جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علمی-پژوهشی
علوم کشاورزی
سال دوازدهم، شماره (۴) ۱۳۸۵

تاثیر سطوح مختلف گوگرد و ویتامین پیریدوکسین روی سنتز پروتئین میکروبی در بره نر قزل تحت شرایط طبیعی و آزمایشگاهی

کامیار حیدرنژاد
دانشجوی سابق دکتری تخصصی رشته علوم دامی - گرایش تغذیه دام - واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران
علی نیکخواه
استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی کرج
محمد رضائیان
استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
مجتبی زاهدی‌فر
عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور- کرج

چکیده

برای مطالعه تاثیر سطوح مختلف گوگرد و ویتامین پیریدوکسین بر روی سنتز پروتئین میکروبی در بره‌های نر قزل، آزمایشی در دو مرحله جداگانه تحت شرایط طبیعی و آزمایشگاهی انجام شد. در آزمایش اول (آزمایشگاهی) پس از جمع‌آوری مایع شکمبه به طور روزانه، محیط‌های کشت حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه به علاوه سطوح ثابتی از نشاسته، سلولز و اوره به ترتیب برابر۵۰۰، ۵۰۰ و ۶۴/۴ میلی‌گرم تهیه گردید، سپس سطوح متغیری از گوگرد شامل (۰، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و گوگرد به علاوه پیریدوکسین شامل (۰/۰۱+۱، ۰/۱+۲، ۱+۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) به صورت تیمارهای آزمایشی به محیط‌های کشت افزوده گردید و ظروف حاوی محیط کشت در فواصل زمانی (۰، ۲، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت) در انکوباتور با دمای ۳۹ درجه سانتیگراد قرار داده شد و مقادیر ماده خشک، پروتئین خام میکروبی سنتز شده، نیتروژن آمونیاکی، ئیدروژن سولفور و pH اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل آماری در قالب یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی صورت گرفت، به طوری که بیشترین میزان پروتئین خام میکروبی سنتز شده در محیط‌های حاوی گوگرد تنها مربوط به مقدار ۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر گوگرد با نسبت ۱۰ به ۱ نیتروژن به گوگرد و در محیط‌های حاوی گوگرد به‌علاوه پیریدوکسین مربوط به مقدار ۲ میلی‌گرم گوگرد به‌علاوه ۰/۱ میلی گرم پیریدوکسین بود. در آزمایش دوم که در قالب طرح چرخشی صورت پذیرفت از تعداد ۴ راس بـره نـر نژاد قزل با میانگین وزن اولیه (۳ ± ۳۵ کیلو گرم) استفاده گردید. جیره‌های آزمایشی از لحاظ سطوح انرژی و پروتئین برابر بودند، فقط جیره‌های ۱ الی ۴ حاوی سطوح مختلف گوگرد به ترتیب برابر

تاریخ دریافت مقاله ۸۳/۵/۳ تاریخ دریافت نسخه نهایی ۸۴/۱۰/۶

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

(۰/۱۲، ۰/۱۶، ۰/۲۲ و ۰/۳۸ درصد ماده خشک) و جیره‌های ۵ تا ۷ حاوی سطوح مختلف گوگرد به‌علاوه پیریدوکسین به ترتیب شامل ۱۱/۸+۰/۱۶، ۵۱/۸+۰/۲۲ و ۱۰۱/۸+۰/۳۸ درصد و میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک بودند. بیشترین سنتز نیتروژن میکروبی مربوط به جیره‌های (۳ و ۶) همچنین بیشترین مقدار شاخص نیتروژن پورینی و پروتئین‌های خون مربوط به جیره (۶) بود. نتایج حاکی از این است که نسبت ۱۰ به ۱ نیتروژن به گوگرد می‌تواند به عنوان یک عامل مهم در بهبود سنتز نیتروژن میکروبی مطرح باشد. به علاوه افزودن ویتامین پیریدوکسین به جیره غذایی نشخوارکنندگان نیز می‌تواند در این رابطه موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: گوگرد، پیریدوکسین، سنتز پروتئین میکروبی، مشتقات پورینی، شاخص نیتروژن پورینی، بره، قزل.

مقدمه

فعالیت میکروبی شکمبه می‌تواند بیش از ۵۰٪ احتیاجات پروتئینی حیوان نشخوار کننده را تامین کند. بنابراین دانستن کل عامل‌های موثر بر اکولوژی میکروبی شکمبه مهم است. در حقیقت توجه به رشد میکروبی در شکمبه یک نقطه کلیدی در ارائه سیستم‌های نوین برآورد احتیاجات واقعی پروتئین و آمینواسیدها در نشخوارکنندگان خواهد بود. با توجه به موارد زیر که عوامل و نیازهای موثر در رشد میکروب‌های شکمبه می‌باشد، می‌توان تحقیقات در زمینه تغذیه نشخوارکنندگان را در رابطه با هر یک از عوامل زیرتوسعه داد:

۱- قابلیت دسترسی به کربوهیدرات‌ها (ساختمانی، غیرساختمانی) و تامین ATP حاصل از تخمیر آنها.
۲- قابلیت دسترسی به منابع نیتروژن پروتئینی، غیر پروتئینی[1] و تامین آمونیاک وآمینواسید حاصل از تجزیه آنها.
۳- قابلیت دسترسی به مواد معدنی خصوصاً گوگرد و ویتامین‌های محلول در آب.
۴- همزمانی دسترسی به منابع کربوهیدرات، نیتروژن، مواد معدنی و ویتامین‌ها توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه. (۳)
۵- سرعت خروج مواد هضمی از شکمبه و سرعت رشد و تکثیر گونه‌های میکروبی.

اگرچه انرژی و پروتئین به عنوان دو عامل اصلی در ایجاد دامنه تغییرات نیتروژن میکروبی شکمبه می‌باشند، مواد کم نیازی نظیر گوگرد و ویتامین‌های محلول در آب (گروه ب) نیز در بهبود سنتز پروتئین میکروبی دارای نقش اساسی می‌باشند. جهت اطمینان از رشد مطلوب میکروارگانیسم‌های شکمبه وجود گوگرد به عنوان یک ماده معدنی و تجزیه پذیرمنبع گوگرد در شکمبه مهم می‌باشد (۲۲). بول (۵) حداقل گوگرد مورد نیاز میکروارگانیسم‌های شکمبه را برابر ۱/۸۵ گرم به ازای هر کیلوگرم مواد آلی قابل تخمیر[2] برآورد نمود و مطابق با آن میزان ۳۰ گرم نیتروژن به ازای هر کیلوگرم مواد آلی قابل تخمیر را توصیه کرد. کومارسون (۱۴) اظهار داشته است که کاهش گوگرد در شکمبه به کمتر از ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم مواد آلی قابل تخمیر موجب کاهش رشد و تولید میکروبی خواهد شد. در سیستم پروتئینی (۱۹۹۵) AFRC پیشنهاد گردیده که هنگام استفاده از منابع نیتروژنی با سرعت تجزیه‌پذیری بالا نظیر اوره به همراه منابع گوگرد نظیر سولفات سدیم باید نسبت نیتروژن به گوگرد برابر۱۴/۹به۱ باشد تا تولید پروتئین میکروبی افزایش یابد. ویتامین‌های‌گروه (ب) سنتزشده در شکمبه یک عامل مهم جهت انجام متابولیسم میکروبی شکمبه است نه یک محصول جانبی از تخمیر میکروبی؛ بنابراین باکتری‌های شکمبه این گروه از ویتامین‌ها را برای تامین نیاز خودشان سنتز می‌کنند، اگرچه اطلاعات و تحقیقات در این زمینه اندک است. همچنین گروهی از محققین نیز معتقدند که ویتامین‌های گروه (ب) موجود در موادخوراکی به دلیل متصل‌شدن آنها با مواد آلی توسط میکروارگانیسم‌ها متابولیزه نشده و در قسمت‌های بعد از شکمبه قابل دسترس حیوان نشخوارکننده هستند، به عنوان مثال ۸۰ تا ۹۰٪ از کل نیاسین در غلات و۴۰٪ نیاسین در دانه‌های

1. Non-Protein Nitrogen (NPN)
2. Organic Matter Fermented

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

روغنی به صورت باند با کربوهیدرات‌ها یا پپتیدها می‌باشد(۲۵ و ۲۶). از بین ویتامین‌های گروه (ب) نقش متابولیکی و اصلی ویتامین پیریدوکسین را می‌توان در متابولیسم آمینواسیدهای گوگرددار و فعال کردن آنزیم‌های مربوط به این واکنش‌ها بحث کرد. در مسیر متابولیسم متیونین و سیستئین جهت اتصال دو مولکول هوموسیستئین به هم و تشکیل یک مولکول سیستاتیونین، پیریدوکسال فسفات موجب فعال شدن آنزیم این واکنش یعنی سیستاتیونین سنتتاز می‌شود. همچنین آنزیم واکنش تبدیل سیستاتیونین به آلفا کتوبوتیریت یعنی سیستاتیونیناز توسط این ویتامین فعال می‌گردد. همچنین در واکنش‌های انتقال عامل گوگرد (ترانس سولفوراسیون) و گوگردزدایی (دسولفوراسیون) که اکثراً جهت سنتز آمینواسیدهای گوگرد دار از منابع غیر آلی گوگرد توسط میکروارگانیسم انجام می‌پذیرد ویتامین پیریدوکسین به عنوان کوآنزیم اصلی عمل می‌کند، که در آن سولفیت اکسیداز توسط پیریدوکسال فسفات فعال می‌شود (۲۰ و ۲۹). طبق گزارشات هانگیت (۱۲) در گوسفند و گاو تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱ تا ۱/۵ میکروگرم پیریدوکسین در هر گرم ماده خشک به طور متوسط ۱۰ میکروگرم ویتامین پیریدوکسین به ازای هر گرم از محتویات خشک شکمبه سنتز می‌گردد.

هدف از انجام این مطالعه، تاثیر سطوح مختلف گوگرد و ویتامین پیریدوکسین بر روی تولید پروتئین میکروبی در شکمبه بره‌های نژاد قزل تحت شرایط طبیعی[1] و آزمایشگاهی[2] و ترکیب شیمیائی خونی و مایع شکمبه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

۱- آزمایشات در شرایط آزمایشگاهی

در مرحله اول تحقیق تاثیر سطوح مختلف گوگرد غیر آلی و ویتامین پیریدوکسین بر روی تولید پروتئین میکروبی تحت شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام آزمایش از دو راس بره نر نژاد قزل بومی منطقه خوی واقع در آذربایجانشرقی و به وزن اولیه (۴/۵±۵۰ کیلوگرم) استفاده گردید. گوسفندها به مدت ۱۵روز تحت شرایط تحقیق قرار گرفته و پس از انجام مراحل کنترل‌های بهداشتی لازم، سم چینی و خوراندن داروی ضد انگل تحت عمل جراحی قرارگرفته و فیستول‌هایی با قطر ۴۵ و طول ۹۵ میلی‌متر روی دیواره شکمبه ناحیه چپ آنها قرارداده شد. دام‌ها پس از انجام مراقبت‌های لازم برای بهبودی، در قفس‌های متابولیکی (به ابعاد ۱۵×۷۰×۱۲۰ سانتیمتر) قرار داده شدند. بره‌ها با استفاده از جیره ۱ که براساس جداول استاندارد غذایی NRC (۱۹۸۵) و AFRC (۱۹۹۱) تنظیم شده بود، تغذیه شدند (۲ و ۱۷). تهیه مایع شکمبه از گوسفندان فیستول گذاری شده حدود یک ساعت قبل از خوراک دادن وعده صبح و با استفاده از پمپ خلاء و ارلن تخلیه صورت می‌گرفت. جهت تهیه محیط‌های کشت از بطری‌های سرم۱۲۰ میلی لیتر دارای درب پلاستیکی و پوشش آلومینیومی استفاده می‌گردید. ظروف پس از استریلیزه شدن توسط اتوکلاو توزین شده و وزن آنها یادداشت می‌شد، سپس مقادیر ثابت از نشاسته، سلولز و اوره به ترتیب شامل: ۵۰۰، ۵۰۰، ۶۴/۴ میلی‌گرم و مقادیر متغیر از ویتامین پیریدوکسین و سولفات سدیم (طبق جدول زیر) به داخل ظروف ریخته و تحت شرایطی که گاز دی‌اکسیدکربن به داخل ظروف وارد می‌شد مایع شکمبه صاف شده به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر به شیشه‌ها اضافه می‌شد (۱۸).درب ظروف پس ازآماده شدن محکم شده و در داخل انکوباتور حاوی دی‌اکسیدکربن با درجه حرارت ۳۹ درجه سانتیگراد قرار داده می‌شد. سپس ظروف در فواصل زمانی۰ و ۲ و ۶ و ۱۲ و ۲۴ ساعت انکوباسیون از انکوباتور خارج گردیده و عملیات و تجزیه‌های لازم روی نمونه‌های مربوطه انجام می‌گرفت.

الف - تیمارهای مربوط به سطوح مختلف گوگرد:

تیمار (۱) :۱۰۰ میلی لیتر مایع شکمبه + ۵۰۰ میلی گرم نشاسته+ ۵۰۰ میلی گرم سلولز + ۶۴/۴ میلیگرم اوره معادل۳۰ میلیگرم نیتروژن

1. in vivo
2 . in vitro

تیمار (۲): ۱۰۰میلی لیتر مایع شکمبه + سطوح ثابت مواد اولیه تیمار (۱) + ۱ میلی گرم گوگرد، (۱ : ۳۰ = N : S)
تیمار (۳): ۱۰۰میلی لیتر مایع شکمبه + سطوح ثابت مواد اولیه تیمار (۱) + ۲ میلی گرم گوگرد، (۱ : ۱۵ = N : S)
تیمار (۴): ۱۰۰میلی لیتر مایع شکمبه + سطوح ثابت مواد اولیه تیمار (۱) + ۳میلیگرم گوگرد، (۱ : ۱۰ = N : S)
ب - تیمارهای مربوط به سطوح مختلف گوگرد به علاوه ویتامین پیریدوکسین:
تیمار (۵): ۱۰۰میلی لیتر مایع شکمبه + سطوح ثابت مواد اولیه تیمار (۱) + ۱میلی گرم گوگرد + ۰/۰۱ میلی گرم پیریدوکسین
تیمار (۶): ۱۰۰میلی لیتر مایع شکمبه + سطوح ثابت مواد اولیه تیمار (۱) + ۲میلی گرم گوگرد + ۰/۱ میلی گرم پیریدوکسین
تیمار (۷): ۱۰۰میلی لیتر مایع شکمبه + سطوح ثابت مواد اولیه تیمار (۱) + ۳میلی گرم گوگرد + ۱ میلی گرم پیریدوکسین

در پایان هر فاصله زمانی از انکوباسیون چهار عدد ظرف حاوی محیط کشت را خارج کرده و محتویات ظروف را با استفاده از دستگاه سانتریفوژ با دور g ×۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ نموده و مایع رویی حاصله مجدداً به مدت ۲۰ دقیقه با دور g ×۲۰۰۰۰ سانتریفوژ شده تا باکتری‌ها در ته ظروف ته نشین شوند. مایع رویی حاصل از مرحله دوم سانتریفوژ را با استفاده از پیپت به داخل بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتر منتقل کرده و پس از اندازه‌گیری pH، هر نمونه جهت تعیین NH_3 و SH_2 در دمای۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری می‌شد. جهت تعیین میزان پروتئین میکروبی، بقایای حاصل در ته ظرف را پس از توزین، با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ با دو بار تکرار به داخل فلاسک مخصوص دستگاه میکروکجلدال اتوماتیک منتقل کرده و اندازه‌گیری پروتئین خام صورت می‌گرفت.

طرح آماری مورد استفاده در مرحله آزمایشات آزمایشگاهی از نوع بلوک‌های کامل تصادفی با ۷ تیمار آزمایشی (سطوح مختلف گوگرد و گوگرد + پیریدوکسین) در ۴ تکرار (۴ ظرف محیط کشت) و هر بلوک شامل ۵ فاصله زمانی بود که اثرات مواد اولیه مذکور بر روی میزان تولید پروتئین میکروبی، میزان NH_3، pH وSH_2 مورد مقایسه قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصله توسط نرم‌افزارهای آماری (SPSS/11.5 , SAS/1988) و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون دانکن انجام پذیرفت (۱ و ۲۷).

۲-آزمایشات در شرایط طبیعی

در این مرحله از تعداد ۴راس بره نرنژاد قزل با میانگین وزن زنده (۳ ± ۳۵ کیلوگرم) استفاده گردید و همانند آزمایش اول عملیات بهداشتی، سم چینی و ... روی آنها انجام گرفت. گوسفندان پس از انتقال به داخل قفس‌های متابولیکی به مدت ۲۰ روز با جیره آزمایشی تغذیه شدند تا به محیط آزمایش و قفس متابولیکی عادت کنند. با توجه به طرح آزمایشی مورد استفاده در این مرحله یعنی طرح چرخشی تعداد ۷ نوع جیره غذایی (مطابق جداول استاندارد غذایی (۱۹۸۵) NRC و (۱۹۹۱) AFRC) تنظیم شدند، به طوری که تمام جیره‌های آزمایشی از لحاظ انرژی، پروتئین و سایر مواد مغذی با هم برابر بوده و فقط سطوح مختلفی از گوگرد به صورت سولفات سدیم و گوگرد به علاوه پیریدوکسین هیدروکلراید به جیره‌های آزمایشی افزوده گردید. درصد مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جداول ۱، ۲ و ۳ ارائه شده است.

جدول ۱ - درصد مواد خوراکی در ترکیب جیره های با سطوح مختلف گوگرد (بر اساس ماده خشک)

ماده خوراکی (درصد)	جیره آزمایشی ۱	۲	۳	۴
کاه گندم	۳۲/۳	۳۲/۳	۳۲/۳	۳۲/۳
دانه جو	۶۰	۶۰	۶۰	۶۰
اوره	۲	۲	۲	۲
مکمل مواد معدنی[۱]	۰ / ۵	۰ / ۵	۰ / ۵	۰ / ۵
مکمل ویتامینی[۲]	۰ / ۵	۰ / ۵	۰ / ۵	۰ / ۵
نمک	۰ / ۵	۰ / ۵	۰ / ۵	۰ / ۵
کربنات کلسیم	۱	۱	۱	۱
زئولیت[۳]	۱ / ۶	۱ / ۵۲	۱ / ۴	۱
بی کربنات سدیم[۴]	۱/۶	۱/۵	۱/۳۵	۱
سولفات سدیم[۵]	-	۰/ ۱۸	۰/۴۵	۱/ ۲
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

۱- تـرکیب مـکمل مواد معدنی عبارت است از : کلسیم ۱۹/۶ ٪، فسفر ۹/۶ ٪، سـدیم ۴/۶ ٪، منیزیم ۱/۹ ٪، روی ۰/۳ ٪، آهن ۰/۳ ٪، منگنز ۰/۲ ٪، مس ۰/۰۳ ٪، کبالت ۰/۰۱ ٪، ید ۰/۰۱ ٪، سلنیم ۰/۰۰۱ ٪

۲ - ترکیب هر کیلوگرم مکمل ویتامین عبارت است از : ویتامین A ۱۵۰۰۰۰۰ واحد، D_3 ۳۰۰۰۰۰ واحد و E ۳۰۰ واحد

۳ - به منظور یکسان شدن انرژی و پروتئین جیره‌های آزمایشی از مقادیر متفاوت زئولیت استفاده گردید.

۴ - به علت افزایش سدیم جیره‌های حاوی سولفات سدیم (با ۱۴ ٪ سدیم) جهت برابری میزان سدیم جیره‌ها از مقادیر متفاوت بی‌کربنات سدیم استفاده گردید .

۵ - سولفات سدیم بدون آب خالص (Merck) حاوی ۲۲٪ گوگرد.

جدول ۲ : درصد مواد خوراکی در ترکیب جیره های با سطوح مختلف گوگرد بعلاوه پیریدوکسین (بر اساس ماده خشک)

ماده خوراکی (درصد)	جیره آزمایشی ۵	۶	۷
کاه گندم	۳۲/۳	۳۲/۳	۳۲/۳
دانه جو	۶۰	۶۰	۶۰
اوره	۲	۲	۲
مکمل مواد معدنی	۰ / ۵	۰ / ۵	۰ / ۵
مکمل ویتامینی	۰ / ۵	۰ / ۵	۰ / ۵
نمک	۰ / ۵	۰ / ۵	۰ / ۵
کربنات کلسیم	۱	۱	۱
زئولیت	۱/۴۲	۰/۹	—
بی کربنات سدیم	۱/۵	۱/۳۵	۱
سولفات سدیم	۰/ ۱۸	۰/۴۵	۱/ ۲
مکمل پیریدوکسین هیدروکلراید	۰/۱	۰/۵	۱
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

۱ - مکمل پیریدوکسین حاوی ۱۰ میلیگرم در کیلوگرم ویتامین پیریدوکسین هیدروکلراید می‌باشد.

- مـقادیر انرژی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی جدول (۲) مطابـق جدول (۳) می‌بـاشد، فقط مقادیر میزان ویتامین پیریدوکسین برای جیره‌های آزمایشی ۵، ۶ و ۷ به ترتیب عبارت است از : ۱۱/۸، ۵۱/۸ و ۱۰۱/۸ میلیگرم در کیلوگرم ماده خشک جیره .

جدول ۳ - مقادیر انرژی و مواد مغذی جیره های آزمایشی با سطوح مختلف گوگرد (بر اساس ماده خشک)

جیره آزمایشی انرژی و مواد مغذی	۱	۲	۳	۴
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم)	۲ / ۳۵	۲ / ۳۵	۲ / ۳۵	۲ / ۳۵
انرژی قابل متابولیسم تخمیری (مگاژول در کیلوگرم)	۹ / ۱	۹ / ۱	۹ / ۱	۹ / ۱
پروتئین خام (درصد) [1]	۱۴/۲۵	۱۴/۲۵	۱۴/۲۵	۱۴/۲۵
پروتئین قابل متابولیسم (گرم در کیلوگرم)	۸۴/۵	۸۴/۵	۸۴/۵	۸۴/۵
پروتئین قابل تجزیه موثر در شکمبه (گرم در کیلوگرم)	۱۱۴	۱۱۴	۱۱۴	۱۱۴
پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه قابل هضم در روده (گرم در کیلوگرم)	۱۱/۹	۱۱/۹	۱۱/۹	۱۱/۹
نیتروژن (درصد) [1]	۲/۲۸	۲/۲۸	۲/۲۸	۲/۲۸
گوگرد (در صد) [1]	۰/۱۲	۰/۱۶	۰/۲۲	۰/۳۸
نسبت نیتروژن به گوگرد	۱۹ :۱	۱۴ : ۱	۱۰: ۱	۶ : ۱
کلسیم (درصد)	۰/۶۱	۰/۶	۰/۶	۰/۵۸
فسفر (درصد)	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
سدیم (درصد)	۰/۷۱	۰/۷۱	۰/۷۱	۰/۷۲
پتاسیم (درصد)	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵
کلر (درصد)	۰/۵۱	۰/۵۱	۰/۵۱	۰/۵۱
اختلاف کاتیون- آنیون جیره [2] (میلی اکی والان درکیلوگرم)	۲۸۰/۲	۲۵۵/۲	۲۱۷/۷	۱۱۷/۶
دیواره سلولی بدون همی سلولز	۲۳/۳	۲۳/۳	۲۳/۳	۲۳/۳

۱ - مقادیر نیتروژن، گوگرد جیره‌های آزمایشی به صورت تجزیه آزمایشگاهی تعیین گردیده است.

۲- اختلاف کاتیون - آنیون جیره‌ها از طریق فرمول : $DCAD = (Na + k) - (Cl + S)$ محاسبه گردیده است.

در طول مدت آزمایش در اواسط هر دوره نمونه‌هایی از خوراک و جیره‌های مصرفی روزانه (۴نمونه) برداشته شده و در آزمایشگاه میزان ماده خشک، گوگرد، نیتروژن و مواد آلی جیره‌ها تعیین می‌گردید. جهت اندازه‌گیری میزان سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه از روش پیشنهادی چن و همکاران استفاده گردید، در این روش پورین‌های موجود در ادرار به عنوان محصول نهایی جذب پورین‌ها در نظر گرفته می‌شود (۷ و ۹). از نمونه‌های ادراری جمع‌آوری شده جهت اندازه‌گیری مشتقات پورینی مقدار ۵۰ میلی‌لیتر برداشته و میزان نیتروژن آنها تعیین می‌گردید. در این تحقیق اندازه‌گیری مشتقات پورینی بر اساس روش پیشنهادی واترز و با استفاده از دستگاه HPLC صورت گرفت. از معادلات چن و همکاران (۷) جهت تخمین میزان سنتز پروتئین میکروبی از روی مشتقات پورینی دفعی روزانه در گوسفند استفاده گردید. با توجه به اینکه میزان نیتـروژن پورین‌های میکروبی برابر۷۰ میلی‌گرم در میلی‌مول بوده و نسبت نیتروژن پورینی به کل نیتروژن میکروبی برابر ۱۱/۶ به ۱۰۰ می‌باشد لذا میزان نیتروژن میکروبی وارد شده از شکمبه به روده کوچک گوسفند بر حسب گرم نیتروژن در روز با استفاده از معادله زیر محاسبه میگردد : (پورین جذب شده) × ۰/۷۲۷ = نیتروژن میکروبی (گرم در روز)

پس از تعیین کل مشتـقات پورینی دفع شده در روز به شکل میلی‌مول در لیتر ادرار و با توجه به نسبت نیتروژن در هر مولکول مواد پورینـی (۷۰ میلی‌گرم در میلی‌مول)، مقدار نیتروژن مشتقات پورینی دفع شده[1] بر اساس میلی‌گرم در لیتر ادرار محاسبه گردید. سپـس مقدار شاخص نیتروژن پورینی[2] نمونه‌ها از تقسیم مقدار نیتروژن مشتقات پورینی (PDN) به کل نیتروژن ادرار[3] تعیین می‌شد.

$$PNI = PDN\ (mg/L)\ /\ UN\ (mg/L)$$

1. Purine derivative nitrogen = PDN
2. Purine nitrogen index = PNI
3. Urine nitrogen = UN

طرح مورد استفاده از نوع چرخشی با ۷ جیره آزمایشی (۴ جیره سطوح مختلف گوگرد و ۳ جیره سطوح مختلف گوگرد به علاوه پیریدوکسین) در طی ۸ دوره و هر دوره شامل ۴ واحد آزمایشی (گوسفند) به عنوان تکرارها بود. کلیه داده‌های حاصله شامل کل مشتقات پورینی، میزان تولید پروتئین میکروبی، شاخص نیتروژن پورینی و متابولیت‌های خونی توسط نرم‌افزارهای آماری SPSS/11.5 و SAS/1988 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون دانکن انجام شد (۱۹).

نتایج و بحث

۱- آزمایشات در شرایط آزمایشگاهی

۱-۱ - ماده خشک و پروتئین خام میکروبی سنتز شده

تاثیر سطوح مختلف گوگرد و گوگرد به علاوه پیریدوکسین اضافه شده به محیط‌های کشت روی ماده خشک میکروبی سنتز شده معنی‌دار بوده ($p<۰/۰۵$) و بین تمامی تیمارهای آزمایشی از این لحاظ اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۴). میانگین این صفت در محیط‌های کشت برای تیمارهای ۱ تا ۷ به ترتیب برابر ۷۰/۹، ۸۲/۶، ۹۳/۶، ۱۰۳، ۱۰۵، ۱۳۲ و ۱۳۲ میلی‌گرم در دسی لیتر اندازه‌گیری شد. بیشترین ماده خشک میکروبی تولید شده (توده میکروبی) در بین سطوح مختلف گوگرد مربوط به مقدار ۳ میلی‌گرم گوگرد در۱۰۰ میلی‌لیتر مایع محیط کشت بوده که میزان آن برابر با ۱۰۳ میلی‌گرم در ۱۰۰میلی‌لیتر و کمترین مقدار مربوط به محیط کشت فاقد مکمل گوگرد بود (۷۰/۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر). بیشترین سنتز پروتئین میکروبی در تیمارهای گوگرددار مربوط به تیمار ۴ (مقدار۳ میلی‌گرم گوگرد در دسی‌لیتر) می‌باشد که برابر ۶۶/۱میلی‌گرم پروتئین خام میکروبی بود، که در این محیط نسبت نیتروژن به گوگرد برابر ۱۰ به ۱ بود. همچنین بیشترین مقدار پروتئین میکروبی در محیط‌های حاوی گوگرد به علاوه پیریدوکسین مربوط به تیمار۶ (حاوی ۲میلی‌گرم گوگرد و۰/۱میلی‌گرم پیریدوکسین) و برابر ۸۵/۵ میلی‌گرم می‌باشد که نسبت نیتروژن به گوگرد در این تیمار نیز۱۰ به ۱ بود. جدول ۵ بیان کننده اثر زمان انکوباسیون بر روی تولید پروتئین خام میکروبی است، بین تمامی دوره‌های انکوباسیون اثرات معنی‌دار مشاهده می‌گردد ($p<۰/۰۵$). در۱۲ساعت بعد از انکوباسیون بیشترین مقدار پروتئین خام میکروبی (۸۶/۷ میلی‌گرم در ۱۰۰میلی‌لیتر) مشاهده می‌گردد. با توجه به نتایج اکثر محققین که نسبت‌های ۱۲ به ۱ و ۱۰ به ۱ از نیتروژن به گوگرد را در جهت افزایش بازدهی سنتز میکروبی توصیه می‌نمایند (۳، ۶، ۱۱ و ۲۳). اما دوراند (۱۱) گزارش کرد که جهت بهبود بازده سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه باید نسبت نیتروژن به گوگرد در محدوده ۱۴/۲ تا ۲۰ به ۱ باشد که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت ندارد.

جدول ۴. تأثیر سطوح مختلف گوگرد و گوگرد بعلاوه پیریدوکسین بر پروتئین باکتریایی سنتز شده و سایر صفات اندازه‌گیری شده تحت شرایط *in vitro*

	تیمارهای آزمایشی									
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷			
	سطوح گوگرد[1]				سطوح گوگرد + پیریدوکسین[1]					
صفت اندازه‌گیری شده	۰	۱	۲	۳	۱+۰/۰۱	۲+۰/۱	۳+۱	SE	F
ماده خشک باکتریایی سنتزشده (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۷۰/۹^{a}	۸۲/۶^{b}	۹۳/۶^{c}	۱۰۳^{d}	۱۰۵^{d}	۱۳۲^{e}	۱۳۲^{e}	۴/۵۶	۵۶۶/۲۴**
پروتئین خام باکتریایی سنتزشده (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴۴/۱^{a}	۵۲/۱^{b}	۵۹^{c}	۶۶/۱^{d}	۶۷^{d}	۸۵/۵^{e}	۸۴/۱	۳/۲۶	۴۳۹/۶۶**
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۲۹/۹^{d}	۲۶/۳^{cd}	۲۲/۹^{bc}	۲۰/۷^{ab}	۲۰/۳^{ab}	۱۶/۹^{a}	۲۲/۲^{abc}	۲/۰۵	۵/۲۷**
ئیدروژن سولفور (میلی‌گرم در لیتر)	۱/۵^{a}	۲/۳^{c}	۳/۷^{e}	۳/۸^{e}	۲^{b}	۲/۷^{d}	۲/۷^{d}	۰/۱۱۳	۱۴/۵۹**
pH	۶/۴۴^{e}	۶/۳۷^{d}	۶/۲۸^{c}	۶/۱۸^{b}	۶/۱۵^{b}	۶/۰۶^{a}	۶/۱۲^{b}	۰/۰۲۷	۳۶/۱۸**

جدول ۵ : تأثیر زمان انکوباسیون بر مقادیر پروتئین باکتریایی سنتز شده و سایر صفات اندازه گیری شده تحت شرایط in vitro

صفت اندازه‌گیری شده	مدت زمان انکوباسیون (ساعت)					SE	F	اثر متقابل تیمار با زمان انکوباسیون
	۰	۲	۶	۱۲	۲۴			
ماده خشک باکتریایی سنتزشده (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴۶/۵[a]	۱۰۵/۷[b]	۱۲۲/۱[c]	۱۳۴[d]	۱۰۶/۵[b]	۳/۸۵	۱۶۱۸/۱۹**	**
پروتئین خام باکتریایی سنتزشده (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۲۸/۹[a]	۶۵/۵[b]	۷۷/۹[d]	۸۶/۷[e]	۶۷/۹[c]	۲/۷۵	۱۲۶۱/۱۲**	**
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۴/۸[a]	۲۷/۴[c]	۲۴[bc]	۲۱/۳[b]	۲۶[c]	۱/۷۳	۹/۹۲**	**
ئیدروژن سولفور (میلی‌گرم در لیتر)	۱/۸۵[a]	۲/۹۱[c]	۳/۲۵[e]	۳/۰۲[d]	۲/۴۹[b]	۰/۰۹۶	۳۰۳/۷۵**	**
pH	۶/۷۸[d]	۶/۲۴[c]	۶/۰۶[b]	۵/۹۶[a]	۶/۱[b]	۰/۰۲۳	۲۷۳/۸۶**	*

۱ - سطوح مختلف گوگرد و پیریدوکسین برحسب میلی گرم در دسی لیتر محیط کشت می باشد .

- میانگین‌های عددی دارای حروف متفاوت در هر سطر دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ($P < ۰/۰۵$) می‌باشند.

** - اختلاف معنی‌دار در سطح ($P < ۰/۰۱$).

* - اختلاف معنی‌دار در سطح ($P < ۰/۰۵$).

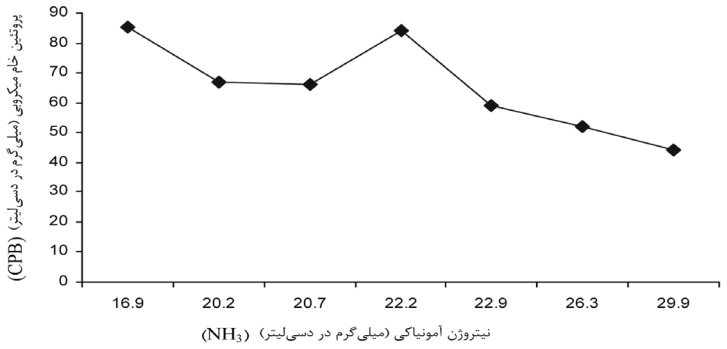
۱-۲- pH، NH_3 و SH_2 محیط‌های کشت

بین تیمار۴ از گوگرد با ۵ و ۷ از گوگرد به علاوه پیریدوکسین اختلاف معنی‌داری از لحاظ تأثیر بر روی pH مشاهده نگردید (جدول ۴). ولی بین سایر سطوح اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p< ۰/۰۵$). به نحوی که با افزایش نسبت گوگرد در محیط‌های کشت و همچنین ویتامین پیریدوکسین میزان pH کاهش نشان می‌داد. حداقل pH مربوط به محیط کشت حاوی ۲ میلی گرم گوگرد و۰/۱ میلیگرم پیروکسین و حداکثر آن در محیط حاوی فقط گوگرد (برابر۱ میلی گرم) بوده، با توجه به داده‌های جدول ۵ می‌توان اظهار داشت که با گذشت زمان انکوباسیون به دلیل افزایش جمعیت میکروبی محیط‌های کشت و افزایش تخمیر میکروبی و تولید اسیدهای چرب فرار، میزان pH کاهش می‌یابد به طوری که حداقل pH مربوط به زمان ۱۲ ساعت بعد از انکوباسیون و برابر ۵/۹۶ بوده و بین ساعات ۶ و ۲۴ ساعت بعد از انکوباسیون اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ولی بین سایر زمان‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید و به ترتیب برای ساعات (۰، ۲، ۶، ۱۳ و ۲۵) انکوباسیون مقادیر pH برابر (۶/۸۷، ۶/۲۴، ۶/۰۶، ۵/۹۶ و ۶/۱) تعیین گردید. pH شکمبه به عنوان یک عامل مهم در احیاء گوگرد توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه محسوب می‌شود و تشکیل یون گوگرد در pH بالای ۶ بهتر انجام می‌پذیرد (۴). از طرف دیگر منابع کربوهیدراتی با سرعت تخمیر بالا به دلیل افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه و تأمین H^+ موجب کاهش pH می‌گردند. همچنین با افزایش سطح گوگرد جمعیت میکروبی شکمبه افزایش یافته و با افزایش سرعت تخمیر، pH در محیط شکمبه یا محیط‌های کشت کاهش می‌یابد (۱۴). با افزایش سطح گوگرد و پیریدوکسین میزان NH_3 در محیط کاهش می‌یابد. حداکثر نیتروژن آمونیاکی در محیط‌های کشت مربوط به محیط فاقد مکمل گوگرد و برابر۲۹/۹ میلیگرم در دسی لیتر و حداقل آن در محیط کشت حاوی ۲ میلی گرم گوگرد به علاوه ۰/۱ میلیگرم پیریدوکسین که میزان آن برابر ۱۶/۹ میلیگرم در دسی لیتر می‌باشد. همچنین بین مقادیر نیتروژن آمونیاکی (NH_3) در محیط‌های کشت و میزان پروتئین خام میکروبی سنتزشده (CPB) یک رابطه تابعیت وجود داشت، که معادله آن به صورت ذیل می‌باشد(شکل ۱). بین نیتروژن آمونیاکی (NH_3) و پروتئین خام میکروبی سنتزشده (CPB) ضریب همبستگی (r) و (r^2) به ترتیب برابر ۰/۸۵ و ۰/۷۲ تعیین گردید .

$$CPB = ۱۳۴/۹۵۹ - ۳/۰۵۵\ NH_3$$

با توجه به اینکه اکثر باکتری‌های سلولولیتیک جهت رشد به نیتروژن آمونیاکی نیاز دارند لذا تامین این منبع نیتروژنی توأم با سایر مواد مغذی مورد نیاز این گروه از باکتری‌ها موجب افزایش رشد میکروبی می‌گردد. به طوری که اکثر محققین از جمله نولته و همکاران (۱۶) اظهار داشته‌اند که سطوح مختلف نیتروژن غیرپروتئینی اثرات معنی‌داری بر روی سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه دارد. همچنین چو و همکاران (۱۰) با بررسی نسبت‌های مختلف نیتروژن به گوگرد بر روی سنتز پروتئین میکروبی گزارش کردند که میانگین NH_3 مایع شکمبه برای نسبت‌های۱۰ به ۱، ۱۵ به ۱ و ۲۰ به ۱ به ترتیب برابر ۱۶/۲۹، ۱۷/۱۶ و ۱۸/۰۴ می‌باشد که مناسب‌ترین نسبت نیتروژن به گوگرد جهت افزایش سنتز پروتئین میکروبی مربوط به نسبت ۱۰ به ۱ می‌باشد (۱۰)، که با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت دارد.

$$CPB = ۱۳۴/۹۵۹ - ۳/۰۵۵\ NH_3$$



شکل ۱. رابطه تابعیت بین میزان پروتئین خام میکروبی سنتزشده ونیتروژن آمونیاکی در محیط‌های کشت

مقدار SH_2 تولید شده در محیط‌های کشت به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف گوگرد افزوده شده قرار می‌گیرد و بیشترین میزان SH_2 تولید شده مربوط به تیمار ۴ (حاوی ۳ میلیگرم گوگرد در ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت) بوده و برابر ۳/۸ میلیگرم در لیتر می‌باشد و بین دو تیمار ۳ و ۴ (حاوی فقط گوگرد) و ۶ و ۷ (حاوی گوگرد به علاوه پیریدوکسین) اختلاف معنی‌داری از لحاظ میزان SH_2 وجود نداشت (جدول۴). تولیـد SH_2 در شرایطی که میکروارگانیسم‌های شکمبه به منابع کربوهیدراته قابل دسترس و زود تخمیر دسترسی داشته باشند، افزایش می‌یابد و با کاهش pH میزان SH_2 تولیدی افزایش می‌یابد (۴)، به طوری که در تحقیق حاضر با کاهش pH از ۶/۴۴ به ۶/۰۶ میزان SH_2 از ۱/۵ به ۲/۷ میلیگرم در لیتر افزایش می‌یابد که مطابق نتایج مذکور می‌باشد.

۲ - آزمایشات در شرایط طبیعی

۲-۱- مشتقات پورینی و نیتروژن میکروبی سنتز شده

با افزایش سطح گوگرد مقدار کل مشتقات پورینی دفعی از طریق ادرار افزایش می‌یابد و این افزایش در جیره‌های حاوی پیریدوکسین نسبت به گوگرد محسوس می‌باشد. تأثیر جیره‌های آزمایشی بر روی هر یک از مشتقات پورینی (آلانتوئین، هیپوگزانتین، گزانتین و اسیداوریک) نیز معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$)، (جدول۶). در گوسفند از کل مشتقات پورینی دفعی روزانه ۶۰ تا۸۰ درصد آلانتوئین، ۱۰ تا۳۰ درصد اسید اوریک و ۵ تا ۱۰ درصد مجموع گزانتین و هیپوگزانتین می‌باشد، مطابق گزارشات مختلف (۸، ۹، ۲۷) و تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی متفاوت، مقادیر مشتقات پورینی دفعی از طریق ادرار گوسفند برابر (آلانتوئین:۴/۶۱ تا ۱۳/۵۷، اسیـداوریک: ۰/۹۴ تا ۱/۸۴ و گزانتین به علاوه هیپوگزانتین: ۰/۱۸ تا ۱/۳۴ میلی‌مول در روز) می‌باشد. به طوری که در تحقیق حاضر مقادیر آلانتوئین، اسید اوریک و مجموع گـزانتین و هیپوگزانتین به ترتیب در محدوده ۵/۰۷ تا ۱۱/۰۹، ۰/۶۳ تا ۱/۱۵ و ۰/۵۳ تا ۰/۸۶ می‌باشد و با یافته‌های فوق مطابقت دارد.

حداکثرنیتروژن میکروبی سنتز شده مربوط به جیره۶ (حاوی۰/۲۲درصدگوگرد و ۵۱/۸ میلیگرم در کیلوگرم پیریدوکسین) و برابر۹/۵۲ گرم در روز بوده و حداقل آن برابر ۴/۵۳ میلی‌گرم در روز و مربوط به جیره ۱(حاوی۰/۱۲درصد گوگرد) می‌باشد (جدول۷). نتایج نشان می‌دهد که مناسب‌ترین نسبت نیتروژن به گوگرد جـهت افزایش سنتز پروتئین میکروبی نسبت۱۰ به۱ می‌باشد (۱۰) که در تحقیق حاضرمقدار نیتروژن میکروبی سنتز شده نسبت۱۰ به ۱ برای جیره‌های حاوی گوگرد وگوگرد به علاوه پیریدوکسین به ترتیب برابر ۶/۷۸ و ۹/۵۲ گرم در روز بود. حداکثر نیتروژن میکروبی سنتز شده به صورت گرم به ازای کیلوگرم

مواد آلی قابل هضم تخمیر شده در شکمبه[1] مربوط به جیره ۶ با نسبت نیتروژن به گوگرد۱۰ به ۱ و حاوی مقدار گوگرد و پیریدوکسین به ترتیب برابر۰/۲۲ درصد و ۵۱/۸ میلیگرم در کیلوگرم می‌باشد. بین جیره‌های ۳، ۴ و ۵ از این نظر اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۷). همچنین مطابق گزارشات کندیلس (۱۳) که با نتایج این تحقیق هم خوانی دارد میزان بازده تولید نیتروژن میکروبی به ازای هر کیلوگرم (DOMR) به ترتیب برای جیره‌های شاهد بدون مکمل گوگرد و اوره و جیره‌های حاوی گوگرد و اوره برابر ۱۱/۱و۲۰/۲ گرم بود.

جدول۶: تأثیر سطوح مختلف گوگرد و گوگرد بعلاوه پیریدوکسین بر کل مشتقات پورینی

صفت اندازه‌گیری شده	جیره‌های آزمایشی								انحراف معیار	F
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷			
	سطوح گوگرد[1]				سطوح گوگرد+پیریدوکسین[1]					
	۰/۱۲	۰/۱۶	۰/۲۲	۰/۳۸	۰/۱۶+۱۱/۸	۰/۲۲+۵۱/۸	۰/۳۸+۱۰۱/۸			
آلانتوین (میلی‌مول در روز)	۵/۰۷^{a}	۶/۶۹^{c}	۷/۷^{d}	۵/۹۷^{b}	۸/۰۱^{d}	۱۱/۰۹^{d}	۵/۸۹^{b}		۲	۸۲/۲۸**
هایپوگزانتین (میلی‌مول در روز)	۰/۳۵^{a}	۰/۳۴^{a}	۰/۵^{c}	۰/۳۲^{a}	۰/۴۵^{bc}	۰/۵^{c}	۰/۳۰^{a}		۰/۰۸۶	۸/۲۷**
گزانتین (میلی‌مول در روز)	۰/۱۸^{a}	۰/۲^{ab}	۰/۳^{cd}	۰/۱۸^{a}	۰/۲۸^{bc}	۰/۳۶^{d}	۰/۲۱^{ab}		۰/۰۶۹	۸/۴۷**
اسیداوریک (میلی‌مول در روز)	۰/۶۳^{a}	۰/۷۶^{ab}	۰/۸۳^{ab}	۰/۶۹^{a}	۰/۹۶^{bc}	۱/۱۵^{bc}	۰/۶۵^{a}		۰/۱۸	۷/۳۹**
کل مشتقات پورینی (میلی‌مول در روز)	۶/۲۵^{a}	۸/۰۳^{c}	۹/۳۴^{d}	۷/۱۸^{b}	۹/۷^{d}	۱۳/۱^{e}	۷/۰۶^{b}		۲/۳۱	۷۹/۹۳**

اعداد دارای حروف متفاوت در هر سطر بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ($p < ۰/۰۵$) می‌باشد.

** در سطح ($p <۰/۰۱$) معنی دار می باشد.

۱ – مقادیر گوگرد (برحسب درصد ماده خشک) و پیریدوکسین (برحسب میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) می باشد.

جدول ۷: تأثیر سطوح مختلف گوگرد و گوگرد بعلاوه پیریدوکسین بر روی سنتز نیتروژن میکروبی و سایر صفات اندازه گیری شده

صفت اندازه‌گیری شده	جیره‌های آزمایشی							انحراف معیار	F
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷		
	سطوح گوگرد[1]				سطوح گوگرد + پیریدوکسین[1]				
	۰/۱۲	۰/۱۶	۰/۲۲	۰/۳۸	۰/۱۶ +۱۱/۸	۰/۲۲+۵۱/۸	۰/۳۸+۱۰۱/۸		
نیتروژن میکروبی سنتز شده[2] (گرم در روز)	۴/۵۳^{a}	۵/۸۳^{c}	۶/۷۸^{d}	۵/۲۱^{b}	۷/۰۵^{d}	۹/۵۲^{e}	۵/۱۳^{b}	۱/۶۸	۷۹/۴**
نیتروژن میکروبی سنتزشده(گرم به ازای کیلوگرم DOMR)	۱۰/۸۱^{a}	۱۲/۹۳^{bc}	۱۴/۶۴^{d}	۱۳/۰۷^{bcd}	۱۴/۲۶^{cd}	۱۸/۱^{e}	۱۱/۴۹^{ab}	۲/۴	۳۷/۷۳**
نیتروژن مشتقات پورینی[3] (میلی‌گرم در لیتر)	۶۴/۳۶^{a}	۸۱/۷۲^{b}	۱۰۵/۶۱^{c}	۷۷/۸۴^{b}	۱۰۹/۷۷^{c}	۱۴۶/۷۵^{d}	۷۵/۳۹^{ab}	۲۸/۲۸	۴۹/۸۸**
کل نیتروژن ادرار[4] (میلی‌گرم در لیتر)	۲۵۳۹/۳^{c}	۲۲۵۵/۵^{b}	۱۹۷۵^{a}	۲۳۷۵/۹^{b}	۲۳۰۸/۸^{b}	۲۰۴۵^{a}	۱۹۶۳/۶^{a}	۲۲۰/۱	۱۹/۰۱**
شاخص نیتروژن پورینی[5]	۰/۰۲۴^{a}	۰/۰۳۵^{ba}	۰/۰۵۳^{e}	۰/۰۳۲^{b}	۰/۰۴۷^{d}	۰/۰۷۱^{f}	۰/۰۳۸^{c}	۰/۰۱۵	۱۱۱/۸۵**

اعداد دارای حروف متفاوت در هر سطر بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ($p < ۰/۰۵$) می‌باشد.

۱ - مقادیر گوگرد (برحسب درصد ماده خشک) و پیریدوکسین (برحسب میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک) می باشد.

۲ - برآورد نیتروژن میکروبی سنتز شده از طریق معادله چن و همکاران (۷).

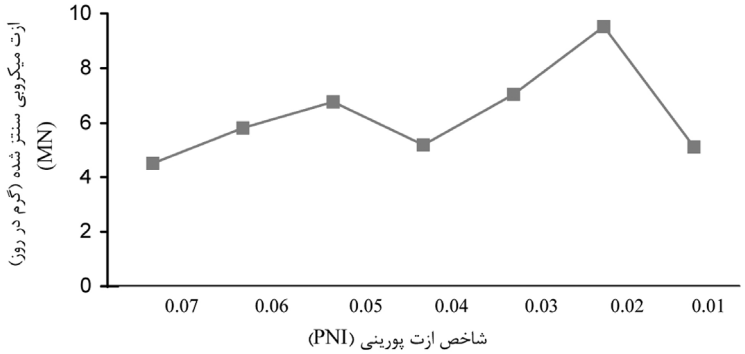
۳ - PDN ۴ – UN ۵ - PNI

1. Digestible Organic Matter Fermented in the Rumen = DOMR

۲-۲- شاخص نیتروژن پورینی

حداقل و حداکثر PNI به ترتیب مربوط به جیره‌های ۱ (فاقد مکمل) و ۶ (حاوی ۰/۲۲ درصد گوگرد و ۵۱/۸ میلی گرم در کیلوگرم پیریدوکسین) بوده و برابر ۰/۰۲۴ و ۰/۰۷۱ می‌باشد (جدول ۷). با افزایش سطح گوگرد در جیره‌های ۱ تا ۳ و پیریدوکسین در جیره ۵ تا ۷ افزایش شاخص نیتروژن پورینی مشاهده می‌شود. همچنین بین میزان نیتروژن میکروبی سنتزشده (MN) و شاخص نیتروژن پورینی (PNI) رابطه تابعیت به شکل ذیل وجود دارد که ضریب تابعیت در سطح (p<۰/۰۵) معنی‌دار می‌باشد (شکل ۲). بین PNI و MN یک همبستگی بالا (r^2 =۰/۹۴، r = ۰/۹۷) وجود دارد که در سطح (p<۰/۰۱) معنی‌دار بود.

$$PNI = ۱/۷۵۸ + ۱۰۴/۸۵۳\ MN$$



شکل ۲ : رابطه تابعیت بین نیتروژن میکروبی سنتز شده و شاخص نیتروژن پورینی

به طور کلی با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان گفت که مناسب‌ترین سطح نیتروژن آمونیاکی در مایع شکمبه جهت بهبود بازده سنتز پروتئین میکروبی در شرایط استفاده از منبع نیتروژن غیر پروتئینی (اوره) و منبع گوگرد معدنی (سولفات سدیم) در محدوده ۱۶/۹ تا ۲۲/۹ میلیگرم در دسی لیتر می‌باشد، سطح مطلوب گوگرد و پیریدوکسین در جیره‌های آزمایشی جهت افزایش بازده سنتز پروتئین میکروبی به ترتیب برابر ۰/۲۲ درصد و ۵۱/۸ میلیگرم در کیلوگرم ماده خشک تعیین گردید. همچنین جهت افزایش تولید پروتئین میکروبی علاوه بر رعایت نسبت نیتروژن به گوگرد ذکر شده، به ازای هر کیلوگرم از مواد آلی قابل هضم تخمیری در شکمبه (DOMR) مقادیر ۱۰۰ تا ۱۵۰ میلیگرم ویتامین پیریدوکسین، ۵ تا ۶/۵ گرم گوگرد و ۶۰ تا ۷۰ گرم نیتروژن (حدود $\frac{1}{3}$ آن از نوع نیتروژن غیر پروتئینی) می‌تواند موثر باشد.

سپاسگزاری

از مسئولین آزمایشگاه میکروبیولوژی و آزمایشگاه تغذیه دام دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و همچنین همکاری صمیمانهٔ دست‌اندرکاران ایستگاه تحقیقات کشاورزی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز که در به ثمر رسیدن این پژوهش ما را یاری کردند، کمال تشکر را دارم.

منابع و مآخذ

۱. یزدی صمدی، ب.، ع. رضائی و م. ولی‌زاده. ۱۳۷۶. طرح‌های آماری در پژوهش‌های کشاورزی، انتشارات دانشگاه تهران، ۷۶۴ صفحه.

2. AFRC. 1992. Nutrient requirements of ruminant animals: protein. Technical committee on responses to nutrients. Report No: 10. Nutrition Abstracts and Reviews. Series B, 62: 787 – 835.
3. AFRC. 1995. Energy and Protein Requirements of Ruminants. Technical Committee on Responses to Nutrients. CAB International. Wallingford, U.K.
4. Bray, A. C. and Till, A. R. 1975. Metabolism of sulfur in the gastrointestinal tract. In: Digestion and Metabolism in the Ruminant, Eds: McDonald, I.W. and Warner, A.C. I., p. 243 – 260. University of New England Publishing Unit, Armidale, Australia.
5. Bull, L. S. 1979. Sulfur nutrition of ruminants. In: The second Annual International Minerals Conference, pp. 111 – 130, International Minerals and Chemical Corp., Mundelein, IL.
6. Carneiro, H., Puchala, R., Owens, F. N., Sahlu, T., Qi, K. and Goestch, A. L. 2000. Effect of dietary sulfur level on amino acid concentration ruminal bacteria of goats. Small Ruminant Research, 37: 151 – 157.
7. Chen, X. B. and Gomes, M. J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and Cattle based on urinary excretion of purine derivatives an over view of technical details, Occasional publication, Rowette Research Institute, Aberdeen, UK
8. Chen, X.B., Orskov, E.R. and Hovell, F.D.DeB. (1990). Excretion of purine derivatives by ruminants: endogenous excretion, differences between cattle and sheep. Brit. J. Nutr., 63: 121 – 129
9. Chen, X.B., Orskov, E.R. and Hovell, F.D.DeB., 1991. The use of intragastric infusion in studies on excretion of purine derivatives as a measure of microbial protein supply in ruminants. Proceedings of the 6th International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition. Vol 2. p. 67 – 70.
10. Cho, N.K., Song. B. C. and Maeng, M. J. 1988. Effect of nitrogen sulfur ratio and cellulose starch ratio on the microbial protein synthesis and digestibilties of energy source. Korean Journal of dairy science. 10: 4, 151 – 158.
11. Durand, M. and Komisarczuk, K. 1988. Influence of major minerals on microbiota. Journal of Nutrition. 118: 249 – 259.
12. Hungate RE 1966, The rumen and its microbes, Academic press, New York and London.
13. Kandylis, K. and Bray, A. C. 1986. Effects of variation of dietary sulfur on movement of sulfur. Journal of Dairy science. 70: 40 - 49.
14. Kumaresan, A. 1976. Interactions entre le zinc et les microorganisms du rumen chez un mouton recevant de l'uree comme source unique d'azote. These Universite, Toulouse.
15. Mcdowell, L. R. 1992. Minerals in animal and human nutrition. New York: Academic press.
16. Nolte, J. V. E., Ferreira, A.V. and koster, H. H. 2000. Effect of different levels of supplemental N from urea on intake and utilization on wheat straw by nohne Merino wethers. South African Journal of Aniaml science. 30: 143 – 145.
17. NRC. 1985. Nutrient Requirements of Sheep. National Academy Press. Washington, D. C., U.S.A.
18. Paola, G., Stefanon, B., Mills, C.R. and susmel, P. 1997. Microbial amino acid yield from in vitro incubation of cellulose or starch with rumen fluid. Animal Feed science and technology. 67:3.
19. Patterson, H. D. and tucas, H. L. Change over design, tech. Bul. N. 147. Nourth Carolina.
20. Paul, H. 1995. PYRIDOXINE – VITAMIN B6. Journal of Australian College of Nutritional and Enviromental medicine. Vol: 14, 14 No. 1; 5 – 16.
21. Pouli, J. R., Jung, G. A. and Reid, R. L. 1990. Effects of Nitrogen and sulfur on digestion and nutritive quality of warm – season grass hays for cattle and sheep. Journal of Animal Science. 69: 843 – 852.
22. Preston, T. R. and Leng, R. A. 1984. Matching Livestock Production Systems to Available Resources. International Livestock Center for Africa, Addis Ababa, Ethiopia.

23. Qi, K., Lu, C. D. and Owens, F. N. 1993. Sulfate supplementation of growing goat: effect on performance, acid base balance and nutrient digestibilities. Journal of Animal Science, 71: 1579–1588.
24. Qi, K., Owens, F. N. and Lu, C. D. 1992. Sulfate supplementation of Alpine goats: effect on milk yield and composition, metabolites, nutrient digestibilities and acid base balance. Journal of Animal Science. 70: 3541 – 3551.
25. Riddell, D. O., E. E. Bartley and A. D. Dayton. 1981a. Effect of nicotinic acid on rumen fermentation in vitro and in vivo. J. Dairy Sci. 63: 1429.
26. Riddell, D. O., E. E. Bartley and A. D. Dayton. 1981b. Effect of nicotinic acid on microbial protein synthesis in vitro and on dairy cattle growth and milk production. J. Dairy Sci. 64: 782.
27. Statistical Analysis Systems Institue Inc. 1988. SAS / STAT users Guide. SAS. Cary. NC, USA.
28. Subba, D. B. 1997. Purine nitrogen index, a possible parameter for rapid feed evaluation in ruminants. M. Sc., Thesis of Aberdeen university.
29. Tom, Brody. 1994. Nutritional Biochemistry. New York: Academic press.

JOURNAL OF
AGRICULTURAL
SCIENCES
Islamic Azad University

The effects of different levels of sulfur and pyridoxine on the microbial protein synthesis of Ghezel male lambs *in vitro* and in *vivo*

K. Heidarnezhad
Former Ph.D student of Anim.Sci., Science nad Research Campus, Tehran Islamic Azad Univ., Tehran Iran.
A. Nikkhah
Prof. Of Anim.Sci., College of Agric., Tehran. Univ, Karaj, Iran.
M. Rezaeian
Assis. Prof. of Microbiol., College of Vet. Med., Tehran University, Tehran, Iran.
M. Zahedifar
Member of Scientific Board of Anim.Sci, Research Institute, Karaj, Iran.

Keywords: Sulfur, Pyridoxine, Microbial protein synthesis, Purine derivatives, Purine nitrogen index, lamb , Ghezel .

Abstract
Effects of different levels of sulfur and pyridoxine on the microbial protein synthesis were studied under in vitro and in vivo conditions. In the first experimen (in vitro) rumen fluid was taken from the fistulated lambs and used to prepared a culture medium contianed of rumen fluid; 100 ml, starch; 500 mg, cellulose; 500 mg and urea; 64.4 mg and different level of sulfure (0, 1, 2, 3 mg/ 100 ml) and sulfur plus pyridoxine (1 + 0.01, 2 + 0.1, 3 + 1 mg/ 100 ml). The cultures incubated for five period ; (0, 2, 6, 12, 24 h) at 39°c. The experiment was performed as a randomized complete block design. The highest microbial crude protein synthesis was with N:S ratio of 10:1 and the sulfur of 2 mg/100 ml as well as the sulfur plus pyridoxine were 2 mg + 0.1 mg/ 100 ml of incubated cultures. In the second trial (in vivo) that was performed as a change over design used four male lambs with an average weight of (35 ± 3 kg) were used. The animals fed for eight period with seven diets including different levels of sulfur (0.12, 0.16, 0.22, 0.38 % DM) and sulfur plus pyridoxine (0.16+11.8, 0.22 + 51.8, 0.38 + 101.8 % and mg/ kg DM). The treatment diets were isocaloric and isonitrogenous.
The highest values of microbial protein synthesis were in the diets containing 0.22 % S and 0.22 % S + 51.8 mg/ kg DM B_6). However the highest purine nitrogen index and blood proteins was in diet including (0.22 % S + 51.8 mg/ kg DM B_6).It was concluded that improvement in microbial nitrogen synthesis may occure with N: S ratio of 10: 1 and the addition of pyridoxine in ruminant ration may also enhance the parameter.