Iranian Journal of Animal Science
Vol 49, No 4, Winter 2019 (469-479)
DOI: 10.22059/ijas.2019.268190.653666

علوم دامی ایران
دورۀ ۴۹، شمارۀ ۴، زمستان ۱۳۹۷ (ص ۴۷۹-۴۶۹)

اثر منابع مختلف کربوهیدات بر بازدهی استفاده از خیساب مایع ذرت در جیره غذایی در شرایط برون‌تنی

پارمیس زاهدی مقدم[۱]، آرش آذرفر[۲*] و ایوب عزیزی[۳]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی دکتری تغذیه دام، دانشیار و استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۷)

چکیده

هدف از این تحقیق، بررسی اثر مکمل نمودن خیساب مایع ذرت به عنوان منبع نیتروژن با منابع مختلف کربوهیدرات در جیره غذایی بر تولید گاز، فراسنجه‌های تخمیر، گوارش‌پذیری مواد مغذی و فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه در شرایط برون‌تنی بود. از هشت جیره غذایی حاوی منابع مختلف کربوهیدراته (شامل سطوح مختلف جو، ذرت و ملاس) که در همه آن‌ها از یک سطح ثابت خیساب مایع ذرت در نظر گرفته شده بود (۱۳ درصد ماده خشک)، به عنوان سوبسترای انکوباسیون آزمایشگاهی استفاده گردید. جیره‌های آزمایشی شامل جیره حاوی ۱) ذرت، ۲) جو، ۳) مخلوط جو و ذرت و جایگزینی جیره حاوی مخلوط جو و ذرت به ترتیب با سطوح ٤) ۵، ۵) ۱۰، ٦) ۱۵، ۷) ۲۰ و ۸) ۲۵ درصد ملاس بودند. بیشترین و کمترین میزان تولید گاز در زمان ۷۲ و ۹٦ ساعت انکوباسیون و پتانسیل (b) تولید گاز به ترتیب با انکوباسیون جیره حاوی ۱۵ درصد ملاس و جیره حاوی ذرت به دست آمد (P<۰/۰۵). هرچند، در مورد نرخ تولید گاز (c) و سنتز پروتئین میکروبی بیشترین و کمترین میزان به ترتیب در جیره حاوی ۱۰ و ۲۵ درصد ملاس مشاهده گردید (P<۰/۰۵). بیشترین میزان ناپدید شدن ماده خشک شکمبه‌ای با مکمل نمودن خیساب ذرت با سطح ۱۰ درصد ملاس و کمترین میزان آن با انکوباسیون جیره حاوی ذرت به‌دست آمد (P<۰/۰۵). بیشترین میزان غلظت نیتروژن آمونیاکی با مکمل نمودن خیساب ذرت با سطح ۲۵ درصد ملاس به‌دست آمد، اما کمترین میزان آن در جیره حاوی ۱۰ درصد ملاس مشاهده گردید (P<۰/۰۵). مکمل نمودن خیساب مایع ذرت با سطح ۱۰ درصد ملاس سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد (P<۰/۰۵). بیشترین میزان فعالیت تجزیه کاغذ صافی در تیمار حاوی خیساب ذرت مکمل شده با سطح ۵ درصد ملاس و کمترین میزان آن در تیمار حاوری ۲۵ درصد ملاس حاصل گردید (P<۰/۰۵). در کل، نتایج نشان داد که مکمل نمودن جیره غذایی خیساب ذرت مایع با سطح ۱۰ درصد ملاس سبب بهبود هضم و تخمیر و متابولیسم نیتروژن در شرایط برون‌تنی شد.

واژه‌های کلیدی: تخمیر، خیساب مایع ذرت، غلات، فعالیت آنزیمی، گوارش‌پذیری، ملاس.

Effect of different dietary carbohydrate sources on *in vitro* utilization efficiency of corn steep liquor

Parmis Zahedi Moghadam[1], Arash Azarfar[2*] and Ayob Azizi[3]
1, 2, 3. Ph.D. Candidate, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricuture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
(Received: Oct. 27, 2018 - Accepted: Jan. 7, 2019)

ABSTRACT

This study was carried out to evaluate the effects of supplementing corn steep liquor (CSL), as a nitrogen source, with different dietary carbohydrate sources on *in vitro* gas production, fermentation parameters, digestibility and activity of rumen microbial enzymes of male lamb's diets. The 8 experimental diets contained different energy sources (including different levels of barley, corn and molasses), in which a constant level of CSL was used (13% of diet dry matter (DM)), incubated *in vitro*. Experimental diets were 1) corn, 2) barley, 3) mixture of corn/barley and replacing the former with4) 5, 5) 10, 6) 15, 7) 20 and 8) 25% molasses. The maximum and minimum gas production at 72 and 96 (h) of incubation, and potential of gas production (b) were obtained by incubation of diet containing15% molasses and corn diets, respectively (P<0.05). However, the greatest and lowest values for fractional rate of gas production (c) and microbial protein synthesiswere observed in the diets containing 10 and 25% molasses, respectively (P<0.05). The concentration of NH_3-N was greatest by supplementing CSL with 25% molasses, while it was lowest in the diet containing 10% molasses (P<0.05). The addition 10% molasses along with CSL increased the activity of carboxymethyle cellulase and microcrystalline cellulase compared with the other treatments (P<0.05). The highest activity of filter paper-degrading (FDP) was obsereved with the diet in which CLS was supplemented with 5% molasses, while supplementing CSL conating diet with 25% molasses led to the lowest FPD activity (P<0.05). In conclusion, the results of present study showed that supplementing CSL containing diet with 10% of molasses improved nutrient digestion, rumen fermentation and nitrogen metabolism *in vitro*.

Keywords: Corn steep liquor, digestibility, enzyme activity, fermentation, grains, molasses.

* Corresponding author E-mail: Arash.Azarfar@gmail.com

مقدمه

امروزه با توجه به هزینه‌های بالای خوراک دام، به ویژه منابع پروتئینی نظیر کنجاله سویا، استفاده از فرآورده‌های فرعی ارزان قیمت همانند خیساب مایع ذرت[1] در جیره نشخوارکنندگان می‌تواند بخشی از هزینه‌های تولید را کاهش دهد. خیساب مایع ذرت مخلوطی چسبناک به رنگ سفید تا قهوه‌ای تیره، باقیمانده‌ای از فرآوری نشاسته ذرت، غنی از پروتئین‌های محلول، ویتامین‌ها و مواد معدنی ذرت می‌باشد که در مراحل خیساندن ذرت برای فرآیند آسیاب مرطوب حاصل می‌شود و به دلیل محتوای بالای اسید لاکتیک (۲۵۰-۲۰۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) خاصیت اسیدی دارد (Azizi-shotorkhoft *et al*., 2016). در پژوهش Nasir *et al*. (2012) گنجاندن خیساب ذرت در تغذیه گوساله‌ها سبب بهبود بازده خوراک شد. همچنین، استفاده از این پسماند در تا سطح ۵ درصد ماده خشک جیره در تغذیه بره‌های پرواری سبب بهبود عملکرد و افزایش وزن روزانه شده است (Azizi-shotorkhoft *et al*., 2016). یکی از مشکلات استفاده از این فرآورده، حلالیت بالای پروتئین آن در شکمبه می‌باشد. با توجه به رابطه واضح بین حلالیت پروتئین‌ها و تجزیه‌پذیری آن‌ها، در صورت ناکافی بودن منابع با قابلیت هضم بالا برای تولید انرژی مورد نیاز میکروارگانیسم‌های شکمبه برای تولید پروتئین میکروبی، استفاده از خیساب ذرت که منبعی غنی از نیتروژن غیر پروتئینی است، می‌تواند منجر به اتلاف نیتروژن و کاهش سنتز پروتئین خام میکروبی در شکمبه، و به دنبال آن کاهش عملکرد حیوان شود. بنابراین، استفاده از منابع کربوهیدراته با قابلیت هضم بالا در کنار این ماده خوراکی ضروری به نظر می‌رسد، زیرا نرخ هضم کربوهیدرات‌ها یک عامل کلیدی است که مقدار انرژی قابل دسترس برای مصرف را کنترل می‌کند و رشد میکروبی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Neethling *et al*., 2016). تحقیقات نشان می‌دهد که اگر از منابع کربوهیدرات سهل‌الهضم نظیر ملاس (حاوی میزان بالایی قند ساکارز) در مقایسه با خوراک‌های نشاسته‌ای در جیره حاوی منابع پروتئینی با تجزیه پذیری بالای شکمبه‌ای استفاده شود، به دلیل هماهنگی و هم‌زمانی استفاده از انرژی و پروتئین جیره و جلوگیری از هدر رفت نیتروژن، از نظر اقتصادی مقرون به صرفه خواهد بود و می‌تواند اثرات مثبتی بر بازده استفاده از جیره و عملکرد حیوان داشته باشد (Azizi-shotorkhoft *et al*., 2015). تحقیقات زیادی در زمینه اثرات مثبت همزمانی انرژی و پروتئین در جیره‌های غذایی انجام شده است. در مطالعات Azizi-shotorkhoft *et al*. (2012, 2013)، مکمل نمودن کود مرغی به عنوان منبع پروتئینی با ملاس در مقایسه با منابع نشاسته‌ای در جیره غذایی گوسفند سبب بهبود شرایط تخمیر در شکمبه از طریق افزایش تولید پروتئین میکروبی و افزایش هضم فیبر شد. اگرچه در پژوهش دیگری اثرات مطلوب همزمانی بین انرژی و پروتئین در جیره مشاهده نشد (Richardson *et al*., 2003). تاکنون، در زمینه بررسی ارزش تغذیه‌ای خیساب مایع ذرت به ویژه سرنوشت محتوای پروتئین خام آن با منابع مختلف انرژی در شکمبه مطالعه‌ای صورت نگرفته است. لذا هدف از تحقیق حاضر، بررسی مکمل نمودن خیساب مایع ذرت با منابع مختلف انرژی شامل ذرت، جو و ملاس بر فراسنجه‌های تولید گاز، تخمیر، هضم‌پذیری مواد مغذی و فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک میکروبی شکمبه در شرایط برون‌تنی بود.

مواد و روش‌های

دام‌ها، تیمارهای آزمایشی و خیساب ذرت مورد استفاده

این پژوهش در آزمایشگاه تغذیه دام تکمیلی و ایستگاه دامپروری دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان انجام گرفت. از سه رأس گوسفند نر نژاد لری مجهز به فیستولای شکمبه‌ای با میانگین وزن ۵±۵۵ کیلوگرم به عنوان دهنده مایع شکمبه استفاده شده. از هشت جیره غذایی حاوی منابع مختلف کربوهیدرات (شامل سطوح مختلف جو، ذرت و ملاس) که در همه آن‌ها از یک سطح ثابت خیساب مایع ذرت در نظر گرفته شده بود (۱۳ درصد ماده خشک)، به عنوان سوبسترای

1. Corn Steep Liqour

انکوباسیون آزمایشگاهی استفاده گردید. جیره‌های آزمایشی شامل جیره حاوی ۱) ذرت، ۲) جو، ۳) مخلوط جو و ذرت و جایگزینی جیره حاوی مخلوط جو و ذرت به ترتیب با سطوح ۴) ۵، ۵) ۱۰، ۶) ۱۵، ۷) ۲۰ و ۸) ۲۵ درصد ملاس بودند (جدول ۲). خیساب مایع ذرت از کارخانه گلوکوزان واقع در قزوین تهیه شد که ترکیب شیمیایی آن در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی خیساب ذرت (بر اساس درصد ماده خشک یا واحد ذکرشده)

Table 1. Chemical composition of corn steep liquor (% of dry matter or as stated)

Chemical composition	Amount (%)
Dry matter	52.5
Organic matter	92.5
Crude protein	42.5
Neutral detergent fibre	0
Acid detergent fibre	0
Lactic acid	15.5
Metabolizable energy (MJ/kg DM)	12.6

هر کدام از اعداد داخل جدول میانگین چهار نمونه می‌باشد.

Each value is average of four replicates.

آزمون تولید گاز

آزمون تولید گاز در سه دوره[1] مجزا انجام شد. محتویات شکمبه از گوسفندان فیستولاگذاری شده که حداقل به مدت دو هفته با جیره غذایی حاوی ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد کنسانتره تغذیه شده بودند، قبل از خوراک‌دهی وعده صبح توسط پمپ خلأ جمع‌آوری شد. جیره غذایی تغذیه شده شامل ۴۰۰ گرم کاه گندم، ۱۰۰ گرم یونجه خشک، ۱۰۰ گرم سیلاژ ذرت، ۲۷۰ گرم ذرت آسیاب شده، ۱۱۰ گرم سبوس گندم، ۹ گرم اوره، ۵٫۵ گرم کربنات کلسیم، ۲/۵ گرم نمک و ۲/۵ گرم مکمل مواد معدنی-ویتامینه بر اساس ماده خشک بود که طبق جدول احتیاجات غذایی نشخوارکنندگان کوچک (گوسفند) (NRC, 2007) تنظیم شده بود. محتویات شکمبه در شرایط بی‌هوازی شده و دمای ۳۹ درجه سلسیوس سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد و با استفاده از چهار لایه پارچه پنیر صاف گردید. در هر دوره تعداد ۱۰ ویال به ازای هر تیمار آزمایشی در نظر گرفته شد. برای انکوباسیون تیمارهای آزمایشی (جدول ۲)، ابتدا میزان ۲۵۰ میلی‌گرم نمونه آزمایشی (با اندازه ذرات ۱ میلی‌متر) به ویال‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری انتقال داده شد، سپس هر ویال با میزان ۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه و ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی تلقیح شد (Marten & Barnes, 1980). پس از بی‌هوازی کردن محتوای داخل ویال‌ها توسط دمیدن گاز دی اکسید کربن، درب آن‌ها پرس گردید. ویال‌ها در انکوباتور با دمای ۳۹ درجه سلسیوس انکوبه شدند و گاز تولیدی هر کدام توسط دستگاه فشارسنج دیجیتال در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون ثبت شد. برای تعیین فراسنجه‌های تولید گاز از معادله زیر استفاده گردید (McDonald, 1981):

$$P = b(1- e^{-c(t-l)})$$

که در معادله مذکور P میزان گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان مورد نظر، b گاز تولیدی از بخش تخمیرپذیر (میلی‌لیتر)، c سرعت تولید گاز در ساعت، t زمان انکوباسیون بر حسب ساعت و l فاز تأخیر می‌باشد. در مرحله بعد، برای تعیین گوارش‌پذیری مواد مغذی و فراسنجه‌های تخمیر، در زمان ۱۶ ساعت انکوباسیون، تعداد ۷ ویال از هر تیمار آزمایشی پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون از روند انکوباسیون خارج شد. اسیدیته نمونه‌ها به وسیله دستگاه pHمتر (مدل 744؛ شرکت Metrohm سوئیس) ثبت شد. سپس محتوای هر ویال سانتریفیوژ شده و بقایای آن جمع‌آوری و خشک گردید. میزان قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده خشک از اختلاف وزن سوبسترای اولیه و وزن بقایا پس از انکوباسیون ۱۶ ساعته محاسبه شد. جهت تعیین میزان نیتروژن آمونیاکی، نمونه‌های سوپرناتانت (۵ میلی‌لیتر) سریعاً با یک میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. میزان قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده آلی (Menke & Steingass, 1988) و انرژی قابل متابولیسم (AFRC, 1992) جیره‌های آزمایشی به ترتیب بر اساس معادلات زیر تخمین زده شد:

$$IVOMD\ (g/kg\ OM) = 148.8 + 8.89\ GAS + 4.50\ CP + 6.51\ XA$$

$$ME\ (MJ/kg\ DM) = DOMD \times 0.0157$$

1. Run

جدول ۲. اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی برای انکوباسیون آزمایشگاهی
(بر اساس درصد ماده خشک یا واحد گزارش شده)

Table 2. Ingredients and chemical composition of experimental diets as substrates for *in vitro* incubation
(% of dry matter or as stated)

	Experimental diets (containing differene energy sources)							
	Cereal grains			Molasses				
	Barley (B)	Corn (C)	B+C	5	10	15	20	25
Ingredients								
Wheat straw	10	10	10	10	10	10	10	10
Alfalfa hay (dried)	20	20	20	20	20	20	20	20
Wheat bran	10	10	9.0	9.0	9.0	8.0	8.0	8.0
Soybean meal	3.0	5.0	4.0	4.0	4.0	5.0	5.0	5.0
Corn steep liqur	13	13	13	13	13	13	13	13
Barley grain, ground	39.5	0	19.75	17.25	14.75	12.25	9.75	7.25
Corn grain, ground	0	37.5	19.75	17.25	14.75	12.25	9.75	7.25
Molasses	0	0	0	5.0	10	15	20	25
Vitamin-mineral premix[1]	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Salt	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Sodium bicarbonate	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Chemical composition								
Dry matter	87.1	86.5	86.8	85.7	85.5	84.8	84.1	83.5
Organic matter	89.1	89.8	89.5	89.1	88.6	88.1	87.6	87.1
Crude protein	15.9	15.8	15.8	15.7	15.6	15.8	15.7	15.7
Neutral detergent fiber	30.9	27.4	28.9	27.8	26.6	25.2	24.1	22.9
Acid detergent fiber	15.6	16.1	15.8	15.4	15.1	14.7	14.3	13.9
Metabolizable energy (MJ/kg DM)	10.7	10.75	10.7	10.7	10.6	10.6	10.55	10.5

۱. یک کیلوگرم مکمل مواد معدنی-ویتامینی حاوی ۹۹/۲ میلی‌گرم منگنز، ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۸۴/۷ میلی‌گرم روی، ۱۰ میلی‌گرم مس، ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم، ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D و ۱۸ واحد بین‌المللی ویتامین E بود (رشد دانه، کرج، ایران).

1. Contained (per kg): 99.2 mg Mn, 50 mg Fe, 84.7 mg Zn, 1 mg Cu, 1 mg I, 0.2 mg Se2, 9000 IU vitamin A, 2000 IU vitamin D and 18 IU vitamin E (Roshd-Daneh, Karaj, Iran).

که در این معادلات IVOMD میزان قابلیت هضم شکمبه‌ای ماده آلی؛ GAS میزان گاز خالص تولیدی برای ۲۰۰ میلی‌گرم سوبسترا پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون (Menke & Steingass, 1988). CP میزان پروتئین خام به صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک؛ XA خاکستر به صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک؛ ME انرژی قابل متابولیسم و DOMD ماده آلی قابل هضم در ماده خشک می‌باشد که بر اساس نتایج آزمایش قابلیت هضم دو مرحله‌ای ماده آلی به دست آمد (Tilly & Terry, 1963).

تولید پروتئین میکروبی (MPS) به‌صورت زیر محاسبه گردید (Blümmel *et al*., 1997):

MP (mg/g DM)= mg ADS-(ml gas × 2.2 mg/ml)

که در آن ADS سوبسترای هضم شده ظاهری و ۲/۲ عامل استوکیومتری برحسب میلی‌گرم کربن، هیدروژن و اکسیژن موردنیاز برای سنتز اسیدهای چرب کوتاه زنجیر است. اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (SCFA) با استفاده از معادله Getachew *et al*.(2002) به صورت زیر محاسبه شد:

SCFA (mmol/200 mg DM) =
0.0222GP - 0.0042

که در آن GP حجم گاز تولیدی در زمان ۱۶ ساعت انکوباسیون می‌باشد.

گوارش‌پذیری دو مرحله‌ای مواد مغذی

برای تعیین گوارش‌پذیری دو مرحله‌ای مواد مغذی (Tilly & Terry, 1963)، ابتدا نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت توسط مخلوط بزاق مصنوعی-مایع شکمبه انکوبه شدند. سپس در ادامه به مدت ۴۸ ساعت دیگر توسط محلول پپسین اسیدی انکوبه شدند. سپس بقایای هر ویال جمع‌آوری شد و گوارش‌پذیری مواد مغذی تعیین گردید.

تعیین فعالیت آنزیمی

فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی و آلفا آمیلاز موجود در بخش میکروبی چسبیده به ذرات خوراکی (پلت‌های جمع‌آوری شده) بر اساس روش Agarwal (2000) تخمین زده شد. بدین صورت که پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون، بقایای هر ویال (سه ویال به‌ازای هر تیمار آزمایشی) جمع‌آوری شده و با

تیمار نمودن با تتراکلرید کربن و آنزیم لیزوزیم مخلوط آنزیم‌های مایع شکمبه حاصل گردید.

تجزیه شیمیایی نمونه‌ها

ماده خشک نمونه‌های خیساب مایع ذرت و جیره‌های زمایشی در آون با دمای ۶۰ درجه سلسیوس و به مدت ۴۸ ساعت تعیین شد (AOAC, 1990). خاکستر خام در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس تعیین و ماده آلی از اختلاف بین وزن ماده خشک نمونه اولیه با وزن خاکستر محاسبه شد (AOAC, 1990). محتوای پروتئین خام با استفاده از روش کجلدال تعیین شد (AOAC, 1990). میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) توسط روش VanSoest *et al.* (1991) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) توسط روش AOAC (1990) تعیین شد. غلظت نیتروژن آمونیاکی با استفاده از روش Broderick & Kang (1980) اندازه‌گیری شد.

تجزیه آماری

تجزیه واریانس داده‌های به دست آمده با استفاده از رویه MIXED و توسط نرم‌افزار SAS (2001) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. مدل آماری طرح آزمایشی به‌صورت مدل زیر بود:

$$Y_{ijk}= \mu + T_i + Run_j + e_{ijk}$$

در این مدل Y_{ijk}، μ، T_i، Run_j و e_{ijk} به ترتیب رکورد مشاهده شده، میانگین کل، اثر ثابت تیمار آزمایشی iام، اثر تصادفی دوره jام و اثر خطای آزمایشی بودند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تولید گاز

با انکوباسیون خیساب مایع ذرت مکمل‌شده با منابع مختلف انرژی تولید گاز در زمان ۷۲ و ۹۶ ساعت (کل گاز تولیدی)، پتانسیل (b) تولید گاز و نرخ نسبی تولید گاز (c) تحت تأثیر قرار گرفت (جدول ۳)، به طوری که بیشترین و کمترین میزان فراسنجه‌های مذکور به ترتیب با انکوباسیون جیره حاوی ۱۵ درصد ملاس و جیره حاوی ذرت به دست آمد (P<۰/۰۵). هرچند، در مورد نرخ تولید گاز، بیشترین و کمترین میزان به ترتیب در جیره حاوی ۱۰ و ۲۵ درصد ملاس مشاهده گردید (P<۰/۰۵). سایر فراسنجه‌های تولید گاز تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). نرخ هضم شکمبه‌ای سوبستراهای مختلف در وهله اول بستگی به نوع منابع خوراکی دارد. در جیره‌های پر کنسانتره، میزان تولید گاز جیره‌های آزمایشی مختلف، به عوامل متعددی از قبیل ترکیب شیمیایی، نوع و ساختار فیزیکی و درونی دانه‌ها و نوع قندهای موجود و سرعت و میزان ژلاتینی شدن نشاسته بستگی دارد (Callison *et al.*, 2001).

جدول ۳. اثر مکمل نمودن خیساب مایع ذرت با منابع مختلف انرژی بر فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی

Table 3. Effect of supplementing corn steep liquor with different energy sources on *in vitro* gas production parameters

Treatments	*In vitro* gas production parameters						
	GP_{24}[1]	GP_{48}[2]	GP_{72}[3]	TGP[4]	b[5]	c[6]	Lag[7]
Barley (B)	50.7	59.8	65.6[ab]	67.3[ab]	62.6[b]	0.074[ab]	0.07
Corn (C)	43.7	53.8	60.9[b]	63.2[b]	58.6[b]	0.061[bcd]	0.08
B + C	47.8	57.4	64.1[ab]	66.7[ab]	61.8[b]	0.071[abc]	0.08
Molasses 5%	52.5	64.1	69.5[a]	72.9[a]	70.6[a]	0.073[ab]	0.13
Molases10%	52.9	63.4	69.9[a]	73.2[a]	71.6[a]	0.076[a]	0.04
Molases15%	50.6	62.8	71.6[a]	75.2[a]	71.7[a]	0.059[cde]	0.01
Molases20	49.8	63.1	71.2[a]	74.8[a]	68.8[a]	0.052[de]	0.05
Molases25%	48.2	59.8	66.4[ab]	69.7[ab]	61.9[b]	0.047[e]	0.03
SEM[8]	0.94	1.02	1.03	1.09	0.96	0.01	0.018
P-value[9]	0.26	0.14	0.04	0.04	0.04	0.02	0.64

۱- حجم گاز تولیدی پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر)، ۲- حجم گاز تولیدی پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر)، ۳- حجم گاز تولیدی پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر)، ۴- کل حجم گاز تولیدی پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر)، ۵- پتانسیل تولید گاز از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر)، ۶- نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت)، ۷- فاز تأخیر (ساعت)، ۸- خطای استاندارد میانگین‌ها، ۹- احتمال معنی‌داری، حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد (P<۰/۰۵).

1- *In vitro* gas production (IVGP) for 24 h (ml), 2- IVGP for 48 h (ml), 3- IVGP for 72 h (ml), 4- Total gas production for 96 h (ml), 5. Gas production from the insoluble but fermentable fractions for 96 h (ml), 6- Rate constant of gas production during incubation (/h), 7- Lag time ,delay phase (h), 8- Standard error of the means, 9- Means within a column with different superscript letters are different (P<0.05).

همچنین، قابلیت دسترسی محتوای نیتروژن قابل دسترس و کربوهیدرات‌های قابل تخمیر نیز می‌تواند بر میزان گاز تولیدی در شرایط آزمایشگاهی تأثیرگذار باشد (Nagadi *et al*., 2000; Kondo *et al*., 2004). در مطالعه‌ای همبستگی بالایی بین میزان تولید گاز و تجزیه‌پذیری ماده آلی مواد خوراکی گزارش شد (Menke & Steingass, 1987). نتایج تحقیق حاضر مطابق با نتایج Wiedmeier *et al.* (1992) می‌باشد که گزارش کردند ملاس سوبسترایی سریع التخمیر است و کاربرد آن در جیره‌ها منجر به افزایش تولید گاز می‌شود. با توجه به این که مقدار ۶۵ درصد ماده خشک ملاس را کربوهیدرات‌های محلول در آب تشکیل می‌دهد (McDonald, 2011)، افزایش پتانسیل تولید گاز از بخش قابل تخمیر در جیره‌های حاوی ملاس-خیساب مایع ذرت در سطوح ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد نسبت به جیره‌های جو و ذرت به عنوان منابع تأمین کربوهیدرات می‌تواند به دلیل تجزیه و تخمیر سریع‌تر قندهای محلول موجود در ملاس (ساکارز) در مقایسه با نشاسته غلات باشد. زیرا نشان داده شده است که نرخ تخمیر قندهای محلول در شکمبه ۳۰۰ درصد و نرخ تخمیر نشاسته غلات ۶ تا ۶۰ درصد در ساعت است (Carver *et al*., 2007). تجزیه‌پذیری نشاسته غلات تابعی از عواملی نظیر ترکیب و شکل فیزیکی، اثرات متقابل پروتئین و نشاسته، اندازه گرانول‌های نشاسته، نسبت آمیلوز به آمیلوپکتین، ماهیت ماتریکس پروتئینی، استحکام سلولی واحدهای نشاسته، عوامل ضد تغذیه‌ای و شکل فیزیکی خوراک می‌باشد (Yu *et al*., 2002; Offner *et al*., 2003). کمتر بودن میزان گاز تولیدی ذرت نسبت به جو می‌تواند به این دلیل باشد که نشاسته ذرت ارتباط فیزیکی سخت و محکمی با ماتریکس پروتئینی دارد. حال آن که در ساختار داخلی جو چنین پیوند مستحکمی وجود نداشته و دسترسی آنزیم‌های هضمی میکروارگانیسم‌ها به منظور تخمیر نشاسته جو آسان‌تر می‌باشد. همچنین، ذرت حاوی نسبت کمتری از پروتئین‌های محلول آلبومین و گلوبولین و نسبت بیشتری از پروتئین‌های ذخیره‌ای پرولامین وگلوتلین است که حلالیت و تجزیه‌پذیری کمتری نسبت به پروتئین‌های دانه‌ی جو دارند (Blasel *et al*., 2006). از سوی دیگر، با انکوباسیون جیره حاوی بیشترین سطح ملاس (۲۵ درصد ماده خشک جیره) کاهش قابل توجه تولید گاز نسبت به سطوح کمتر ملاس مشاهده شد، که می‌تواند ناشی از کاهش توازن بین سطح کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌های قابل دسترس جیره‌ای برای میکروارگانیسم‌های شکمبه باشد. کاهش سریع pH ناشی از سطح بالای کربوهیدارت‌های محلول در جیره حاوی بیشترین سطح ملاس نیز این مسئله را تأیید می‌کند (جدول ۴).

فراسنجه‌های تخمیر

بر اساس نتایج جدول ۴، بیشترین میزان ناپدید شدن ماده خشک با مکمل نمودن خیساب ذرت با سطح ۱۰ درصد ملاس و کمترین میزان آن با انکوباسیون جیره حاوی ذرت به دست آمد (P<۰/۰۵). این افزایش هضم‌پذیری ممکن است ناشی از افزایش رشد میکروارگانیسم‌های شکمبه به دلیل همزمانی مطلوب بین منبع پروتئینی خیساب و قند محلول موجود در ملاس باشد. مطابق با این نتایج، در مطالعات دیگری نیز با افزودن ملاس به جیره غذایی میزان ناپدید شدن ماده خشک افزایش یافت (Shellito *et al*., 2006; Besharati *et al*., 2018). بیشترین و کمترین میزان pH به ترتیب با مکمل نمودن خیساب مایع ذرت با ذرت و سطح ۲۵ درصد ملاس به‌دست آمد (P<۰/۰۵). میانگین طبیعی pH شکمبه توسط ون‌سوست و همکاران در دامنه ۶/۸-۶/۱ گزارش شده است. علت pH کمتر جیره‌های آزمایشی در تحقیق حاضر احتمالاً وجود خیساب ذرت در جیره بوده است. به علت وجود غلظت زیاد لاکتات (جدول ۱) خیساب مایع ذرت دارای اسیدیته پایین می‌باشد (Azizi-Shotorkhotf *et al*., 2015). به علاوه اختلاف موجود می‌تواند ناشی از تخمیر سریع کربوهیدرات‌های محلول ملاس در شکمبه و تبدیل سریع آن‌ها به اسیدهای چرب فرار باشد که با سرعت بیشتری نسبت به غلات صورت می‌گیرد (Oba, 2011). ناهمسو با یافته‌های حاضر، Araba *et al.* (2002) افزایش pH شکمبه گاوها را با افزودن ملاس در مقایسه با نشاسته غلات گزارش نمودند.

بیشترین میزان غلظت نیتروژن آمونیاکی با مکمل نمودن خیساب ذرت با سطح ۲۵ درصد ملاس به دست آمد، اما کمترین میزان آن در جیره حاوی ۱۰ درصد ملاس مشاهده گردید (P<۰/۰۵). مطالعات نشان داده است که قندهای محلول، به ویژه ساکارز در مقایسه با نشاسته غلظت آمونیاک شکمبه را کاهش داده و تأثیر مطلوبی بر تولید پروتئین میکروبی دارند (Chamberlain *et al.*, 1993). افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی جیره حاوی بیشترین سطح ملاس نسبت به سایر تیمارها احتمالاً ناشی از کاهش میزان pH در جیره مذکور باشد که اثرات نامطلوبی بر مصرف آمونیاک و استفاده از آن برای تولید پروتئین میکروبی داشته است و این یافته مطابق با نتایج مطالعه Sahoo *et al.* (1993) است.

در این پژوهش استفاده از ملاس در کنار خیساب مایع ذرت به جای منابع نشاسته‌ای در سطح ۱۰ درصد سبب افزایش تولید پروتئین میکروبی در شرایط آزمایشگاهی گردید، به طوری که بیشترین میزان آن در جیره حاوی ۱۰ درصد ملاس و کمترین در جیره مکمل شده با سطح ۲۵ درصد ملاس مشاهده گردید (P<۰/۰۵). علت افزایش سنتز پروتئین میکروبی احتمالاً به دلیل همزمانی مطلوب بین انرژی به آسانی قابل دسترس ملاس و پروتئین‌های محلول موجود در خیساب مایع ذرت بوده است. به‌طور کلی، مشخص شده است در شرایطی که نسبت انرژی قابل دسترس به پروتئین قابل تخمیر بهینه باشد، تولید پروتئین میکروبی در شکمبه حداکثر خواهد بود (Mc Donald *et al.*, 2011). کاهش غلظت آمونیاک مایع شکمبه در جیره حاوی ۱۰ درصد ملاس نیز تأیید کننده این امر می‌باشد. زیرا نشان داده شده است که می‌توان از غلظت آمونیاک به عنوان شاخصی برای سنتز پروتئین میکروبی استفاده نمود (Chamberlain *et al.*, 1993). مطابق با این نتایج، در مطالعات دیگری نیز مکمل نمودن منابع پروتئین قابل تجزیه در شکمبه با قندهای محلول در جیره گوسفند سبب افزایش تولید توده میکروبی در مقایسه با نشاسته شد (Azizi-Shotorkhoft *et al.*, 2012; Chamberlain *et al.*, 1993). سایر فراسنجه‌های تخمیر از قبیل انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفتند (P>۰/۰۵).

گوارش‌پذیری دو مرحله‌ای مواد مغذی

همان‌طوری‌که در جدول ۵ نشان داده شده است بیشترین میزان گوارش‌پذیری دو مرحله‌ای ماده خشک، ماده آلی، ماده آلی قابل هضم در ماده خشک (DOMD)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) با مکمل نمودن خیساب ذرت با سطح ۱۰ درصد ملاس حاصل شد (P<۰/۰۵).

جدول ۴. اثر مکمل نمودن خیساب مایع ذرت با منابع مختلف انرژی بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

Table 4. Effect of supplementing corn steep liquor with different energy sources on ruminal fermentation parameters

Treatments	Fermentation parameters						
	ME[1]	IVDMD[2]	IVOMD[3]	SCFA[4]	pH	N -NH_3[5]	MPS[6]
Barley (B)	10.7	54.1[ab]	55.9	0.97	6.21[abc]	123[b]	40.9[bc]
Corn (C)	10.4	48.1[b]	50.2	0.82	6.36[a]	129[b]	37.5[cd]
B + C	10.5	52.9 [ab]	53.9	0.90	6.26[ab]	153[ab]	39.5[bcd]
Molasses 5%	11.1	53.1[ab]	56.3	0.98	6.13[bc]	117[b]	43.4[abc]
Molases10%	11.2	59.2[a]	57.2	1.01	6.14[bc]	108[b]	47.1[a]
Molases15%	11.1	53.5 [ab]	59.4	0.95	6.08[bcd]	110[b]	44.7[ab]
Molases20	10.6	52.1 [ab]	55.4	0.96	6.02[cd]	125[b]	40.1[bcd]
Molases25%	10.4	51.3[ab]	53.6	0.91	5.87[d]	182[a]	34.7[d]
SEM[7]	0.28	0.77	0.77	0.02	0.036	6.38	3.48
P-value[8]	0.26	<0.01	0.113	0.190	<0.01	0.020	0.01

۱- برآورد انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، ۲- ناپدید شدن ماده خشک (درصد)، ۳- ناپدید شدن ماده آلی (درصد)، ۴- اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر (میلی‌مول به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم سوبسترا)، ۵- اسیدیته، ۶- نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در لیتر)، ۷- سنتز پروتئین میکروبی (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)، ۸- خطای استاندارد میانگین‌ها، ۹- احتمال معنی‌داری، حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد (P<۰/۰۵).

1- Estimated metabolizable energy (MJ/kg DM), 2- *In vitro* dry matter disappearance (%), 3- *In vitro* organic matter disappearance (%), 4- Short chain fatty acids (mmol/200 mg DM), 5- Ammonia nitrogen (mg/l), 6- Microbial protein synthesis (mg/g DM), 7- Standard error of means, 8- Means within a column with different superscript letters are different (P<0.05).

کمترین میزان هضم‌پذیری ماده خشک، ماده آلی و DOMD در جیره مکمل شده با ذرت و کمترین میزان هضم‌پذیری NDF و ADF در جیره مکمل شده با جو به دست آمد (P<۰/۰۵). مطابق با این نتایج، در مطالعه‌ای افزایش قابلیت هضم ماده خشک و آلی به دنبال مکمل‌سازی کود مرغی به عنوان منبع پروتئین با ۱۰ درصد ملاس در مقایسه با جیره‌های حاوی جو و ذرت در گوسفند گزارش شد (Azizi-Shotorkhoft *et al.*, 2012). در پژوهش دیگری جایگزینی سطوح ۱۰ و ۱۵ درصد ملاس به جای ذرت در جیره گاوهای شیری افزایش گوارش‌پذیری ماده خشک را به دنبال داشته است (Hatch & Beeson, 1972). در تحقیق Huhtanen *et al.* (1988) نیز با جایگزینی جو توسط ملاس گوارش‌پذیری ماده آلی بهبود یافت. همچنین، Broderick & Radloff (2004) نتایج مشابهی با استفاده از ملاس در مقایسه با ذرت در جیره گاو شیری به دست آوردند. هرچند، مغایر با این نتایج در تحقیقی گنجاندن ملاس در جیره گاوهای نر پرواری تأثیری بر گوارش‌پذیری ماده خشک نداشت (Brannon, 1954). اختلاف در نتایج به دست‌آمده می‌تواند مرتبط با تنوع در منابع ملاس، مقادیر مکمل‌سازی، اجزاء جیره‌ها، کیفیت علوفه و نوع دام باشد. گوارش‌پذیری خود تابعی از عوامل فیزیکی و شیمیایی موجود در ماده تحت آزمایش از جمله میزان لیگنین و کربوهیدرات‌های ساختمانی دیواره سلولی، محتوای بخش کربوهیدراتی نمونه و سایر عوامل است (Azizi-Shotorkhoft *et al.*, 2015). وجود قندهای محلول در جیره‌های حاوی ملاس و تجزیه سریع آنها همراه با نیتروژن موجود در خیساب ذرت که عمدتاً به صورت محلول است آمونیاک کافی را برای فعالیت باکتری‌ها فراهم می‌کند، همزمانی استفاده از انرژی و پروتئین را برای میکروارگانیسم‌های شکمبه تسهیل نموده و باعث بهبود گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی خواهد شد.

فعالیت آنزیمی

همان‌گونه که در جدول ۶ مشاهده می‌شود مکمل نمودن خیساب مایع ذرت با سطح ۱۰ درصد ملاس سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد (P<۰/۰۵). بیشترین میزان فعالیت تجزیه کاغذ صافی در تیمار حاوی خیساب ذرت مکمل‌شده با سطح ۵ درصد ملاس و کمترین میزان آن در تیمار حاوی ۲۵ درصد ملاس حاصل گردید (P<۰/۰۵). هرچند، در ارتباط با فعالیت آلفا آمیلاز بیشترین میزان فعالیت آن در جیره حاوی جو و کمترین میزان آن در جیره مکمل شده با بیشترین سطح ملاس به‌دست آمد (P<۰/۰۵). فعالیت آنزیم‌های شکمبه نشان‌دهنده میکروب‌هایی است که در هضم ذرات خوراکی درگیر هستند (Raghuvansi *et al.*, 2007).

جدول ۵. اثر مکمل نمودن خیساب مایع ذرت با منابع مختلف انرژی بر گوارش‌پذیری دو مرحله‌ای مواد مغذی (درصد ماده خشک یا واحد ذکر شده)

Table 5. Effect of supplementing corn steep liquor with different energy sources on two-stage *in vitro* nutrient digestibility (% of dry matter or as stated)

Treatments	Digestibility				
	DM[1]	OM[2]	DOMD[3]	NDF[4]	ADF[5]
Barley (B)	74.3[ed]	76.4[ab]	681[b]	53.3[c]	47.4[c]
Corn (C)	69.2[e]	70.2[c]	650[c]	54.7[bc]	50.5[b]
B + C	72.7[cde]	74. 7[bc]	669[bc]	54.3[c]	50.1[b]
Molasses 5%	78.1[ab]	79.4[ab]	707[ab]	59.8[ab]	55.8[b]
Molases10%	79.1[a]	81.8[a]	725[a]	62.1[a]	58.1[a]
Molases15%	78.7[a]	80.3[ab]	707[ab]	62. 1[a]	59.7[a]
Molases20	76.1[abc]	77.1[ab]	675[bc]	61.3[a]	58.1[a]
Molases25%	74.3[bcd]	76.1[ab]	663[bc]	57.8[abc]	54.5[b]
SEM[6]	0.653	0.864	9.76	2.49	1.062
P-value[7]	<0.01	<0.01	0.02	0.03	<0.01

۱- ماده خشک (درصد)، ۲- ماده آلی (درصد)، ۳، ماده آلی قابل هضم در ماده خشک (گرم در کیلوگرم)، ۴- الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)، ۵- الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)، ۶- خطای استاندارد میانگین‌ها، ۷- احتمال معنی‌داری، حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد (P<۰/۰۵).

1- Dry matter (%), 2- Organic matter (%), 3- Digestibile organic matter in the dry matter (g/kg), 4- Neutral detergent fibre (%), 5- Acid detergent fibre (%), 6- Standard error of means, 7- Means within a column with different superscript letters are different (P<0.05).

جدول ۶. اثر مکمل نمودن خیساب مایع ذرت با منابع مختلف انرژی بر فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک (واحد در دقیقه در میلی‌لیتر مایع شکمبه) شکمبه گوسفند

Table 6. Effect of supplementing corn steep liquor with different energy sources on the activity of ruminal hydrolytic enzymes of lambs (units per minute in ml of rumen content of sheep)

Treatments	CMCase[1]	MCCase[2]	FPD[3] activity	Alpha amylase
Barley	1.47[de]	1.38[e]	1.54 [de]	9.48[a]
Corn	1.66[cd]	1.76[c]	1.77 [c]	8.51[b]
Barly + Corn	1.56[cde]	1.23[g]	1.65[cd]	7.69[c]
Molasses 5%	1.75[c]	1.26[f]	2.06[a]	7.05[d]
Molases10%	2.55[a]	2.61[a]	1.92[b]	7.11[d]
Molases15%	2.21[b]	2.51[b]	1.51[de]	6.89[d]
Molases20	1.75[c]	1.07[d]	1.43[e]	7.34[cd]
Molases25%	1.31[e]	1.66 [d]	1.30[f]	6.83[d]
SEM[4]	0.012	0.013	0.031	0.067
P-value[5]	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

۱- کربوکسی متیل سلولاز، ۲- میکروکریستالین سلولاز، ۳- فعالیت تجزیه کاغذ صافی، ۴- خطای استاندارد میانگین‌ها، ۵- احتمال معنی‌داری، حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد (P<۰/۰۵).

1- Carboxymethyl cellulase, 2- Microcrystalline cellulase. 3- Filter paper-degrading activity. 4- Standard error of means, 5. Means within a column with different superscript letters are different (P<0.05).

تفاوت بین تیمارهای آزمایشی در مورد فعالیت آنزیم‌ها می‌تواند در نتیجه تغییر در جمعیت میکروبی با توجه به جیره تغذیه شده و در نتیجه تغییر در الگوی آنزیم‌ها باشد (Kamra *et al*., 2010). بهبود فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده الیاف با مکمل نمودن جیره با ملاس و پروتئین محلول خیساب ذرت تأییدکننده نتایج مربوط هضم‌پذیری مواد مغذی با انکوباسیون جیره مذکور است. دلیل این امر احتمالاً قابلیت دسترسی بیشتر به قندهای محلول و پروتئین قابل تجزیه در شکمبه و در نتیجه افزایش جمعیت باکتری‌های فیبرولایتیک در شکمبه بوده است. افزایش فعالیت آلفا آمیلاز شکمبه‌ای در تیمارهای حاوی نشاسته نسبت به ملاس ممکن است ناشی از فراهمی بیشتر سوبسترای نشاسته برای افزایش جمعیت این گروه از میکروب‌ها باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مکمل نمودن خیساب مایع ذرت با سطح ۱۰ درصد ملاس در مقایسه با منابع نشاسته‌ای، بازدهی استفاده از مواد مغذی آن را از طریق بهبود هضم آن‌ها و متابولیسم نیتروژن در شرایط برون‌تنی افزایش داد. هرچند، جهت تأیید یافته‌های حاضر انجام تحقیقات بیشتر به ویژه در شرایط دام زنده ضروری به نظر می‌رسد.

REFERENCES

1. Agarwal, N., Agarwal, I., Kamra, D. N. & Chaudhary, L. C. (2000). Diurnal variations in the activities of hydrolytic enzymes in different fractions of rumen contents of Murrah buffalo. *Journal of Applied Animal Research*, 18, 73-80.
2. Agricultural and Food Research Council. (1992). Technical committee on responses of nutrients, Report No 9. Nutritive requirements of ruminant animal: Protein. Nutrition Abstract and Review. Series b, 62(12), 787-835, CAB International, Wallingford, Oxon.
3. AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
4. Araba, A., Byers, F. M. & Guessous, F. (2002). Patterns of rumen fermentation in bulls fed barley/molasses diets. *Animal feed Science and Technology*, 97, 53-64.
5. Azizi-Shotorkhoft, A., Rezaei, J., & Fazaeli, H. (2013). The effect of different levels of molasses on the digestibility, rumen parameters and blood metabolites in sheep fed processed broiler litter. *Animal feed science and Technology*, 179, 69-76.
6. Azizi-Shotorkhoft, A., Rouzbehan, Y. & Fazaeli, H. (2012). The influence of the different carbohydrate sources on utilization efficiency of processed broiler litter in sheep. *Livestock Science*, 148, 249-254.
7. Azizi-Shotorkhoft, A., Sharifi, A., Mirmohammadi, D., Baluch-Gharaei, H. & Rezaei, J. (2015). Effects of feeding different levels of corn steep liquor on the performance of fattening lambs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100, 109-117.
8. Besharati, M., Shafipour, N., Abdi, E. & Nemati, Z. (2018). Effects of supplementation alfalfa silage with molasses, orange pulp and *Lactobacillus buchneri* on *in vitro* dry matter digestibility and gas production. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 6, 43-47.

9. Blasel, H. M., Hoffman, P. C. & Shaver, R. D. (2006). Degree of starch access: An enzymatic method to determine starch degradation potential of corn grain and corn silage. *Animal feed Science and Technology*, 128, 96-107.
10. Blümmel, M., Steingss, H. & Becker, K. (1997). The relationship between in vitro gas production, in vitro microbial biomass yield and 15^N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition*, 77, 911-921.
11. Brannon, W. F., Reid, J. T. & Miller, J. I. (1954). The influence of certain factors upon the digestibility and intake of pasture herbage by beef steers. *Journal of Animal Science*, 13, 535-542.
12. Broderick, G. & Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, 63, 64-75.
13. Broderick, G. A. & Radloff, W. J. (2004). Effect of molasses supplementation on the production of lactating dairy cows fed diets based on alfalfa and corn silage. *Journal of Dairy Science*, 87(9), 2997-3009.
14. Callison, S. L., Firkins, J. L., Eastridge, M. L. & Hull, B. L. (2001). Site of nutrient digestion by dairy cows fed corn of different particle sizes or steam-rolled. *Journal of Dairy Science*, 84, 1458-1467.
15. Chamberlain, D. G., Robertson, S. & Choung, J. J. (1993). Sugars versus starch as supplements to grass silage: effects on ruminal fermentation and the supply of microbial protein to the small intestine, estimated from the urinary excretion of purine derivatives in sheep. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 63, 189-194.
16. Getachew, G., Makkar, H. P. S. & Becker, K. (2002). Tropical browses: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. *Journal of Agricultural Science*, 139, 341-352.
17. Hatch, C. F. & Beeson, W. M. (1972). Effect of different levels of cane molasses on nitrogen and energy utilization in urea rations for steers. *Journal of Animal Science*, 35, 854-858.
18. Huhtanen, P. (1988). The effects of barley, unmolested sugar-beet pulp and molasses supplements on organic matter, nitrogen and fiber digestion in the Rumen of cattle given a silage diet. *Animal feed Science and Technology*, 20, 259-278.
19. Kamra, D. N., Agarwal, N. & McAllister, T. A. (2010). Screening for compounds enhancing fiber degradation. In: P.E.Vercoe, Makkar HPS, A.C Schlink (Ed). In: In Vitro screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies, Chapter 6. Dordrecht (the Netherlands): IAEA, 87-107.
20. Kondo, M., Kita, K. &Yokota, H. O. (2004). Effects of tea leaf waste of green tea, oolong tea, and black tea addition on sudangrass silage quality and in vitro gas production. *Journal of Science Food Agricalture*, 84, 721-727.
21. Marten, G. C. & Barnes, R. F. (1980). Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermentation and fungal enzymes systems. In: Pidgen, W. J., Balch, C. C. & Graham, M. (Eds), *Standardization of analytical methodology for feeds*. (pp. 61-71.) International Development Research Center, Ottawa.
22. McDonald, I. (1981). A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. *Journal of Agricultural Science*, 96, 251-252.
23. McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A. & Wilkinson, R. G. (2011). *Animal Nutrition*. (7th ed). Longman Group UK, Harlow, UK, P-693.
24. Menke, K. 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, 7-55.
25. Menke, K. H. & Steingass, H. (1987). Estimate of the energetic feed value from the in vitro rumen juice with certain gas formation and the chemical analysis II regression equations. *Ubers Tierernahrg*, 15, 59-94.
26. Miller, J. L. (1959). Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry*, 31, 426-429.
27. Nagadi, S., Herrero, M. & Jessop, N. S. (2000). The influence of diet of the donor animal on the initial bacterial concentration of ruminal fluid and in vitro gas production degradability parameters. *Animal Feed Science and Technol*ogy, 87, 231-239.
28. Nasir, T., Sarwar, M., Ahmad, F., Tipu, M. A. & Hussain, I. (2012). Influence of substitution of concentrate with molasses and corn steep liquor on nutrient intake, weight gain and feed conversion efficiency of buffalo calves. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 22, 296-300.
29. Neethling, K. E. (2016). *The effect of different energy and nitrogen sources on in vitro fibre digestion and gas production kinetics of high and low quality forages*. Ph.D. thesis. Stellenbosch, Stellenbosch University, Sout Africa.
30. NRC. (2007). *Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervide, and new world camelids*. National Academy of Sciences, Washington, DC., USA, p. 362.

31. Oba, M. (2011). Review: Effects of feeding sugars on productivity of lactating dairy cows. *Canadainan Journal of Animal Science*, 91, 37-46.
32. Offner, A., Bach, A. & Sauvant, D. (2003). Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, 106, 81-93.
33. Raghuvansi, S. K. S., Prasad, R., Tripathi, M. K. & Mishra, A. S. (2007). Effect of complete feed blocks or grazing and supplementation of lambs on performance, nutrient utilization, and rumen fermentation and rumen microbial enzymes. *Animal*, 1, 221-226.
34. Richardson, J. M., Wilkison, R .G. & Sinclair, L. A. (2003). Synchrony of nutrient supply to the rumen and dietary energy source and their effects on the growth and metabolism of lambs. *Journal of Animal Science*, 81, 1332-1347.
35. Sahoo, B. & Walli, T. K. (2008). Effects of formaldehyde treated mustard cake and molasses supplementation on nutrient utilization, microbial protein supply and feed efficiency in growing kids. *Animal Feed Science Technology*, 142, 220-230.
36. Shellito, S. M., Ward, M. A., Lardy, G. P., Bauer, M. L. & Caton J. S. (2006). Effects of concentrated separator by-product (desugared molasses) on intake, ruminal fermentation, digestion, and microbial efficiency in beef steers fed grass *hay. Journal of Animal Science*, 84, 1535-1543.
37. Tilly, J. M. A. & Terry, R. A. (1963). A two stage technique for in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, 18, 104-111.
38. Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
39. Wiedmeier, R., Tanner, B., Bair, J., Shenton, H., Arambel, M. & Walters, J. (1992). Effects of a new molasses byproduct. Concentrated separator byproduct, on nutrient digestibility and ruminal fermentation in cattle. *Journal of Dairy Science*, 70, 1936-1940.
40. Yu, P., Goelema, J. O. & Leury, B. J. (2002). An analysis of the nutritive value of heat processed legume seeds for animal production using the DVE/OEB model: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 99, 141-176.