Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Ruminant Research

Print ISSN: 2345 - 4261
Online ISSN: 2345 - 4253

Evaluation of digestibility and microbial protein production of diets containing different forms of flaxseed with two levels of rumen undegradable protein *in vitro* condition in ruminants

Rahmat Ababakri[1] | Omid Dayani[2*] | Amin Khezri[3] | Abbas-Ali Naserian[4]

[1] Ph.D. Graduate of Animal Nutrition, Department of Animal Science, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
[2] Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran Email: odayani@uk.ac.ir
[3] Associate Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
[4] Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 01/11/2021
Revised: 28/11/2021
Accepted: 29/11/2021

Keywords:
Flaxseed
Gas production
in vitro
Rumen undegradable protein

ABSTRACT

Background and Objectives: Investigation of fermentation parameters using the gas production technique is one of the common methods for evaluating feed ingredients which could be a reflection of the fermentation pattern in the rumen. The gas production technique can evaluate the fermentation process of feed ingredients as well as a large number of samples and is similarly used to determine the quantity and quality of digestion rate of a feed ingredient in a relatively short period. In recent years, flaxseed and its oil were widely considered and used as a fat supplement in the diets of ruminants due to the high concentration of α-linolenic acid. However, one of the most important nutritional concerns when oilseeds are used the negative effects of their unsaturated fatty acids on ruminal fermentation. This study aimed to evaluate the amount of digestibility, production of gas, and microbial protein production in diets with different forms of flaxseed (whole, grounded, and extruded) and the high (40%) and low (20%) levels of rumen undegradable protein (RUP).

Materials and Methods: Two hundred milligrams of each feed sample were incubated with ruminal fluid and buffer. Then the gas production was measured at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 72, 96, and 120 h. The experimental diets were: 1) diet with no flaxseed + 20% RUP; 2) diet with no flaxseed + 40% RUP; 3) diet containing 10% whole flaxseed + 20% RUP; 4) diet containing 10% whole flaxseed + 40% RUP; 5) diet containing 10% grounded flaxseed + 20% RUP; 6) diet containing 10% grounded flaxseed + 40% RUP; 7) diet containing 10% extruded flaxseed + 20% RUP, and 8) diet containing 10% extruded flaxseed + 40% RUP.

Results: The results showed that the amount of gas production during 96 hours of incubation was higher in control diets compared to other diets (255.8 vs 217.8, 198.1, and 200.4 ml/g DM, P=0.001) and also at 20% RUP level (255.5 vs 210.1 ml/g DM, P=0.049). The true digestibility of control diets (684 vs 568, 619 and 538 mg/g DM) and NH_3-N of diets containing grounded flaxseed (1.12 vs 0.41, 0.49 and 0.21 mg), was higher compared to other diets (P<0.05), However, microbial nitrogen production in diets containing grounded flaxseed was lower (2.72 vs 3.29, 3.36 and 3.45 mg), compared to other diets (P<0.01). The DM disappearance (161.6 vs 149.9 mg), neutral detergent insoluble nitrogen (1.63 vs 1.35 mg) and

NH3-N (0.76 vs 0.35 mg) in diets containing 40% RUP, and microbial nitrogen production (3.48 vs 2.93 mg) in 20%RUP was higher compared to other treatments (P>0.05).

Conclusion: Since one of the main objectives of the present experiment was to examine the production of microbial protein in experimental diets, diets containing whole and extruded flaxseed despite their low digestibility showed a higher microbial protein production. On the other hand, the 20% RUP level also showed the highest amount of gas and microbial protein production. Therefore, it seems from an economic point of view as well as the performance of the diets, using a diet containing 10% extruded flaxseed along with 20% RUP can be beneficial and effective.

Cite this article: Ababakri, R., Dayani, O., Khezri, A., Naserian, A.A. (2022). Evaluation of digestibility and microbial protein production of diets containing different forms of flaxseed with two levels of rumen undegradable protein *in vitro* condition in ruminants. *Journal of Ruminant Research*, 10 (1), 49-66.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejrr.2021.19629.1811
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

پژوهش در نشخواکنندگان
شاپا چاپی: ۴۲۶۱-۲۳۴۵
شاپا الکترونیکی: ۴۲۵۳-۲۳۴۵

بررسی گوارش‌پذیری و تولید پروتئین میکروبی جیره‌های دارای چند شکل دانه کتان به همراه دو سطح پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی در نشخوارکنندگان

رحمت ابابکری[۱] | امید دیانی[۲*] | امین خضری[۳] | عباسعلی ناصریان[٤]

۱. دانشجوی دکتری تغذیه دام بخش مهندسی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.
۲. استاد بخش مهندسی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، رایانامه: odayani@uk.ac.ir
۳. دانشیار بخش مهندسی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.
٤. استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۸/۱۰
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۰/۹/۷
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۹/۸

واژه‌های کلیدی:
برون‌تنی
پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای
تولید گاز
دانه کتان

چکیده

سابقه و هدف: بررسی فراسنجه‌های تخمیر به‌روش تولید گاز یکی از روش‌های رایج برای ارزیابی خوراک‌ها است و می‌تواند بازتابی از الگوی تخمیر در شکمبه باشد. روش تولید گاز در زمانی نسبتاً کوتاه می‌تواند روند تخمیر خوراک‌ها و تعداد زیادی نمونه را مورد بررسی قرار داده و همچنین جهت تعیین کمی‌وکیفی نرخ و میزان هضم یک ماده خوراکی بکار رود. در سال‌های اخیر، دانه و روغن کتان به‌واسطه غلظت بالای اسید آلفا لینولنیک موجود در آن، به‌طور وسیعی به‌عنوان یک مکمل چربی در جیره‌های نشخوارکنندگان موردتوجه قرارگرفته و استفاده‌شده است. اما یکی از نگرانی‌های بسیار مهم در تغذیه دانه‌های روغنی، اثر منفی اسیدهای چرب غیراشباع آن‌ها بر تخمیر شکمبه‌ای می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه بررسی گوارش‌پذیری، تولید گاز و پروتئین میکروبی جیره‌های دارای چند شکل دانه کتان (کتان سالم، کتان آسیاب شده و یا کتان اکسترودشده) در سطح ۱۰ درصد ماده خشک جیره و دو سطح بالا (٤۰ درصد از کل پروتئین خام) و پایین (۲۰ درصد از کل پروتئین خام) پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای بود.

مواد و روش‌ها: دویست میلی‌گرم نمونه با مایع شکمبه به همراه بافر انکوباسیون گردید و تولید گاز در ساعات ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲٤، ۳٦، ٤۸، ۷۲، ۹٦ و ۱۲۰ اندازه‌گیری شد. جیره‌های آزمایشی ۱: جیره شاهد بدون کتان با ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، ۲: جیره شاهد بدون کتان با ٤۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، ۳: جیره دارای ۱۰ درصد کتان سالم با ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، ٤: جیره دارای ۱۰ درصد کتان سالم با ٤۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، ۵: جیره دارای ۱۰ درصد کتان آسیاب شده با ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، ٦: جیره دارای ۱۰ درصد کتان آسیاب شده با ٤۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، ۷: جیره دارای ۱۰ درصد کتان اکسترودشده با ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای و ۸: جیره دارای۱۰ درصد کتان اکسترودشده با ٤۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای بود.

یافته‌ها: میزان گاز تولیدی در ۹٦ ساعت با جیره‌های شاهد نسبت به سایر جیره‌ها (۲۵۵/۸ در مقابل

۲۱۷/۸، ۱۹۸/۱ و ۲۰۰/٤ میلی‌لیتر در گرم ماده خشک، P=۰/۰۰۱) و همچنین با ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای (۲۵۵/۵ در مقابل ۲۱۰/۱ میلی‌لیتر در گرم ماده خشک، P=۰/۰٤۹) بالاتر بود. گوارش‌پذیری حقیقی جیره‌های بدون کتان (٦٨٤ در مقابل ٥٦٨، ٦١٩ و ٥٣٨ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) و نیتروژن آمونیاکی تولیدی با جیره‌های حاوی کتان آسیاب‌شده نسبت به سایر جیره‌ها (۱/۱۲ در مقابل ۰/٤۱، ۰/٤۹ و ۰/۲۱ میلی‌گرم) بالاتر بود (P<۰/۰۱) اما نیتروژن میکروبی تولیدی با جیره‌های حاوی کتان آسیاب‌شده نسبت به سایر جیره‌ها پایین‌تر بود (۲/۷۲ در مقابل ۳/۲۹، ۳/۳٦ و ۳/٤٥ میلی‌گرم، P<۰/۰۱). ماده خشک ناپدیدشده (۱٦۱/٦ در مقابل ۱٤۹/۹ میلی‌گرم)، نیتروژن متصل به الیاف نامحلول در شوینده‌خنثی (۱/٦۳ در مقابل ۱/۳٥ میلی‌گرم) و نیتروژن آمونیاکی (۰/۷٦ در مقابل ۰/۳٥ میلی‌گرم) با ٤۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای و تولید نیتروژن میکروبی (۳/٤۸ در مقابل ۲/۹۳ میلی‌گرم) با ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای بالاتر بود (P<۰/۰٥).

نتیجه‌گیری: جیره‌های حاوی کتان سالم و اکسترودشده علی‌رغم پایین بودن میزان گوارش‌پذیری آنها، اما تولید پروتئین میکروبی بالاتری را نشان دادند. از طرفی سطح ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای نیز بالاترین مقدار تولید گاز و پروتئین میکروبی را نشان داد. بنابراین به‌نظر می‌رسد ازنقطه‌نظر اقتصادی و همچنین عملکرد جیره‌ها، استفاده از جیره حاوی ۱۰ درصد کتان اکسترودشده به همراه ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای می‌تواند مفید و مؤثر باشد.

استناد: ابابکری، ر.، دیانی، ا.، خضری، ا.، ناصریان، ع.ع. (۱٤۰۱). بررسی گوارش‌پذیری و تولید پروتئین میکروبی جیره‌های دارای چند شکل دانه کتان به همراه دو سطح پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی در نشخوارکنندگان. *پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۱۰ (۱)، ٤۹-٦٦.

DOI: 10.22069/ejrr.2021.19629.1811

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

به‌طورکلی، بررسی فراسنجه‌های تخمیری به‌روش تولید گاز به یکی از رایج‌ترین روش‌ها برای ارزیابی خوراک تبدیل شده است و می‌تواند بازتابی از الگوی تخمیر در شکمبه باشد (۹). ارتباط نزدیک بین تخمیر شکمبه‌ای با تولید گاز از پیش گزارش شده است (۸). حجم گاز تولیدی که نشان دهنده تخمیر مواد خوراکی به اسیدهای چرب فرار است، می‌تواند برآوردی از گوارش‌پذیری ظاهری باشد و به‌طور دقیق با مقدار و نسبت استات و بوتیرات نیز مرتبط می‌باشد (۵).

در سال‌های اخیر، دانه و روغن کتان به‌واسطه غلظت بالای اسید آلفالینولنیک موجود در آن، به‌طور وسیعی به‌عنوان یک مکمل چربی در جیره‌های نشخوارکنندگان استفاده شده‌اند (۲۳). دانه کتان به‌طور میانگین حاوی حدود ٤٠ درصد روغن،۲۰ درصد پروتئین خام و حدود ۳۰ درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی است (۲۲) وتقریبا حدود ۵۵ درصد ازاسیدهای چرب موجود در روغن آن را اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳ (اسیدآلفالینولنیک، اسید ایکوزاپنتانوئیک و اسید دوکوزاهگزاانوئیک) تشکیل می‌دهد (۱۸). از موارد بسیار مهم در تغذیه دانه‌های روغنی، اثرات منفی اسیدهای چرب غیراشباع بر تخمیر شکمبه‌ای است. گزارش‌شده با افزایش سطح اسیدهای چرب غیراشباع در شکمبه اختلال در تخمیر، توقف رشد گروه‌های مختلف میکروارگانیسم‌ها و در نهایت کاهش هضم در شکمبه اتفاق می‌افتد (۱۳).

در همین رابطه، مشخص‌شده مکمل‌های دارای اسیدهای چرب غیراشباع بالا، موجب کاهش تولید گاز در شکمبه می‌شوند. کردی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند میزان تولید گاز با جیره‌های دارای کتان اکسترود شده و پوست پسته نسبت به دیگر تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (۱۵). نتایج مطالعات گزرکاسکی و همکاران (۱۹۷۷) نشان داد اسیدهای چرب غیراشباع موجود در کتان تخمیر شکمبه‌ای را غیرفعال می‌کند و در نتیجه گوارش‌پذیری و تولید گاز کاهش می‌یابد (۷). همچنین، گزرکاسکی(۱۹۷۳) نشان داد تغذیه اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه مانند روغن دانه کتان، تولید متان را در گوسفند کاهش می‌دهد (٦).

از طرف دیگر، نسبت پروتئین قابل‌تجزیه شکمبه-ای به پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای جیره نیز می‌تواند بر میزان تخمیر شکمبه‌ای و در نتیجه تولید پروتئین میکروبی تأثیرگذار باشد، به‌طوری که در همین زمینه گزارش‌شده با افزایش پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای و به علت کاهش بیش از حد سطح پروتئین قابل‌تجزیه شکمبه‌ای، مصرف خوراک و به دنبال آن غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه کاهش‌یافته و در نتیجه سبب کاهش رشد و تکثیر میکروبی شکمبه و نهایتاً کاهش سطح تخمیرات شکمبه‌ای می‌گردد (۲۸). همچنین سیلوا و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند با افزایش سطح پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای جیره، سنتز پروتئین میکروبی، راندمان سنتز پروتئین میکروبی و راندمان استفاده از نیتروژن جهت سنتز پروتئین میکروبی کاهش می‌یابد (۲٦). پروتئین میکروبی به دلیل الگوی اسیدهای آمینه آن که مشابه با الگوی شیر و ماهیچه است، منبع اصلی اسیدهای آمینه برای نشخوارکنندگان محسوب می‌شود. علی‌رغم استفاده از نیتروژن اندوژنوس و نیتروژن در حال گردش، مهمترین منبع نیتروژن برای سنتز پروتئین میکروبی، پروتئین قابل‌تجزیه شکمبه‌ای است. زمانی که احتیاجات نیتروژن میکروبی توسط پروتئین قابل‌تجزیه شکمبه ای تأمین شود، ممکن است تأمین پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای جریان پروتئین قابل متابولیسم را

افزایش داده و به دنبال آن عملکرد حیوان و ابقاء نیتروژن بهبود یابد. علی‌رغم افزایش جریان پروتئین قابل متابولیسم، تأمین پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای ممکن است با تغییرات در سنتز پروتئین میکروبی، دسترس‌پذیری نیتروژن، هضم الیاف و گردش نیتروژن سبب تغییراتی در متابولیسم شکمبه‌ای شود (۲۶).

بنابراین، تاکنون مطالعات زیادی به بررسی اثرات تغذیه اشکال مختلف دانه کتان به‌عنوان یک منبع غنی از اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳ و نیز نوع و مقدار پروتئین مصرفی در جیره‌های نشخوارکنندگان پرداخته‌اند. اما به‌هر حال اطلاعات اندکی در مورد بررسی و مقایسه هم‌زمان اثرات ترکیب‌شده تغذیه اشکال مختلف دانه کتان (سالم، آسیاب و اکسترودشده) به همراه سطوح مختلف پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای در جیره نشخوارکنندگان بر میزان گوارش‌پذیری و تولید پروتئین میکروبی در دسترس است. بنابراین هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی میزان گوارش‌پذیری و تولید پروتئین میکروبی جیره‌های دارای چند شکل دانه کتان (سالم، آسیاب و یا اکسترودشده) به میزان ۱۰ درصد ماده خشک جیره و دو سطح پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای (۴۰ و ۲۰ درصد پروتئین خام) بود.

مواد و روش‌ها

مراحل مختلف این پژوهش در آزمایشگاه تغذیه دام گروه مهندسی علوم دامی و مزرعه آموزشی-پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در طی سال ۱۳۹۶ انجام گرفت. جیره‌های آزمایشی ۱: جیره شاهد بدون کتان با ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، ۲: جیره شاهد بدون کتان با ۴۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، ۳: جیره دارای ۱۰ درصد کتان سالم با ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، ٤: جیره دارای ۱۰ درصد کتان سالم با ۴۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، ۵: جیره دارای ۱۰ درصد کتان آسیاب شده با ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، ٦: جیره دارای ۱۰ درصد کتان آسیاب شده با ۴۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، ۷: جیره دارای ۱۰ درصد کتان اکسترودشده با ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای و ۸: جیره دارای ۱۰ درصد کتان اکسترودشده با ۴۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای بود. داده‌های به‌دست‌آمده به‌صورت آزمایش فاکتوریل ۲×٤ و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفتند.

جهت دستیابی به جیره‌های یکسان به لحاظ انرژی و پروتئین، دانه جو با دانه کتان جایگزین شد و متعادل نمودن نیتروژن (نسبت‌های پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای) به‌وسیله تغییر در نسبت‌های کنجاله سویا و اوره انجام شد. منبع پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای در جیره‌ها محصول یاسمینومکس با ترکیب حدود ٤٦ درصد پروتئین خام و حدود ۷۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای بود که از یک شرکت تجاری تهیه گردید. ترکیب شیمیایی دانه کتان، محصول یاسمینومکس، و اجزاء مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی به ترتیب در جداول ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده‌است. دانه کتان اکسترود شده به‌صورت آماده از کارخانه خوراک دام و طیور صالح کاشمر تهیه گردید (در این کارخانه جهت تهیه دانه کتان اکسترود، مخلوطی با نسبت ۷۰ درصد دانه کتان و ۳۰ درصد سبوس به‌عنوان ماده جاذب آماده‌شده و سپس فرآیند اکستروژن با استفاده از یک اکسترودر دو مارپیچه و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد تکمیل شد).

جدول ۱- ترکیب شیمیایی دانه کتان استفاده‌شده

Table 1. Chemical composition of flaxseed

مقدار Value	Composition ترکیب	
94.62	Dry matter (%)	ماده خشک (درصد)
18.7	Crude protein (% of DM)	پروتئین خام (درصدی از ماده خشک)
41.05	Ether extract (% of DM)	چربی خام (درصدی از ماده خشک)
22.21	NDF (% of DM)	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصدی از ماده خشک)
18.73	ADF (% of DM)	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصدی از ماده خشک)
2.95	Ash (% of DM)	خاکستر (درصدی از ماده خشک)

جدول ۲- ترکیب شیمیایی محصول یاسمینومکس (بر اساس ماده خشک)

Table 2. Chemical composition of Yasminomax product (DM basis)

مقدار	ترکیب شیمیایی	
46±1	Crude protein (%)	پروتئین خام (درصد)
70	Minimum rumen by-pass protein (%)	حداقل پروتئین عبوری از شکمبه (درصد)
322	Minimum by-pass protein/kg (g)	حداقل مقدار پروتئین عبوری در هر کیلوگرم (گرم)
12	Maximum moisture (%)	حداکثر رطوبت (درصد)
7	Maximum ash (%)	حداکثر خاکستر (درصد)
5	Maximum number of peroxide (meq/100gr fat)	حداکثر عدد پراکسید (میلی‌اکی‌والان در ۱۰۰ گرم چربی)
> 50	Total Volatile Nitrogen (mg/kg)	نیتروژن آزاد (T.V.N) (میلی‌گرم در کیلوگرم)
90	Intestinal digestion rate of by-pass protein (%)	میزان هضم روده‌ای پروتئین عبوری (درصد)
5	Maximum fat (%)	حداکثر چربی (درصد)

تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی: برای اندازه‌گیری میزان تولید گاز حاصل از تخمیر از روش تئودورو و همکاران (۱۹۹٤) استفاده شد (۲۷). مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه خوراک آسیاب شده با الک دارای قطر منافذ یک میلی‌متری توزین و به داخل بطری‌های شیشه‌ای ۱۲۵ میلی‌لیتری منتقل‌شده و برای هر نمونه خوراک پنج تکرار در نظر گرفته شد. مایع شکمبه پیش از خوراک صبح از چهار رأس گوسفند نر بلوچی بالغ فیستولاگذاری شده جمع‌آوری و توسط پارچه متقالی چهار لایه صاف شد. در هر بطری حاوی تیمار آزمایشی، مقدار ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافرتهیه شده به‌روش منک و استینگاس (۱۹۸۸) و با نسبت یک به دو افزوده شد (۱٦) و پس از بی‌هوازی نمودن داخل بطری به‌وسیله تزریق گاز دی‌اکسیدکربن درب بطری‌ها توسط درپوش لاستیکی و پرس آلومینیومی، به‌طور محکم بسته شد. به‌منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه و بافر، پنج بطری بدون اینکه ماده خوراکی ریخته شود و فقط دارای مایع شکمبه و بافر بودند، در نظر گرفته شد. کل بطری‌ها جهت اندازه‌گیری گاز تولیدی به داخل دستگاه بن‌ماری در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد، منتقل شده و عمل قرائت فشار گاز تولیدی ناشی از تخمیر مواد غذایی در ساعات ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲٤، ۳٦، ٤۸، ۷۲، ۹٦ و ۱۲۰ پس از عمل انکوباسیون انجام گرفت (۲۷). مولفه‌های تولید گاز با استفاده از معادله $Y= b(1-exp^{-ct})$ تعیین شد (۲۱). در این رابطه Y گاز تجمعی تولیدشده در زمان

t (ساعت) انکوباسیون، b پتانسیل تولید گاز و c نـرخ تولید گاز است.

جدول ۳- اجزاء مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 3. Ingredients and chemical composition of the experimental diets

اجزای مواد خوراکی (درصد) Ingredients (%)	جیره‌های آزمایشی Experimental diets							
	بدون کتان No flaxseed		۱۰٪ کتان سالم 10%Whole flaxseed		۱۰٪ کتان آسیاب‌شده 10%Grounded flaxseed		۱۰٪ کتان اکسترودشده 10%Extruded flaxseed	
	٪۲۰RUP	٪۴۰RUP	٪۲۰RUP	٪۴۰RUP	٪۲۰RUP	٪۴۰RUP	٪۲۰RUP	٪۴۰RUP
سیلاژ ذرت (Corn silage)	66.36	66.36	66.36	66.36	66.36	66.36	66.36	66.36
کاه گندم (Wheat straw)	6.36	6.36	6.36	6.36	6.36	6.36	6.36	6.36
دانه جو (Barely grain)	13.64	13.64	3.64	3.64	3.64	3.64	3.64	3.64
تفاله چغندرقند (Beet pulp)	-	-	12.09	6.18	12.09	6.18	12.09	6.18
سبوس‌گندم (Wheat bran)	12.09	6.18	-	-	-	-	-	-
کربنات‌کلسیم (Calcium carbonate)	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27
دانه کتان سالم (Whole flaxseed)	-	–	10.00	10.00	-	-	-	-
دانه کتان آسیاب‌شده (Grounded flaxseed)	-	-	-	-	10.00	10.00	-	-
دانه کتان اکسترودشده (Extruded flaxseed)	-	-	-	-	-	-	10.00	10.00
یاسمینومکس (Yasminomax)	-	6.91	-	6.91	-	6.91	-	6.91
مکمل ویتامینی معدنی[1] (Minerals-vitamins[1])	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14
اوره (Urea)	1	-	1	-	1	-	1	-
نمک (Salt)	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14
ترکیب شیمیایی (Chemical composition)								
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری بر کیلوگرم) ME (Mcal/kg)	2.2	2.2	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3
پروتئین خام(درصد) Crude protein (%)	11.4	10.7	11.8	11.3	11.8	11.3	11.8	11.3
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد) ADF (%)	53.5	52.6	52.0	52.0	52.0	52.0	52.0	52.0

عصاره اتری(درصد) Ether extract (%)	3.0	2.8	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9
کربوهیدرات غیرفیبری (درصد) NFC (%)	26.0	27.1	24.0	24.0	24.0	24.0	24.0	24.0
پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای (درصد) RUP (%)	21.4	38.8	21.3	38.7	21.3	38.7	21.3	38.7
پروتئین قابل‌تجزیه شکمبه‌ای (درصد) RDP (%)	78.6	61.2	78.7	62.3	78.7	62.3	78.7	62.3
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.49	0.5	0.6	0.58	0.6	0.58	0.6	0.58
فسفر (درصد) Phosphorus (%)	0.42	0.4	0.3	0.33	0.3	0.33	0.3	0.33

۱-مکمل ویتامینی معدنی شامل: ۱۹۶ گرم در کیلوگرم کلسیم، ۹۶ گرم در کیلوگرم فسفر، ٤٦ گرم در کیلوگرم سدیم، ۱۹ گرم در کیلوگرم منیزیم، ۳۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آهن، ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ید، ۲۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز، ۳۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کبالت، ا میلی‌گرم سلنیوم، ۵۰۰ هزار واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین A، ۱۰۰ هزار واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین D3، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین E و ٤۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آنتی‌اکسیدانت.

[1)] Mineral and vitamin mix contained 200 g/kg Ca, 98 g/kg P, 21 g/kg Mg, 44 g/kg Na, 0.3 g/kg Cu, 2 g/kg Mn, 3 g/kg Fe, 3 g/kg Zn, 0.1 g/kg I, 0.1 g/kg Co, 0.001 g/kg Se, 500,000 IU/kg of vitamin A, 100 mg/kg of vitamin E, 100,000 IU/kg of vitamin D3, and 400 mg/kg Antioxidant.

آزمون تولید گاز برای تخمین تولید نیتروژن میکروبی: مرحله اول آزمایش تخمین تولید نیتروژن میکروبی بر اساس روش بلومل و لبزین (۲۰۰۱) انجام شد (٤)، با این تفاوت که وزن نمونه و محلول انکوباسیون به ترتیب از۵۰۰ میلی‌گرم و٤۰ میلی‌لیتر به۲۵۰ میلی‌گرم و۲۰ میلی‌لیتر کاهش یافت. نمونه‌ها پس از خشک شدن، با آسیاب با قطر منافذ یک میلی‌متر آسیاب شدند و در شیشه‌های مخصوص تولید گاز ریخته شدند. بیست میلی‌لیتر از محلول انکوباسیون به شیشه‌های مخصوص تولید گاز اضافه‌شده و در آنها بسته شد و سپس در بن‌ماری در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. چهار نمونه شاهد (محلول انکوباسیون، بدون سوبسترا) برای تعیین گاز تولیدشده از محلول انکوباسیون در بن‌ماری قرار گرفت. گاز تولیدشده در هر شیشه با استفاده از فشارسنج به‌صورت دستی در زمان‌های ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت اندازه‌گیری شد. پس از تصحیح گاز تولیدشده با استفاده از نمونه‌های شاهد، اعداد به‌دست آمده در مدل نمایی ارسکوف و مک‌دونالد (۱۹۷۹) قرار داده شدند (۲۱).

پس از انجام مرحله تولید گاز به مدت ۹٦ ساعت، $t_{1/2}$ با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد و انکوباسیون دیگری با جیره‌های آزمایشی به‌عنوان سوبسترا برای دستیابی به زمان‌های خاص سوبسترا (یعنی $t_{1/2}$ برای هر سوبسترا) انجام شد. $t_{1/2}$ یعنی مدت زمانی که نصف حداکثر گاز تولیدی برای هر سوبسترا وجود دارد. جمع‌آوری و آماده‌سازی مایع شکمبه و محلول انکوباسیون مانند روش ذکر شده برای مرحله ۹٦ ساعت بود. انکوباسیون در زمان$t_{1/2}$ متوقف شد و حجم گاز تولید شده ثبت شد (۱۱).

$$t_{1/2} = \ln 2/c \qquad \text{رابطه ۱}$$

در این رابطه، ln 2: لگاریتم نپری عدد ۲ (۰/٦۹۳) و c: ثابت نرخ تولید گاز بود. سپس میزان تولید نیتروژن میکروبی به‌طور غیرمستقیم به‌وسیله تعیین کمیت تمام منابع نیتروژن به جزء نیتروژن میکروبی با استفاده از رابطه‌ی ۲ زیر تخمین زده شد (۱۱).

رابطه ۲

$$\text{Microbial N production at } t_{1/2} = \text{dietN} + \Delta NH_3\text{–N} - \text{NDFN at } t_{1/2}$$

در این رابطه، dietN: مقدار نیتروژن در نمونه اولیه، ΔNH_3–N: تفاضل NH_3–N در بلانک در زمان صفر و NH_3–N در جیره‌ی کشت‌شده در زمان $t_{1/2}$ و NDFN at $t_{1/2}$: مقدار نیتروژن در نمونه محیط کشت پس از شستشو با محلول NDF در زمان $t_{1/2}$ است.

جهت اندازه‌گیری میزان نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها از روش واتربورن (۱۹۶۷) و جهت تعیین گوارش‌پذیری حقیقی نمونه‌ها از روش گورینگ و ون سوست (۱۹۷۰) استفاده گردید (به ترتیب ۳۰ و ۱۰).

مدل آماری: تجزیه‌وتحلیل داده‌های مربوط به ویژگی‌های تولید گاز، گوارش‌پذیری ظاهری و حقیقی و تولید نیتروژن میکروبی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل تحت رویه GLM و با نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۳) انجام شد (۲۵). برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. مدل آماری استفاده شده جهت تجزیه داده‌های آزمایش به‌صورت زیر بود:

رابطه ۳ $$Y_{ij} = \mu + F_i + R_j + F_i \times R_j + e_{ij}$$

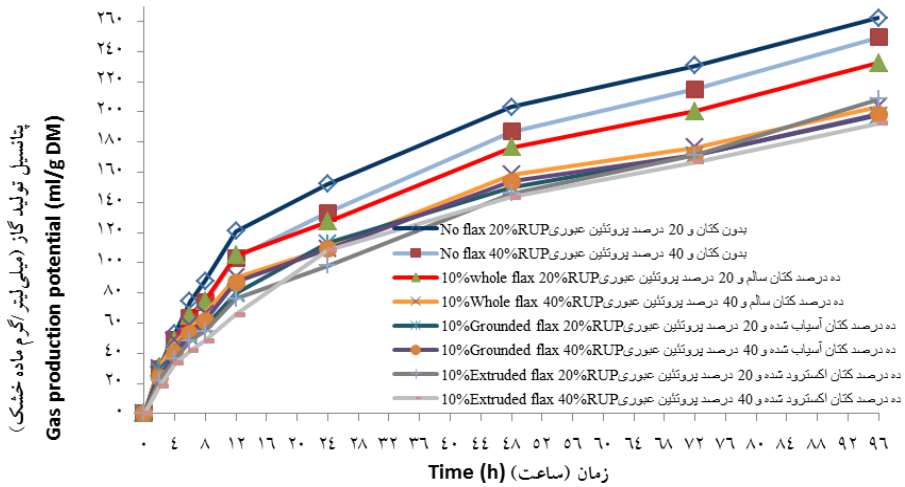
در این رابطه Y_{ij}= متغیر وابسته، μ= میانگین متغیر، F_i= اثرکتان، R_j= اثر RUP، $F_i \times R_j$= اثر متقابل کتان و RUP و e_{ij}= اثر خطا بود.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به تولید تجمعی گاز حاصل از جیره‌های دارای چند شکل دانه کتان و سطوح بالا و پایین پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای در طی مدت ۹۶ ساعت کشت برون‌تنی به روش تولید گاز در شکل ۱ و اثر دانه کتان و سطح پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای بر میزان تولید گاز با جیره‌های آزمایشی در زمان‌های انکوباسیون در شکل۲ و جدول ٤ نشان داده‌شده‌اند. جیره‌های شاهد بدون کتان به‌ویژه جیره دارای سطح ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای، در بیشتر ساعات کشت دارای بیشترین حجم تجمعی گاز در مقایسه با سایر جیره‌ها بودند. همچنین استفاده از دانه کتان در جیره‌های آزمایشی، به‌ویژه در نمونه‌های آسیاب‌شده، به‌طور معنی‌داری سبب کاهش میزان حجم گاز تولیدی توسط این جیره‌ها شد. به نظر می‌رسد که جیره‌های شاهد بدون کتان، احتمالاً به دلیل بالاتر بودن درصد دانه جو در آن‌ها نسبت به سایر جیره‌ها سبب افزایش میزان حجم گاز تولیدی شدند. افزودن دانه کتان به جیره‌های آزمایشی به‌ویژه به شکل اکسترودشده و نیز آسیاب شده، به دلیل آزاد شدن بیشتر روغن در محیط کشت و نیز به علت اثرات ممانعت کنندگی روغن دانه کتان بر فعالیت میکروارگانیسم‌های محیط انکوباسیون سبب کاهش میزان تولید گاز شدند (٦).

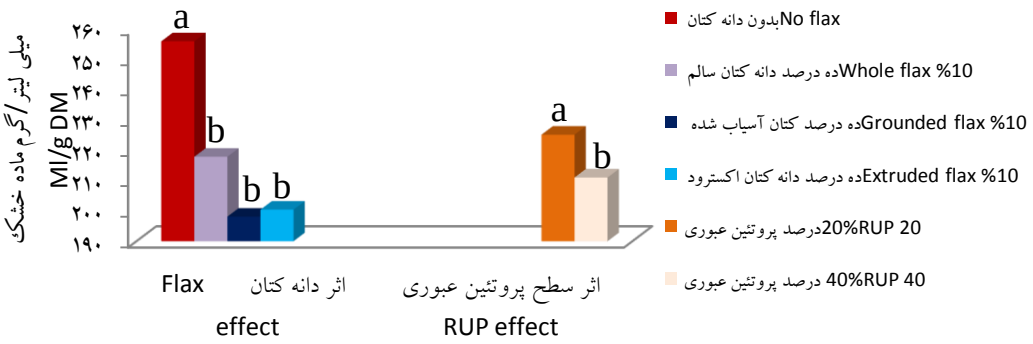
در همین زمینه، بشارتی و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند افزودن اسانس دانه کتان در غلظت‌های ٦۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم به سیلاژ یونجه به‌طور معنی‌داری غلظت نیتروژن آمونیاکی و نیز حجم گاز تولیدی را نسبت به شاهد کاهش داد (۳). مطابق با نتایج آزمایش حاضر، میلس و همکاران (۱۹۹۹) و نیز آفنر و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند در جیره‌های گلوکوژنیک به دلیل بالا بودن میزان کربوهیدرات‌های سریع‌التخمیر انرژی بیشتری برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های فعال در تخمیر تأمین کرده و تولید گاز بیشتر می‌شود (به ترتیب ۱۷ و ۱۹). نتایج این آزمایش نیز با مقایسه جیره‌های شاهد که دارای درصد بیشتری دانه جو و فاقد تفاله چغندرقند بودند، نسبت به جیره‌های دارای دانه کتان که درصد بیشتری تفاله چغندرقند داشتند، این فرضیه را تائید می‌نماید. علاوه بر این، بچ و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند جایگزین کردن کربوهیدرات‌های نشاسته‌ای (مثل دانه جو و ذرت) با الیاف محلول (تفاله چغندرقند)، سبب

کاهش گوارش‌پذیری و میزان گاز تولیدی در شکمبه می‌شود (۱).



شکل ۱- تولید تجمعی گاز حاصل از جیره‌های دارای چند شکل دانه کتان و دو سطح پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای در طی مدت ۹۶ ساعت کشت برون‌تنی

Figure 1. Cumulative gas production from diets containing different form of flaxseed and two levels of RUP during 96 h *in vitro* culture



شکل ۲- اثر دانه کتان و سطح پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای بر میزان تولید گاز با جیره‌های آزمایشی در زمان‌های انکوباسیون

Figure 2. The effect of flaxseed and RUP levels on the gas production of experimental diets during incubation times

جدول ٤-میزان و نرخ تولید گاز با جیره‌های آزمایشی دارای دانه کتان و سطوح متفاوت RUP

Table 4. The amount and rate of gas production in experimental diets containing flaxseed and different levels of RUP

اثر دانه کتان Flaxseed effect				اثر پروتئین عبوری RUP effect		سطح معنی‌داری P-value			
بدون کتان No flax	کتان سالم Whole flax	کتان آسیاب شده Grounded flax	کتان اکسترود شده Extruded flax	اشتباه معیار SEM[1]	۲۰درصد 20%	٤٠ رصد 40%	اشتباه معیار SEM	کتان flax	پروتئین عبوری RUP	کتان×پروتئین عبوری Flax*RUP
255.8[a]	217.8[b]	198.1[b]	200.4[b]	10.4	255.05[a]	210.1[b]	10.4	0.001	0.049	0.57
0.046	0.049	0.045	0.037	0.005	0.044	0.044	0.005	0.56	0.67	0.61

میزان تولید گاز در زمان‌های انکوباسیون Gas production in incubation times(ml/g DM)

نرخ تولید گاز در زمان های انکوباسیون Rate of gas production in incubation times (ml/h/g)

a وb حروف نامشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).

[a, b] Means with different superscripts within a rows are significantly different (P<0.05).

نتایج مطالعات گزرکاسکی و همکاران (۱۹۷۷) نشان داد اسیدهای چرب غیراشباع موجود در کتان تخمیر شکمبه‌ای را غیرفعال می‌کند و درنتیجه گوارش‌پذیری و تولید گاز کاهش می‌یابد (۷). به‌طور کلی، بررسی فراسنجه‌های تخمیری به‌روش تولید گاز به یکی از رایج‌ترین روش‌ها برای ارزیابی خوراک تبدیل شده است و می‌تواند بازتابی از الگوی تخمیر در شکمبه باشد (۹). مطالعات مختلف مشخص کردند مکمل‌های دارای اسیدهای چرب غیراشباع بالا، موجب کاهش تولید گاز در شکمبه می‌شوند. مطابق با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، کردی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند میزان تولید گاز با جیره‌های دارای دانه کتان اکسترودشده و پوست پسته نسبت به دیگر تیمارها کاهش می‌یابد (۱۵). در آزمایشی دیگر، کوئین و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی تاثیر جیره‌های دارای ذرت ورقه ورقه شده با بخار و بدون مکمل چربی (تیمار شاهد) و نیز جیره‌های دارای روغن کتان، روغن کتان فراوری‌شده با لیپاز و یا دانه کتان صابونی‌شده بر میزان تولید گاز به‌صورت آزمایشگاهی پرداخته و گزارش کردند میزان تولید گاز با تیمار دارای دانه کتان صابونی‌شده نسبت به سایر تیمارها پایین‌تر است. همچنین آنها گزارش دادند تیمار شاهد در مقایسه با سایر تیمارهای حاوی چربی بالاترین تولید گاز را دارد و پیشنهاد کردند افزودن اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه در جیره ممکن است به‌طور منفی بر تخمیر داخل شکمبه تأثیر بگذارد (۲٤).

جدول ۵- فراسنجه‌های شکمبه‌ای نیتروژن حاصل از جیره‌های آزمایشی دارای دانه کتان و سطوح متفاوت RUP در شرایط برون‌تنی

Table 5. Ruminal parameters of nitrogen by experimental diets containing flaxseed and different level of RUP in *in-vitro* condition

	جیره‌های آزمایشی Experimental diets								سطح معنی‌داری P-value			اثر پروتئین عبوری RUP effect		اثر دانه کتان Flax effect			
	بدون کتان No flax		کتان سالم Whole flax		کتان آسیاب شده Grounded flax		کتان اکسترود شده Extruded flax							بدون کتان	کتان سالم	کتان آسیاب شده	کتان اکسترود شده
	20% RUP	40% RUP	20% RUP	40% RUP	20% RUP	40% RUP	20% RUP	40% RUP	کتان×پروتئین Flax*RUP	پروتئین عبوری RUP	کتان Flax	۲۰ درصد 20% RUP	۴۰درصد 40% RUP	No flax	Whole flax	Grounded flax	Extruded flax
گوارش‌پذیری حقیقی True digestibility (mg/g DM)	684	612	583	553	610	628	536	540	0.33	0.28	0.001	603.2	583.2	684^{a}	568^{c}	619^{b}	538^{c}
نیتروژن متصل به الیاف نامحلول در شوینده خنثی N-NDF	1.26	1.29	1.52	1.55	1.35	1.76	1.25	1.91	0.16	0.02	0.22	1.35^{b}	1.63^{a}	1.3	1.53	1.56	1.58
نیتروژن میکروبی تولید شده Microbial nitrogen(mg)	3.58	3	3.71	3.02	2.8	2.65	3.84	3.05	0.2	<0.0001	0.0004	3.48^{a}	2.93^{b}	3.29^{a}	3.36^{a}	2.72^{b}	3.45^{a}
ماده خشک ناپدیدشده disappeared DM(Mg)	151.2	152.2	149	162.7	141.5	157	157.7	174.2	0.71	0.036	0.049	149.9^{b}	161.6^{a}	151.8^{ab}	155.8^{ab}	149.2^{b}	166^{a}
نسبت نیتروژن میکروبی به نیتروژن کل Microbial nitrogen/N-Total	0.79	0.65	0.77	0.6	0.58	0.53	0.83	0.63	0.15	<0.0001	<0.0001	0.74^{a}	0.6^{b}	0.72^{a}	0.69^{a}	0.56^{b}	0.73^{a}
نیتروژن آمونیاکی NH_3-N (mg)	0.18^{dc}	0.65^{bc}	0.06^{d}	0.92^{ab}	1.15^{a}	1.08^{ab}	0.03^{d}	0.38^{cd}	0.002	<0.0001	<0.0001	0.35^{b}	0.76^{a}	0.41^{b}	0.49^{b}	1.12^{a}	0.21^{c}
نسبت نیتروژن آمونیاکی به نیتروژن کل N-NH3/N-Total	0.04^{c}	0.14^{b}	0.01^{d}	0.18^{a}	0.24^{a}	0.22^{a}	0.007^{d}	0.08^{c}	0.002	<0.0001	<0.0001	0.07^{b}	0.16^{a}	0.09^{b}	0.1^{b}	0.23^{a}	0.04^{c}
نیتروژن قابل متابولیسم شکمبه‌ای Rumen metabolizable nitrogen (mg)	3.75	3.64	3.77	3.94	3.95	3.73	3.87	3.44	0.32	0.21	0.51	3.83	3.69	3.7	3.85	3.84	3.66

[a, b] حروف نامشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).

[a, b] Means with different superscripts within a rows are significantly different (P<0.05).

فراسنجه‌های شکمبه‌ای نیتروژن حاصل از جیره‌های آزمایشی در جدول ۵ و همبستگی بین فراسنجه‌های شکمبه‌ای نیتروژن در روش برون‌تنی در جدول ٦ نشان داده شده است. نتایج آنالیز همبستگی ساده بین فراسنجه‌های شکمبه‌ای نیتروژن نشان داد یک همبستگی منفی و معنی‌دار بین نیتروژن متصل به الیاف نامحلول در شوینده خنثی و گوارش‌پذیری حقیقی (r^2=-۰/۵۵، P<۰/۰۵)، بین نیتروژن کل با گوارش‌پذیری حقیقی و نیتروژن متصل به الیاف نامحلول در شوینده‌خنثی (به ترتیب ۰/۵۳- و r^2=-۰/۵۱، P<۰/۰۵)، بین نیتروژن آمونیاکی و نیتروژن میکروبی تولیدشده (r^2=-۰/۸۳، P<۰/۰۱) و بین نیتروژن قابل متابولیسم با نیتروژن متصل به الیاف نامحلول در شوینده خنثی و میلی‌گرم ماده خشک ناپدیدشده (به ترتیب ۰/٦۹- وr^2=-۰/۷٦، P<۰/۰۱) و همچنین یک همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میلی‌گرم ماده خشک ناپدیدشده با نیتروژن متصل به الیاف نامحلول در شوینده خنثی (r^2=۰/۸۲، P<۰/۰۱) وجود دارد.

نتایج نشان داد استفاده از دانه کتان در جیره‌های آزمایشی به‌ویژه به شکل اکسترود سبب کاهش معنی‌دار گوارش‌پذیری نیتروژن می‌شود (P=۰/۰۰۱). بخشی از کاهش گوارش‌پذیری در این جیره‌ها تا حدی به جایگزینی دانه جو با تفاله چغندرقند مرتبط است که دارای گوارش‌پذیری پایین‌تری در شکمبه است (۱). از طرف دیگر، با توجه به آزادسازی بیشتر روغن در جیره‌های حاوی کتان اکسترودشده، به نظر می‌رسد یکی دیگر از دلایل کاهش گوارش‌پذیری این جیره‌ها می‌تواند کاهش در جمعیت پروتوزوآی شکمبه‌ای (هرچند در این آزمایش به دلیل محدودیت شرایط آزمایشگاهی امکان اندازه‌گیری تعداد پروتوزوآ نبود) در اثر تغذیه این جیره‌ها باشد، چون قبلاً کاهش تعداد پروتوزوآ در اثر تغذیه دانه‌های روغنی و اسیدهای چرب غیراشباع گزارش شده‌است (۱۲). در همین رابطه گزارش‌شده اسیدهای چرب غیراشباع مشتق‌شده از روغن سویا نفوذپذیری غشاء میکروبی و مسیرهای مهم متابولیکی را به‌وسیله ایجاد یک پوشش لیپیدی روی سطح میکروب‌ها و یا به‌عنوان یک ماده سمی تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲۹). همچنین اثر منفی اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع در کاهش جمعیت میکروارگانیسم‌های سلولتیک و در نتیجه کاهش گوارش‌پذیری الیاف (۱۳) را نیز نباید در این زمینه نادیده گرفت. با توجه به گوارش‌پذیری حقیقی بالای جیره‌های دارای دانه کتان آسیاب شده (٦۱۹ میلی‌گرم در گرم ماده خشک جیره، جدول ٤)، تولید نیتروژن آمونیاکی با این جیره‌ها نسبت به سایر جیره‌های آزمایشی بالاتر بود (P=۰/۰۰۰٤)، اما در نهایت با توجه به مقدار بالای نیتروژن هضم نشده در این جیره‌ها و نیز مقدار پایین‌تر میلی‌گرم ماده خشک ناپدیدشده نسبت به سایر جیره‌ها در طی آزمایش، تولید نیتروژن میکروبی توسط جیره‌های دارای دانه کتان آسیاب شده نسبت به سایر جیره‌های آزمایشی به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود. به نظر می‌رسد در جیره‌های دارای کتان آسیاب‌شده، به‌دلیل شکل فیزیکی خاص آنها تأثیر اسیدهای چرب غیراشباع روغن کتان در حدی نبوده که سبب ممانعت از تکثیر و رشد پروتوزوآ شود و به دنبال آن برداشت نیتروژن آمونیاکی شکمبه‌ای و در نتیجه جریان نیتروژن باکتریایی را افزایش دهد.

بوچمین و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند اسیدهای چرب غیراشباع با ممانعت از تکثیر و رشد پروتوزوآ سبب افزایش جریان نیتروژن باکتریایی می‌شوند (۲)، بنابراین با کاهش تعداد پروتوزوآ که به‌وسیله مکمل دانه‌های روغنی ایجاد می‌شود، انتظار می‌رود غلظت‌های نیتروژن آمونیاکی کاهش یابد. در آزمایشی دیگر اولدیک و فرکینز (۲۰۰۰) گزارش کردند با حذف پروتوزوآ از شکمبه برداشت نیتروژن

آمونیاکی افزایش‌یافته و این امر به‌وسیله بازچرخش کمتر نیتروژن در داخل شکمبه و همچنین افزایش سنتز پروتئین میکروبی مشخص می‌شود (۲۰). همچنین جایگزین کردن دانه جو با تفاله چغندرقند در جیره‌های دارای دانه کتان، به علت کاهش تولید نیتروژن آمونیاکی در نهایت سبب افزایش پروتئین میکروبی در این جیره‌ها می‌شود. همچنین گزارش‌شده روغن‌های گیاهی و دانه‌های روغنی می‌توانند به‌وسیله جذب و رهاسازی آمونیاک شکمبه‌ای به‌عنوان یک تنظیم‌کننده عمل کنند و از فعالیت میکروبی شکمبه برای استفاده بهتر از آمونیاک و تبدیل نیتروژن به پروتئین میکروبی حمایت کنند (۱٤).

جدول ٦- همبستگی ساده بین فراسنجه‌های شکمبه‌ای نیتروژن در شرایط برون‌تنی

Table 5. Simple Correlation between ruminal parameters of nitrogen in *in-vitro* condition

	گوارش‌پذیری حقیقی True digestibility	نیتروژن متصل به الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDFN	نیتروژن میکروبی تولیدشده Microbial nitrogen production	میلی‌گرم ماده خشک ناپدیدشده Disappeared DM (mg)	نیتروژن نمونه (کل) N-Total	نیتروژن آمونیاکی NH_3-N	نیتروژن قابل متابولیسم Metabolizable nitrogen
گوارش‌پذیری حقیقی True digestibility	1						
نیتروژن متصل به الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDFN	-0.55*	1					
نیتروژن میکروبی تولیدشده Microbial nitrogen	0.22	-0.49	1				
میلی‌گرم ماده خشک ناپدیدشده Disappeared DM (mg)	-0.45	0.82**	-0.55*	1			
نیتروژن نمونه (کل) N-Total	-0.51*	-0.53*	-0.13	0.36	1		
نیتروژن آمونیاکی NH_3-N	-0.08	0.06	-0.83**	0.18	0.23	1	
نیتروژن قابل‌متابولیسم Metabolizable nitrogen	0.26	-0.76**	0.47	-0.69**	0.13	0.11	1

*و** به‌ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطوح ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

* and ** are significant differences at levels 5 and 1%, respectively

نتایج این آزمایش نشان داد با افزایش پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای و کاهش مقدار پروتئین قابل‌تجزیه در شکمبه، به‌طور معنی‌داری تولید نیتروژن میکروبی کاهش می‌یابد (P<۰/۰۱). گزارش‌شده که با افزایش سطح پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای و به علت کاهش بیش‌ازحد سطح پروتئین قابل‌تجزیه شکمبه‌ای، مصرف خوراک و به دنبال آن غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه کاهش‌یافته و در ادامه

سبب کاهش رشد و تکثیر میکروبی شکمبه و درنهایت کاهش سطح تخمیرات شکمبه‌ای می‌گردد (۲۸). با این وجود، جیره‌های دارای کتان آسیاب شده به دلیل افزایش دسترس‌پذیری میکروب‌ها به مواد مغذی، تولید نیتروژن آمونیاکی بالاتری نسبت به سایر جیره‌ها داشتند. اما این مقدار بیشتر تولید نیتروژن آمونیاکی منجر به افزایش تولید نیتروژن میکروبی در این جیره‌ها نشد. نتایج آزمایش حاضر مشابه نتایج سیلوا و همکاران (۲۰۱۸) بود که گزارش کردند با افزایش پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای جیره، سنتز پروتئین میکروبی، راندمان سنتز پروتئین میکروبی و راندمان استفاده از نیتروژن جهت سنتز پروتئین میکروبی کاهش می‌یابد (۲۶). پروتئین میکروبی به دلیل الگوی اسیدهای آمینه آن که مشابه با الگوی شیر و ماهیچه است، منبع اصلی اسیدهای آمینه برای نشخوارکنندگان محسوب می‌شود.

نتیجه‌گیری

از آنجا که یکی از اهداف اصلی آزمایش حاضر بررسی میزان تولید پروتئین میکروبی جیره‌های آزمایشی بود، جیره‌های حاوی کتان سالم و اکسترودشده علی‌رغم پایین بودن میزان گوارش‌پذیری آنها، اما تولید پروتئین میکروبی بالاتری را نشان دادند. از طرفی سطح ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای نیز بالاترین مقدار تولید گاز و پروتئین میکروبی را نشان داد. بنابراین به نظر می‌رسد ازنقطه‌نظر اقتصادی و همچنین عملکرد جیره‌ها، استفاده از جیره حاوی ۱۰ درصد کتان اکسترودشده به همراه ۲۰ درصد پروتئین غیرقابل تجزیه شکمبه‌ای می‌تواند مفید و مؤثر باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به‌واسطه فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی جهت انجام این طرح و همچنین گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1.Bach, A., Yoon, I.K., Stern, M.D., Jung, H.G. and Chester-jones, H. 1999. Effects of type of carbohydrate supplementation to lush pasture on microbial fermentation in continuous culture. Journal of Dairy Science, 82:153-160.

2.Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Benchaar, C. and Holtshausen, L. 2009. Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: Effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. Journal of Dairy Science, 92:2118–2127.

3.Besharati, M., Niazifar, M., Nemati, Z., Karimi, A. and Sheikhlou, M. 2020. The Effect of Adding Different Levels of Flaxseed Essential Oil to Alfalfa Silage on Chemical Composition and *in vitro* Fermentation Characteristics. Research on Animal Production, 29:48-55. (In Persian).

4.Blummel, M. and Lebzien, P. 2001. Predicting ruminal microbial efficiencies of dairy ration by *in vitro* techniques. Livestock Production Science, 68:107-117.

5.Blummel, M. and Ørskov, E.R. 1993. Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. Animal Feed Science and Technology, 40:109-119.

6.Czerkawski, J.W. 1973. Effect of linseed oil fatty acids and linseed oil on rumen fermentation in sheep. The Journal of Agricultural Science, 81:517-525.

7.Czerkawski, I.W. and Breckenridge, G. 1977. Design and development of a long–term rumen simulation technique (Rusitec). British Journal Nutrition, 38:371-380.

8.Getachew, G., Crovetto, G.M., Fondevila, M., Krishna moorthy, U., Singh, B., Spanghero, M., Steingass, H., Robinson, P.H. and Kailas, M.M. 2002. Laboratory variation of 24 h in vitro gas production and estimated metabolizable energy values of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 102:169-180.
9.Getachew, G., Robinson, P.H., DePeters, E.J. and Taylor, S.J. 2004. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 111:57-71.
10.Goering, H.K. and Van Soest, P.J. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and some applications). In: Agricultural Handbook No. 379. USDA-ARS, Washington, DC, USA.
11.Grings, E.E. and Blummel , M. 2005. Methodological consideration in using gas production techniques for estimating ruminal microbial efficiencies for silage-based diets. Animal Feed Science and Technology,123-124: 527-545.
12. Ivan, M., Mir, P.S., Mir, Z., Entz, T., He, M.L. and McAllister, T.A. 2004. Effects of dietary sunflower seeds on rumen protozoa and growth of lambs. British Journal of Nutrition, 92: 303–310.
13.Jenkins, T.C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. Journal of Dairy Science. 76:3851-3863.
14.Kholif, A.E., Morsy, T.A. and Abdo, M.M. 2018. Crushed flaxseed versus flaxseed oil in the diets of Nubian goats: Effect on feed intake, digestion, ruminal fermentation, blood chemistry, milk production, milk composition and milk fatty acid Profile. Animal Feed Science and Technology, 244:66-75.
15.Kordi, M. 2015. Production of extruded linseed resistant to oxidation and its effect on performance, fatty acid composition of rumen fluid and milk of dairy cows fed pistachio by-product. PhD Thesis, Ferdowsi University of Mashhad, 106 pages. (In Persian).
16.Menke, K.H. and Steingass, H. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research and Development, 28:7-55.
17.Mills, J.A.N., France, J. and Dijkstra, J. 1999. A review of starch digestion in the lactating dairy cow and proposals for a mechanistic model: 1 dietary starch characterization and ruminal starch digestion. Animal Feed Science and Technology, 8:291-300.
18.Mustafa, A.F., Gonthier, C. and Ouellet, D.R. 2003. Effects of extrusion of flaxseed on ruminal and post-ruminal nutrient digestibilities. Archives of Animal Nutrition.57:455-463.
19.Offner, A., Bach, A. and Sauvant, D. 2003. Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen. Animal Feed Science and Technology, 106:81-93.
20.Oldick, B.S. and Firkins, J.L. 2000. Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily. Journal of Animal Science, 78: 2412–2420.
21.Ørskov, E.R. and McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agriculture Science, 92:499-503.
22.Petit, H.V. 2010. Review: Feed intake, milk production and milk composition of dairy cows flaxseed. Canadian Journal of Animal Science, 90:115-127.
23.Petit, H.V. and Côrtes, C. 2010. Milk production and composition, milk fatty acid profile, and blood composition of dairy cows fed whole or ground flaxseed in the first half of lactation. Animal Feed Science and Technology, 158:36–43.
24.Quinn, M.J., Loe, E.R., Depenbusch, B.E., Higgins, J.J. and Drouillard, J.S. 2008. The effects of flaxseed oil and derivatives on *in vitro* gas production, performance, carcass characteristics, and meat quality of finishing steers. The Professional Animal Scientist, 24: 161–168.
25.SAS. 2003. Institute Inc. SAS Users Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC.
26.Silva, A.L., Detmann, E., Renno, L.N., Pedroso, A.M., Fontes, M.M.S., Morais, V.C., Sguizzato, A.L.L., Abreu, M.B., Rotta, P.P. and Marcondes, M.I. 2018. Effects of rumen un-

degradable protein on intake, digestibility and rumen kinetics and fermentation characteristics of dairy heifers. Journal of Animal Feed Science and Technology, 244:1–10.
27. Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. and France, J. A. 1994. Simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 48:185-197.
28. Tufarelli, V., Dario, M. and Laudadio, V. 2009. Influence of dietary nitrogen sources with different ruminal degradability on growth performance of Comisana ewe lambs. Small Ruminant Research, 81:132–136.
29. Wang, C., Liu, Q., Guo, G., Huo, W.J., Ma, L., Zhang, Y.L., Pei, C.X., Zhang, S.L. and Wang, H. 2018. Effects of dietary soybean oil and coated folic acid on ruminal digestion kinetics, fermentation, microbial enzyme activity and bacterial abundance in Jinnan beef steers. Livestock Science, 217: 92–98.
30. Weatherburn, M.W. 1967. Phenol-Hypochlorite reaction for determination of ammonia. Analytical Chemistry, 39(8):971-974.