بسمه تعالی

دانشکده کشاورزی

گروه علوم دامی

دستورالعمل کار در مزرعه

ابراهیم قاسمی

الف) شروع آزمایش

- **جیره نویسی اولیه**

براساس نرم افزار NRC, CNCPS (تولید شیر، چربی و پروتئین شیر و وزن بدن) متوازن می‌شود. برای چاپ مقاله، مدل NRC منبع گسترده تری است و بهتر است جیره ها از نظر نرم افزار NRC نیز ارزیابی شوند. برای تهیه جیره اولیه بهتر است از اقلام خوراکی استفاده شود که ترکیبات شیمیایی تقریبا مشابه خوراک های موجود در ایران باشد و ترکیبات شیمیایی آن بطور دستی قبل از جیره نویسی تغییر می دهیم.

- **خرد کردن علوفه یونجه، کاه**

قبل از شروع آزمایش با محاسبه کل یونجه مصرفی در کل دوره آزمایش ابتدا با خرمنکوب با اندازه ظاهری حدود 1-2 سانتیمتر خرد می شود و در مکانی بدور از رطوبت و گرد خاک و رفت و آمد و ... جهت مصرف در آزمایش نگهداری می شود.

- **نمونه گیری**

نمونه گیری اثر بسیار مهمی در نتیجه آنالیز شیمیایی دارد و نمونه از بخش های مختلف بخصوص علوفه نتایج متفاوتی را ایجاد خواهند کرد. بنابراین بهتر است تا حد امکان بین 10 تا 20 نمونه (مشت) از نواحی مختلف خوراک گرفته شود بطوریکه نماینده کل خوراک باشد. بعد از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه نمونه ها به دو بخش تقسیم می شوند یک بخش بصورت سالم برای تعیین ماده خشک و دیگری برای آنالیز شیمیایی.

اندازه گیری ماده خشک

جهت تعیین مقدار ماده خشک نمونه ها به ترتیب مراحل زیر انجام می شود

1. استفاده از پاکت یا ظروف آلمینیومی و شماره زنی آنها و خشک کردن ظروف در آون به مدت 0/5 تا 1 ساعت در دمای 70-80 درجه سانتیگراد
2. خنک کردن ظروف در دسیکاتور و سپس توزین آنها (W_{dish})
3. پر کردن حجم ظرف تا نصف آن و ثبت وزن نمونه (W_{sample})
4. خشک کردن نمونه در آون
   - دمای 105 درجه به مدت 16 ساعت برای علوفه یونجه و اقلام کنسانتره و سایر اقلام تقریبا خشک
   - دمای 70-60 درجه به مدت 48 ساعت برای سیلاژ ذرت و سایر سیلاژها
5. خنک کردن نمونه ها در دسیکاتور و توزین آنها (W_{dry})
6. تعیین ماده خشک

- $DM=100-((\frac{Wsample-(Wdry-Wdish)}{Wsample} \times 100)$

تعیین ترکیبات شیمیایی

قبل از تعیین ترکیبات شیمیایی نمونه های گرفته شده از سطح مزرعه بایستی با توری 1 میلی آسیاب شوند. نمونه های مرطوب مانند سیلاژ ذرت بایستی قبل از آسیاب بر روی یک کارتن پخش شده و به مدت 48 ساعت در معرض هوا قرار داده و با زیر و رو نمودن خشک شوند و پس از خشک شدن با آسیاب خشک شوند. بهتر است نمونه خشک شده در آون برای آنالیز شیمیایی استفاده نشود چراکه علاوه بر خارج کردن مواد فرار باعث تغییر نوع پروتئین خواهد شد و در نتیجه بعنوان مثال در بخش بندی پروتئین تاثیر می گذارد.

تعیین **NDF** مطابق روش استاندارد با استفاده از دستگاه آنکوم

تعیین **CP** با استفاده از دستگاه کجلدال

تعیین **EE** (عصاره اتری) بخصوص برای افرادی که روی چربی کار می کنند

تعیین **OM** (ماده آلی) در دمای

انتخاب دام و رکورد برداری

بهتر است قبل از انتقال گاوها به جایگاه یا شروع آزمایش از وضیت تولید (شیر و در حد امکان ترکیبات شیر)، شکم، وزن و .... گاوها بصورت یکنواخت انتخاب شوند و رکورد برای شوند.

جیره نویسی نهایی

بر مبنای نوع حیوان و تولید آن و همچنین ماده خشک و ترکیبات شیمیایی بدست آمده دوباره جیره بر اساس نرم افزار متوازن می شوند.

- **تهیه کنسانتره**

قبل از شروع آزمایش، برای هر یک از تیمارها حدود یک سوم تا نصف کنسانتره مصرفی کل آزمایش بایستی تهیه شود (کنسانتره مصرفی هر گاو حدود 18 کیلوگرم در روز در نظر گرفته شود). در صورت نگهداری اقلام در محیط سرد می توان کل کنسانتره را قبل از شروع آزمایش تهیه کرد در غیر اینصورت اقلام خوراکی برای تهیه کنسانتره در مراحل بعدی بایستی به حد کافی ذخیره شوند تا در صورت کمبود دوباره کنسانتره تهیه شود. جهت تهیه کنسانتره ابتدا اقلام جو و ذرت را وزن و مخلوط و سپس باهم آسیاب می‌کنیم. همچنین از قبل، اقلام کم کنسانتره شامل پودر ماهی، پودر چربی، مکمل معدنی، ویتامینی، نمک، جوش شیرین و کربنات کلسیم و ... را توزین می‌کنیم (در توزین اقلام مختلف دقت شود تا اشتباهی صورت نگیرد). در حین آسیاب منابع غله و اضافه شدن به میکسر، سایر اقلام کنسانتره‌ای همچون کنجاله، دانه‌های روغنی و منابع وزن شده ریزمغذی به مرور به میکسر اضافه می‌شود. بعد از افزودن منابع مختلف در انتها به مدت 5-10 دقیقه عمل مخلوط نمودن با میکسر را ادامه داده تا پس از یکنواختی، آنها را در گونی‌های حدود 30-40 کیلوگرم ریخته تا کار و حمل و نقل و توزین آنها آسان باشد.

- **تهیه انواع ظروف نمونه‌گیری**:

- **نمونه علوفه، کنسانتره، خوراک کامل برای ترکیب شیمیایی خوراک و مصرف روزانه (پلاستیک زیپ دار): تعداد تیمار ×2 تکرار در هر دوره × دوره نمونه‌برداری (بر اساس طرح آزمایشی)**
- **نمونه خوراک و پس آخور برای تجزیه فیزیکی (پلاستیک زیپ دار): تعداد تیمار ×5 روز در هر دوره × دوره نمونه‌برداری (بر اساس طرح آزمایشی).**
- **پس آخور برای ترکیب شیمیایی (پلاستیک زیپ دار): تعداد گاو ×روز نمونه‌برداری (حدود 5 بار)× دوره نمونه‌برداری.**
- **نمونه مدفوع برای قابلیت هضم (ظروف یکبار مصرف): تعداد گاو × تعداد ساعت‌های نمونه‌برداری (حدود 9 بار)× دوره نمونه‌برداری.**
- **نمونه شیر برای ترکیبات شیر (ظروف پلاستیکی 20-50 میلی‌لیتری): تعداد گاو× تعداد روز نمونه‌برداری حدود 3×تعداد وعده (حدود 3) × دوره نمونه‌برداری.**
- **نمونه شکمبه برای آمونیاک و اسیدهای چرب فرار (ظروف فالکوم 10 یا 50 میلی‌لیتری): تعداد گاو× تعداد روز نمونه-برداری (حدود 2)× دوره نمونه‌برداری× تعداد فراسنجه شکمبه (حدود 2).**
- **نمونه ادرار برای ترکیب ادرار (ظرف ادرار): تعداد گاو× تعداد روز نمونه‌برداری (حدود 2)× دوره نمونه‌برداری× فراسنجه شکمبه (حدود 2).**
- **نمونه ادرار برای پروتئین میکروبی (ظروف ادرار): تعداد گاو× تعداد ساعت (حدود 3)×تعداد روز نمونه‌برداری (حدود 3)× دوره نمونه‌برداری.**
- **نمونه پلاسما (ونوجکت، سرسوزن و هولدر): تعداد گاو×تعداد روز نمونه‌برداری (حدود 2)× دوره نمونه‌برداری.**
- **موارد دیگر شامل مارکر، چسب کاغذی، پارچه متقال، دفترچه یادداشت، pH متر، سانتریفیوژ، پمپ خلاء و ضمائم آن، دستکش**

- **تقسیم بندی گاوها و دوره‌های آزمایشی**:

بر اساس روزهای شیردهی، تولید شیر و شکم زایش به طور تصادفی مطابق طرح آزمایشی به تیمارها اختصاص می‌یابند. گاوها چند روز جهت عادت به جایگاه قبل (تا یک هفته) از شروع طرح وارد شده و با همان جیره گاوداری تغذیه شوند. طرح مربع لاتین هر دوره حداقل 21 روز که شامل 14 یا 15 روز عادت پذیری و 6-7 روز نمونه‌برداری می باشد.

ب) عملکرد و توازن انرژی

4 - مصرف خوراک و نمونه‌برداری از خوراک:

تغذیه روزانه معمولا 2 بار در روز در ساعت های 8 صبح و 4 - 6 بعداز ظهر صورت می‌گیرد. مصرف خوراک برای هر گاو به مدت 5-7 روز متوالی انجام می‌شود. همچنین پس آخور طی 5-7 روز قبل از خوراک‌دهی روز بعد انجام می‌شود. مقدار مصرف خوراک در روز بعد برای هرگاو طوری تنظیم می‌شود که بر اساس پس آخور امروز 5-10 درصد وجود داشته باشد (بعنوان مثال اگر خوراک دیروز یک گاو 50 کیلوگرم بصورت as-fed بوده و 1 کیلوگرم پس آخور داشت یعنی 49 کیلوگرم خورده و 5 درصد خوراک می شود حدود 2/5 کیلوگرم پس برای روز بعد 49+2/5 می شود 51/5 کیلوگرم). برای سهولت کار، معمولا در وعده صبح 20 کیلوگرم ثابت برای تمامی گاوها در نظر می‌گیریم و در وعده بعدازظهر بقیه خوراک برای هر گاو در نظر گرفته می‌شود مثلا برای گاو ذکر شده وعده بعدازظهر 20-51/5 می شود 31/5 کیلوگرم. نمونه برداری از علوفه یونجه، سیلاژ ذرت و کنسانتره و کل خوراک (TMR) 2 بار طی هر دوره صورت می‌گیرد و با هم مخلوط می‌شوند. نمونه برداری از پس آخور در 5-7 روز در هر دوره صورت می‌گیرد و با هم در آخر دوره بر اساس وزن با هم مخلوط می‌شوند (مثلا اگر طی 5 روز پس آخور 3، 1، 3، 1 و 2 کیلوگرم بود نمونه مخلوط شده حاوی 30% از روز اول و 10، 30، 10 و 20 درصد به ترتیب به بقیه روزها اختصاص می‌یابد). از هر کدام از خوراک، پس آخور در دمای 60 درجه به مدت 48 ساعت خشک می‌شوند (جهت تعیین ماده خشک خوراک و پس آخور). سپس نمونه‌ها با توری 1 میلی متری آسیاب شده و جهت تجزیه NDF, ADF, CP, EE, ASH بکار می‌روند.

5 - تولید و ترکیب شیر:

شیردوشی 3 بار در روز در وعده‌های صبح، عصر و شب انجام می‌شود. جهت تعیین مقدار یا کمیت شیر هر گاو، تولید شیر طی 5 تا 7 روز رکورد برداری می‌شود و جهت تعیین ترکیب شیر (چربی، لاکتوز، پروتئین و کل مواد جامد) نمونه برداری از شیر طی 3 روز به صورت یک روز در میان (مثلا روز 1، 3 و 5) از تمامی وعده‌های شیردوشی بصورت جداگانه صورت می‌پذیرد. نمونه های شیر در هر نوبت شیـــردوشی در ظروف حاوی نگهـــــدارنده دی کرومات پتاسیم ریخته شد و بلافاصله در 4 درجه سانتی‌گراد ذخیره می‌شوند. جهت سنجش‌های خاص ترکیبات شیر، نمونه شیر بدون دی کرومات در فریزر نگهداری می‌شود. تولید شیر تصحیح شده بر اساس چربی 4% و انرژی مطابق معادلات زیر محاسبه می‌شود:

(کیلوگرم چربی تولیدی×15) + (تولید شیر×0/4) = شیر تصحیح شده برای 4% چربی

(لاکتوز%×0/0395+ پروتئین%×0/5632+ چربی%×0/0929)×تولید شیر= شیر تصحیح شده برای انرژی

6- وزن و امتیاز بدنی گاوها:

وزن‌کشی گاوها در 2 روز پشت سرهم (سعی شود قبل از خوراکدهی و بعد از شیردوشی باشد) در ورود به طرح و در آخر هر دوره انجام می‌شود. روش دیگر 2 روز مداوم در ساعت 10 است. امتیاز بدنی (BCS) توسط 2 شخص بطور جداگانه بر مقیاس عددی 1 تا 5 در روز وزن کشی داده می شود.

7- **توازن انرژی**:

بالانس انرژی از تفاوت بین دو انرژی دریافتی و خروجی بدست می‌آید.

انرژی خالص دریافتی=انرژی خالص خوراک×مصرف خوراک.

انرژی خالص خروجی= انرژی خالص شیردهی+انرژی خالص نگهداری.

انرژی خالص شیردهی= مقدار شیر×مقدار انرژی هر کیلوگرم شیر

انرژی خالص نگهداری از وزن بدن محاسبه می‌شود.

ج) قابلیت هضم شکمبه ای روده ای و کل دستگاه گوارش

8 - **قابلیت هضم ظاهری کل دستگاه گوارش**:

نمونه برداری مدفوع هر 9 ساعت یکبار در طی یک دوره 72 ساعته (3 روز) در هر دوره صورت می‌گیرد. نمونه‌های مدفوع در دمای 55 درجه سانتیگراد به مدت 72 ساعت بلافاصله خشک و برای هر گاو در هر دوره با هم مخلوط شدند. نمونه ها با توری 2 میلی متری آسیاب می‌شود. از NDF غیرقابل هضم (120 انکوباسیون شکمبه ایی، در کیسه های آنکوم) خوراک، پس آخور و مدفوع بعنوان مارکر داخلی برای محاسبه قابلیت هضم استفاده می‌شود (Cochran et al., 1986). همچنین از روش خاکستر نامحلول در اسید به عنوان نشانگر داخلی برای تعیین قابلیت هضم مواد مغذی در کل دستگاه گوارش می‌توان استفاده کرد. خاکستر بدست آمده از خوراک یا مدفوع پس از جوشاندن در اسید کلریدریک 2 نرمال و با شستشو بر کاغذ صافی واتمن فاقد خاکستر طبق توصیه ونکولن و یانگ به عنوان سیلیکای غیرمحلول در نظر گرفته شد و مطابق معادله ذیل جهت تعیین قابلیت هضم کل دستگاه گوارش به‌کار گرفته شد.

$$\text{قابلیت هضم ظاهری ماده خشک} = 100 - 100 \times \left(\frac{\text{درصد نشانگر درخوراک}}{\text{درصد نشانگر در مدفوع}}\right)$$

$$\text{قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی} = 100 - 100 \times \left(\frac{\text{درصد نشانگر در خوراک}}{\text{درصد نشانگر در مدفوع}}\right) \times \left(\frac{\text{درصد ماده مغذی در مدفوع}}{\text{درصد ماده مغذی در خوراک}}\right)$$

د) فراسنجه های شکمبه

9- **مایع شکمبه**:

در روز آخر هر دوره آزمایشی، بین ساعت‌های 10 تا 11 حدود 2 ساعت پس از تغذیه صبح با روش لوله معدی حدود 200 میلی لیتر مایع شکمبه گرفته شود. 4 میلی لیتر مایع شکمبه با 1 میلی لیتر متافسفریک 25 درصد مخلوط و برای اندازه گیری VFA بکار می رود. بلافاصله پس از نمونه‌گیری pH نمونه‌های شکمبه ثبت شود.

10- **سنتز پروتئین میکروبی**:

نمونه ادرار با ماساژ ولوا حدود 300 میلی لیتر در 6 نقطه (spot) در زمان‌های ساعت 0500، 1300 و 2100 در روز 17 و در ساعت‌های 0100، 0900 و 1700 در روز 18 در هر دوره از هر گاو جمع‌آوری شد. ادرار با اسید سولفوریک 2 مولار (pH<3) اسیدی می‌شود. pH ادرار با کاغذ لیتموس ارزیابی می‌شود. د روش دیگر فقط دو نمونه از هر گاو6 ساعت قبل و بعد از غذا

خوردن گرفته شده و جهت تجزیه ترکیبات ادرار بکار برده می شود. ادرار اسیدی شده با نسبت 1 به 10 با آب مقطر رقیق و در فریزر نگهداری می‌شود. نمونه‌های ادرار هر گاو با هم در هر دوره مخلوط شده و برای تعیین کراتینین، آلانتوئین و اسید اوریک تجزیه شدند. تخمین حجم ادرار بر مبنای لیتر بر اساس کراتینین بدست آمد. غلظت کراتینین با کیت تجاری اندازه-گیری شد و غلظت آلانتوئین با روش **Chen and Gomes** (1992) اندازه‌گیری می‌کنیم. اسید اوریک هم به روش رنگ سنجی تعیین خواهد شد. از معادله چن و گومز مقدار پورین جذب شده و سپس پروتئین میکروبی تعیین می‌شود.

ه) رفتار تغذیه ای

12 - **فعالیت جوش**:

فعالیت جوش معمولا در روز اول هر دوره نمونه گیری (مثلا روز 16) به مدت 24 ساعت ارزیابی می‌شود. فعالیت استراحت با عدد 1، خوردن با عدد 2 و نشخوار با عدد 3 نمایش داده می‌شود (فرم پیوست شماره 1). ثبت داده هر 5 دقیقه یکبار صورت می‌گیرد و فرض می‌شود در آن فعالیت در 5 دقیقه ادامه خواهد یافت. کل زمان جوش از جمع خوردن و نشخوار بدست می‌آید.

13- **شاخص انتخاب** (**Sorting index**):

برای تعیین شاخص انتخاب نمونه به اندازه کافی از خوراک و پس آخور طی 5 روز گرفته و نمونه های خوراکی با هم بصورت تصادفی مخلوط و نمونه های پس آخور بر اساس نسبت وزن هر روزشان با هم مخلوط (حدود 1 کیلوگرم یا پر کردن یک استوانه 500 میلی لیتری) می شوند و سپس با غربال‌های دانشگاه پنسیلوانیا (0، 1/18، 8، 19 میلی متر) الک می‌شوند. شاخص انتخاب برابر نسبت مصرف واقعی به مورد انتظار برای هر یک از الک ها بدست می‌آید (**Leonardi and Armentano, 2003**) نسبت100، بالاتر و کمتر از 100 به ترتیب نشاندهنده‌ی بدون انتخاب، انتخاب بیشتر آن قطعه خوراک، و انتخاب کمتر آن قطعات می‌باشد.

ی) نمونه های دیگر

14- **pH نمونه مدفوع و ادرار**:

pH مدفوع با مخلوط کردن نمونه مدفوع در آب مقطر (2 برابر وزن نمونه) تعیین شد و **pH** ادرار مستقیما ثبت می شود.

15- **نمونه خون**:

خونگیری از سیاهرگ دمی توسط لوله‌های تحت خلاء حاوی ماده ضد انعقاد 4 ساعت بعد از خوراک‌دهی صبح 2 بار در روز اول و پنجم دوره نمونه برداری انجام شد (برای دقت بیشتر هر 9 ساعت طی 3 روز متوالی و پس از سانتریفیوژ مخلوط کردن پلاسماها). نمونه‌ها بلافاصله با دستگاه با دور 3000 دور به مدت 20 دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلاسمای به دست آمده در دمای 20- درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری و برای تجزیه آزمایشگاهی بکار برده می‌شوند.

(نشخوار ۳)، (خوردن 2)، (استراحت1)												ساعت: 00:
55	50	45	40	35	30	25	20	15	10	5	0	زمان دقیقه /شماره گاو

پیشنهادات، انتقادات و روش های جدید را به آدرس الکترونیکی ghasemi@cc.iut.ac.ir ارسال فرمائید تا پس از اصلاح در دسترس افراد قرار گیرد.

با تشکر

قاسمی