دانشگاه فردوسی مشهد
دانشکده کشاورزی
گروه علوم دامی

پایان‌نامه دکتری

تأثیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی (ساکارز یا نشاسته) بر گوارش‌پذیری شکمبه‌ای و جمعیت باکتری‌های سلولتیک در شرایط درون و برون‌تنی

فرخنده رضائی

دی ۱۳۸۸

دانشکده کشاورزی

پایان‌نامه دکتری

تأثیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی (ساکارز یا نشاسته) بر گوارش‌پذیری شکمبه‌ای و جمعیت باکتری‌های سلولتیک در شرایط درون و برون‌تنی

فرخنده رضائی

استادان راهنما

دکتر محسن دانش مسگران

دکتر علیرضا هروی موسوی

استادان مشاور

دکتر محمدرضا نصیری

دکتر سید علیرضا وکیلی

دی ۱۳۸۸

دانشگاه فردوسی مشهد

دانشکده کشاورزی- گروه علوم دامی

تصویب نامه

این پایان نامه با عنوان «**تأثیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی (ساکارز یا نشاسته) بر گوارش‌پذیری شکمبه‌ای و جمعیت باکتری‌های سلولتیک در شرایط درون و برون‌تنی**» توسط « **خانم فرخنده رضائی** » در تاریخ «۱۳۸۸/۱۰/۲۹ » با نمره ۱۹/۷۵ و درجه ارزشیابی عالی در حضور هیات داوران با موفقیت دفاع شد.

هیات داوران:

ردیف	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	سمت در هیات	امضاء
۱	آقای دکتر محسن دانش مسگران	استاد	استاد راهنما	
۲	آقای دکتر علیرضا هروی موسوی	دانشیار	استاد راهنما	
۳	آقای دکتر محمدرضا نصیری	دانشیار	استاد مشاور	
۴	آقای دکتر علیرضا وکیلی	استادیار	استاد مشاور	
۵	آقای دکتر محمد خوروش	استادیار	استاد مدعو	
۶	آقای دکتر رضا ولی زاده	استاد	استاد مدعو	
۷	آقای دکتر ابوالقاسم گلیان	استاد	استاد مدعو	
۸	آقای دکتر عبدالمنصور طهماسبی	دانشیار	نماینده تحصیلات تکمیلی	

تعهد نامه

عنوان پایان نامه: تأثیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی (ساکارز یا نشاسته) بر گوارش‌پذیری شکمبه‌ای و جمعیت باکتری‌های سلولتیک در شرایط درون و برون‌تنی

اینجانب فرخنده رضائی دانشجوی دوره دکتری رشته علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی دکتر محسن دانش مسگران و دکتر علیرضا هروی موسوی متعهد می شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می گیرم.
- در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.
- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد یگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.
- در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.

تاریخ

نام و امضاء دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- **کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.**
- **استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.**

چکیده

به منظور بررسی تأثیر انواع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی بر پتانسیل تجزیه‌پذیری، سوخت و ساز نیتروژن در شکمبه، مؤلفه‌های خون و تغییرات جمعیت باکتری‌های سلولتیک ۵ آزمایش در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی انجام شد. نتایج این آزمایش‌ها نشان داد که افزودن کربوهیدرات‌های غیرالیافی مقدار گاز تولید شده را در علف خشک یونجه، تفاله چغندر قند و سلولز خالص افزایش داد، و هضم ماده خشک را در علف خشک یونجه کاهش داد (P< ۰/۰۱). مقدار هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی تفاله چغندر قند و سبوس گندم، با افزودن نشاسته کاهش یافت (P< ۰/۰۱). افزودن کربوهیدرات‌های غیرالیافی به تفاله چغندر قند و سبوس گندم باعث کاهش ثابت نرخ هضم ماده خشک شد (P< ۰/۰۵). ساکارز باعث افزایش ثابت نرخ هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی در علف خشک یونجه شد. نشاسته ثابت نرخ هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی در علف خشک یونجه و سبوس گندم را افزایش داد. افزودن کربوهیدرات‌های غیرالیافی باعث کاهش مقدار هضم سلولز در مقایسه با سلولز مکمل نشده شد، و نرخ هضم سلولز را کاهش داد (P< ۰/۰۵). pH محیط کشت در مورد سلولز مکمل نشده در مقایسه با تیمارهای مکمل شده با کربوهیدرات‌های غیرالیافی بالاتر بود (P< ۰/۰۱). جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته، غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه را در مقایسه با جیره شاهد، کاهش دادند (P= ۰/۰٦). غلظت نیتروژن پپتیدی مایع شکمبه با افزودن کربوهیدات‌های غیرالیافی به جیره پایه کاهش یافت (P= ۰/۰۹). افزودن کربوهیدرات‌های غیرالیافی غلظت نیتروژن غیرآمینی پلاسمای خون را در مقایسه با جیره شاهد، به طور معنی‌داری کاهش داد (P= ۰/۰٤). در شرایط درون‌تنی افزودن ساکارز + نشاسته باعث افزایش جمعیت کل باکتری‌های شکمبه شد (۰/۰۵ >P). تحت شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت نیز افزودن کربوهیدارت‌های غیرالیافی به سلولز، مقدار کل باکتری‌ها را در محیط کشت افزایش داد (P= ۰/۰۹). با افزودن ساکارز و نشاسته به سلولز در شرایط آزمایشگاهی جمعیت باکتری رومینوکوکوس فلاوفسینز نسبت به جمعیت کل باکتری‌ها کاهش یافت (P< ۰/۰۱).

کلید واژه‌ها: کربوهیدارت‌های غیرالیافی، ساکارز، نشاسته، باکتری‌های سلولتیک، الیاف نامحلول در شوینده خنثی

فهرست

فصل اول ۱
مقدمه ۱
فصل دوم ۵
بررسی منابع ۵
۲-۱ ساختار شیمیایی و تجزیه‌پذیری کربوهیدرات‌ها ۵
۲-۱-۱ کربوهیدرات‌های غیرالیافی ٦
۲-۱-۲ قندها ۷
۲-۱-۳ ساکارز ۸
۲-۱-٤ نشاسته ۹
۲-۱-۵ کربوهیدرات‌های الیافی ۹
۲-۲ هضم و جذب کربوهیدرات‌ها در بدن نشخوارکنندگان ۱۰
۲-۳ مقدار مورد نیاز کربوهیدرات‌های غیرالیافی ۱۲
۲-٤ کربوهیدرات‌های غیرالیافی و هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی ۱٤
۲-۵ کربوهیدرات‌های غیرالیافی، pH و هضم میکروبی ۱۸
۲-٦ مکانیزم و کنتیک تجزیه سلولز ۲۱
۲-۷ تأثیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی بر غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه ۲۲
۲-۷-۱ اسید استیک ۲۳
۲-۷-۲ اسید پروپیونیک ۲٤
۲-۷-۳ اسید بوتیریک ۲۵
۲-۷-٤ اسیدهای چرب دارای زنجیره جانبی (BCVFA) ۲٦
۲-۷-۵ اسید لاکتیک ۲۷
۲-۸ تأثیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی بر سوخت و ساز نیتروژن ۲۸
۲-۸-۱ پروتئین میکروبی ۲۸
۲-۸-۲ غلظت نیتروژن آمونیاکی ۳۰
۲-۸-۳ دفع نیتروژن از طریق ادرار، مدفوع و شیر ۳۲
۲-۹ تأثیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی بر عملکرد حیوان ۳۵

۲-۹-۱ مصرف ماده خشک ۳۵
۲-۹-۲ تولید و ترکیب شیر ۳۶
۲-۱۰ افزایش غلظت تری آسیل گلیسرول خون در اثر کربوهیدرات‌ها ۳۸
۲-۱۱ تأثیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی بر متابولیت‌های خون ۳۹
۲-۱۲ کربوهیدرات‌های غیرالیافی و میکروبیولوژی شکمبه ۴۰
۲-۱۲-۱ فیبروباکترسوکسینوژنز ۴۲
۲-۱۲-۲ رومینوکوکوس آلبوس و رومینوکوکوس فلاوفسینز ۴۳
۲-۱۲-۳ استفاده از تکنیک‌های مولکولی در شناخت باکتری‌های سلولولتیک ۴۵
۲-۱۲-۴ فراوانی باکتری‌های سلولولتیک در کل محتویات و مایع شکمبه ۴۶
۲-۱۲-۵ تغییرات در توده باکتریی و هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی ۴۹
۲-۱۲-۶ تأثیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی بر دینامیک باکتری‌های سلولولتیک ۵۰
فصل سوم ۵۴
مواد و روش‌ها ۵۴
۳-۱ پروتئین خام ۵۴
۳-۱-۱ تجهیزات مورد نیاز ۵۴
۳-۱-۲ مواد شیمیایی مورد نیاز ۵۴
۳-۱-۳ روش اندازه‌گیری ۵۵
۳-۲ نیتروژن آمونیاکی ۵۵
۳-۲-۱ تجهیزات مورد نیاز ۵۵
۳-۲-۲ مواد شیمیایی مورد نیاز ۵۵
۳-۲-۳ روش اندازه‌گیری ۵۵
۳-۳ نیتروژن پپتیدی ۵۶
۳-۳-۱ تجهیزات مورد نیاز ۵۶
۳-۳-۲ مواد شیمیایی مورد نیاز ۵۶
۳-۳-۳ روش اندازه‌گیری ۵۶
۳-۴ اندازه‌گیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی ۵۷
۳-۴-۱ محلول‌های مورد نیاز ۵۷
۳-۴-۲ روش اندازه‌گیری ۵۷
۳-۵ تولید گاز ۵۸

۳-۵-۱ تجهیزات مورد نیاز ۵۸
۳-۵-۲ مواد شیمیایی مورد نیاز ۵۸
۳-۵-۳ روش آماده‌سازی محلول‌ها ۵۹
۳-۵-٤ روش آماده کردن محیط کشت و انجام آزمایش ٦۰
۳-٦ آماده سازی محیط کشت برای انجام آزمایشات کشت ثابت ٦۲
۳-٦-۱ تجهیزات مورد نیاز ٦۲
۳-٦-۲ مواد شیمیایی مورد نیاز ٦۲
۳-٦-۳ آماده سازی محلول‌های مورد نیاز ٦۳
۳-٦-٤ جمع آوری مایع شکمبه به عنوان ماده مغذی محیط کشت ٦۳
۳-٦-۵ روش آماده سازی محیط کشت ٦٤
۳-٦-٦ روش انجام آزمایش ٦٤
۳-۷ استخراج DNA ٦۵
۳-۷-۱ تجهیزات مورد نیاز ٦۵
۳-۷-۲ مواد مورد نیاز ٦۵
۳-۷-۳ روش استخراج ٦۵
۳-۸ تعیین کمیت باکتری‌های سلولولتیک با استفاده از روش real-time PCR ٦۷
۳-۸-۱ تجهیزات مورد نیاز ٦۷
۳-۸-۲ مواد مورد نیاز ٦۷
۳-۸-۳ روش انجام آزمایش ٦۸
فصل چهارم ۷۲
آزمایش اول ۷۲
تأثیر ساکارز یا نشاسته بر فراسنجه‌های تخمیرپذیری برخی از مواد خوراکی با استفاده از روش تولید گاز ۷۲
٤-۱ مقدمه ۷۲
٤-۲ مواد و روش‌ها ۷٤
٤-۲-۱ آماده سازی نمونه‌ها و روش انجام آزمایش ۷٤
٤-۲-۲ تجزیه آماری ۷۵
٤-۳ نتایج ۷٦
٤-٤ بحث ۸۱

٤-٤-١ حجم گاز تولید شده ٨١
٤-٤-٢ فراسنجه‌های تولید گاز ٨٣
فصل پنجم ٨٦
آزمایش دوم ٨٦
تأثیر ساکارز یا نشاسته بر مقدار و کنتیک هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی برخی مواد خوراکی با استفاده از روش آزمایشگاهی کشت ثابت ٨٦
٥-١ مقدمه ٨٦
٥-٢ مواد و روش‌ها ٨٨
٥-٢-١ آماده‌سازی محیط کشت و نمونه‌ها ٨٨
٥-٢-٢ روش انجام آزمایش ٨٩
٥-٢-٣ تجزیه آماری ٩٠
٥-٣ نتایج ٩٢
٥-٣-١ هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی ٩٢
٥-٣-٢ فراسنجه‌های ثابت نرخ هضم و بخش فاقد پتانسیل هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی ٩٦
٥-٣-٣ غلظت نیتروژن آمونیاکی ٩٩
٥-٣-٤ مقدار و کنتیک هضم نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی سبوس گندم ١٠١
٥-٤ بحث ١٠٣
٥-٤-١ هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی ١٠٣
٥-٤-٢ ثابت نرخ هضم و بخش فاقد پتانسیل هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی ١٠٧
٥-٤-٣ غلظت نیتروژن آمونیاکی ١١٠
٥-٤-٤ کنتیک هضم نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی سبوس گندم ١١١
فصل ششم ١١٤
آزمایش سوم ١١٤
تأثیر ساکارز یا نشاسته بر مقدار و کنتیک هضم مرتبه اول سلولز خالص با استفاده از روش آزمایشگاهی کشت ثابت ١١٤
٦-١ مقدمه ١١٤
٦-٢ مواد و روش‌ها ١١٦

٦-٢-٢ تجزیه آماری ١١٧
٦-٣ نتایج ١١٨
٦-٣-١ مقدار و کنتیک هضم سلولز خالص ١١٨
٦-٣-٢ pH محیط کشت ١٢٠
٦-٣-٣ نیتروژن آمونیاکی محیط کشت ١٢١
٦-٤ بحث ١٢٢
٦-٤-١ مقدار و کنتیک مرتبه اول هضم سلولز خالص ١٢٢
٦-٤-٢ pH محیط کشت ١٢٤
٦-٤-٣ نیتروژن آمونیاکی محیط کشت ١٢٥
فصل هفتم ١٢٨
آزمایش چهارم ١٢٨
تأثیر جیره‌های حاوی ساکارز یا نشاسته بر سوخت و ساز شکمبه‌ای نیتروژن و مؤلفه‌های خون گوساله‌های نر هلشتاین ١٢٨
٧-١ مقدمه ١٢٨
٧-٢ مواد و روش‌ها ١٣٠
٧-٢-١ حیوانات و تیمارهای آزمایشی ١٣٠
٧-٢-٢ جمع‌آوری نمونه‌های خون ١٣٠
٧-٢-٣ جمع‌آوری نمونه‌های مایع شکمبه ١٣١
٧-٢-٤ تجزیه آماری ١٣١
٧-٣ نتایج ١٣٣
٧-٣-١ pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه ١٣٣
٧-٣-٢ غلظت نیتروژن پپتیدی مایع شکمبه ١٣٤
٧-٣-٣ غلظت گلوکز پلاسما ١٣٦
٧-٣-٤ غلظت نیتروژن غیرآمینی پلاسما ١٣٧
٧-٣-٥ غلظت انسولین پلاسما ١٣٩
٧-٣-٦ غلظت کلسترول، تری گلیسیرید، آلبومین و پروتئین کل پلاسما ١٤١
٧-٣-٧ غلظت آنزیم‌های کبدی پلاسما ١٤٢
٧-٤ بحث ١٤٣
٧-٤-١ pH مایع شکمبه ١٤٣

۷-٤-۲ غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه ۱٤٤
۷-٤-۳ غلظت نیتروژن پپتیدی مایع شکمبه ۱٤٦
۷-٤-٤ غلظت گلوکز پلاسما ۱٤۷
۷-٤-٥ غلظت نیتروژن غیرآمینی پلاسما ۱٤۸
۷-٤-٦ غلظت کلسترول پلاسما ۱٤۹
۷-٤-۷ غلظت انسولین پلاسما ۱٥۰
۷-٤-۸ غلظت تری گلیسیرید پلاسما ۱٥۱
۷-٤-۹ غلظت آلبومین و پروتئین کل پلاسما ۱٥۲
۷-٤-۱۰ غلظت آنزیم‌های کبدی پلاسما ۱٥۳
فصل هشتم ۱٥٤
آزمایش پنجم ۱٥٤
تأثیر ساکارز یا نشاسته بر تغییرات جمعیتی باکتری‌های سلولولتیک آزاد شکمبه در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی ۱٥٤
۸-۱ مقدمه ۱٥٤
۸-۲ مواد و روش‌ها ۱٥٦
۸-۲-۱ آزمایش درون‌تنی ۱٥٦
۸-۲-۲ آزمایش برون‌تنی ۱٥٦
۸-۲-۳ استخراج DNA ۱٥٦
۸-۲-٤ تعیین کمیت باکتری‌های سلولولتیک نسبت به جمعیت باکتریایی کل با استفاده از روش real-time PCR ۱٥۷
۸-۲-٥ تجزیه آماری ۱٥۷
۸-۳ نتایج ۱٥۹
۸-۳-۱ جمعیت کل باکتری‌ها ۱٥۹
۸-۳-۲ تغییرات جمعیتی فیبروباکترسوکسینوژنز، رومینوکوکوس آلبوس و رومینوکوکوس فلاوفسینز ۱٦۰
۸-٤ بحث ۱٦٦
۸-٤-۱ غلظت DNA کل باکتری‌ها و نسبت فیبروباکترسوکسینوژنز، رومینوکوکوس آلبوس و رومینوکوکوس فلاوفسینز به کل باکتری‌های آزاد در مایع شکمبه صاف شده ۱٦۷
۸-٤-۲ ساختار فلور سلولولتیکی ۱٦۹

۸-٤-۳ نسبت مجموع باکتری‌های سلولولتیک به کل باکتری‌های آزاد در مایع شکمبه ۱۷۱
۸-٤-٤ تغییرات جمعیت باکتری‌های سلولولتیک در قبل و بعد از خوردن غذا..... ۱۷٤
فصل نهم ۱۷٦
جمع بندی..... ۱۷٦
فصل دهم ۱۸۲
منابع ۱۸۲

فهرست اشکال

شکل ٤-١: تولید گاز (میلی‌لیتر) در علف خشک یونجه، تفاله چغندر قند یا سلولز خالص مکمل شده با ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....٧٧

شکل ٥-١: تأثیر افزودن ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته بر میانگین هضم ماده خشک علف خشک یونجه، تفاله چغندر قند و سبوس گندم در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....٩٣

شکل ٥-٢: تأثیر افزودن ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته بر میانگین هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی علف خشک یونجه، تفاله چغندر قند و سبوس گندم در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....٩٤

شکل ٥-٣: تأثیر افزودن ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته بر میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی علف خشک یونجه، تفاله چغندر قند و سبوس گندم در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....٩٩

شکل ٥-٤: ثابت نرخ هضم و بخش فاقد پتانسیل هضم نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی سبوس گندم، مکمل شده با ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....١٠١

شکل ٦-١: ثابت نرخ هضم و بخش فاقد پتانسیل هضم مدل مرتبه اول سلولز خالص، و سلولز خالص مکمل شده با ساکارز، نشاسته، و یا ساکارز + نشاسته ١٢١

شکل ٧-١: pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....١٣٢

شکل ٧-٢: غلظت نیتروژن پپتیدی مایع شکمبه گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....١٣٣

شکل ٧-٣: تأثیر زمان نمونه‌برداری بر غلظت نیتروژن پپتیدی مایع شکمبه گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....١٣٤

شکل ٧-٤: غلظت گلوکز پلاسما گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....١٣٥

شکل ٧-٥: تأثیر زمان نمونه‌برداری بر غلظت گلوکز پلاسما گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....١٣٦

شکل ٧-٦: غلظت نیتروژن غیرآمینی پلاسما گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....١٣٧

شکل ۷-۷: تأثیر زمان نمونه‌برداری بر غلظت نیتروژن غیرآمینی پلاسما گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....۱۳۷
شکل ۷-۸: تابعیت غلظت نیتروژن غیرآمینی پلاسمای خون از نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....۱۳۸
شکل ۷-۹: تابعیت غلظت انسولین پلاسما از گلوکز پلاسمای گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....۱۳۹
شکل ۸-۱: غلظت DNA کل باکتری‌های آزاد موجود در مایع شکمبه صاف شده گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....۱۵۸
شکل ۸-۲: غلظت DNA کل باکتری‌های آزاد محیط کشت در سلولز مکمل شده با ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....۱۵۹
شکل ۸-۳: جمعیت فیبروباکتر سوکسینوژنز نسبت به کل باکتری‌های آزاد موجود در مایع شکمبه صاف شده گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....۱۶۰
شکل ۸-٤: جمعیت رومینوکوکوس آلبوس نسبت به کل باکتری‌های آزاد موجود در مایع شکمبه صاف شده گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....۱۶۱
شکل ۸-۵: جمعیت رومینوکوکوس فلاوفسینز نسبت به کل باکتری‌های آزاد موجود در مایع شکمبه صاف شده گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته.....۱۶۱
شکل ۸-٦: جمعیت فیبروباکتر سوکسینوژنز نسبت به کل باکتری‌های آزاد محیط کشت در سلولز مکمل شده با ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....۱٦۲
شکل ۸-۷: جمعیت رومینوکوکوس آلبوس نسبت به کل باکتری‌های آزاد محیط کشت در سلولز مکمل شده با ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....۱٦۳
شکل ۸-۸: جمعیت رومینوکوکوس فلاوفسینز نسبت به کل باکتری‌های آزاد محیط کشت در سلولز مکمل شده با ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....۱٦۳

شکل ۸-۹: نسبت باکتری‌های سلولولتیک به کل باکتری‌های آزاد موجود در مایع شکمبه صاف شده گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته قبل از مصرف خوراک صبحگاهی.....۱۷۲
شکل ۸-۱۰: نسبت باکتری‌های سلولولتیک به کل باکتری‌های آزاد موجود در مایع شکمبه صاف شده گوساله‌های نر هلشتین تغذیه شده با جیره‌های حاوی ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته ٤ ساعت پس از مصرف خوراک صبحگاهی.....۱۷۲
شکل ۸-۱۱: نسبت باکتری‌های سلولولتیک به کل باکتری‌های آزاد در محیط کشت حاوی سلولز مکمل شده با ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....۱۷۳

فهرست جداول

جدول ۳-۱: طول قطعه و توالی پرایمرهای مورد استفاده در real-time PCR.....۶۸

جدول ۳-۲: حجم مواد مورد استفاده در real-time PCR ۶۸

جدول ۳-۳: برنامه مورد استفاده در real-time PCR برای مجموع باکتری‌ها و گونه‌های سلولولتیک.....۶۹

جدول ٤-۱: تأثیر افزودن ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته بر تولید گاز در علف خشک یونجه، تفاله چغندر قند یا سلولز خالص در شرایط آزمایشگاهی ۷۸

جدول ٤-۲: فراسنجه‌های نرخ تولید گاز و تولید گاز از بخش قابل تخمیر در علف خشک یونجه، تفاله چغندر قند و سلولز خالص با و بدون مکمل‌سازی با کربوهیدرات‌های غیرالیافی.....۷۹

جدول ۵-۱: تأثیر افزودن ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته بر هضم ماده خشک در علف خشک یونجه، تفاله چغندر قند و سبوس گندم در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....۹۳

جدول ۵-۲: تأثیر افزودن ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته بر هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی در علف خشک یونجه، تفاله چغندر قند و سبوس گندم در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....۹٤

جدول ۵-۳: تأثیر افزودن ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته بر ثابت نرخ هضم و بخش فاقد پتانسیل هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی علف خشک یونجه، تفاله چغندر قند و سبوس گندم در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....۹۷

جدول ۵-٤: تأثیر افزودن ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته بر غلظت نیتروژن آمونیاکی در علف خشک یونجه، تفاله چغندر قند و سبوس گندم در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....۹۹

جدول ۵-۵: تأثیر افزودن ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته بر نسبت هضم نیتروژن نامحلول در شوینده خنثی در سبوس گندم در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....۱۰۱

جدول ٦-۱: تأثیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی (ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته) بر نسبت هضم سلولز خالص در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....۱۱۸

جدول ٦-۲: تأثیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی (ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته) بر pH محیط کشت در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت.....۱۱۹

جدول ٦-٣: تأثیر کربوهیدرات‌های غیرالیافی (ساکارز، نشاسته یا ساکارز + نشاسته) بر غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت..... ۱۲۰
جدول ۷-۱: غلظت برخی از متابولیت‌های خون گوساله‌های نر هلشتین که از جیره‌های حاوی انواع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی استفاده کردند..... ۱٤۰
جدول ۷-۲: غلظت برخی از آنزیم‌های کبدی گوساله‌های نر هلشتین که از جیره‌های حاوی انواع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی استفاده کردند..... ۱٤۱
جدول ۸-۱: جمعیت کل باکتری‌های آزاد شکمبه و نسبت باکتری‌های سلولولتیک به کل باکتری‌های آزاد در گوساله‌هایی که از جیره‌های حاوی انواع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی استفاده کردند..... ١٦٤
جدول ۸-۲: جمعیت کل باکتری‌های آزاد و نسبت باکتری‌های سلولولتیک به کل باکتری‌ها در محیط کشت حاوی سلولز مکمل شده با انواع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی در شرایط آزمایشگاهی کشت ثابت ١٦٥

فصل اول

مقدمه

افزایش روزافزون جمعیت نیاز به منابع غذایی را افزایش داده است. بنابراین، به منظور بهبود وضعیت تغذیه دام و افزایش تولید، استفاده از مواد متراکم در صنعت گاوهای شیری بیشتر شده است. امروزه کربوهیدرات‌ها بین ۷۰ تا ۸۰ درصد از غذای نشخوارکنندگان را تشکیل می‌دهند، و اصلی‌ترین منبع انرژی برای میکروارگانیسم‌های شکمبه و حیوان نشخوارکننده هستند. در خوراک گاوهای پرتولید، کربوهیدرات‌های غیرالیافی[1] ۳۰ تا ٤٠ درصد ماده خشک جیره را تشکیل می‌دهند. بخش‌های مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی در مواد غذایی، شامل قندهای محلول در آب، نشاسته، بتاگلوکان، مواد پکتیکی، فروکتان‌ها و سایر کربوهیدرات‌های محلول در شوینده خنثی هستند (هال و همکاران، ۱۹۹۹). ساکارز و منوساکاریدهای آن، گلوکز و فروکتوز، کربوهیدرات‌های غالبی هستند که در فرآورده‌های جانبی کشاورزی و صنایع غذایی مثل ملاس (کانکل و همکاران، ۲۰۰۰)، تفاله چغندر قند (هال، ۲۰۰۲) و تفاله مرکبات یافت می‌شوند.

اگرچه کربوهیدرات‌های غیرالیافی به صورت کلی در مواد غذایی یا جیره مد نظر قرار می‌گیرند، اما انواع کربوهیدرات‌های موجود در آن می‌توانند تأثیرات کاملاً متفاوتی بر سوخت و ساز حیوان داشته باشند. به طور مثال، کربوهیدرات‌های غیرالیافی موجود در ذرت عمدتاً به صورت نشاسته (٦٥ تا ۷۰ درصد ماده خشک)، اما در تفاله مرکبات به صورت قند (۱۲ تا ٤٠ درصد ماده خشک) می‌باشد (هال، ۲۰۰۲). همه این اجزا معمولاً از نظر خصوصیات تخمیر در یک گروه قرار می‌گیرند، اما، تخمیر منابع

[1] Non-fiber carbohydrates

مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی، پروفیل اسیدهای چرب فرار[1] متفاوتی را ایجاد می‌نمایند (استروبل و راسل، ۱۹۸٦؛ آریزا و همکاران، ۲۰۰۱؛ منسفیلد و همکاران، ۱۹۹٤). همچنین منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی اثرات متفاوتی بر pH مایع شکمبه (استروبل و راسل، ۱۹۸٦؛ خلیلی و هاتانن، ۱۹۹۱a)، تولید توده زنده میکروبی در شکمبه (سانس و همکاران، ۲۰۰۲؛ هال و هرجک، ۲۰۰۱)، هضم الیاف (هلت و همکاران، ۱۹۹۹a)، تولید (لیوا و همکاران، ۲۰۰۰) و ترکیب شیر (نومبکلا و مورفی، ۱۹۹۵) دارند. بنابراین، درک صحیح از خصوصیات تخمیر هر منبع کربوهیدراته به تنهایی، یا منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی با هم می‌تواند در پیش‌بینی عملکرد حیوان در پاسخ به مکمل‌های کربوهیدراته کمک کند.

اخیراً پیشنهادات کلی برای استفاده از منابع مختلف کربوهیدرات غیرالیافی در جیره مطرح شده است. اما شناخت هضم و تولید مواد مغذی قابل سوخت و ساز از منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی ضروری است، تا جیره‌ها به طور دقیق و با بازدهی بالاتر برای گاوهای شیری تنظیم شوند. درک بیشتر از این بخش عمده جیره گاوهای شیری، می‌تواند باعث بهبود عملکرد حیوان شود، و سوددهی را افزایش دهد. همچنین، فهم صحیح ارزش تغذیه‌ای هر ترکیب کربوهیدرات به تنهایی برای استفاده مناسب از تمامی مواد خوراکی که در جیره گاوهای شیری مورد استفاده قرار می‌گیرند، مفید خواهد بود.

[1] Volatile fatty acid

اهداف:

مهم‌ترین اهداف این پژوهش عبارت بودند از:

۱. بررسی اثر ساکارز یا نشاسته بر پتانسیل تخمیرپذیری برخی از مواد خوراکی مورد استفاده در تغذیه نشخوارکنندگان با استفاده از روش تولید گاز.

۲. بررسی اثر ساکارز یا نشاسته بر مقدار و کنتیک هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در برخی از مواد خوراکی مورد استفاده در تغذیه نشخوارکنندگان با استفاده از روش آزمایشگاهی کشت ثابت.

۳. بررسی اثر ساکارز یا نشاسته بر مقدار و کنتیک هضم سلولز خالص با استفاده از روش آزمایشگاهی کشت ثابت.

٤. بررسی اثر جیره‌های مکمل شده با ساکارز یا نشاسته بر pH و سوخت و ساز نیتروژن در شکمبه، مؤلفه‌های خونی و آنزیم‌های کبدی گوساله‌های نر هلشتاین.

۵. بررسی اثر ساکارز یا نشاسته بر جمعیت گونه‌های اصلی باکتری‌های سلولولتیک در شکمبه با استفاده از روش real-time PCR در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی.