

توصیف اجزای ازت در پنج چین متوالی علوفه یونجه به عنوان منبع پروتئین در جیره اسب‌سانان

ساناز احمدی^۱، سیده‌ادی ابراهیمی^{۲*}، محسن دانش‌مسگران^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۲. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۳. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

* ایمیل نویسنده مسئول: sbobrahimi@um.ac.ir

چکیده

یونجه (*Medicago sativa*) به دلیل محتوای بالای پروتئین خام، علوفه‌ای کلیدی در جیره اسب است، اما قابلیت هضم اجزای نیتروژنی آن برای تأمین نیازهای پروتئینی اسب مورد تردید است. این پژوهش با هدف بررسی اجزای نیتروژن یونجه در پنج چین متوالی یک مزرعه‌ای تجاری در استان خراسان رضوی، از منظر سودمندی برای اسب انجام شد. نمونه‌های یونجه در مرحله پیش از گل‌دهی برداشت، خشک و آسیاب شدند. ترکیب شیمیایی (ماده خشک، پروتئین خام، فیبر نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی) و اجزای نیتروژن (پروتئین محلول در بافر، نیتروژن غیرپروتئینی، پروتئین نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی) با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد میانگین پروتئین خام از ۱۳۱/۹۲ تا ۲۳۴/۰۸ گرم بر کیلوگرم ماده خشک متغیر بود. حداکثر پروتئین قابل هضم در روده کوچک (۹۵/۹۷ گرم بر کیلوگرم، چین سوم) تنها بخت کوچکی از پروتئین خام را تشکیل می‌داد و بخش عمده نیتروژن (۱۰۴/۵۶ تا ۱۶۸/۹۵ گرم بر کیلوگرم) غیرقابل هضم بود. این امر نشان‌دهنده محدودیت یونجه در تأمین نیاز پروتئینی اسب و افزایش بار متابولیکی کبد و کلیه به جهت دفع ازت اضافی است. کاهش استفاده از یونجه در جیره اسب، علاوه بر صرفه اقتصادی، به حفظ سلامت حیوان و کاهش آلودگی زیست‌محیطی کمک می‌کند.

کلمات کلیدی: یونجه، پروتئین قابل هضم، اسب، نیتروژن غیرپروتئینی، پایداری زیست‌محیطی.

مقدمه

جداول آخرین استاندارد احتیاجات غذایی و ترکیب مواد شیمیایی اسب مبتنی بر پروتئین خام است [۱]. در سال ۲۰۱۵، محققان گزارش کردند که پروتئین‌های نامحلول در شوینده خنثی (NDICP)، اسیدی (ADICP) و نیتروژن غیرپروتئینی (NPN) برای اسب قابل استفاده نیستند و صرفاً می‌توانند به عنوان منابع ازت مورد نیاز برای جمعیت میکروبی روده بزرگ به شمار آیند [۲]. اسب‌سانان برای تأمین نیازهای تغذیه‌ای خود به ترکیبی از هضم آنزیمی در بخش پیشین (معده و روده کوچک) و تخمیر میکروبی در بخش پسین (سکوم، کولون بزرگ و کوچک، و رکتوم) دستگاه گوارش وابسته‌اند. بخش پسین از طریق تولید اسیدهای چرب فرار (VFA) ۶۰ تا ۷۰ درصد انرژی مورد نیاز اسب را تأمین می‌کند، در حالی که بخش پیشین عمدتاً مسئول هضم نشاسته و پروتئین محلول در شوینده خنثی (NDSCP) است [۳]. همه پروتئین‌های نامحلول در شوینده خنثی (NDICP) و اسیدی (ADICP) به شکل مستقیم و نیتروژن غیرپروتئینی (NPN) به شکل مستقیم و غیر مستقیم به روده بزرگ منتقل شده و به‌عنوان منبعی برای تولید پروتئین میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در حالی که گزارش شده ۹۰ درصد پروتئین محلول در شوینده خنثی قابل هضم است، پروتئین میکروبی تولید شده در روده بزرگ به میزان زیادی برای اسب‌سانان قابل استفاده نیست [۲]. شواهد اخیر نشان‌دهنده وجود ناقل‌های اسیدآمینه کاتیونی و خنثی در غشای حاشیه‌ای سکوم و روده بزرگ است، اما مشخص نیست که آیا این اسیدهای آمینه صرفاً برای استفاده سلول‌های اپیتلیال روده هستند یا به جریان خون وارد می‌شوند [۴].

تحقیقات نشان داده است که قابلیت هضم دیواره سلولی در جیره‌های کم پروتئین و متوازن پروتئینی تغذیه شده به اسب اختلاف معنی‌داری نداشته و این حقیقت نشان می‌دهد نیاز ازت جمعیت میکروبی روده بزرگ از طریق تغییر مسیر دفع ازت از ادرار به دستگاه گوارش قابل تامین است [۵]. لذا در تهیه جیره‌های متوازن پروتئینی برای اسب دغدغه اصلی نیاز واقعی خود اسب است نه جمعیت میکروبی روده بزرگ. بنابراین تغذیه پروتئین خام غیرقابل استفاده برای اسب منجر به افزایش فعالیت کبد و کلیه جهت دفع ازت غیرقابل استفاده و صرف انرژی بدن برای این منظور می‌شود [۶].

اگر چه از گذشته یونجه (*Medicago sativa*) به دلیل محتوای پروتئین خام بالا (۱۳ تا ۲۵ درصد بسته به مرحله رشد) یکی از مهم‌ترین علوفه‌های پایه در جیره علف خواران بسیاری از نقاط دنیا است. با این حال مطالعات محدود در خصوص اجزای ازت در این علوفه، سودمندی پروتئین آن را برای اسب با چالش مواجه می‌کند. به عنوان مثال مطالعه قنات و همکاران نشان دادند حدود ۳۲ و ۱۱ درصد از ازت یونجه خشک به ترتیب ازت غیر پروتئینی و بخش غیرقابل دسترس (بخش C) بودند. به عبارتی ۴۲ درصد ازت یونجه قابلیت استفاده برای تامین اسید آمینه‌های مورد نیاز اسب را ندارند [۷]. در مطالعه دیگری پروتئین محلول یک نمونه یونجه خشک با پروتئین ۱۹/۳ در صد تنها ۱/۳ در صد گزارش شده است [۸]. با این شواهد، اولاً تغذیه مقادیر زیاد یونجه به اسب از یک سو سلامت عمومی حیوان را در معرض خطر قرار می‌دهد، دوماً ضرر اقتصادی محسوب شده و سوماً موجب دفع بیش از حد ازت و آلودگی زیست محیطی خواهد شد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش، مطالعه اجزای ازت در چین‌های متوالی یونجه کشت شده در یک زمین زراعی تجاری در نزدیک شهر مشهد واقع در استان خراسان رضوی از منظر سودمندی و کارایی برای تامین نیازهای پروتئینی اسب بود.

مواد و روش‌ها

به منظور انجام این آزمایش، نمونه‌های یونجه (بذر وارداتی) پنج چین متوالی (چین اول: ۲۴ فروردین، چین دوم: ۲۸ اردیبهشت، چین سوم: ۱ تیر، چین چهارم: ۱ شهریور و چین پنجم: ۱ مهرماه سال ۱۴۰۲)، در ساعت حدود ۱۵ و در مرحله رشد قبل از گلدهی از ۱۰ نقطه یک مزرعه تجاری واقع در جاده میامی، خراسان رضوی-ایران برداشت شدند. فواصل برداشت تابع میزان و دسترسی کشاورز به منابع آبی و لذا غیرقابل کنترل بود. به عنوان مثال چین اول و دوم دو مرتبه، چین سوم یک مرتبه، چین چهارم بدون آبیاری و چین پنجم یک مرتبه آبیاری غرقابی داشتند. علوفه‌ها پس از برداشت به مدت ۴۸ ساعت در آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. نمونه‌های خشک سپس به منظور تعیین ترکیب شیمیایی و بررسی اجزای نیتروژن با آسیاب دارای توری ۱ میلی‌متر آسیاب شدند. برای اندازه‌گیری ماده خشک و پروتئین خام (CP) از روش AOAC و برای تعیین فیبر نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) از روش ون سوست و همکاران استفاده شد [۹ و ۱۰]. به منظور تعیین اجزای ازت در نمونه‌های آزمایشی یونجه‌ها شامل پروتئین نامحلول در شوینده خنثی (NDICP)، نیتروژن غیرپروتئینی (NPN)، پروتئین نامحلول در شوینده اسیدی (ADICP) و پروتئین محلول در بافر یورت-فسفات (BSP) از روش لیسیترا و همکاران استفاده شده است [۱۱].



جدول ۱) ترکیب شیمیایی پنج چین متوالی یونجه در مرحله قبل از گل‌دهی

متغیر (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)	چین برداشت	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۴۵۸/۱۵ ± ۳۸/۴۲	۴۶۹/۰۵ ± ۶۲/۰۹	۴۲۹/۳۸ ± ۳۸/۳۵	۴۲۶/۵۱ ± ۳۵/۷۷	۴۲۵/۳۸ ± ۶۰/۴۵	
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۳۳۶/۴۸ ± ۴۹/۳۱	۲۷۷/۰۸ ± ۵۰/۲۵	۳۱۸/۳۲ ± ۱۷/۰۷	۳۲۴/۶۹ ± ۳۷/۳۷	۲۴۹/۲۵ ± ۴۵/۲۴	
پروتئین خام	۱۳۱/۹۲ ± ۷/۳۳	۱۹۴/۲۹ ± ۴/۸۷	۲۳۴/۰۸ ± ۴/۷۴	۱۷۶/۴۱ ± ۳/۲۸	۲۲۱/۲۳ ± ۹/۹۶	
پروتئین حقیقی	۸۴/۷۷ ± ۳/۵۴	۱۳۰/۳۳ ± ۳/۰۵	۱۵۰/۸۲ ± ۴/۰۴	۱۲۴/۴۳ ± ۸/۱۷	۱۵۵/۹۹ ± ۹/۹۷	
ازت غیر پروتئینی (معادل پروتئین)	۴۷/۱۶ ± ۹/۶۸	۶۵/۱۹ ± ۷/۵۴	۸۵/۳۳ ± ۴/۸۸	۵۸/۷۸ ± ۱۸/۲۶	۵۸/۷۳ ± ۲۱/۱۴	
پروتئین نامحلول در شوینده خنثی	۳۸/۱۶ ± ۱۰/۹۷	۵۴/۳۲ ± ۰/۶۶	۷۶/۸۳ ± ۱۱/۰۵	۵۶/۲۴ ± ۱۲/۶۴	۷۴/۸۳ ± ۱۲/۰۳	
پروتئین نامحلول در شوینده اسیدی	۱۹/۲۴ ± ۸/۶۰	۲۴/۴۳ ± ۹/۷۱	۴۳/۷۹ ± ۳/۹۹	۳۷/۱۵ ± ۹/۶۴	۳۵/۳۸ ± ۹/۴۰	
پروتئین محلول در بافر	۵۸/۷۴ ± ۶/۴۷	۸۴/۶۸ ± ۸/۵۳	۱۰۸/۸۳ ± ۵/۶۳	۷۳/۹۵ ± ۳/۳۳	۹۹/۰۰ ± ۱۴/۳۱	



شکل ۱) پروتئین قابل هضم یونجه در روده کوچک اسب (گرم بر کیلوگرم ماده خشک) در پنج چین متوالی یونجه خشک. محاسبه شده بر اساس پروتئین محلول در بافر ضرب در ضریب ۰/۹ [۲]

نتایج و بحث

اجزای فیبر

جدول ۱ نشان می‌دهد، یونجه‌های مورد مطالعه به‌طور متوسط دارای ۴۴۱/۶۹ گرم بر کیلوگرم ماده خشک فیبر نامحلول در شوینده خنثی بودند. علاوه بر این، مقادیر بیشینه و کمینه فیبر نامحلول در شوینده خنثی به ترتیب ۶۰/۴۵ و ۴۶۹/۰۵ ± ۶۲/۰۹

$\pm 425/28$ گرم بر کیلوگرم ماده خشک در چین دوم و پنجم مشاهده شده بودند. الگوی تغییرات فیبر نامحلول در شوینده اسیدی تا حدود زیادی شبیه به فیبر نامحلول در شوینده خنثی بود به نحوی که چین پنجم کمترین مقدار این فراسنجه را ($\pm 45/24$ گرم بر کیلوگرم ماده خشک) دارا بود و بیشینه آن در چین اول ملاحظه شده بود ($\pm 49/31$ گرم بر کیلوگرم ماده خشک).

پروتئین خام و اجزای نیتروژن

همان‌طور که در جدول ۱ خلاصه شده است، پروتئین خام یونجه به ترتیب $131/92 \pm 7/23$ ، $194/29 \pm 4/87$ ، $40/74 \pm 234/08$ ، $176/41 \pm 3/28$ و $221/23 \pm 9/96$ گرم بر کیلوگرم ماده خشک در چین اول تا پنجم بودند. همان‌طور که قبلاً در بخش مواد و روش‌ها ذکر شده بود، چین چهارم بدون آبیاری برداشت شده بود و چین سوم و پنجم نیز یک بار آبیاری شده بودند و اگرچه این مسئله ارتفاع بوته و میزان محصول برداشت شده را تحت تأثیر قرار داده بود اما روند تغییرات پروتئین یونجه تا چین سوم تحت تأثیر فاکتور آبیاری قرار نگرفته بود.

مجموع کل پروتئین غیر قابل هضم در روده کوچک (شامل NDICP، ADICP و معادل پروتئینی ازت غیر پروتئینی ($6/25 \times NPN$)) به طور متوسط $155/11$ و به ترتیب $29/24 \pm 104/56$ ، $17/90 \pm 143/94$ ، $19/92 \pm 205/94$ ، $40/55 \pm 152/17$ و $42/57 \pm 168/95$ گرم بر کیلوگرم ماده خشک در چین‌های اول تا پنجم بودند. شکل ۱، مقادیر پروتئین قابل هضم در روده کوچک اسب را نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود حداقل و حداکثر این فراسنجه در چین اول $52/87 \pm 5/82$ و سوم $5/06 \pm 97/95$ مشاهده شده بود. به عبارت دیگر حداکثر $39/83$ درصد از کل پروتئین خام یونجه در روده کوچک اسب قابل هضم است. احتیاجات پروتئینی اسب‌های بالغ به طور متوسط $1/26$ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد [۱]. بنابراین یک اسب با وزن 500 کیلوگرم به طور متوسط 630 گرم پروتئین خام نیاز دارد که اگر روزانه $2/5$ درصد وزن بدن ماده خشک مصرف کند ($12/5$ کیلوگرم) و روزانه 10 کیلو یونجه خشک با پروتئین 17 درصد مصرف کند، $2/44$ برابر نیاز روزانه پروتئین مصرف کرده است. با در نظر گرفتن این موضوع و یافته‌های این پژوهش که نشان داد حداکثر $39/83$ درصد از پروتئین خام یونجه در روده کوچک قابل هضم است، استفاده از یونجه به عنوان تنها منبع علوفه، اسب را در معرض تنش بیش‌بود ازت جیره قرار می‌دهد که در طول زمان سلامت کبد و کلیه را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

خشک‌سالی‌های اخیر و تغییر الگوی کشت علوفه در کشور قیمت یونجه خشک را به حدود $1/5$ برابر غلات افزایش داده و پیش‌بینی می‌شود همانند برخی ایام قیمت آن به دو برابر غلات نیز برسد. در چنی شرایطی کاهش استفاده از یونجه در جیره اسب نه تنها توجیه اقتصادی دارد بلکه سلامت عمومی حیوان را حفظ نموده و موجب کاهش دفع ازت مازاد بر نیاز از طریق ادرار و مدفوع شده و فوائد زیست‌محیطی نیز در بردارد.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی یافته‌های این پژوهش نشان داد بخش قابل توجهی از پروتئین یونجه خام مورد مطالعه، در روده کوچک اسب قابل هضم نیست و یا در صورت جذب می‌بایست از طریق ادرار و یا مدفوع دفع شود. لذا کاهش استفاده از یونجه در جیره اسب دارای توجیه اقتصادی و زیست محیطی بوده و سلامت عمومی حیوان را بیشتر تأمین می‌کند. آزمایشات متابولیکی برای بررسی توازن نیتروژن در شرایط استفاده از یونجه به عنوان تنها منبع علوفه، قویاً توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر حمایت از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول (طرح پژوهشی شماره N3-60621) قدردانی می‌شود. حمایت شرکت دانش‌بنیان فرآورده‌های فردوسی مشهد نیز از پژوهش جاری شایسته تقدیر است.

منابع

1. National Research Council (2007) Nutrient requirements of horses. Washington, DC: National Academies Press.

2. Zeyner, A., Liesegang, A., Fürll, M., Kienzle, E. & Coenen, M. (2015) 'A new protein evaluation system for horse feed from literature data', *Journal of Nutritional Science*, 4, pp. 1-3. Available at: <https://doi.org/10.1017/jns.2014.66>.
3. Martin-Rosset, W., Andrieu, J., Vermorel, M. & Dulphy, J.P. (1994) The French horse feed evaluation systems and recommended allowances for energy and protein', *Livestock Production Science*, 40(1), pp. 37-56. Available at: [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(94\)90264-X](https://doi.org/10.1016/0301-6226(94)90264-X).
4. Woodward, A.D., Nielsen, B.D., O'Connor, C.I. & Robison, C.I. (2012) 'Characterization of L-lysine transport across equine and porcine jejunal and colonic brush border membrane', *Journal of Animal Science*, 90(3), pp. 853-862. Available at: <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4210>.
5. Martin, R.G., McMeniman, N.P. & Dowsett, K.F. (1996) 'Utilization of endogenous and dietary urea in the large intestine of the mature horse', *British Journal of Nutrition*, 76(3), pp. 373-386. Available at: <https://doi.org/10.1079/BJN19960043>.
6. Nelson, D.D. & Tyznik, W.J. (1971) 'Protein and nonprotein nitrogen utilization in the horse', *Journal of Animal Science*, 32(1), pp. 68-73.
7. Fatahnia, F., Khatibjoo, A., Mosavi, S.G., Mohammadizad, T., Tahmasbi, H. & Pormalekshahi, A. (2015) 'Effect of drying method on digestibility of alfalfa hay harvested in the morning or afternoon', *Research on Animal Production*, 7(14), pp. 125-135. (In Persian).
8. Buse, K.K. & Kononoff, P.J. (2025) 'Testing preference of alfalfa hay of different relative feed value and brome hay in lactating Jersey cows', *JDS Communications*, 6(2), pp. 223-226. Available at: <https://doi.org/10.3168/jdsc.2024-0653>.
9. Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition', *Journal of Dairy Science*, 74(10), pp. 3583-3597. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).
10. Horwitz, W. & Latimer, G.W. (eds.) (2005) Official methods of analysis of AOAC International. 18th edn. Gaithersburg, MD: AOAC International.
11. Licitra, G., Hernandez, T.M. & Van Soest, P.J. (1996) Feedbunk management evaluation techniques', *Animal Feed Science and Technology*, 57(4), pp. 347-358.

Description of alfalfa forage nitrogen fractions in five consecutive cuts as a protein source for equines

Ahmadi Sanaz¹, Ebrahimi SeyedHadi^{2*}, Danesh Mesgaran Mohsen³

1. M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
3. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

*Corresponding author E-mail: shebrahimi@um.ac.ir

Abstract

Alfalfa (*Medicago sativa*) is a key forage in equine diets due to its high crude protein content, but the digestibility of its nitrogen components for meeting equine protein requirements remains uncertain. This study aimed to evaluate the nitrogen fractions of alfalfa across five consecutive cuts in a commercial field located in Khorasan Razavi, Iran, as a protein source for horses. Alfalfa samples were harvested at the pre-flowering stage, dried, and grounded. Chemical composition (Dry Matter, Crude Protein, Neutral and Acid Detergent Fiber) and nitrogen fractions (buffer-soluble protein, non-protein nitrogen, neutral and acid detergent insoluble protein) were measured using standard methods. Results showed that crude protein ranged from 131.92 to 234.08 g/kg dry matter. The maximum digestible protein in the horse's small intestine (95.97 g/kg, third cut) constituted only a small fraction of crude protein, with a significant portion of nitrogen (104.56 to 168.95 g/kg) being indigestible. This indicates alfalfa's limitation in meeting equine protein needs and increases the metabolic burden on the liver and kidneys due to excess nitrogen excretion. Reducing alfalfa use in equine diets, besides being cost-effective, supports animal health and reduces environmental pollution.

Keyword(s): Alfalfa, digestible protein, horse, non-protein nitrogen, environmental sustainability.