نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد چهارم، شماره چهارم، ۱۳۹۵
http://ejrr.gau.ac.ir

اثر استفاده از تفاله چغندرقند و دانه کانولا بر تخمیر میکروبی، جریان مواد مغذی و متابولیسم نیتروژن با استفاده از کشت پیوسته دوجریانه

صادق اسدالهی[۱]*، محسن ساری[۲]، نعیم عرفانی مجد[۳] و عظیم میرزایی[۴]

[۱]دانش‌آموخته دکتری تغذیه دام، [۲]دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، [۳]استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، [۴]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۵/۰۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۱۶

چکیده

سابقه و هدف: کربوهیدرات‌ها منبع اصلی انرژی میکروارگانیسم‌های شکمبه بوده و حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد جیره حیوانات نشخوارکننده را تشکیل می‌دهند. مصرف بیش از اندازه کربوهیدرات‌های نشاسته‌ایی مانند دانه ذرت و جو توسط دام ایجاد اسیدوز حاد یا مزمن در دام می‌نماید. جایگزینی نشاسته با سایر منابع انرژی‌زا مانند الیاف محلول در شوینده خنثی یا چربی ضمن تأمین انرژی مورد نیاز دام مشکلات استفاده از منابع نشاسته‌ایی برای دام را ندارند. با توجه به تأثیر مستقیم تخمیر مواد غذایی به وسیله باکتری‌ها، پایداری زیستی محیط شکمبه و مشکلات ناشی از نمونه‌برداری، زمان بری، هزینه کار با حیوان، شبیه‌سازی الگوی تخمیر مواد غذایی با استفاده از تکنیک‌های نوین آزمایشگاهی که نتایج به‌دست آمده از تحقیق با آن‌ها همبستگی زیادی با نتایج به‌دست آمده بر روی حیوان دارد، گامی است اساسی برای بررسی تأثیر مواد مغذی مختلف بر تخمیر میکروبی شکمبه در کوتاه‌ترین زمان ممکن. به همین منظور آزمایش مذکور با استفاده از کشت پیوسته دو جریانه به بررسی موضوع پرداخته است.

مواد و روش‌ها: هشت فلاسک تخمیر کشت پیوسته دو جریانه (۱۷۵۰ میلی‌لیتر) در قالب طرح فاکتوریل (۲×۲) بر اساس بلوک‌های کامل تصادفی در سه دوره ۱۰ روزه (۷ روز عادت پذیری و ۳ روز نمونه‌گیری) به منظور بررسی اثر منابع کربوهیدرات (نشاسته از منبع دانه جو در مقابل الیاف محلول در شوینده خنثی از منبع

*مسئول مکاتبه: sadg102@yahoo.com

تفاله چغندر) با و بدون دانه کانولا بر قابلیت هضم ظاهری، الگوی اسیدهای چرب فرار، سوخت و ساز نیتروژن و کارآیی تخمیر باکتریایی مورد استفاده قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) ۶۴ درصد دانه جو ۲) ۶۲ درصد دانه جو به همراه ۷ درصد دانه کانولا ۳) ۳۶ درصد تفاله چغندرقند با ۲۸ درصد دانه جو ۴) ۳۶ درصد تفاله چغندرقند و ۲۶ درصد دانه جو به همراه ۷ درصد دانه کانولا. جیره‌ها شامل ۹۰ درصد کنسانتره و ۱۰ درصد علوفه بود.

یافته‌ها: جایگزینی بخشی از دانه جو با تفاله چغندرقند موجب افزایش معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) قابلیت هضم ظاهری NDF، ADF، تجزیه‌پروتئین خام، آمونیاک و میزان تولید باکتری‌ها شد. قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی، NDF، ADF، غلظت نیتروژن آمونیاکی، آمونیاک و میزان تولید باکتری با افزودن دانه کانولا به جیره‌ها کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). اثر متقابل جیره‌های آزمایشی بر قابلیت هضم ظاهری NDF، ADF، تجزیه پروتئین خام، نیتروژن آمونیاکی، آمونیاک و ساخت و ساز باکتریایی موثر نبود ($P>۰/۰۵$). جایگزینی بخشی از نشاسته با الیاف قابل حل در شوینده خنثی افزایش معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) غلظت استات، بوتیرات، نسبت استات به پروپیونات و کاهش غلظت پروپیونات و ایزوبوتیرات را موجب گردید. افزودن دانه کانولا به جیره‌ها تأثیر معنی‌داری بر غلظت اسیدهای چرب فرار نداشت ($P>۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به طورکلی نتایج نشان داد، جایگزینی بخشی از دانه جو با تفاله چغندرقند بهبود قابلیت هضم اجزای الیافی خوراک و افزایش تولید استات و بوتیرات در خروجی مایع تخمیری از کشت پیوسته دو جریانه را به دنبال داشت. قابلیت هضم شکمبه‌ای مواد مغذی، میزان تولید استات، نیتروژن آمونیاکی و میزان تولید پروتئین با افزودن دانه کانولا به منابع کربوهیدراتی کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: کشت پیوسته دو جریانه، تخمیر میکروبی، دانه کانولا، تفاله چغندرقند، متابولیسم نیتروژن

مقدمه

کربوهیدرات‌ها منبع اصلی انرژی میکروارگانیسم‌های شکمبه بوده و ۶۰ تا ۷۰ درصد از جیره حیوانات نشخوارکننده را تشکیل می‌دهند (۳). کربوهیدرات‌ها به دو دسته اصلی، کربوهیدرات‌های ساختمانی و غیرساختمانی تقسیم می‌شوند. کربوهیدرات‌های ساختمانی به طور عمده در دیواره سلولی و کربوهیدرات‌های غیرساختمانی در داخل سلول گیاهی قرار دارند (۲۷). یکی از موادی که در دیواره سلولی گیاهان قرار دارد پکتین است. به لحاظ کاربردی، پکتین‌ها، پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول در آب و در شوینده‌های اسیدی و بازی رقیق تعریف می‌شوند (۱۱). پکتین در مقایسه با نشاسته و قندها لاکتات تولید نکرده یا میزان لاکتات حاصل شده از تخمیر آن بسیار کم است (۲۸)، همچنین نسبت استات به پروپیونات تولید شده با استفاده از پکتین در مقایسه با نشاسته بالاتر می‌باشد (۴). از جمله مواد خوراکی که حاوی مقادیر نسبتاً بالایی از پکتین است و در تغذیه دام‌های نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار می‌گیرد می‌توان به تفاله چغندرقند اشاره نمود که حاوی حدود ۳۵ تا ۴۰ درصد پکتین است (۶). ارزش غذایی تفاله چغندرقند شبیه دانه جو است اما طبیعت انرژی‌زایی حاصل از آن‌ها با هم دیگر متفاوت است. به طوری‌که انرژی این فرآورده بیشتر در قالب الیاف قابل هضم است. در صورتی‌که طبیعت انرژی‌زایی جو غالباً به شکل نشاسته می‌باشد (۶). تفاله چغندرقند حاوی مقدار زیادی الیاف محلول است که موجب پایداری و ثبات محیط شکمبه شده، تولید استات را تحریک نموده و همچنین موجب ایجاد محیط بافری در شکمبه می‌گردد (۶ و ۴). پس به‌طور کلی جایگزینی بخشی از دانه جو با تفاله چغندرقند در جیره غذایی دام‌ها، ضمن کاهش اختلالات تغذیه مانند اسیدوز در جیره‌های با کنسانتره بالا با افزایش کارآیی میکروارگانیسم‌های شکمبه موجب بهبود عملکرد دام‌ها می‌گردند.

از طرف دیگر، افزودن چربی به جیره نشخوارکنندگان به دلیل تأثیر بر میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ای، با تغییر در تولید نسبت اسیدهای چرب فرار و کاهش تولید متان، موجب افزایش کارآیی استفاده از غذا توسط حیوان می‌گردند (۱). همچنین چربی‌ها و روغن‌های گیاهی به‌دلیل افزایش تراکم انرژی جیره غذایی (۲۳)، جذب مواد مغذی محلول در چربی، موجب افزایش عملکرد دام‌ها می‌شوند (۲۵). دانه کانولا حاوی بیش از ۴۰ درصد روغن است که به‌دلیل دسترسی و به‌کارگیری ساده آن و همچنین خوش خوراکی‌اش برای دام از جمله منابع جذاب چربی در جیره غذایی دام‌ها محسوب می‌شود (۱).

از آنجا که شکمبه یک اکوسیستم گسترده و پیچیده است (۱۵). حتی در صورت دسترسی بـه ایـن محیط از طریق جراحی به دلیل رخ دادن همزمان رویه‌های تخمیر، عبور، جذب و ترشح مواد مختلف، مطالعات با حیوان زنده برای بررسی اثرات مواد مغذی در تغذیه دام بر خصوصیات تخمیر شکمبه‌ایی را بسیار دشوار نموده است (۳۱). علاوه بر این افزایش آگاهی‌های عمومی از حقوق حیوانـات، انجـام جراحی‌های مورد استفاده برای مطالعات تغذیه‌ای، کار با حیوانات مزرعه‌ایـی را بسـیار دشـوار نمـوده است (۱۳). بنابراین طی سالیان متمادی تلاش‌های بسیاری برای جدا نمودن بخش اندکی از محتویـات شکمبه و فراهم نمودن شرایط ادامه تخمیر در محیط کنترل شده آزمایشگاهی صـورت پذیرفتـه اسـت (۳۱). یکی از روش‌های آزمایشگاهی که شباهت زیادی با الگوی تخمیر شکمبه‌ایی برای ارزیابی اثرات مواد مغذی بر متابولیسم میکروارگانیسم‌های شکمبه تحـت شـرایط کنتـرل شـده را دارد روش کشـت پیوسته دو جریانه است (۱۳).

لذا هدف از مطالعه حاضر، تعیین تفاوت در الگوی تخمیر، جریان مواد مغذی، متابولیسم نیتروژن منابع کربوهیدراتی و کارآیی باکتری‌های مایع شکمبه با و بدون منبع چربی در جیره‌های با کنسانتره بالا با استفاده از کشت پیوسته دو جریانه بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با استفاده از هشت فلاسک تخمیر کشت پیوسته دو جریانه با حجم ۱۷۵۰ میلی‌لیتر در سه دوره متوالی ۱۰ روزه (۷ روز عادت پذیری و ۳ روز نمونـه‌گیـری) در آزمایشـگاه تغذیـه تکمیلـی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان انجام گرفت. فلاسک‌هـای تخمیـر بـا مـایع شـکمبه جمع‌آوری شده از محتویات شکمبه ۸ راس بره نر کشتار شده نژاد عربـی بـا میـانگین وزن ۲/۵±۲۵/۳ کیلوگرم که به مدت یک ماه با کاه تغذیه شده بودند تلقیح گردیدند. دمای فلاسـک‌هـای تخمیـر ۳۸/۵ درجه سانتی‌گراد و نرخ رقت فاز مایع (۱۰ درصد بر ساعت) و فاز جامد (۵ درصد بـر سـاعت) ثابـت نگه داشته شد. شرایط بی‌هوازی با تزریق مداوم نیتـروژن بـه فلاسـک‌هـای تخمیـر حفـظ شـد. بـزاق مصنوعی به طور مداوم به فلاسک‌های تخمیر تزریق شده و برای شبیه‌سازی بـاز چـرخ نیتـروژن، ۰/۴ گرم بر لیتر اوره به آن افزوده شد (۳۱). فلاسک‌های تخمیر روزانه با ۱۲۰ گرم ماده خشک (هـر وعـده غذایی ۴۰ گرم) در ساعت‌های ۸، ۱۶ و ۲۴ تغذیه می‌شدند. کنترل pH در محـدوده ۰/۰۵± ۶/۴ توسـط pH متر دیجیتـال (Wissenschaftlich-Technische-Werkstätten, model 3116, Weilheim,

Germany) با تزریق اسیدکلریدریک ۳ مولار به فلاسک‌های تخمیر صورت گرفت (۱۳). تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) ۶۴ درصد دانه جو؛۲) ۶۲ درصد دانه جو به همراه ۷ درصد دانه کانولا؛ ۳) ۳۶ درصد تفاله چغندر قند به همراه ۲۸ درصد دانه جو و ۴) ۳۶ تفاله چغندرقند به همراه ۲۲ درصد دانه جو و ۷ درصد دانه کانولا. نسبت علوفه به کنسانتره در همه جیره‌ها ثابت و معادل ۱۰ به ۹۰ بود. جیره‌ها با نرم‌افزار UFFDA و بر اساس جداول نیازمندی‌های غذایی نشخوار کنندگان کوچک برای بره‌هایی به وزن ۲۵ کیلوگرم و رشد روزانه ۳۰۰ گرم در روز متعادل شدند (۲۳) اجزاء جیره و ترکیب شیمیایی آن‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

در طی روزهای نمونه‌برداری (روزهای ۸ تا ۱۰ هر دوره آزمایش) دوره‌های متوالی آزمایش (مراحل یک تا سه)، روزانه خروجی هر کدام از فلاسک‌های تخمیر (فاز جامد و مایع) که با استفاده از دو لوله پلاستیکی به دو ظرف درب بسته (یکی مربوط به فاز مایع و دیگری مربوط به فاز جامد)، قرار گرفته در آب با دمای حداکثر ۴ درجه سانتی‌گراد متصل بودند، جمع‌آوری و پس از مخلوط نمودن خروجی‌های فازهای مایع و جامد با هم دیگر و همگن نمودن آن‌ها، سه نمونه مجزا هر کدام معادل ۵۰۰ میلی‌لیتری برداشته و به یخچال منتقل می‌شدند. لازم به ذکر است که ظروف درب بسته فاز مایع و جامد در داخل آب سرد و با دمای حداکثر ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داشتند و کنترل دمای این ظروف نیز با آب و یخ خرد شده صورت می‌گرفت. از سه نمونه اخذ شده یکی از آن‌ها به منظور اندازه‌گیری قابلیت هضم (ماده خشک، ماده آلی، ADF، NDF، نشاسته و الیاف محلول در شوینده خنثی) با استفاده از آون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد خشک شده و با آسیاب خانگی، آسیاب و مطابق فرمول‌های زیر محاسبه گردیدند.

محاسبه قابلیت هضم ماده خشک

ماده خشک جیره (گرم)÷۱۰۰×(ماده خشک بزاق مصرفی (گرم)- ماده خشک افلونت (گرم)- ماده خشک جیره (گرم)) = قابلیت هضم ظاهری

محاسبه قابلیت هضم ماده‌آلی NDF و ADF

گرم ماده آلی جیره ÷ گرم ماده آلی افلونت-گرم ماده آلی جیره= قابلیت هضم ظاهری ماده آلی

نمونه دوم ابتداء با پارچه کتانی ۴ لایه صاف شده و برای جدا سازی مجدد ذرات جامد از بخش مایع، سانتریفیوژ شد (g×۱۰۰۰ به‌مدت ده دقیقه) و مایع رویی آن با استفاده از پیپت برداشت شد. برای این بخش، تعداد چهار نمونه ۴ میلی‌لیتری از هر نمونه برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر و فراسنجه‌های جریان نیتروژن برداشته شد و هر کدام به نسبت ۱:۱ با اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال (۱۶/۷ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک مرک ۳۷ درصد در یک لیتر آب مقطر) مخلوط گردید (۳). نمونه سوم نیز ابتداء به روش نمونه اول سانتریفیوژ شد و سپس نمونه رویی برداشته شده و مجدداً با سانتریفیوژ یخچال‌دار سانتیریفیوژ شدند (g ×۱۰۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد). پلت‌های باکتریایی بدست آمده از سانتیریفیوژ با محلول نمک دو بار شستشو شد. برای جلوگیری از باقی ماندن نمک طعام بر روی پلت‌های باکتری‌های شستشو شده با نمک طعام، مجدداً، پلت‌های باکتریایی دو مرحله با آب مقطر شستشو داده شدند. سلول‌های باکتریایی لیوفیلیزه شده و تا زمان آنالیزدر دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد یخچال فریز نگهداری شدند. ماده خشک و ماده آلی با استفاده از روش AOAC (۲۰۰۶) تعیین گردید. میزان NDF، ADF جیره‌ها، فلاسک‌های تخمیر و باکتری‌ها با استفاده از روش ون سوست (۱۹۹۱) با کمک آلفا- آمیلاز- پایدار در مقابل حرارت و سدیم سولفات با استفاده از دستگاه فابیرتیک سیستم (Fibertech 1010, kopnhak, Danmark Foss) صورت گرفت. ازت کل خوراک و محتویات فلاسک‌های تخمیر به وسیله دستگاه کجدال و به روش AOAC (۲۰۰۶) صورت پذیرفت. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات باکتریایی (گلیکوژن، نشاسته و الیاف محلول در شوینده خنثی باکتری‌ها) و سنتز باکتریایی از روش هال و همکاران (۱۹۹۷) استفاده شد. بدین صورت که، ابتداء با استفاده از محلولی شامل ۸۰ درصد الکل اتانول و ۲۰ درصد آب مقطر (۸۴۰ میلی‌لیتر الکل اتانول ۹۵ درصد با ۱۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر) کربوهیدرات از پیکره نمونه‌ها (جیره، خروجی فلاسک‌های تخمیر و باکتری‌ها) جدا شد (۱۴). سپس با استفاده از هیدرواکسید پتاسیم نمونه‌های استخراج شده به صورت ژلاتینه درآمدند (۸). سپس مقدار ۰/۵ میلی‌گرم نمونه ژلاتینه به دست آمده با ۰/۲ میلی‌لیتر آلفا-آمیلاز پایدار در مقابل حرارت، مخلوط و به‌مدت ۲۰ دقیقه بر روی شیکر قرار داده شدند. سپس نمونه به‌دست آمده با معرف گلوگز اکسیداز - پراکسیداز به نسبت ۱ به ۱ مخلوط به دستگاه HPLC (شیمیدزم، ژاپن) به میزان یک میلی‌لیتر در دقیقه تزریق و سپس بر اساس منحنی رسوب هر کربوهیدرات، میزان گلیکوژن، نشاسته و الیاف فیبری مشخص گردید (۱۴). برای

شناسایی و اندازه‌گیری کمی قندهـای اصلـــی موجود در نمونه با دستگاه HPLC مراحل زیر بطور خلاصه انجام شد:

۱- آماده‌سازی فاز متحرک: آب دی‌یونیزه، از صافی تحت خلاء با منافـذ ۰/۴۵ میکـــرون عبـــور داده شـد و عمـل هـواگیـری آن به‌مدت ۲۰ دقیقه انجام گرفت. ۲- به یـــک گرم نمونه (نمونـه بـه اضـافه معرف گلوکز اکسیداز- پراکسیداز) ۱۰ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه اضافه شد. بعـد از یکنواخت کردن، ایـن محلول به‌داخل لوله‌های ســـانتریفوژ مـدل هتیچ آلمان ریخته شد و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقـه بـه مدت ۳۰ دقیقـه سـانتریفوژ شـد. محلـول شـفاف فوقـانی از صـــافی با قطر ۰/۴۵ میکرون عبـور داده شد و در ظرف نمونه شیشه‌ای ۵ میلی‌لیتری ریختـه شـد و از آن بـرای تزریـق بـــه دســـتگاه HPLC بهره‌گیری شد (ستون جـداکننده بـــه قطر ۷/۹ میکرون از نوع، SCR-101N مخصوص تجزیه قندها با مکانیزم غربالی یونـــی و محـافظ ستـون SCR(N) به ابعـــاد ۷/۹ در ۴۰ میلی‌متر، سیستم فاز متحرک ایزوکراتیـک، فاز متحرک آب دوبار تقطیر شده، پمـپ HPLC مـــدل، LC-6A سـرعت جریـان فـاز متحرک ۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه، دمای ســـتون جداکننـده ۶۰ درجه سانتی‌گراد، آون مـــدل، CTO-6A شناســـاگر ضریـــب انکسارسنجی RID مخصـوص شناســـایی قنـدها، حساسـیت سیسـتم برابـر ۴، سرعت تزریق ۱ میلی‌متر در دقیقه، پس از فیلـــتر شـدن نمونـــه‌هـای آمـــاده شـــده بـــا صـافی‌هـــای میلی‌پور ۰/۴۵ میکرون، یک میکرولیتر با دو تکرار با سرنگ ۱۰ میکرولیتری بـــه دسـتگاه تزریـق و بـر اساس منحنی رسوب قندها مقدار و نوع قند مشخص شد). همچنـین تعیـین آنـالیز ازت آمونیـاکی بـا روش رنگ سنجی بردریـک و کانـگ (۱۹۸۰) بـا اسـتفاده از دسـتگاه اسـپکتوفتومتری (Biochrom, model Libra, Ltd., Buckinhamshire, UK) انجام گرفت. در ادامه اندازه‌گیری اسـیدهای چـرب فـرار بـا اسـتفاده از روش AOAC (۲۰۰۶) و دسـتگاه کروماـتوگرافی گـازی (Varian 3600 Star; Varian Specialties, Midland, ON, Canada) و سـتون (BP21, SGE, Europe Ltd., Buckinhamshire, UK) با طول ۳۰ متر و سطح مقطع ۰/۲۵ میکرون و انتخـاب ۴- متیـل والریـک اسید به‌عنوان استاندارد داخلی و گاز نیتروژن بعنوان گاز حامل انجام شد. دمای آشکار ساز ۲۷۳ درجه سانتی‌گراد و سرعت تزریق گاز ۲۹/۹ میلی‌لیتر در دقیقه بود. تعیین ساخت و سـاز باکتریـایی از طریـق محاسبه بهره‌وری استفاده از نیتروژن به روش آریزا و همکاران (۲۰۰۱) صورت پذیرفت.

جدول ۱- مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی.

Table 1. Ingredient and chemical composition of the dietary treatment.

جیره‌های آزمایشی dietary treatment				ماده خوراکی (درصد از ماده خشک) Material Feed (% of dry matter)
تفاله چغندرقند Sugar beet pulp		دانه جو Barley grain		
با دانه کانولا With canola seed	بدون دانه کانولا Without canola seed	با دانه کانولا With canola seed	بدون دانه کانولا Without canola seed	
10	10	10	10	خشک یونجه Alfalfa hay
26	28	62	64	جو آسیاب شده Ground barley grain
36	36	0	0	تفاله چغندرقند Beet pulp
7	0	7	0	دانه کانولا Canola seed
0	0	4	4	سبوس گندم Wheat bran
16.2	14.2	10.0	10.0	کنجاله سویا Soybean Meal
3	10	3	10	کنجاله کانولا Canola meal
1.0	1.0	1.2	1.2	پودر سنگ آهک Limestone
0.2	0.2	0.2	0.2	نمک Salt
0.6	0.6	0.6	0.6	مکمل مواد معدنی و ویتامینی** Mineral and vitamin supplements
ترکیب شیمیایی (درصد) Chemical composition %				
94.3	93.7	93.6	92.5	ماده خشک[۱] Dry matter
90.0	89.9	90.2	90.8	ماده آلی[۱] Organic matter
13.8	15.5	30.2	43.8	نشاسته[۱] Starch
18.1	18.2	17.9	18.3	پروتئین خام[۱] Curd protein
32.0	32.0	23.0	24.0	الیاف نامحلول در شوینده خنثی[۱] Natural detergent fiber
16.6	17.1	11.1	11.6	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی[۱] Acid detergent fiber
41.0	46.3	50.5	55.3	کربوهیدرات‌های غیر فیبری[۲] Non-fiber carbohydrates
4.6	2.0	5.1	2.5	چربی[۱] Fat
2.82	2.76	2.97	2.83	انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک) Metabolizable energy (Mcal/kg DM)

**هر کیلوگرم مکمل حاوی ۶۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین D، ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۲۵۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان، ۱۹۵ گرم کلسیم، ۸۰ گرم فسفر، ۲۱۰۰۰ میلی‌گرم منیزیم، ۲۲۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۳۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۲ میلی‌گرم ید و ۱/۱ میلی‌گرم سلنیوم.

**Vitamin-trace mineral pre-mix provides per kg of mixed ration: 600000 IU Vitamin A; 200000 IU Vitamin D3; 200mg Vitamin E; 100mg Co; 300 mg Cu; 300 mg Fe; 2100 mg Mg; 2200 mg Mn; 3000 mg Se; 300 mg Zn.

[۱] از طریق اندازه‌گیری در آزمایشگاه به‌دست آمده است.

Measured in the laboratory

[۲] محاسبه شده به وسیله فرمول NFC= 100-(% CP +% ash +% NDF+% EE)

Measured by the formula NFC=100-(%CP+%ash+%NDF+%EE)

تجزیه آماری داده‌ها

نتایج در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۲ با دو عامل کربوهیدرات (جو یا تفاله چغندرقند) و عامل دانه کانولا (با و بدون دانه کانولا) با شش تکرار برای هر عامل و به‌کارگیری نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۲، ۲۰۰۵) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در مدل از دوره به عنوان اثر بلوک و از فلاسک‌های تخمیر به‌عنوان واحد آزمایشی استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش توکی در سطح احتمال ۹۵ درصد صورت گرفت. معادله مدل خطی متغیرها وابسته تیمارها به‌شرح ذیل است؛

$$Y_{ijk}=\mu+b_i+c_j+f_k+(c\times f)_{j\times k}+e_{ijk}$$

که در مدل بالا: y_{ijk}= متغیر وابسته؛ μ= میانگین کل؛ b_i= اثر دوره؛ c_j= اثر منبع کربوهیدرات (دانه جو یا تفاله چغندرقند)، اثر افزودن منبع چربی (با دانه کانولا و بدون دانه کانولا) به تیمارها و α_{ij}= خطای باقیمانده است.

نتایج و بحث

اثر جایگزینی بخشی از دانه جو با تفاله چغندرقند و افزودن دانه کانولا بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در جدول ۲ آورده شده است. تیمارهای حاوی دانه جو در مقایسه با تیمارهای حاوی تفاله چغندرقند در دوره آزمایش اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، نشاسته و الیاف محلول در شوینده خنثی باکتری‌ها نداشت ($P>۰/۰۵$).

تیمارهای حاوی تفاله چغندرقند در مقایسه با تیمارهای حاوی دانه جو به طور معنی‌داری قابلیت هضم NDF و ADF را افزایش داد ($P<۰/۰۵$). افزودن چربی به منابع کربوهیدراتی جیره، کاهش معنی‌دار قابلیت هضم NDF و ADF را به دنبال داشت ($P<۰/۰۵$). اثر متقابل منابع کربوهیداتی با دانه کانولا بر قابلیت هضم NDF و ADF معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$).

آریزا و همکاران (۲۰۰۱) اثر منابع کربوهیدراتی نشاسته و غیر نشاسته‌ایی را بر سوخت و ساز میکروبی شکمبه در سیستم کشت پیوسته دو جریانه مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که جایگزینی کربوهیدرات نشاسته‌ایی با کربوهیدرات‌های غیر نشاسته‌ایی بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، نشاسته و NDSF باکتری‌ها (الیاف محلول در شوینده خنثی باکتری‌ها) تأثیرگذار نیست که

در توافق با یافته‌های آزمایش حاضر می‌باشد. در مطالعه دیگری توسط گنکگلو و همکاران (۲۰۱۰) قابلیت هضم مواد مغذی جیره با جایگزینی ۶/۷ درصد پوست سویا با نشاسته از منبع دانه ذرت مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و الیاف محلول در شوینده خنثی باکتری‌ها تحت تأثیر این جایگزینی قرار نگرفت که در توافق با یافته‌های آزمایش حاضر است. از آنجا که NDF و ADF تفاله چغندرقند بسیار سریع‌تر و بیشتر از NDF و ADF منابع علوفه‌ایی مورد هضم قرار می‌گیرند (۵) و همچنین، تخمیر بالای تفاله چغندرقند به علت پکتین زیاد موجود در ترکیب آن (زیرا پکتین از کاهش pH مایع شکمبه به زیر سطح اپتیمم یعنی ۵/۵ جلوگیری می‌کند)، برخلاف دانه جو (نشاسته بیش از ۷۰ درصد ترکیب دانه جو را تشکیل می‌دهد) با جلوگیری از کاهش pH مایع شکمبه به زیر سطح اپتیمم، مانع از کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌های هضم کننده سلولتیک و پکتینولتیک در مایع شکمبه می‌گردد. بنابراین جایگزینی تفاله چغندرقند به جای دانه جو در جیره‌هایی که سطح علوفه در آنها پایین است، می‌تواند موجب افزایش قابلیت هضم ظاهری NDF وADF مواد مغذی مورد استفاده در تغذیه دام گردد (۲۰). سازوکار فوق تائید کننده یافته‌های آزمایش حاضر است که در آن قابلیت هضم NDF و ADF در جیره‌های حاوی تفاله چغندرقند در مقایسه با جیره‌های حاوی دانه جو بیشتر است.

در آزمایش حاضر، قابلیت هضم مواد مغذی با افزودن چربی به جیره‌ها کاهش یافت. اضافه نمودن منبع چربی به جیره به خصوص زمانی که منبع چربی حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع بالایی باشند به علت اثرات سمی چربی روی میکروارگانیسم‌های فیبرولیتیک موجب کاهش جمعیت آنها در شکمبه می‌گردد و به همین خاطر ممکن است قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های حاوی منبع چربی کاهش یابد (۱۵و ۱۷). سازوکار بالا از جمله عامل مؤثر در کاهش قابلیت هضم ماده مغذی در جیره‌های حاوی منبع چربی در مقایسه با جیره‌های بدون منبع چربی در مطالعه کنونی است.

در توافق با نتایج آزمایش حاضر، پنتوجا و همکاران (۲۰۱۰) اثر چربی اشباع به همراه پوسته سویا را بر گوارش‌پذیری گاوهای شیری مطالعه کردند. نتایج نشان داد که استفاده از چربی به همراه پوسته سویا موجب کاهش قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی، مواد آلی و NDF می‌گردد.

جدول ۲- اثر جیره‌های آزمایشی بر قابلیت هضم مواد مغذی در کشت پیوسته دو جریانه.

Table 2. Effect experimental diet on digestibility of nutrients in continuous culture system.

مقایسات p-value			جیره‌های آزمایشی Experimental diets				ماده مغذی Nutrients
			تفاله چغندرقند Sugar beet pulp		دانه جو Barley grain		
RCS×NDSC	RCS	NDSC	میانگین خطای معیار MSE	با دانه کانولا with canola seed	بدون دانه کانولا Without canola seed	با دانه کانولا with canolaxseed	بدون دانه کانولا Without canola seed	
0.611	0.031	0.1501	2.21	53.76^{b}	59.44^{a}	49.32^{b}	56.01^{a}	ماده خشک Dry mater
0.440	0.011	0.3412	2.92	50.11^{b}	56.91^{a}	45.41^{b}	52.13^{a}	ماده آلی Organic mater
0.823	0.013	0.001	3.10	44.92^{b}	52.55^{a}	38.13^{c}	44.95^{b}	الیاف نامحلول در شوینده خنثی neutral detergent fiber
0.670	0.005	0.001	3.83	40.22^{b}	48.64^{a}	31.33^{c}	39.59^{b}	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber
0.232	0.451	0.770	2.12	85.30	89.12	86.40	91.32	نشاسته Starch
0.273	0.322	0.651	2.34	51.21	52.33	48.83	50.52	الیاف محلوی در شوینده خنثی باکتری‌ها Bacteria neutral detergent soluble fiber

۱مقایسات؛ NDSC، مقایسه جیره‌های حاوی دانه جو با جیره‌ای حاوی تفاله چغندرقند؛ RCS، مقایسه جیره‌های حاوی دانه کانولای با جیره‌های بدون دانه کانولای؛ اثر متقابل RCS×NDSC

[1]Comparison; NDSC= Comparing the diets containing barley grain with the diets containing sugar beet pulp; RCS= Comparing the diets containing canola seed with diets without canola seed; Interaction RCS×NDSC.

[a-c]میانگین‌های با حروف متفاوت در یک ردیف دارای اختلاف معنی دارند (P<0.05)

[a-c]Means within same row with different letters differ significantly (P<0.05)

اثر جایگزینی دانه جو با تفاله چغندرقند و افزودن دانه کانولا بر الگـوی اسـیدهای چـرب فـرار در جدول ۳ آورده شده است. جایگزینی بخشی از دانه جو با تفاله چغندرقنـد موجـب افـزایش معنـی‌دار غلظت مولی کل اسیدهای چرب فرار، نسبت مولی استات، بوتیرات و نسبت استات به پروپیونات شـد (P<۰/۰۵). نسبت مولی پروپیونات در تیمارهای حاوی دانه جو در مقایسه با تفاله چغندرقنـد افـزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). افزودن دانه کانولا به جیره‌ها مولار فردی و مجمـوع اسـیدهای چـرب فرار را تحت تأثیر قرار نداد. روند مشابهی در بررسی اثر متقابل منـابع کربوهیـدرات بـا دانـه کـانولای مشاهده شد (P>۰/۰۵). غلظت ایزوبوتیرات در نتیجه جایگزین نمودن تفاله چغندرقند بـا دانـه جـو و افزودن دانه کانولا به جیره‌ها تحت تأثیر قرار نگرفت (P >۰/۰۵).

در رژیم‌های غذایی برپایه علوفه نسبت تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه به‌طور معمـول بـرای استات، پروپیونات، و بوتیرات به ترتیب ۷۰:۲۰:۱۰ درصد گزارش شده است (۳). در صورتی‌که، میزان اسیدهای چرب فرار تولید شده در حیوانات تغذیه شده با رژیم‌های غذایی دارای کنسـانتره بـالا بـرای استات، پروپیونات و بوتیرات به ترتیب ۵۰:۴۰:۱۰ درصد گزارش شده است (۲۲). مقادیر به‌دست آمده برای اسیدهای چرب در آزمایش حاضر با اندکی تفاوت در دامنه گزارش میـالون و همکـاران (۲۰۱۵) قرارداشت. این تفاوت ممکن است به روش آزمایش، کیفیت غذای مصـرفی و ابـزار آزمـایش مربـوط باشد.

در توافق با یافته‌های آزمایش حاضر، مارونک و همکاران (۱۹۸۵) با مقایسه تخمیر تفالـه مرکبـات با نشاسته نشان داد که در تیمارهای حاوی تفاله مرکبات نسبت استات بیشتر از پروپیونات است. آن‌هـا همچنین گزارش نمودند که غلظت کل اسیدهای فرار در جیره‌های حـاوی تفالـه بـالاتر اسـت کـه در توافق با یافته‌های آزمایش حاضر می‌باشـد. همچنـین آریـزا و همکـاران (۲۰۰۱) بـا جـایگزینی تفالـه مرکبات با ذرت پخته شده، غلظت کل اسیدهای چرب، غلظت استات، بـوتیرات و نسـبت اسـتات بـه پروپیونات بالاتر را برای جیره‌های حاوی تفاله در مقایسه با جیره‌های حاوی ذرت گزارش نمودند کـه در توافق با نتایج تحقیق حاضر است.

اگرچه در مطالعه حاضر افزودن منبع چربی به منابع کربوهیدرات در مقایسـه بـا جیـره‌هـای بـدون منبع چربی تفاوت معنی‌داری در غلظت مولی اسیدهای چرب فرار مـایع شـکمبه ایجـاد ننمـود امـا از لحاظ عددی جیره‌های حاوی منبع چربـی از نسـبت مـولی اسـتات، بـوتیرات و ایزوبـوتیرات کمتـر و غلظت پرپیونات بیشتری برخودار بودند. کوکو و همکاران (۲۰۰۴) گـزارش کردنـد، هنگـام تغذیـه بـا

مکمل چربی نسبت مولار استات شکمبه کاهش و پروپیونات افزایش یافته و نسبت استات به پروپیونات کاهش یافته است. مشابه چنین نتایجی به وسیله سایر محققین گزارش شده است (۲۱ و ۳۳). واچیرا و همکاران (۲۰۰۰) در بررسی جیره‌های حاوی منابع مختلف چربی به میزان شش درصد ماده خشک جیره در گوسفند به این نتیجه رسیدند که روغن ماهی سبب افزایش غلظت مولی پروپیونات و کاهش غلظت مولی استات، بوتیرات و نسبت استات به پروپیونات شد.

ماپاتو و همکاران (۲۰۱۰) با استفاده از روغن آفتابگردان به میزان ۶ درصد در جیره گاوهای شیری نشان دادند که نسبت مولی استات شکمبه کاهش و مولی پروپیونات افزایش یافته است، آنان سازوکار این امر را به فراهمی ماده پیش‌ساز پروپیونات ناشی از تجزیه چربی و اثر منفی چربی بر فعالیت باکتری‌های سلولولایتیک تجزیه کننده الیاف که موجب افزایش استات در محیط شکمبه مربوط دانسته‌اند. همچنین کوکو و همکاران (۲۰۰۴) افزایش غلظت پروپیونات با مصرف مکمل‌های چربی را به کاهش تولید متان و تبدیل تری‌گلیسریدها و گلیسرول به پروپیونات نسبت داده‌اند. سازوکارهای مذبور احتمالاً از جمله عوامل مؤثر بر افزایش غیر معنی‌داری سهم پروپیونات در جیره‌های حاوی منبع چربی در مقایسه با جیره‌های بدون منبع چربی در آزمایش حاضر عنوان نمود.

اثر جیره‌های آزمایشی بر متابولیسم نیتروژن توسط میکروب‌های شکمبه در فلاسک‌های کشت پیوسته دوجریانه در جدول ۴ ارایه شده است. غلظت نیتروژن آمونیاکی، درصد تجزیه پروتئین خام و جریان غلظت آمونیاک برای جیره‌های حاوی دانه جو در مقایسه با جیره‌های حاوی تفاله چغندرقند به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). افزودن منبع چربی به جیره‌ها موجب کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی، تجزیه پروتئین خام و جریان غلظت آمونیاک گردید ($P<۰/۰۵$). این کاهش تراکم مواد ذکر شده در جیره‌های حاوی دانه جو بیشتر از جیره‌های حاوی تفاله چغندرقند بود. سایر فراسنجه‌های مورد مطالعه در بررسی سوخت و ساز نیتروژن در مطالعه حاضر تحت تأثیرجیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ($P<۰/۰۵$). غلظت آمونیاک و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه، نتیجه‌ای‌مرکب از تولید، جذب و مصرف آمونیاک توسط میکروارگانیسم‌ها شکمبه است (۳۲). آلمان کومار پترا (۲۰۱۴) گزارش کردند که غلظت آمونیاک و نیتروژن آمونیاکی در مواد تخمیری بستگی به میزان تخریب پروتئین خام و جذب نیتروژن توسط باکتری شکمبه دارد. همچنین کاستلو و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه‌ای برآورد کننده‌ای قوی از بازده تبدیل نیتروژن جیره به نیتروژن باکتریایی است که غلظت آن در شکمبه به میزان تجزیه پروتئین خام، حلالیت نیتروژن غیر پروتئینی و استفاده از

نیتروژن توسط باکتری‌های شکمبه وابسته است. در مطالعه حاضر هماهنگ با گزارشات مذکور (۱،۹،۳۲) با تجزیه بیشتر پروتئین‌خام (جدول ۴) در جیره‌های حاوی دانه جو مقدار نیتروژن آمونیاکی و جریان آمونیاک مایع خروجی فلاسک‌های تخمیر افزایش یافته است. در توافق با نتایج آزمایش حاضر، آریزا و همکاران (۲۰۰۱) با مقایسه جیره‌های حاوی نشاسته با تفاله مرکبات در یک سیستم کشت پیوسته دو جریانه نشان دادند که غلظت نیتروژن آمونیاکی در جیره‌های حاوی نشاسته بیشتر از جیره‌های حاوی تفاله مرکبات بود. در آزمایشی دیگر هنگامی که تفاله چغندر به میزان ۲۰ درصد ماده خشک جیره، جایگزین دانه ذرت در جیره گاوهای شیرده گردید، متوسط غلظت روزانه آمونیاک در جیره‌های حاوی تفاله کاهش یافت (۲۴). همچنین در آزمایشی توسط مندبو و گالبریت (۱۹۹۹) تأثیر جایگزینی جیره‌های حاوی نسبت‌های مختلف تفاله چغندرقند با دانه جو بر غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌های پرواری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش تفاله چغندرقند به جای دانه جو، غلظت نیتروژن آمونیاکی تولیدی کاهش می‌یابد. این محققین کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی با افزایش تفاله چغندر را به دلیل رهش آهسته‌تر آمونیاک از جیره و یا به دلیل مصرف سریع‌تر آمونیاک توسط میکروارگانیسم‌ها در حضور یک منبع سریع التخمیر کربوهیدراتی نسبت دادند. آریزا و همکاران (۲۰۰۱) تجزیه بالاتر پروتئین خام ذرت و کربوهیدرات کمتر تفاله مرکبات را به عنوان سازوکاری برای تفاوت در میزان تولید نیتروژن آمونیاکی و آمونیاک مایع تخمیری بیان نموده‌اند. به نظر می‌رسد سازوکار فوق در توافق با یافته‌های آزمایش حاضر باشند که در آن جیره‌های حاوی دانه جو به‌دلیل تجزیه سریع‌تر پروتئین خام دانه جو و همچنین رهش آرام‌تر آمونیاک در جیره‌های حاوی تفاله چغندرقند دلایلی باشند بر تفاوت حادث شده در تولید نیتروژن آمونیاکی و آمونیاک در جیره‌های تحت آزمایش است. سازوکار مورد توجه در ارتباط با اثر انواع منابع روغنی بر کاهش میزان نیتروژن آمونیاکی شکمبه می‌تواند به واسطه تأثیر مکمل‌های چربی بر ایجاد تغییرات جمعیت میکروبی شکمبه از جمله کاهش پرتوزوآ، کاهش جمعیت باکتریایی‌های پروتئولتیک و یاتأثیرات منابع روغنی بر کارآیی متابولیکی میگروارگانیسم‌های شکمبه عنوان نمود (۳۳).

جدول ۳- اثر جیره‌های آزمایشی بر الگوی اسیدهای چرب فرار در کشت پیوسته دو جریانه.

Table 3. Effect experimental diet on voluntary fatty acids profile in continuous culture system.

مقایسات[1] p-value			میانگین خطای معیار MSE	جیره‌های آزمایشی Experimental diets				Voluntary fatty acids
				تفاله چغندرقند Sugar beet pulp		دانه جو Barley grain		
RCS×NDSC	RCS	NDSC		با دانه کانولا canola seed with	بدون دانه کانولا Without canola seed	با دانه کانولا canola seed with	بدون دانه کانولا Without canola seed	
0.374	0.132	0.033	3.41	103.43[a]	109.12[a]	94.43[b]	96.61[b]	مجموع اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول) Total volatile fatty acids (Mm)
				درصد از غلظت کل اسیدهای چرب فرار Percent of the total concentration of volatile fatty acids				
0.232	0.110	0.031	1.52	61.54[a]	63.51[a]	56.21[b]	58.01[a]	استات Acetate
0.652	0.531	0.024	1.21	19.74[b]	18.52[b]	28.33[a]	26.32[a]	پروپیونات Propionate
0.716	0.641	0.042	0.44	15.53[a]	14.52[a]	11.51[b]	12.22[b]	بوتیرات Butyrate
0.544	0.232	0.361	0.17	3.32	3.51	4.00	3.50	ایزو بوتیرات Isobutyrate
0.587	0.442	0.012	0.25	3.11[a]	3.43[a]	1.98[b]	2.20[b]	استات: پروپیونات Acetate:propionat

۱مقایسات؛ NDSC، مقایسه جیره‌های حاوی دانه جو با جیره‌ای حاوی تفاله چغندرقند؛ RCS، مقایسه جیره‌های حاوی دانه کانولای با جیره‌های بدون دانه کانولای؛ اثر متقابل RCS×NDSC

[1]Comparison; NDSC= Comparing the diets containing barley grain with the diets containing sugar beet pulp; RCS= Comparing the diets containing canola seed with diets without canola seed; Interaction RCS×NDSC

[a-c]میانگین‌های با حروف متفاوت در یک ردیف دارای اختلاف معنی‌دارند (P<0.05)

[a-c]Means within same row with different letters differ significantly (P<0.05)

اثر جیره‌های آزمایشی بر ترکیب و تولید میزان باکتریایی در کشت پیوسته دوجریانه در تیمارهای آزمایشی در جدول ۵ ارایه شده است. گلیکوژن باکتری‌ها و الیاف محلول در شوینده خنثی در باکتری‌ها که به صورت درصدی از ماده خشک باکتریایی بیان شده است، بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵). جایگزینی دانه جو با تفاله چغندرقند موجب افزایش مقدار تولید باکتریای گردید (P<۰/۰۵). افزودن چربی به جیره‌ها موجب کاهش معنی‌دار در تولید میزان باکتری‌ها شد (P<۰/۰۵). عوامل مختلفی از قبیل عرضه بیشتر کربوهیدرات در دسترس برای باکتری‌های شکمبه، طول دوره غذادهی و میزان تولید و جذب موثر نیتروژن آمونیاکی تا زمانی که pH مایع شکمبه در دامنه ایده‌آل باشد بر ساخت باکتری‌ها موثر هستند (۴ و ۲۸). همچنین ساتر و اسلیتر (۱۹۷۴) حداقل غلظت نیتروژن آمونیاکی برای تولید حداکثر باکتری‌ها را ۵ میلی‌گرم/ دسی‌لیتر مایع شکمبه بیان نمودند. در مطالعه حاضر، تیمارهای حاوی تفاله چغندرقند از تولید میزان باکتریایی بیشتر برخوردار بودند که علت آن را شاید بتوان به دسترس بودن مقدار کربوهیدرات در زمان طولانی‌تر نسبت داد (اگرچه در مطالعه حاضر تغییرات نیتروژن آمونیاکی در زمان‌های مختلف محاسبه نگردیده است که بتوان با قاطعیت در این مورد بحث نمود). این مشاهدات با نتایج بن گدالیا و همکاران است (۱۹۸۹) سازگار است، که نشان دادند که تفاله خشک مرکبات در قیاس با نشاسته، میزان باکتریایی بیشتری تولید نموده و باکتری‌ها از کارائی مطلوب‌تری برخوردار بوند. آنها دلیل این امر را آزاد سازی ملایم‌تر و در زمان طولانی‌تر کربوهیدرات‌های مربوط به تفاله خشک مرکبات را به عنوان دلیلی برای تولید بیشتر و کارآیی بالاتر باکتری‌ها خروجی فلاسک‌های تخمیر دانسته‌اند. سازکار فوق در توافق یا یافته‌های آزمایش حاضر است که جیره‌های حاوی تفاله از تولید پلت باکتریایی بیشتری برخوردار بودند.

جدول ٤- اثر جیره‌های آزمایشی بر متابولیسم نیتروژن توسط میکروب‌های شکمبه در فرمنتر کشت پیوسته دوجریانه.

Table 4. Effect experimental diet on N metabolism by rumen bacteria in continuous culture system.

مقایسات[1] *P*-value			میانگین خطای معیار	جیره‌های آزمایشی Experimental diets				بخش
				تفاله چغندرقند (Sugar beet pulp)		دانه جو (Barley grain)		
RCS*NDSC	RCS	NDSC	MSE	با دانه کانولا With canola seed	بدون دانه کانولا Without canola seed	با دانه کانولا With canola seed	بدون دانه کانولا Without canola seed	
0.314	0.033	0.041	1.14	11.61[a]	11.70[b]	12.82[b]	14.43[a]	نیتروژن‌آمونیاکی (میلی‌گرم/ دسی لیتر) NH3N(mg/dL)
0.510	0.431	0.033	0.97	53.28[b]	55.57[b]	60.17[a]	62.22[a]	تجزیه پروتئین خام (درصد) Crude protein degradation%
				جریان نیتروژن (گرم در روز) Nitrogen flow (g per day)				
0.222	0.131	0.443	0.10	3.07	3.30	3.04	3.14	کل نیتروژن total Nitrogen
0.109	0.031	0.043	0.03	0.48[b]	0.53[a]	0.58[a]	0.62[a]	آمونیاک Ammonia
0.232	0.091	0.233	0.30	1.49	1.60	1.38	1.41	نیتروژن باکتریایی Bacterial nitrogen
0.342	0.404	0.421	0.13	1.10	1.17	1.08	1.11	نتیروژن غیر آمونیاکی Non-ammonia nitrogen

[1]مقایسات؛ NDSC، مقایسه جیره‌های حاوی دانه جو با جیرههای حاوی تفاله چغندرقند؛ RCS، مقایسه جیره‌های حاوی دانه کانولای با جیره‌های بدون دانه کانولای؛ اثر متقابل RCS×NDSC.

[1]Comparison; NDSC= Comparing the diets containing barley grain with the diets containing sugar beet pulp; RCS= Comparing the diets containing canola seed with diets without canola seed; Interaction RCS×NDSC

a-c میانگین‌های با حروف متفاوت در یک ردیف دارای اختلاف معنی دارند (P<0.05)

[a-c]Means within same row with different letters differ significantly (P<0.05)

جدول ۵- اثر جیره‌های آزمایشی بر ترکیب و میزان تولید باکتریای در کشت پیوسته دوجریانه.

Table 5. Effect experimental diet on chemical composition and the production of bacteria in continuous culture system.

بخش (درصد از ماده خشک) Section (% of dry matter)	جیره‌های آزمایشی Experimental diets				میانگین خطای معیار MSE	مقایسات[1] P-value		
	دانه جو barley grain		تفاله چغندرقند Sugar beet pulp					
	بدون‌دانه کانولا Without canola seed	با دانه کانولا Without canola seed	بدون‌دانه کانولا Without canola seed	با دانه کانولا Without canola seed		NDSC	RCS	RCS*NDSC
گلیکوژن باکتری‌ها Bacterial glycogen	8.41	8.34	8.60	8.11	0.67	0.391	0.292	0.311
الیاف محلول در شوینده خنثی باکتری‌ها Bacterial neutral detergent soluble fiber	7.32	7.14	7.58	7.38	0.11	0.77	0.67	0.248
تولید باکتری Bacterial synthesis	27.72[b]	26.22[b]	33.61[a]	30.31[a]	0.89	0.033	0.021	0.168

[1]مقایسات؛ NDSC، مقایسه جیره‌های حاوی دانه جو با جیره‌های حاوی تفاله چغندرقند؛ RCS، مقایسه جیره‌های حاوی دانه کانولای با جیره‌های بدون دانه کانولای؛ اثر متقابل RCS×NDSC

[1]Comparison; NDSC= Comparing the diets containing barley grain with the diets containing sugar beet pulp; RCS= Comparing the diets containing canola seed with diets without canola seed; Interaction RCS×NDSC

a-c میانگین‌های با حروف متفاوت در یک ردیف دارای اختلاف معنی‌دارند (P<0.05)

[a-c]Means within same row with different letters differ significantly (P<0.05)

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد جایگزینی بخشی از دانه جو با تفاله چغندرقند می‌تواند بهبود قابلیت هضم اجزای الیافی خوراک و افزایش غلظت مولی استات و بوتیرات و افزایش تولید یاکتریی در مایع شکمبه را به دنبال داشته باشد. افزودن دانه کانولا به منابع کربوهیدرات موجب کاهش قابلیت هضم ظاهری اجزاء الیافی خوراک، غلظت مولی استات و بوتیرات و همچنین کاهش تولید میزان باکتریی در مایع شکمبه شد. در کل می‌توان این‌گونه نتیجه گیری کرد که جایگزینی بخشی از دانه جو با تفاله چغندرقند به علت بهبود در قابلیت هضم الیاف خوراکی جیره و افزایش تولید باکتریایی می‌تواند عملکرد استفاده از غذا توسط حیوان را بهبود بخشد. اما استفاده از دانه کانولا همراه منابع چربی در سطح استفاده شده در مطالعه حاضر چندان مطلوب به‌نظر نمی‌رسد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از همکاری بیدریغ معاونت محترم غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی لرستان و همکاران آزمایشگاه مذبور به‌خاطر در اختیار گذاشتن برخی از امکانات آزمایشگاهی موردنیاز، کمک در آماده‌سازی نمونه‌ها، راهنمایی مفید برای مراحل تهیه و آنالیز نمونه‌ها به‌خصوص جداسازی قندها از پیکره نمونه‌ها بی‌نهایت سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

1. Amlan Kumar Patra. 2014. A meta-analysis of the effect of dietary fat on enteric methane production, digestibility and rumen fermentation in sheep, and a comparison of these responses between cattle and sheep.J. Livestock Sci. 162: 97-103.
2. AOAC. 2006. Official Methods of Analysis, 19th ed. Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersurg, MD, USA.
3. Ariza, P., Bach, M.D., Stern, M.D., and Hall, M.D. 2001. Effects of carbohydrates from citrus pulp and hominy feed on microbial fermentation in continuous culture. J. Anim. Sci. 79: 2713–2718.
4. Ben-Ghedalia, D., Yosef, E., Miron, J., and Sty, L. 1989. The effects of starch and pectin rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. J. Anim. Feed. Sci. Technol. 24: 289-298.
5. Bhatti, S.A., and Firkins, J.L. 1995. Kinetics of hydration and functional specific gravity of fibrous feed products. J. Anim. Sci. 73: 1449–1458.

6. Bodas, R., Giraldez, F.G., Lopez, S.A., Rodriguez, A., and Mantecon, A.R. 2007. Inclusion of sugar beet pulp in cereal asked diets for fattening lams. Small Ruminant Research. 71: 250-254.
7. Broderick, G.A., and Kang, J.H. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. J. Dairy Sci. 63(1): 64-75.
8. Englyst, H.N., Wiggins, H.S., and Cummings, J.H. 1982. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas liquid chromatography of constituent sugars as auditor acetates. Analyst. 107: 307–318.
9. Castillo, A.R., Kebreab, E., Beever, D.E., Barbi, J.H., Sutton, J.D., Kirby, H.C. and France, J. 2001. The effect of protein supplementation on nitrogen utilization in lactating dairy cows fed grass silage diets. J. Anim. Sci. 79: 247-253.
10. Gencoglu, H., Shaver, R.D., Steinberg, W., Ensink, J., Ferraretto, L.F., Bertics, S.J., Lopes, J.C., and Akins, M.S. 2010. Effect of feeding a reduced-starch diet with or without amylase addition on lactation performance in dairy cows. J. Dairy Sci. 93: 723-732.
11. Hall, M.B. 1998. Making nutritional sense of non-NDF carbohydrates. Pages A1-A15 in Proc. 9th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, University of Florida, Gainesville, FL.
12. Hall, M.B., Hoover, W.H., Jennings, J.P., and Miller Webster, T.K. 1997. A method for partitioning neutral detergent-soluble carbohydrates. J. Sci. Food Agriculture. 79: 2079–2086.
13. Hoover, W.H., Knowlton, P.H., Stern, M.D., and Sniffen, C.J. 1976. Effects of differential solid--liquid removal rates on fermentation parameters in continuous cultures of rumen contents. J. Anim. Sci. 43: 535-54.
14. Holm, J., Bjorck, I., Drews, A., and Asp, N.G. 1986. A rapid method for the analysis of starch. Starch/Starke. 7: 224–226.
15. Katlyn, N., Barr, S.N., and Frikins, L. 2010. Observing the action of phagocytosis in rumen protozoa through utilization of fluorescent latex beads.J. Livestock Sci. 142: 204–214.
16. Kucuk, O., Hess, W., and Rule, D.C. 2004. Soybean oil supplementation of a high- fiber, or nitrogen digestion, but influences oath ruminal metabolism and intestinal flow of fatty acids in limit-fed lambs. J. Anim. Sci. 82: 2985–2994.
17. Lourenco, M., Ramos-Morales, E., and Wallace, R.J. 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and bio hydrogenation and their manipulation. The Anim Consortium. 4(7): 1008-1023.
18. Pantoja, J., Firkins, J.L., Eastridge, M.L., and Hull, B.L. 2010. Effects of fat saturation and source of fiber on site of nutrient digestion and milk production by lactating Dairy cows. J. Dairy Sci. 77: 2341-2356.

19. Mandebu, P., and Galraith, H. 1999. Effect of sodium bicarbonate supplementation and variation in the proportion of barley and sugar beet pulp on growth performance and rumen, blood and carcass characteristics of young entire male lambs. J. Anim. Feed. Sci. Technol. 82: 37–49.
20. Marounek, M., Bartos, S., and Brezina, P. 1985. Factors influencing the production of volatile fatty acids from hemicellulose, pectin and starch by mixed culture of rumen microorganisms. Tierphysiol. Tierernaehr. Futtermittelkd. 53: 50–58.
21. Mapato, C., Wanapat, M., and Cherdthong, A. 2010. Effect of urea treatment of straw and dietary level of vegetable oil on lactating dairy cows. Trop Anim and Health Prod. 42: 1635-1642.
22. Mialon, M.M., Renand, G., Ortigues-Marty, I., Bauchart, D., J.F. Hocquette, J.F., Mounier, L., T. Noël, T., Micol, D., and Doreau, M. 2015. Fattening performance, metabolic indicators, and muscle composition of bulls fed fiber-rich vs. starch-plus-lipid-rich concentrate diets. J. Anim. Sci. 93(1): 319-33.
23. NRC. 2007. Nutrient Requirements of lamb.7th ed, National Academy Press. Washington, DC. U.S.A.
24. O'Mara, F.P., Murphy, J.J., and Rath, M. 1997. The effect of replacing dietary beet pulp with wheat treated with sodium hydroxide, ground wheat, or ground corn in lactating cows. J. Dairy Sci. 80: 530-540.
25. Palmquist, D.L. 1991. Influence of source and amount of dietary fat on digestiblity in lactating cows. J. Dairy Sci. 74: 1354–1360.
26. SAS. 2005. Version 9.1 SAS. STAT user's guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA.
27. Sniffen, C.J., Oconnor, J.D., Van Soest, P.J., Fox, D.G., and Russell, J. 1992. A carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. J. Anim. Sci. 70: 3562-3577.
28. Srotbel, H.J., and Russell, J. 1986. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. J. Dairy Sci. 69: 2941-2947.
29. Van Soest, P.J., Robertson, J.B., and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583-97.
30. Wachira, A.M., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Hallet, H., Enser, M., and Wood, J.D. 2000. Rumen bio hydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids and their effects on microbial efficiency and nutrient digestibility in sheep. J. Agri. Sci. Combridge. 135: 419-428.
31. Weller, R.A., and Pilgrim, A.F. 1974. Passage of protozoa and volatile fatty acids from the rumen of the sheep and from a continuo in vitro fermentation system. Br. J. Nut. 32: 341–351.

32. Yalcin, S., Eltan, O., and Karsli, M.A. 2010. The nutritive value of modified dried vinasse (Pro Mass) and its effects on growth performance, carcass characteristics and some blood biochemical parameters in steers.J. Preventive Vet Medi. 161: 245-252.
33. Yang, C.M.J., Huang, S.C., Chang, T., Cheng, Y.H., and Chang, C.T. 2009. Effects of addition of food by-products on the fermentation quality of a total mixed ration with whole crop rice and its digestibility, preference, and rumen fermentation in sheep. J. Anim. Feed. Sci. Technol. 151: 1–11.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 4(4), 2016
http://ejrr.gau.ac.ir

The effect of using sugar beet pulp and canola seeds on microbial fermentation, the flow of nutrients and nitrogen metabolism in continuous culture system

[*]S. Asadollahi[1], M. Sari[2], N. Erfanimajed[3] and A. Mirzaee[4]
[1]Ph.D. Graduated, [2]Associate Prof., Dept. of Animal Science, Raimn Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran, [3]Professor, Dept. of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, [4]M.Sc. Graduated, Tarbiat Modarres University
Received: 07/29/2016; Accepted: 12/06/2016

Abstract

Background and objectives: Carbohydrates are the main source of energy for rumen microorganisms, and comprise about 60 to 70 percent of ruminant animal feed. Excessive consumption of starchy carbohydrates leads to increased acute and chronic acidosis in animals. Partial replacement starches with neutral detergent soluble fiber or fat In addition to the energy supply of animals have no problems using starch. The study was conducted due to, the impact of microbial fermentation by rumen bacteria on environmental sustainability.

Materials and methods: Eight dual-flow continuous culture fermenters (1750 ml) in a factorial design (2×2) based on randomized complete block were used in three replicated periods of 10 d (7 d of adaptation and 3 d for sampling) to study effects of carbohydrate sources (starch form barely grain versus neutral detergent fiber form sugar beet pulp) with and without canola seed on apparent digestibility, volatile fatty acids profile, nitrogen metabolism and microbial fermentation efficiency. Diets had a 10 to 90 forage to concentrate ratio. The treatments were; 1) 64% barley grain 2) 62% barley grain plus 7% canola seed 3) 36% sugar beet pulp

Results: Partial replacement of barley grain with sugar beet pulp significantly increased NDF and ADF apparent digestibility and crude protein degradation, ammonia and bacterial synthesis. Apparent digestibility of dry matter, organic

*Corresponding author; sadg102@yahoo.com

matter, NDF, ADF and the concentration of ammonia nitrogen, ammonia and bacterial synthesis reduced significantly by adding canola seeds to diets ($P<0.05$).

Conclusion: Partial replacement of barley grain sugar beet pulp increased acetate, butyrate, propionate concentration and acetate to propionate ratio and reduce isobutyrate concentration. Adding canola seeds carbohydrate sources had not a significant effect on the concentration of total and individual volatile fatty acids. The overall results showed that partial replacement of starch with neutral detergent soluble fibre can improve the digestibility of neutral detergent fiber and the production of acetate and butyrate in the rumen. Addition canola seed to carbohydrate sources decreased significantly, rumen the digestibility of nutrients, the production of acetate, ammonia nitrogen and protein production in continuous culture system.

Keywords: Dual-flow continuous culture fermenters, Microbial fermentation, Canola seed, Sugar beet pulp, Nitrogen metabolism