

## اثر تغذیه سیلاژ یونجه با مقادیر مختلف خرمای ضایعاتی بر جمعیت پروتوزوای شکمبه، میزان تولید پروتئین میکروبی و فراسنجه‌های خون در گوسفند کرمانی

راحله رجبی علی آبادی<sup>1\*</sup> - رضا طهماسبی<sup>2</sup> - امید دیانی<sup>3</sup> - امین خضری<sup>4</sup>

تاریخ دریافت: 1394/03/18

تاریخ پذیرش: 1394/12/15

### چکیده

در این تحقیق، اثر تغذیه سیلاژ یونجه با مقادیر مختلف خرمای ضایعاتی بر سنتز پروتئین میکروبی، جمعیت پروتوزوای و فراسنجه‌های خونی در هشت رأس گوسفند نر کرمانی با میانگین وزنی  $47 \pm 2$  کیلوگرم در قالب طرح چرخشی در 2 دوره 21 روزه بررسی گردید. برای تهیه سیلاژ، یونجه با درصدهای صفر، پنج، 10 و 15 درصد خرمای ضایعاتی با هم مخلوط و به مدت 45 روز در سطلهایی با گنجایش 40 لیتر سیلوگردید. پس از تعیین ترکیبات شیمیایی سیلاژهای یونجه، از سیلاژها به میزان 30 درصد در جیره‌های آزمایشی شامل: (1) جیره شاهد (سیلاژ یونجه بدون خرمای ضایعاتی)، (2) جیره حاوی سیلاژ یونجه با 5 درصد خرمای ضایعاتی، (3) جیره حاوی سیلاژ یونجه با 10 درصد خرمای ضایعاتی و (4) جیره حاوی سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی استفاده شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که جمعیت کل پروتوزوای و تمامی گونه‌های هولوتریش، سلولیتیک و انتودینیوم در مایع شکمبه با افزودن خرمای ضایعاتی به سیلاژ یونجه به صورت روند خطی افزایش یافت. هم‌چنین جیره حاوی سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی سبب افزایش ابقا نیتروژن و پروتئین میکروبی شد. با افزایش مقدار خرمای ضایعاتی در سیلاژ یونجه در جیره‌های آزمایشی، سطح کلسترول و نیتروژن آورده‌ای خون به صورت معنی‌داری تغییر پیدا کرد و سطح تری گلیسیرید خون به صورت روند خطی تحت تاثیر جیره های آزمایشی قرار گرفت. به‌طور کلی با توجه به نتایج به‌دست آمده، استفاده از مقدار 15 درصد خرمای ضایعاتی در تهیه سیلاژ یونجه سبب بهبود ابقا نیتروژن و افزایش سنتز پروتئین میکروبی شد. بنابراین می‌توان از این سیلاژ، در تغذیه دام استفاده نمود.

**واژه‌های کلیدی:** خرمای ضایعاتی، سنتز پروتئین میکروبی، سیلاژ یونجه، فراسنجه‌های خونی.

### مقدمه

کاهش ارزش غذایی علوفه خشک شود (38). یکی از روش‌هایی که تا حدودی وابستگی کمتری به شرایط جوی دارد و توسط دامداران برای نگهداری گیاهان به کار می‌رود، استفاده از فرآیند تخمیر طبیعی (سیلو کردن) علوفه است (23). با وجود این، سیلو کردن لگوم‌ها به علت ظرفیت بافری و رطوبت بالا و ساختار لوله‌ای و میان تهی آن‌ها مشکل می‌باشد (30). علاوه بر این سیلو کردن یونجه به‌تنهایی سبب تبدیل شدن 75 تا 85 درصد نیتروژن به نیتروژن غیر پروتئینی می‌شود (38). لذا این علوفه‌ها ممکن است پاسخ مناسبی نسبت به افزودنی‌ها و محافظت‌کننده‌های سیلو نشان دهند (22). افزودن منابعی نظیر سیلاژ ذرت به یونجه تازه و سیلو کردن آن، به این علت که سیلاژ ذرت حاوی عوامل مختلف شروع کننده فرآیند تخمیر در سیلاژ (لاکتوباسیل‌ها، اسیده‌های آلی و قندهای محلول) می‌باشد، می‌تواند سبب بهبود کیفیت، خصوصیات فیزیکی و تولید گاز سیلاژ یونجه شود (27).

از طرف دیگر سالانه حجم عظیمی از بقایای کشاورزی در چرخه

در طی سال‌های اخیر، در نتیجه افزایش جمعیت و پیشرفت‌های اقتصادی و اجتماعی، در بسیاری از کشورهای در حال توسعه تقاضا برای فرآورده‌های دامی رشد قابل توجهی داشته است (13). تهیه علوفه خشک از قدیم به‌عنوان روش سنتی نگهداری مواد علوفه‌ای مورد استفاده قرار گرفته است. اما ضرورت به تعویق انداختن برداشت علوفه تا مرحله بلوغ به‌منظور دست‌یابی به ماده خشک بیشتر، سبب پایین آمدن قابلیت هضم آن می‌شود (35). هم‌چنین شرایط نامطلوب جوی ممکن است سبب از دست رفتن مواد مغذی و در مجموع

- 1- دانش آموخته‌ی کارشناسی ارشد بخش علوم دامی، دانشگاه شهید باهنر کرمان،
- 2- استادیار بخش علوم دامی، دانشگاه شهید باهنر کرمان،
- 3- استاد بخش علوم دامی، دانشگاه شهید باهنر کرمان،
- 4- دانشیار بخش علوم دامی، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

(\* - نویسنده مسئول: (Email: rtahmasb@uk.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.v0i0.46903

پس از تعیین ترکیبات شیمیایی سیلاژهای یونجه، در تنظیم جیره‌های آزمایشی مورد استفاده قرار گرفتند. جیره‌های آزمایشی شامل: 1) جیره شاهد (سیلاژ یونجه بدون خرمای ضایعاتی)، 2) جیره دارای سیلاژ یونجه با پنج درصد خرمای ضایعاتی، 3) جیره دارای سیلاژ یونجه با 10 درصد خرمای ضایعاتی و 4) جیره دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی بود (جدول 1). نسبت کنسانتره به علوفه در جیره‌های آزمایشی 50:50 بود. برای انجام آزمایش از چهار رأس گوسفند نر کرمانی بالغ با میانگین وزنی  $47 \pm 2$  کیلوگرم در قالب طرح چرخشی استفاده شد. مدت‌زمان اجرای این آزمایش 84 روز، شامل چهار دوره 21 روزه بود. 16 روز اول هر دوره برای عادت‌پذیری حیوان به جیره‌های آزمایشی و پنج روز آخر به نمونه‌گیری اختصاص یافت. به این منظور از قفس‌های متابولیکی با امکان جمع‌آوری ادرار و مدفوع به صورت جداگانه، استفاده گردید. جیره‌های آزمایشی به صورت کاملاً مخلوط شده در ساعات 8:00 و 17:00 در اختیار حیوان قرار می‌گرفت. دام‌ها در حد اشتها (10 درصد باقی‌مانده) تغذیه شدند. در طول دوره آزمایش آب به صورت آزاد در اختیار دام‌ها قرار می‌گرفت. نمونه‌گیری از مایع شکمبه در روز پنجم هر دوره و در زمان‌های پیش از مصرف خوراک (صفر) و در 2، چهار، شش و هشت ساعت پس از مصرف خوراک با استفاده از لوله معدی متصل به دستگاه ساکشن صورت گرفت. پس از آن، نمونه‌ها با پارچه کتانی چهار لایه صاف شد و میزان 10 میلی‌لیتر از مایع شکمبه صاف شده نیز با محلول Methylgreen-Formalin-Salin (29) برای شمارش پروتوزوآ توسط لام نئوبار در نظر گرفته شد.

میزان ادرار تولیدی در پنج روز نمونه‌گیری به صورت 24 ساعت با استفاده از ظرف‌های مخصوصی که در زیر قفس‌های متابولیکی قرار می‌گرفت، در ساعت 9 صبح هر روز جمع‌آوری می‌شد. نمونه‌های ادرار جمع‌آوری شده هر حیوان در پایان هر دوره با هم مخلوط شده و 20 میلی‌لیتر از ادرار جهت تجزیه آزمایشگاهی در دمای 5- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به منظور اندازه‌گیری میزان آلانتوئین موجود در نمونه‌های ادرار از روش ارائه شده توسط چن و گومز (12) استفاده شد. با این روش مقادیر آلانتوئین موجود در نمونه‌ها پس از قرائت در طول موج 522 نانومتر مشخص شدند. سپس با استفاده از خط استاندارد میزان آلانتوئین محاسبه و نتایج جمع‌آوری گردید. نیتروژن میکروبی تولید شده (برحسب گرم در روز) با استفاده از داده‌های به دست آمده و براساس معادله  $(Y = 0/84X - 0/15 W^{0/75} \text{ EXP } (-0/25 X)) +$  محاسبه شد. در این معادله،  $Y$ ، نیتروژن میکروبی تولید شده برحسب گرم در روز،  $X$ ، مشتقات پورینی دفعی ادرار با منشأ میکروبی (میلی مول در روز) و  $W^{0/75}$  نیز وزن متابولیکی حیوان بر حسب کیلوگرم می‌باشد.

تولید محصولات اصلی حاصل می‌شود که به‌طور مستقیم مصرف انسانی ندارند، اما می‌توان با استفاده از آن‌ها هزینه‌های تغذیه دام را کاهش داد (4). از جمله این بقایای کشاورزی می‌توان به ضایعات خرما اشاره نمود. خرما (*Phoenix lifera dactyl*) از خانواده *Palmaceae*، دارای پروتئین خام (چهار درصد)، چربی (0/3 درصد)، مواد معدنی (3/18 درصد) و هم‌چنین ویتامین‌های  $B_1$ ،  $B_2$ ،  $B_6$  و  $C$  می‌باشد (4). تولید جهانی خرما بیش از 5/4 میلیون تن در سال برآورد شده است. در کشور ما نیز سالانه حدود 900 هزار تن خرما تولید می‌شود که یکی از بزرگترین تولیدکنندگان این محصول در جهان می‌باشد و نزدیک به 17 درصد کل تولید جهانی را در اختیار دارد. به دلیل عدم برداشت به موقع خرما و شرایط نامناسب بسته‌بندی و نگهداری طبق برآورد 20 درصد آن را خرمای نامرغوب و ضایعات تشکیل می‌دهد. در استان کرمان با سطح زیر کشت 60 هزار هکتار، سالانه حدود 150 تا 180 هزار تن خرما برداشت می‌شود. سالانه حجم بالایی از خرمای تولیدی (300 هزار تن) به دلیل نامرغوب بودن، عدم رعایت روش‌های صحیح برداشت، بسته‌بندی و عدم امکانات انبارداری و سردخانه مناسب، مستقیماً جذب بازار مصرف نمی‌شود و می‌بایست در واحدهای صنایع تبدیلی و فرآوری تبدیل به محصولاتی با ارزش، شامل محصولات تخمیری و غیر تخمیری گردد (4 و 15). بنابراین با توجه به این که خرما می‌تواند کربوهیدرات سهل‌الهضم مناسبی برای شروع فرایند تخمیر به‌منظور تهیه سیلاژ یونجه فراهم نماید، به نظر می‌رسد افزایش کربوهیدرات‌های قابل تخمیر از یک طرف سبب بهبود شرایط تخمیر در هنگام سیلو کردن علوفه یونجه شده و از طرف دیگر استفاده از آمونیاک توسط جمعیت میکروبی را در داخل شکمبه افزایش می‌دهد (16). مطالعه حاضر، با هدف بررسی اثرات تغذیه سیلاژ یونجه با درصد‌های متفاوت خرمای ضایعاتی بر میزان سنتز پروتئین میکروبی، جمعیت پروتوزوآی شکمبه و تعیین فرآیندهای خونی در گوسفند با استفاده از روش حیوان زنده انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور تهیه سیلاژ، 700 کیلوگرم یونجه در اوایل گلدهی و 100 کیلوگرم خرمای ضایعاتی مضافتی در مردادماه از شهرستان بم واقع در استان کرمان جمع‌آوری و با درصد‌های صفر، پنج، 10 و 15 درصد خرمای ضایعاتی با یونجه مخلوط و به مدت 45 روز در سطل‌هایی با گنجایش 40 لیتر سیلو شدند. پس از باز کردن سیلوها، میزان ماده خشک، پروتئین خام، نیتروژن آمونیاکی، چربی خام، ماده آلی، خاکستر و pH سیلاژ یونجه براساس روش‌های استاندارد (3) تعیین گردید. الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی نمونه‌ها، با استفاده از محلول‌های شوینده اسیدی و خنثی اندازه‌گیری شد (40).

جدول 1- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (براساس ماده خشک)

Table 1- Ingredients and chemical composition of experimental diets (Based on dry matter)

اجزاء (درصد) Ingredients (%)	جیره‌های آزمایشی <sup>1</sup> Experimental diets <sup>1</sup>			
	1	2	3	4
کاه گندم خرد شده Chopped wheat straw	20	20	20	20
سیلاژ یونجه بدون خرماي ضایعاتی Alfalfa silage without waste date	0	30	30	30
سیلاژ یونجه با خرماي ضایعاتی Alfalfa silage with waste date	30	0	0	0
دانه جو آسیاب شده Milled barley grain	25	24	24	21.4
دانه ذرت آسیاب شده Milled corn grain	9	7.4	6.5	4
کنجاله سویا Soybean meal	6	7.6	8.1	11
سبوس گندم Wheat bran	8	9	9.4	11.4
مکمل مواد معدنی و ویتامینی Mineral and vitamin supplement	1.5	1.5	1.5	1.5
نمک salt	0.5	0.5	0.5	0.5
ترکیب شیمیایی Chemical composition				
انرژی متابولیسمی (مگا کالری در کیلوگرم) metabolizable energy (Mcal/kg)	2.49	2.52	2.7	2.8
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	14.03	14.03	14.5	14.8
ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	68.89	70.22	71.35	72.47
چربی خام (درصد) Ether extract (%)	2.83	2.74	2.90	2.56
ماده آلی (درصد) Organic matter (%)	88.43	89.06	91.27	89.94
خاکستر (درصد) Ash (%)	9.57	8.94	10.78	8.05
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) NDF (%)	35.49	35.33	35.04	35.28
کربوهیدرات‌های غیر الیافی (درصد) NFC (%) <sup>2</sup>	38.7	48.35	51.86	59.51

<sup>1</sup> جیره‌های آزمایشی شامل: (1) جیره دارای سیلاژ یونجه بدون خرماي ضایعاتی، (2) جیره دارای سیلاژ یونجه با 5 درصد خرماي ضایعاتی، (3) جیره دارای سیلاژ یونجه با 10 درصد خرماي ضایعاتی و (4) جیره دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرماي ضایعاتی.

<sup>1</sup> Experimental diets including: 1) diet content of alfalfa silage without waste date, 2) diet content of alfalfa silage with 5% waste date, 3) diet content of alfalfa silage with 10% waste date and 4) diet content of alfalfa silage with 15% waste date.

<sup>2</sup> Non Fibrous Carbohydrates

انجام شد. پس از خون گیری نمونه‌های خون در داخل لوله آزمایش حاوی ماده ضد انعقاد EDTA ریخته شد، سپس نمونه‌ها در داخل

خون گیری از گوسفندان در روز آخر هر دوره در ساعت صفر (پیش از مصرف خوراک) صورت گرفت. خون گیری از ورید وداچ

تفکیک و جداسازی شد. مدل‌های آماری مورد استفاده به صورت زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + C_k + Z_m + ZT_{mi} + e_{ijk}$$

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + C_k + e_{ijk}$$

در این معادلات:  $Y_{ijk}$  = متغیر وابسته (صفت اندازه گیری شده)،  $\mu$  = میانگین جامعه برای صفت مورد مطالعه،  $T_i$  = اثر جیره،  $P_j$  = اثر دوره،  $C_k$  = اثر حیوان،  $E_{ijk}$  = اثر باقی مانده،  $Z_m$  = اثر زمان،  $ZT_{mi}$  = اثر متقابل زمان و تیمار بود.

### نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی سیلاژ یونجه با سطوح متفاوت خرمای ضایعاتی ترکیب شیمیایی مخلوط سیلاژ یونجه با سطوح متفاوت خرمای ضایعاتی در جدول 2 آورده شده است.

سانتریفیوژ (شرکت پارس آزمون) با 5000 دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه قرار گرفت تا پلاسما جدا شود. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای 20- درجه سانتی‌گراد در فریزر نگه‌داری شد. برای تعیین فرآستجه‌های خون (گلوکز، پروتئین، تری‌گلیسیرید، کلسترول و نیتروژن اوره‌ای) نمونه‌های پلاسما به آزمایشگاه انتقال داده شد. این فرآستجه‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CE292 Series 2 شرکت CECIL) در طول موج‌های مختلف و با استفاده از کیت‌های درمان کاو (شرکت درمان کاو شماره 1092، شماره 1074 و شماره 1117)، اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (34) با رویه GLM صورت گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD استفاده شد. اثرات جیره‌های آزمایشی در تمامی متغیرها به اثرات خطی (linear)، درجه دو (quadratic) و درجه سه (cubic) متعامد

جدول 2- ترکیب شیمیایی مخلوط سیلاژ یونجه با سطوح متفاوت خرمای ضایعاتی (بر اساس درصد)

Table 2- Chemical composition of Alfalfa silage with different levels of waste date (%)

ترکیب شیمیایی chemical composition	سیلاژ یونجه alfalfa silage	سیلاژ یونجه با پنج درصد خرمای ضایعاتی alfalfa with 15% waste date silage	سیلاژ یونجه با 10 درصد خرمای ضایعاتی alfalfa with 10% waste date silage	سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی alfalfa with 5% waste date silage
ماده خشک Dry matter	22.23	25.37	30.39	37.68
ماده آلی Organic matter	83.84	84.27	86.65	90.95
پروتئین خام Crude protein	19.93	18.51	15.80	11.97
چربی خام Ether extract	3.82	3.84	3.73	3.01
خاکستر Ash	16.16	15.73	13.35	9.05
الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	35.54	30.19	32.13	30.55

نیتروژن دفعی در مدفوع گوسفندان تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. اما از لحاظ عددی نیتروژن دفعی مدفوع به موازات افزایش مصرف ماده خشک و نیتروژن تغییر کرد. گوسفندان تغذیه شده با جیره آزمایشی دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی که بالاترین مصرف ماده خشک و نیتروژن را داشته بودند، بیش‌ترین دفع نیتروژن از طریق مدفوع را نیز داشتند. مارینی و همکاران (22) چنین نتیجه‌گیری کردند که چنانچه مصرف خوراک تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگیرد، نیتروژن دفعی از طریق مدفوع بدون توجه به سطح نیتروژن خوراک تقریباً ثابت باقی می‌ماند و با توجه به تعداد محدود حیوانات استفاده شده نیتروژن ابقا شده روند افزایشی داشت، که با نتایج این آزمایش همخوانی دارد. نتایج تحقیق محرری

### مصرف نیتروژن، تعادل نیتروژن و دفع نیتروژن ادرار و مدفوع

نتایج مربوط به مصرف، تعادل نیتروژن، ترشح نیتروژن در ادرار و ابقای نیتروژن در جدول 3 آورده شده است. مصرف نیتروژن در گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی از نظر آماری معنی دار بود ( $P < 0/05$ ). مصرف نیتروژن گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی با افزایش درصد خرمای ضایعاتی در سیلاژ یونجه افزایش یافت. با توجه به یکسان بودن پروتئین جیره‌ها، مصرف بیشتر ماده خشک می‌تواند دلیل افزایش نیتروژن مصرفی باشد. بیاتی زاده (6) گزارش کرد با افزایش مقدار خرمای ضایعاتی در جیره گوسفندان مصرف نیتروژن به صورت عددی افزایش یافت و دلیل آن را مصرف ماده خشک بیشتر با جیره‌های دارای خرمای ضایعاتی بیان کرد.

خرمای ضایعاتی و کم‌ترین میزان دفع نیتروژن ادراری مربوط به تغذیه گوسفندان با جیره دارای سیلاژ یونجه بدون خرمای ضایعاتی بود. کاهش نیتروژن دفعی در حیواناتی که جیره دارای سیلاژ یونجه بدون خرمای ضایعاتی را دریافت می‌کردند، احتمالاً به دلیل این بوده که توبول‌های کلیوی در بازجذب نیتروژن اوره ای ادرار مؤثر بوده‌اند و بنابراین سبب افزایش بازجذب اوره در زمانی می‌شود که حیوانات نیتروژن کمتری مصرف کرده‌اند (22).

و نوریان (25) نشان داد که نیتروژن دفعی مدفوع گوسفندان تحت تأثیر نیتروژن مصرفی می‌باشد. بدیهی است با افزایش ماده خشک مصرفی، ماده آلی قابل هضم مصرفی نیز افزایش می‌یابد. نیتروژن دفعی ادرار گوسفندان به‌طور معنی‌داری به‌صورت یک روند خطی تحت تأثیر مصرف جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ( $P < 0/05$ ). به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان دفع نیتروژن ادرار مربوط به گوسفندان تغذیه شده با جیره آزمایشی دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد

جدول 3- مصرف، دفع نیتروژن و نیتروژن ابقاء و هضم شده در گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی<sup>1</sup>

Table 3- Nitrogen intake, excretion, retention and digested nitrogen in sheep of fed with experimental diets<sup>2</sup>

Items	جیره‌های آزمایشی <sup>2</sup> experimental diets <sup>2</sup>				SEM	Orthogonal contrasts		
	1	2	3	4		Linear	quadratic	cubic
مصرف ماده خشک (کیلوگرم در روز) Dry matter intake (kg d <sup>-1</sup> )	1.64 <sup>c</sup>	1.70 <sup>b</sup>	1.71 <sup>b</sup>	1.80 <sup>a</sup>	0.01	0.11	0.24	0.62
قابلیت هضم ماده خشک (درصد) Dry matter digestibility (%)	70.85 <sup>a</sup>	67.90 <sup>b</sup>	69.19 <sup>a</sup>	68.83 <sup>ab</sup>	0.85	0.47	0.24	0.01
نیتروژن مصرفی (گرم در روز) Nitrogen intake (g d <sup>-1</sup> )	33.48 <sup>b</sup>	34.2 <sup>ab</sup>	34.76 <sup>ab</sup>	35.75 <sup>a</sup>	0.31	0.01	0.79	0.8
نیتروژن دفعی از مدفوع (گرم در روز) Fecal nitrogen excretion (g d <sup>-1</sup> )	4.67	5.03	5.81	6.04	0.18	0.69	0.95	0.42
نیتروژن دفعی از ادرار (گرم در روز) Urinary nitrogen excretion (g d <sup>-1</sup> )	3.85 <sup>c</sup>	4.38 <sup>bc</sup>	5.70 <sup>ab</sup>	5.91 <sup>a</sup>	0.3	0.005	0.44	0.21
نیتروژن هضم شده (گرم در روز) Digested nitrogen (g d <sup>-1</sup> )	27.61	28.11	29.17	29.73	0.37	0.03	0.96	0.73
نیتروژن ابقاء شده (گرم در روز) Retention nitrogen (g d <sup>-1</sup> )	24.96 <sup>b</sup>	24.79 <sup>ab</sup>	23.25 <sup>ab</sup>	23.80 <sup>a</sup>	0.28	0.04	0.67	0.28
مجموع نیتروژن دفعی (گرم در روز) Total nitrogen excretion (g d <sup>-1</sup> )	8.52	9.41	11.51	11.95	1.75	0.81	0.99	0.99

<sup>1</sup> میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0/05$ ).

<sup>1</sup> Mean with different alphabets are statistically different ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> جیره‌های آزمایشی شامل: (1) جیره دارای سیلاژ یونجه بدون خرمای ضایعاتی، (2) جیره دارای سیلاژ یونجه با پنج‌درصد خرمای ضایعاتی، (3) جیره دارای سیلاژ یونجه با 10 درصد خرمای ضایعاتی و (4) جیره دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی.

<sup>2</sup> Experimental diets including: 1) diet content of alfalfa silage without waste date, 2) diet content of alfalfa silage with 5% waste date, 3) diet content of alfalfa silage with 10% waste date and 4) diet content of alfalfa silage with 15% waste date.

انرژی موردنیاز باکتری‌ها، پروتئین جیره و آمونیاک تولیدی بهتر مورد استفاده قرار گرفته و در نتیجه میزان پروتئین تولیدی بیشتر می‌شود (32). افزایش تعادل نیتروژن در بدن سبب افزایش بازده استفاده از نیتروژن خوراک در حیوان می‌شود که در نتیجه هدر روی نیتروژن کاهش می‌یابد (8).

### جمعیت پروتوزوای شکمبه

جمعیت کل و برخی از گونه‌های پروتوزوای مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در جدول 4 آورده شده است. جمعیت گونه‌های هولوتریش، سلولیتیک و انتودیوم و هم‌چنین کل پروتوزوای در مایع شکمبه گوسفندان به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر

در این آزمایش، نیتروژن هضم شده تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. لیکن از لحاظ عددی بالاترین مقدار نیتروژن هضم شده در گوسفندان تغذیه شده با جیره آزمایشی دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی اندازه‌گیری شد که احتمالاً به دلیل مصرف ماده خشک بیشتر است.

ابقاء نیتروژن در این آزمایش تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ( $P < 0/05$ ). به این صورت که بیش‌ترین میزان ابقاء نیتروژن در گوسفندان تغذیه شده با جیره آزمایشی دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی مشاهده گردید. همان‌طور که ذکر شد بیش‌ترین میزان نیتروژن هضم و ابقاء شده در گوسفندان تغذیه شده با این جیره اندازه‌گیری شد. با افزایش کربوهیدرات‌های محلول، ضمن تأمین

جمعیت گونه‌های سلولولیتیک پروتوزوآ در مایع شکمبه تحت تأثیر تغذیه جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ( $P < 0/05$ ). زیرا بسیاری از این گونه‌های سلولولیتیک برای تأمین نیتروژن مورد نیاز خود از آمونیاک استفاده می‌کنند (18).

گونه‌های انتودینیوم و جمعیت کل پروتوزوآ نیز در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی به صورت خطی تغییر یافت ( $P < 0/05$ ). از لحاظ عددی، بیش‌ترین تعداد از جمعیت کل پروتوزوآ و گونه‌های انتودینیوم در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه در گوسفندان تغذیه شده با جیره آزمایشی دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی مشاهده گردید. چراکه جنس انتودینیوم جنس غالب از پروتوزوآ مژک‌دار شکمبه می‌باشد. این نتایج با نتایج انصاری و همکاران (2) و تقی‌زاده و همکاران (38) موافق است. تقی‌زاده و همکاران (38) گزارش کردند یکی از دلایل غالب بودن گونه‌های انتودینیوم می‌تواند ناشی از مقاومت بالای این گونه‌ها در شرایط مختلف شکمبه‌ای در مقایسه با سایر جنس‌ها باشد.

جیره‌های آزمایشی قرار گرفتند ( $P < 0/05$ ) و با افزایش درصد خرمای ضایعاتی در جیره‌های آزمایشی به صورت یک روند خطی افزایش یافتند. احتمالاً بالا بودن جمعیت گونه‌های هولوتریش در مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره آزمایشی 4 به دلیل افزایش ماده خشک مصرفی روزانه است. پروتوزوای هولوتریش کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای و قندهای محلول را مصرف می‌کنند، در حالی که انتودینیوم‌ها هم کربوهیدرات‌های ساختاری و غیرساختاری را مصرف می‌کنند (42). جمعیت پروتوزوآ معمولاً  $10^4$  الی  $10^6$  عدد در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه می‌باشد. تعداد پروتوزوآها در شکمبه تحت تأثیر ترکیب شیمیایی جیره، تعداد دفعات خوراک‌دهی، محلولیت قندها، چربی جیره، pH شکمبه و سایر عوامل قرار می‌گیرند. جمعیت هولوتریش در شکمبه تحت تأثیر نوع جیره و ترکیبات جیره مصرفی توسط حیوان میزبان می‌باشد، چراکه پس از مصرف خوراک و افزایش گلوکز در شکمبه، جمعیت گونه‌های هولوتریش‌ها تحریک شده و فعالیت این گونه از پروتوزوآها افزایش می‌یابد (19).

جدول 4- جمعیت گونه‌های مختلف و کل پروتوزوای مایع شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی<sup>1</sup>

Table 4- Different species and total protozoa population of rumen liquid of sheep fed experimental diets<sup>1</sup>

جمعیت پروتوزوای شکمبه ( $\times 10^5$ در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه) protozoa population ( $\times 10^5$ per ml of rumen liquid)	جیره‌های آزمایشی <sup>2</sup> Experimental diets <sup>2</sup>				SEM	Orthogonal contrasts		
	1	2	3	4		linear	quadratic	cubic
گونه‌های هولوتریش Holotrichs spp.	5.52 <sup>c</sup>	6.1 <sup>bc</sup>	7.42 <sup>ab</sup>	7.93 <sup>a</sup>	0.3	0.001	0.95	0.55
گونه‌های سلولولیتیک Cellulolytic spp.	15.4 <sup>c</sup>	17.06 <sup>bc</sup>	18.42 <sup>ab</sup>	20.88 <sup>a</sup>	0.52	0.01	0.68	0.74
گونه‌های انتودینیوم Entodinia spp.	13.42 <sup>c</sup>	14.98 <sup>bc</sup>	17.14 <sup>ab</sup>	18.28 <sup>a</sup>	0.55	0.01	0.84	0.72
کل پروتوزوآ Total protozoa	11.45 <sup>c</sup>	12.71 <sup>bc</sup>	14.33 <sup>ab</sup>	15.69 <sup>a</sup>	0.41	0.01	0.95	0.87

<sup>1</sup> میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0/05$ ).

<sup>1</sup> Mean with different alphabets are statistically different ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> جیره‌های آزمایشی شامل: 1) جیره دارای سیلاژ یونجه بدون خرمای ضایعاتی، 2) جیره دارای سیلاژ یونجه با پنج درصد خرمای ضایعاتی، 3) جیره دارای سیلاژ یونجه با 10 درصد خرمای ضایعاتی و 4) جیره دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی.

<sup>2</sup> Experimental diets including: 1) diet content of alfalfa silage without waste date, 2) diet content of alfalfa silage with 5% waste date, 3) diet content of alfalfa silage with 10% waste date and 4) diet content of alfalfa silage with 15% waste date.

### مشتقات پورینی

کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم برای میکروارگانیزم‌های شکمبه و هم‌زمان‌سازی فراهمی انرژی و پروتئین در شکمبه است (36). با افزایش مصرف خوراک، رشد و تکثیر میکروارگانیزم‌های شکمبه به دلیل در دسترس قرار گرفتن انرژی برای میکروارگانیزم‌ها افزایش یافته که سبب افزایش پروتئین میکروبی تولیدی شده است. اسیدهای نوکلئیک میکروب‌های شکمبه وقتی به روده می‌رسند، تجزیه شده و نوکلئوزیدهای پورینی و پیریمیدینی توسط آنزیم گزانتین‌اکسیداز به مشتقات پورینی تجزیه می‌شوند (36).

نتایج مربوط به تولید آلانتوئین، اسید اوریک، گزانتین، هیپوگزانتین و کل مشتقات پورینی در ادرار گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در جدول 5 آورده شده است. میانگین آلانتوئین دفعی در گوسفندان تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ( $P < 0/05$ ). افزایش میزان دفع آلانتوئین هم‌زمان با افزایش سطح خرمای ضایعاتی در جیره‌های آزمایشی احتمالاً به دلیل افزایش مقدار

بدون خرمای ضایعاتی و بیش‌ترین میزان اسید اوریک مربوط به گروه تغذیه شده با جیره دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی بود. پایین‌بودن اسید اوریک با جیره دارای سیلاژ بدون خرمای ضایعاتی احتمالاً به دلیل کمبود کربوهیدرات‌های قابل تخمیر در شکمبه و راندمان پایین سنتز پروتئین میکروبی با این جیره می‌باشد. زمانی که میکروارگانیسم‌های شکمبه وارد روده کوچک می‌شوند تجزیه شده و اسیدهای آمینه آن‌ها جذب خون می‌شود. مقدار اسیدنوکلئیک میکروبی وارد شده به روده کوچک معیاری از ساخته‌شدن پروتئین میکروبی در شکمبه می‌باشد. متابولیت‌های حاصل از تجزیه اسیدهای نوکلئیک میکروبی در روده کوچک شامل آلانتوئین، اسید اوریک، گزانتین و هیپوگزانتین می‌باشد. دفع زیادتر مشتقات پورینی در ادرار بیانگر وارد شدن مقدار بیشتر اسیدهای نوکلئیک میکروبی به روده کوچک است (11). میزان گزانتین و هیپوگزانتین ادرار گوسفندان تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت.

در تحقیق انجام شده توسط جانسون و همکاران (21) گزارش شده است که بین آلانتوئین دفعی ادرار و ماده خشک قابل هضم و ماده آلی قابل هضم ارتباط خطی وجود دارد که برای نشان دادن ارتباط بسیار محکم بین آلانتوئین دفعی ادرار و جریان نیتروژن میکروبی استفاده می‌شود، زیرا با افزایش ماده خشک قابل هضم و ماده آلی قابل هضم میزان پروتئین میکروبی وارد شده به روده باریک افزایش پیدا کرد. هم‌چنین این محققین گزارش کردند که گاو‌هایی که جیره‌های دارای کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی و پروتئین قابل تجزیه بالاتری دریافت کرده بودند، میزان جریان پروتئین میکروبی به روده باریک بیشتر بود و در این دام‌ها میزان آلانتوئین دفعی از طریق ادرار نیز بالاتر بود.

غلظت اسید اوریک در گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی نیز تحت تأثیر مقدار خرمای ضایعاتی در سیلاژ یونجه قرار گرفت ( $P < 0/05$ ). به طوری که کمترین میزان اسید اوریک دفعی در ادرار مربوط به گوسفندان تغذیه شده با جیره آزمایشی دارای سیلاژ

**جدول 5** - دفع روزانه مشتقات پورینی در ادرار گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی<sup>1</sup>  
**Table 5-** Daily urinary purine derivative excretion in sheep fed experimental diets<sup>1</sup>

مشتقات پورینی purine derivative	جیره‌های آزمایشی <sup>2</sup> Experimental diets <sup>2</sup>				SEM	Orthogonal contrasts		
	1	2	3	4		linear	quadratic	cubic
آلانتوئین دفعی ادرار (میلی‌مول در روز) Urinary allantoin excretion (mmol d <sup>-1</sup> )	6.94 <sup>c</sup>	7.29 <sup>bc</sup>	7.83 <sup>ab</sup>	8.15 <sup>a</sup>	0.49	0.39	0.99	0.93
اسید اوریک (میلی‌مول در روز) Uric acid (mmol d <sup>-1</sup> )	0.22 <sup>b</sup>	0.23 <sup>ab</sup>	0.23 <sup>ab</sup>	0.25 <sup>a</sup>	0.003	0.33	0.04	0.74
گزانتین و هیپوگزانتین (گرم در روز) Exanthin and Hypoxanthin (g d <sup>-1</sup> )	1.04	1.11	1.13	1.26	0.04	0.07	0.68	0.65
کل مشتقات پورینی (میلی‌مول در روز) Total purine derivative (mmol d <sup>-1</sup> )	8.15	9.23	9.38	9.76	0.51	0.45	0.88	0.88
کراتینین (میلی‌مول در روز) Creatinine (mmol d <sup>-1</sup> )	5.06 <sup>c</sup>	6.75 <sup>b</sup>	8.37 <sup>a</sup>	7.43 <sup>ab</sup>	0.45	0.02	0.1	0.46

<sup>1</sup> میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0/05$ ).

<sup>1</sup> Mean with different alphabets are statistically different ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> جیره‌های آزمایشی شامل: (1) جیره دارای سیلاژ یونجه بدون خرمای ضایعاتی، (2) جیره دارای سیلاژ یونجه با پنج درصد خرمای ضایعاتی، (3) جیره دارای سیلاژ یونجه با 10 درصد خرمای ضایعاتی و (4) جیره دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی.

<sup>2</sup> Experimental diets including: 1) diet content of alfalfa silage without waste date, 2) diet content of alfalfa silage with 5% waste date, 3) diet content of alfalfa silage with 10% waste date and 4) diet content of alfalfa silage with 15% waste date.

افزایش یافت.

میانگین کراتینین دفعی گوسفندان تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ( $P < 0/05$ ) و با افزودن خرمای ضایعاتی به سیلاژ یونجه به صورت یک روند خطی افزایش یافت. دلیل بالا بودن میزان کراتینین در ادرار گوسفندان تغذیه شده با جیره آزمایشی دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی می‌تواند تجزیه‌پذیری بهتر پروتئین خوراک و افزایش بازده تولید پروتئین میکروبی باشد. افزایش میزان کراتینین

به مجموع آلانتوئین، اسید اوریک، گزانتین و هیپو گزانتین مشتقات پورینی اطلاق می‌گردد. میانگین کل مشتقات پورینی در گوسفندان با افزایش مقدار خرمای ضایعاتی در سیلاژ یونجه جیره‌های آزمایشی تغییری نکرد. بیاتی‌زاده (6) گزارش کرد با افزایش مقدار تغذیه خرمای ضایعاتی در جیره، میزان دفع مشتقات پورینی در گوسفندان افزایش یافت. جاویدان (20) نیز گزارش کرد با افزایش درصد تفاله خرما در جیره‌های آزمایشی دفع کل مشتقات پورینی

انرژی می‌باشد، بنابراین تولید انرژی از تخمیر کربوهیدرات‌ها در شکمبه اولین عامل محدودکننده سنتز پروتئین میکروبی می‌باشد (28). این نتایج با نتایج سینکلر و همکاران (37) همخوانی دارد. آن‌ها گزارش کردند هم‌زمان‌سازی انرژی و پروتئین جیره، جریان پروتئین میکروبی به دوازدهم و بازده سنتز پروتئین میکروبی را افزایش می‌دهد. چامبرلین (10) در مطالعه‌ای از کربوهیدرات‌های خالص مانند ساکاروز و نشاسته در جیره استفاده کرد و گزارش نمود کربوهیدرات‌های خالص باعث افزایش ابقاء نیتروژن در شکمبه و هم‌چنین سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه می‌شود. اندازه‌گیری پروتئین میکروبی و نیتروژن آمونیاکی در شکمبه می‌تواند وضعیت متابولیسم نیتروژن در شکمبه را به‌هنگام مصرف جیره‌های آزمایشی نشان دهد. بیشتر بودن پروتئین میکروبی در گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی دارای مقدار بالاتر خرمای ضایعاتی نشان می‌دهد که این جیره‌ها در مهار تولید آمونیاک و استفاده از آن در جهت ساخت پروتئین میکروبی قدرت بیشتری داشتند. در گوسفندان تغذیه شده با جیره آزمایشی دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی بیش‌ترین مقدار پروتئین میکروبی اندازه‌گیری شد. احتمالاً فراهم بودن انرژی قابل تخمیر بیشتر برای میکروارگانیسم‌های شکمبه منجر به افزایش تولید میکروبی شده و فرآورده‌های تجزیه از جمله اسکلت کربنی و نیتروژن آمونیاکی بیشتری به مصرف میکروارگانیسم‌های شکمبه برای تولید پروتئین میکروبی رسیده است. از آن جایی‌که پروتئین میکروبی از نیتروژن میکروبی حاصل می‌شود بنابراین به‌همان نسبت تحت تأثیر قرار می‌گیرد.

دفعی هم‌چنین ممکن است، به‌دلیل افزایش جثه گوسفندها باشد. کراتینین یک محصول زائد تولیدی در عضلات اسکلتی است که از کراتین فسفات حاصل شده و میزان دفع آن همواره ثابت و وابسته به اندازه بدن است (12).

### نیتروژن و پروتئین میکروبی

نتایج مربوط به نیتروژن و پروتئین میکروبی در جدول 6 آورده شده است. میزان نیتروژن و پروتئین میکروبی سنتز شده در گوسفندان تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ( $P < 0/05$ ). نیتروژن میکروبی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت، به‌گونه‌ای که با افزایش مقدار خرمای ضایعاتی در سیلاژ یونجه جیره‌های آزمایشی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0/05$ ).

پروتئین میکروبی نیز که با استفاده از نیتروژن میکروبی به‌دست آمده تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت. با افزایش مقدار خرمای ضایعاتی در سیلاژ یونجه جیره‌های آزمایشی میزان تولید پروتئین میکروبی افزایش یافت که دلیل آن احتمالاً افزایش مقدار کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم در جیره‌های با مقادیر بالاتر خرمای ضایعاتی برای میکروارگانیسم‌های شکمبه و هم‌زمان‌سازی فراهمی انرژی و پروتئین در شکمبه است. زیرا با افزایش کربوهیدرات‌های محلول، انرژی موردنیاز باکتری‌ها تامین می‌شود، در نتیجه پروتئین جیره بهتر مورد استفاده قرار می‌گیرد و آمونیاک تولیدی توسط میکروارگانیسم‌ها استفاده شده و در نتیجه میزان پروتئین تولیدی بیشتر می‌شود (33). زمانی که مقادیر کافی نیتروژن در شکمبه وجود دارد، سنتز پروتئین میکروبی تابع قابلیت دسترسی میکروارگانیسم‌ها به

جدول 6- نیتروژن میکروبی و پروتئین میکروبی در گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی<sup>2</sup>

Table 6- Microbial protein and nitrogen of sheep fed experimental diets<sup>1</sup>

Items (g d <sup>-1</sup> )	جیره‌های آزمایشی <sup>2</sup>				SEM	Orthogonal contrasts		
	1	2	3	4		linear	quadratic	cubic
نیتروژن میکروبی Microbial nitrogen	7.09 <sup>d</sup>	7.9 <sup>c</sup>	8.53 <sup>b</sup>	9.5 <sup>a</sup>	0.49	0.37	0.99	0.84
پروتئین میکروبی Microbial protein	44.23 <sup>b</sup>	48.48 <sup>ab</sup>	49.34 <sup>ab</sup>	53.29 <sup>a</sup>	3.08	0.36	0.98	0.83

<sup>1</sup> میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0/05$ ).

<sup>2</sup> Mean with different alphabets are statistically different ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> جیره‌های آزمایشی شامل: (1) جیره دارای سیلاژ یونجه بدون خرمای ضایعاتی، (2) جیره دارای سیلاژ یونجه با پنج‌درصد خرمای ضایعاتی، (3) جیره دارای سیلاژ یونجه با 10 درصد خرمای ضایعاتی و (4) جیره دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی.

<sup>2</sup> Experimental diets including: 1) diet content of alfalfa silage without waste date, 2) diet content of alfalfa silage with 5% waste date, 3) diet content of alfalfa silage with 10% waste date and 4) diet content of alfalfa silage with 15% waste date

با جیره‌های آزمایشی در جدول 7 آورده شده است. مقدار گلوکز خون گوسفندان با افزایش مقدار خرمای ضایعاتی در سیلاژ یونجه افزایش

### فرآسنج‌های خونی

نتایج حاصل از تجزیه فرآسنج‌های خونی گوسفندان تغذیه شده



افزایش یافت. سطح کل کلسترول خون گوسفندان با افزودن خرمای ضایعاتی به سیلاژ یونجه تحت تأثیر جیره‌ای آزمایشی قرار گرفت ( $P < 0/05$ ). رنکینز و اسمیت (31) گزارش کردند افزایش غلظت کلسترول خون گوسفندان، می‌تواند نشانه کمبود انرژی در خوراک آن‌ها باشد.

نیترژن اورهای خون گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی به صورت روند خطی تغییر کرد ( $P < 0/05$ ). به این ترتیب که بیش‌ترین میزان نیترژن اورهای خون مربوط به گوسفندان تغذیه شده با جیره دارای سیلاژ یونجه بدون خرمای ضایعاتی بود. آمونیاک تولید شده به صورت غیرفعال از شکمبه و نگاری جذب می‌شود. مقدار جذب آمونیاک از دیواره شکمبه به‌طور مستقیم به غلظت آن در شکمبه و pH محتویات بستگی دارد. به نظر می‌رسد علت بالا بودن غلظت اوره خون در گوسفندان تغذیه شده با جیره دارای سیلاژ یونجه بدون خرمای ضایعاتی احتمالاً کمبود کربوهیدرات‌های قابل تخمیر در شکمبه، بالاتر بودن pH شکمبه در این جیره در مقایسه با دیگر جیره‌ها، راندمان پایین سنتز پروتئین در جیره‌های مذکور، خارج شدن آمونیاک از شکمبه و وارد شدن آن به خون باشد.

پیدا کرد ( $P < 0/05$ ). در نشخوارکنندگان، یکی از علل افزایش غلظت قند خون می‌تواند افزایش پروپیونات در شکمبه باشد (41). بنابراین بالا بودن غلظت کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم در خرمای ضایعاتی سبب افزایش غلظت پروپیونات مایع شکمبه و نهایتاً بالا رفتن قند خون در دام‌های تغذیه شده با سیلاژ یونجه حاوی 15 درصد خرمای ضایعاتی بود. هم‌چنین افزایش ماده خشک مصرفی روزانه گوسفندان تغذیه شده با جیره آزمایشی دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی نیز می‌تواند یکی از دلایل بالا بودن میزان گلوکز خون این گوسفندان باشد.

کاسیدا (8) گزارش کرد تغذیه بره‌ها با گیاه براسیکا که حاوی مقادیر بالای کربوهیدرات‌های محلول است موجب افزایش غلظت پروپیونات مایع شکمبه گردید. دایکسترا و همکاران (17) نیز گزارش کردند بالا بودن کربوهیدرات‌های قابل تخمیر و استفاده از آن‌ها باعث تحریک تولید پروپیونات در شکمبه می‌شود که در نتیجه عمل گلوکونوز (تبدیل اسیدهای چرب فرار به گلوکز) در کبد افزایش گلوکز خون صورت می‌گیرد.

با افزایش مقدار خرمای ضایعاتی در سیلاژ یونجه در جیره‌های آزمایشی، سطح تری‌گلیسیرید و پروتئین خون به‌صورت عددی

جدول 7- فرآیندهای خون در گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی<sup>1</sup>

Table 7- Blood parameters of sheep fed experimental diets<sup>1</sup>

Items	جیره‌های آزمایشی <sup>2</sup> Experimental diets <sup>2</sup>				SEM	Orthogonal contrast		
	1	2	3	4		linear	quadratic	cubic
گلوکز (میلی‌گرم در دسی لیتر) Glucose (mg dl <sup>-1</sup> )	80.5 <sup>a</sup>	81 <sup>a</sup>	87.75 <sup>b</sup>	89.5 <sup>b</sup>	1.7	0.46	0.53	0.09
پروتئین (گرم در دسی لیتر) Protein (g dl <sup>-1</sup> )	6.67	6.72	6.87	6.9	1.52	0.34	0.95	0.75
تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم در دسی لیتر) Triglycerides (mg dl <sup>-1</sup> )	21.25	22.25	23.75	29.75	0.09	0.05	0.39	0.76
کلسترول (میلی‌گرم در دسی لیتر) Cholesterol (mol L <sup>-1</sup> )	43 <sup>b</sup>	49.25 <sup>a</sup>	41.75 <sup>b</sup>	49 <sup>a</sup>	2.61	0.14	0.05	0.13
نیترژن اورهای (میلی‌گرم در دسی لیتر) BUN (mg dl <sup>-1</sup> ) <sup>3</sup>	21.12 <sup>a</sup>	17.6 <sup>b</sup>	17.42 <sup>b</sup>	16.97 <sup>b</sup>	0.76	0.03	0.21	0.5
کراتینین (میلی‌گرم در دسی لیتر) Creatinine (mg dl <sup>-1</sup> )	0.21	0.21	0.2	0.19	0.01	0.28	0.88	0.84

<sup>1</sup> میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0/05$ ).

<sup>1</sup> Mean with different alphabets are statistically different ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> جیره‌های آزمایشی شامل: 1) جیره دارای سیلاژ یونجه بدون خرمای ضایعاتی، 2) جیره دارای سیلاژ یونجه با پنج درصد خرمای ضایعاتی، 3) جیره دارای سیلاژ یونجه با 10 درصد خرمای ضایعاتی و 4) جیره دارای سیلاژ یونجه با 15 درصد خرمای ضایعاتی.

<sup>2</sup> Experimental diets including: 1) diet content of alfalfa silage without waste date, 2) diet content of alfalfa silage with 5% waste date, 3) diet content of alfalfa silage with 10% waste date and 4) diet content of alfalfa silage with 15% waste date.

<sup>3</sup> Blood urea nitrogen

افزودنی و سیلاژ یونجه حاوی اسیدفرمیک و سولفوریک (به ترتیب 15 و چهار میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک) بین نیترژن اورهای خون

به‌رگر و همکاران (7) گزارش کردند در ترکیب خون گاوهای تازه‌زای هلشتاین تغذیه شده با خوراک‌های حاوی سیلاژ یونجه بدون

سیلاژ یونجه، نیتروژن اوره ای خون بالاتر بود که علت آن را همزمان نبودن آزاد شدن انرژی و پروتئین قابل تجزیه در شکمبه بیان کردند. به طور کلی با توجه به نتایج به دست آمده، استفاده از مقدار 15 درصد خرمای ضایعاتی به سیلاژ یونجه سبب بهبود ابقاء نیتروژن و افزایش سنتز پروتئین میکروبی شد. بنابراین این فراورده فرعی می تواند به عنوان یک ماده خوراکی با ارزش در تغذیه دام مورد استفاده قرار گیرد.

تیمارها تفاوت معنی داری دیده نشد. ناجل و همکاران (26) نیز نتایجی مانند نتایج بهرگر و همکاران (7) گزارش کردند و این اثر را به بالاتر بودن انرژی در خوراک های حاوی یونجه تیمار شده با اسیدفرمیک نسبت دادند.

بالاخیال و همکاران (5) گزارش کرد در جیره های مشابه از نظر درصد پروتئین خام، غلظت نیتروژن اوره ای خون می تواند به محتوای پروتئین، RDP و یا RUP جیره های غذایی مرتبط باشد. دیمن و ستر (16) بیان کردند با جیره های دارای درصد کمتری سیلاژ ذرت در برابر

## منابع

- All-Dobaid, S. N., M. A. Mehaia and M. H. Khalil. 2009. Effect of feeding discarded date on milk yield and composition of Aradi goats. *Small Ruminant Research*, 81: 167-170.
- Ansari, A., A. Taghizadeh and H. Jan Mohammadi. 2012. Effects of different levels of *Saccharomyces Cereviciae* yeast on ruminal ecosystem and protozoa population of Ghezel sheep. *Journal of Animal Science Researches*, 22: 80-85. (In Persian)
- AOAC, 1990. Association of official analytical chemists, 1990. Official methods of analysis, 14<sup>th</sup> ed. AOAC, Washington, DC.
- Askari, F. and H. Nourozian, 2006. Nutritive value of poor date in goat nutrition. *Research and development in livestock and aquaculture*, 73:80-91. (In Persian)
- Balakhyal, A., A. A. Naserian., A. R. Heravi Mousavi and F. Eftekhar Shahroodi. 2008. Effect of Canola hay silage on milk yield performance and blood metabolites of Holstein cows in early lactation. Pages 120-125 in proc. 3<sup>rd</sup> Congress of Animal Science, Mashhad, Iran.
- Bayatzadeh, J. 2011. The effect of using of waste date on fermentation characteristics, nitrogen metabolism and performance of kermani sheep. Msc thesis in Animal science, Shahid Bahonar University of Kerman. (In Persian)
- Behgar, M., M. Danesh Mesgaran, and H. Nasiri Moghaddam. 2007. Chemical composition, dry matter and crude protein degradation of alfalfa silage treated by formic and sulfuric acid and the effect of it on Holstein dairy cows' performance. *Journal of Science and Agricultural Technologies*, 40:52-60. (In Persian)
- Cassida, K. A., B. A. Barton, R. L. Hough, M. H. Wiedenhoef, and K. Guillard. 1994. Feed Intake and apparent digestibility of Hay-Supplemented brassica diets for Lambs. *Journal of Animal Science*, 72:1623-1629.
- Castillo, A. R., E. Kebreab, D. E. Beever, J. H. Barbi, J. D. Sutton, H. C. Kirby, and J. France. 2001. The effect of protein supplementation on nitrogen utilization in lactating dairy cows fed grass silage diets. *Journal of Animal Science*, 79:247-252.
- Chamberlain, D. G., S. Robertson, and J. J. Choung. 1993. Sugars versus starch as supplements to grass silage: effects on ruminal fermentation and the supply of microbial protein to the small intestine, estimated from the urinary excretion of purine derivatives, in sheep. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 63:189-194.
- Chen, X. B., F. D. Hovell, E. R. Orskov, and D. S. Brown. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants: effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivative excretion by sheep. *British Journal of Nutrition*, 63: 131-142.
- Chen, X.B., and M. J. Gomes. 1995. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – An over view of the technical details, Occasional Publication, Rowett Research Institute, Aberdeen, UK. 1-21
- Dayani, O., M. M. Sharifi Hosseini and E. Mohebbi. 2009. Using fibrous agriculture by products in feeding ruminants. Khadamat Farhangie Kerman publication. (In Persian)
- Eckard, R. J., C. Grainger, C. A. M. de Klein. 2010. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production. *Livestock Science*, 130: 47-56.
- Elhampour, E. 2003. Investigation of the status of Iranian date production and exports. Planning and Agricultural Economics Research Institute.
- Dhiman, T. R., and L. D. Satter. 1997. Yield response of dairy cows fed different proportions of alfalfa silage and corn silage. *Journal of Dairy Science*, 80: 2069-2089.
- Dijkstra, J., J. L. Ellis, E. Kebreab, A. B. Strathe, Secundino López, J. France, and A. Bannink. 2012. Ruminant pH regulation and nutritional consequences of low pH. *Animal Feed Science and Technologies*, 172: 22-33.
- Forsberg, C.W., Lovelock, L. K. A., Krumholz, L. and J. G Buchanan-Smith. 1984. Protease activity of rumen protozoa. *Applied Environmental Microbiology*, 47: 101-110

- 19- Henderson, G., C. S. Stewart, F.V. Nekrep. 1981. The effect of monensin on pure mixed cultures of rumen bacteria. *The Journal of applied bacteriology*, 51:159-169.
- 20- Javidan, S. 2012. Study of variation of microbial protein synthesis and nitrogen balance on sheep fed the different levels of date pulp. Msc thesis in animal science, Shahid Bahonar University of Kerman. (In Persian)
- 21- Johnson, L.M., J.H. Harrison, and R.E. Riley. 1998. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. *Journal of Dairy Science*, 81(9): 2408-2420.
- 22- Marini, J. C., J. D. Klein, J. M. Sands and M. E. Van Amburgh. 2004. Effect of nitrogen intake on nitrogen recycling and urea transporter abundance in lambs. *Journal of Animal Science*, 82: 1157-1164.
- 23- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, and C. A. Morgan. 2002. *Animal Nutrition*. Longman, London, UK, pp. 451-466.
- 24- Misselbrook, T. H., J. M. Powell, G. A. Broderick and J. H. Grabber. 2005. Dietary manipulation in dairy cattle: laboratory experiment to assess the influence on ammonia emissions. *Journal of Dairy Science*, 88: 1765-1777.
- 25- Moharreri, A. and H. Noorian. 2012. Effect of monensin supplement on performance, digestibility and nitrogen excretion of sheep. *Iranian Journal of Animal Science*, 4:465-479. (In Persian).
- 26- Nagel, S. A. and G. A. Broderick. 1992. Effect of formic acid or formaldehyde treatment of alfalfa silage on nutritive. *Journal of Dairy Science*, 75:140-154.
- 27- Nasserian, A. A., H., Gholizadeh, and A. Bohloli. 2010. The effect of addition of corn silage to alfalfa silage on chemical composition, physical characteristics and gas production. Pages 385-392 in 4<sup>th</sup> Iranian Congress on of Animal Science. (In Persian)
- 28- Obara, Y., D. W. Dellow, and J. V. Nolan. 1991. The influence of energy on nitrogen kinetics in ruminants. In: *Physiological Aspects and Digestion and Metabolism in Ruminants*. T. Tsuda, Y. Sasaki and R. Kawashima (Eds), Academic Press, Sydney. pp. 515-539.
- 29- Ogimoto, K. and S. Imai. 1981. *Atlas of rumen microbiology*. Japan Scientific press, Tokyo, Japan.
- 30- Peltekova, V. D., and G. A. Broderick. 1996. In vitro ruminal degradation and synthesis of protein on fractions extracted from alfalfa hay and silage. *Journal of Dairy Science*, 79:612-619.
- 31- Rankins, J. R., D. L., and G. S. Smith. 1991. Nutritional and toxicological evaluations of kochia hay (*Kochia scoparia*) fed to lams. *Journal of Animal Science*, 69:2925-2931.
- 32- Russell, J. B., J. D. O'Connor, D.G. Fox, P. J. Van Soest and C. J. Sniffen. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *Journal of Animal Science*, 70:3551-3561.
- 33- Russell, J. B. and J. L. Rychlik. 2001. Factors that alter rumen microbial ecology. *Journal of Dairy Science*, 292: 1119-1122.
- 34- SAS, 2005. *SAS User's Guide*. SAS Institute Inc. Version 9. 1. Cary, NC, USA.
- 35- Shaban, M. V. and M. Bashtani, 2013. The comparison of chemical composition and feed value of sorghum hay with two different ensiling methods by gas test and nylon bag method. *Researches in animal and poultry*, 2:41-49 (In Persian).
- 36- Shakeri, P., A. Riasi, M. Alikhani, G. R Ghorbani, and H. Fazaeli. 2011. The effects of pistachio by-product silage feeding on microbial protein synthesis and kidneys function of holstein fattening bulls. *Journal of Animal Science Researches*, 21(3): 97-110 (In Persian).
- 37- Sinclair, L. A., P. C. Garnsworthy, J. R. Newbold, and P. J. Buttery, 1995. Effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release in diets with a similar carbohydrate composition on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. *The Journal of Agricultural Science*, 120:251-263.
- 38- Taghizadeh, A., S. Alizadeh and A. Nobakht. 2010. Survey the effect of lasalocid ruminal characteristics, blood parameters and performance of Ghezel lambs. *Journal of Animal Science Researches*, 4(1). (In Persian)
- 39- Vakili, A. R., M. Danesh Mesgaran and H. Nassiri Moghaddam. 2009. Chemical composition, dry matter and protein degradation characteristics of alfalfa silage of treated by Hydrochloric acid and urea and its effect on production of lactating Holstein dairy cow. *Journal of Animal Science Researches*, 1(2):58-69. (In Persian).
- 40- Van Horn, H. H., G. L. Newton, and W. E. Kunkle. 1996. Ruminant nutrition from an environmental perspective: factors affecting whole-farm nutrient balance. *Journal of Animal Science*, 74, (12): 3082-3102
- 41- Van Soest, P. J., 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- 42- Van Soest, P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-359.
- 43- Williams, A. G, and G. S. Coleman, 1988. The rumen protozoa. Pages 77-128 in: *The rumen microbial ecosystem*. P. N. Hosbon, ed. Elsevier Science Publishing Co. Inc., New York, NY.

## The Effect of Feeding Ensiled Alfalfa with Different Levels of Waste Date on Rumen Protozoal Population, Microbial Protein Synthesis and Blood Parameters in Kermani Sheep

R. Rajabi Aliabadi<sup>1</sup>- Reza Tahmasbi<sup>2\*</sup> - Omid Dayani<sup>3</sup>- Amin Khezri<sup>4</sup>

Received: 8-6-2015

Accepted: 5-3-2016

**Introduction** Ensiling is less dependent to weather condition and farmers are trying to ensile forages for preserving them for livestock feeding. Ensiling legumes because of their buffering capacity and high moisture content are difficult. Also, ensiling alfalfa will lose up to %85 of its nitrogen content as non-protein nitrogen. Adding some additives like carbohydrate sources will improve alfalfa silage quality and its physical characteristics. There are some agricultural byproducts which can be used in animal feeding. Waste date is being produced annually in Iran and it can be used as carbohydrate source during alfalfa ensiling. This experiment was conducted to investigate ensiling alfalfa with different levels of waste date and its feeding effect on rumen protozoa population, microbial protein synthesis and blood parameters in Kermani sheep.

**Materials and method** Eight rams ( $47 \pm 2$  kg BW) were used in a 2×2 change over design experiment. Each experimental period was conducted for 21 days (16 days for adaptation and 5 days for sampling). For ensiling, fresh alfalfa with different levels of waste date (0, 5, 10 and %15) were mixed together and ensiled in 100 L containers for 45 days. After opening chemical compositions of silages such as dry matter, crude protein, ammonia nitrogen, crude fat, organic matter, ash, NDF, ADF and pH were determined according to standard methods. Then, it was used %30% of diet in experimental diets as: 1) control diet (alfalfa silage without waste date); 2) alfalfa silage with 5% waste date; 3) alfalfa silage with 10% waste date and 4) alfalfa silage with 15% waste date. Treatment diets were mixed and fed as a TMR at 0800 and 1700 h. Amount of the TMR offered was recorded, and treatment diets were sampled daily for the last 5 d of each period. Orts were weighed, recorded, and sampled according to the same procedures followed for the treatment diets. Urine samples were acidified during collection to a pH <3.0 by addition of 2 M sulfuric acid. Aliquots were diluted 1:10 with distilled water, stored frozen at  $-20^{\circ}$  C, and later analyzed for N, allantoin and uric acid. The amount of microbial purines absorbed was calculated from purine derivative excretion. A blood sample (about 10 mL) was collected from a jugular vein into tubes containing 12 mg of EDTA, and plasma was separated by centrifugation at  $500 \times g$  for 10 min and stored at  $-20^{\circ}$ C until analysis of plasma glucose, protein, triglyceride, cholesterol, urea N and creatinine. Statistical analysis was performed using the GLM procedure of SAS software. Data were analyzed using the model  $Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + C_k + e_{ijk}$ . Treatments means were statistically compared by the new multiple range test of Duncan.

**Results and Discussion** The results of this experiment showed that total protozoal population and all of holotrich, cellulolytic and entodinium species in rumen fluid were increased linearly by increasing the level of waste date during ensiling alfalfa. Also, the nitrogen and microbial protein, cholesterol level, blood glucose and blood urea nitrogen were significantly different and triglyceride was tended to be significant. Higher amount of easily fermentable carbohydrates in waste date might increase propionate in rumen fluid and therefore increases blood glucose level in animals which fed diet containing alfalfa silage plus %15 waste date. The highest blood urea nitrogen was achieved in control diet and it might be due to lower fermentable carbohydrate, higher rumen pH and lower efficiency of microbial protein synthesis. Protozoa populations tended to be increased linearly with increasing level of waste date in the diets ( $P < 0.05$ ) which might be due to higher dry matter intake. Nitrogen intake, urine excretion of N, and nitrogen retention were affected by treatments. With regards to N utilization, N excretion and N retention should reflect differences in N metabolism, because N retention was the most important index of the protein nutrition status of ruminants. The microbial N supply calculated from purine derivative excretion were from 44.23 to 53.29 g of N/d. The efficiency of rumen microbial protein synthesis was increased as level of waste date increased during ensiling which might be due to higher level of rapidly

1-MSc, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran,  
2- Assistant Professor of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran,  
3- Professor of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran,  
4- Associate Professor of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.  
(\*Corresponding Author Email: rtahmasb@uk.ac.ir)

fermentable carbohydrates in diets containing higher level of waste date. By increasing soluble carbohydrates microbes are able to access energy more efficiently and therefore rumen microbes will be able to utilize protein of diet more efficiently.

**Conclusion** In conclusion, using %15 of waste date during ensiling alfalfa improved nitrogen retention and increased microbial protein synthesis.

**Key word:** Alfalfa silage, Blood parameters, Microbial protein synthesis, Waste date.