تولیدات دامی
دوره ۱۹ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۶
صفحه‌های ۵۵۵-۵۴۵

آثار منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی بر تخمیر و تولید گاز منابع علوفه‌ای در شرایط برون‌تنی

سمیه فتحی[۱]، علی اسدی‌الموتی[۲]*، احمد افضل‌زاده[۳]، محمدعلی نوروزیان[۴]

۱. کارشناسی‌ارشد، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران
۲. استادیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران
۳. استاد، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران
۴. دانشیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۶/۰۱/۱۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۵/۲۲

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی آثار تخمیر منبع علوفه در تخمیر هم‌زمان با منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی در طرح پایه کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل (نُه تیمار و سه تکرار) انجام شد. از کاه گندم، یونجه و ذرت سیلوشده به‌عنوان منبع علوفه و از نشاسته، ساکارز و پکتین به‌عنوان اجزای مهم کربوهیدرات‌های غیرالیافی استفاده شد. ۰/۲ گرم از هر منبع علوفه همراه با ۰/۳ گرم از هر منبع کربوهیدرات‌های غیرالیافی در شرایط آزمایشگاهی به مدت ۲۴ ساعت تخمیر شدند و طی آن الگوی تولید گاز، قابلیت هضم ظاهری، قابلیت هضم حقیقی، تودهٔ میکروبی، pH و آمونیاک اندازه‌گیری شد. منبع علوفه و کربوهیدرات به‌تنهایی هر کدام بر تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون، قابلیت هضم ظاهری، قابلیت هضم حقیقی و همچنین آمونیاک اثر معنادار داشتند ($p< ۰/۰۵$) هر چند اثر متقابل بین این دو منبع مشاهده نشد. برآورد سنتز تودهٔ میکروبی برای منبع کاه از سایر منابع علوفه کمتر بود (۰/۱۴ در برابر ۰/۱۶ گرم در گرم ماده خشک، $p < ۰/۰۵$) اما تحت تأثیر منبع کربوهیدرات‌های غیرالیافی و یا اثر متقابل دو منبع قرار نگرفت. همچنین، منابع کربوهیدرات‌های غیرالیافی اثر معناداری بر pH محیط کشت داشتند (۵/۸۷ برای ساکارز در برابر ۶/۰۵ برای پکتین). نتایج این مطالعه نشان داد که آثار کربوهیدرات‌های غیرالیافی در محیط کشت‌های هم‌زمان با منابع مختلف علوفه قابل پیش‌بینی و مطابق با آثارشناخته شده در شرایط درون‌تنی بوده و تحت تأثیر آثار متقابل با منبع علوفه قرار نگرفت.

کلیدواژه‌ها: پکتین، ساکارز، غلظت آمونیاک، قابلیت هضم، نشاسته.

* نویسنده مسئول: Email: a.alamouti@ut.ac.ir

مقدمه

درگذشته سیستم‌های تغذیه‌ای نشخوارکنندگان براساس مواد آلی قابل تخمیر یا قابل هضم بود؛ اما اکثر میکروارگانیسم‌های شکمبه قادر هستند که صرفاً با استفاده از کربوهیدرات‌ها یا محصولات ثانویه تخمیر کربوهیدرات‌ها رشد کنند، زیرا نخست میکروارگانیسم‌های تجزیه‌کنندهٔ اسیدهای چرب در شکمبه بسیار آرام رشد می‌کنند و دوم نرخ تولید انرژی از اسیدهای آمینه آن‌قدر کند است که رشد میکروارگانیسم‌ها با استفاده از اسیدهای آمینه اغلب امکان‌پذیر نیست. به همین دلایل، پروتئین مصرفی اثر کمی بر تولید پروتئین میکروبی دارد و محاسبهٔ پروتئین میکروبی بر اساس کربوهیدرات‌های تخمیرشدنی در شکمبه دقیق‌تر است و همبستگی بین تولید پروتئین میکروبی و کربوهیدرات‌های تخمیرشدنی (R^2=۰/۹۸) بیشتر از ماده آلی تخمیرشدنی در شکمبه است [۱۸].

کربوهیدرات‌ها حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد کل جیرهٔ نشخوارکنندگان را تشکیل می‌دهند. علاوه بر تأمین انرژی، وظیفهٔ دیگر کربوهیدرات‌ها حفظ سلامت دستگاه گوارش است [۲ و ۴]. کربوهیدرات‌ها شامل کربوهیدرات‌های الیافی و غیرالیافی هستند. عمده‌ترین منابع کربوهیدرات‌های غیرالیافی با قابلیت هضم بالا در جیرهٔ گاوهای شیری ساکارز، نشاسته و پکتین هستند. در تغذیهٔ نشخوارکنندگان جو، ذرت و تفالهٔ چغندرقند غالباً به‌عنوان منابع اصلی کربوهیدرات‌های غیر الیافی در بخش کنسانتره استفاده می‌شوند. مقدار کربوهیدرات‌های غیرالیافی در ذرت و جو بالا و در تفالهٔ چغندرقند متوسط است [۳]. مقادیر فراوان کربوهیدرات‌های غیرالیافی در جیره می‌تواند از طریق کاهش pH مایع شکمبه، ممانعت از فعالیت سلولولیتیکی باکتری‌های شکمبه، تغییر در پروفایل اسیدهای چرب شیر و متعاقباً کاهش چربی شیر، کاهش مصرف و قابلیت هضم فیبر و مصرف اختیاری خوراک آثار منفی بر تولید داشته باشد [۱۷]. بنابراین، متوازن کردن کربوهیدرات‌های جیره برای کسب حداکثر انرژی و تأمین الیاف کافی برای سلامتی شکمبه لازم است.

بین منابع کربوهیدرات‌های غیرالیافی مختلف ازلحاظ نحوه و سرعت تخمیر و همچنین ویژگی‌های هضم و پروفایل اسیدهای آلی تولیدی، تفاوت قابل‌توجهی وجود دارد [۹ و ۱۰]. در همین رابطه در مطالعه‌ای عنوان شده است که افزودن ساکارز به جیرهٔ گاوهای شیرده باعث بهبود سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه می‌شود [۱۹] اما در مطالعات دیگر تولید پروتئین میکروبی برای ساکارز در مقایسه با نشاسته کمتر بوده است [۹ و ۱۱]. مطالعات آزمایشگاهی قبل روی جایگزینی منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی در جیره با یکدیگر در حضور یک منبع ثابت علوفه انجام شده است [۹ و ۱۰]. اما در این مطالعه، منابع متنوع علوفه هر کدام با یکی از سه منبع کربوهیدرات‌های غیرالیافی (شامل نشاسته، پکتین و ساکارز) جایگزین شد. هدف از انجام این پژوهش، تغییرات تخمیر طیف متنوعی از علوفه‌ها در حضور تعداد متعددی از کربوهیدرات‌های غیرالیافی بود. در واقع، سعی شد تا نسبت و نوع مناسب کربوهیدرات‌های غیرالیافی به الیافی در جیره مشخص شود. دست‌یابی به این نسبت‌ها به برازش مدل‌های دقیق‌تر پیش‌بینی پاسخ شکمبه‌ای به تغییرات نسبت و مقدار منابع کربوهیدراتی در جیره و درنهایت پیش‌بینی عملکرد دام کمک شایانی خواهد کرد.

مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر از سه رأس گوسفند نر اخته فیستولاگذاری شده نژاد زندی سه الی چهار ساله با وزن تقریبی ۵۰ ± ۶۰ کیلوگرم برای تهیهٔ مایع شکمبه در طرحی کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل ۳ × ۳ با سه تکرار استفاده شد. به قوچ‌ها در دو نوبت صبح و عصر جیره‌ای

شامل ۷۰ درصد علوفه با نسبت مساوی از یونجهٔ خشک و کاه گندم و ۳۰ درصد دانهٔ جو داده شد. طراحی آزمایش براساس منابع کربوهیدراتی شامل نشاسته، ساکارز و پکتین و منابع علوفه‌ای شامل کاه گندم (پروتئین ۳درصد، خاکستر ۶/۶ درصد، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) ۸۳/۴ درصد، ماده خشک ۹۲/۷ درصد)، یونجه (پروتئین ۱۳/۴ درصد، خاکستر۹/۳ درصد، NDF ۴۴/۳ درصد، ماده خشک ۸۸ درصد) و ذرت سیلو شده (پروتئین ۱۰/۹ درصد، خاکستر۸/۸ درصد، NDF ۶۶/۴ درصد، ماده خشک ۲۳/۵درصد) بود. محلول‌های محیط کشت (بزاق مصنوعی) شامل ۲۸۴/۴ میلی‌لیتر آب مقطر، ۰/۰۷۲ میلی‌لیتر محلول میکرومینرال، ۱۴۲/۲ میلی‌لیتر محلول بافر، ۱۴۲/۲ میلی‌لیتر محلول ماکرومینرال و ۰/۷۳۲ میلی‌لیتر محلول رزازورین به‌عنوان معرف بی‌هوازی بودن محیط بود [۱۳]. محلول محیط کشت تا ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد گرم شد سپس محلول احیاء که شامل دو میلی‌لیتر NaOH، ۲۸۵ میلی‌گرم Na_2S و ۴۷/۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر بود، به آن اضافه شد. گاز CO_2 از ابتدا و در طول انتقال محلول نهایی به ویال‌ها، به داخل محلول اضافه شد. به محلول مورد نظر، ۳۰۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه افزوده شد. ۰/۲ گرم از منابع علوفه‌ای که قبلاً خشک و با آسیاب یک میلی‌متری خرد شده بود همراه با ۰/۳ گرم از کربوهیدرات‌های غیرالیافی با هم مخلوط و داخل ویال‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و به آن ۴۰ میلی‌لیتر محلول محیط کشت تحت شرایط بی‌هوازی اضافه شد [۱، ۱۶]. ویال‌ها درون حمام آب گرم در دمای ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. برای هر تیمار سه ویال در نظر گرفته و آزمایش در سه دوره انکوباسیون انجام شد. سه ویال هم بدون مادهٔ غذایی به‌عنوان بلانک در نظر گرفته شد. ثبت تولید گاز در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از انکوباسیون با دستگاه فشارسنج (فن‌آزما گستر، ایران) انجام شد [۲۳] و سپس داده‌های فشار به روشی که قبلاً توصیف شده است [۲۲]، به حجم تبدیل شد.

برای اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری، پس از اتمام انکوباسیون (۲۴ ساعت) ابتدا pH نمونه‌ها اندازه‌گیری شد سپس محتویات ویال‌ها، داخل فالکون‌های ۳۰ میلی‌لیتری ریخته و به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۸۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. سپس یک میلی‌لیتر از مایع رویی برای اندازه‌گیری آمونیاک برداشته و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری و بقیهٔ محلول دور ریخته شد. محتویات جامد فالکون‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد با استفاده از آون خشک شد و قابلیت هضم ظاهری نمونه‌ها با توجه به تصحیح برای بلانک، برآورد شد [۴].

برای اندازه‌گیری قابلیت هضم حقیقی، باقیماندهٔ حاصل از ۲۴ ساعت انکوباسیون، به مدت یک ساعت در محلول شویندهٔ خنثی (۸۰ میلی‌لیتر محلول شوینده خنثی به ازای هر گرم نمونه) جوشانده شد. پس از صاف کردن، محتویات یک‌بار با آب مقطر جوش سپس با استون و دوباره با آب مقطر جوش شسته و در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. قابلیت هضم حقیقی، از روی مقدار باقیمانده پس از شستشو با محلول شویندهٔ خنثی و تودهٔ میکروبی از اختلاف بین قابلیت هضم حقیقی و ظاهری اندازه‌گیری شد [۱۲].

برای اندازه‌گیری آمونیاک از دستگاه میکروپلت ریدر (Biotech ELX808, USA)، و روش فنول هیپوکلرایت [۵] استفاده شد. نخست معرف‌های فنول، هیپوکلرایت سدیم و محلول سولفات آمونیوم ساخته شدند. برای تهیه محلول آمونیاک، ۰/۶۶۰۷ گرم آمونیوم سولفات در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در آون خشک شد و با ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال حل و در

ظرف شیشه‌ای دردار نگهداری شد. سپس استانداردهای یک، دو، چهار و هشت میلی‌مولار آمونیاک ساخته شد. ۳/۳ میکرولیتر از نمونه یا استاندارد در میکروپلت ریخته شد. سپس به‌ترتیب ۱۶۵ میکرولیتر معرف فنل و سپس ۱۳۲ میکرولیتر معرف هیپوکلرایت به آن اضافه شد و برای مدت ۵ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس محلول سرد و با فیلتر ۶۳۰ نانومتر دستگاه قرائت شد. در انتها با رسم منحنی مقدار نیتروژن آمونیاکی موجود در نمونه‌ها مشخص شد.

نتایج با استفاده از رویهٔ MIXED در نرم‌افزار SAS آنالیز شد. داده‌های تولید گاز به‌صورت داده‌های تکرار شده در زمان، وارد مدل شده و در رویهٔ MIXED با استفاده از گزارهٔ REPEATED برای مدل رابطه ۱ تجزیه شدند. مقایسهٔ میانگین با استفاده از آزمون توکی انجام شد.

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + N_j + FN_{ij} + e_{ijk} \qquad (1)$$

که Y_{ijk}، متغیر پاسخ؛ μ، میانگین هر مشاهده؛ F_i، اثر i امین منبع علوفه؛ N_j، اثر j امین منبع NFC؛ FN_{ij}، اثر متقابل i امین منبع علوفه در j امین منبع NFC و e_{ijk}، خطای آزمایشی بود.

نتایج و بحث

اثر متقابل بین منبع علوفه و کربوهیدرات معنادار نبود (جدول ۱). اما این عوامل هرکدام به‌تنهایی بر تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون اثر داشتند ($p< ۰/۰۵$) (جدول ۲). به این معنی که در داخل هر سه منبع علوفه بالاترین تولید گاز برای ساکارز سپس نشاسته و پکتین بود. در بین منابع کربوهیدرات غیرالیافی کمتر بودن گاز تولیدی از پکتین نسبت به نشاسته و ساکارز در تمام ساعات انکوباسیون مورد انتظار نبود. به صورت معمول، سرعت تخمیر پکتین به‌ویژه در ساعات نخستین بیشتر از نشاسته است و از آن جا که تولید گاز همبستگی بالایی با تخمیر دارد، انتظار این بود که سرعت تولید گاز در پکتین بیشتر از نشاسته باشد. پیش‌تر نشان داده شد که گاز تولیدی حاصل از انکوباسیون دانه ذرت مشابه با پکتین است [۱].

جدول ۱. اثر منبع علوفه و کربوهیدرات بر تولید تجمعی گاز (میلی‌لیتر) در زمان‌های مختلف انکوباسیون

منبع علوفه	یونجه			سیلوی ذرت			کاه گندم			SEM	P value
کربوهیدرات	ساکارز	نشاسته	پکتین	ساکارز	نشاسته	پکتین	ساکارز	نشاسته	پکتین		علوفه × کربوهیدرات
زمان											
۲	۱۰/۶۰	۹/۳۲	۷/۷۰	۹/۲۸	۸/۸۱	٦/۰٥	۸/٦۲	۷/۲۰	٤/۱۰	۰/٦٤	۰/٦۳
٤	۲۳/٤۳	۲۰/۷۹	۱٥/۲٦	۲۰/٤٦	۱۸/۲٤	۱۲/۲۷	۱۹/۱۰	۱٦/٤۰	۹/٦۷	۱/۰۱	۰/۹٥
٦	٤۱/۸۰	۳۷/۷۰	۲۹/٦۸	۳۷/٥٤	۳۲/۲۰	۲٤/۳۳	۳٥/۷۰	۲۸/۰۰	۱۸/۸٥	۱/٤٥	۰/٥٤
۸	٦٥/۱۸	٥٦/۳۸	٤۸/۰۸	٦۰/۲٤	٥۰/۰٦	٤۱/٥۲	٥۸/۷۱	٤٦/۱۳	۳٤/۷۲	۲/۰۷	۰/٥٥
۱۲	۹۲/۹۹	۸۲/۳٥	۷۲/۱٥	۸٦/۱٥	۷٥/۷۰	٦٥/۲۷	۸٥/۷۰	۷۲/۹٤	٥۹/۳۲	۲/٥۳	۰/۸۰
۲٤	۱۳۲/۷۸	۱۲۰/٥۰	۱۰٦/۱۰	۱۲۱/٥٥	۱۰۷/۷۹	۹۷/۸٤	۱۲۰/٤٥	۱۰۳/۷۷	۹۱/۹٤	۲/٥۸	۰/۸۰

منبع علوفه و کربوهیدرات اثر متقابلی بر pH محیط نداشتند (جدول ۳)؛ اما اثر کربوهیدرات بر pH محیط کشت معنادار بود و کمترین pH با تخمیر ساکارز مشاهده شد (جدول ۴). بالاتر بودن سرعت تخمیر ساکارز در مقایسه با نشاسته و پکتین به کاهش سریع اسیدیته شکمبه می‌انجامد [۲۰]، اما در مطالعات آزمایشگاهی دیگر نشان داده شده است که افزودن قند بر pH محیط کشت اثری نداشت زیرا میکروب‌ها، کربوهیدرات‌ها را ذخیره می‌کنند و گلوکز را به گلیکوژن تبدیل کرده و در نتیجه از کاهش شدید pH جلوگیری می‌کنند [۸ و ۹]. هم‌چنین pH در محیط‌های حاوی پکتین بیشتر از ساکارز بود. پیش از این نشان داده شد که تفالهٔ مرکبات نسبت به نشاسته pH مناسب‌تری را در شکمبه ایجاد می‌کنند در نتیجه باکتری‌های شکمبه، سایر کربوهیدرات‌ها را بهتر استفاده می‌کنند [۳]. اما در مطالعه‌ای روی گاوهای شیری که آثار جیره‌های حاوی نشاسته و پکتین بر متغیرهای تخمیر شکمبه‌ای مطالعه شد، تفاوت معناداری بین تیمارها از لحاظ اسیدیته شکمبه وجود نداشت [۱۱].

با وجود این که منابع علوفه‌ای مورد استفاده به لحاظ ظرفیت بافری ذاتی تفاوت‌های قابل توجهی با یکدیگر داشتند، لیکن pH محیط کشت تحت تأثیر منبع علوفه قرار نگرفت. نشان داده شده است که در آزمایشگاه ظرفیت بافری سیلاژ ذرت خشک شده، یونجه و کاه گندم که از روش تیتراسیون تعیین شده بود، تفاوت قابل ملاحظه‌ای با یکدیگر داشتند [۱۴]. با این وجود، در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از مایع شکمبه و بزاق مصنوعی، بی‌کربنات و فسفات مورد استفاده در بافر بیشترین سهم را در تعیین pH محیط ایفا می‌کنند چرا که به‌ویژه یون بی‌کربنات می‌تواند به‌طور مؤثری اسیدهای چرب فرار حاصل از تخمیر را خنثی و تولید دی‌اکسید کربن کند [۱۵]. از سوی دیگر این مشاهده می‌تواند به نسبت NFC استفاده شده در محیط کشت (۰/۶) ارتباط داشته باشد که باعث شده است اثر منابع NFC در تعیین pH بارزتر از منابع علوفه‌ای قوی‌تر باشد.

جدول۲. مقایسه میانگین آثار اصلی منبع علوفه و کربوهیدرات بر تولید تجمعی گاز (میلی‌لیتر) در زمان‌های مختلف انکوباسیون

	منبع علوفه			منبع کربوهیدرات				P value	
	یونجه	سیلاژ ذرت	کاه گندم	ساکارز	نشاسته	پکتین	SEM	علوفه	کربوهیدرات
زمان									
۲	۹/۲۱^{a}	۸/۰۵^{a}	۶/۶۴^{b}	۹/۵۰^{a}	۸/۴۵^{b}	۵/۹۵^{b}	۰/۳۷	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
۴	۱۹/۸۳^{a}	۱۶/۹۹^{b}	۱۵/۰۶^{b}	۲۱/۰۰^{a}	۱۸/۴۸^{b}	۱۲/۴۰^{c}	۰/۵۸	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
۶	۳۶/۳۹^{a}	۳۱/۳۵^{b}	۲۷/۵۲^{c}	۳۸/۳۴^{a}	۳۲/۶۳^{b}	۲۴/۲۹^{c}	۰/۸۳	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
۸	۵۶/۵۵^{a}	۵۰/۶۱^{b}	۴۶/۵۲^{c}	۶۱/۳۸^{a}	۵۰/۸۶^{b}	۴۱/۴۴^{c}	۱/۱۹	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
۱۲	۸۲/۵۰^{a}	۷۵/۷۱^{b}	۷۲/۶۵^{b}	۸۸/۲۸^{a}	۷۷/۰۰^{b}	۶۵/۵۸^{c}	۱/۴۶	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
۲۴	۱۱۹/۷۷^{a}	۱۰۹/۰۶^{b}	۱۰۵/۳۹^{b}	۱۲۴/۹۰^{a}	۱۱۰/۶۹^{b}	۹۸/۶۲^{c}	۱/۴۹	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

a-c: تفاوت میانگین‌ها باحروف نامشابه در هر ردیف معنادار است ($p<۰/۰۵$).

جدول ۳. اثر منبع علوفه و کربوهیدرات بر pH و آمونیاک

منبع علوفه	یونجه			سیلوی ذرت			کاه گندم			SEM	P value
کربوهیدرات	ساکارز	نشاسته	پکتین	ساکارز	نشاسته	پکتین	ساکارز	نشاسته	پکتین		کربوهیدرات × علوفه
pH	۵/۸۰	۵/۸۷	۵/۹۳	۵/۷۴	۵/۹۸	۵/۹۳	۵/۸۱	۵/۹۵	۶/۰۶	۰/۰۸	۰/۸۰
آمونیاک (میلی‌گرم/ دسی لیتر)	۱/۰۱	۱/۱۶	۱/۶۴	۰/۸۶	۱/۱۳	۲/۲۴	۰/۳۶	۰/۶۵	۰/۷۲	۰/۲۶	۰/۲۸

جدول ۴. مقایسهٔ میانگین آثار اصلی منبع علوفه و کربوهیدرات بر pH و آمونیاک

	منبع علوفه			منبع کربوهیدرات			SEM	P value	
	یونجه	سیلاژ ذرت	کاه گندم	ساکارز	نشاسته	پکتین		علوفه	کربوهیدرات
pH	۵/۹۵	۵/۹۷	۶/۰۲	$۵/۸۷^{a}$	$۶/۰۲^{ab}$	$۶/۰۵^{b}$	۰/۰۴	۰/۵۳	۰/۰۳
آمونیاک (میلی‌گرم/دسی لیتر)	$۱/۲۷^{a}$	$۱/۴۱^{a}$	$۰/۵۷^{b}$	$۰/۷۴^{b}$	$۰/۹۸^{a}$	$۱/۵۳^{a}$	۰/۱۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳

a-c : تفاوت میانگین‌ها باحروف نامشابه در هر ردیف معنادار است ($p<۰/۰۵$).

منبع علوفه و کربوهیدرات، به‌تنهایی و بدون اثر متقابل، بر آمونیاک اثر معنادار داشتند ($p<۰/۰۵$). تولید آمونیاک بین منابع علوفه‌ای برای کاه گندم و بین منابع کربوهیدراتی برای ساکارز کمتر بود (جدول ۴). مشابه با نتیجهٔ آزمایش ما، یک گزارش نشان داد که در گاوهای شیرده غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه برای جیره‌های حاوی پکتین بر مبنای تفالهٔ چغندرقند و نشاسته بر مبنای ذرت در مقایسه با جیره‌های حاوی ملاس به‌طور معناداری بیشتر بود [۱۲]. در بین منابع علوفه‌ای مورداستفاده نیتروژن بسیار اندک موجود در کاه و نبود دسترسی میکروبی به دلیل اتصال نیتروژن با لیگنین کاه می‌تواند تولید آمونیاک را در شرایط تخمیر کاه محدود کرده باشد.

مشابه با نتایج تولید گاز، اثر متقابل منبع علوفه و کربوهیدرات بر قابلیت هضم ظاهری و قابلیت هضم حقیقی معنادار نبود (جدول ۵)، اما این دو عامل به‌طور مستقل بر متغیرهای یاد شده اثر معناداری داشتند (جدول ۶). بیشترین قابلیت هضم بین علوفه‌ها مربوط به سیلاژ ذرت بود و بین منابع کربوهیدراتی قابلیت هضم نشاسته بیشتر از ساکارز و پکتین بود. گزارش شده است که ساکارز در شرایط داخل شیشه به‌سرعت و به‌طور کامل تخمیر می‌شود (در مدت کوتاه) [۱۸]. اما در این مطالعه میانگین قابلیت هضم نمونه‌های کشت شده با انواع منابع کربوهیدرات غیرالیافی کمتر از ۷۵ درصد بود که ممکن است به دلیل تخمیر همزمان با منابع الیافی در شرایط بسته یا به دلیل کاهش pH باشد. در این آزمایش مشاهده شد که ارقام قابلیت هضم با تولید گاز متناسب نیست. این نتیجه با نتایج دیگر محققان که ارتباط خوبی بین قابلیت هضم و تولید گاز یافته‌اند [۱] همسو نبود که ممکن است به‌دلیل اعمال آثار pH محیط کشت بر تخمیر باشد.

جدول ۵. اثر منبع علوفه و کربوهیدرات بر قابلیت هضم حقیقی، قابلیت هضم ظاهری و تودهٔ میکروبی و بخش‌پذیری

منبع علوفه	یونجه			سیلوی ذرت			کاه گندم			P value	
کربوهیدرات	ساکارز	نشاسته	پکتین	ساکارز	نشاسته	پکتین	ساکارز	نشاسته	پکتین	SEM	علوفه×کربوهیدرات
قابلیت هضم حقیقی (گرم/گرم)	۰/۷۰	۰/۷۰	۰/۶۸	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۲	۰/۶۶	۰/۶۸	۰/۶۴	۰/۰۰۸	۰/۴۰
قابلیت هضم ظاهری (گرم/گرم)	۰/۵۳	۰/۵۴	۰/۵۲	۰/۵۸	۰/۶۰	۰/۵۶	۰/۵۲	۰/۵۲	۰/۵۰	۰/۰۰۹	۰/۴۹
تودهٔ میکروبی (گرم/گرم ماده خشک)	۰/۱۶	۰/۱۵	۰/۱۶	۰/۱۷	۰/۱۶	۰/۱۵	۰/۱۳	۰/۱۵	۰/۱۳	۰/۰۱	۰/۵۳

جدول ۶. مقایسهٔ میانگین آثار اصلی منبع علوفه و کربوهیدرات بر قابلیت هضم ظاهری، قابلیت هضم حقیقی و تودهٔ میکروبی

	منبع علوفه			منبع کربوهیدرات			P value	
	یونجه	سیلاژ ذرت	کاه گندم	ساکارز	نشاسته	پکتین	SEM	علوفه	کربوهیدرات
قابلیت هضم حقیقی (گرم/گرم)	۰/۶۹^{b}	۰/۷۵^{a}	۰/۶۶^{c}	۰/۶۸^{b}	۰/۷۱^{a}	۰/۶۸^{b}	۰/۰۰۴	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
قابلیت هضم ظاهری (گرم/گرم)	۰/۵۳^{b}	۰/۵۸^{a}	۰/۵۲^{b}	۰/۵۵^{a}	۰/۵۵^{a}	۰/۵۳^{ab}	۰/۰۰۵	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۷
تودهٔ میکروبی (گرم/گرم ماده خشک)	۰/۱۶^{a}	۰/۱۶^{a}	۰/۱۴^{b}	۰/۱۳^{b}	۰/۱۶^{a}	۰/۱۵^{ab}	۰/۰۰۶	۰/۰۴	۰/۶۹

a-c: تفاوت میانگین‌ها باحروف نامشابه در هر ردیف معنادار است ($p<۰/۰۵$).

در بین منابع NFC بیشترین تولید گاز به ساکارز مربوط بود و انتظار می‌رفت که بیشترین قابلیت هضم نیز مربوط به ساکارز باشد. اما بیشترین هضم مربوط به نشاسته بود که دارای pH نهایی بیشتر از ۶ بود. در عوض کمترین pH مربوط به انکوباسیون ساکارز بود. این مسئله می‌تواند ناشی از نرخ سریعتر تولید گاز و در واقع ناپدید شدن ساکارز در محیط کشت و تولید اسید لاکتیک در ساعات نخستین تخمیر ساکارز باشد، همچنان که در مقاله‌های پیشین به آن اشاره شده است [۱۵]. در این مطالعه نرخ تولید گاز در مورد ساکارز به طور معناداری بیشتر از نشاسته بود (به‌ترتیب ۰/۰۶۶ در برابر ۰/۰۴۵، داده‌ها نشان داده نشده‌اند). بنابراین احتمال دارد که هضم سنتز تودهٔ میکروبی در شیشه‌های حاوی ساکارز با کاهش pH به زیر ۶، محدود شده باشد. مشابه همین نتیجه در خصوص علوفهٔ یونجه مشاهده شد که علی‌رغم تولید گاز بیشتر، دارای قابلیت هضم حقیقی کمتری نسبت به سیلاژ ذرت بود.

برآورد سنتز تودهٔ میکروبی در بین علوفه‌ها برای منبع کاه از همه کمتر بود؛ اما تحت تأثیر اثر متقابل آن با منبع NFC قرار نگرفت. برخلاف این که خوراک‌هایی مثل گراس سیلو شده و کاه گندم مقدار اندکی توده میکروبی به ازای خوراک هضم شده حقیقی تولید می‌کنند [۷]، کشت توأم کاه با منابع کربوهیدراتی سریع‌الهضم، پروتئین میکروبی قابل‌توجهی را تولید کرد. این نتیجه در آزمایش‌های دیگر با استفاده از اضافه کردن کاساوا به کشت بسته حاوی کاه برنج نیز مشاهده شده است [۲۲]. در بین منابع کربوهیدراتی، بیشترین تولید تودهٔ میکروبی برای نشاسته بود (جدول ۵). در مطالعات دیگر هم نشان داده شده است که تودهٔ میکروبی برآورد شده از تخمیر نشاسته بیش از پکتین و ساکارز است [۹، ۲۳] چون به ازای تخمیر هر واحد وزنی نشاسته، ATP بیشتری نسبت به تخمیر پکتین تولید می‌شود و به دلیل تأمین منبع انرژی برای میکروارگانیسم‌های شکمبه، تولید تودهٔ میکروبی افزایش می‌یابد. برخلاف مشابهت واحدهای ساختاری بین ساکارز و نشاسته، تولید کمتر تودهٔ میکروبی از ساکارز در مقایسه با نشاسته ناشی از ذخیره شدن کربوهیدرات در سلول میکروبی در زمان تخمیر ساکارز به‌دلیل سرعت بالای تخمیر آن است [۱۰]. در ساعات بعدی انکوباسیون کربوهیدرات‌های ذخیره شده در سلول میکروبی می‌توانند عمدتاً به‌عنوان منبع انرژی نگهداری برای سلول استفاده شوند و در تولید تودهٔ میکروبی نقش ایفاء نکنند. برعکس، به‌دلیل سرعت تخمیر آهسته‌تر نشاسته بخش بیشتری از واحدهای قندی حاصل از تخمیر نشاسته صرف افزایش تودهٔ میکروبی خواهد شد [۹]. در آزمایش‌های عملکردی روی گاوهای شیری، جایگزینی ساکارز به جای بخشی از نشاسته تغییری در سنتز توده میکروبی ایجاد نکرد [۶]. این مشاهدات در شرایط کشت پیوسته دوجریانه نیز مشاهده شد [۲۴]. اما در آزمایشات مذکور منابع کربوهیدرات غیرالیافی به مقدار کمتری استفاده شده و ساکارز در بالاترین سطح خود با ۷/۵ درصد از نشاسته جیره جایگزین شده بود. درحالی‌که در این آزمایش نسبت منابع کربوهیدرات غیرالیافی ۶۰ درصد از کل سوبسترای محیط کشت را به خود اختصاص داده بود. به همین دلیل، اختلافات بین نتایج آزمایش حاضر با گزارش‌های محققان دیگر می‌تواند توجیه‌پذیر باشد.

نتایج این مطالعه نشان داد که منابع کربوهیدرات غیرالیافی مختلف از لحاظ تولید گاز، قابلیت هضم و تخمیر در شرایط برون‌تنی با هم متفاوت بودند، ولی نوع علوفه تأثیری در نتایج آزمایش نداشت. از طرفی ذرت سیلو شده شرایط بهتری برای تخمیر و هضم مواد در مقایسه با یونجه و کاه نشان داد.

منابع

[1]. Adesogan AT, Krueger NK and Kim SC (2005) A novel, wireless, automated system for measuring fermentation gas production kinetics of feeds and its application to feed characterization. Animal Feed Science and Technology 123:211-223.

[2]. Aldrich JM, Muller LD, Varga GA and Griel LC (1993) Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows. Journal of Dairy Science 76(4): 1091-1105.

[3]. Ben Ghedalia D, Yosef E, Miron J and Est Y (1989) The effects of starch and pectin rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. Animal Feed Science and Technology 24(3-4): 289-298.

[4]. Blümmel M, Makkar HP and Becker K (1997) In vitro gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 77(1-5): 24-34.

[5]. Broderick GA and Kang JH (1980) Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. Journal of Dairy Science 63(1): 64-75.

[6]. Broderick GA, Luchini ND, Reynal SM, Varga GA and Ishler VA (2008) Effect on production of replacing dietary starch with sucrose in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 91 (12): 4801-4810.

[7]. De Brabander D, Fiems L, De Boever J and De Campeneere S (2007) Achievements of research in the field of ruminant nutrition. In: Rostani A, Tewolde A and Mosconi, C., Animal Production and Animal Science Worldwide, Wageningen Academic Publishers, The Netherlaands.

[8]. Getachew G, Blümmel M, Makkar H and Becker K (1998) In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. Animal Feed Science and Technology 72(3): 261-281.

[9]. Hall MB and Herejk C (2001) Differences in yields of microbial crude protein from in vitro fermentation of carbohydrates. Journal of Dairy Science 84 (11): 2486-2493.

[10]. Hall MB and Weimer PJ (2007) Sucrose concentration alters fermentation kinetics, products, and carbon fates during in vitro fermentation with mixed ruminal microbes. Journal of Animal Science 85(6):1467-1478.

[11]. Hoover WH and Stokes SR (1991) Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. Journal of Dairy Science 74(10): 3630-3644.

[12]. Leiva E, Hall MB and Van Horn HH (2000) Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent soluble carbohydrates. Journal of Dairy Science 83(12): 2866-2875.

[13]. Menke KH and Steingass H (1988) Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Animal Research and Development 28: 7-55

[14]. Moharrery A (2007) The determination of buffering capacity of some ruminant's feedstuffs and their cumulative effects on TMR ration. American Journal of Animal and Veterinary Sciences 2 (4): 72-78.

[15]. Mould FL, Kliem KE and Morgan R (2005) Alternative methodologies: stretching the in vitro box. Animal Feed Science and Technology 124: 501-515.

[16]. Muck RE, Filya R and Contreras-Gocea FE (2007) Inoculant effects on alfalfa silage: in vitro gas and volatile fatty acid production. Journal of Dairy Science 90(11): 5115-5125.

[17]. Münnich M, Khiaosa-ard R, Klevenhusen F, Hilpold A, Khol-Parisini A and Zebeli Q (2017) A meta-analysis of feeding sugar beet pulp in dairy cows: Effects on feed intake, ruminal fermentation, performance,and net food production Animal Feed Science and Technology 224: 79-89.

[18]. Oba M (2011) Effects of feeding sugars on productivity of lactating dairy cows. Canadian Journal of Animal Science 91:37-46.

[19]. Piwonka EJ and Firkins JL (1996) Effect of glucose fermentation on fiber digestion by ruminal microorganisms in vitro. Journal of Dairy Science 79(12): 2196-2206.

[20]. Sannes RA, Messman MA and Vagnoni DB (2002) Form of rumen degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. Journal of Dairy Science 85(4): 900-908.

[21]. Schofield P and Pell AN (1995) Measurement and kinetic analysis of the neutral detergent soluble carbohydrate fraction of legumes and grasses. Journal of Animal Science 73(11): 3455-3463.

[22]. Sommart K, Parker DS, Rowlinson P and Wanapat M (2000) Fermentation characteristics and microbial protein synthesisin an in vitro system using cassava, rice straw and dried Ruzi grass as substrates. Asian-Australasian Journal of Animal Science 13 (8): 1084-1093.

[23]. Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB and France J (1994) A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Journal of Animal Feed Science and Technology 48(3-4): 185-197.

[24]. Vallimont JE, Bargo F, Cassidy TW, Luchini ND, Broderick GA and Varga GA (2004) Effects of replacing dietary starch with sucrose on ruminal fermentation and nitrogen metabolism in continuous culture. Journal of Dairy Science 87 (12): 4221-4229.

Journal of
Animal Production
(College of Abouraihan – University of Tehran)
Vol. 19 ■ No. 3 ■ Autumn 2017

The effects of non-fiber carbohydrates on *in vitro* fermentation and gas production of various forage sources

Somaye Fathi[1], *Ali Asadi Alamouti*[2*], *Ahmad Afzalzadeh*[3], *Mohammad Ali Norouzian*[4]

1. M.Sc., Department of Animal and Poultry Science, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran
2. Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Science, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran
3. Professor, Department of Animal and Poultry Science, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran
4. Associate Professor, Department of Animal and Poultry Science, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran

Received: April 8, 2017 **Accepted: August 13, 2017**

Abstract

The aim was to evaluate effects of *in vitro* fermentation of different forages co-incubated with different types of non-fiber carbohydrates (NFC) on gas production, digestibility, microbial biomass, medium pH and ammonia concentration. A completely randomized design with factorial arrangement (9 treatments and 3 replicates) was used wherein wheat straw, alfalfa hay and corn silage constituted main forage sources and starch, sucrose and pectin were components of NFC. 0.2 g of each forage samples incubated with 0.3 g of each NFC component for 24 h and gas production, apparent and true digestibility, microbial biomass, pH and ammonia concentration measured. Forage and NFC sources, alone but not in combination, had a significant effect on gas production, digestibility as well as ammonia concentration (p<0.05). The estimated microbial biomass was lower for wheat straw samples (0.14 vs. 0.16 g/g DM digested for other forage samples), but was not affected by NFC and its interaction with forage sources (p<0.05). Also, NFC sources affected medium pH significantly with the lowest values for sucrose while the highest for pectin. Results showed that previously known effects of NFC sources *in vivo* are also consistently observed *in vitro* while it was not affected by co-incubation with different forage sources.

Keywords: ammonia concentration, digestibility, pectin, starch, sucrose.

Email: a.alamouti@ut.ac.ir