



تأثیر جایگزینی علف خشک یونجه با پوسته سویا در جیره گاوهاشای شیرده بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و سنتز پروتئین میکروبی با استفاده از نیتروژن-۱۵

مهدى بهگر^۱، رضا ولیزاده^۲، عباسعلی ناصریان^۳، سمانه قاسمی^۳، میر احمد موسوی شلمانی^۱، علی شیرزادی^۱

۱- پژوهشکده کشاورزی، پزشکی و صنعتی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، ۲- قطب علمی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۳- عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

چکیده

تأثیر جایگزینی علف خشک یونجه با پوسته سویا در جیره گاوهاشای شیری تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و سنتز پروتئین میکروبی در محیط آزمایشگاه بررسی شد. جیره پایه براساس احتیاجات NRC (۲۰۰۱) تنظیم شد و ۵۰ درصد از علف خشک یونجه با پوسته سویا جایگزین شد که ۱۰ درصد از ماده خشک جیره را تشکیل می‌داد. جیره حاوی پوسته سویا در مقایسه با جیره شاهد موجب افزایش تجزیه‌پذیری ماده خشک در زمان ۴ ساعت (۰/۵۱ در برابر ۴/۴۸ درصد) و ۸ ساعت (۶/۵۴ در برابر ۵/۰۰ درصد) پس از انکوباسیون شکمبه‌ای شد ($P<0/05$). جایگزینی پوسته سویا تأثیری بر میزان گاز تولیدی و میزان ماده خشک هضم شده نداشت. میزان الحاق نیتروژن-۱۵ در بخش میکروبی تحت تأثیر جایگزینی پوسته سویا بطور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/01$). راندمان تولید پروتئین میکروبی تحت تأثیر جایگزینی پوسته سویا قرار نگرفت.

واژه‌های کلیدی: پوسته سویا، علف یونجه، نیتروژن-۱۵، پروتئین میکروبی، گاوهاشای شیرده.

مقدمه

در صنعت پرورش گاو شیری استفاده از محصولات فرعی کشاورزی از اهمیت خاصی برخوردار است. یکی از این محصولات فرعی پوسته سویا می‌باشد که حاوی لیگنین اندک و مقدار زیادی از دیواره سلولی قابل هضم است (۳) و به عنوان جایگزینی مناسب برای بخش علوفه‌ای و کنسانترهای جیره استفاده می‌گردد. جایگزینی جزئی (۵/۱۴ درصد ماده خشک جیره) پوسته سویا به جای بخش علوفه‌ای جیره در گاوهاشای شیرده در اوایل دوره شیرواری موجب افزایش مصرف ماده خشک، افزایش تولید شیر و ابقاء بیشتر انرژی را در مقایسه با گاوهاشای تغذیه شده با جیره شاهد شد (۷). با وجود این در برخی از مطالعات کاهش میزان تولید پروتئین شیر با جایگزینی پوسته سویا در جیره مشاهده شده که گاهاً با کاهش تولید پروتئین میکروبی نیز همراه بوده است.

با گنجاندن پوسته سویا در جیره به دلیل کمتر بودن مقدار متیونین در پوسته سویا، متیونین وارد شده به روده کاهش می‌یابد که می‌تواند یکی از دلایل کاهش مقدار پروتئین شیر باشد (۴). با وجود این برخی از تحقیقات نشان دادند میزان نیتروژن میکروبی وارد شده به روده و راندمان تولید گاز که بطور غیر مستقیم وضعیت کلی تخمیر را نشان می‌دهد روشی کم هزینه و آسان است و اطلاعات تکنیک‌هایی همانند تولید گاز که بطور غیر مستقیم وضعیت کلی تخمیر را نشان می‌دهد روشی کم هزینه و آسان است و اطلاعات مناسبی از ارزش تغذیه‌ای مواد خوراکی در اختیار محققین قرار می‌دهد. با وجود این برای کسب اطلاعات کامل اندازه‌گیری دیگر ترکیبات پایانی حاصل از متابولیسم همانند پروتئین میکروبی مورد نیاز است. هدف از این آزمایش بررسی تأثیر جایگزینی پوسته سویا بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک، تولید و راندمان سنتز پروتئین میکروبی جیره در شرایط آزمایشگاه با استفاده از نیتروژن-۱۵ بود.

مواد و روش‌ها

دو جیره آزمایشی (جیره ۱: جیره شاهد و جیره ۲: حاوی پوسته سویا به میزان ۱۰ درصد از ماده خشک جیره که جایگزین نیمی از علف یونجه در جیره شاهد شد) بر اساس احتیاجات NRC (۸) برای تأمین انرژی متابولیسمی و پروتئین مورد نیاز برای یک گاو



۶۵۰ کیلوگرمی، با تولید شیر روزانه ۴۵ کیلوگرم تنظیم شد. برای تعیین تجزیه‌پذیری از دو رأس گوساله نر مجهر به کانولای شکمبه‌ای استفاده شد. از تیمارهای مورد نظر ۴ تکرار در زمان‌های ۲، ۴، ۸، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در شکمبه قرار گرفت. تولید و راندمان تولید پروتئین میکروبی از روش تولید گاز (۶) اندازه‌گیری شد. ترکیب نهایی محیط کشت به میزان ۵۰۰ میلی لیتر شامل آب مقطر (۲۳۷ میلی لیتر)، نمک‌های پرنیاز (۱۱۸/۵ میلی لیتر)، محلول بافر (۱۱۸/۵ میلی لیتر)، نمک‌های کم نیاز (۰/۰۶ میلی لیتر)، رزوژارین (۰/۶۱ میلی لیتر) و محلول احیاء کننده (۲۵ میلی لیتر) بود. ۳۰۰ میلی‌گرم نمونه در آزمایش تولید گاز به مدت ۱۷ ساعت آنکوباسیون شد، برای تخمین تولید پروتئین میکروبی از اوره ۲ بار نشاندار شده با نیتروژن-۱۵ (۱۰ اتم درصد) به میزان ۳/۸۰ گرم در لیتر و کربنات هیدروژن آمونیوم به میزان ۱۰ گرم در لیتر در محلول بافر به همراه کربنات هیدروژن سدیم (۳۵ گرم در لیتر) در آزمایش تولید گاز استفاده شد.

پس از اتمام آنکوباسیون محتواهای سرنگ‌ها سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰×g) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) و ۳ بار متوالی با ۶۰ میلی لیتر محلول NaCl (۴ گرم در لیتر) شسته شدند و محتویات آنها به درون لوله‌های سانتریفیوژ منتقل و دوباره عمل سانتریفیوژ انجام گرفت. پلت‌های حاصله با لوله‌ها به آون منتقل، خشک و سپس وزن شدند. از پلت‌های به دست آمده برای تعیین نیتروژن به روش کلدل [۸] و سپس اندازه‌گیری نیتروژن-۱۵ توسط دستگاه طیف سنجی گسیلی (مدل NOI7) انجام شد. میزان نیتروژن-۱۵ به میزان بیشتر از ۰/۳۶۶ اتم درصد به عنوان الحاق در نظر گرفته شد. محتواهای نیتروژن-۱۵ هر سرنگ بر اساس میزان الحاق در نمونه بالانک (شاهد) تصحیح شد. برای محاسبه میزان الحاق نیتروژن-۱۵ در پروتئین میکروبی از معادله زیر استفاده شد.

(۱)

$$15^N \text{ g} = \frac{100}{\text{درصد } N} \times (100 - \frac{100}{\text{درصد } N}) \times \text{میلی گرم پلت}$$

راندمان تولید پروتئین میکروبی با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

میلی گرم نیتروژن-۱۵ در مواد هضم شده

میلی لیتر گاز تولیدی خالص

تجزیه آماری

فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام با استفاده از معادله زیر و با استفاده از نرمافزار Sigma Plot مورد تحلیل قرار گرفتند.

$$P = a + b(1 - e^{-ct})$$

که P = پتانسیل تجزیه پذیری، a = بخش سریع تجزیه، b = بخش کند تجزیه، c = ثابت نرخ تجزیه‌پذیری و t = مدت زمان قرار گرفتن نمونه در شکمبه می‌باشد.

داده‌های ضرایب تجزیه‌پذیری، تولید گاز، الحاق نیتروژن-۱۵ و راندمان سنتز پروتئین میکروبی با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و مدل طرح کاملاً تصادفی تجزیه آماری و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

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

که: Y_{ij} = مشاهده، μ = میانگین، T_i = اثر پوسته سویا، ε_{ij} = خطای تصادفی با میانگین صفر و واریانس σ^2 .

نتایج

ضرایب و میزان تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک تیمارها در جدول ۱ نشان داده شده است. ضرایب تجزیه‌پذیری تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. جیره حاوی پوسته سویا در مقایسه با جیره شاهد موجب افزایش تجزیه‌پذیری ماده خشک در



زمان ۴ ساعت (۵۱/۰ در برابر ۴۸/۴ درصد) و ۸ ساعت (۵۴/۶ در برابر ۵۰/۵ درصد) پس از انکوباسیون شکمبهای شد (P<۰/۰۵). این نتیجه نشان دهنده پتانسیل بیشتر پوسته سویا در برابر هضم به خصوص در ساعات آغازین قرار گرفتن در شکمبه است. که دلیل این موضوع می‌تواند حضور مقادیر کربوهیدرات‌های با پتانسیل تخمیری بالا مثل پکتین و مقادیر کمتر لیگنین در مقایسه با علف یونجه باشد.

تأثیر پوسته سویا بر تولید گاز، ناپدید شدن ماده خشک، میزان و راندمان تولید پروتئین در جدول ۲ نشان داده شده است. جایگزینی پوسته سویا تأثیری بر میزان گاز تولیدی (۱۷ ساعت)، میزان ماده خشک هضم شده و راندمان تولید پروتئین (میلی گرم نیتروژن-۱۵) الحاق شده در بخش باکتریایی به ازای گاز خالص تولیدی) میکروبی نداشت. عدم تأثیر جایگزینی پوسته سویا بر میزان گاز تولیدی نتایج حاصل از تجزیه‌پذیری شکمبهای ماده خشک جیره که عدم تغییر بخش دارای پتانسیل تجزیه‌پذیری را نشان داد، را تأیید می‌کند. میزان الحاق نیتروژن-۱۵ در بخش میکروبی تحت تأثیر جایگزینی پوسته سویا به جای علف یونجه بطور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۱). افزایش الحاق نیتروژن-۱۵ نشان دهنده افزایش تعداد باکتری‌ها می‌باشد.

کربوهیدرات‌های سهل الوصول همانند نشاسته و قندها در مقایسه با دیگر کربوهیدرات‌های با راندمان بیشتری در استفاده از نیتروژن تجزیه شده جیره‌ای و یا افزایش رشد میکروبی در شرایط *in vitro* و *in vivo* مورد استفاده قرار می‌گیرند (۹). همچنین کاهش کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی (NSC) جیره منجر به کاهش عبور نیتروژن باکتریایی به روده می‌شود (۱۰). شاید بتوان بخشی از افزایش الحاق نیتروژن-۱۵ و در نتیجه تولید پروتئین میکروبی را به بیشتر بودن جزئی کربوهیدرات‌های محلول (NFC) در جیره فاقد پوسته سویا در مقایسه با جیره دارای پوسته سویا (۳۴ در برابر ۴۲ درصد) نسبت داد. استرن و همکاران [۲۶] عنوان کردند که میزان انرژی جیره تنها عامل مهم محدود کننده تولید پروتئین میکروبی نیست.

کاهش عددی ورود نیتروژن میکروبی به روده با جایگزینی ۲۵ و ۴۵ درصد از سیلیزر ذرت با پوسته سویا (به ترتیب ۳۳۰/۶ و ۳۴۳ گرم در روز) در مقایسه با جیره شاهد (۳۷۱/۲ گرم در روز) گزارش شد (۲). مانسفیلد و استرن (۵) نشان دادند میزان نیتروژن میکروبی وارد شده به روده و راندمان تولید پروتئین میکروبی تحت تأثیر استفاده از پوسته سویا در جیره قرار نگرفت.

نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که می‌توان از ترکیبات حاوی نیتروژن-۱۵ بطور موفقیت آمیزی به منظور تعیین تولید پروتئین میکروبی در محیط آزمایشگاه استفاده نمود، با این حال تولید پروتئین میکروبی با استفاده از تکنیک نسبت ایزوتوپی در شرایط آزمایشگاهی بطور کامل تقليدی از شرایط واقعی در بدن دام نمی‌باشد و بهتر است به منظور بررسی اثر تیمارهای آزمایشی بر تولید پروتئین میکروبی از موجود زنده و بررسی عوامل موثر بر تولید پروتئین همانند نرخ عبور استفاده شود. همچنین توجه به عوامل جیره‌ای همانند کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی و دیگر عوامل باید در هنگام تنظیم جیره‌ها مورد توجه قرار گیرد.

The effect of soy hull replacement in ration of dairy cows on dry matter degradability and microbial protein synthesis using ¹⁵N

M. Behgar¹, R. Valizadeh², M. Mirzaee¹, A. A. Naserian², S. Ghasemi³, M. A. Mosavi Shalmai¹, A. Shirzadi¹

¹Agricultural, Medical and Industrial Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, P. O. Box: 31485-498, Karaj, Iran. ²Faculty of Agriculture, Excellence Center in Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, P. O. Box: 91775 – 1163, Mashhad, Iran. ³Young research club, Islamic Azad University, Karaj Branch

This study was conducted to evaluate the effect of soybean hull (SH) substitution in diets of dairy cows on ruminal DM degradability and microbial protein synthesis of diets. Control diet formulated according to NRC (2001) recommendation and SH replaced for 50% of alfalfa hay to make 10% of diet dry matter. Degradability of dry matter increased by replacement of SH in diets compare with control diet after incubation for 4 h (51.0% and 48.4%, respectively) and 8 h (54.6% and 50.5%, respectively) in the rumen. SH replacement decreased enrichment of ¹⁵N in microbial biomass (P<0.01). Efficiency of microbial protein synthesis was not affected by the SH inclusion in diet.

Keywords: Soybean hull, Alfalfa hay, ¹⁵N, Microbial protein, Dairy cows



References

- Blummel, M., H. Steingass, and K. Becker. 1997. The relationship between in vitro gas production, in vitro microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *Brit. J. Nutr.* 77:911-921.
- Cunningham, K. D., M. J. Cecava, T. R. Johnson. 1993. Nutrient digestion, nitrogen, and amino acid flows in lactating cows fed soybean hulls in place of forage or concentrate. *J. Dairy Sci.* 76:3523-3535.
- Grabel, K. A., G. C. Fahey, Jr. S. M. Lewis, M. S. Kereley and L. Montgomery. 1988. Chemical composition and digestibility of fiber fraction of certain by product feedstuff fed to ruminants. *J. Anim. Sci.* 66:2650.
- Ipharraguerre, I. R., J. H. Clark. 2003. Soyhulls as an Alternative Feed for Lactating Dairy Cows: A Review. *J. Dairy Sci.* 86:1052-1073.
- Mansfield H. R., M. D. Stern. 1994. Effects of soybean hulls and lignosulfonate-treated soybean meal on ruminal fermentation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:1070-1083.
- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, W. Schneider. 1979. The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they incubated with rumen liquor in vitro. *J. Agr. Sci. Camb.* 92:217-222.
- Mirona, J., G. Adinb, R. Solomonb, M. Nikbachata, A. Zenoua, E. Yosef, A. Brosha, A. Shabtaya, A. Asherc, H. Gacituaa, M. Kaima, S. Yaacobi, Y. Portnika, S. J. Mabjeeshc. 2010. Effects of feeding cows in early lactation with soy hulls as partial forage replacement on heat production, retained energy and performance. *Animal Feed Science and Technology* 155:9-17.
- National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Rev. Edition. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Offer, N. W., R. F. E. Axford, R. A. Evans. 1978. The effect of dietary energy source on nitrogen metabolism in the lumen of sheep. *Brit. J. Nutr.* 40: 35.
- Oldham, J. D., P. J. Buttery, H. Swan, D. Lewis. 1977. Interactions between dietary carbohydrates and nitrogen and digestion in sheep. *J. Agr. Sci. Camb.* 89:467.
- Stern, M. D., W. H. Hoover, C. J. Sniffen, B. A. Crooker, P. H. Knowlton. 1978. Effects of nonstructural carbohydrate, urea and soluble protein levels on microbial protein synthesis in continuous culture of rumen contents. *J. Anim. Sci.* 47:944.

جدول ۱. میانگین تجزیه پذیری ماده خشک و ضرایب تجزیه پذیری شکمبهای (درصد)

ضرایب تجزیه پذیری				تجزیه پذیری ماده خشک در زمان‌های انکوباسیون										تیمار
a+b	c	b	a	۹۶	۷۲	۴۸	۲۴	۱۶	۱۲	۸	۴	۲	۰	
۹۲/۱۸	۰/۰۵	۵۴/۱۲	۳۸/۰۶	۹۰/۲	۸۹/۵	۸۶/۷	۷۵/۳	۶۶/۶۰	۵۹/۰	۵۰/۵ ^b	۴۸/۴ ^b	۴۲/۹	۳۹/۵	۱
۹۱/۵۶	۰/۰۵	۵۱/۹۰	۳۹/۹۵	۹۰/۲	۹۰/۳	۸۵/۷	۷۴/۴	۶۸/۶۰	۵۸/۳	۵۴/۶ ^a	۵۱/۰ ^a	۴۵/۰	۳۸/۳	۲
۱/۲۴	<۰/۰۱	۱/۱۴	۰/۰۹	۰/۶۱	۰/۷۷	۲/۲۱	۱/۱۹	۲/۰۵	۲/۵۸	۱/۱۲	۰/۴۹	۰/۷۵	۰/۷۲	SE

حرروف متفاوت در هر ستون دارای تفاوت معنی دار هستند ($p < 0.05$)

جدول ۲. تأثیر جایگزینی پوسته سویا بر تولید گاز، میزان و راندمان تولید پروتئین میکروبی

تیمار	فاکتور مورد مطالعه			
	SE	P	جیره ۲	جیره ۱
تولید گاز ^۱ (میلی لیتر/ ۱۰۰ میلی گرم)	۰/۸۶	۰/۲۹	۲۱/۶۵	۲۲/۱۱
بقایای هضم نشده ظاهری (گرم)	<۰/۰۱	۰/۲۳	۰/۰۸۹	۰/۰۷۳
نسبت ^{۱۵} N به ^{۱۴} N (درصد)	<۰/۰۱	<۰/۰۱	۱/۳۸ ^b	۲/۴۱ ^a
راندمان تولید پروتئین میکروبی ^۲	<۰/۰۱	۰/۳۵	۰/۰۰۱۹	۰/۰۰۲۱

۱. تولید گاز پس از ۱۷ ساعت، ۲. میلی گرم ^{۱۵}N به ازای گاز خالص تولیدی پس از ۱۷ ساعت (میلی لیتر/ ۱۰۰ میلی گرم).