فیبر و دیگر پلیمرهای دیواره سلولی گیاهی مربوطه دخیل هستند. فعالیت فیبرولتیکی شکمبه ناشی از مخلوطی از جمعیت باکتریایی (به خصوص *فیبروباکتر سوکسینوژنز*[2]، *رومینوکوکوس آلبوس*[3] و *رومینوکوکوس فلاوفیشن*[4])، پروتوزوایی و قارچی است (Forsberg and Cheng, 1992). فعالیت آنزیم‌های میکروبی انعکاس کیفی از میکروب‌های دخیل در هضم خوراک بوده و این کمپلکس میکروبی شکمبه شامل آنزیم‌هایی است که به صورت همکوش عمل می‌نمایند (Russel، 2002). به منظور بررسی فعالیت میکروبی شکمبه، تعیین وضعیت آنزیم‌های هیدرولیتیک در این اکوسیستم یکی از فراسنجه‌های با اهمیت به شمار می‌رود، زیرا این آنزیم‌ها نشان دهنده میزان حضور میکروب‌های تجزیه کننده الیاف هستند (Silva و همکاران، 1987). تجزیه مؤثر خوراک در شکمبه نیازمند وجود کمپلکس کاملی از آنزیم‌های مختلف است و این امر اهمیت شناخت فعالیت آنزیمی در شکمبه دام را نشان می‌دهد (Selinger و همکاران، 1996). فعالیت آنزیمی شکمبه شامل آنزیم‌های تجزیه‌کننده پلیمرهای دیواره سلولی (سلولازها، زایلانازها، بتاگلوکانازها، پکتینازها)، آمیلازها، پروتئازها، فیتازها و آنزیم‌های تجزیه‌کننده سموم گیاهی می‌باشد (Selinger و همکاران، 1996).

جمعیت میکروبی شکمبه به نوع جیره مصرفی دام و تغییرات الگوی آنزیمی ناشی از مصرف خوراک بسیار حساس است. Kamra و همکاران (2003) و Agarwal و همکاران (2004) با تغییر نسبت علوفه به کنسانتره در جیره تغییرات میکروبی و الگوی آنزیمی شکمبه را مشاهده نمودند. این محققین دریافتند که میزان فعالیت کربوکسی متیل سلولاز و زایلاناز با افزایش میزان علوفه در جیره افزایش می‌یابد. این در حالی است که Martin و Michalet-Doreau (1995) و Hirstov و همکاران (1999) نشان دادند که با تغییر جیره از علوفه به سطوح بالای غلات، فعالیت سلولاز و زایلاناز کاهش، ولی فعالیت آمیلاز افزایش یافت.

جمعیت میکروبی شکمبه به ۳ بخش شامل میکروب‌های چسبیده به ذرات خوراک، میکروب‌های معلق و آزاد در مایع شکمبه و میکروب‌های چسبیده به دیواره سلولی تقسیم می‌شود (Agarwal، 2000). گزارش شده است که حدود ۹۰-۸۰ درصد از کل فعالیت آنزیمی در ارتباط باکتری‌های چسبیده به ذرات خوراکی می‌باشد و بقیه مرتبط با بخش داخل سلولی میکروب‌ها و مایع شکمبه (آنزیم‌های خارج سلولی) است (Agarwal، 2000). تعیین فعالیت آنزیم‌های موثر در تجزیه خوراک در شکمبه، به ویژه آنزیم‌های شاخص در این اکوسیستم، به طور غیر مستقیم نشان دهنده فعالیت میکروبی است. بنابراین،

2- *Fibrobacter succinogenes*

3- *Ruminococcus albus*

4- *Ruminococcus flavefaciens*

آزمایش حاضر به منظور بررسی اثر سطوح مختلف خیساب مایع ذرت بر فعالیت برخی آنزیم‌های میکروبی در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه و توازن نیتروژن در بره‌های نر مغانی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

خیساب مایع ذرت

خیساب مایع ذرت از کارخانه گلوکوزان واقع در شهرستان قزوین تهیه گردید. ترکیب مذکور پسماند حاصل از فرآیند استخراج نشاسته، روغن و شیرین کننده‌ها از ذرت است. طی این فرآیند، دانه ذرت به مدت ۴۸ ساعت در دیگ‌های بزرگ محتوی آب گرم (با دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد) و مقادیر اندک دی اکسید گوگرد خیسانده می‌شود. افزودن دی اکسید گوگرد به منظور تجزیه پیوندهای دی سولفیدی و تخریب ماتریکس اندوسپرم ذرت جهت تسهیل جداسازی نشاسته از پروتئین محلول صورت می‌گیرد. ترکیب شیمیایی خیساب مایع ذرت در جدول ۱ ارائه شده است. از اطلاعات مذکور جهت تنظیم جیره‌های آزمایشی استفاده گردید.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی، انرژی قابل متابولیسم و قیمت خیساب مایع ذرت (بر حسب گرم در کیلوگرم ماده خشک یا واحدهای ذکر شده)

ماده مغذی	خیساب مایع ذرت
ماده خشک (گرم در کیلوگرم وزن هواخشک)	۵۲۰±۵/۱
ماده آلی	۸۹۹±۵/۴
پروتئین خام	۴۲۰±۴/۷
پروتئین محلول	۳۶۵±۴/۶
پروتئین قابل تجزیه در شکمبه	۳۲۴±۳/۵
پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه	۹۶/۰±۱/۲
NDF[1]	۰/۰
ADF[2]	۰/۰
چربی خام	۱۲/۵±۰/۲
کربوهیدرات‌های غیر فیبری	۴۶۷±۴/۴
نشاسته	۱۴۸±۴/۴
گوگرد	۳/۸۷±۰/۱
اسید لاکتیک	۲۰۰±۵/۱
pH	۳/۸۶±۰/۱
انرژی قابل متابولیسم[3] (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)	۱۲/۶±۰/۲
قیمت هر کیلو بر اساس ماده خشک (تومان)	۳۰۰

۱- الیاف نامحلول در شوینده خنثی، ۲- الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، ۳- انرژی قابل متابولیسم با استفاده از آزمون تولید گاز تعیین گردید (Menke and Steingass, 1988). داده‌ها میانگین ۳ نمونه (تکرار) می‌باشد.

دام‌ها و جیره‌های آزمایشی

این تحقیق در سالن پرواربندی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور (کرج) با استفاده از ۲۷ رأس بره نر نژاد مغانی حدود ۶/۲±۱۲۰ روزه با میانگین وزن زنده ۵/۳±۳۱/۶ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی متعادل با ۳ جیره آزمایشی (۳ تیمار) و ۹ بره در هر تیمار (هر بره ۱ تکرار) اجرا گردید. از روز اول آزمایش دام‌ها به طور تصادفی در قفس‌های انفرادی با ابعاد ۱/۱×۱/۲ و ارتفاع ۱ متر قرار داده شدند. طول دوره آزمایش ۷۷ روز بود که ۲ هفته اول آن به عنوان دوره عادت‌پذیری بره‌ها به قفس‌ها و جیره‌های آزمایشی و ۶۳ روز به عنوان دوره اصلی آزمایش اختصاص داده شد. طی دوره عادت‌پذیری، بره‌ها علیه انگل‌های خارجی (۱ میلی‌لیتر آزانتول ۱۰ درصد در ۷ لیتر آب، به روش اسپری کردن) و داخلی (۱۲ میلی‌لیتر تری‌کلابندازول+لوامیزول به ازای هر بره، شرکت دارو پخش) و آنتروتوکسمی (۳ میلی‌لیتر به ازای هر بره، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم رازی) واکسینه شدند. سه جیره آزمایشی که از نظر انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام مشابه بودند شامل جیره شاهد (بدون خیساب مایع ذرت)، و جایگزینی جیره شاهد به ترتیب با سطوح ۵۰ و ۱۰۰ گرم خیساب ذرت در کیلوگرم ماده خشک جیره بود که بر اساس احتیاجات غذایی بره‌های پرواری (NRC، 2007) تنظیم شدند. اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. نسبت علوفه به کنسانتره در جیره‌های آزمایشی به ترتیب ۳۰ به ۷۰ بود. جیره‌های آزمایشی که تحت حرارت (۶۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد) به صورت پلت‌هایی به قطر ۱/۵ سانتی‌متر و طول ۲/۵ سانتی‌متر تهیه شده بود ۳ بار در روز (۸ صبح، ۴ عصر و ۸ عصر) و به صورت آزاد به حیوانات تغذیه شد و آب تمیز نیز همواره در دسترس دام‌ها قرار داشت.

ترکیب شیمیایی خیساب مایع ذرت و جیره‌های آزمایشی بر اساس روش‌های استاندارد AOAC (1990) تعیین گردید. محتوای ماده خشک با خشک کردن در آون، خاکستر خام با سوزاندن نمونه در کوره الکتریکی، پروتئین خام با روش کجلدال، و چربی خام با استفاده از روش سوکسله تعیین گردید (AOAC، 1990). الیاف نامحلول در شوینده خنثی توسط روش VanSoest و همکاران (1991) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و نشاسته توسط روش AOAC (1990) تعیین شد. برای تعیین لیگنین از روش Robertson و VanSoest (1981) استفاده شد. میزان پروتئین قابل متابولیسم خیساب مایع ذرت بر اساس تکنیک تجزیه‌پذیری *in situ* محاسبه گردید (AFRC، 1992). محتوای اسید لاکتیک خیساب ذرت با استفاده از دستگاه HPLC (Faithfull، 2002) تعیین گردید. میزان کربوهیدرات‌های غیر فیبری خیساب ذرت و جیره‌های آزمایشی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

(خاکستر خام (٪)+چربی خام (٪)+پروتئین خام (٪)+الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪))- ۱۰۰ = کربوهیدرات‌های غیرفیبری (٪)

نمونه‌گیری از شیرابه شکمبه

در روز ۵۵ دوره آزمایش، به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک شکمبه شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و پروتئاز نمونه‌های شیرابه شکمبه توسط لوله مری در صفر، ۳ و ۶ ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح از دام‌ها (۳ حیوان به ازای هر تیمار) جمع‌آوری گردید. جهت کاهش آلودگی مایع شکمبه با بزاق، حدود ۲۰-۱۰ میلی‌لیتر اولیه مایع شکمبه اخذ شده از هر دام دور ریخته شد (Jasmin و همکاران، 2011). سپس، مایع شکمبه حاصل در یک فلاسک عایق با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه انتقال داده شد.

جدول ۲- اقلام خوراکی، ترکیب شیمیایی، انرژی قابل متابولیسم و قیمت جیره‌های آزمایشی (بر حسب گرم در کیلوگرم ماده خشک یا واحدهای ذکر شده)

	جیره‌ها (بر حسب سطح خیساب مایع ذرت)		
	صفر	۵۰	۱۰۰
یونجه	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰
کنجاله کانولا	۵۰	۳۵	۱۰
پودر ماهی	۲۸	۱۰	–
سبوس گندم	۱۷۰	۱۳۰	۱۴۰
دانه جو خرد شده	۳۰۰	۳۴۰	۳۰۵
دانه ذرت خرد شده	۸۰	۵۰	۲۰
تفاله چغندر قند	۵۰	۶۰	۱۰۰
خیساب مایع ذرت	–	۵۰	۱۰۰
مکمل مواد معدنی- ویتامینه[۱]	۳/۰	۵/۰	۵/۰
دی کلسیم فسفات	۴/۰	۵/۰	۵/۰
نمک	۵/۰	۵/۰	۵/۰
زئولیت	۱۰/۰	۱۰/۰	۱۰/۰
ترکیب شیمیایی			
ماده خشک[۲]	۹۱۵	۸۹۵	۸۸۰
ماده آلی	۹۲۰	۹۱۹	۹۱۷
پروتئین خام	۱۵۳	۱۵۳	۱۵۶
پروتئین محلول	۴۷/۳	۶۰/۴	۷۶/۳
پروتئین قابل تجزیه در شکمبه	۹۰/۷	۹۶/۹	۱۰۱
پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه	۶۰/۰	۵۴/۲	۵۰/۸
کربوهیدراتهای غیر فیبری	۴۰۹	۴۲۲	۴۲۰
NDFom[۳]	۳۲۲	۳۲۰	۳۱۷
ADFom[۴]	۱۷۲	۱۶۹	۱۶۶
لیگنین	۳۹/۰	۳۷/۹	۳۷/۲
چربی خام	۲۵/۷	۲۳/۸	۲۳/۹
نشاسته[۵]	۲۶۱	۲۵۶	۲۲۳
کلسیم	۹/۰۹	۸/۳۰	۷/۹۰
فسفر	۵/۲۵	۵/۹۲	۶/۹۴
گوگرد	۲/۹۴	۲/۷۳	۲/۸۰
انرژی قابل متابولیسم[۶]	۱۰/۵	۱۰/۶	۱۰/۵
قیمت هر کیلوگرم جیره (تومان)	۸۲۰	۷۴۸	۶۷۷

۱- هر کیلوگرم آن حاوی ۹۹/۲ میلی‌گرم منگنز، ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۸۴/۷ میلی‌گرم روی، ۱ میلی‌گرم مس، ۱ میلی‌گرم ید، ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم، ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D و ۱۸ واحد بین‌المللی ویتامین E (شرکت رشد دانه)، ۲- بر حسب گرم در کیلوگرم وزن هواخشک، ۳- الیاف نامحلول در شوینده خنثی فاقد خاکستر، ۴- الیاف نامحلول در شوینده اسیدی فاقد خاکستر، ۵- محتوای نشاسته جیره‌های آزمایشی بر اساس میزان نشاسته اجزاء خوراکی محاسبه گردید، ۶- بر حسب مگاژول در کیلوگرم ماده خشک.

بخش‌بندی شیرابه شکمبه، استخراج آنزیم‌ها از بخش‌های مختلف و محاسبه فعالیت آنزیمی

آنزیم‌های میکروبی موجود در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه طبق روش ارائه شده توسط Hristov و همکاران (1999) استخراج گردیدند. ابتدا شیرابه شکمبه (حدود ۵۰ میلی‌لیتر) جهت بخش‌بندی آنزیم‌های مورد بررسی آن به بخش‌های جامد[5]، خارج سلولی[6] و داخل سلولی[7]، توسط ۴ لایه پارچه متقال صاف گردیده و مواد باقیمانده روی پارچه به عنوان بخش جامد در نظر گرفته شد. برای دسترسی به بخش‌های پروتوزوایی و باکتریایی، شیرابه شکمبه صاف شده مورد فرآیند بیشتری قرار گرفت (شکل ۱). به این صورت که ابتدا شیرابه با دور g۴۵۰ به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پلت به دست آمده به عنوان بخش پروتوزوایی در نظر گرفته شد. مایع شفاف رویی (سوپرناتانت) مجدداً با دور g۲۷۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پلت به دست آمده در این مرحله به عنوان بخش باکتریایی مشخص شد. در نهایت، مایع شفاف رویی به عنوان منبع آنزیم‌های خارج سلولی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور استخراج آنزیم‌های 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 (شرکت سیگما) و ۲ میلی‌لیتر تتراکلرید کربن به آن افزوده شد. فرآیند با لیزوزیم به وسیله بن‌ماری 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 g۲۷۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۰ دقیقه، سوپرناتانت حاصل به عنوان منبع آنزیمی برای بخش جامد شکمبه مورد استفاده قرار گرفت. برای استخراج آنزیم‌های موجود در بخش‌های پروتوزوایی و باکتریایی، پلت‌های به دست آمده از این دو بخش با هم 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 سلولی اضافه گردید. پس از انکوباسیون و سانتریفیوژ سوسپانسیون (مشابه بخش جامد که قبلاً توضیح داده شد)، مایع شفاف رویی تهیه شده به عنوان منبع آنزیم‌های بخش داخل سلولی مورد آزمون قرار گرفت.

تخمین فعالیت آنزیمی

فعالیت آنزیم‌های میکروبی در هر دام در هر یک از بخش‌های شیرابه شکمبه طبق روش Agarwal (2000) تخمین زده شد. برای تخمین فعالیت کربوکسی متیل سلولاز، مخلوط واکنش شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۵ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و ۰/۵ میلی‌لیتر کربوکسی متیل سلولز ۱ درصد (به عنوان سوبسترا) بود که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت انکوبه گردید. مخلوط واکنش برای آنزیم میکروکریستالین سلولاز که شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۱ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و ۱ میلی‌لیتر میکروکریستالین سلولز ۱ درصد (به عنوان سوبسترا) بود در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت مورد انکوباسیون قرار گرفت. به منظور 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 (به عنوان 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 شیرابه شکمبه و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته ۱ درصد (به عنوان 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 Miller (1959) تخمین زده شد. فعالیت‌های آنزیمی بر اساس این فرض که یک واحد آنزیمی توانایی تولید ۱ میکرومول گلوکز در هر ساعت در هر میلی‌لیتر را تحت شرایط

[5]- Particulate Material

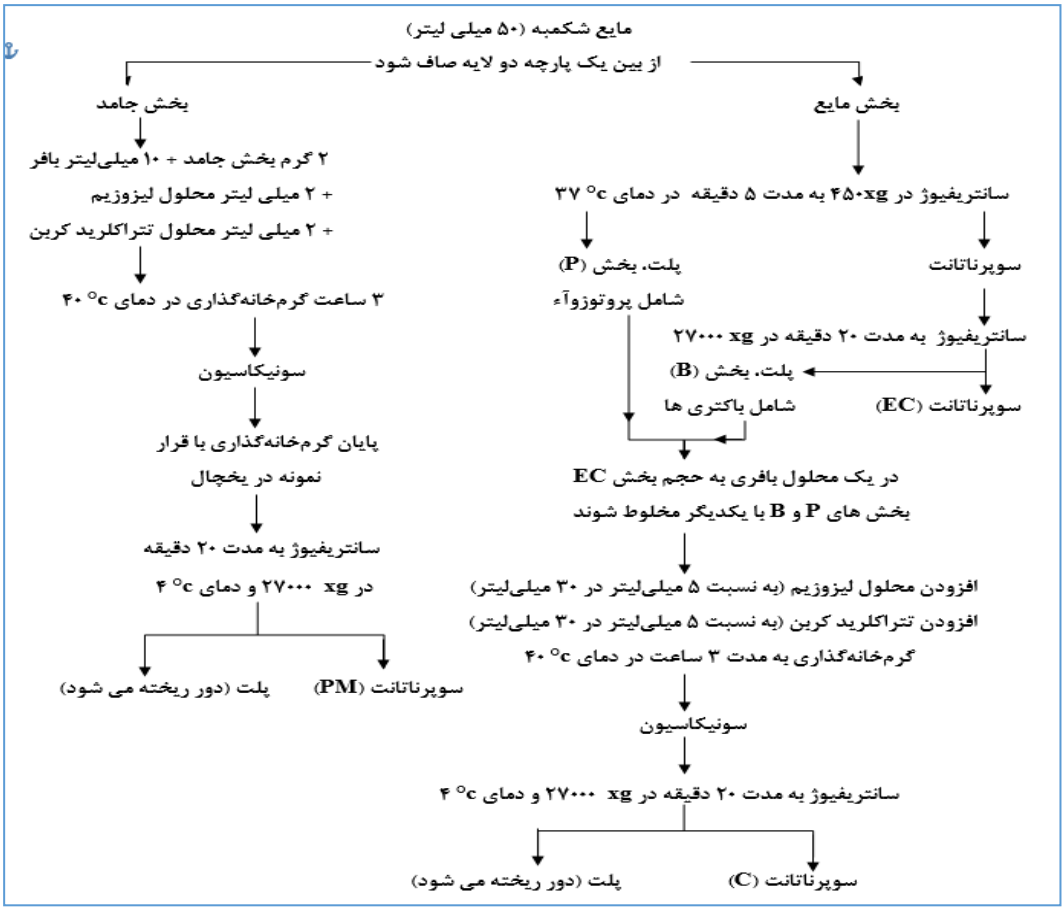
6- Extracellular

7- Cellular

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 شیرابه شکمبه و 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 کلرو استیک اسید (۲۰۰ میلی‌لیتر در لیتر)، پروتئین طبق روش Lowry و همکاران (1951) تخمین زده شد.

در روز ۵۰ دوره آزمایش، هر روز به مدت ۱ هفته کل مدفوع هر دام قبل از خوراک‌دهی وعده صبح جمع‌آوری و توزین شد و سپس یک نمونه ۱۰۰ گرمی از آن (Harris، 1970) جهت اندازه‌گیری میزان پروتئین خام گرفته شد. همچنین، در این مدت میزان ادرار روزانه هر حیوان در ظرف‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱۰٪ جمع‌آوری گردید و ۱۰ درصد از حجم کلی آن به آزمایشگاه منتقل شد. میزان نیتروژن ابقاء شده از اختلاف نیتروژن مصرفی و نیتروژن دفعی (مجموع نیتروژن دفع شده از طریق مدفوع و ادرار) تعیین گردید (پاپی و همکاران، ۱۳۹۲).

محاسبه ابقاء نیتروژن



شکل۱- بخش‌بندی شیرابه شکمبه و استخراج آنزیم‌های هیدرولیتیک، برگرفته از Agarwal (2000).

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

طرح آزمایشی و تجزیه آماری داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (2001)، رویه GLM و در قالب طرح کاملاً تصادفی متعادل با مدل آماری زیر تجزیه واریانس شدند:

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

Y_{ij}: مقدار عددی هر مشاهده، μ: میانگین هر صفت، T_i: اثر تیمار (خیساب مایع ذرت)، e_{ij}: خطای آزمایشی. اثرات خطی و غیر خطی خیساب مایع ذرت در جیره‌های آزمایشی با استفاده از مقایسات اورتوگونال (متعامد) محاسبه شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی و در سطح معنی‌داری ۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

میزان ماده خشک خیساب مایع ذرت در این تحقیق (۵۲۰ گرم در کیلوگرم وزن تر، جدول ۱-) مشابه مقادیر ۵۰۰ و ۵۵۶ گرم در کیلوگرم وزن تر بود که به ترتیب توسط Mirza و Mushtag (2006) و Talpada و همکاران (1987) گزارش گردید. این در حالی است که Chovatiya و همکاران (2010) میزان آن را ۷۷۲ گرم در کیلوگرم وزن تر گزارش نمودند که بسیار بیشتر از نتایج این تحقیق می‌باشد. علت این اختلافات احتمالاً به دلیل نوع روش فرآوری، میزان دسترسی سوبسترای اولیه (ذرت) و نیز درجه تغلیظ خیساب حاصله پس از عمل‌آوری می‌باشد، زیرا میزان ماده خشک خیساب ذرت اولیه حدود ۴۰ گرم در کیلوگرم وزن تر می‌باشد. Chovatiya و همکاران (2010) و Mirza و Mushtag (2006) محتوای پروتئین خام خیساب ذرت را به ترتیب ۴۳۵ و ۴۰۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزراش کردند که مشابه تحقیق حاضر است (۴۲۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک). هرچند، Russo و Heiman (1959) و Harmon و همکاران (1975) میزان پروتئین خام این پسماند را به ترتیب ۲۳۰ و ۳۱۳ گرم در کیلوگرم در ماده خشک گزارش کردند. عواملی مانند رقم ذرت، زمان خیساندن، میزان حرارت در زمان تخمیر اسید لاکتیک، تخمیر میکروبی و وجود میکروارگانیسم‌ها ممکن است سبب تغییر محتوای پروتئین خام و ترکیب شیمیایی خیساب ذرت شوند (Hull و همکاران، 1996). در تحقیق حاضر افزودن سطوح مختلف خیساب مایع ذرت به عنوان منبع پروتئین به جیره غذایی (جدول ۲) سبب کاهش میزان استفاده از سایر منابع پروتئینی جیره شامل کنجاله کانولا و پودر ماهی گردید. برخلاف مشابه بودن میزان پروتئین خام جیره‌های غذایی، میزان پروتئین محلول و پروتئین قابل تجزیه در شکمبه با افزودن این فرآورده به جیره افزایش یافت (جدول ۴). طی فرآوری دانه ذرت معمولاً مقداری دی اکسید گوگرد استفاده می‌شود، زیرا اسید سولفوروس ایجاد شده در اثر واکنش با آب سبب مهار تخمیر میکروبی شده و تسهیل در جدا شدن نشاسته و پروتئین از ذرت می‌گردد. چنان چه میزان دی اکسید گوگرد مورد استفاده از حدی بیشتر شود به واسطه افزایش محتوای گوگرد خیساب مایع ذرت (بیش از ۷ گرم در کیلوگرم ماده خشک) اثرات نامطلوبی بر عملکرد دام می‌گذارد (Mirza and Mushtag, 2006). در پژوهش حاضر میزان گوگرد خیساب ذرت در دامنه مطلوبی قرار داشته و برابر ۳/۸۷ گرم در کیلوگرم ماده خشک بود. مطابق با این نتایج، Koffler و همکاران (1947) نیز این میزان را ۳/۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش نمودند.

اثر جیره‌های آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های میکروبی بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه در جدول ۳ 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 و کمترین در بخش خارج سلولی شیرابه شکمبه بدست آمد. فعالیت آنزیمی کربوکسی متیل سلولاز در بخش جامد، خارج سلولی و کل (مجموع هر سه بخش جامد، خارج سلولی و داخل سلولی) شیرابه با افزایش میزان خیساب ذرت در جیره به طور خطی کاهش یافت ($P<0/05$)، هرچند فعالیت آن در بخش داخل سلولی تحت تاثیر نوع جیره قرار نگرفت ($P>0/05$). با افزایش میزان خیساب ذرت در جیره، فعالیت آنزیمی میکروکریستالین سلولاز و فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده کاغذ صافی در بخش

جامد و کل شیرابه شکمبه کاهش یافت (P<۰/۰۵)، هرچند فعالیت آن‌ها در بخش خارج و داخل سلولی تحت تاثیر قرار نگرفت (P>۰/۰۵). فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در بخش جامد، خارج سلولی، داخل سلولی و کل شیرابه شکمبه در همه بره‌های آزمایشی تحت تاثیر قرار نگرفت (P>۰/۰۵)، هرچند فعالیت پروتئازی در همه بخش‌های مذکور به طور خطی افزایش یافت (P<۰/۰۵).

در تحقیق حاضر، بیشترین مقادیر فعالیت آنزیمی مشاهده شده در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه برای هر ۵ آنزیم مورد آزمون مربوط به بخش جامد و کمترین آن برای بخش خارج سلولی بدست آمد که مطابق با نتایج گزارش شده توسط Agarwal و همکاران (2000) است. این محققین با مورد آزمون قرار دادن فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی و آلفا آمیلاز در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه گاومیش مورا اذعان نمودند که حدود ۹۲-۸۰، ۱۵-۸ و ۴-۱ درصد کل فعالیت آنزیمی شکمبه به ترتیب در بخش جامد، داخل سلولی و خارج سلولی مشاهده گردید. عزیزی شترخفت و همکاران (۱۳۹۳) و میرمحمدی (۱۳۹۲) نیز با تغذیه کود مرغی فرآوری شده به گوسفند نیز نتایج مشابهی را برای آنزیم‌های مذکور گزارش نمودند. مشخص شده است که تعداد بیشتر میکروب‌های وابسته به بخش جامد سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های فیبرولیتیک که عمدتاً در تجزیه مواد فیبری دخیل هستند می‌شوند (Cheng and McAllister, 1997؛ Raghuvansi و همکاران، 2007). وجود بیشترین میزان فعالیت آنزیمی در بخش جامد شیرابه شکمبه نشان دهنده کلونیزه شدن ذرات خوراک توسط جمعیت میکروبی شکمبه است. همان طوری که انتظار می‌رفت حداقل میزان آنزیم‌های تجزیه کننده فیبر در بخش خارج سلولی شیرابه شکمبه بوده است، زیرا آنزیم‌های موجود در این بخش به پوشش سلولی متصل بوده و تنها مقدار کمی از آن‌ها به دلیل تخریب یا تجزیه مکانیکی میکروب‌های تجزیه کننده الیاف به بخش مایع سلولی رها می‌شوند (Agarwal و همکاران، 2000).

میزان فعالیت آنزیمی کمتر در بخش داخل سلولی شیرابه شکمبه نیز احتمالاً به این خاطر است که میکروب‌های سلولولایتیک به ذرات خوراکی (بخش جامد) متصل شده‌اند، و جمعیت میکروبی آزاد در بخش مایع کاهش یافته است (Raghuvansi و همکاران، 2007؛ Agarwal و همکاران، 2000). در همه بخش‌های مورد بررسی شیرابه شکمبه (بخش جامد، خارج سلولی، داخل سلولی و کل)، میزان فعالیت کربوکسی متیل سلولاز نسبت به بخش‌های مربوطه در آنزیم میکروکریستالین سلولاز که هر دو معیاری از هضم فیبر می‌باشند، بیشتر بود. یافته‌های عزیزی شترخفت و همکاران (۱۳۹۳) و میرمحمدی (۱۳۹۲) روی گوسفند نتایج این تحقیق را تأئید می‌کند.

آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز روی بخش میانی زنجیره خطی سلولز اثر نموده و از طریق هیدرولیز آن را پاره می‌نمایند و تولید دو زنجیر کوتاه‌تر می‌کند. اما میکروکریستالین سلولاز به قسمت انتهایی آزاد زنجیره حمله نموده و طی مراحل متوالی آنها را تجزیه نموده و سلوبیوز تولید می‌نماید (دانش‌مسگران و همکاران، ۱۳۹۰). بنابراین، افزایش فعالیت کربوکسی متیل سلولاز نسبت به میکروکریستالین سلولاز احتمالاً به خاطر دسترسی آنزیم به سوبسترای بیشتر باشد.

اختلافات مشاهده شده در فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده فیبر با تغذیه جیره‌های آزمایشی احتمالاً به دلیل تغییرات ایجاد شده در جمعیت میکروبی اکوسیستم شکمبه بر اساس نوع جیره مصرفی تغذیه شده به حیوانات و سپس تغییرات پروفیل آنزیمی باشد (Kamra و همکاران، 2010). کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده فیبر با افزایش سطح خیساب مایع ذرت در جیره احتمالاً به دلیل ماهیت اسیدی این فرآورده به دلیل محتوای اسید لاکتیک بالا (جدول ۱) بوده است که سبب کاهش pH شکمبه شده است. زیرا باکتری‌های فیبرولایتیک شکمبه بسیار به تغییرات pH حساس هستند (Sung و همکاران، 2007) و زمانی که pH شکمبه به کمتر از ۶/۲ برسد رشد آن‌ها مهار می‌گردد (Wang and McAllister, 2002). مطابق با این نتایج، Stewart (1977) دریافت که تعداد باکتری‌های تجزیه کننده کاغذ صافی در شکمبه

در شرایط برون‌تنی با کاهش pH به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. در کل، مکانیسم اثر منفی pH بر رشد باکتریایی شکمبه به خصوص باکتری‌های فیبرولایتیک به خوبی شناخته نشده است اما بر اساس نظریه کیمواوسموتیک (Mitchell، 1961)، مهار رشد میکروبی در pH پایین ممکن است به دلیل انرژی ناکافی برای انتقال پروتون به خارج از سلول توسط غشای سلولی جهت ایجاد یک گرادیان پروتونی باشد (Garland، 1977). هرچند، برخلاف نتایج به دست آمده در این تحقیق، در مطالعه‌ای مشخص شد که خیساب مایع ذرت یک منبع غنی از فاکتورهای رشد باکتری‌های سلولایتیک است (Bentley و همکاران، 1955).

جدول ۳- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف خیساب مایع ذرت بر فعالیت برخی آنزیم‌های میکروبی شکمبه بره‌های نر پرواری

	جیره‌ها (بر حسب سطح خیساب مایع ذرت)				نوع رابطه	
	صفر	۵۰	۱۰۰	SEM	خطی	غیر خطی
کربوکسی متیل سلولاز[1]						
بخش جامد[2]	۳۸۲	۳۵۵	۳۲۰	۵/۱۸	<۰/۰۱	۰/۴۹
بخش خارج سلولی[3]	۲۷/۶	۱۹/۴	۱۲/۷	۰/۴۲	<۰/۰۱	۰/۱۵
بخش داخل سلولی[4]	۴۱/۶	۳۶/۸	۴۱/۸	۲/۲۶	۰/۹۳	۰/۱۰
کل	۴۵۱	۴۱۲	۳۷۵	۵/۶۲	<۰/۰۱	۰/۸۶
میکروکریستالین سلولاز (آویسلاز)[1]						
بخش جامد	۱۴۲	۱۲۳	۹۱/۸	۳/۷۲	<۰/۰۱	۰/۱۷
بخش خارج سلولی	۵/۱۶	۵/۳۹	۵/۵۱	۰/۱۶	۰/۱۴	۰/۷۸
بخش داخل سلولی	۲۲/۵	۱۸/۷	۱۶/۹	۱/۹۰	۰/۰۸	۰/۶۸
کل	۱۷۰	۱۴۸	۱۱۴	۴/۶۹	<۰/۰۱	۰/۳۵
فعالیت کاغذ صافی[1]						
بخش جامد	۶۱۴	۵۶۰	۵۰۲	۸/۱۲	<۰/۰۱	۰/۸۰
بخش خارج سلولی	۲۱/۸	۲۰/۵	۲۰/۹	۱/۱۲	۰/۴۹	۰/۵۶
بخش داخل سلولی	۴۲/۸	۴۲/۳	۴۱/۸	۱/۲۳	۰/۵۹	۰/۹۸
کل	۶۷۹	۶۲۴	۵۶۵	۸/۶۶	<۰/۰۱	۰/۸۷
آلفا آمیلاز[1]						
بخش جامد	۷۴۳	۷۳۵	۷۶۱	۱۳/۱	۰/۳۵	۰/۳۲
بخش خارج سلولی	۶۵/۱	۵۸/۶	۶۱/۹	۴/۰۸	۰/۵۸	۰/۳۴
بخش داخل سلولی	۱۹۵	۱۸۸	۱۹۱	۵/۶۰	۰/۵۷	۰/۵۱
کل	۱۰۰۳	۹۸۲	۱۰۱۴	۱۵/۴	۰/۶۵	۰/۱۹
پروتئاز						
بخش جامد	۶۹۶	۹۷۵	۱۲۳۸	۶/۶۷	<۰/۰۱	۰/۳۴
بخش خارج سلولی	۱۱۲	۱۳۳	۱۵۷	۳/۰۸	<۰/۰۱	۰/۷۵
بخش داخل سلولی	۳۵۳	۳۸۸	۴۱۳	۴/۷۸	<۰/۰۱	۰/۵۲
کل	۱۱۶۲	۱۴۹۶	۱۸۰۹	۹/۰۶	<۰/۰۱	۰/۳۵

۱- فعالیت همه آنزیم‌ها بر حسب میکرومول گلوکز آزاد شده در ساعت در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه می‌باشد، ۲- Particulate Material، ۳-Extra Cellular Fraction، ۴-Cellular Fraction، اعداد میانگین ۳ زمان صفر، ۳ و ۶ ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح می‌باشد.

برخلاف محتوای زیاد کربوهیدرات‌های محلول خیساب مایع ذرت (جدول ۱)، فعالیت آلفا آمیلاز در همه بخش‌های شیرابه شکمبه با تغذیه جیره‌های آزمایشی مشابه بود. نشان داده شده است که باکتری‌های سلولایتیک و آمیلولتیک به سرعت کربوهیدرات‌های محلول و به آسانی قابل تجزیه را کلونیزه نموده و این دسترسی به سوبستراهای ویژه برای تحریک رشد سایر باکتری‌های فیبرولایتیک را تسهیل می‌کند (Costerton and Cheng, 1982) که این کاملاً در تضاد با نتایج تحقیق حاضر است.

افزایش فعالیت پروتئاز شکمبه با افزایش میزان خیساب مایع ذرت احتمالاً به دلیل محتوای پروتئین محلول بالای خیساب ذرت بوده است که نرخ تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای بالایی دارد. در تأئید این امر، Lardy و همکاران (1997) نیز نشان دادند که کل محتوای پروتئین خیساب ذرت در شکمبه قابل تجزیه است.

همان طوری که در جدول ۴ نشان داده شده است نیتروژن مصرفی، نیتروژن دفع شده از طریق مدفوع و کل نیتروژن دفعی تحت تأثیر تغذیه جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف خیساب مایع ذرت قرار نگرفت (P>۰/۰۵). هرچند، نیتروژن دفعی از طریق ادرار به طور خطی افزایش یافت (P<۰/۰۵). همه دام‌ها در توازن مثبت نیتروژن بودند و با افزایش میزان خیساب مایع ذرت در جیره میزان نیتروژن ابقاء شده (گرم در روز) و نیتروژن ابقاء شده بر حسب وزن متابولیکی بدن به طور خطی کاهش یافت (P<۰/۰۵)، هرچند نیتروژن ابقاء شده بر حسب کیلوگرم وزن زنده بدن با تغذیه جیره‌های آزمایشی مشابه بود (P>۰/۰۵).

کاهش ابقاء نیتروژن با افزودن خیساب مایع ذرت در جیره احتمالاً به دلیل نرخ تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای بالای این فرآورده بود که سبب افزایش دفع بیشتر نیتروژن از طریق ادرار گردیده است. افزایش فعالیت پروتئازی شکمبه (جدول ۳) نیز نشان دهنده هدر روی بالای نیتروژن در شکمبه با تغذیه جیره‌های حاوی خیساب ذرت است. در پژوهشی افزودن خیساب ذرت به میزان بیش از ۵ درصد به جیره بره‌های پرواری میزان افزایش وزن زنده را کاهش داد (Mirza and Mushtag, 2006)، که مطابق با نتایج این پژوهش است. این در حالی است که Shahzad و همکاران (2010) با جایگزینی سطوح مختلف خیساب مایع ذرت به جای اوره در جیره بره پرواری بهبود عملکرد شکمبه و به دنبال آن عملکرد رشد دام را گزارش نمودند.

جدول ٤- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف خیساب مایع ذرت بر توازن نیتروژن (گرم در روز) در بره‌های نر پرواری

	جیره‌ها (بر حسب سطح خیساب مایع ذرت)				نوع رابطه	
	صفر	۵۰	۱۰۰	SEM	خطی	غیر خطی
نیتروژن مصرفی	۳۸/۰	۳۶/۱	۳۶/۰	۰/۷۹	۰/۱۰	۰/۳۶
نیتروژن دفعی مدفوع	۱۰/۵	۹/۸۹	۹/۵۲	۰/۴۵	۰/۱۷	۰/۸۴
نیتروژن دفعی ادرار	۱۳/۸	۱۴/۶	۱۵/۸	۰/۲۴	<۰/۰۱	۰/۳۵
کل نیتروژن دفعی	۲۴/۳	۲۴/۵	۲۵/۳	۰/۴۳	۰/۱۳	۰/۵۸
نیتروژن ابقاء شده	۱۳/۷	۱۱/۶	۱۰/۷	۰/۳۴	۰/۰۳	۰/۶۲
نیتروژن ابقاء شده[1]	۰/۲۷	۰/۲۴	۰/۲۳	۰/۰۲	۰/۱۲	۰/۵۸
نیتروژن ابقاء شده[2]	۰/۷۴	۰/۶۲	۰/۵۹	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۵۰

۱- بر حسب وزن زنده بدن؛ ۲- بر حسب وزن متابولیکی بدن

علی رغم نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر روی اثر خیساب ذرت بر فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه و ابقاء نیتروژن، آنالیز اقتصادی داده‌های عملکردی نشان داد که افزودن خیساب ذرت در جیره تا سطح ۵ درصد ماده خشک کاهش عملکرد رشد بره‌ها را از طریق کاهش قیمت تمام شده جیره مصرفی پوشش داد (Azizi-Shotorkhoft و همکاران، 2016) و لذا تا سطح ۵ درصد ماده خشک جیره قابل استفاده است.

نتیجه‌گیری

نتایج یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که افزودن خیساب مایع ذرت تا سطح ۱۰ درصد ماده خشک جیره بره‌های نر مغانی فعالیت آنزیم‌های میکروبی تجزیه کننده فیبر در شکمبه و ابقای نیتروژن را کاهش داد، هرچند سبب افزایش فعالیت پروتئازی شکمبه شد. هرچند، تحلیل اقتصادی داده‌های عملکردی نشان داد که جایگزینی این پسماند به عنوان مکمل پروتئین تا سطح ۵ درصد ماده خشک جیره، با کاهش دادن هزینه تمام شده جیره مصرفی کاهش عملکرد رشد دام‌ها را توجیه می‌نماید.

منابع

پاپی، ن.، فضائلی، ح. و عزیزی شترخفت، ا. (۱۳۹۲). اثر کود مرغی فرآوری شده در جیره بر مصرف اختیاری خوراک، سنتز پروتئین میکروبی و توازن نیتروژن در گوسفند. پژوهش و سازندگی. ۹۸: ۵۵-۶۳.

دانش مسگران، م.، طهماسبی، ع.م. و وکیلی، س.ع. (۱۳۹۰). هضم و سوخت- ساز در نشخوارکنندگان. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

عزیزی شترخفت، ا.، شریفی، ا.، میرمحمدی، د.، رضائی، ج.، کیانی، ع. و فضائلی، ح. (۱۳۹۳). اثر منبع انرژی بر فعالیت برخی آنزیم‌های هیدرولیتیک بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه و ابقای نیتروژن در گوسفند تغذیه شده با جیره حاوی کود مرغی فرآوری شده. پژوهش در نشخوارکنندگان. ۲: ۱۷-۳۶.

گلپور، ا. (۱۳۹۰). استفاده از خیساب مایع ذرت در تغذیه بلدرچین. پایان نمه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.

میرمحمدی، د. (۱۳۹۲). بررسی اثر شکل فیزیکی خوراک در جیره‌های با و بدون کود بستر جوجه‌های گوشتی بر عملکرد بره‌های پرواری. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.

Agarwal, N. (2000). Estimation of fiber degrading enzyme, P: 278–291, In: Chaudhary, L.C., Agarwal, N., Kamra, D.N., Agarwal, D.K.,) (eds.) Feed Microbiology. CAS Animal Nutrition, IVRI, Izatnagar, India.

Agarwal, N., Agarwal, I., Kamra, D.N. and Chaudhary, L.C., (2000). Diurnal variations in the activities of hydrolytic enzymes in different fractions of rumen contents of Murrah buffalo. *Journal of Applied Animal Research*. 18:73–80.

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.

Agricultural and Food Research Council. 1992. Nutrient Requirements of Ruminant Animals: Protein. Technical Committee on Responses to Nutrients, Report No. 10, Nutrition Abstracts and Reviews, Series B, 62 (2):787–835.

AOAC. (1990). Official methods of analysis, 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. pp: 554, 575, 654.

Azizi-Shotorkhoft, A., Sharifi, A., Mirmohammadi, D., Baluch-Gharaei, H. and Rezaei, J. (2016). Effects of feeding different levels of corn steep liquor on the performance of fattening lambs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 100 (1):109-117.

Bentley, O.G., Johnson, R.R., Hershberger, T.V., Cline, J.H. and Moxon, A.L. (1955). Cellulolytic-factor activity of certain short chain fatty acids for rumen microorganisms *in vitro*. *Journal of Nutrition*. 57(3):389–400.

Cheng, K.J. and McAllister, T.A. (1997). Compartmentation in the rumen. P: 492-522, In: Hobson, P.N. and Stewart, C.S.,) (eds.) The rumen microbial ecosystem, Chapman and Hall, London.

Chovatiya, S.G., Bhatt, S.S. and Shah, A.R. (2010). Evaluation of corn steep liquor as a supplementary feed for Labeorohita (Ham.) fingerlings. *Aquaculture International*. 19:1–12.

Costerton, J.W. and Cheng, K.J. (1982). Microbe-microbe interactions at surface. P: 275–290, In: Burns R.G. and Slater, J.H.,) (eds.) Experimental microbial ecology, Blackwell Scientific, London.

Faithfull, N.T. (2002). Methods in agricultural chemical analysis: a practical handbook, CAB International, pp. 304.

Filipovic, S.S., Ristic, M.D. and Sakac, M.B. (2002). Technology of corn steep application in animal mashes and their quality. *Romanian Biotechnological Letters*. 7:705–710.

Forsberg, C.W. and Cheng, K.J. (1992). Molecular strategies to optimize forage and cereal digestion by ruminants. P:107–147, In: Bills D.D. and Kung S.D., (eds) Biotechnology and Nutrition, Butterworth Heinemann, Stoneham.

Garland, P.B. (1977). Energy transduction in microbial systems. *Symposium of the Society for General Microbiology*. 27:1–21.

Gupta, R.S., Desai, M.C., Talpada, P.M. and Shukala, P.C. (1990). Effect of corn steep liquor feeding on growth of crossbred calves. *Indian Journal of Animal Nutrition*. 7:279–282.

Harmon, B.G., Galo, A., Comelius, S.G., Baker, D.H. and Jensen, A.H. (1975). Condensed fermented corn soluble with germ meal and bran (DSLC) as a nutrient source for swine. I. Amino acid limitations. *Journal of Animal Science*. 40(2):242-246.

Harris, L.E. (1970). Nutrition research techniques for domestic and wild animals. Vol. 1. Utah State University, Logon, Utah. USA.

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.

Hull, S.R., Yang, B.Y., Venzke, D., Kulhavy, K. and Montgomery, R. (1996). Composition of corn steep water during steeping. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 44:1857-1863.

Jasmin, B.H., Boston, R.C., Modesto, R.B. and Schaer, T.P. (2011). Perioperative ruminal pH changes in domestic sheep (Ovis aries) housed in a biomedical research setting. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 50:27–32.

Kamra, D.N., Saha, S., Bhatt, N., Chaudhary, L.C. and Agarwal, N. (2003). Effect of diet one enzyme profile, biochemical changes and *in sacco* degradability of feeds in the rumen of buffalo. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 16:374–379.

Koffler, H., Knight, S.G. and Frazier, W.C. (1947). The effect of certain mineral elements on the production of penicillin in shake flasks. *Journal of Bacteriology*. 53:115-123.

Lardy, G., Klopfenstein, T.J., Adams, D.C., Lamb, J. and Clark, D. (1997). Rumen degradable protein requirement of gestating summer calving beef cows grazing dormant native sandhills range. Nebraska Beef Cattle Reports, Paper 443. http://digitalcommons.unl.edu/animalscinbcr/443.

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.

Martin, C. and Michalet-Doreau, B. (1995). Variations in mass and enzyme activity of rumen microorganisms: Effect of barley and buffer supplements. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 67:407–413.

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

Miller, J.L. (1959). Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry*. 31:426– 429.

Mirza, M.A. and Mushtaq, T. (2006). Effect of supplementing different levels of corn steep liquor on the post-weaning growth performance of Pak-Karakul lambs. *Pakistan Veterinary Journal*. 26:135–137.

Mitchell, P. (1961). Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. *Nature* (London). 191:144–147.

Negesse, T., Patra, A.K., Dawson, L.J., Tolera, A., Merkel, R.C., Sahlu, T., et al. (2007). Performance of Spanish and Boer × Spanish doelings consuming diets with different levels of broiler litter, *Small Ruminant Research*. 69:187-197.

Nisa, M., Sarwar, M. and Khan, M.A. (2004). Nutritive value of urea treated wheat straw ensiled with or without corn steep liquor for lactating Nili-Ravi buffaloes. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 17:825–829.

NRC. (2007). National Research Council: Nutrient Requirements of Small Ruminants, Sheep, Goats, Cervide and New York Camelids. National Academy of Science, Washington, D. C.

Raghuvansi, S.K.S., Prasad, R., Tripathi, M.K., Mishra, A.S., Chaturvedi, O.H., Misra, A.K., et al. (2007). Effect of complete feed blocks or grazing and supplementation of lambs on performance, nutrient utilisation, rumen fermentation and rumen microbial enzymes. *Animal*. 1:221–226.

Ribeiro-Filho, C.C. and Trenkle, A. (2002). Evaluation of feeding value of the corn steep liquor as an energy and protein source for finishing cattle diets. *Journal of Animal Science*, 80 (Suppl. 1). 232.

Robertson, J.B. and VanSoest, P.J., (1981). The detergent system of analysisand its application to human foods. P: 123–158 (Chapter 9), In: James, W.P.T. and Theander, O., (Eds.) The Analysis of Dietary Fibre in Food, Marcel Dekker, NY, USA,

Rogers, G.M. and Poore, M.H. (1994). Alternative feeds for reducing beef cow feed costs. *Veterinary Medicine*. 89:1073–1084.

Russel, J.B. (2002). Rumen Microbiology and Its Role in Ruminant Nutrition. Russell J.B., Publ. Co., Ithaca, NY.

Russo, J. M. and Heiman, V. (1959). The value of corn fermentation condensed solubles as a growth stimulant for chickens. *Poultry Science*. 38:26-30.

Sarwar, M., Nisa, M. and Khan, M.A. (2004). Influence of ruminally protected fat and urea treated corncobs ensiled with or without corn steep liquor on nutrient intake, digestibility, milk yield and its composition in Nili-Ravi buffaloes. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 17:86–93.

SAS. (2001) Statistical Analysis Systems, Version 8.2. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Scott, T., Klopfenstein, T., Stock, R. and Klemesrud, M. (1997). Evaluation of corn bran and corn steep liquor for finishing steers. Nebraska Beef Cattle Reports, MP 67-A, 72–74.

Selinger, L.B., Forsberg, C.W. and Cheng, K.J. (1996). The rumen: a unique source of enzymes for enhancing livestock production. *Anaerobe*. 2:263–284.

Shahzad, M.A., Sarwar, M., Nisa, M. and Sharif, M. (2010). Corn steep liquor, a potential substitute of urea for growing lambs. *Egyptian Journal of Sheep and Goat Science*. 5 (1):177–190.

Silva, A.T., Wallace, R.J. and Orskov, 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.

Stewart, C.S. (1977). Factors affecting the cellulolytic activity of rumen contents. *Applied and Environmental Microbiology*. 33:497–502.

Sung, H.G., Kobayashi, Y., Chang, J., Ha, A., Hwang, I.H. and Ha, J.K. (2007). Low ruminal pH reduces dietary fiber digestion via reduced microbial attachment. Asian-Australian *Journal of Animal Science*. 20:200–207.

Talpada, P.M., Desai, M.C., Desai, H.B., Patel, Z.N. and Shukala, P.C. (1987). Nutritive value of corn steep liquor. *Indian Journal of Animal Nutrition*. 4:124–125.

VanSoest, P. J., Robertson, J. B. and Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74:3583-3597.

Wang, Y. and McAllister, T.A. (2002). Rumen Microbes, Enzymes and Feed Digestion- a Review. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 15:1659-1676.