



## تولیدات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۶

صفحه‌های ۳۳۶-۳۳۱

# بررسی تأثیر عمل‌آوری کود مرغی با سطوح مختلف تانن استخراج‌شده از پوست انار بر فعالیت هضمی و تخمیری میکروارگانیزم‌های شکمبه گاو در شرایط برون‌تنی

افروز شریفی<sup>۱</sup>، مرتضی چاجی\*<sup>۲</sup>، سیدعلیرضا وکیلی<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی دکتری تغذیه‌دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ملائانی، ایران

۲. دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ملائانی، ایران

۳. دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۱۱/۰۶

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۵/۰۹/۱۳

### چکیده

به‌منظور بررسی اثر عمل‌آوری کود مرغی با تانن استخراج‌شده از پوست انار بر قابلیت هضم و تخمیر، رشد باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل افزودن سطوح صفر (تیمار شاهد)، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درصد عصاره تاننی به کود مرغی بود. حجم گاز و پتانسیل تولید گاز به ترتیب تا سطح ۲۰ و ۱۵ درصد عصاره بین تیمارها مشابه بود. نرخ تولید گاز در تیمارهای حاوی ۲۰ و ۳۵ درصد عصاره کم‌ترین ( $P < 0/05$ )، اما در سایر تیمارهای آزمایشی تفاوتی نداشت. با افزایش مقدار عصاره تاننی در جیره، ضریب تفکیک، تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی افزایش؛ اما غلظت نیتروژن آمونیاکی کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). بیشترین و کم‌ترین قابلیت هضم پروتئین خام به ترتیب با افزودن ۱۵ و ۳۵ درصد عصاره به کود مرغی به دست آمد ( $P < 0/05$ ). در محیط کشت اختصاصی باکتری‌ها، قابلیت هضم ماده خشک و غلظت نیتروژن آمونیاکی سه روز پس از انکوباسیون با افزایش میزان عصاره کاهش یافت ( $P < 0/05$ )؛ اما در محیط کشت اختصاصی قارچ‌ها، قابلیت هضم ماده خشک در زمان‌های مورد بررسی تحت تأثیر قرار نگرفت. بر اساس نتایج حاصل عمل‌آوری کود مرغی با تانن استخراج‌شده از پوست انار تا سطح ۲۵ درصد، اثر مثبتی بر هضم و تخمیر کود مرغی دارد و ممکن است متابولیسم نیتروژن در دستگاه گوارش نشخوارکنندگان را بهبود بخشد.

کلیدواژه‌ها: باکتری شکمبه، عصاره تانن‌دار، فراسنجه‌های تخمیر، قابلیت هضم، قارچ‌های شکمبه، نیتروژن آمونیاکی.

## مقدمه

شرایط آب و هوایی خشک و نیمه‌خشک و کمبود منابع آبی در برخی کشورها منجر به کاهش کمی و کیفی خوراک‌های دامی شده است. به‌منظور جبران این کمبود، بهره‌برداری مناسب از پس‌ماندها و تولیدات جانبی دامی یا کشاورزی به‌عنوان خوراک دام مانند کود مرغی منجر به بهبود شرایط برای تولید محصولات دامی می‌شود [۴]. ارزش تغذیه‌ای کود مرغی به‌عنوان خوراک دام بیشتر به دلیل پروتئین خام و مواد معدنی آن است [۶]. این فرآورده دارای پروتئین قابل تجزیه زیادی در شکمبه بوده که می‌توان به‌عنوان مکملی برای خوراک‌های کم پروتئین از آن بهره جست [۶]. از دیگر مزایای این فرآورده فرعی غنای مواد معدنی قابل دسترس آن برای دام است [۶]. استفاده صحیح از کود مرغی در تغذیه دام آلودگی‌های زیست محیطی را کاهش داده و راهی مناسب برای مدیریت بهینه استفاده از آن محسوب می‌شود [۶]. مهم‌ترین محدودیت استفاده از کود مرغی در جیره حیوانات، تجمع بیش از حد مواد معدنی پر مصرف، مواد معدنی کم مصرف، عناصر سنگین، داروها، حشره‌کش‌ها، هورمون‌ها و میکروارگانسیم‌های مضر قابل انتقال است؛ اما برای حذف عوامل بیماری‌زا و بهبود خوشخوراکی آن از روش‌های مختلف فرآوری استفاده می‌شود [۴].

با توجه به این که پروتئین، گران‌قیمت‌ترین ماده مغذی در تغذیه دام است، کود مرغی یک منبع پروتئینی ارزان قیمت بوده و استفاده از آن در جیره، قیمت تمام شده را نیز کاهش می‌دهد [۶]. کل پروتئین خام کود مرغی ۲۳/۸ درصد ماده خشک است که حدود ۴۵ درصد از پروتئین خام آن نیتروژن غیرپروتئینی است که به سرعت توسط میکروارگانسیم‌های شکمبه تجزیه می‌شود و بقیه آن (۵۵ درصد پروتئین خام) پروتئین حقیقی است [۴]. بخش عمده نیتروژن دفعی نشخوارکنندگان از طریق ادرار است که این اتلاف به‌طور عمده ناشی از تجزیه نامطلوب شکمبه‌ای

نیتروژن به‌ویژه بخش محلول آن است [۸]. بنابراین، یافتن راهکارهایی برای کاهش دفع نیتروژن ادراری در نشخوارکنندگان ضروری است. به‌علاوه، با افزایش سطح تولید، نیاز دام‌های نشخوارکننده به منابع پروتئین عبوری که به‌طور عمده گران‌قیمت هستند، افزایش می‌یابد [۸].

پوست انار یکی از محصولات فرعی کارخانه‌های آب میوه‌گیری بوده که میزان تولید سالانه آن در ایران حدود ۱۲۲ هزار تن است [۹]. این پسماند دارای مقادیر زیادی تانن بوده که ممکن است با کاهش تجزیه پروتئین از طریق تشکیل کمپلکس‌های نامحلول تانن-پروتئین و کاهش حلالیت پروتئین، متابولیسم پروتئین در شکمبه را بهبود بخشد [۹]. کاهش نرخ تجزیه شکمبه‌ای پروتئین در حیوانات تغذیه شده با تانن منجر به کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه و با افزایش تولید توده میکروبی سبب افزایش بازده متابولیسم نیتروژن در بدن می‌شود [۸]. مطالعات مختلفی در زمینه استفاده از ترکیبات فنولیک، به‌ویژه تانن‌ها به‌عنوان افزودنی خوراکی برای کاهش تجزیه‌پذیری مواد پروتئینی در شکمبه و بهبود بازده آن صورت گرفته است. آثار سودمند تانن‌ها با کاهش نرخ تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه و عبوری کردن بخشی از آن به روده برای هضم و جذب بهتر گزارش شده است [۱۰].

با وجود تلاش‌های انجام شده درباره تغذیه خوراک‌های حاوی تانن در نشخوارکنندگان [۹]، اطلاعاتی درباره کاهش میزان تجزیه‌پذیری محتوای پروتئینی کود مرغی با عصاره تاننی به‌عنوان عامل باند شونده با پروتئین در شکمبه نشخوارکنندگان در دست نیست. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر عمل‌آوری کود مرغی با سطوح مختلف تانن استخراج شده از پوست انار بر فراسنجه‌های هضمی و تخمیری آن با مخلوط جمعیت میکروبی و یا توسط مخلوط باکتری‌ها و قارچ‌های بی‌هوازی جداسازی شده از شکمبه گاو هلشتاین در شرایط برون‌تنی بود.

## تولیدات دامی

بررسی تأثیر عمل‌آوری کود مرغی با سطوح مختلف تانن استخراج‌شده از پوست انار بر فعالیت هضمی و تخمیری میکروارگانیسم‌های

## مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان انجام شد. کود مرغی عمل‌آوری شده به صورت آسیاب و بسته‌بندی شده از کارخانه عمل‌آوری تهیه شد. به‌منظور کاهش بار میکروبی و سالم‌سازی، کود مرغی در کارخانه با فرآیند حرارتی ویژه‌ای، شامل حدود ۲۳ درصد رطوبت‌دهی و سپس پخت توسط فشار بخار آب در دیگ‌های مخصوص در درجه حرارت ۷۵-۸۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه عمل‌آوری شده بود.

پوست انار تازه نیز به مقدار مورد نیاز از استان خوزستان (شهرستان باغملک) تهیه شد. روش عصاره‌گیری ترکیبات فنولیک پوست انار به این صورت بود که ابتدا پوست انار خشک شده در آفتاب، توسط آسیاب دارای الک‌های با اندازه منافذ ۰/۵ میلی‌متری آسیاب شد و به مدت ۲۴ ساعت با نسبت ۱ به ۱۰ (پوست انار به آب) در آب خیسانده شد. به‌منظور جداسازی پوست انار، عصاره

بدست آمده از دو لایه پارچه متقال عبور داده شد. در مرحله دوم، به‌منظور افزایش غلظت تانن در عصاره فیلتر شده، عصاره تحت حرارت ۹۵ درجه سلسیوس قرار گرفت [۸]. کل ترکیبات فنولیک و کل تانن عصاره اندازه‌گیری شد [۱۱]. ترکیب شیمیایی عصاره تاننی و کود مرغی در جدول ۱ نشان داده شده است.

کود مرغی آزمایش‌شده با سطوح صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درصد ماده خشک با عصاره تاننی عمل‌آوری شد. برای این منظور، به دلیل زیاد بودن ماده خشک عصاره تاننی، نحوه افزودن سطوح مختلف آن به کود مرغی به این صورت بود که نخست مقادیر مورد نیاز عصاره با حجم مشابهی از آب رقیق شد و به میزان کود مرغی مورد نظر اضافه شد. سپس، کود مرغی حاوی عصاره به مدت ۴۸ ساعت در آن با دمای ۵۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا خشک شود.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی کود مرغی و عصاره تاننی استخراج‌شده از پوست انار<sup>۱</sup>

عصاره تاننی	کود مرغی	ترکیب شیمیایی
۸۷/۵	۹۰/۰	ماده خشک (درصد)
۷۴/۷	۸۵/۳	ماده آلی (درصد)
۲۰/۳	۲۲/۴	پروتئین خام (درصد)
۲۵/۳۰	۱۴/۷۰	خاکستر (درصد)
-	۴۰۲	نیترژن غیرپروتئینی (گرم در کیلوگرم نیترژن)
-	۵۹۸	پروتئین حقیقی (گرم در کیلوگرم پروتئین خام)
۷/۵۰	۳۵/۰	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)
۵/۷۵	۱۹/۵	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)
۱۵/۱	-	کل ترکیبات فنولیک (درصد)
۱۱/۱	-	کل تانن (درصد)

۱ اعداد موجود در جدول، میانگین‌های محاسبه شده برای چهار تکرار است.

## تولیدات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۶

$$P = b(1 - e^{-ct}) \quad (1)$$

در این رابطه،  $P$  مقدار گاز تولیدی (میلی لیتر) در زمان، فراسنجه  $b$  گاز تولیدی از بخش قابل تخمیر (میلی لیتر)،  $c$  نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت) و  $t$  زمان انکوباسیون بر حسب ساعت است.

به منظور تعیین سایر فراسنجه‌های تخمیر، پس از ثبت گاز تولیدی هر ویال پس از ۱۲۰ ساعت، درب ویال‌ها باز شد و pH آن‌ها توسط دستگاه pH متر (Metrohm مدل ۷۴۴، سوئیس) اندازه‌گیری شد. محتوای هر ویال با دور ۱۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و در آن خشک شد. از اختلاف وزن سوسترای اولیه و وزن بقایا پس از انکوباسیون، میزان قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک محاسبه شد [۱۲]. برای اندازه‌گیری غلظت نیتروژن آمونیاکی، نمونه‌های محلول بالای (پنج میلی لیتر) بلافاصله با یک میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند، غلظت نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از روش فنول هیپوکلریت اندازه‌گیری شد [۵]. ضریب تفکیک، ماده آلی واقعاً تجزیه شده، تولید توده میکروبی، بازده تولید توده میکروبی نمونه‌ها با استفاده از رابطه‌های ۲ تا ۵ برآورد شد [۱۲].

مایع شکمبه قبل از خوراک‌دهی و عده صبح توسط پمپ خلاء از دو رأس گاو هلشتاین که با جیره حاوی ۶۰ درصد علوفه و ۴۰ درصد کنسانتره (جیره حاوی ۴۰ درصد کاه گندم، ۱۰ درصد ذرت سیلو شده، ۱۰ درصد یونجه، ۲۷ درصد دانه ذرت، ۱۱ درصد سبوس گندم، ۰/۹ درصد اوره، ۰/۵۵ درصد کربنات کلسیم، ۰/۲۵ درصد نمک و ۰/۳۰ درصد مکمل مواد معدنی-ویتامینی بود) به مدت دو هفته در سطح نگهداری تغذیه شده بودند، جمع‌آوری شد و بلافاصله توسط چهار لایه پارچه نخی صاف و در دمای ۳۹ درجه سلسیوس به سرعت به آزمایشگاه انتقال داده شد. برای حصول اطمینان از شرایط بی‌هوازی، گاز دی‌اکسید کربن به مایع شکمبه صاف شده تزریق شد و در حمام آب گرم با دمای ۳۹ درجه سلسیوس نگهداری شد [۱۴]. مقدار تولید گاز تیمارهای آزمایشی (با اندازه ذرات یک میلی متر؛ هشت تکرار به ازای هر تیمار) در ویال‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی لیتری که حاوی نیم گرم نمونه، ۳۰ میلی لیتر بزاق مصنوعی و ۱۰ میلی لیتر مایع شکمبه بودند [۱۲]، اندازه‌گیری شد. گاز تولیدی در ویال‌ها توسط دستگاه فشارسنج دیجیتال در زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از انکوباسیون تعیین شد. برای تعیین فراسنجه‌های تولید گاز از معادله‌نمایی (رابطه ۱) [۱۹] در نرم‌افزار آماری SAS [۲۲] استفاده شد.

(۲)

(میلی لیتر گاز تولیدی تا زمان ۲۴ ساعت) ÷ (میلی گرم ماده آلی واقعاً تجزیه شده) = ضریب تفکیک (میلی گرم بر میلی لیتر)

(۳)

(خاکستر ماده باقیمانده) - (ماده باقیمانده در پایان آزمایش تولید گاز، جوشانده شده با محلول شوینده خنثی) = ماده آلی واقعاً تجزیه شده (میلی گرم)

(۴)

(میلی لیتر گاز تولیدی × ضریب استوکیومتری) - (میلی گرم ماده آلی واقعاً تجزیه شده) = تولید توده میکروبی (میلی گرم)

(۵)

۱۰۰ × [(میلی گرم ماده آلی واقعاً تجزیه شده) - تولید توده میکروبی (میلی گرم)] = بازده تولید توده میکروبی (درصد)

## تولیدات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۶

قابلیت هضم آزمایشگاهی مواد مغذی در تیمارهای آزمایشی بر اساس روش هضم دو مرحله‌ای تعیین شد [۲۵]. به این صورت که نخست نیم گرم نمونه خوراکی در لوله‌های آزمایش ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۴۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی و ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه (به نسبت چهار به یک) به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۹ درجه سلسیوس انکوبه شد. در مرحله بعد، بقایای حاصل به مدت ۴۸ ساعت دیگر در دمای ۳۹ درجه سلسیوس در معرض محلول اسید کلریدریک-پپسین قرار گرفتند. در نهایت، قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی اندازه‌گیری شد [۲۶].

پس از تحلیل نتایج آزمایش‌ها تولید گاز و هضم دو مرحله‌ای، بهترین تیمارهای آزمایشی انتخاب شدند (شامل تیمارهای حاوی ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درصد عصاره تاننی) و تأثیر آن‌ها بر رشد باکتری‌ها و قارچ‌های شکمبه گاو هلشتاین در محیط کشت اختصاصی در مقایسه با تیمار شاهد، بررسی شد. ابتدا شیشه‌های کشت حاوی یک گرم نمونه آزمایشی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس اتوکلاو شد. برای بررسی تأثیر تیمارها روی رشد باکتری‌ها، مایع شکمبه سانتریفیوژ شده (۱۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه) و مایع شفاف رویی آن در شرایط بی‌هوازی به محیط کشت اختصاصی باکتری‌های شکمبه [۲۱] که حاوی سلوبیوز، سولفید سدیم، کربنات سدیم، قارچ کش (بنومیل و متالاکسیل)، سیستین-اسیدکلریدریک، پپتون، تریپتیکاز و مخلوط عصاره مخمر بود، اضافه شد. میزان ۳۶ میلی‌لیتر از این محلول و چهار میلی‌لیتر مایع شکمبه به‌عنوان محیط کشت به هر شیشه کشت تلقیح شد. سپس نمونه‌ها در انکوباتور با دمای ۳۹ درجه سلسیوس به مدت سه روز کشت داده شدند. در پایان روزهای اول، دوم و سوم انکوباسیون، به‌منظور تعیین قابلیت هضم ماده خشک و

غلظت نیتروژن آمونیاکی سه تکرار به ازای هر تیمار در نظر گرفته شد. در زمان‌های مذکور، نخست نمونه‌گیری از مایع شکمبه برای تعیین نیتروژن آمونیاکی انجام گرفت. سپس محتوی شیشه‌ها صاف شد و بقایا پس از خشک شدن در آون، توزین شدند. در نهایت، مقدار ناپدید شدن ماده خشک توسط باکتری‌ها اندازه‌گیری شد.

برای بررسی تأثیر تیمارها بر رشد قارچ‌های شکمبه، تیمارهای آزمایشی به همراه این میکروارگانسیم‌ها در محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه [۱۷] در دمای ۳۹ درجه سلسیوس به مدت شش روز کشت داده شدند. در پایان روزهای یک، سه و شش انکوباسیون، برای تعیین قابلیت هضم ماده خشک و غلظت نیتروژن آمونیاکی، سه تکرار به ازای هر تیمار بررسی شدند. محیط کشت قارچ‌های شکمبه شامل محلول نمکی یک (فسفات هیدروژن دی پتاسیم در لیتر آب مقطر)، محلول نمکی دو (فسفات هیدروژن پتاسیم، سولفات آمونیوم، کلرید سدیم و کلرید کلسیم در لیتر آب مقطر)، مایع شکمبه (سانتریفیوژ شده)، عصاره مخمر، پپتون، تریپتیکاز، گلوکز، سلوبیوز، بی‌کربنات سدیم، سیستین-اسیدکلریدریک و رزازورین ۰/۱ درصد برای هر لیتر محیط کشت بود. محیط کشت در شرایط بی‌هوازی به داخل ویال‌های کشت منتقل شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس اتوکلاو شد. به این ترتیب محیط کشت اختصاصی قارچ آماده شد. مخلوط قارچی تهیه شده به‌عنوان مایع تلقیحی (برای تهیه مایع تلقیحی قارچ‌های شکمبه، نمونه‌های گاه در شکمبه دام دارای فیستولا کیسه‌گذاری شدند و به‌عنوان منبع قارچ‌های بی‌هوازی در محیط کشت قارچ‌های شکمبه تحت گاز دی‌اکسیدکربن قرار گرفتند و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ایزوله‌های قارچ حاصل شدند) در شیشه‌های کشت حاوی محیط کشت اختصاصی قارچ به همراه نمونه‌های آزمایشی و آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین،

## تولیدات دامی

پروتئین حقیقی است [۴]. کود مرغی مورد آزمایش دارای کیفیت مناسبی برای استفاده به عنوان منبع پروتئین در خوراک نشخوارکنندگان بود، زیرا گزارش شده است که این پسماند زمانی قابل استفاده است که دارای ۲۰-۳۰ درصد پروتئین خام باشد [۴]. افزایش مقدار عصاره تاننی پوست انار منجر به افزایش عددی درصد خاکستر شد، زیرا خود عصاره حاوی خاکستر است (جدول ۱).

کل ترکیبات فنولیک و کل تانن عصاره مورد استفاده در این آزمایش بیشتر از عصاره به دست آمده توسط سایرین (۶/۵ درصد کل ترکیبات فنولی و ۵/۶ درصد کل تانن) بود [۱]. احتمالاً تفاوت در نوع واریته انار مورد استفاده و نیز شرایط محل کشت دلیل آن است. در آزمایشی دیگر با روشی مشابه، ترکیبات فنولیک و تانن پوست پسته را استخراج کردند که مقادیر به دست آمده در آزمایش آن‌ها (۱۱/۲ درصد کل ترکیبات فنولی و ۷/۱ درصد کل تانن) قابل مقایسه با نتایج این تحقیق بود [۸].

همان طوری که در جدول ۲ نشان داده شده است با افزایش مقدار عصاره در کود مرغی، درصد ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی کاهش یافت که این کاهش برای پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی معنی دار بود. با توجه به کم تر بودن غلظت این ترکیبات در عصاره نسبت به کود مرغی این کاهش طبیعی به نظر می‌رسد (جدول ۱).

فراسنجه‌های تولید گاز در جدول ۳ ارائه شده است. پتانسیل تولید گاز هنگام استفاده از سطوح بیش از ۱۵ درصد عصاره کاهش یافت ( $p < 0/05$ ). کمترین نرخ تولید گاز در تیمارهای حاوی ۳۵ درصد عصاره مشاهده شد و از این نظر با سایر تیمارها تفاوت داشت ( $p < 0/05$ ). پس از ۱۲۰ ساعت انکوباسیون، کمترین حجم گاز تولیدی در تیمارهای حاوی ۳۰ و ۳۵ درصد عصاره مشاهده شد ( $p < 0/05$ ).

استرپتومایسن و کلرامفنیکل، هر کدام به مقدار ۰/۱ گرم در لیتر) کشت داده شدند و برای به دست آوردن محیط کشت خالص سه مرحله عمل کشت تکرار شد. میزان ناپدید شدن ماده خشک و غلظت نیتروژن آمونیاکی تیمارهای آزمایشی انکوبه شده توسط قارچ‌ها تعیین شد [۳ و ۱۱].

ترکیب شیمیایی کود مرغی، عصاره تاننی و تیمارهای آزمایشی بر اساس روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد [۳]. برای اندازه‌گیری پروتئین حقیقی کود مرغی، از اسید تانگستیک به عنوان عامل رسوب دهنده پروتئین استفاده شد و مقدار پروتئین رسوب کرده معادل پروتئین حقیقی بود. غلظت نیتروژن غیر پروتئینی کود مرغی از اختلاف مقدار پروتئین خام با پروتئین حقیقی محاسبه شد. برای تخمین میزان کل ترکیبات فنولیک در عصاره تاننی مورد استفاده، از معرف فولین-شیوکالتو استفاده شد که نتایج به صورت معادل اسید تانیک (به عنوان استاندارد) بیان شد [۱۱]. برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک غیر تاننی از پلی‌وینیل‌پلی‌پیرولیدون استفاده شد. این ماده میل ترکیبی شدیدی برای باند شدن با تانن دارد. میزان کل تانن از اختلاف کل ترکیبات فنولیک و کل ترکیبات فنولیک غیر تاننی به دست آمد [۱۱].

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS ویرایش ۸/۲ رویه مدل خطی عمومی [۲۲] طبق مدل رابطه ۶ تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح معناداری پنج درصد مقایسه شدند.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad (6)$$

که در این مدل،  $Y_{ij}$ ،  $\mu$ ،  $T_i$  و  $e_{ij}$  به ترتیب مقدار مشاهده شده هر صفت، میانگین جامعه، اثر تیمار آزمایشی  $i$  ام و اثر خطای آزمایشی هستند.

## نتایج و بحث

کود مرغی مورد استفاده در این آزمایش (جدول ۱) حاوی ۲۲/۴ درصد پروتئین خام بود که ۵۹/۸ درصد آن

## تولیدات دامی

بررسی تأثیر عمل‌آوری کود مرغی با سطوح مختلف تانن استخراج‌شده از پوست انار بر فعالیت هضمی و تخمیری میکروارگانیسم‌های

جدول ۲. ترکیب شیمیایی کود مرغی عمل‌آوری شده با سطوح مختلف عصاره تاننی استخراج‌شده از پوست انار

P value	SEM	تیمارهای آزمایشی (درصد عصاره در کود مرغی)								ترکیب شیمیایی (درصد)
		شاهد	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	
۰/۴۵۷	۰/۸۹۹	۸۷/۸	۸۷/۹	۸۸/۴	۸۸/۵	۸۹/۴	۸۹/۷	۸۹/۹	۹۰/۰	ماده خشک
۰/۹۹۹	۳/۶۰	۸۲/۶	۸۳/۱	۸۳/۶	۸۳/۶	۸۴/۶	۸۴/۷	۸۴/۷	۸۵/۳	ماده آلی
۰/۰۸	۰/۶۷۱	۱۷/۴	۱۶/۹	۱۶/۴	۱۶/۴	۱۵/۴	۱۵/۳	۱۵/۳	۱۴/۷	خاکستر خام
۰/۰۱۶	۰/۴۸۴	۱۹/۹ <sup>c</sup>	۲۰/۲ <sup>bc</sup>	۲۰/۸ <sup>ab</sup>	۲۰/۹ <sup>ab</sup>	۲۱/۱ <sup>ab</sup>	۲۱/۲ <sup>ab</sup>	۲۱/۳ <sup>ab</sup>	۲۲/۴ <sup>a</sup>	پروتئین خام
<۰/۰۱	۰/۳۹۸	۲۷/۴ <sup>d</sup>	۲۸/۸ <sup>c</sup>	۲۹/۵ <sup>c</sup>	۲۹/۱ <sup>c</sup>	۳۲/۹ <sup>b</sup>	۳۳/۳ <sup>b</sup>	۳۵/۱ <sup>a</sup>	۳۵ <sup>a</sup>	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
<۰/۰۱	۰/۲۲۲	۱۶/۸ <sup>d</sup>	۱۷/۰ <sup>d</sup>	۱۷/۱ <sup>d</sup>	۱۷/۵ <sup>cd</sup>	۱۷/۹ <sup>bc</sup>	۱۸/۲ <sup>bc</sup>	۱۸/۶ <sup>b</sup>	۱۹/۵ <sup>a</sup>	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی

a-d: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

جدول ۳. اثر عمل‌آوری کود مرغی با سطوح مختلف عصاره تاننی استخراج‌شده از پوست انار بر فراسنجه‌های تولید گاز آن با استفاده از شیرابه شکمبه گاو هلشتاین

P value	SEM	تیمارهای آزمایشی (درصد عصاره در کود مرغی)								فراسنجه‌های تولید گاز
		شاهد	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	
<۰/۰۱	۱/۰۹	۶۳/۲ <sup>d</sup>	۶۷/۴ <sup>c</sup>	۷۹/۹ <sup>bc</sup>	۷۸/۸ <sup>c</sup>	۸۲/۸ <sup>ab</sup>	۸۴/۵ <sup>a</sup>	۸۳/۵ <sup>a</sup>	۸۵/۸ <sup>a</sup>	پتانسیل تولید گاز <sup>۱</sup> (میلی لیتر)
<۰/۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۶ <sup>c</sup>	۰/۰۰۹ <sup>ab</sup>	۰/۰۱۲ <sup>ab</sup>	۰/۰۰۹ <sup>b</sup>	۰/۰۱۲ <sup>a</sup>	۰/۰۱۱ <sup>ab</sup>	۰/۰۰۹ <sup>ab</sup>	۰/۰۱۱ <sup>ab</sup>	نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)
<۰/۰۱	۲/۲۹	۵۸/۴ <sup>c</sup>	۶۱/۲ <sup>c</sup>	۶۸/۹ <sup>b</sup>	۶۹/۹ <sup>ab</sup>	۷۵/۸ <sup>ab</sup>	۷۶/۱ <sup>a</sup>	۷۲/۹ <sup>ab</sup>	۷۷/۹ <sup>a</sup>	حجم گاز تولیدی <sup>۲</sup> (میلی لیتر)

۱. تولید گاز از بخش قابل تخمیر که معادله نمایی پیش‌بینی می‌کند.

۲. تولید گاز تجمعی مشاهده شده پس از ۱۲۰ ساعت انکوباسیون.

a-d: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

شکمبه جهت تجزیه آن‌ها است [۱ و ۲۰]. فعالیت ضد میکروبی تانن‌ها مربوط به تداخل با آنزیم‌های خارج سلولی ترشح شده و دیواره سلولی باکتری‌ها (تغییرات مورفولوژیکی در دیواره سلولی آن‌ها)، بی‌ثباتی غشاء سیتوپلاسمی و پلاسمایی و اثر مستقیم بر متابولیسم میکروبی از طریق مهار چرخه فسفوریلاسیون-اکسیداتیو بوده و با محدود کردن سوپسترا برای رشد میکروبی و باند

افزایش سطح عصاره تا ۲۰ درصد تأثیری بر حجم گاز تولیدی نسبت به تیمار شاهد نداشت. کاهش پتانسیل تولید گاز در تیمارهای حاوی عصاره در مقایسه با تیمار شاهد نشان دهنده تشکیل کمپلکس تانن با مواد مغذی کود مرغی شامل کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، پلی ساکاریدها، غشای سلولی باکتری و آنزیم‌های هضم کننده پروتئین، کربوهیدرات‌ها و دسترسی کمتر میکروارگانیسم‌های

## تولیدات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۶

غلظت نیتروژن آمونیاکی بود ( $p < 0.05$ ). این امر می‌تواند نشان دهنده کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین کود مرغی باشد که احتمالاً با محافظت پروتئین در شکمبه و عبور آن به بخش‌های بعدی دستگاه گوارش، ممکن است سبب بهبود هضم و جذب روده‌ای آن شود. کاهش محتوای پروتئین خام جیره (جدول ۲) با افزایش سطح عصاره نیز ممکن است دلیل دیگری برای کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی باشد. نتایج مذکور با برخی پژوهش‌های دیگر که گزارش کردند تانن‌ها pH مایع شکمبه را کاهش می‌دهند، مطابقت دارد [۲۷]. همچنین عمل‌آوری جیره نشخوارکنندگان با تانن‌های مختلف منجر به کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شده است. در پژوهش دیگری یک روند کاهشی بین میزان pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه گوساله‌های هلشتاین با افزایش سطح عمل‌آوری کنجاله سویا با تانن مشاهده شد [۹]. هرچند، خوراک‌های حاوی تانن در برخی آزمایش‌ها اثری بر pH شکمبه نداشته است [۲۸].

کردن کاتیون‌ها، فراهمی آن‌ها را برای میکروب‌ها کاهش می‌دهد [۲۰]. مطابق با این نتایج، در پژوهشی با عمل‌آوری کنجاله سویا با سطوح مختلف تانن استخراج شده از تفاله انگور، مشخص شد که عمل‌آوری سبب کاهش ۴/۵ تا ۱۱ درصدی تولید گاز می‌شود [۱]. همچنین، با افزودن سطوح مختلف تانن متراکم استخراج شده از گیاه *لئوکانا*، حجم کل گاز تولیدی، ماده خشک ناپدید شده و غلظت نیتروژن آمونیاکی کاهش یافت [۲۴]. در مطالعه دیگری نیز افزودن اسید تانیک (تانن قابل هیدرولیز) به کنجاله سویا، تولید گاز تجمعی و بخش b و c را کاهش داد که تأییدی بر محافظت پروتئین کنجاله سویا از تجزیه شکمبه‌ای است [۱۶].

هنگام استفاده از ۲۵ درصد عصاره، تغییری در pH مایع شکمبه مشاهده نشد (جدول ۴)، اما در تیمارهای حاوی ۳۰ و ۳۵ درصد عصاره، pH به طور معناداری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). یکی از آثار مثبت عمل‌آوری کود مرغی با عصاره تانن‌دار حاصل از پوست انار کاهش معنی‌دار

جدول ۴. اثر عمل‌آوری کود مرغی با سطوح مختلف عصاره تاننی استخراج شده از پوست انار بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای آن با استفاده از شیرابه شکمبه گاو هلشتاین

P value	SEM	تیمارهای آزمایشی (درصد عصاره در کود مرغی)								فراسنجه‌های تخمیر شکمبه
		شاهد	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	
<0.01	0.027	6.78 <sup>a</sup>	6.76 <sup>a</sup>	6.76 <sup>a</sup>	6.75 <sup>a</sup>	6.74 <sup>a</sup>	6.70 <sup>ab</sup>	6.64 <sup>b</sup>	6.44 <sup>c</sup>	pH
<0.01	0.26	17.1 <sup>a</sup>	15.7 <sup>b</sup>	15.4 <sup>b</sup>	13.4 <sup>c</sup>	12.2 <sup>d</sup>	12.1 <sup>d</sup>	12.2 <sup>d</sup>	11.6 <sup>d</sup>	نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر)
0.012	1.87	61.3 <sup>a</sup>	61.0 <sup>a</sup>	61.7 <sup>a</sup>	59.1 <sup>a</sup>	58.1 <sup>ab</sup>	58.9 <sup>a</sup>	51.8 <sup>b</sup>	49.7 <sup>b</sup>	قابلیت هضم ماده خشک (درصد)
0.017	3.11	25.1 <sup>a</sup>	24.8 <sup>a</sup>	25.2 <sup>a</sup>	25.0 <sup>a</sup>	24.8 <sup>a</sup>	24.6 <sup>a</sup>	23.8 <sup>b</sup>	23.6 <sup>b</sup>	ماده آلی واقعاً تجزیه شده (میلی‌گرم)
0.015	0.12	3.21 <sup>c</sup>	3.39 <sup>bc</sup>	3.50 <sup>b</sup>	3.52 <sup>c</sup>	3.55 <sup>b</sup>	3.58 <sup>b</sup>	3.89 <sup>a</sup>	4.01 <sup>a</sup>	ضریب تفکیک
<0.01	2.09	79.6 <sup>d</sup>	87.6 <sup>c</sup>	84.6 <sup>c</sup>	83.2 <sup>c</sup>	94.2 <sup>b</sup>	94.4 <sup>b</sup>	103.4 <sup>a</sup>	107.5 <sup>a</sup>	تولید توده میکروبی (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)
<0.01	2.02	31.7 <sup>c</sup>	35.3 <sup>bc</sup>	33.6 <sup>c</sup>	33.3 <sup>c</sup>	38.1 <sup>b</sup>	38.4 <sup>b</sup>	43.4 <sup>a</sup>	45.5 <sup>a</sup>	بازده تولید توده میکروبی (درصد)

a-d: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

## تولیدات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۶



شرایط تخمیر شکمبه بوده است. در جیره‌های حاوی سطوح زیاده‌تر عصاره، قابلیت هضم مواد مغذی کاهش نشان داد که احتمالاً ناشی از اثر منفی تانن بر میکروارگانیسم‌های شکمبه به علت غلظت بیشتر تانن بوده است [۲۰]. مطالعات متعددی نشان داده است که تانن‌ها در غلظت بیشتر از ظرفیت شکمبه، بسته به نوع آن‌ها به‌طور انتخابی رشد میکروارگانیسم‌های دستگاه گوارش را مهار می‌کنند. مشابه با تحقیق حاضر، گزارش شده است که تانن‌های عصاره پوست انار سبب کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک جیره گاو شیری در شرایط آزمایشگاهی شدند [۲]. در مطالعه‌ای نیز با استفاده از متابولیت‌های ثانویه به خصوص تانن‌های متراکم، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک کاهش یافته است [۷].

بهبود قابلیت هضم پروتئین خام با افزایش درصد عصاره تا ۲۵ درصد کود مرغی، احتمالاً به علت عبوری شدن پروتئین کود مرغی در حضور متابولیت‌های ثانویه‌ای نظیر تانن یا سایر ترکیبات فنولی بوده است. زیرا مشخص شده است که متابولیت‌های ثانویه گیاهی تجزیه شکمبه‌ای پروتئین را کاهش داده و پروتئین را از هیدرولیز میکروبی و دی‌آمیناسیون در شکمبه محافظت می‌کنند. در نتیجه قابلیت دسترسی پروتئین‌های خوراکی را برای هضم و جذب بیشتر پس از شکمبه‌ای افزایش می‌دهند [۱]. گزارش شده است استفاده از متابولیت‌های ثانویه به خصوص تانن متراکم، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام را کاهش می‌دهد [۷].

بیشترین پیوند بین تانن و پروتئین در pH بین چهار تا هفت تشکیل می‌شود. در pH متعادل مانند محیط شکمبه، معمولاً رسوب پروتئین رخ می‌دهد و به یک‌باره در شیردان که pH آن دو تا ۲/۵ است، پیوند تانن-پروتئین شکسته می‌شود. همچنین pH روده کوچک به‌ویژه در نواحی بالایی بیشتر از هفت است که در آن ناحیه نیز کمپلکس تانن-پروتئین شکسته می‌شود [۱۳ و ۴].

هنگام استفاده از سطوح کمتر از ۳۰ درصد عصاره در جیره، قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک و ماده آلی واقعاً تجزیه شده در شکمبه تحت تأثیر قرار نگرفت، اما در تیمارهای حاوی سطوح بالاتر از ۲۵ درصد به‌طور معناداری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافتند ( $p < 0/05$ ). با استفاده از مقدار بیشتر عصاره تانن‌دار در جیره، ضریب تفکیک، تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). تعیین ضریب تفکیک در شرایط آزمایشگاهی اطلاعات قابل توجهی برای پیش‌بینی ماده خشک مصرفی، تولید توده میکروبی در شکمبه و تولید متان به دست می‌دهد. ضریب تفکیک زیاد با افزایش سطح عصاره در کود مرغی احتمالاً به دلیل تولید گاز کمتر در تیمارهای مذکور است (جدول ۳). این امر به دلیل تشکیل کمپلکس تانن با مواد مغذی کود مرغی (پروتئین، کربوهیدرات و غیره) بوده که موجب کاهش قابلیت هضم آن‌ها شده است.

قابلیت هضم مواد مغذی کود مرغی عمل‌آوری شده با سطوح مختلف عصاره تانن‌دار در جدول ۵ ارائه شده است. هنگام استفاده از سطوح کمتر از ۳۰ درصد عصاره، تأثیری بر قابلیت هضم ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی مشاهده نشد، اما برای سطوح بالای ۲۵ درصد عصاره، این قابلیت‌های هضم به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافتند ( $P < 0/05$ ). هرچند، بیشترین قابلیت هضم پروتئین خام در تیمار حاوی ۱۵ درصد عصاره به دست آمد که با تیمارهای حاوی صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۲۵ درصد عصاره تفاوتی نداشت، اما با تیمارهای حاوی ۳۰ و ۳۵ درصد عصاره اختلاف قابل توجهی نشان داد ( $P < 0/05$ ). قابلیت هضم مواد مغذی در جیره‌های آزمایشی تا سطح ۲۵ درصد عصاره در جیره تقریباً با یکدیگر قابل مقایسه بود که این نشان دهنده عدم اثر منفی تانن تا سطح ۲۵ درصد بر

## تولیدات دامی

جدول ۵. اثر عمل آوری کود مرغی با سطوح مختلف عصاره تاننی استخراج شده از پوست انار بر قابلیت هضم آزمایشگاهی مواد مغذی (درصد) آن به روش هضم دو مرحله‌ای

P value	SEM	تیمارهای آزمایشی (درصد عصاره در کود مرغی)								قابلیت هضم مواد مغذی
		شاهد	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	
<۰/۰۱	۲/۵۳	۵۸/۱ <sup>a</sup>	۵۸/۱ <sup>a</sup>	۵۸/۷ <sup>a</sup>	۵۹/۲ <sup>a</sup>	۵۶/۴ <sup>a</sup>	۵۴/۰ <sup>a</sup>	۴۷/۱ <sup>b</sup>	۳۹/۰ <sup>b</sup>	ماده خشک
<۰/۰۱	۱/۹۸	۶۵/۱ <sup>ab</sup>	۶۵/۰ <sup>ab</sup>	۶۵/۷ <sup>a</sup>	۶۹/۵ <sup>a</sup>	۶۶/۸ <sup>a</sup>	۶۵/۹ <sup>a</sup>	۵۹/۳ <sup>c</sup>	۵۱/۰ <sup>d</sup>	پروتئین خام
<۰/۰۱	۲/۸۶	۴۷/۶ <sup>a</sup>	۴۶/۶ <sup>a</sup>	۴۴/۸ <sup>ab</sup>	۴۵/۶ <sup>a</sup>	۴۴/۱ <sup>a</sup>	۴۱/۱ <sup>a</sup>	۳۳/۹ <sup>b</sup>	۳۰/۱ <sup>c</sup>	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
<۰/۰۱	۳/۱۴	۴۳/۳ <sup>a</sup>	۴۴/۳ <sup>a</sup>	۴۱/۹ <sup>ab</sup>	۴۲/۵ <sup>a</sup>	۴۲/۸ <sup>a</sup>	۳۹/۵ <sup>ab</sup>	۳۱/۹ <sup>bc</sup>	۲۹/۰ <sup>c</sup>	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی

a-c: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

روز انکوباسیون، قابلیت هضم ماده خشک تیمار حاوی ۲۰ درصد عصاره با تیمار شاهد مشابه بود، اما با استفاده از مقادیر بالاتر عصاره هضم کاهش یافت (P<۰/۰۵). غلظت نیتروژن آمونیاکی پس از روز اول انکوباسیون بین جیره‌های آزمایشی مشابه بود، اما در دو و سه روز پس از انکوباسیون، غلظت آن با افزایش سطح عصاره کاهش یافت (P<۰/۰۵). صرف نظر از زمان انکوباسیون (جدول ۶)، قابلیت هضم ماده خشک و نیتروژن آمونیاکی تحت تأثیر سطوح عصاره قرار گرفتند، به طوری که بیشترین کم‌ترین مقدار قابلیت هضم ماده خشک و نیتروژن آمونیاکی به ترتیب در جیره شاهد و جیره حاوی ۳۰ درصد عصاره مشاهده شد (P<۰/۰۵). کاهش قابلیت هضم ماده خشک با افزودن عصاره در کود مرغی احتمالاً به دلیل اثر منفی آن بر جمعیت باکتری‌های شکمبه به‌ویژه باکتری‌های تجزیه‌کننده سلولز (سلولولایتیک) بوده است. تانن‌ها در غلظت زیاد بسته به نوع آن‌ها آثار مهارکنندگی قابل توجهی بر جمعیت باکتری‌های تجزیه‌کننده الیاف در شکمبه دارند که متعاقباً سبب کاهش هضم الیاف می‌شوند. استفاده از تانن‌های گیاه کالیندرا در جیره، جمعیت باکتری‌های تجزیه

سطوح ۳۰ و ۳۵ درصد عصاره تاننی قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام کود مرغی را کاهش داد که احتمالاً دلیل این امر کاهش در تعداد باکتری‌های پروتئولیتیک است. مشابه با تحقیق حاضر، گزارش شده است که استفاده از سطوح متفاوت تانن تفالۀ انگور (۰، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸ و ۶۰ میکرولیتر عصاره به ازای ۵۰ میلی‌لیتر محیط تلقیح) در جیره تعداد باکتری‌های پروتئولیتیک شکمبه گاو شیرده در سطوح ۴۸ و ۶۰ میکرولیتر نسبت به تیمار شاهد را کاهش می‌دهد [۲]. در تحقیق دیگری روی گوساله‌های نر اخته، استفاده از تانن متراکم گیاه کوبراکو در جیره حاوی کنجاله سویا، سبب کاهش قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام و متعاقب آن افزایش نرخ عبور پروتئین قابل متابولیسم به دوازده شد [۱۵].

قابلیت هضم ماده خشک تیمارهای برتر انتخاب شده بر اساس آزمایش‌های قبلی (شامل مقایسه تیمار شاهد با تیمارهای حاوی سطوح ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درصد عصاره تاننی) در محیط کشت اختصاصی باکتری‌های شکمبه در زمان‌های یک و دو روز پس از انکوباسیون تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۶)، اما پس از سه

## تولیدات دامی

بررسی تأثیر عمل‌آوری کود مرغی با سطوح مختلف تانن استخراج‌شده از پوست انار بر فعالیت هضمی و تخمیری میکروارگانیسم‌های

تنظیم‌کننده، نسبت داد [۲۰]. نشان داده شده است که تانن‌های متراکم، سبب مهار فعالیت آنزیم‌های آندوژنوس می‌شوند [۲۰]. این نتایج نشان می‌دهد که در نسبت‌های زیاد تانن به پروتئین، مهار پروتئولیز احتمالاً به دلیل پوشش سطح پروتئین توسط ترکیبات پلی‌فنولی است [۲۰] که منجر به مداخله با تعاملات آنزیم و سوبسترا می‌شود. کاهش غلظت آمونیاک همراه با افزایش مقدار پروتئین عبوری، جریان اسیدهای آمینه را به روده افزایش داده و به بهبود بازده نیتروژن در حیوان کمک می‌کند [۱۰]. مطالعات نشان داده است که تانن‌ها با تنظیم تجزیه پروتئین جیره در شکمبه سبب بهبود شرایط تخمیر و افزایش ساخت پروتئین میکروبی می‌شوند [۱۰].

کننده الیاف را کاهش داد [۱۳]. همچنین، در مطالعه دیگری نیز جمعیت باکتری‌های سلولولولیتیک در حیوانات تغذیه شده با برگ‌های پاکار (به‌عنوان منبع غنی از تانن) به‌طور معناداری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت [۲۳].

کاهش مقدار نیتروژن آمونیاکی در کود مرغی حاوی عصاره تاننی احتمالاً به دلیل تأثیر مهارکنندگی مواد موجود در عصاره بر فعالیت پروتئولیتیکی شکمبه بوده است [۷] و [۲۳]. تغییر فعالیت باکتری‌های پروتئولیتیک و آنزیم پروتئاز توسط تانن، می‌تواند متابولیسم نیتروژن در شکمبه را متأثر سازد [۲۰]. کاهش پروتئولیز را می‌توان به آثار مستقیم تانن‌های متراکم روی فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک میکروبی یا آثار غیرمستقیم بر غلظت متابولیت‌های شکمبه که می‌توانند فعالیت بعضی از باکتری‌های پروتئولیتیک را

جدول ۶. اثر عمل‌آوری کود مرغی با سطوح مختلف عصاره تاننی استخراج‌شده از پوست انار بر قابلیت هضم ماده خشک آن و غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت خالص حاوی باکتری‌های شکمبه گاو هلستاین

P value	SEM	تیمارهای آزمایشی (درصد عصاره در کود مرغی)				زمان انکوباسیون
		۳۰	۲۵	۲۰	شاهد	
قابلیت هضم ماده خشک (درصد)						
۰/۵۵	۰/۶۱	۲۸/۵	۲۸/۹	۲۹/۰	۲۹/۲	یک روز
۰/۳۳	۱/۷۵	۳۴/۸	۳۶/۲	۳۷/۶	۳۶/۳	دو روز
۰/۰۱<	۳/۱	bc۳۶/۲	bc۳۹/۱	ab۴۱/۳	a۴۶/۳	سه روز
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر)						
۰/۵۲	۰/۶۲	۱۳/۷	۱۳/۷	۱۴/۲	۱۴/۳	یک روز
۰/۰۴	۰/۳۰	c۱۴/۵	c۱۴/۷	bc۱۴/۹	a۱۵/۷	دو روز
۰/۰۱	۰/۳۱	b۱۶/۰	a۱۶/۹	a۱۷/۳	a۱۷/۴	سهرز
صرف نظر از زمان						
۰/۰۱<	۲/۳۲	c۳۳/۲	b۳۴/۷	a۳۶/۰	۳۷/۳ <sup>a</sup>	قابلیت هضم ماده خشک (درصد)
۰/۰۱<	۰/۱۵	c۱۴/۷	b۱۵/۱	b۱۵/۴	a۱۵/۸	نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)

a-c تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

SEM: خطای استاندارد میانگین

## تولیدات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۶

گزارش شده که تانن‌ها پروتئین جیره را از تجزیه شکمبه‌ای محافظت کرده و در نتیجه می‌توانند با افزایش پروتئین عبوری با بازده بیشتری مورد استفاده قرار گیرند و سبب بهبود عملکرد نشخوارکنندگان شوند [۱۰].

صرف نظر از زمان انکوباسیون تیمارهای آزمایشی تأثیری بر قابلیت هضم ماده خشک نداشتند (جدول ۷)، اما غلظت نیتروژن آمونیاکی با افزایش میزان عصاره در جیره کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). مؤثر نبودن جیره‌های آزمایشی بر قابلیت هضم ماده خشک احتمالاً به علت حساسیت کمتر قارچ‌های شکمبه به تانن‌ها و ترکیبات فنولیک نسبت به سایر میکروارگانیسم‌های شکمبه است. مطابق با این نتایج، در پژوهشی اثر اسید تانیک، اسید الاجیک، اسید گالیک و کاتچین بر قارچ شکمبه‌ای *نوکلیماستیکس فرونتالیس* بررسی شد. تمام ترکیبات مذکور تأثیر اندکی بر مهار اتصال زئوسپور داشتند، ولی از اتصال باکتری‌های سلولولایتیک به سلولز جلوگیری کردند [۱۸].

قابلیت هضم ماده خشک و غلظت نیتروژن آمونیاکی تیمارهای برتر انتخاب شده بر اساس آزمایش‌های قبلی (شامل تیمار شاهد و تیمارهای حاوی سطوح ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درصد عصاره تاننی) پس از انکوباسیون در محیط کشت اختصاصی قارچ‌های شکمبه گاو هلستاین در زمان‌های مختلف در جدول ۷ ارائه شده است. قابلیت هضم ماده خشک توسط قارچ‌ها در هر سه زمان انکوباسیون (شامل یک، سه و شش روز) تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. در ارتباط با نیتروژن آمونیاکی، تیمارهای آزمایشی در دو زمان اول یعنی یک و سه روز انکوباسیون تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی نداشتند. پس از شش روز انکوباسیون، غلظت نیتروژن آمونیاکی در جیره‌های حاوی عصاره تاننی در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت و بیشترین میزان کاهش در جیره حاوی بیش از ۲۵ درصد عصاره مشاهده شد غلظت کمتر نیتروژن آمونیاکی عمدتاً ناشی از کاهش تجزیه شکمبه‌ای اسیدهای آمینه است [۷].

جدول ۷. اثر عمل‌آوری کود مرغی با سطوح مختلف عصاره تاننی استخراج شده از پوست انار بر قابلیت هضم ماده خشک آن و غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت خالص حاوی قارچ‌های شکمبه گاو هلستاین

P-value	SEM	تیمارهای آزمایشی (درصد عصاره در کود مرغی)				زمان انکوباسیون
		شاهد	۲۰	۲۵	۳۰	
قابلیت هضم ماده خشک (درصد)						
۰/۳۲	۱/۵۰	۲۰/۰	۲۱/۴	۱۹/۱	۲۰/۱	۱ روز پس از انکوباسیون
۰/۲۳	۱/۶۳	۲۳/۲	۲۶/۶	۲۳/۶	۲۵/۲	۳ روز پس از انکوباسیون
۰/۲۵	۱/۸۹	۳۷/۲	۳۸/۲	۴۰/۲	۴۰/۲	۶ روز پس از انکوباسیون
نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر)						
۰/۱۹۹	۰/۵۵	۱۱/۱	۱۱/۵	۱۱/۷	۱۲/۱	۱ روز پس از انکوباسیون
۰/۱۸۹	۰/۵۴	۱۲/۳	۱۲/۸	۱۲/۹	۱۳/۴	۳ روز پس از انکوباسیون
۰/۰۲۳	۰/۴۶	۱۲/۶ <sup>b</sup>	۱۲/۵ <sup>b</sup>	۱۳/۳ <sup>ab</sup>	۱۴/۲ <sup>a</sup>	۶ روز پس از انکوباسیون
صرف نظر از زمان						
۰/۱۸	۱/۳۱	۲۶/۸	۲۸/۷	۲۷/۶	۲۸/۵	قابلیت هضم ماده خشک (درصد)
۰/۰۲	۰/۲۱	۱۲/۰ <sup>b</sup>	۱۲/۳ <sup>ab</sup>	۱۲/۶ <sup>a</sup>	۱۳/۲ <sup>a</sup>	نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در دسی لیتر)

a-c: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

## تولیدات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۶

- [4]. Azizi-Shotorkhoft A, Rouzbehan Y and Fazaeli H (2012) The influence of the different carbohydrate sources on utilization efficiency of processed broiler litter in sheep. *Livestock Science* 148: 249- 254.
- [5]. Broderick G and Kang JH (1980) Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *In vitro* media. *Journal of Dairy Science* 54: 1176-1183.
- [6]. Elemam MB, Fadelelseed AM and Salih AM (2009) Growth performance, digestibility, N-balance and rumen fermentation of lambs fed different levels of deep-stack broiler litter. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 4: 9-16.
- [7]. Frutos P, Raso M, Hervás G, Mantecón ÁR, Pérez V, Giráldez FJ (2004) Is there any detrimental effect when a chestnut hydrolysable tannin extract is included in the diet of finishing lambs? *Journal of Animal Research* 53: 127-136.
- [8]. Jolazadeh AR, Dehghan Banadaki M and Rezayazdi K (2014) Effects of treatment soybean meal with tannins extracted from pistachio hulls on performance and carcass quality of Holstein male calves. *Journal of Ruminant Research* 2 (1): 1-16. (In Persian).
- [9]. Jolazadeh AR, Dehghan-banadaky M and Rezayazdi K (2015) Effects of soybean meal treated with tannins extracted from pistachio hulls on performance, ruminal fermentation, blood metabolites and nutrient digestion of Holstein bulls. *Animal Feed Science and Technology* 203: 33-40.
- [10]. Makkar H (2003) Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research* 49: 241-256.

گزارش شده است که قارچ‌های شکمبه توانایی رشد در محیط‌های حاوی ۲۰ گرم اسید تانیک در لیتر را دارند، بنابراین قابلیت تجزیه فیبر توسط قارچ‌های شکمبه ممکن است در مقایسه با باکتری‌های سلولولایتیک حساسیت کمتری به آثار مهارت تانن‌های متراکم نشان دهد [۱۳]. همچنین در تحقیقی دیگر، فعالیت ضد میکروبی تانن استخراج‌شده از برگ ریزوفورا آپلیکوتا بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که هر سه نوع تانن (کل تانن، تانن قابل هیدرولیز و تانن متراکم) فعالیت ضد قارچی نداشتند. مقاومت گونه‌های قارچی علیه این سه نوع تانن می‌تواند ناشی از ساختار مورفولوژیکی آن‌ها باشد، زیرا قارچ‌ها دارای دیواره سلولی ضخیم با درصد زیادی کیتین هستند که امکان نفوذپذیری کمتری نسبت به مواد دارند [۲۳].

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عمل‌آوری کود مرغی به‌عنوان منبعی ارزان قیمت پروتئینی با تانن استخراج‌شده از پوست انار تا سطح ۲۵ درصد ماده خشک، از طریق کاهش تولید نیتروژن آمونیاکی شکمبه، متابولیسم نیتروژن در دستگاه گوارش را بهبود می‌دهد. مطالعات بیشتر در این زمینه به‌ویژه روی دام زنده ضروری به‌نظر می‌رسد.

## منابع

- [1]. Abarghoyi MJ and Rouzbehan Y (2015) The effects of several levels of grape pomace extract on *in vitro* intestinal digestibility of dairy cow. *Animal science* 28 (106): 13-28. (In Persian).
- [2]. Abarghoyi MJ, Rouzbehan Y and Zamiri MJ (2014) Effect of non-extracted and extracted pomegranate-peel on *in vitro* gas production parameters of inoculum of Ghezel sheep. *Journal of Ruminant Research* 2 (2): 37-59. (In Persian).
- [3]. AOAC (1990) Official Methods of Analysis, 15th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

## تولیدات دامی

- [11].Makkar HPS (2000) Quantification of Tannins in Tree Foliage. A Laboratory Manual for the FAO/IAEA Co-ordinated Research Project on Use of Nuclear and Related techniques to Develop Simple Tannin Assays for Predicting and Improving the safety and Efficiency of Feeding Ruminants on Tanniniferous Tree Foliage. Joint FAO/IAEA of Nuclear Techniques in Food and Agriculture Animal Production and Health Sub-programme, FAO/IAEA Working Document. IAEA, Vienna, Austria.
- [12].Makkar HPS (2010) *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: Vercoe PE, Makkar HPS, Schlink AC (Eds.), *In vitro* Screening of Plant Resources for Extra-nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. IAEA, Dordrecht, the Netherlands, pp. 107-144.
- [13].McSweeney C, Palmer B, McNeill D and Krause D (2001) Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 91: 83-93.
- [14].Menke KH and Stingass H (1988) Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *In vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development* 28: 6-55.
- [15].Mezzomo R, Paulino P, Detmann E, Valadares Filho S, Paulino M, Monnerat J, Duarte M, Silva L and Moura L (2011) Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet. *Livestock Science* 141: 1-11.
- [16].Mohammadabadi T, Chaji M and Tabatabaei S (2010) The effect of tannic acid on *In vitro* gas production and rumen fermentation of sunflower meal. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9: 277-280.
- [17].Mohammadabadi T, Danesh Mesgaran M, Chaji M and Tahmasebi R (2012) Evaluation of the effect of fat content of sunflower meal on rumen fungi growth and population by direct (quantitative competitive polymerase chain reaction) and indirect (dry matter and neutral detergent fiber disappearance) methods. *African Journal of Biotechnology* 11: 179-183.
- [18].Muhammed S, Acamovic CS and Stewart T (1995) Effects of tannic acid, ellagic acid, gallic acid and catechin on cellulose degradation by the rumen fungus *Neocallimastix frontalis* strain RE1. *Journal of Animal Science* 60: 550A.
- [19].Orskov ER 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 (Cambridge)* 92: 499-503.
- [20].Patra Ak (2012) *Dietary Phytochemicals and Microbes*. Springer Science & Business Media. pp. 237-256.
- [21].Rezaeian M, Beakes GW and Chaudhry AS (2005) Relative fibrolytic activities of anaerobic rumen fungi on untreated and sodium hydroxide treated barley straw in *In vitro* culture. *Anaerobe* 11 (3): 163-175.
- [22].SAS (2001) *Statistical Analysis System: Users Guide, Statistics, version 8.2*. SAS Institute. Carry, N.C., USA.
- [23].Singh B, Chaudhary LC, Agarwal N and Kamra DN (2011) Effect of feeding *Ficus infectoria* leaves on rumen microbial profile and nutrient utilization in goats. *Asian-Australian Journal of Animal Science* 24 (6): 810 – 817.
- [24].Tan H, Sieo C, Abdullah N, Liang J, Huang X and Ho Y (2011) Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane

بررسی تأثیر عمل آوری کود مرغی با سطوح مختلف تانن استخراج شده از پوست انار بر فعالیت هضمی و تخمیری میکروارگانیسم‌های

- production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa *In vitro*. *Animal Feed Science and Technology* 169: 185-193.
- [25]. Tilley JMA and Terry RA (1963) A two-stage technique for the in digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society* 18: 104-111.
- [26]. Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch carbohydrate in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597.
- [27]. Yanez Ruiz DR, Moumen A, Martin Garcia AI and Molina Alaide E (2004) Ruminant fermentation and degradation patterns, protozoa population and urinary purine derivatives excretion in goats and whether fed diets based on two stage olive cake: effect of PEG supply. *Journal of Animal Science* 82: 2023-2032.
- [28]. Yildiz S, Kaya I, Unal Y, Aksu Elmali D, Kaya S, Censiz M, Kaya M and Oncuer A (2005) Digestion and body weight change in Tuj lambs receiving Oak (*Quercus hartwissiana*) leaves with and without PEG. *Animal Feed Science and Technology* 122: 159-172.



Journal of  
**Animal Production**

(College of Abouraihan – University of Tehran)

Vol. 19 ■ No. 2 ■ Summer 2017

## Effect of treatment recycled poultry bedding with pomegranate peel tannin extract on *in vitro* digestion and fermentation activity of cow rumen microorganisms

Afroz Sharifi<sup>1</sup>, Morteza Chaji<sup>2\*</sup>, Behzad Hemati<sup>3</sup>, Seyed Alireza Vakili<sup>3</sup>

1. Ph.D. Student of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Animal and Food Industry, Ramin Agricultural and Natural Resources, University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal and Food Industry, Ramin Agricultural and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
3. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: December 3, 2016

Accepted: January 25, 2017

### Abstract

The present experiment conducted to investigate the effect of processing broiler litter with different levels of tannin extracted from pomegranate peel on *in vitro* rumen digestion and fermentation, rumen fungi and bacteria growth using completely randomized design in Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan. Dietary treatments were adding pomegranate peel extract to broiler litter at levels 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 and 35 percent of dietary dry matter (DM). The gas and potential of gas production were constant with increasing level of pomegranate peel extract up to 20 and 15 percent, respectively. Rate of gas production was similar between treatments, except for diets containing 20 and 35 percent of pomegranate peel extract which decreased significantly ( $p < 0.05$ ). Increasing the level of pomegranate peel extract decreased rumen ammonia nitrogen concentration, but increased partitioning factor, microbial protein production and efficiency of microbial protein compared to control diet ( $p < 0.05$ ). Highest and lowest two-step crude protein digestibility was observed in diets containing 15 and 35 percentage pomegranate peel extract, respectively ( $p < 0.05$ ). After three days incubation of diets in specific rumen bacteria medium with increasing level of pomegranate peel extract, DM digestibility and ammonia nitrogen concentration decreased ( $p < 0.05$ ). Dry matter digestibility in all of investigated times were constant by incubation of treatments containing pomegranate peel extract in specific rumen fungi medium. According to the results, processing of broiler litter with pomegranate peel extract up to 25% of dry matter has potential to improve nitrogen metabolism in ruminants without any negative effects on nutrients digestibility.

**Keywords:** ammonia nitrogen, digestibility, fermentation parameters, Rumen bacteria, Rumen fungi, tannin extract.