

דו"ח מסכם לתכנית מחקר מס. 421-0170-11

השוואה בין ממשק הרדוף לממשק רגיל של טיפול בזבל סככות של חולבות ביחס לרמת הזיהום המיקרוביולוגי והרכב הכימי של הזבל המתקבל

The effect of cattle manure cultivation (Harduf process) on survival of potential pathogens

מוגש להנהלת ענף בקר לחלב / המועצה לחלב

ע"י צבי וינברג, יאירה חן ושלמה סלע

Zwi Weinberg, Forage Preservation and By-Products Research Unit, The Volcani Center, Bet Dagan 50250. E-mail: zgw@volcani.agri.gov.il

Yaira Chen, Forage Preservation and By-Products Research Unit, The Volcani Center, Bet Dagan 50250. E-mail: chenyair@volcani.agri.gov.il

Shlomo Sela, Dept. of Food Safety and Quality, The Volcani Center, Bet Dagan 50250. E-mail: shlomos@volcani.agri.gov.il

תקציר

שתי סככות מקבילות ברפת נצר סירני סומנו ב- 6 נקודות קבועות שמהן נלקחו דגימות זבל לבדיקות ומדידות טמפרטורה במשך שנה (איור 1). בסככת הטיפול הזבל עבר קלטור יומי לעומק בעוד שבסככת הבקורת בוצע רק שידוד שטחי. נערכו בדיקות לספירה כללית של מק"א, מספרי קוליפורמים וסטרפטוקוקים (בוצע במעבדה לבריאות העטין). בכל סככה שכנו כ- 75 פרות (כ- 20 מ"ר לפרה) שעליהן נערך מעקב דלקות עטין, ניקיון הפרות תנובת ואיכות חלב (בוצע במעל"ה). תכולת החומר היבש בזבל המקולטר עלתה מ- 47% לסביבות 60% בעוד שבסככה הבלתי מקולטרת רמת החומר היבש נותרה 40-47% במהלך כל השנה (איור 2). יש לציין שרטיבות הזבל לא הייתה אחידה ב- 6 נקודות הדגימה בכל סככה והיכן שהפרות התגודדו הזבל היה רטוב בהרבה ושם לא היה הבדל בין הזבל המקולטר והבלתי מקולטר (נק 1). הטמפרטורה בזבל המקולטר הייתה גבוהה מזו שבזבל הבלתי מקולטר אך גם במדד זה לא הייתה אחידות בתוך נקודות הדגימה של כל סככה. הטמפרטורה המירבית שנמדדה הגיעה ל- 40 מ"צ וזאת רק בנקודות בודדות ולתקופה מוגבלת, בקיץ. טמפרטורה זו אינה נחשבת לתהליך קומפוסטציה. הספירות המיקרוביולוגיות בדגימות הזבל המקולטר היו נמוכות בהשוואה לזבל הבלתי מקולטר (תוצאות מובהקות), הפרות ששכנו בסככה המקולטרת היו יותר נקיות ומספר דלקות העטין הקליניות היה 41 בהשוואה ל- 70 בסככת הבקורת ($P < 0.01$). ממצאים אלה מצביעים על היתרונות הטמונים בקלטור יומי עמוק של הזבל.

הניסויים בדו"ח זה הם תוצאות ניסויים.

בניסויים מהווים המלצות לחקלאים כן/לא

חתימת החוקר  תאריך ו' בניסן תשע"ב, 29.3.12

The effect of cattle manure cultivation (Harduf process) on survival of potential pathogens

Final report submitted to the Israeli Cattle Board by Zwi Weinberg, Yaira Chen and Shlomo Sela, Department of Food Quality and Safety, The Volcani Center, Israel.

Abstract

Two identical sheds on the dairy cows barn in kibbutz Netzer Sireni were used for the experiment. Each shed housed 73-76 milking cows (about 20 sq. m. per cow) grouped according to their days in milking. Six fixed sampling points were marked in each shed. The manure in one shed was deeply cultivated daily whereas the manure in the other shed was harrowed only. The manure from the 6 points in each shed was sampled monthly and measurements included determination of dry matter content, temperature, pH, total aerobic counts, coliforms and streptococci. In addition, the cleanliness status and incidence of mastitis was monitored. The dry matter content of the cultivated manure increased from 47 to about 60% whereas that of the harrowed manure remained wet (40-47% DM). The DM content was not uniform across the shed and it was much wetter under the fans where cows used to spend more time (point 1). Temperature of the cultivated manure was higher than that of the non-cultivated manure; however, the maximal temperature was 40°C which was measured only at a few sampling points for a few times in summer. Such temperature is not sufficient for composting. The microbiological counts were significantly lower in the cultivated manure as compared with the non-cultivated manure, the cows housed in the cultivated shed were cleaner and the incidence of clinical mastitis was 41 and 70 in the cultivated and harrowed sheds, respectively ($P < 0.01$). These findings point out the advantages of deep daily manure cultivation in dairy cows sheds.

מבוא

ממשק קלטור זבל הסככות ברפת פותח בקיבוץ הרדוף ומאז נפוץ ברפתות רבות בארץ. תקבל הרושם שהקלטור מביא למרבץ יותר יבש ואוורירי, משפר את רווחת הפרות ומקטין אירועי דלקות עטין. היה צורך לעגן רושם זה בממצאי מחקר. בשנת המחקר הראשונה ממשק הקלטור הושווה לאי-קלטור ברפת בית דגן; מבנה הסככות לא היה אחיד וצפיפות הפרות בהן הייתה גבוהה (15 מ"ר לפרה). התוצאות הצביעו על כך שהקלטור אכן גורם לייבוש הזבל אך לא נצפה הבדל במספרי חיידקי א. קולי (דו"ח ל- 2009). בשנת המחקר השנייה הראנו בעזרת חיידק א. קולי מסומן ל- GFP במערכת מודל שהקלטור מביא לירידה משמעותית במספרי החיידק ולשרידותו בזבל (דו"ח ל- 2010).

מטרת המחקר לשנת 2011 הייתה להשוות סככה מקולטרת לסככה שבה הזבל אינו מקולטר במדדים של רטיבות הזבל, הטמפרטורה שבו, מספרי מק"א ואירועי דלקות עטין.

הניסוי בוצע בראשות דר' שמוליק פרידמן מהמעבדה לבריאות העטין ודנה מיניס מנצר סירני.

מהלך העבודה

שתי סככות מקבילות ברפת נצר סירני סומנו ב- 6 נקודות קבועות שמהן נלקחו דגימות זבל לבדיקות ומדידות טמפרטורה במשך שנה (איור 1). בסככת הטיפול הזבל עבר קלטור יומי לעומק בעוד שבסככת הבקורת בוצע רק שידוד שטחי. נערכו בדיקות לספירה כללית של מק"א, מספרי קוליפורמים וסטרפטוקוקים (בוצע במעבדה לבריאות העטין). בכל סככה שכנו כ- 75 פרות (כ- 20 מ"ר לפרה) שעליהן נערך מעקב דלקות עטין, ניקיון הפרות תנובת ואיכות חלב (בוצע במעל"ה). בסוף הניסוי התוצאות עברו ניתוח סטטיסטי בעזרת תכנת SAS.

תוצאות ודין

תכולת החומר היבש בזבל המקולטר עלתה מ- 47% לסביבות 60% בעוד שבסככה הבלתי מקולטרת רמת החומר היבש נותרה 40-47% במהלך כל השנה (איור 2). יש לציין שרטיבות הזבל לא הייתה אחידה ב- 6 נקודות הדגימה בכל סככה והיכן שהפרות התגודדו הזבל היה רטוב בהרבה ושם לא היה הבדל בין הזבל המקולטר והבלתי מקולטר (נק' 1). הטמפרטורה בזבל המקולטר הייתה גבוהה מזו שבזבל הבלתי מקולטר אך גם במדד זה לא הייתה אחידות בתוך נקודות הדגימה של כל סככה. הטמפרטורה המירבית שנמדדה הגיעה ל- 40 מ"צ וזאת רק בנקודות בודדות ולתקופה מוגבלת, בקיץ. טמפרטורה זו אינה נחשבת לתהליך קומפוסטציה. הספירות המיקרוביולוגיות בדגימות הזבל המקולטר היו נמוכות בהשוואה לזבל הבלתי מקולטר (תוצאות מובהקות), הפרות ששכנו בסככה המקולטרת היו יותר נקיות ומספר דלקות העטין הקליניות היה 41 בהשוואה ל- 70 בסככת הבקורת ($P < 0.01$). ממצאים אלה מצביעים על היתרונות הטמונים בקלטור יומי עמוק של הזבל. בהמשך המחקר הבאה ברצוננו לברר האם הקלטור מעודד בזבל גורמים שמעכבים חיידקי א. קולי (בדגש על אקטינומיצטים), דבר שיתרום להבנת התהליכים שמתרחשים בזבל מקולטר.

רשימת פרסומים שנבעו מהמחקר:

Weinberg, Z.G., Chen, Y., Prabhat, K., Pinto, R., Zakin, V. and Sela, S. (2011). The effect of cattle manure cultivation on moisture content and survival of *E. coli*. *Journal of Animal Science* 89, 874-881.

Menis, D., Schwimmer, A., Feldheim, Z., **Weinberg, Z.** and Friedman, S. (2011). The effect of manure daily deep cultivation in cowsheds on udder health and milk quality. IDF World Dairy Summit, Parma, Italy, October 15-19.



איור מס. 1.

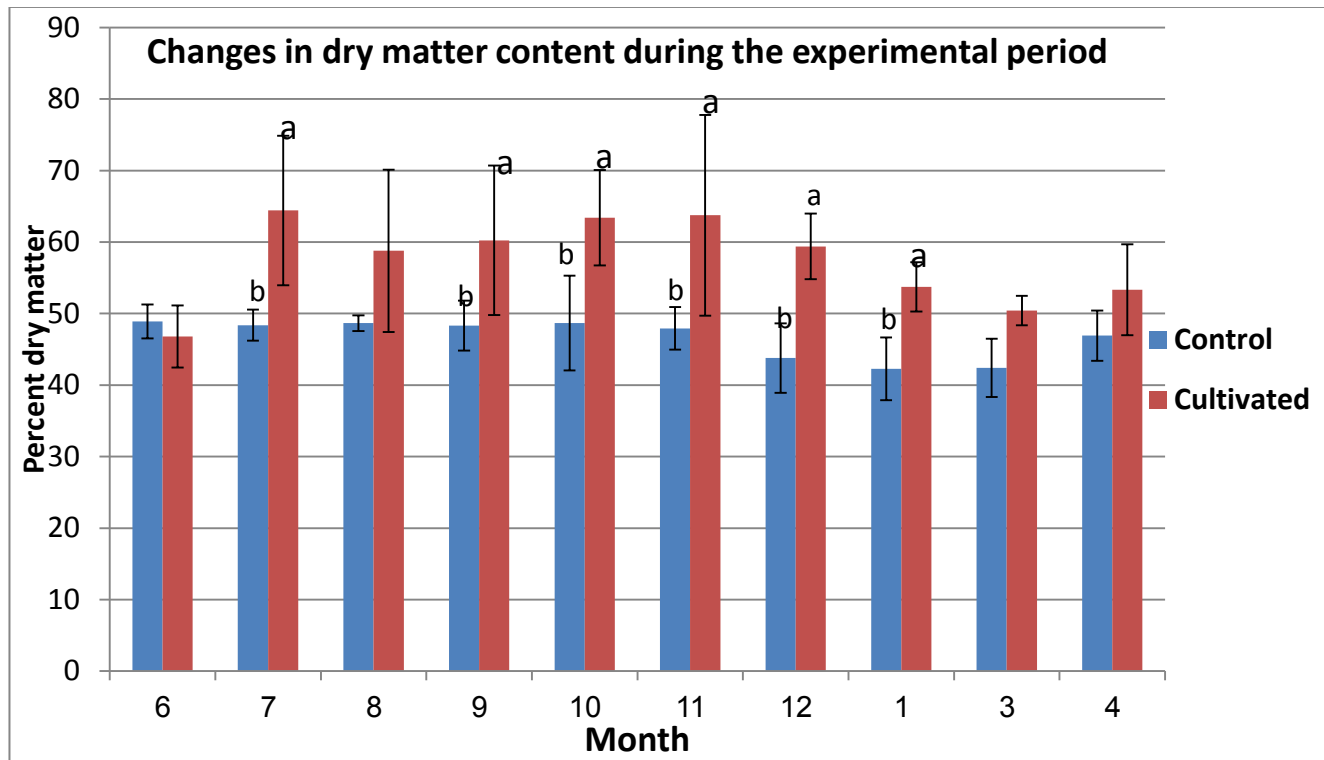
המספרים מסמנים את מיקום נקודות הדגימה בסככות.

תמונות הפרות מצביעות על מקום התגודדות הפרות בעת הדגימות.

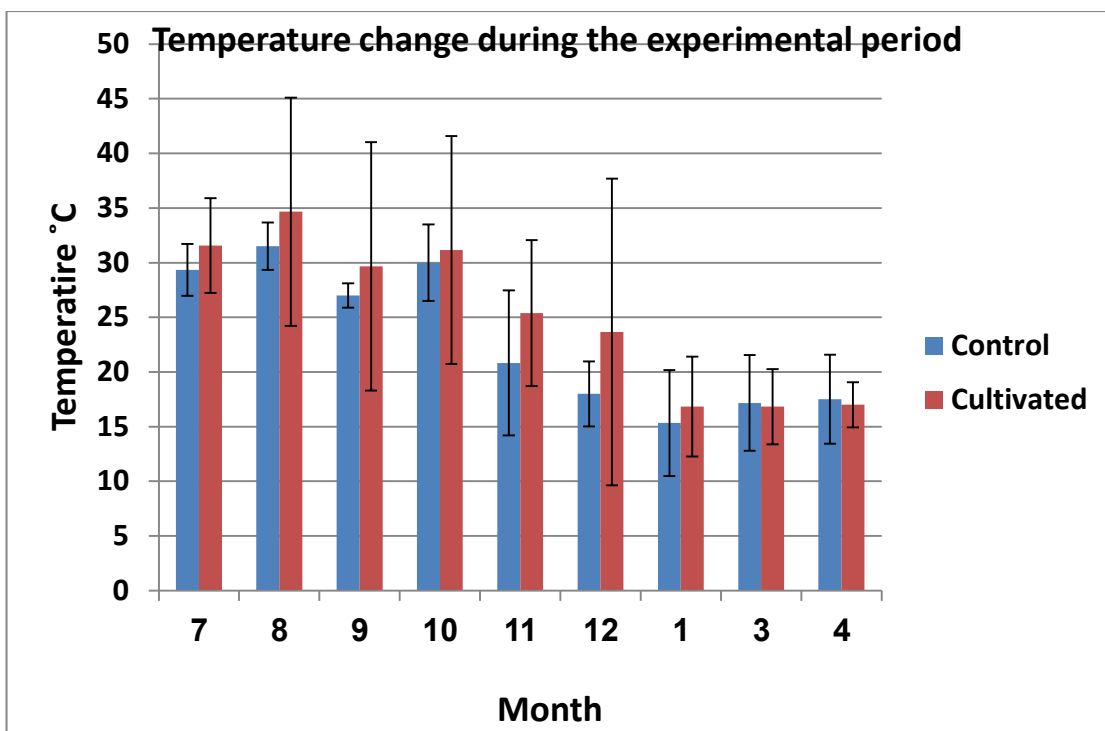
העיגולים מסמנים את מיקום המאוררים.

איור מס. 2. שינויים בתכולת החומר היבש בזבל הסככות במהלך הניסוי.

האותיות מורות על מובהקות סטטיסטית ($P < 0.05$).



איור מס. 3. שינויי הטמפרטורה בזבל במהלך הניסוי.



מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.

לבדוק את התהליכים שחלים בזבל סככות בעקבות קלטור יומי עמוק והשלכותיהם על רווחת וביצועי הפרות.

עיקרי הניסויים והתוצאות.

זבל משתי סככות מקבילות ברפת נצר סירני נדגם במהלך שנה ב- 6 נק' דגימה בכל סככה- מקולטרת ובלתי מקולטרת. הזבל המקולטר היה יותר יבש מהזבל הבלתי מקולטר במשך מרבית חודשי הניסוי והטמפרטורה הייתה בו קצת יותר גבוהה. הקלטור הקטין את שכיחות דלקות עטין קליניות והגביר את ניקיון הפרות.

מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח?

התוצאות הצביעו גם על ירידה באוכלוסיות מק"א שונות (ספירה כללית, קוליפורמים וסטרפטוקוקים). מטרות המחקר לתקופת בדו"ח הושגו במלואן הודות לתכנון ניסוי מוצלח וביצוע מוקפד.

בעיות שנתרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנתרה לביצוע תוכנית המחקר?

ברצוננו לברר האם בזבל המקולטר מתפתחים מק"א שמעכבים חיידקים פתוגניים כדוגמת א. קולי בדגש על אקטינומיציטים.

הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: **פרסומים בכתב** - ציטט ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי; **פסנטים** - יש לציין שם ומס' פנט; **הרצאות יומי עיון** - יש לפרט מקום, תאריך, ציטוט ביבליוגרפי של התקציר כמקובל בפרסום מאמר מדעי.

התוצאות הוצגו בכנס פרמה ע"י דר' שמוליק פרידמן מהמעבדה לבריאות העטין.

פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)

רק בספריות

ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט) X

חסוי – לא לפרסם

האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? כן* - לא- כן. בקשנו הארכה לשנה כדי לנסות ולברר האם בזבל המקולטר מתפתחים מק"א שמעכבים א. קולי כמודל לעיכוב מק"א פתוגניים בזבל.

דו"ח שנתי לתכנית מחקר 421-0170-09 בנושא: השוואה בין ממשק הרדוף לממשק רגיל של טיפול בזבל סככות של חולבות ביחס לרמת הזיהום המיקרוביולוגי והרכב הזבל המתקבל

מוגש למועצת החלב ע"י צבי וינברג ויאירה חן, המעבדה לשימור מספוא ומוצרי לוואי, שלמה סלע, המח' למדעי המזון ויהושע מירון, היחידה המטבולית, מינהל המחקר החקלאי, מכון וולקני, בית דגן.

תקציר

מטרת העבודה בשנת המחקר הראשונה הייתה לבדוק את השפעת הקלטור על המירבץ בסככה ברפת בית דגן. בסככה חולקה לשניים ובכל חלק שכנו 24 פרות. בחלק אחד המירבץ עבר קלטור יומי והחלק השני שמש הבקורת. לאחר כ- 8 חודשים התחילו להוסיף למירבץ גם זבל מדרכים רטוב. התצפית נמשכה 10 חודשים. מידי חודש נלקחו דגימות מ- 6 נקודות מכל טיפול ונערכו בדיקות לקביעת ח"י ומספרי א. קולי. כמו כן במועדי הדגימה נערכה מדידת טמפרטורה בזבל. בחלק המקולטר הזבל התייבש והגיע לכ- 70% ח"י בעוד שזבל הבקורת נותר בתכולת ח"י של כ- 55%. בחודשי הקיץ הפער בתכולת ח"י בין חלקי הסככה קטן. מדידות הטמפרטורה לא הצביעו על התחממות משמעותית של הזבל באף חלק של הסככה ומספרי הא. קולי בשני חלקי הסככה גם היו דומים ($\log_{10} = 5.0-8.0$ CFU/g). במעקב אחר ביצועי הפרות תכולת השומן, החלבון והלקטוז בחלב של אלה ששכנו בחלק המקולטר היו גבוהות במובהק ($P < 0.05$) מחלב הפרות בחלק הבקורת.

Annual report for project 421-0170-09 entitled: Comparison of different management of cattle manure with regard to microbial contamination and manure composition, submitted to the Israeli Milk Board

By Zwi Weinberg and Yaira Chen and Shlomo Sela, Department of Food Science, and Yehoshua Miron, Institute of Animal Science, Agricultural Research Organization, The Volcani Center, Bet Dagan, Israel.

Abstract

The objective of the first year of the project was to study the effect of cultivation on the manure bedding at a dairy cow barn at the Volcani Center. The barn was divided into 2 part, each housing 24 cows. One part was cultivated daily and the second served as a control. After 8 months the cultivated bedding was added wet slurry. The experiment lasted 10 months during which samples from 6 sites at each part were taken monthly, as well as temperature measurements. The cultivated manure dried out and the dry matter content reached about 70% whereas the control manure remained at 55% DM. In summer these differences decreased. No marked heating of the manure was observed throughout the experiment in any of the parts, and E. coli numbers were similar ($\log_{10} = 5.0-8.0$ CFU/g). The milk of the cows from the cultivated manure contained significantly ($P < 0.05$) more fat, protein and lactose, than that of the cows from the control part.

מבוא

זבל בקר מהווה מקור למיקרואורגניזמים שונים, חלקם פתוגניים לפרות ולבני אדם. בממשק רגיל, זבל המידרכים הרטוב מסולק למאצרות ואילו זבל הסככות אינו מטופל כלל ומוצא מידי כמה זמן למפעלי קומפוסט יחד עם הזבל מהמאצרות. לפני מספר שנים פותח ברפת קבוץ הרדוף תהליך לטיפול בזבל שבמסגרתו זבל המידרכים הרטוב מוסף לזבל הסככות מידי יום וזבל הסככות עובר קלטור יומי. לטענת מפתחי התהליך הזבל שמתקבל בתהליך זה יותר יבש ואוורירי וכך מהווה מרבץ יותר נוח לבעלי החיים ובממשק כזה יורדת שכיחות דלקות העטין. בנוסף, התהליך מביא להתחממות הזבל והתחלת תהליך קומפוסטציה (יורם קלגרד, קבוץ הרדוף).

מטרת המחקר הייתה לבדוק את השפעת הקלטור על שינויי תכולת חומר יבש בזבל, על הטמפרטורה בזבל ועל אוכלוסיית חיידקי א. קולי שבו.

מהלך העבודה

סככה ברפת בית דגן חולקה לשני חלקים: החלק המערבי קולטר מידי יום (מלבד שבתות וחגים) והחלק המזרחי לא עבר אף טיפול. בכל חלק מהסככה שכנו כ"ד פרות חולבות. בכל חלק נקבעו מראש 6 נקודות לדגימה. הדגימות נלקחו בתחילה בתדירות גבוהה ואח"כ אחת לחודש. ביולי התחילו להוסיף זבל מידרכים לחלקת הניסוי בתדירות של פעמיים בשבוע. הניסוי החל בנובמבר 2008 והסתיים בספטמבר 2009.

הדגימות נלקחו מנקודות הדגימה בעזרת את חפירה, מעומק כ- 15 ס"מ. בעת הדגימה נמדדה הטמפרטורה של הזבל לעומקו וטמפרטורת האוויר בעזרת תרמו-קאפעל. הבדיקות במעבדתנו כללו את קביעת החומר היבש (ע"י יבוש בתנור ב- 105 מ"צ ל- 24 ש'), תכולת האפר (ע"י שריפה ב- 550 מ"צ ל- 3 ש') ומספרי א. קולי משתי נקודות מכל טיפול (על מצע Chromocult TBX®, הדגרה ב- 39 מ"צ ל- 24 ש'). במקביל נשלחו דגימות מפני השטח של הזבל למעבדה לבריאות העטין לקביעת אוכלוסיות מיקרואורגניזמים נוספות ונערך מעקב אחר ביצועי הפרות.

תוצאות

טבלה מס. 1. מתארת את השינויים בתכולת החומר היבש בהשפעת הקלטור. הקלטור גרם להתייבשות הזבל בחודשי החורף, ונוצר פער גדול בין חלקי הסככה כבר לאחר חודש וחצי של קלטור. אולם ההבדל בתכולת ח"י של הזבל בין הסככה המקולטרת וסככת הבקורת קטן בקיץ ונעלם כאשר התחילו להוסיף זבל מידרכים. סטיות התקן הגבוהות בתוצאות סככת הבקורת בחודשי הקיץ מצביעה על חוסר אחידות במירבץ ואולי על התגודדות הפרות בנקודות מסוימות.

תכולת האפר נבדקה פעמיים: בחורף ובקיץ והיא נעה סביב 60% בח"י ללא הבדל ניכר בין הסככות. ערכי pH של הזבל היו גבוהים מ- 8.5, גם ללא הבדל בין הסככות.

שינויי הטמפרטורה בזבל ניתנים בטבלה מס. 2. הטמפרטורה של הזבל הייתה גבוהה במקצת מזו של האוויר אך ללא הבדל בין ממוצעי סככת הבקורת וסככת הטיפול. רק בשתי נקודות (מתוך השש) בסככת הטיפול הטמפרטורה הגיעה לכ- 35 מ"צ וזאת בקיץ בלבד.

מספרי הא. קולי בזבל ניתנים בטבלה מס. 3. תוצאות שתי הדגימות ניתנות כמספרי הלוגריתמים לגרם. לא נמצא הבדל בין שני חלקי הסככה ביחס למספרי א. קולי.

סיכום ביצועי הפרות בשתי הקבוצות ניתן בטבלה מס. 4. מספר מקרי דלקות העטין שאף לאפס ולכן לא ניתן להתייחס למדד זה כאן. נמצאו יתרונות בקבוצת הניסוי (בסככה המקולטרת) לאחוזי השומן, החלבון והלקטוז בחלב, אך לא ביתר המדדים שנצפו.

דיון

התנאים בסככה שבה בוצע הניסוי התאפיינו בצפיפות גבוהה של הפרות, כ- 15 מ"ר לפרה בהשוואה לכ- 20 מ"ר לפרה ברפת תקנית. הבדל נוסף בין ממשק הרדוף והרפת בבית דגן הוא שזבל מידרכים רטוב הוסף למירבץ רק בחודשי הניסוי האחרונים. הקלטור אמנם גרם להתייבשות ניכרת של הזבל בסככה המקולטרת, אך כיוון שלא הוסף זבל מידרכים באופן סדיר הזבל המקולטר היה יבש מידי כמעט ולא נוצר חום וממילא גם לא היה תהליך קומפוסטציה. יתכן ובקרוב יתחיל ניסוי ברפת נצר סירני שבו ניטול חלק ושם התנאים יהיו שונים.

בניסוי הנוכחי הקלטור גרם להתייבשות ניכרת של הזבל אך לא נמצאו הבדלים ביתר המדדים שנבדקו. כיוון שהממשק ברפת בית דגן קפדני כמעט לא ניכרה השפעת הקלטור על ביצועי הפרות, למעט העלייה באחוזי השומן, החלבון והלקטוז בחלב של הקבוצה שהייתה בחלק המקולטר. גם לא היו דלקות עטין בזמן הניסוי ולא ניתן להתייחס למדד זה.

המשך העבודה המתוכנן כולל ניסוי במערכת מודל שבו תיבחן השפעת הקלטור ותוספת זבל מידרכים על השרידות של חיידק א. קולי שיבודד מהזבל ויסומן באופן גנטי כך שיהיה ניתן לעקוב אחריו בזבל.

טבלה מס.1. השתנות תכולת החומר היבש בזבל הבקורת והמקולטר. הערכים מייצגים ממוצעים של 6 נקודות דגימה בכל חלק של הסככה.

סככה מקולטרת	סככת הבקורת	תאריך הבדיקה
56.4±6.6	56.5±5.3	2.11.08
59.7±4.4	57.3±5.7	17.11.08
57.1±6.5	56.6±4.0	24.11.08
63.0±5.4	58.9±5.2	16.12.08
66.1±7.1	54.5±5.0	23.12.08
65.1±1.4	53.5±3.9	20.1.09
64.8±6.1	*60.9±12.3 (56.1±4.0)	16.2.09
65.3±3.2	52.1±5.1	22.3.09
68.1±2.0	54.8±2.7	20.4.09
72.0±4.7	65.5±10.2	25.5.09
67.9±3.1	62.2±18.9	15.6.09
59.9±5.3	59.2±4.2	**3.7.09
59.7±5.9	56.3±11.3	10.8.09
59.5±1.5	57.2±5.0	7.9.09

*בסוגריים: בהשמטת תוצאה חריגה

** תחילת תוספת זבל מידרכים

טבלה מס. 2. השפעת הקלטור על הטמפרטורה בזבל (מ"צ). הערכים מייצגים ממוצעים של 6 נקודות דגימה בכל חלק של הסכנה.

תאריך	סכנת הבקורת	סכנה מקולטרת	טמפרטורת האוויר
6.11.08 בוקר	22.2±1.2	22.7±2.0	
6.11.08 אחה"צ	22.0±0.3	23.9±1.1	
10.11.08	22.3±0.7	23.1±0.9	21
17.11.08	19.0±0.9	19.3±1.2	
23.11.08	19.0±0.9	19.3±1.2	תוספת זבל טפחות
25.5.09	25.5±1.8	25.7±4.7	
15.6.09	27.2±2.0	27.9±3.1	22
8.7.09	-	31.9±2.2	תחילת זבל מידרכים
9.7.09	27.5±1.4	29.1±2.0	25
13.7.09 בוקר	28.3±2.5	28.6±1.6	22.4-25.4
21.7.09 צהרים	30.4±1.3	32.0±1.1	27.0
10.8.09 בוקר	29.7±1.5	31.2±2.8	25.7
7.9.09 צהרים	29.0±1.5	29.6±2.0	28.0

טבלה מס. 3. השפעת הקלטור על מספרי א. קולי (לוג ריתמוס של מס. יחידות יוצרות מושבות לגרם).

תאריך	סכנת הבקורת	סכנה מקולטרת
3.11.08	7.1, 5.5	5.6, 6.5, 6.6
20.1.09	5.6, 4.4	5.7, 4.9
22.3.09	8.0, 8.1	7.0, 7.2
20.4.09	5.5, 6.1	6.1, 6.4
25.5.09	5.6, 4.1	6.1, 5.2
15.6.09	8.0, 7.6	7.7, 6.4
13.7.09	4.9, 5.0	5.8, 6.2
10.8.09	3.8, 7.5	8.0, 7.2

טבלה מס. 4. טבלת ביצועי הפרות (נתונים שנמסרו מרפת בית דגן).

SEM	P	קבוצת הבקורת	קבוצת הניסוי	המדד
0.40	0.8405	36.7	36.6	חלב
0.05	0.0008	3.57	3.79	% שומן
0.03	0.0381	3.42	3.49	% חלבון
0.01	0.0001	4.89	4.98	% לקטוז
0.35	0.11	37.3	38.3	חמ"מ
37.7	0.7226	122	143	תאים סומטיים
1.37	0.0002	120	112	פדומטריה
3.46	0.2192	633	648	משקל

דו"ח שנתי לתכנית מחקר 10-0170-421 בנושא: השוואה בין ממשק הרדוף לממשק רגיל של טיפול בזבל סככות של חולבות ביחס לרמת הזיהום המיקרוביולוגי והרכב הזבל המתקבל

מוגש למועצת החלב ע"י צבי וינברג ויאירה חן, המעבדה לשימור מספוא ומוצרי לוואי, שלמה סלע,
המח' לאיכות ובטיחות מזון ויהושע מירון, היחידה המטבולית, מינהל המחקר החקלאי, מכון וולקני,
בית דגן.

תקציר

בשנה החולפת פותח במעבדתנו מודל בדליים לחיקוי ממשק הרדוף וממשק רגיל של טיפול בזבל. במודל זה
הזבל אולח במספרים גבוהים בזן של א. קולי שבודד מזבל סככות ואשר סומן בפלסמיד GFP ובעמידות
לקנמיצין. בהמשך בודד תת-זן שעמיד גם לסטרפטומיצין. המודל כלל 5 מחזורים: בשלושת המחזורים
הראשונים הוקדשו לקלטור ואילו בשני המחזורים האחרונים נוסף לדליים גם זבל מדרכים רטוב.

הטיפולים היו: בקורת בלתי מאולחת ובלתי מקולטרת, בקורת בלתי מאולחת ומקולטרת, זבל מאולח בלתי
מקולטר וזבל מאולח ומקולטר.

לאחר כשלושה שבועות ואילך הזבל המקולטר היה יותר יבש בהשוואה לזבל הבלתי מקולטר והתפתח בו
מירקם אוורירי. בזבל הבלתי מקולטר המירקם היה גושי ודחוס. החיידק המוסף נעלם מהזבל המקולטר יותר
מהר מאשר בזבל הבלתי מקולטר במשך כל מחזורי הניסוי. תוצאות אלה תומכות בטענה שממשק הרדוף יוצר
מרבץ יותר נעים לפרות ומקטין את שכיחות דלקות העטין.

The effect of cattle manure cultivation (Harduf process) on microbial status and composition (project # 421-0170-10)

Annual report submitted to the Israeli Cattle Board by Zwi Weinberg and Yaira Chen, Forage Preservation and By-Products Research Unit, The Volcani Center, Israel.

Abstract

A model system in 10 liter buckets was developed to simulate the Harduf process and regular cattle manure management. Cattle manure was inoculated with an *E. coli* in the beginning of each of five cycles. The strain was isolated from manure and it was tagged with a plasmid encoding for green fluorescence protein (GFP) and kanamycin resistance. The strain was further isolated for streptomycin resistance. The first 3 cycles comprised cultivation only and during the latter two cycles wet slurry was added several times. Treatments included cultivated and non-cultivated non-inoculated manure, and respective inoculated manure. After 3 weeks of cultivation and on the cultivated manure was drier as compared with the non-cultivated manure and it had a crumbly aerated texture. The texture of the non-cultivated manure was compact and it was darker.

The tagged strain disappeared fastest from the cultivated as compared with the non-cultivated manure at all the experimental cycles. These results support the hypothesis that the Harduf management of cattle manure improves the cows welfare and reduce mastitis incidence.

מבוא

בשנת המחקר הראשונה (2009) נערכה תצפית בסככה ברפת בית דגן שבמהלכה נבדקו דגימות זבל מחלק מקולטר ובלתי מקולטר. הקלטור גרם להתייבשות הזבל אך לא התקבלו שינויים ביחס לטמפרטורה, ערכי pH, וכן לא היו הבדלים עקביים במספרי הא. קולי בין שני חלקי הסככה. מבחינת ביצועי בעלי החיים התקבלו מספר מדדים מובהקים לטובת הפרות ששהו בחלק המקולטר (אחוזי שומן, חלבון ולקטוז בחלב), אך לא ביחס לדלקות עטין ששכיחותן ברפת הייתה ממילא אפסית.

מטרת המחקר ב- 2010 הייתה לבחון את השרידות של זן א. קולי שבודד מהזבל בזבל מקולטר ובלתי מקולטר.

מהלך העבודה

הכנת זן א. קולי מסומן

זן של א. קולי בודד מהזבל מסככת בית דגן וסומן באמצעים מולקולאריים (באמצעות החדרת פלסמיד) לביטוי החלבון הזוהר הירוק (GFP) ולעמידות לאנטיביוטיקה קנמיצין. בהמשך בודד מזן זה תת-זן שעמיד גם לאנטיביוטיקה סטרפטומיצין. הזן המסומן שימש בניסוי המודל.

תיאור המודל

המודל כלל 12 דליים פתוחים בנפח 10 ליטר עם משקל זבל התחלתי של 8 ק"ג. כל שלישית דליים הכילה טיפול שונה כדלקמן:

זבל בקורת (בלתי מאולח) ובלתי מקולטר.

זבל בקורת (בלתי מאולח) ומקולטר.

זבל מאולח בחיידקי המטרה בלתי מקולטר.

זבל מאולח בחיידקי המטרה ומקולטר.

הדליים אוחסנו באינקובאטור בטמפרטורה 30 מ"צ למשך כל תקופת הניסוי (18 בינואר עד 25 באפריל, ס"ה כ- 100 ימים). הדליים עם הזבל הבלתי מקולטר אוחסנו בתחתית ומעליהם דליי הזבל המקולטר. הדליים המקולטרים עברו קלטור יומיומי (למעט סופי שבוע וחגים) ע"י העברתם למיכל פלסטיק (50 X 35 X 20 ס"מ), והקלטור בוצע לכל דלי בנפרד למשך דקה באמצעות מקלטרת ידנית קטנה תלת-חודית. בכל יום, הזבל הבלתי מאולח קולטר לפני הזבל המאולח. מיד בתום הקלטור נלקחה דוגמא מאוחדת מכל חלקי המיכל, עבור כל דלי בנפרד. הדגימות מהדליים הבלתי מקולטרים נלקחו ע"י נעיצת צינור אלומיניום בקוטר 4 ס"מ לעומק כל הדלי ודחיפת דוגמת הזבל מהצינור לשקית פלסטיק עם מוט מתכת. לאחר 52 ימי ניסוי התחילה הוספת זבל מידרכים טרי במנות של 200 ג' לכל דלי, עד לקבלת תכולת חומר יבש סביב 50% (ס"ה כל דלי הוספו 7-9

מנות בנ"ל עד תום הניסוי). בדליים המקולטרים זבל המידרכים הוסף בעת הקלטור, ובדליים הבלתי מקולטרים הזבל הרטוב הוסף לשכבה העליונה של הזבל.

מיכל הפלסטיק, המקלטרת וצינור האלומיניום חוטאו באלכוהול בכל יום לפני העבודה.

אילוח הזבל בזן המסומן של א. קולי

החיידק המסומן גודל מבעוד יום במצע נוזלי TS המכיל את שתי האנטיביוטיקה. האילוח בוצע ע"י תוספת 30 מ"ל של תרחיף החיידק לזבל של כל דלי בנפרד וערבוב. בזבל המקולטר האילוח בוצע בעת הקלטור. בזבל הבלתי-מקולטר הזבל הועבר למיכל הפלסטיק, נשבר לגושים, רוסס בתרחיף החיידק, עורבב קלות והוחזר לדלי. ס"ה היו 5 מחזורי אילוח עם החיידק המסומן.

מחזורי האילוח

מחזור 1: 19 בינואר עד 7 בפברואר (20 יום), תוספת 10^6 חיידקים לגרם זבל.

מחזור 2: 15 בפברואר עד 21 בפברואר (14 יום), תוספת 2.5×10^5 חיידקים לג' זבל.

מחזור 3: 22 בפברואר עד 14 במרץ (21 יום), תוספת 3.0×10^6 חיידקים לג' זבל.

מחזור 4: 15 במרץ עד 28 במרץ (14 יום), תוספת 6.0×10^6 חיידקים לג' זבל. במחזור זה הוספו 9 ו-4 מנות של 200 ג' זבל מידרכים לדליים המקולטרים והבלתי-מקולטרים, בהתאמה.

מחזור 5: 6 באפריל עד 25 באפריל (20 יום), תוספת 6.0×10^6 חיידקים לג' זבל. במחזור זה הוספו 5 ו-4 מנות של 200 ג' זבל מידרכים לדליים המקולטרים והבלתי-מקולטרים, בהתאמה.

הבדיקות המיקרוביולוגיות

דגימות הזבל מהדליים עברו מיהולים עשרוניים ונזרעו בשלושה מצעים מבדילים: TBX ללא אנטיביוטיקה (לקביעת אוכלוסיות הא. קולי הכללית), TBX הכולל את שני סוגי האנטיביוטיקה (קנמיצין וסטרפטומיצין) לספירת החיידק המסומן בלבד, ומצע TSA הכולל את שני סוגי האנטיביוטיקה לקבלת מושבות זוהרות בצבע ירוק חיוורין תחת מנורת אולטרא-סגול. צלחות הפטרי הודגרו למשך יממה ב- 39 מ"צ.

ניתוח סטטיסטי

תוצאות תכולת החומר היבש ומספרי הא. קולי במצעים השונים עברו מבחן שונות חד-כיווני ומבחן תחום-מרובה TUKEY עם תכנת SAS.

תוצאות

השפעת הקלטור על תכולת החומר היבש ומירקם הזבל

השינויים בתכולת החומר היבש בזבל המקולטר והבלתי-מקולטר ניתנים באיור 1. לאחר 18 ימים ובמהלך משך יתרת הניסוי תכולת החומר היבש בזבל המקולטר הייתה גבוהה יותר מאשר בזבל הבלתי-מקולטר. התכולה המירבית של ח"י בזבל המקולטר הייתה כ- 70% ואילו זאת של הזבל הבלתי מקולטר נותרה 50-55% ח"י. לאחר 52 ימי ניסוי הוחל בהוספת זבל מידרכים רטוב (כ-18% ח"י) ואז תכולת החומר היבש בכל הדליים ירדה, אך הזבל המקולטר נשאר תמיד יותר יבש מאשר הזבל הבלתי-מקולטר. במהלך הניסוי המירקם של הזבל המקולטר היה יבש, גושי ומפורר וצבעו חום בהיר בעוד שמירקם הזבל הבלתי-מקולטר הפך לדחוס ולח וכאשר הוסף זבל מידרכים הזבל הבלתי המקולטר נטה להשחיר, והיה דומה בתכונותיו החזותיות לזבל שבסככה בלתי-מקולטרת ברפת (איור 7). ערך ה-pH של הזבל מכל הטיפולים היה בסביבות 9.0.

שרידות הזן המסומן בזבל מקולטר ובלתי-מקולטר

המספר הכללי של חיידקי א. קולי בזבל שנלקח מהרפת היה $\log_{10}=4.7\pm 0.41$ לגרם ומספר זה ירד בזבל הבלתי-מאולח בדליים ל-3.5. זבל המידרכים הכיל $\log_{10}=5.6\pm 1.27$. מיד לאחר תוספת זבל המידרכים לזבל הבלתי-מאולח בדליים המקולטרים והבלתי מקולטרים מספרי הא. קולי היו בסביבות $\log_{10}=5.5$ ולאחר מכן הם ירדו לסביבות $\log_{10}=4.0$.

מספרי הא. קולי המסומן במצעים שהכילו אנטיביוטיקה, במהלך מחזורי הניסוי השונים, מתוארים באיורים 2-6. בכל המחזורים, מספרי הא. קולי ביום האילוח תאמו לערך המחושב ע"פ מספר החיידקים שהיו בתרחיף וע"פ נפח התרחיף שהוסף. במחזור 2 מספרים אלה היו נמוכים בהשוואה למחזורים האחרים. אולם, בתחילת כל המחזורים, מספרי הזן המוסף היו גבוהים בכמה סדרי גודל בהשוואה למספרי הא. קולי בזבל הבלתי-מאולח. בכל המחזורים מספרי הא. קולי ירדו במשך הזמן אך בזבל המקולטר מספרי החיידק המסומן ירדו בקצב יותר מהיר ונעלמו מהזבל, בעוד שבזבל הבלתי-מקולטר ניתן היה עדיין לגלות אותם. ברוב מועדי הדגימה ההבדלים בין מספרי זן הא. קולי המסומן בזבל במקולטר והבלתי מקולטר היו מובהקים ($P < 0.05$). הייתה התאמה טובה בין מספרי הזן המסומן הזוהר במצע TSA ובין מספרי זן זה על מצע TBX.

דין

זבל בקר מהווה מקור לחיידקים שונים שחלקם פתוגניים לאדם ולבהמה. בנוסף, הזבל עלול להוות מיטרד סביבתי עם בעיות של ריחות, זבובים ותשטיפים שעלולים לזהם מקורות מי תהום. על פי הממשק שפותח בקיבוץ הרדוף הזבל בסככות מקולטר בכל יום תוך הוספת זבל מידרכים רטוב. לטענת מפתחי בממשק הנ"ל, הקלטור משפר את איכות מצע הרביצה לפרות ואת רווחת בעלי החיים ומפחית את שכיחות דלקות העטין וכך משפר את ביצועי בעלי החיים. עוד נטען שבמהלך הקלטור הזבל מתחמם וחל תהליך מוגבל של קומפוסטציה.

מטרת הניסויים שתוארו לעיל הייתה לבדוק האם קיים הבדל בין זבל מקולטר ובלתי-מקולטר ביחס לשרידות של חיידקים שיש להם פוטנציאל לגרום למחלות בבעלי החיים כדוגמת זני א. קולי שגורמים לדלקות עטין. לצורך כך פותח במעבדתנו מודל בן כמה מחזורים שחיקה את פעולת הקלטור בסככות הרפת ואת תוספת זבל המידרכים הרטוב. המחזורים הראשונים כללו קלטור בלבד ושני המחזורים האחרונים כללו גם את תוספת זבל המידרכים. סימון מולקולי של זן א. קולי שבודד מזבל הרפת נמצא יעיל מאוד למעקב אחריו בזבל.

בניסויים הקדמיים שנערכו בקופסאות קלקר מבודדות עם זבל במשקל 1 ו- 2 ק"ג נבחנה השפעת הקלטור על התחממות הזבל. רק במקרה בודד, במיכל קלקר גדול (2 ק"ג), זבל מקולטר התחמם ל- 41 מ"צ לאחר תוספת זבל מידרכים, ואילו בקופסאות הקטנות יותר לא חלה כמעט התחממות. בגלל הקושי להשיג התחממות עקבית, ובעקבות התוצאה הדומה שהתקבלה בסככת הרפת, הוחלט לערוך את הניסוי בטמפרטורה מבוקרת של 30 מ"צ, דרגת חום השוררת בזבל בסככה בחודשי הקיץ.

התוצאות הצביעו התייבשות ועל פחיתה מובהקת במספר זן הא. קולי המסומן ועל מירקם אוורירי בזבל המקולטר בהשוואה לזבל הבלתי-מקולטר, בכל מחזורי הניסוי. מכאן ניתן ללמוד שתנאי היובש והאווריריות שמתפתחים בזבל המקולטר מזרזים את היעלמות הזן המסומן מהזבל. תוצאה זו מתיישבת עם העובדה שחיידקים צריכים לחות (פעילות מים) להתפתחותם ולשרידותם. התנאים הלחים והמיקרו-אירופיליים בזבל הבלתי-מקולטר החדוס שיפר את שרידות הזן המסומן. אולם מה משמעות תוצאה זו? בעלי החיים מפרישים חיידקים שונים כל הזמן לזבל, ולכן מספרי הא. קולי שנקבעו בזבל הסככות ברפת היו עקביים לאורך חודשי התצפית (דו"ח 2009). ולכן, האם היעלמות של זן מסויים בזבל המקולטר מצביעה גם על היעלמות זנים פתוגניים? אנו מניחים שאם יופרשו זנים פתוגניים של אנטרובקטריות כדוגמת א. קולי וסלמונלה הם ייעלמו יותר מהר בזבל מקולטר מאשר בזבל בלתי-מקולטר. וכתוצאה מכך הקלטור משפר את המצב הבריאותי של הפרות ומפחית את שכיחות דלקות העטין. וזה תומך בטענה של צוות הרפת בקיבוץ הרדוף (יורם קלגרד וצוותו) שהקלטור מפחית את השכיחות של דלקות עטין. אולם כדאי לאשש הנחה זו בניסויים נוספים.

כתרות האירורים

- איור 1.** השינויים בתכולת החומר היבש בזבל המקולטר והבלתי מקולטר במערכת הדליים. החיצים העבים מסמנים את מועדי סיום מחזורי האילוח, והחץ הדק – מועד תחילת תוספת זבל לח.
- איור 2.** לוגריתמוס מספרי הא. קולי המסומן בזבל המקולטר והבלתי מקולטר במחזור הראשון.
- איור 3.** לוגריתמוס מספרי הא. קולי המסומן בזבל המקולטר והבלתי מקולטר במחזור השני.
- איור 4.** לוגריתמוס מספרי הא. קולי המסומן בזבל המקולטר והבלתי מקולטר במחזור השלישי.
- איור 5.** לוגריתמוס מספרי הא. קולי המסומן בזבל המקולטר והבלתי מקולטר במחזור הרביעי.
- איור 6.** לוגריתמוס מספרי הא. קולי המסומן בזבל המקולטר והבלתי מקולטר במחזור החמישי.
- איור 7.** מראה הזבל המקולטר והבלתי מקולטר בסיום הניסוי.

Fig. 1

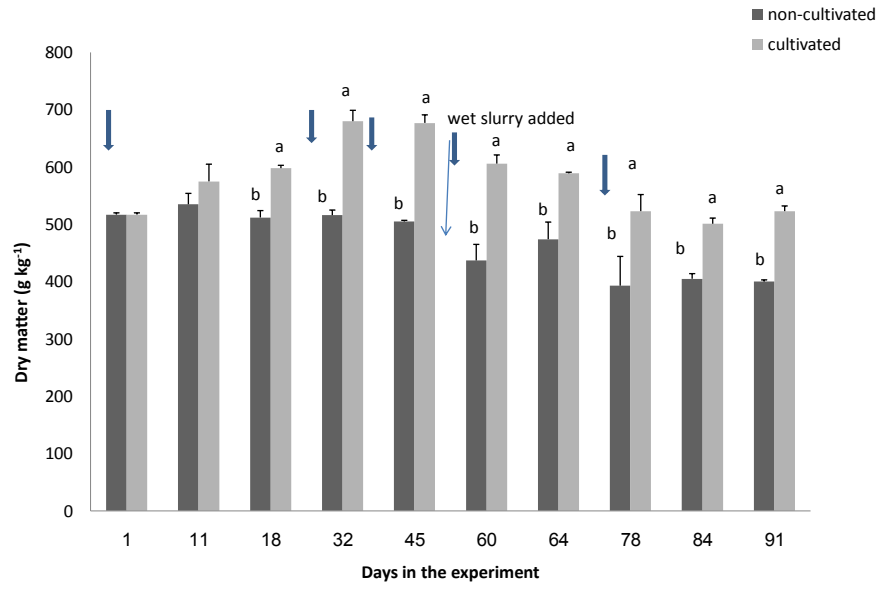


Fig. 2

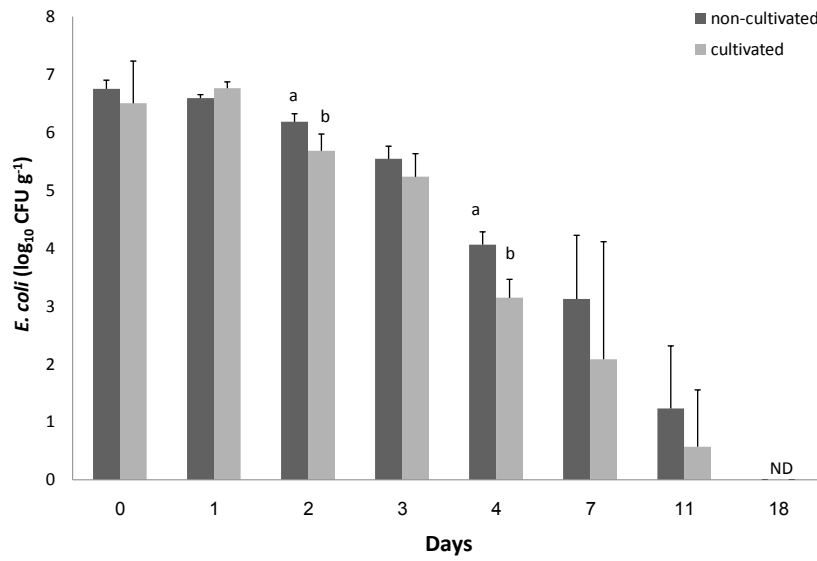


Fig. 3

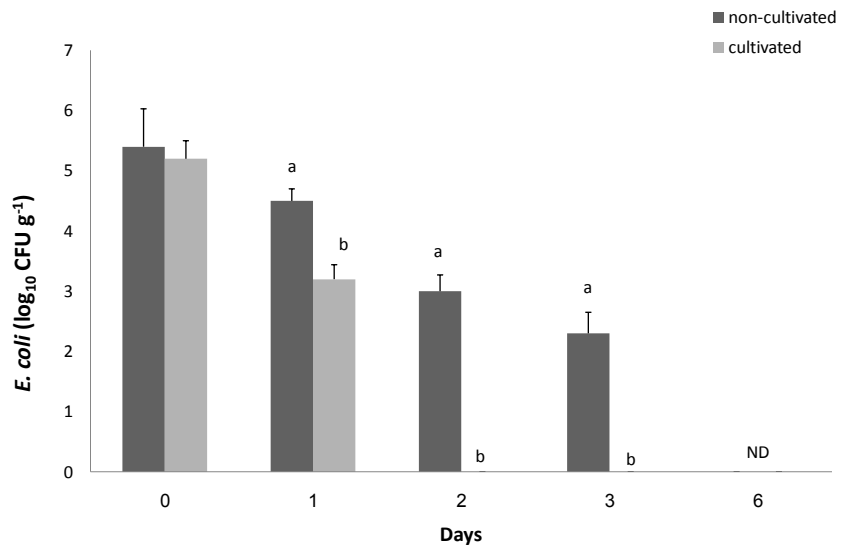


Fig. 4

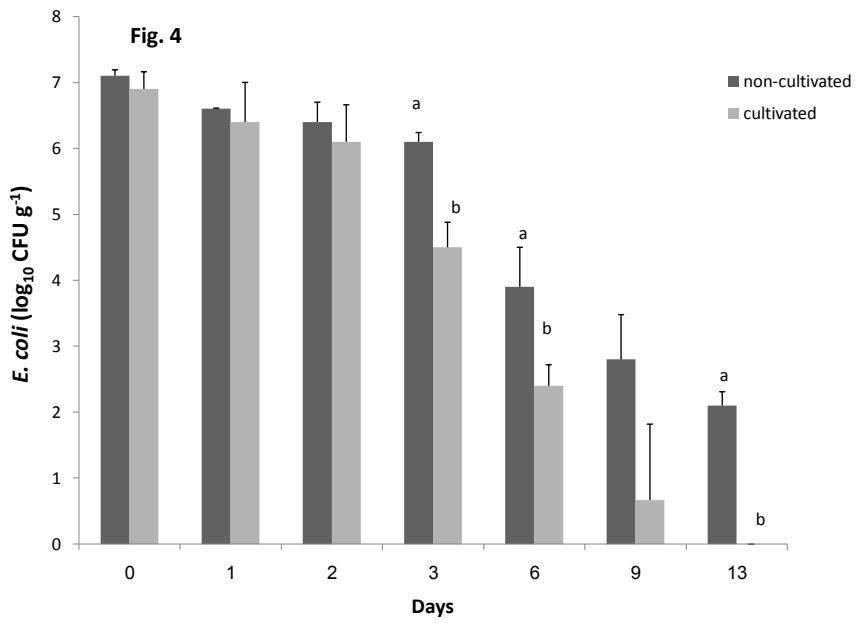


Fig. 5

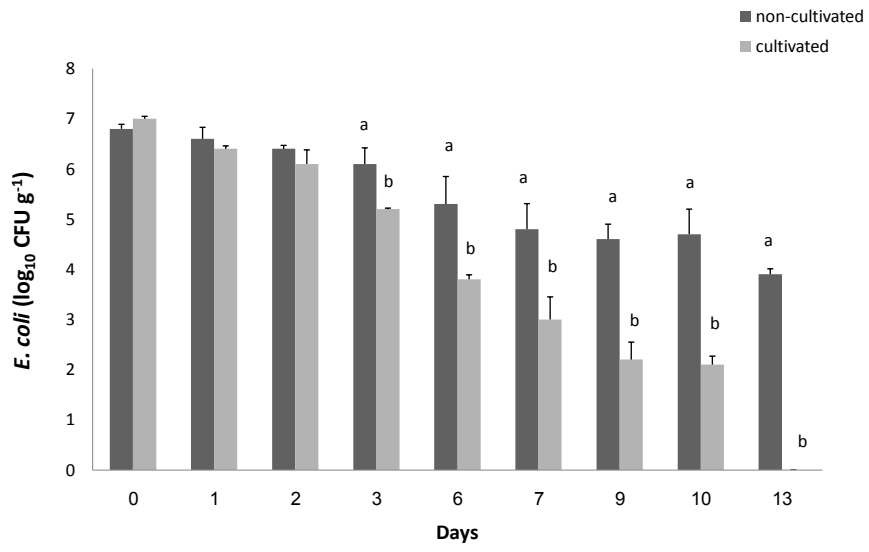


Fig. 6

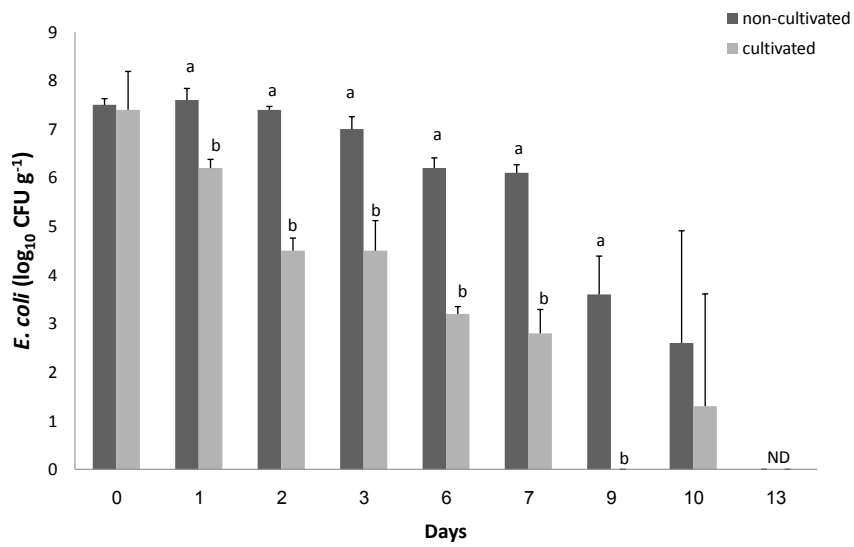


Fig. 7a



Fig. 7b

