

Influence of feeding processed cottonseed on pH, protozoa population, volatile fatty acids, activity of rumen cellulolytic enzyme and urinary purine derivatives in fattening lambs

Abstract:

The study was conducted to investigate the effect of processed cottonseed feeding on pH, protozoa population, volatile fatty acids in rumen fluid, carboxymethyl cellulase and microcrystalline cellulase enzyme activity, urinary purine derivatives. For this purpose 40 Afshari male lambs, (4-6 months old) with an average weight of 27.6 ± 4 kg, were assigned randomly to four treatments with ten replications for 84 days. Experimental treatments included: 1) diet containing whole cottonseed, 2) diet containing ground cottonseed, 3) diet containing micronized cottonseed and 4) diet containing cottonseed washed with sodium hydroxide. Sampling of rumen fluid was done in the last week of the experimental period. In order to estimate microbial protein, urine was collected for 1 days. The results of the experiment showed that cotton seed processing had no significant effect on protozoan activity. However, cotton seed processing had a significant difference ($P < 0.05$) on rumen pH and ammonia nitrogen. Cottonseed processing had a significant effect on acetic acid and propionic acid. There was no significant difference in the activity of microcrystalline cellulase and carboxymethyl cellulase in all sections between the control treatment and other treatments. With cottonseed processing, there was no significant difference in the amount of absorbed, excreted and absorbed purine derivatives, microbial protein production in the rumen and microbial nitrogen produced among different treatments. Findings show that micronized cottonseed processing and sodium hydroxide has increased the daily weight and improved the feed conversion ratio, and as a result, it can be recommended in the diet of fattening lambs.

Keywords: fattening lambs, cottonseed, micronization, sodium hydroxide, purine derivatives, cellulase activity

تأثیر تغذیه پنبه دانه فرآوری شده بر pH، جمعیت پروتوزوا، اسیدهای چرب فرار، نیتروژن آمونیاکی، فعالیت آنزیم‌های سلولولایتيک شکمبه و مشتقات پورینی ادرار در بره‌های پرواری

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تاثیر تغذیه پنبه‌دانه فرآوری شده بر pH، نیتروژن آمونیاکی، جمعیت پروتوزوا و اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه، فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز و مشتقات پورینی ادرار در بره‌های پرواری انجام شد. تعداد 40 راس بره نر افشاری (4-6 ماهه) با میانگین وزن 27.6 ± 4 کیلوگرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به چهار تیمار آزمایشی با 10 تکرار به مدت 84 روز مورد استفاده قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل: 1) جیره حاوی پنبه‌دانه کامل (2) جیره حاوی پنبه‌دانه آسیاب شده (3) جیره حاوی پنبه‌دانه میکرونیزه شده و (4) جیره حاوی پنبه‌دانه شسته شده با هیدروکسید سدیم بودند. نمونه‌گیری از مایع شکمبه در هفته آخر دوره آزمایشی انجام شد. جهت تخمین پروتئین میکروبی، جمع‌آوری ادرار به مدت یک روز انجام گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که فرآوری پنبه‌دانه بر میزان فعالیت پروتوزوا تاثیر معنی‌دار نداشت. اما فرآوری پنبه‌دانه بر روی مقدار pH و نیتروژن آمونیاکی شکمبه دارای تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0.05$). فرآوری پنبه‌دانه تاثیر معنی‌داری بر روی اسیداستیک و اسید پروپیونیک داشت. تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت میکروکریستالین سلولاز و کربوکسی متیل سلولاز در تمام بخش‌ها بین تیمار شاهد و سایر تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$). با فرآوری پنبه‌دانه اختلاف معنی‌داری در میزان مشتقات پورینی جذب شده، دفع شده جذب شده، تولید پروتئین میکروبی در شکمبه و نیتروژن میکروبی تولید شده در بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که فرآوری پنبه‌دانه به صورت میکرونیزه و هیدروکسید سدیم موجب افزایش رشد روزانه و بهبود ضریب تبدیل خوراک شد و می‌توان در جیره بره‌های پرواری پیشنهاد داد.

کلمات کلیدی: بره پرواری، پنبه دانه، میکرونیزه، هیدروکسید سدیم، مشتقات پورینی، فعالیت سلولاز

مقدمه

پنبه یک محصول فیبری مهم با اهمیت جهانی است و در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری بیش از هشتاد کشور کشت می شود. پنبه عمدتاً برای پرز یا الیاف آن کشت می شود. در حال حاضر، روغن دانه پنبه نیز به طور گسترده ای استفاده می شود بنابراین، پنبه به یک محصول فیبری و روغنی تبدیل شده است. دانه‌های آن نیز حاوی ۲۰-۲۵ درصد پروتئین است. چهار محصول از گیاه پنبه یعنی الیاف، دانه، ساقه و برگ وجود دارد. که الیاف محصول اصلی و بقیه محصولات فرعی هستند. پنبه‌دانه محصول فرعی کارخانجات پنبه پاک کنی بعد از جداسازی الیاف می‌باشد (Shahi & Ghoorchi., 2016). پنبه‌دانه به دلیل داشتن مقدار زیادی پروتئین (۲۳/۵ درصد) و چربی (۱۹/۵ درصد) ارزش غذایی زیادی برای نشخوارکنندگان پرتولید دارد (Taghinejad Rodbeneh & Ebrahimi., 2010) که از آن می‌توان برای افزایش پروتئین و انرژی جیره استفاده کرد. استفاده از پنبه‌دانه به مقدار ۲۵ و ۱۵ درصد کل جیره گوسفندان و گاوهای شیری سبب کاهش تولید متان به میزان ۱۲ درصد شده است و همچنین استفاده از آن به میزان ۲۵ درصد در جیره گوسفندان و در گاوهای شیری به میزان ۱۵ درصد سبب کاهش حرارت افزایشی به مقدار ۷/۸ درصد شده است (Afzalzadeh et al., 2011). با این وجود پروتئین آن‌ها به دلیل حل شدن زیاد در شکمبه به سرعت تجزیه شده و در نتیجه بازدهی استفاده از پروتئین آن‌ها برای نشخوارکنندگان پرتولید کاهش می‌یابد. بنابراین افزایش دادن پروتئین عبوری این دانه روغنی یا به عبارتی کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه از اهمیت ویژه‌ای در تغذیه نشخوارکنندگان پرتولید برخوردار است (Taghinejad Roudbaneh & Ebrahimi., 2010).

شکل فیزیکی یکی از عوامل مهم مؤثر در مقدار مصرف خوراک و قابلیت هضم خوراک در دام است. عمل‌آوری می‌تواند روی برخی صفات عملکردی دام تأثیر بگذارد. می‌توان با فرآیندهای فیزیکی و شیمیایی ارزش تغذیه‌ای خوراک را افزایش و بازدهی تولید را بهبود بخشید (Valizadeh Ghalebeyg, 2018). فرآوری خوراک می‌تواند در کاهش سرعت عبور از شکمبه و تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و پروتئین خام و کاهش اسیدوز شکمبه‌ای مؤثر باشد (Dehghan Banadaki et al., 2000). تغییر در شکل خوراک به وسیله انواع روش‌های فرآوری ایجاد می‌شود. این روش‌ها به صورت عمل‌آوری‌های شیمیایی (استفاده از الکل، زایلوز، اسیدهای آلی و معدنی، لیگنوسولفات و فرمالدئید، هیدروکسید سدیم)، فیزیکی (آسیاب کردن، استفاده از حرارت خشک، حرارت مرطوب و پرتوتابی) و یا ترکیب آن‌ها اعمال شده است (Tuncer & Sacakly, 2003).

تیمار خوراک با هیدروکسید سدیم می‌تواند با هیدرولیز پیوند استری بین لیگنین و پلی ساکاریدهای دیواره سلولی (سلولز و همی سلولز) سبب دسترسی آسان‌تر میکروارگانیسم‌های شکمبه به کربوهیدرات‌ها می‌شود و با فراهم کردن کربوهیدرات‌های محلول بیشتر، موجب افزایش اتصال میکروب‌ها شده و تجزیه‌پذیری پلی ساکاریدهای دیواره سلولی بیشتر و به این ترتیب قابلیت هضم دیواره سلولی را بهبود می‌بخشد. به نحوی بر کاهش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و قابلیت هضم موادمغذی در کل مجرای گوارشی مؤثر باشد که این عمل در نهایت بر عملکرد تأثیر گذار است (Ghoorchi et al., 2013). میکرونیزاسیون^۱ یک روش فرآوری حرارتی است که در طی آن دانه‌های روغنی برای مدت زمان کوتاه (۳۰ تا ۹۰ ثانیه) در معرض اشعه مادون قرمز با طول موج حدود ۲/۵ میکرومتر قرار می‌گیرند. نفوذ اشعه مادون قرمز به داخل ذرات خوراک موجب افزایش حرارت داخلی دانه (Sajjadi et al., 2022) و متعاقباً دنا توره شدن ماتریکس پروتئینی می‌گردد. دنا توره شدن حلالیت نیتروژن و تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین را کاهش می‌دهد. دنا توره شدن ماتریکس پروتئینی که اطراف ذرات چربی را احاطه کرده است؛ دسترسی میکروارگانیسم‌های شکمبه به محتوای چربی دانه را کاهش می‌دهد (McAllister & Sultana, 2011).

نتایج حاصل از مطالعات درون تنی و برون تنی بر روی دانه کتان (Petit et al., 2002) نشان می‌دهند که فرآوری میکرونیزاسیون می‌تواند بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای اسیدهای چرب غیراشباع را کاهش دهد. نوع فرآوری نقش اساسی

بر استفاده باکتری‌های شکمبه از نشاسته و یا عبور نشاسته به قسمت‌های پایین‌تر دستگاه گوارش و هضم در آنجا دارد و نشخوارکنندگان برای بدست آوردن انرژی از مواد گیاهی به تخمیر میکروبی در شکمبه وابسته اند (Rajabi Aliabadi et al., 2022).

برای تعیین فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌توان از میزان فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده فیبر همانند فعالیت کل سلولاز (تجزیه کاغذ صافی)، کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز استفاده نمود (Agarwal et al., 2000). فعالیت این آنزیم‌ها در سه بخش مجزا از محتویات شکمبه شامل ذرات ریز (میکروب‌های متصل به بخش ذرات شکمبه)، بخش درون سلولی (سلول‌هایی که به صورت آزادانه در بخش مایع از مایع شکمبه معلق هستند) و بخش خارج سلولی (آنزیم‌های موجود در بخش مایع) اندازه‌گیری می‌شوند (Agarwal et al., 2000). در بین این سه بخش بیشترین فعالیت هیدرولیتیک آنزیم‌ها مربوط به بخش میکروب‌های متصل به ذرات ریز، پس از آن آنزیم‌های درون سلولی و در نهایت آنزیم‌های خارج سلولی می‌باشد اندوگلوکاناز (کربوکسی متیل سلولاز) توسط باکتری‌های سلولولیتیک اصلی شکمبه که تصور می‌شود تجزیه سلولز را آغاز می‌کنند، تولید می‌شود. این آنزیم‌ها در ابتدا با سلول‌های باکتریایی مرتبط هستند (Agarwal et al., 2000). Silva et al. (1987) نیز گزارش کردند که کربوکسی متیل سلولاز می‌تواند به عنوان شاخص جمعیت کل کلونی شده روی ذرات خوراک استفاده شود و نیز می‌تواند برای ارزیابی تفاوت محیط شکمبه که بر تجزیه‌پذیری فیبر تأثیر می‌گذارد به کار رود. بنابراین اندازه‌گیری فعالیت کربوکسی متیل سلولاز باکتری‌های چسبیده به ذرات خوراک در شکمبه احتمالاً روش مناسبی برای تخمین میزان تجمع نسبی باکتری‌های سلولولیتیک بر روی ذرات علوفه نیز محسوب می‌شود.

مشتقات پورینی ادرار برای تخمین پروتئین میکروبی در شکمبه حیوانات نشخوارکننده استفاده می‌شود زیرا یک همبستگی میان جریان دئودنومی اسیدهای نوکلئیک و مشتقات پورینی گزارش شده است با افزایش سطح کنسانتره چیره غذایی، دفع ادراری آلانتوئین، اسید اوریک، مجموع پورین‌ها و آلانتوئین شیر نیز افزایش می‌یابد (Gomes., 1992). (Chen &

آزمایش‌های اندکی در زمینه فرآوری شیمیایی و فیزیکی پنبه‌دانه کامل در تغذیه بره‌های پروراری انجام شده‌است. هدف از این آزمایش، بررسی اثر تغذیه پنبه‌دانه کامل، آسیاب‌شده، شسته شده با هیدروکسید سدیم و پرتوتایی شده بر pH، نیتروژن آمونیاکی، پروتوزوا و اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه، فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز، مشتقات پورینی ادرار در بره‌های نر نژاد افشاری افشاری بود. فرضیه ما بر این اساس بود که آیا فرآوری پنبه‌دانه بر روی پارامترهای اندازه‌گیری شده مذکور تأثیر دارد؟

پیشینه پژوهش

پنبه‌دانه به‌طور گسترده در جهان به‌عنوان مکمل خوراک گوسفند استفاده شده‌است. منبع خوبی از انرژی قابل سوخت و ساز (۱۲-۱۴ ME/kg) و پروتئین خام (۱۹-۲۴ درصد) است، اما همیشه باید همراه با مقادیر کافی علوفه تغذیه شود. حدود ۹۵ درصد نیتروژن موجود در دانه‌های روغنی، پروتئین حقیقی است که قابلیت هضم ظاهری آن‌ها ۷۵ تا ۹۰ درصد و ارزش بیولوژیکی آن‌ها بیشتر از پروتئین غلات است (Shahi & Ghoorchi., 2016). جهت رسیدن به توان بالقوه دام‌های با تولید زیاد (گوشت و پشم) پروتئین قابل تجزیه در شکمبه جوا بگوی تامین نیاز پروتئینی آن‌ها نمی‌باشد (Soflei et al., 2006). لذا محافظت پروتئین دانه‌های روغنی از تجزیه شکمبه‌ای، اثرات مثبتی بر عملکرد دام بر جای خواهد گذاشت (Ghanbari et al., 2020).

پرتوتابی یک فرآیند حرارتی است که در آن خوراک در معرض نور مادون قرمز با طول موج بیشتر از ۲/۵ میکرومتر به مدت خیلی کم (۳۰-۹۰ ثانیه) قرار می‌گیرد (Zarnegar et al., 2023). با نفوذ مادون قرمز دمای داخلی خوراک افزایش می‌یابد (Sajjadi et al., 2022) که منجر به دناتورشدن پروتئین می‌گردد (Tuncer & Sacakly, 2003). Zarnegar et al., (2023) نشان دادند افزودن ۰/۱۸ کیلوگرم دانه کلزای خام یا میکرونیزه فلیک به جیره می‌شها باعث تفاوت معنی‌دار در وزن بدن و امتیاز وضعیت بدنی می‌شها پس از زایمان شد.

در روش آسیاب کردن، لایه‌های خارجی شکسته می‌شود تا آندوسپرم بیشتر تحت تجزیه قرار گیرد (Porter et al., 2007). Mehrani et al (2021) فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکرو کریستالین سلولاز در بخش سلولی، خارج سلولی، بخش جامد و کل (مجموع هر ۳ بخش)، بیشترین مقدار در تیمار شاهد و کمترین مقدار در تیمار حاوی ۱۵ درصد سیب زمینی مشاهده کردند و از نظر آماری بین سه تیمار معنی‌دار است. Khalilzad et al (2022) گزارش کردند فعالیت میکرو کریستالین سلولاز با افزایش سطوح کنجاله کتان به جای کنجاله پنبه دانه در هر سه بخش فعالیت آنزیمی (داخل سلولی، خارج سلولی و وابسته به ذرات) به‌طور معنی‌دار کاهش پیدا کرد ($P < 0/05$). پلت‌سازی گندم فراوری شده با هیدروکسید سدیم منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت کل آنزیمی کربوکسی متیل سلولاز نسبت به تیمارهای بدون عمل‌آوری، آسیاب شده و تیمار اوره+هیدروکسید سدیم+آسیاب شد ($P < 0/05$) (Valizadeh Ghalebeyg, 2018). Kazemi (2017) تفاوت معنی‌داری بین تیمارها (فراوری‌های ذرت) از لحاظ فعالیت آنزیم‌های سلولاز و میکرو کریستالین سلولاز مشاهده نکردند. دانه ذرت فراوری شده در تغذیه بره‌های پرواری اثری بر میزان پروتئین میکروبی و مشتقات پورینی نداشتند. Valizadeh Ghalebeyg (2018) نشان دادند میزان دفع هر یک از مشتقات پورینی و کل دفع و جذب مشتقات پورینی از ادراک و میزان پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. جیره‌های آزمایشی اثری بر pH، اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه نداشتند. جیره دارای ۱۰۰ درصد ذرت پلت شده بیشترین و جیره شاهد کمترین مقدار نیتروژن آمونیاکی در شکمبه را دارا بودند. تفاوت معنی‌داری در میزان کل باکتری‌ها و پروتوزوا دیده نشد، اگرچه مقایسات مستقل نشان داد که فراوری ذرت به روش ورقه‌شده با بخار نسبت به دو فراوری دیگر باعث کاهش شمار باکتری‌های اسیدلاکتیکی شد ($P < 0/05$). همچنین استفاده همزمان از دو غله در جیره ذرت و جو در کنار هم نسبت به تیمارهایی که تنها ذرت داشتند شمار باکتری‌های اسیدلاکتیکی بیشتری داشتند (Kazemi et al., 2017).

روش شناسی پژوهش

این پژوهش در یک واحد گوسفندداری صنعتی واقع در روستای قلعه‌خان شهرستان مانه و سملقان در استان خراسان شمالی و در زمستان ۱۴۰۱ انجام گرفت. تعداد چهل رأس بره نر افشاری با میانگین سن $1 \pm 4/5$ ماهه با میانگین وزن $4 \pm 27/6$ در قالب طرح کاملاً تصادفی به چهار تیمار آزمایشی و ده تکرار در هر تیمار به‌طور انفرادی اختصاص یافتند. تیمارهای آزمایشی شامل جیره پایه حاوی پنبه‌دانه بدون فراوری (شاهد)، جیره حاوی پنبه دانه آسیاب شده، جیره حاوی پنبه‌دانه پرتوتابی (میکرونیزه شده) و جیره حاوی پنبه‌دانه شستشو شده با هیدروکسید سدیم بودند. جهت آسیاب کردن، پنبه‌دانه‌ها توسط آسیاب سنگی تراکتوری (سازنده محلی) خرد و با اندازه مش ۴ آسیاب شدند. فراوری شیمیایی نمونه‌های پنبه‌دانه بدین صورت انجام شد که ابتدا محلول ۴ درصد هیدروکسید سدیم (۴ گرم هیدروکسید سدیم در ۱۰۰ میلی لیتر آب) تهیه شد. این محلول به گونه‌ای با نمونه‌های پنبه دانه آغشته شد تا غلظت ۴ گرم هیدروکسید سدیم به ازای ۱۰۰ گرم ماده خشک پنبه‌دانه به‌دست آید و سپس به مدت ۴۸ ساعت در شرایط هوای آزاد نگهداری و خشک شد (Valizadeh Ghalebeyg, 2018). جهت پرتوتابی ابتدا به پنبه‌دانه ۵ درصد وزنی آب آشامیدنی افزوده شد و داخل یک استوانه به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰ دور در دقیقه چرخانده شد تا آب کاملاً جذب دانه شود. سپس دانه‌ها با فاصله تابش ۱۲ سانتی‌متری به مدت ۶۰ ثانیه در میکرونایزر فلیکرگازی (شرکت دانش‌بنیان فرآورده‌های فرودوسی مشهد) تحت

پرتوی مادون قرمز قرار گرفتند و بلافاصله پس از خروج از میکرونایزر، بین دو غلطک فلزی با فاصله ۱ میلی متر پرس و پرک شدند.

تمام جیره‌ها بر اساس جداول انجمن ملی تحقیقات گوسفند^۲ (2007) تنظیم شد که در جدول (۱) آمده است. آزمایش به مدت ۸۴ روز و ۷ روز عادت‌پذیری به طول انجامید. به منظور اندازه‌گیری عملکرد بره‌ها وزن کشتی هر ۲۸ روز بصورت ناشتا پس از ۱۶ ساعت گرسنگی با استفاده از باسکول دیجیتال با دقت ± 50 گرم صورت گرفت. افزایش وزن روزانه از تقسیم نمودن تفاوت وزن در ابتدا و انتهای دوره بر تعداد روزهای آزمایش محاسبه گردید. ضریب تبدیل غذایی از تقسیم نمودن میانگین ماده خشک مصرفی بر میانگین افزایش وزن روزانه هر دام در کل دوره به دست آمد.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره بره‌های پرواری

اجزای تشکیل جیره (درصد ماده خشک)	
۲۰/۰	یونجه
۱۰/۰	کاه گندم
۲۰/۰	دانه ذرت
۲۵/۰	دانه جو
۵/۰	کنجاله سویا
۱۵/۰	پنبه دانه
۱/۵	کربنات کلسیم
۱/۰	ژئولیت
۱/۰	بی کربنات سدیم
۰/۵	نمک
۱/۰	مکمل معدنی-ویتامینی ^۱
ترکیب شیمیایی محاسبه شده جیره	
مواد مغذی جیره	
۲/۶۰	انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری/کیلوگرم)
۱۴/۲۰	پروتئین خام (درصد)
۴/۱۰	چربی خام (درصد)
۳۷/۵۰	کربوهیدرات‌های غیر فیبری (درصد)
۴۴/۲۰	فیبر نامحلول در شوینده‌خشی (درصد)
۲۱/۶۰	نشاسته (درصد)
۷/۸۸	خاکستر (درصد)
۱/۴۲	کلسیم (درصد)
۰/۷۱	فسفر (درصد)

^۱ مکمل ویتامین و مواد معدنی ارائه شده به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی: ویتامین A: ۵۰۰۰۰۰ U، ویتامین D3: ۱۰۰۰۰۰ U، ویتامین E: ۱۰۰۰ U، منیزیم ۳۲۰۰۰ میلی‌گرم، منگنز: ۳۰۰۰ میلی‌گرم؛ روی: ۲۰۰۰ میلی‌گرم؛ مس: ۸۰۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم ۴۲ میلی‌گرم؛ کلسیم: ۲۰۰۰۰۰ میلی‌گرم؛ آهن: ۶۰۰۰ میلی‌گرم؛ کبالت ۱۰ میلی‌گرم؛ فسفر ۵۰۰۰ میلی‌گرم؛ ید: ۱۱۰ میلی‌گرم؛ آنتی‌اکسیدان ۴۰۰ میلی‌گرم

ترکیبات شیمیایی پنبه دانه کامل، شامل پروتئین خام (۲۳/۹۰ درصد)، چربی خام (۲۱/۰۰ درصد)، فیبر نامحلول در شوینده‌خشی (۴۴ درصد) و فیبر نامحلول در شوینده‌اسیدی (۳۴ درصد) و خاکستر (۴/۸۰ درصد) بود.

اندازه‌گیری pH، نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه

نمونه‌گیری از مایع شکمبه در روز ۸۴ دوره پروار بندی و در زمان ۴ ساعت بعد از خوراک‌دهی صبح توسط لوله مری متصل به دستگاه مکش، گرفته شد. مقدار pH محتویات شکمبه بلافاصله پس از استحصال، توسط دستگاه pH متر

^۲ NRC, 2007

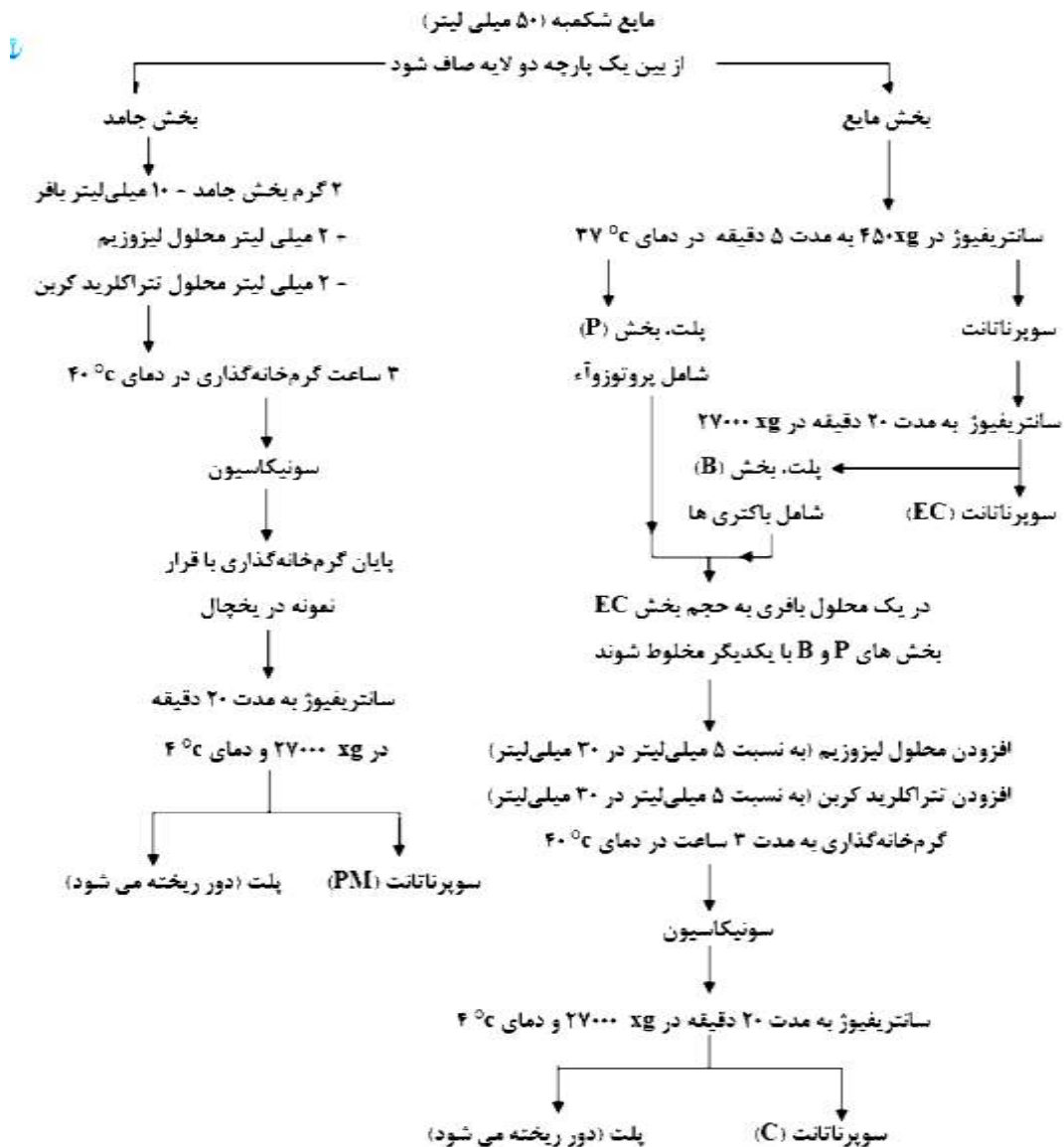
دیجیتالی سیار (مدل متروهم سوئیس، ۶۹۱) اندازه‌گیری و ثبت گردید. برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی شکمبه، نمونه‌های مایع شکمبه دام‌ها با استفاده از پارچه متقال چهار لایه صاف گردید و با اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال با نسبت ۵ به ۱ (۵ سهم شیرابه و یک سهم اسید) مخلوط شد. برای تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی از روش Kang & Brodrick (1980) و دستگاه اسپکتوفتومتر (Varian Cary 100 conc، استرالیا) با طول موج ۶۳۰ نانومتر استفاده شد. به نمونه جداگانه‌ای از مایع شکمبه که برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار جمع‌آوری شده بود، به ازای هر ۵ سی‌سی مایع شکمبه، ۱ سی‌سی سولفوریک اسید ۰/۲ نرمال اضافه گردید. نمونه‌ها بلافاصله به فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد منتقل و ذخیره شدند. غلظت اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر (اسیداستیک، اسیدپروپیونیک، اسیدبوتیریک) در نمونه‌های مایع شکمبه با روش گازکروماتوگرافی در دو مرحله تقطیر و تیتراسیون و به وسیله دستگاه GC-PHILIPS مدل PU 4410 آمریکا (طول ۲ متر، قطر ۴۵ میلی‌متر) اندازه‌گیری شدند.

شمارش پروتوزوآ:

نمونه‌گیری از مایع شکمبه جهت اندازه‌گیری جمعیت پروتوزوآیی در روز پایانی صورت گرفت. شیرابه شکمبه توسط سوند مری در ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح از دام‌ها (۵ نمونه به ازای هر تیمار) جمع‌آوری گردید. برای شمارش پروتوزوآ از روش Dehority (1984) استفاده شد. ابتدا بعد از صاف نمودن مایع شکمبه با پارچه متقال در یک لوله آزمایش پیچیده شده در فویل، ۴ میلی‌لیتر مایع شکمبه ریخته شد، سپس به‌ترتیب ۱ میلی‌لیتر فرمالین ۱۸/۵ درصد، ۸ قطره رنگ متیلن بلو (۲ گرم متیلن بلو با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم رسانده شد) و در نهایت ۳ میلی‌لیتر گلیسرول به محتوای لوله آزمایش اضافه گردید. عمل شمارش پروتوزوآ توسط استریومیکروسکوپ و عدسی با بزرگنمایی X ۴۰ بوسیله لام نئوبار ۱۱ صورت گرفت.

فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک:

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک شکمبه شامل کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز، نمونه‌های شیرابه شکمبه لوله مری ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح از دام‌ها جمع‌آوری و بلافاصله توسط یک فلاسک عایق با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه انتقال داده شد. آنزیم‌های شکمبه‌ای مورد آزمایش در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه طبق روش Hristov *et al* (2001) استخراج گردید. به منظور بخش‌بندی آنزیم‌های مورد بررسی در شیرابه شکمبه به سه بخش جامد، خارج سلولی و درون سلولی ابتدا شیرابه (حدود ۵۰ میلی‌لیتر) توسط دولایه پارچه متقال صاف گردید و مواد باقیمانده روی پارچه به‌عنوان بخش جامد در نظر گرفته شد. برای جداسازی بخش‌های پروتوزوایی و باکتریایی، ابتدا شیرابه با دور ۴۵۰g به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پلت بدست آمده به عنوان بخش پروتوزوآیی در نظر گرفته شد. مایع شفاف رویی (سوپرناتانت) مجدداً با دور ۲۷۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پلت به‌دست آمده در این مرحله به‌عنوان بخش باکتریایی مشخص شد. در نهایت، مایع شفاف رویی به عنوان منبع آنزیم‌های خارج سلولی مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک در هر حیوان در هر یک از سه بخش شیرابه شکمبه طبق روش Agarwal (2000) محاسبه گردید. گلوکز آزاد شده در اثر فعالیت هر یک از آنزیم‌های مورد آزمون براساس روش Miller (1959) تخمین زده شد. فعالیت‌های آنزیمی بر اساس این فرض که یک واحد آنزیم توانایی تولید یک نانو مول گلوکز در هر دقیقه در هر میلی‌لیتر از مایع شکمبه را تحت شرایط مخلوط واکنش دارد محاسبه گردید.



شکل ۱: بخش بندی مايع شکمه و استخراج آنزيم های هيدروليتيک، برگرفته از Agarwal (2000)
 PM، ميكروب های چسبيده به مواد خوراکی در شکمه؛ EC، بخش خارج سلولي (مايع شکمه)؛ C، بخش درون سلولي (ميكروب های معلق در مايع شکمه).

اندازه‌گیری پروتئین میکروبی

اندازه‌گیری پروتئین میکروبی تولید شده در شکمبه با استفاده از روش تخمین مشتقات پورینی دفع شده در ادرار انجام شد (Chen & Gomes, 1992). جمع‌آوری ادرار با استفاده از بطری‌های ۱/۵ لیتری انجام شد. بطری‌ها از تنه بریده شد و با استفاده از نخ به دور بدن بره بسته شد. در طی یک روز از هفته‌ی انتهایی دوره‌ی پرورابندی جمع‌آوری ادرار به صورت نمونه‌گیری انجام گرفت (Gomes, 1995 & Chen). pH ادرار به منظور، جلوگیری از رشد باکتری‌ها و اتلاف نیتروژنی ادرار بایستی در مدت زمان جمع‌آوری به کمتر از ۳ برسد. به همین منظور ۲۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۲ درصد به ۲۰ میلی‌لیتر ادرار اضافه گردید. ۲۰ میلی‌لیتر از ادرار جهت تجزیه آزمایشگاهی در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌های ادرار به نسبت ۱ به ۴ با آب مقطر رقیق‌سازی و فریز شدند. علت این رقیق‌سازی اولیه جلوگیری از رسوب اسید اوریک در نمونه می‌باشد. میزان آلانتوئین ادرار به روش رنگ‌سنجی، مقدار اسید اوریک به روش آنزیمی و میزان گزانین و هیپوگزانتین با روش آنزیمی با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر plus (600 Brite، کانادا) و منحنی استاندارد تعیین گردید. نیتروژن میکروبی تولید شده (برحسب گرم در روز) بر اساس معادله زیر محاسبه شد:

$$Y = 0.084 X + (0.115 W - 0.75e(-0.25X))$$

Y = نیتروژن میکروبی تولید شده (برحسب گرم در روز)؛ ضریب 0.084 = میزان پورین‌های جذب شده‌ای که به صورت ترکیبات پورینی در گوسفند از طریق ادرار دفع می‌شود؛ X = مشتقات پورینی دفعی ادرار با منشأ میکروبی (میلی مول در روز)؛ e = عدد ثابت نپر (۲/۷۱۸)؛ $W - 0.75$ = وزن متابولیکی حیوان بر حسب کیلوگرم
ضریب 0.115 = میلی مول پورین دفعی ادرار با منشأ داخلی به ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی
داده‌های حاصل با استفاده از رویه GLM نرم افزار آماری SAS (SAS, 2003) برای مدل ۱ تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند.

(رابطه ۱)

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

که در این رابطه، Y_{ij} مقدار مشاهده تیمار i ام در تکرار j ام؛ μ ، اثر میانگین؛ T_i ، اثر تیمار i ام؛ e_{ij} ، اثر خطای آزمایشی است.

یافته‌های پژوهش

نتایج مربوط به عملکرد بره‌ها در جدول ۲ ارائه شده‌است. ضریب‌تبدیل در این دو تیمار پنبه دانه میکرونیزه شده و پنبه دانه + هیدروکسید سدیم کمتر و معنی‌دار بود ($P < 0.05$). ماده‌خشک‌مصرفی در تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. دهقان بنادکی و همکاران (۱۳۸۶) گزارش کردند افزایش عملکرد با پنبه‌دانه فرآوری شده را می‌توان به کاهش تجزیه-پذیری شکمبه‌ای و افزایش قابلیت‌هضم پس از شکمبه‌ای پروتئین مربوط دانست. به سبب پرتوتابی، افزایش میزان پروتئین عبوری باعث بهبود الگوی اسیدآمین جیره شده‌است و این عامل منجر به افزایش وزن بیشتر دام و بهبود عملکرد شده‌است (Soflei shahrbabaki et al., 2006). در مطالعه (Ghanbari et al., 2020) فرآوری حرارتی تأثیری بر عملکرد

دام‌ها نداشت هرچند که افزایش وزن روزانه در تیمارهای فرآوری‌شده بطور قابل‌توجهی بیشتر از گروه شاهد بود. در مطالعه Kamali *et al.* (2021) استفاده از سطوح مختلف کنجاله پنبه‌دانه پرتوتابی شده در جیره تاثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل خوراک نشد، اما به‌صورت عددی کاهش یافت.

جدول ۲. تاثیر عمل آوری پنبه دانه بر عملکرد بره های پرواری

تیمارها	افزایش وزن روزانه (گرم در روز)	ماده خشک مصرفی (گرم در روز)	ضریب تبدیل غذایی
پنبه دانه کامل	۱۸۱/۹۰ ^b	۱۲۵۸/۶۰	۶/۹۲ ^a
پنبه دانه آسیاب شده	۱۸۷/۴۴ ^b	۱۳۳۷/۴۰	۷/۱۴ ^a
پنبه دانه میکرونیزه شده	۲۳۸/۰۹ ^a	۱۳۴۸/۰۰	۵/۶۹ ^b
پنبه دانه + هیدروکسید سدیم	۲۲۱/۴۳ ^a	۱۳۱۴/۴۰	۵/۹۵ ^b
خطای استاندارد	۷/۵۸۳	۵۸/۸۵۱	۰/۲۵۹
سطح احتمال	۰/۰۰۲	۰/۷۱۲	۰/۰۰۲

^{a-c}: تفاوت میانگین‌ها با حروف غیرمشابه در هر ستون معنی‌دار است ($P < 0.05$).

اثر جیره های آزمایشی بر pH، نیتروژن آمونیاکی و تعداد پروتوزوا مایع شکمبه در جدول ۳ ارائه شده است. اختلاف مقادیر pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در بین تیمارها با یکدیگر از نظر آماری معنی‌دار است. در بین تیمارهای آزمایشی بیشترین میزان نیتروژن آمونیاکی در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دیگر مشاهده شد و اختلاف بین تیمارها از نظر آماری معنی‌دار است ($P < 0.05$). بیشترین مقدار pH مایع شکمبه در تیمار پنبه دانه + هیدروکسید سدیم مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). ترکیب هیدروکسید سدیم یکی از قوی‌ترین بازهایی است که معمولاً در صنعت استفاده می‌شود. محلول‌های سدیم هیدروکسید در آب در حد بالایی از مقیاس pH قرار دارند. مشابه با نتایج این بررسی (Kazemi, 2017) گزارش کرد بین روش‌های فرآوری فیزیکی پلت، آسیاب و ورقه کردن با بخار بر روی تغییرات اسیدیته شکمبه بره‌های پرواری افزایشی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در بین تیمارهای آزمایشی بیشترین میزان نیتروژن آمونیاکی در تیمار پنبه دانه آسیاب شده و کمترین مقدار در تیمار پنبه دانه میکرونیزه شده و پنبه دانه + هیدروکسید سدیم مشاهده شد که از نظر آماری معنی‌دار بودند ($P < 0.05$). افزایش فعالیت باکتری‌های تولیدکننده آمونیاک و تخمیر پروتئین و سایر مواد نیتروژن‌دار سبب افزایش غلظت آمونیاک در مایع شکمبه می‌شود. طبق نظر پژوهشگران، بیشترین فعالیت تخمیری شکمبه زمانی حاصل می‌شود که غلظت نیتروژن آمونیاکی بین ۵ و ۲۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر باشد (Shahravan *et al.*, 2023). بنابراین مقدار نیتروژن آمونیاکی شکمبه در این بررسی در محدوده طبیعی و دارای حداکثر فعالیت تخمیری شکمبه است. کاهش مقدار آمونیاک در مایع شکمبه در جیره حاوی پنبه‌دانه میکرونیزه شده باعث افزایش احتمالی پروتئین عبوری می‌شود چون فرآوری حرارتی باعث کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه خواهد شد (Dehghan, 2000). اطلاعات مربوط به تعداد پروتوزوا نیز در جدول ۳ آورده شده است. اختلاف بین تیمار شاهد و تیمارهای دیگر معنی‌دار نبود. در آزمایش (Valizadeh Ghalebeyg, 2018) بیشترین مقدار پروتوزوا در تیمار گندم فرایند شده هیدروکسید سدیم مشاهده شد. تیمارهای فرآوری فیزیکی-شیمیایی نسبت به تیمارهای بدون فرآوری و آسیاب به شکل موثرتری منجر به افزایش پروتوزوا شد. در آزمایشی که از ۲۰ درصد پنبه‌دانه در جیره استفاده شده بود، جمعیت کل پروتوزوا مایع شکمبه کاهش پیدا

کرد و پروتوزوا هولوتریش و سلولولیتیک در نمونه‌های مایع شکمبه ناپدید شدند و تنها گونه انتودینیوم باقی ماند (Dayani et al., 2011).

جدول ۳- تاثیر استفاده از پنبه دانه عمل آوری شده بر فراسنجه های شکمبه ای

پروتوزوا ($\times 10^4$ / mL)	نیترژن آمونیاکی (میلی گرم / دسی لیتر)	pH	تیمارها *
۶/۵۲	۱۴/۱۹ ^a	۶/۸۲ ^b	پنبه دانه کامل
۶/۴۲	۱۴/۴۰ ^a	۶/۵۲ ^b	پنبه دانه آسیاب شده
۵/۶۲	۱۰/۹۸ ^c	۶/۸۷ ^b	پنبه دانه میکرونیزه شده
۷/۴۸	۱۲/۰۱ ^b	۷/۱۲ ^a	پنبه دانه + هیدروکسید سدیم
۰/۴۱۴۶	۱/۱۹۸	۰/۱۶۰۷	خطای استاندارد
۰/۷۱۴۴	۰/۰۰۰۲	۰/۰۴۴۵	سطح احتمال

* حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی دار میانگین تیمارهای آزمایشی می باشد ($P < 0.05$).

اطلاعات مربوط به اسیدهای چرب فرار نیز در جدول (۴) آمده است. همانطور که این اطلاعات نشان می‌دهد، بین تیمارها در میزان استات و پروپیونات و کل اسیدهای چرب فرار اختلاف معنی داری وجود دارد به طوری که میزان کل اسیدهای چرب فرار و استات در بره‌های دریافت کننده پنبه‌دانه + هیدروکسید سدیم بیشتر از گروه‌های دیگر بوده است و میزان پروپیونات در تیمارهای دریافت کننده پنبه دانه آسیاب شده کمتر سایر تیمارها می‌باشد ($P < 0.05$) اما در میزان اسیدهای چرب بوتیرات، ایزووالرات، والرات و همچنین نسبت استات به پروپیونات اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). Zarnegar et al. (2023) جیره‌های فلاشینگ حاوی دانه کلزای خام و میکرونیزه با فراهمی مقادیر بالایی از اسید اولئیک موجب تحریک سنتز پروپیونات و متعاقباً افزایش غلظت گلوکز خون شده بود. Warner et al. (2020) بیان کردند که هیچ تفاوتی در pH مایع شکمبه و غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه گوساله‌های مصرف کننده ضایعات پنبه مشاهده نشد. Mullenix et al. (2021) گزارش دادند سطوح نیترژن آمونیاکی شکمبه و استات در گاوهای گوشتی مصرف کننده پنبه‌دانه افزایش یافت ولی غلظت بوتیرات در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود. همچنین نسبت مولی استات و بوتیرات افزایش درحالی که پروپیونات کاهش یافت. De Almeida et al. (2016) نشان دادند که تغذیه پنبه‌دانه سبب افزایش pH، افزایش غلظت پروپیونات و کاهش غلظت نیترژن آمونیاکی مایع شکمبه در گاوهای شیری شد. De Gouvêa et al. (2021) افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه گاوهای گوشتی مصرف کننده پنبه‌دانه را گزارش دادند. Sullivan et al. (2005) بیان کردند که غلظت پروپیونات و کل اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه گاوهای شیری در اثر مصرف پنبه‌دانه افزایش یافت. در یک مطالعه تغذیه پنبه‌دانه کامل در گاوهای شیری pH شکمبه، غلظت آمونیاک و غلظت کل اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. تعداد پروتوزوا با تغذیه کامل پنبه‌دانه کاهش یافت. دانه پنبه کامل درصد مولی استات را افزایش داد درحالی که پروپیونات را کاهش داد (Schneid et al., 2022).

جدول ۴- تاثیر استفاده از پنبه دانه عمل آوری شده بر اسیدهای چرب فرار (مول / ۱۰۰ مول)

تیمارها *	استات	پروپیونات	بوتیرات	ایزووالرات	والرات	نسبت استات به پروپیونات	کل اسیدهای چرب فرار
پنبه دانه کامل	۵۶/۳۰ ^c	۲۵/۴۸ ^a	۱۴/۲۲	۱/۳۴	۱/۵۰	۲/۲۱	۹۸/۸۴ ^b
پنبه دانه آسیاب شده	۵۹/۳۴ ^{ab}	۲۳/۳۴ ^b	۱۴/۱۴	۱/۳۵	۱/۵۱	۲/۵۵	۹۹/۶۹ ^b
پنبه دانه میکرونیزه شده	۵۷/۵۸ ^{bc}	۲۵/۵۳ ^a	۱۴/۲۴	۱/۳۹	۱/۵۲	۲/۲۵	۱۰۰/۲۷ ^a
پنبه دانه + هیدروکسید سدیم	۶۱/۲۰ ^a	۲۵/۰۰ ^{ab}	۱۴/۰۴	۱/۳۹	۱/۵۱	۲/۴۵	۱۰۳/۵۲ ^a
خطای استاندارد	۰/۴۱۴۶	۰/۴۶۸۲	۰/۵۴۸۴	۰/۰۳۳	۰/۰۲۵	۰/۰۵۴۴	۰/۹۰۹۱
سطح احتمال	۰/۰۴۴۰	۰/۰۱۴۲	۰/۹۹۳۶	۰/۵۸۹۴	۰/۹۵۴۷	۰/۹۵۴۷	۰/۰۱۱۸

* حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی دار میانگین تیمارهای آزمایشی می باشد ($P < 0.05$)

بین تیمارهای مختلف از لحاظ نوع فرآوری، فعالیت آنزیم میکرو کریستالین سلولاز در سه بخش سلولی، خارج سلولی، جامد و کل مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با پنبه دانه + هیدروکسید سدیم به طور غیر معنی دار بیشتر از بره های تغذیه شده با سایر پنبه دانه ها بود. فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز در سه بخش سلولی، خارج سلولی، جامد و کل مایع شکمبه تحت تاثیر نوع فرآوری قرار نگرفت. ($P > 0.05$). کربوکسی متیل سلولاز در تجزیه سلولزهای بی نظم و میکرو کریستالین سلولاز در تجزیه سلولزهای با نظم درگیر می باشند (Raghuvansi et al., 2007). آنزیم های کربوکسی متیل سلولاز بر روی بخش میانی زنجیر سلولز اثر نموده و از طریق هیدرولیز آن را پاره می نماید و تولید دو زنجیر کوتاهتر میکند. اما میکرو کریستالین سلولاز به قسمت انتهایی آزاد زنجیره حمله نموده و طی مراحل متوالی سلویوز را تولید می نماید (Shahravan et al., 2023). Kazemi (2017) با بررسی اثر فرآوری ذرت بر فعالیت آنزیم های هیدرولیتیک (شامل میکرو کریستالین سلولاز، کربوکسی متیل سلولاز) در بخش جامد، درون سلولی و خارج سلولی شکمبه را به ترتیب در دامنه ۱۰۰-۴۰۰، ۱۵۰-۲۵ و ۱۵۰-۴۰، ۳۲۰-۱۴۰، ۱۰۰-۵ و ۲۱۰-۳۰ گزارش کردند و هیچگونه اثر معنی داری بین نوع فرآوری و آنزیم های شکمبه گزارش نکردند که با نتایج این پژوهش سازگاری دارد. Rajabi Aliabadi et al. (2022) فرآوری، فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز در سه بخش سلولی، خارج سلولی، جامد و کل مایع شکمبه بره های تغذیه شده با جو پولکی به طور غیر معنی دار بیشتر از بره های تغذیه شده با جو آردی و دانه جو بود. فعالیت آنزیم میکرو کریستالین سلولاز در سه بخش سلولی، خارج سلولی، جامد و کل مایع شکمبه تحت تاثیر نوع فرآوری قرار نگرفت. Khalilizad et al. (2022) اثرات سطوح مختلف جایگزینی کنجاله کتان با پنبه دانه بر فعالیت آنزیم های فیبرولیتیک شکمبه ای میش را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که فعالیت میکرو کریستالین سلولاز با افزایش سطوح کنجاله دانه کتان در هر سه بخش فعالیت آنزیمی (داخل سلولی، خارج سلولی وابسته به ذرات) به طور معنی دار کاهش پیدا کرد.

جدول ۵- تاثیر فرآوری پنبه دانه بر فعالیت آنزیم های کربوکسی متیل سلولاز و میکرو کریستالین سلولاز (میکرومول گلوکز آزاد شده در هر میلی

P-Value	SEM	پنبه دانه فراوری شده(درصد)				پارامترها
		هیدروکسید سدیم	میکرونیزه شده	آسیاب شده	کامل	
فعالیت کربوکسی متیل سلولاز						
۰/۸۸۰۱	۱۴/۷۶۹۵	۱۵۰/۴۰	۱۴۱/۲۲	۱۳۶/۲۷	۱۳۹/۲۷	داخل سلولی
۰/۷۳۱۲	۲/۶۸۲۶	۵۱/۸۴	۵۳/۰۴	۴۳/۲۰	۴۳/۲۰	خارج سلولی
۰/۲۱۸۱	۱۸/۶۸۲۶	۲۴۳/۰۵	۳۰۲/۲۲	۲۷۴/۶۱	۲۶۲/۶۱	وابسته به ذرات
۰/۱۲۴۱	۱۷/۴۰۵۵	۴۴۵/۲۹	۴۹۶/۴۸	۴۲۴/۰۸	۴۴۵/۰۸	فعالیت کل آنزیم
فعالیت میکرو کریستالین سلولاز						
۰/۴۱۲۲	۱۹/۳۳۵	۱۷۶/۱۲	۱۵۹/۴۲	۱۶۱/۲۳	۱۶۲/۲۳	داخل سلولی
۰/۶۳۲۱	۱۱/۸۵۵	۹۵/۷۷	۸۷/۰۶	۹۲/۴۳	۹۲/۴۳	خارج سلولی
۰/۵۶۵۱	۲۸/۷۸۶	۲۷۱/۷۰	۲۵۷/۴۲	۲۴۶/۱۹	۲۶۱/۱۹	وابسته به ذرات
۰/۰۷۸۹	۲۳/۲۷۷	۵۴۳/۵۹	۵۰۳/۹۰	۴۹۹/۸۵	۵۱۵/۸۵	فعالیت کل آنزیم

مقدار آلانتوئین، گزانتین+هیپوگزانتین، اسید اوریک، مشتقات پورینی دفع شده و مشتقات پورینی جذب شده، نیتروژن و پروتئین میکروبی تفاوت معنی داری در اثر تغییر شکل فرآوری پنبه دانه نداشتند ($P > 0.05$). در یک پژوهش سطوح مختلف پنبه دانه اثر معنی داری روی ساخت پروتئین میکروبی در گاوهای گوشتی نداشت (Wanapat et al., 2013). در گوسفند آلانتوئین بیشترین سهم را در تخمین پروتئین میکروبی داشته و حدود ۶۰ تا ۸۰ درصد کل مشتقات پورینی دفعی ادرار را شامل می شود. اسید اوریک و گزانتین+هیپوگزانتین نیز به ترتیب ۱۰ تا ۳۰ و ۵ تا ۱۰ درصد از کل مشتقات پورینی را در برمی گیرند. کاهش اتلاف نیتروژن ادراری در گوسفند در اثر مصرف پنبه دانه را گزارش دادند (Arieli, 1994). اندازه گیری پروتئین میکروبی و نیتروژن آمونیاکی در شکمبه می تواند وضعیت نیتروژن در شکمبه را به هنگام مصرف جیره های آزمایشی نشان دهد و پروتئین میکروبی در تامین نیاز نیتروژن نشخوارکنندگان نقش مهمی دارد و اکثر اسیدهای آمینه مورد نیاز برای رشد، نگهداری و تولید حیوان میزبان را فراهم می کند (Vaithyanathan et al., 2006). مشتقات پورینی ادرار برای تخمین پروتئین میکروبی در شکمبه حیوانات نشخوارکننده استفاده می شود، زیرا یک همبستگی میان جریان دودنتومی اسیدهای نوکلئیک و مشتقات پورینی گزارش شده است (Chen & Gomes., 1992). Vlizabeth (2018) در پژوهشی با بررسی اثرات فرآوری گندم بر فراسنجه های شکمبه ای گزارش کردند که مقدار دفع هر یک از مشتقات پورینی و کل دفع و جذب مشتقات پورینی از ادرار و مقدار پروتئین میکروبی ساخت شده در شکمبه تحت تأثیر نوع هیدروکسید سدیم قرار نگرفت. موافق با نتایج این پژوهش Kazemi et al (2023) نشان دادند که جیره های دارای ذرت پولکی شده نسبت به جیره های دارای ذرت آسیاب شده در جیره گوسفندان پروراری آلانتوئین و نیتروژن و پروتئین میکروبی بالاتری را تولید کردند. همچنین، افزایش هضم شکمبه ای نشاسته در اثر فرآوری غلات، سبب بهبود مصرف نیتروژن آمونیاکی در شکمبه می شود (Tothi et al., 2003).

جدول ۶- تأثیر عمل آوری پنبه دانه بر مشتقات پورینی ادرار (میلی مول در روز)، تولید نیتروژن و پروتئین میکروبی (گرم در روز)

تیمارها *	آلانتوئین	گزانتین + هیپوگزانتین	اسیداور	مشتقات پورینی	مشتقات پورینی	نیتروژن	پروتئین
-----------	-----------	-----------------------	---------	---------------	---------------	---------	---------

تین	یک	دفع شده	جذب شده	میکروبی	میکروبی	میکروبی	
۱۰/۱۱۲	۲/۴۰	۳/۴۹۶	۱۶/۰۰	۱۶/۵۴	۱۱/۳۳	۷۰/۸۲	پنبه دانه کامل
۸/۷۲۸	۲/۱۳	۳/۵۶۴	۱۴/۴۲	۱۵/۱۹	۱۱/۱۵	۶۸/۶۸	پنبه دانه آسیاب شده
۱۱/۲۱۴	۲/۲۶	۲/۸۴۰	۱۶/۳۲	۱۶/۷۵	۱۱/۴۳	۷۱/۴۴	پنبه دانه میکرونیزه شده
۱۱/۲۶۲	۲/۳۸	۳/۱۵۸	۱۶/۷۸	۱۷/۳۵	۱۱/۰۹	۶۹/۳۱	پنبه دانه + هیدروکسید سدیم
۰/۹۵۱۲	۰/۴۵۶	۰/۳۹۱۵	۱/۰۰۳	۰/۹۳۴	۰/۱۶۵۷	۰/۸۴۸۹	خطای استاندارد
۰/۲۳۵۴	۰/۶۲۲۲	۰/۵۵۰	۰/۴۰۱	۰/۴۳۹۳	۰/۴۸۱۷	۰/۷۷۶۱	سطح احتمال

* حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی دار میانگین تیمارهای آزمایشی می باشد ($P < 0.05$).

نتیجه گیری

این یافته‌ها نشان می‌دهد که فرآوری پنبه دانه به صورت میکرونیزه و یا افزودن هیدروکسید سدیم موجب افزایش رشد روزانه، کل اسیدهای چرب فرار و کاهش آمونیاک شد و می‌توان در جیره بره‌های پرواری پیشنهاد داد.

سپاسگزاری

از آقای مهدی نجف‌زاده مدیریت گوسفنداری صنعتی واقع در شهرستان مانه و سملقان در استان خراسان شمالی و گروه تغذیه دام و طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع

اسدی، محمد؛ قورچی، تقی؛ توغدری، عبدالحکیم. شاهی، محبوبه (۱۴۰۰). اثر جایگزینی سطوح مختلف کاه گندم با گیاه پنبه بر عملکرد، قابلیت هضم، فراسنجه‌های خونی و رفتار نشخوار در میش‌های دالاق. تحقیقات تولیدات دامی، ۱۰(۲): ۶۳-۷۲

تقی نژاد رودبنه، مهدی و ابراهیمی، سید روح اله (۱۳۸۹). اثرات تفت دادن پنبه دانه بر محتوی گوسپول، روند تجزیه پذیری و قابلیت هضم پروتئین آن. مجله علمی - پژوهشی علوم کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳(۴): ۹۵-۱۰۶

دهقان بنادکی، مهدی؛ نیکخواه، علی؛ امانلو، حمید؛ دانش مسگران، محسن و منصوری، هرمز (۱۳۸۶). اثر فرآوری شیمیایی دانه جو با اوره، هیدروکسید سدیم یا فرمالدئید بر عملکرد تولیدی و فراسنجه‌های خونی گاوهای هلشتاین شیری. پژوهش‌های کاربردی زارعی، ۴(۱): ۱۸۹-۱۹۴.

رجبی علی آبادی، ر.، قورچی، ت.، تربتی نژاد، توغدری، ع.، مهاجر، م.، طهماسبی، ر. (۱۴۰۱). تأثیر شکل فیزیکی یونجه و فرآوری دانه جو بر ابقای نیتروژن، فعالیت آنزیم‌های سلولایزیک، فراسنجه‌های خون و جمعیت میکروبی شکمبه در بره‌های پرواری نژاد دالاق. نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران، ۱۵(۲): ۱۶۹-۱۸۳.

سفلائی شهر بابک، محمد؛ روزبهان، یوسف و مرادی شهر بابک، محمد (۱۳۸۵). تاثیر سطوح مختلف پروتئین جیره بر توان پرواری و صفات لاشه بره های نر کرمانی. *مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی*، ۱۱۳(۱)، ۹۸-۱۰۵.

شاهی، محبوبه و قورچی، تقی (۱۳۹۵). اثر سطوح مختلف پنبه دانه کامل بر تولید، ترکیبات شیر، قابلیت هضم و فراسنجه های خونی در گاو شیری نژاد مونت بیلارد. *نشریه پژوهش های علوم دامی ایران*، ۸(۴)، ۶۲۵-۶۳۵.

کاظمی، فاطمه (۱۳۹۶). اثرات جایگزینی جو با ذرت فرآوری شده بر عملکرد، فراسنجه های شکمبه ای و خونی، قابلیت هضم، فعالیت آنزیمی، جمعیت میکروبی شکمبه و سودآوری در بره های پرواری. رساله دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

کمالی، رضا؛ چاشنی دل، یدا..؛ تیموری یانسری، اسدا.. و مهاجر، مختار (۱۴۰۰). تاثیر پودر ضایعات کشتارگاهی طیور میکروویو شده بر عملکرد رشد، فراسنجه های شکمبه، تولید پروتئین میکروبی و ابقاء نیتروژن در بره های پرواری دالاق. *نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۹(۳)، ۱۲۲-۱۰۷.

فروغی، علیرضا؛ ولی زاده، رضا؛ ناصریان، عباسعلی و دانش مسگران، محسن (۱۳۸۳). تأثیر آسیاب کردن و حرارت دان پنبه دانه بر تولید و ترکیب شیر گاوهای شیری هلشتاین. *مجله علوم و صنایع کشاورزی*، ۲(۱۸)، ۱۹۵-۱۸۱.

قنبری، فرزاد؛ کریم کشته، انیس؛ مصطفی لو، یوسف و قره باش، آشور محمد (۱۳۹۹). تعیین ترکیبات شیمیایی و فراسنجه های تجزیه پذیری شکمبه ای پنبه دانه عمل آوری شده با حرارت و تاثیر آن بر فراسنجه های خونی و عملکرد رشد بره های دالاق. *نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۸(۲)، ۱۴۴-۱۲۵.

ولی زاده قلعه بیگ، امین (۱۳۹۷). اثرات استفاده از گندم عمل آوری شده به روش های مختلف بر عملکرد، فراسنجه های شکمبه ای و خونی، قابلیت هضم، فعالیت آنزیمی و جمعیت میکروبی شکمبه در بره های پرواری. رساله دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

Asadi, M., Ghoorchi, T., Toghory, A., & Shahi, M. (2021) Effect of replacing different levels of wheat straw with cottonseed plant on performance, digestibility, blood parameters, and rumination behavior in Dalagh ewes. *Animal Production Research*, 10 (2), 63-72. (In Persian)

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. DOI: <https://doi.org/10.1080/09712119.2000.9706325>

Arieli, A. (1994). Effect of whole cottonseed on energy partitioning and nitrogen balance in sheep. *Animal Science*, 58(1), 103-108.

AOAC. (2005). Association of Official Analytical Chemistry Official Methods of Analysis, AOAC, Washington, DC. 14th Edition .

Chen, X.B., & Gomes, J.M., 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: An overview of the technical details. Occasional publication of the International Feed Resources Unit, Rowett Res. Inst., Bucksburn, Aberdeen, UK.

De Almeida, G. F., Del Valle, T. A., De Paiva, P. G., De Jesus, E. F., Barletta, R. V., Gandra, J. R., & Rennó, F. P. (2016). Effects of whole raw soybean or whole cottonseed on milk yield and composition, digestibility, ruminal fermentation and blood metabolites of lactating dairy cows. *Animal Production Science*, 57(1), 122-128.

- De Gouvêa, V. N., Biehl, M. V., Junior, M. V. D. C. F., Moreira, E. M., Neto, J. A. F., Westphalen, M. F., & Pires, A. V. (2021). Effects of soybean oil or various levels of whole cottonseed on intake, digestibility, feeding behavior, and ruminal fermentation characteristics of finishing beef cattle. *Livestock Science*, 244, 104390.
- Dayani, O., Dadvar, P., & Afsharmanesh, M. (2011). Effect of dietary whole cottonseed and crude protein level on blood parameters and performance of fattening lambs. *Small Ruminant Research*, 97(1-3), 48-54.
- Dehghan Banadaki, M., Nikkhah, A., Amanlu, H., Daneshmesgaran, M., & Mansory, H. (2000). Effects of chemical treatment of barley with sodium hydroxide, ammonia or formaldehyde on blood metabolites and productive performance of lactating Holstein dairy cow. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, (74), 189-194. (In Persian)
- Dehority, B.A. (1984). Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(1):182-185. DOI:<https://doi.org/10.1128/aem.48.1.182-185.1984>
- Ghanbari, F., Karim Koshte, A., Mostafaloo, Y., & Gharehbash, A.M. (2020). Determination of chemical composition and ruminal degradability parameters of heat treated cottonseed and its effect on blood parameters and growth performance of Dalagh lambs. *Journal of Ruminant Research*, 8(2), 135-143. (In Persian)
- Ghoorchi, T., Lund, P., Larsen, M., Hvelplund, T., Hansen-Møller, J., & Weisbjerg, M.R. (2013). Assessment of the mobile bag method for estimation of *in vivo* starch digestibility. *Animal*, 7, 265-71.
- Hristov, A. N., McAllister, T. A., & Cheng, K. J. (1999). Effect of diet, digesta processing, freezing and extraction procedure on some polysaccharide degrading activities of ruminal contents. *Canadian Journal of Animal Science*, 79: 73-81. DOI: <https://doi.org/10.4141/A98-056>
- Khalilizad, M., Ghoorchi, T., Dastar, B. & Toghdary, A. (1401). The effects of different levels of replacing flax meal with cottonseed on blood parameters, ruminal fibrolytic enzyme activity and the immune system of sheep. *Research of Animal Production*, 13 (35), 99-93. (In Persian)
- Kamali, R., Chashnidel, Y., Teymouri yansari, A., & Mohajer, M., (2021). Effect of microwave-treated poultry byproduct meal on growth performance, rumen parameters, microbial protein, and nitrogen retention in Dalagh fattening lambs. *Journal of Ruminant Research*, 9(3), 107-122. (In Persian)
- Kazemi, F (2017). The effects of replacing barley with processed corn on performance, rumen and blood parameters, digestibility, enzyme activity, rumen microbial population and profitability in fattening lambs. PhD thesis of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
- Kazemi, F., Ghoorchi, T., Dastar, B & Eshraghi, F. (2023). Effects of replacing barley with processed corn on the growth performance, microbial protein Synthesis and profitability of fattening Lambs. *Iranian Journal of Applied Animal Science* .13(1), 97-104 .
- López-Soto, M. A., Barreras, A., & Calderón-Cortés, J. (2014). Effects of forage level in broiler litter-based diets on feed intake, digestibility and particulate passage rate in Holstein steers at different live weights. *Animal Feed Science and Technology*, 62, 163-177. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(96\)00967-4](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(96)00967-4)

- Mullenix, K. K., & Stewart, L. (2021). Cotton byproduct use in southeastern beef cattle diets: quality, intake, and changes in feed characteristics. *Journal of Animal Science*, 99(2), 18-19.
- McAllister, T. A., & Sultana, H. (2011). Effects of micronization on the *in situ* and *in vitro* digestion of cereal grains. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24: 929-939. doi:10.5713/ajas.2011.10387.
- Mehrani, K., T. Ghoorchi, A. Toghdory & R. Rajabi AliAbadi, (2021). Effect of different levels of potato on nutrient digestibility, fibrolytic enzyme and ruminal characteristics in Dalagh ewes. *Research on Animal Production*, 11(30): 49-56 (In Persian).
- Miller, J. L. 1959. Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry*, 31:426-429. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ac60147a030>
- NRC. (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminant; Sheep, Goat; Cervids and New World Press.
- Petit, H.V. (2002). Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. *Journal of Dairy Science*, 85(6): 1482-1490.
- Porter, J. C., Warner, R. G & Kertz, A. F. (2007). Effect of fiber level and physical form of starter on growth and development of dairy calves fed no forage. *Journal of Animal Science*, 23, 395-400.
- Rajabi Aliabadi, R., Ghoorchi, T., Torbati Nejad, NM., Toghdory, A., Mohajer, M., & Tahmasbi, R. (2022). The Effects of Physical Form of Alfalfa and Processing of Barley Grain on Nitrogen Retention, Activity of Cellulolytic Enzyme, Blood Parameters and Rumen Microbial Population in Dalagh Fattening Lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 15(2), 169-183 (In Persian).
- Raghuvansi, S.K.S., R. Prasad, A.S. Mishra, O.H. Chaturvedi, M.K. Tripathi, A.K. Misra, B.L. Saraswat & R.C. Jakhmola. (2007). Effect of inclusion of tree leaves in feed on nutrient utilization and rumen fermentation in sheep. *Bioresource Technology*, 98(3): 511-517.
- Shahi, M., & Ghoorchi, T. (2015). Effect of different levels of whole cottonseed on production, milk composition, digestibility and blood parameters of Montebeliard breed lactating cows. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 8(4), 625-635. (In Persian).
- Shahravan, S., Ghoorchi, T., Dastar, B., Toghdory, A. & Mohajer, M. (2023). Influence of dietary Thyme Extract (*Thymus vulgaris*) on performance, purine derivatives, cellulase activity and ruminal fermentation parameters in fattening lambs and goat kids. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 13(3): 501-510. [20.1001.1.2251628.2023.13.3.11.1](https://doi.org/10.1001.1.2251628.2023.13.3.11.1)
- Sajjadi, H., Ebrahimi, S. H., Vakili, S. A., Rohani, A., Golzarian, M. R., & Heidarian Miri, V. (2022). Operational conditions and potential benefits of grains micronization for ruminant: a review. *Animal Feed Science and Technology*. 287:115285. doi:10.1016/j.anifeedsci.2022.115285.
- SAS Institute. (2004). SAS®/STAT Software, Release 9.4. SAS Institute, Inc., Cary, NC. USA
- Schneid, K. N., Foote, A. P., Beck, P. A., Farran, G. L., & Wilson, B. K. (2022). Using whole cottonseed to replace dried distillers grains plus solubles and prairie hay in finishing beef cattle rations balanced for physically effective neutral detergent fiber. *Applied Animal Science*, 38(5), 417-432.

- Soflei shahrbabak, M., Rouzbehan, Y., Moradi Shahrabak, M. (2006). The effect of different levels of digestible undegradable protein on the performance and carcass characteristics of Kermani male lamb. *Journal of Agricultural Science Nature Resource*, 13(1), 98-105. (In Persian)
- Sullivan, H. M., Bernard, J. K., & Amos, H. E. (2005). Ruminant fermentation and amino acid flow in Holstein steers fed whole cottonseed with elevated concentrations of free fatty acids in the oil. *Journal of Dairy Science*, 88(2), 690-697.
- Taghinejad Roudbaneh, M & Ebrahimi, S. R. (2010). Effects of roasting cotton seed on its gossypol content, ruminal degradability and *in vitro* protein digestibility. *Journal of Agricultural Sciences*, Islamic Azad University, Tabriz Branch, 4(13):95-106. (In Persian)
- Tuncer, S. D & Sacakli, P. (2003). Rumen degradability characteristics of xylose treated canola and soybean meals. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 107, 211-218.
- Tothi, R., Lund, P., Weisbjerg, M. R., & Hvelplund, T. (2003). Effect of expander processing on fractional rate of maize and barley starch degradation in the rumen of dairy cows estimated using rumen evaluation and *in situ* techniques. *Animal Feed Science and Technology*, 104, 71-94. DOI:10.1016/S0377-8401(02)00292-4
- Valizadeh Ghalebeyg, A. (2018). Effects of using wheat processed with different methods on the performance, rumen and blood parameters, digestibility, cellulase enzyme activity and rumen microbial population in fattening lambs. PhD thesis of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. (In Persian)
- Van Keulen, J. B. & Young, A. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Dairy Science*, 44, 282-287
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. 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
- Vaithyanathan, S., Bhatta, R., Mishra, A. S., Prasad, R., Verma, D. L., & Singh, N. P. (2006). Effect of feeding graded levels of prosopis cineraria leaves on rumen ciliate protozoa, nitrogen balance and microbial protein synthesis in lambs and kids. DOI:10.1016/J.SMALLRUMRES.2005.09.027
- Warner, A. L., Beck, P. A., Foote, A. P., Pierce, K. N., Robison, C. A., Stevens, N. E., & Wilson, B. K. (2020). Evaluation of ruminal degradability and metabolism of feedlot finishing diets with or without cotton byproducts. *Journal of Animal Science*, 98(9), skaa257.
- Wanapat, M., Anantasook, N., Rowlinson, P., Pilajun, R., & Gunun, P. (2013). Effect of carbohydrate sources and levels of cotton seed meal in concentrate on feed intake, nutrient digestibility, rumen fermentation and microbial protein synthesis in young dairy bulls. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*.26(4), 529.
- Zarnegar, Z., Lashkari, S., Ebrahimi, S.H. Valizadeh, R., Naserian, A.A & Jensen, S. K. (2024). Effect of micronization and vitamin E supplementation on ruminal biohydrogenation kinetic of whole flaked rapeseed. *Journal of Applied Animal Research*. 52:1, 2290124, doi: 10.1080/09712119.2023.2290124

Influence of feeding processed cottonseed on pH, protozoa, volatile fatty acids, Activity of Cellulolytic Enzyme and urinary purine derivatives in fattening lambs

Extended Abstract

Introduction :

Cottonseed is a valuable feed ingredient due to its high fiber and energy content, which can enhance the energy and protein levels in animal diets. Micronization is a heat processing in which feeds are exposed to infrared radiation (IR) at wavelength of $\geq 2.5 \mu\text{m}$ within a very short period (30–90 s). Penetration of IR into the feeds increased internal temperature, resulting in protein denaturation. Denaturation reduces protein solubility and decreases ruminal protein degradability. In addition, the protein barrier reduces the digestion of starch and fat in the rumen. Sodium hydroxide treatment can affect ruminal degradability and nutrient digestibility, ultimately influencing performance. This study aimed to assess influence of feeding processed cottonseed on pH, protozoa, volatile fatty acids, rumen cellulase activity and urinary purine derivatives in fattening lambs.

Materials and Methods:

The study was conducted at the animal husbandry facility in Ghala Khan village, North Khorasan province. For this purpose, 40 *Afshari* male lambs (4-6 months old) with an average weight of 27.6 ± 4 kg were randomly allocated to four treatments with ten replications for 84 days. The experimental treatments included: 1) diet containing whole cottonseed, 2) diet containing ground cottonseed, 3) diet containing micronized cottonseed, and 4) diet containing sodium hydroxide-treated cottonseed. For irradiation, 5% of drinking water was added to the cottonseed and it was rotated inside a cylinder for 10 minutes at a speed of 20 revolutions per minute until the water was completely absorbed by the seed. Then, the seeds were exposed to infrared radiation with an irradiation distance of 12 cm for 60 seconds in a gas flicker micronizer and immediately after leaving the micronizer, they were placed between two metal rollers. They were pressed and filled at a distance of 1 mm. The chemical processing of the foam samples was done in such a way that first a 4% solution of sodium hydroxide (40 grams of sodium hydroxide in 100 million liters of distilled water) was prepared. This solution was mixed with cottonseed samples to obtain 4 grams of sodium hydroxide per 100 grams of dry matter of cottonseeds, and then it was kept and dried in open air for 48 hours. Lambs were kept in individual stalls during the experiment and had free access to water during the period. Rumen content (50 ml) was filtered through muslin cloth and filtrate and particulate material (PM) were separated. To separate protozoal fraction and bacterial fraction, The filtrate was centrifuged at $450 \times g$ at ambient temperature for 5min and the pellet was marked as P (protozoal fraction). The supernatant was centrifuged at $27000 \times g$ at 4°C for 20 min and the pellet was marked as B (bacterial fraction). The supernatant was used as a source of extracellular enzymes (EC). Further processing was same as in the case of particulate material. The clear supernatant thus collected was used as source of cellular (C) enzymes. Purine derivatives (PD) in urine including uric acid, allantoin, xanthine + hypoxanthine and estimation of microbial Nitrogen. Daily urine samples were collected in a plastic bucket containing 100 ml of 10% (vol/vol) sulphuric acid solution to reduce the ultimate pH below 3. Every morning the total urine produced of an animal was measured individually and to prevent the precipitation (particularly of uric acid) of PD urine samples during storage, the samples collected from each sheep were pooled to give finally one pooled sample for analysis. The ruminal pH was measured immediately after sampling with a portable pH meter. Ruminal ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) content was determined using a phenol-hypochlorite. measurement of short-chain volatile fatty acids (VFA) (acetic acid, propionic acid, butyric acid, isovaleric acid and valeric acid) were analysed.

Results:

The results of the experiment showed that cottonseed processing had no significant effect on the protozoan activity. However, cottonseed processing had a significant difference ($P < 0.05$) on rumen pH and ammonia nitrogen. Cotton seed processing had a significant effect on acetic acid and propionic acid. No significant difference was observed in the activity of the extracellular part of carboxymethyl cellulose among the treatments. There was no significant difference in the activity of microcrystalline cellulase and carboxymethylcellulase in all sections between control and other treatments.

CONCLUSIONS: These findings show that micronized cottonseed processing or addition of sodium hydroxide increased daily growth and decreased feed conversion ratio and can be recommended in the diet of fattening lambs.