نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۶ شماره ۴/ سال۱۳۹۵

بررسی اثرات همزمان سازی سطوح مختلف انرژی و پروتئین بر فراسنجه‌های تکنیک تولید گاز

فرهنگ فاتحی[۱]، ابوالفضل زالی[۲*]، مهدی دهقان بنادکی[۲] و محسن دانش مسگران[۳]

تاریخ دریافت: ۹٤/٦/١٦ تاریخ پذیرش: ۹٤/۹/۲

[۱] استادیار گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

[۲] دانشیار گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

[۳] استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

* مسئول مکاتبه: E-mail: zalia@can.ut.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: همزمان سازی انرژی و پروتئین در شکمبه گاوهای شیرده یکی از مباحث مهم در تغذیه گاوهای پرتولید می‌باشد. **هدف**: در مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات همزمان سطوح مختلف نشاسته و پروتئین قابل تجزیه در شکمبه در جیره‌های کاملا مخلوط بر روی فراسنجه‌های تولید گاز، ماده خشک تجزیه شده بطور حقیقی، تولید پروتئین میکروبی، غلظت نیتروژن آمونیاکی، تولید اسیدهای چرب فرار و متان با استفاده از تکنیک تولید گاز طراحی گردید. **روش کار**: در مطالعه حاضر از چهار سطح پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (۹/۵، ۱۰/۵، ۱۱/۵ و ۱۲/۵ بر اساس درصدی از ماده خشک) و پنج سطح نشاسته (۲۰، ۲۳، ۲٦، ۲۹ و ۳۲ بر اساس درصدی از ماده خشک) استفاده گردید که در نهایت منتج به ۲۰ جیره گردید. **نتایج**: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نشاسته برای سطوح ۱۰/۵، ۱۱/۵ و ۱۲/۵درصد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه، مقدار گاز تولیدی از بخش با سرعت تجزیه پذیری بالا (V1) بصورت خطی افزایش یافت در حالیکه برای سطح ۹/۵ درصد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه، این روند درجه دوم بود. لازم به ذکر است که مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت حقیقی برای جیره‌های حاوی ۱۱/۵ درصد پروتئین قابل تجزیه بیشترین بود ($P<۰/۰۵$) در حالیکه فراسنجه‌هایی از قبیل بخش پذیری، تولید بیوماس میکروبی و بازدهی تولید بیوماس میکروبی برای جیره‌های حاوی ۱۲/۵ درصد پروتئین قابل تجزیه بیشترین بود ($P<۰/۰۵$). در مطالعه حاضر مشاهده گردید که هر دو شاخص بخش پذیری و بازدهی تولید بیوماس میکروبی، در جیره‌های حاوی ۱۲/۵درصد پروتئین قابل تجزیه و ۲٦ درصد نشاسته بیشترین بود. **نتیجه گیری نهایی**: نتایج این مطالعه بیانگر این واقعیت می‌باشد که حتی در سطوح بالاتر از حد نرمال پروتئین قابل تجزیه درشکمبه وجود مقادیر بالاتر از ۲٦ درصد نشاسته (بر اساس ماده خشک) نه تنها به افزایش بازدهی تولید بیوماس میکروبی منجر نمی‌گردد بلکه باعث اتلاف مقادیر بیشتری از مواد مغذی خوراک در قالب گازهای دفعی و در نتیجه کاهش شاخص بخش پذیری می‌گردد.

واژگان کلیدی: انرژی، پروتئین، تکنیک تولید گاز، جیره گاو شیری

مقدمه

بازدهی ناکارآمد پروتئین‌خام در جیره گاوهای شیری و تغذیه مقادیر زیاد مکمل‌های پروتئینی منجر به افزایش هزینه تمام شده خوراک و اتلاف نیتروژن و دفع آن به محیط‌زیست می‌گردد (ایفاراگوری و کلارک ۲۰۰۵). حداکثر نمودن تولید پروتین میکروبی در شکمبه، موثرترین راه افزایش بازدهی نیتروژن در گاوهای شیرده است (تامینگا ۱۹۹۲). به نظر می‌رسد که همزمان‌سازی تخمیر کربوهیدرات و پروتئین قابل تجزیه در شکمبه باعث افزایش بازدهی استفاده از نیتروژن می‌گردد (برودریک ۲۰۰۶آ و ۲۰۰۶ب). بررسی‌ها نشان داده است که کربوهیدرات‌های سریع التخمیر مانند نشاسته و قندها در مقایسه با منابع کربوهیدراتی ساختمانی مانند سلولز از لحاظ بهبود تولید پروتئین میکروبی موثرتر عمل می‌نمایند (استرن و هوور ۱۹۷۹: استرن و همکاران۲۰۰۶). مطالعات درون شیشه‌ای (استرن و همکاران ۱۹۷۸) و درون‌تنی (کاسپر و شینگوته ۱۹۸۹: کامرون و همکاران ۱۹۹۱) نشان داده‌اند که افزایش غلظت کربوهیدرات‌های سریع التخمیر به افزایش برداشت نیتروژن توسط میکروب‌های شکمبه و در نتیجه کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی منجر می‌گردد. مطالعه نوسک (۱۹۸۸) نشان داد در صورتی‌که سرعت تخمیر پروتئین بیش از سرعت تخمیر کربوهیدرات باشد، نیتروژن اتلاف می‌گردد و برعکس در صورتی که سرعت تخمیر کربوهیدرات بیش از سرعت تخمیر پروتئین باشد، تولید پروتئین میکروبی کاهش می‌یابد. اگرچه مطالعات زیادی در مورد اهمیت همزمان سازی تخمیر کربوهیدرات و پروتئین بر روی تولید پروتئین میکروبی و برداشت نیتروژن توسط میکروب‌های شکمیه صورت گرفته است اما در هیچ‌کدام از این مطالعات تلاشی در جهت بررسی اثرات متقابل بین سطوح مختلف کربوهیدرات و سطوح مختلف پروتئین بصورت همزمان، صورت نگرفته است (برودریک ۲۰۰۶a). ممکن است کمبود مطالعات درون‌تنی در مورد اثرات سطوح مختلف نیتروژن و انرژی بر روی تولید پروتئین میکروبی ناشی از این واقعیت باشد که برای بررسی چنین اثراتی بطور همزمان نیاز به تعداد زیادی جیره (تیمار) و دام الزامی بوده و همین امر منتج به پرهزینه بودن و در نتیجه غیرممکن ساختن این گونه مطالعات در حالت درون‌تنی می‌گردد. ترکیبی از تکنیک تولید گاز (تئودورو و همکاران ۱۹۹٤) و ارزیابی همزمان سوبسترای تجزیه نشده واقعی (جیورینگ و ون سوست ۱۹۷۰) می‌تواند اطلاعات مهمی در مورد تولید پروتئین میکروبی و بخش‌بندی محصولات تخمیر[1] به دست دهد. با توجه به نکات بیان شده هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثرات سطوح مختلف نشاسته (به عنوان مهمترین منبع کربوهیدرات سریع‌التخمیر) و پروتئین قابل تجزیه در شکمبه بر روی فراسنجه‌های تولید گاز، ماده خشک تجزیه شده بطور حقیقی، تولید پروتئین میکروبی، غلظت نیتروژن آمونیاکی، تولید اسیدهای چرب فرارو متان با استفاده از تکنیک تولید گاز بود.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش و جیره‌های مورد استفاده

در مطالعه حاضر از چهار سطح پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (۹/۵، ۱۰/۵، ۱۱/۵ و ۱۲/۵ بر اساس درصدی از ماده خشک) و پنج سطح نشاسته (۲۰، ۲۳، ۲٦، ۲۹ و ۳۲ بر اساس درصدی از ماده خشک) استفاده گردید که در نهایت منتج به ۲۰ جیره گردید. اقلام مورد استفاده برای تهیه جیره‌های کاملا مخلوط و ترکیب شیمیایی آن‌ها در جدول ۱ آورده شده است. جیره‌های طوری متعادل گردیدند که تمامی جیره‌های دارای پروتئین‌خام یکسان (۱٦/۵ درصد بر اساس ماده خشک) بودند. به‌منظور داشتن سطوح مختلف پروتئین قابل تجزیه در شکمبه از نسبت‌های مختلف کنجاله سویا، گلوتن ذرت و اوره

[1] - Partitioning of fermentation products

استفاده گردید در صورتی‌که برای حصول سطوح مختلف نشاسته از نسبت‌های مختلف نشاسته ذرت خالص و سلولز خالص در جیره‌ها استفاده گردید. لازم به ذکر است که نشاسته خالص مورد استفاده در این مطالعه از شرکت Sigma-Alderich تهیه گردید (CAS Number: 9005-25-8) و با توجه به اینکه این نشاسته از منبع دانه ذرت واکسی۱(واریته‌ای از ذرت که حاوی مقادیر ناچیز آمیلوز است) استحصال شده است، تنها حاوی آمیلوپکتین بوده و مقدار آمیلوز آن بسیار ناچیز (کمتر از ۱ درصد) می‌باشد.

آنالیز شیمیایی جیره‌ها

به منظور حفظ اسیدهای چرب فرار موجود در ذرت سیلویی، این ماده با استفاده از دستگاه فریزدرایر (PeterswaLtd., Edinburgh, Scotland) در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت خشک گردید. قبل از تهیه جیره‌های کاملا مخلوط تمامی اقلام با استفاده از الک یک میلیمتر آسیاب شدند و برای تهیه جیره‌ها از یک مخلوط کن افقی آزمایشگاهی استفاده گردید و سپس ماده خشک جیره‌ها با استفاده از دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲٤ ساعت اندازه گیری گردید. نیتروژن کل اقلام با استفاده از روش کجلدال اندازه گیری گردید (AOAC, ۱۹۹۰) و سپس پروتئین خام بصورت حاصلضرب مقدار نیتروژن در عدد ٦/۲۵ درصد حاصل گردید.

بخش الیاف نامحلول در شوینده خنثی با استفاده از روش ون سوست (۱۹۹۱) و به کمک سولفیت سدیم و آلفا آمیلاز مورد آنالیز قرار گرفت. بخش الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و عصاره اتری با استفاده از روش استاندارد اندازه گیری گردید (AOAC,۱۹۹۰). برای اندازه گیری نشاسته و قند از روش هانسن و مولر (۱۹۷۵) استفاده گردید بدین ترتیب که ابتدا با استفاده از اتانول ۸۰ درصد کل قندهای محلول از نمونه جدا گردید و در مرحله بعد به منظور اندازه گیری مقدار نشاسته موجود در نمونه‌های خوراکی، بقایای حاصل از استخراج قند با استفاده از اسید پرکلریک ۵۲ درصد تیمار شدند (به‌منظور شکستن زنجیره‌های گلوکز و آزادسازی مولکول‌های گلوکز) و در نهایت با استفاده از معرف رنگی آنترون، مواد خوراکی تیمار شده و سپس مقدار جذب نوری هر نمونه توسط دستگاه اسپکتوفتومتری در طول موج ٦۳۰ نانومتر قرائت گردید. درنهایت با استفاده از معادله شماره ۱ مقدار کربوهیدراتهای غیر الیافی (بر اساس درصدی از ماده خشک) محاسبه گردید:

$$NFC = 100 - (CP\% + EE\% + NDF\% + Ash\%)$$

معادله شماره ۱

برای جمع آوری نمونه‌ها به منظور تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار از روش آنلی و همکاران (۲۰۱۱) استفاده گردید و در نهایت غلظت آمونیاک با استفاده از روش برودریک و کانگ (۱۹۸۰) و اسیدهای چرب فرار با استفاده از گاز گروماتوگرافی(GC-2010, Shimadzu) مجهز به ستون کاپیلاری آنالیز گردید.

جمع آوری مایع شکمبه

برای جمع آوری مایع شکمبه از سه راس گاو مجهز به فیستولای شکمبه‌ای استفاده گردید. گاوهای مورد استفاده بصورت آزاد با استفاده از علوفه ای مرکب از یونجه و ذرت سیلویی (با نسبت ۱ به ٤ براساس وزن تازه) و همچنین روزانه ۵۰۰ گرم کنسانتره به ازای هر ۱۰۰ کیلوگرم وزن زنده تغذیه گردیدند و خوراک به‌صورت دو بار در روز به این گاوها تغذیه گردیدند (ساعت ۸ و ۱٦). پس از جمع آوری مایع شکمبه و انتقال آن به آزمایشگاه، با استفاده از توری پارچه ای مایع شکمبه صاف گردید و سپس با استفاده از نسبت پیشنهاد شده توسط منک و استینگاز (۱۹۸۸) با بافرمخلوط گردید. لازم به ذکر است که تمامی مراحل

[1] - Waxy

در حضور دی اکسید کربن انجام گرفت. مقدار ۲±۵۰۰ از نمونه ها، با دقت به درون شیشه‌های پنی سیلین ۱۲۵ میلی لیتری ریخته شد و در نهایت مقدار ٤٠ میلی لیتر از محلول تهیه شده (حاوی نسبت ۲ به ۱ بافر و مایع شکمبه) اضافه گردید.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی و اجزای جیره های آزمایشی

Table 1- Chemical Composition of the Experimental Diets

جیره های آزمایشی Experimental Diets					
9.5	**9.5**	**9.5**	**9.5**	**9.5**	**درصد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه[1] RDP Level (%)**
32	**29**	**26**	**23**	**20**	**سطوح نشاسته[1]** Starch Level
					اجزای جیره ها[2] Diets Ingredients
245	245	245	245	245	یونجه خشک Alfalfa Hay
205	205	205	205	205	سیلوی ذرت Corn Silage
88.7	188	147.5	177.7	207	سلولز خالص Pure Cellulose
97.5	98	98.5	98.5	98	کنجاله سویا Soybean Meal
94.6	94.6	94.6	94.6	94.6	کنجاله گلوتن ذرت Corn Gluten Meal
0.70	0.70	0.70	0.75	0.86	اوره Urea
251.4	221	190.7	160.5	130.5	نشاسته ذرت Corn Starch
Chemical Analysis for experimental Diets					**آنالیز شیمیایی جیره های آزمایشی**
1.63	1.60	1.56	1.52	1.49	انرژی خالص شیردهی[3] Net Energy
16.5	16.5	16.5	16.5	16.5	پروتئین خام[1] Crude Protein
57.5	57.5	57.5	57.5	57.5	پروتئین قابل تجزیه در شکمبه[4] RDP
24.63	27.59	30.52	33.54	34.48	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی[1] ADF
33.33	36.28	39.22	42.23	45.17	الیاف نامحلول در شوینده خنثی[1] NDF
2.16	2.16	2.18	2.17	2.16	قند[1] Sugar
32	29	26	23	20	نشاسته[1] Starch
42.58	39.58	36.58	33.58	30.60	کربوهیدراتهای غیر الیافی[1] NFC
10.5	**10.5**	**10.5**	**10.5**	**10.5**	**درصد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه[1] RDP Level (%)**

سطوح نشاسته[۱] Starch Level	**20**	**23**	**26**	**29**	**32**
یونجه خشک Alfalfa Hay	245	245	245	245	245
سیلوی ذرت Corn Silage	205	205	205	205	205
سلولز خالص Pure Cellulose	202.2	172.5	143.3	131.1	84.5
کنجاله سویا Soybean Meal	131.8	131.5	131	130	129.7
کنجاله گلوتن ذرت Corn Gluten Meal	61.5	61.5	61.5	62	62
اوره Urea	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
نشاسته ذرت Corn Starch	133	163.2	193.5	223.9	253.8
آنالیز شیمیایی جیره های آزمایشی	Chemical Analysis for experimental Diets				
انرژی خالص شیردهی[۳] Net Energy	1.48	1.52	1.56	1.59	1.63
پروتئین خام[۱] Crude Protein	16.5	16.5	16.5	16.5	16.5
پروتئین قابل تجزیه در شکمبه[٤] RDP	63.60	63.60	63.60	63.60	63.60
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی[۱] ADF	36.15	33.18	30.26	27.23	24.37
الیاف نامحلول در شوینده خنثی[۱] NDF	44.82	41.58	38.93	35.90	33.04
قند[۱] Sugar	2.47	2.46	2.45	2.45	2.45
نشاسته[۱] Starch	20	23	26	29	32
کربوهیدراتهای غیر الیافی[۱] NFC	31.36	34.35	37.34	40.34	43.30
درصد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه[۱] **RDP Level (%)**	**11.5**	**11.5**	**11.5**	**11.5**	**11.5**

سطوح نشاسته[۱] Starch Level	**20**	**23**	**26**	**29**	**32**
یونجه خشک Alfalfa Hay	245	245	245	245	245
سیلوی ذرت Corn Silage	205	205	205	205	205
سلولز خالص Pure Cellulose	185.4	155.8	126.4	97.1	67.5
کنجاله سویا Soybean Meal	185	183.3	184	183.2	182.8
کنجاله گلوتن ذرت Corn Gluten Meal	22.4	22.7	22.7	22	22
اوره Urea	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5

نشاسته ذرت Corn Starch	135.2	165.5	195.7	226	256.2
آنالیز شیمیایی جیره های آزمایشی	Chemical Analysis for experimental Diets				
انرژی خالص شیردهی[۳] Net Energy	1.50	1.53	1.57	1.61	1.64
پروتئین خام[۱] Crude Protein	16.5	16.5	16.5	16.5	16.5
پروتئین قابل تجزیه در شکمبه[٤] RDP	69.7	69.7	69.7	69.7	69.7
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی[۱] ADF	34.79	31.83	28.88	25.95	22.98
الیاف نامحلول در شوینده خنثی[۱] NDF	43.50	40.54	37.60	34.66	31.70
قند[۱] Sugar	2.96	2.95	2.95	2.94	2.94
نشاسته[۱] Starch	20	23	26	29	32
کربوهیدراتهای غیر الیافی[۱] NFC	32.64	35.64	38.62	41.61	44.6
درصد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه[۱] RDP Level (%)	**12.5**	**12.5**	**12.5**	**12.5**	**12.5**
سطوح نشاسته[۱] Starch Level	**20**	**23**	**26**	**29**	**32**
یونجه خشک Alfalfa Hay	245	245	245	245	245
سیلوی ذرت Corn Silage	205	205	205	205	205
سلولز خالص Pure Cellulose	201.7	172.4	142.2	112.6	83
کنجاله سویا Soybean Meal	180.7	180.3	180	180.2	180
کنجاله گلوتن ذرت Corn Gluten Meal	1	1	1	1	1
اوره Urea	10.3	10.3	10.3	10.3	10.3
نشاسته ذرت Corn Starch	138.5	168.7	199	229.2	259.3
آنالیز شیمیایی جیره های آزمایشی	Chemical Analysis for experimental Diets				
انرژی خالص شیردهی[۳] Net Energy	1.46	1.5	1.54	1.57	1.61
پروتئین خام[۱] Crude Protein	16.5	16.5	16.5	16.5	16.5
پروتئین قابل تجزیه در شکمبه[٤] RDP	75.7	75.7	75.7	75.7	75.7
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی[۱] ADF	36.29	33.35	30.40	27.37	24.41
الیاف نامحلول در شوینده خنثی[۱] NDF	44.86	41.93	38.98	35.96	33

قند[1] Sugar	2.9	2.89	2.89	2.89	2.89
نشاسته[1] Starch	20	23	26	29	32
کربوهیدراتهای غیر الیافی[1] NFC	32.44	35.43	38.43	41.43	44.42

۱. بر حسب درصدی از ماده خشک، ۲. بر حسب گرم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک، ۳. بر حسب مگاکالری به ازای کیلوگرم ماده خشک، ٤. بر حسب درصدی از پروتئین خام

1. Based on the dry matter percentage; 2. Gram per kg of DM; 3. MCal per kg of DM; 4. percentage of crude protein

لازم به ذکر است که در مطالعه حاضر برای هر تیمار دو دوره انکوباسیون در نظر گرفته شد و در هر دوره انکوباسیون نیز سه بطری به هر تیمار اختصاص یافت و در کل هر تیمار دارای ٦ تکرار (بطری) بود و همچنین از ٦ عدد بطری نیز که فقط حاوی مایع شکمبه و بافر بودند بعنوان بلانک استفاده گردید.

اندازه گیری مقدار گاز تولیدی

برای اندازه گیری مقدار گاز تولیدی ناشی از تخمیر در درون بطری‌های پنی سیلین از فشار سنج با حساسیت بالا که به یک نمایشگر وصل شده بود استفاده گردید بدین ترتیب که بعد از فرو کردن سنسور فشار سنج به دون بطری‌ها، سر سوزنی که به یک عدد سرنگ ۱۰۰ میلی لیتر پلاستیکی وصل بود نیز به درون بطری‌ها فرو برده شد و پیستون سرنگ تا زمانیکه صفحه نمایشگر عدد صفر رانشان دهد به عقب رانده شد و در این حالت عدد نشان داده شده برروی پیستون که مربوط به مقدار گاز تولید شده در آن فاصله زمانی خاص بود ثبت گردید. مقدار گاز تولیدی در زمانهای ۲، ٤، ۸، ۱۲، ۱٦، ۲٤، ۳٦، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت پس از انکوباسیون ثبت گردید. تا فاصله زمانی ۸ ساعت پس از انکوباسیون بطری‌ها هر یک ساعت یکبار به آرامی تکان داده شدند و پس از ۱۲ ساعت بطری‌ها تنها بعد از ثبت گاز تولیدی تکان داده شدند. پس از تصحیح مقدار گاز تولیدی جیره‌های آزمایشی برای بلانک، بمنظور برآورد فراسنجه‌های تولید گاز، داده‌های تولید گاز در مدل دو بخشی ارایه شده توسط شوفیلد و همکاران (۱۹۹٤) و با استفاده از رویه NLIN نرم افزارSAS (۲۰۰۲) قرار داده شد:

Vt= مقدار گاز تولیدی در زمان t

$$Vt=[V1\times\exp(-\exp(1+K1\times e\times(L1-t)))]+[V2\times\exp(-\exp(1+K2\times e\times(L2-t)))]$$

V1, k1و L1= به ترتیب عبارتند از مقدار گاز تولیدی (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک)، نرخ تولید گاز (به ازای ساعت) و وقفه زمانی (بر اساس ساعت) برای بخش به سرعت قابل تخمیر خوراک.

V2، k2 و L2= به ترتیب عبارتند از مقدار گاز تولیدی (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک)، نرخ تولید گاز (به ازای ساعت) و وقفه زمانی (بر اساس ساعت) برای بخش با سرعت تجزیه پذیری کندتر.

t= مدت زمان انکوباسیون

اندازه‌گیری مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت حقیقی و ظاهری، شاخص بخش پذیری، تولید بیوماس میکروبی و بازدهی تولید بیوماس میکروبی به روش گاز تست

به منظور اندازه‌گیری مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت حقیقی و ظاهری آزمایش انکوباسیون جداگانه ای انجام گرفت. بدین ترتیب که کلیه مراحل تهیه و آماده کردن مایع شکمبه و نمونه ها کاملا مشابه آزمایش ۹٦ ساعته بود. این آزمایش نیز مشابه مرحله اول در دو دوره انکوباسیون انجام گرفت اما در هر دوره انکوباسیون ٦ عدد بطری به هر تیمار اختصاص یافت که از این ٦ بطری، ۳ عدد برای اندازه گیری مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت حقیقی و ۳ عدد برای اندازه گیری مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت ظاهری

مورد استفاده قرار گرفت و لازم به ذکراست که دوره انکوباسیون این نمونه‌ها ۲٤ ساعت بود و در طول این مدت مقدار گاز تولیدی در زمانهای ۲، ٤، ۸، ۱۲ و ۲٤ ساعت اندازه گیری شد. برای اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری حقیقی جیره‌ها از روش ون سوست و همکاران (۱۹۹۱) استفاده شد بدین ترتیب که باقیمانده حاصل از ۲٤ ساعت تخمیر، به مدت ۱ ساعت درون محلول شوینده خنثی[1]جوشانده و رفلاکس[2]شد. پس از مدت زمان یک ساعت جوشاندن بقایای حاصل به درون کیسه‌های داکرونی (با اندازه ٤×۱۲ سانتیمتر و اندازه منافذ ٤۰ میکرومتر) منتقل گردید و پس از خشک نمودن درون آون با دمای ٦۰ درجه سانتیگراد به مدت ٤۸ ساعت، کیسه‌ها وزن گردیدند و سپس با استفاده از معادله شماره ۲ مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت حقیقی برآورد گردید:

$$y = \frac{A-B}{A}$$

معادله شماره ۲

Y= مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت حقیقی (بر اساس میلی گرم به ازای گرم ماده خشک)

A= جیره انکوبه شده (بر اساس ماده خشک)

B= وزن بقایای حاصل درون کیسه ها (بر اساس ماده خشک)

به‌منظور اندازه‌گیری مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت ظاهری بدین ترتیب عمل گردید که پس از اتمام انکوباسیون (۲٤ ساعت) به منظور توقف تخمیر بطری ها درون یخ قرار گرفتند و به منظور تسهیل در خشک کردن ماده خشک تجزیه‌نشده باقیمانده از بخش مایع، محتویات هر بطری به درون لوله‌های پلاستیکی مخصوص سانتریفیوژ دور بالا ریخته شد و به مدت ۳۰ دقیقه دردمای ۲۰ درجه سانتیگراد و با سرعت g ۲۰۰۰۰ بمنظور ته نشین‌سازی تمامی بخش جامد موجود در درون لوله‌ها، سانتریفیوژ گردید (بلومل و لبزین ۲۰۰۱). در ضمن محتویات موجود در بطری‌های بلانک نیز سانتریفیوژ گردید و پس از خشک نمودن کلیه نمونه‌ها در آون (در دمای ٦۰ درجه سانتیگراد به مدت ٤۸ ساعت)، کلیه نمونه‌ها برای بلانک تصحیح شدند و در نهایت مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت ظاهری با استفاده از معادله شماره ۳ برآورد گردید:

$$y = \frac{A-(B-C)}{A}$$

معادله شماره ۳

Y= مقدار ماده خشک تجزیه‌شده بصورت ظاهری (بر اساس میلی گرم به ازای گرم ماده خشک)

A= جیره انکوبه شده (بر اساس ماده خشک)

B= وزن بقایای حاصل از جیره‌های آزمایشی‌درون لوله های سانتریفیوژ پس از خشک شدن (بر اساس ماده خشک)

C= وزن بقایای حاصل از بلانک درون لوله‌های سانتریفیوژ پس از خشک شدن (بر اساس ماده خشک)

برای محاسبه شاخص بخش پذیری ۳(بر اساس میلی گرم ماده خشک تجزیه شده به ازای میلی‌لیتر گاز تولیدی) پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون، مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت حقیقی بر مقدار گاز تولیدی مرتبط با آن نمونه تقسیم گردید. همچنین برای محاسبه مقدار بیوماس میکروبی تولید شده و همچنین بازدهی تولید بیوماسمیکروبی به ترتیب از معادلات شماره ٤ و ٥ استفاده گردید (گرینگس و همکاران ۲۰۰٥):

$$y = A-(B\times C)$$

معادله شماره ٤

$$X = \frac{A-(B\times C)}{A}$$

معادله شماره ٥

Y= مقدار بیوماس میکروبی تولید شده (میلی گرم به ازای گرم ماده خشک)

1- Neutral detergent solution
2- Reflux
3-Partitioning factor

X= بازدهی تولید بیوماس میکروبی (میلی‌گرم به ازای میلی‌گرم)

A= مقدار ماده خشک تجزیه‌شده بصورت حقیقی بعد از ۲٤ ساعت انکوباسیون

B= مقدار گاز تولیدی پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون

C= شاخص استوکیومتری جهت محاسبه مقدار ماده خشک تبدیل شده به اسیدهای چرب فرار و گازهای تولیدی (دی اکسید کربن و متان) که این شاخص برای جیره‌های بر پایه علوفه معادل ۲/۲۰ و برای جیره‌های حاوی کنسانتره بالا که منتج به تولید نسبت های بالاتر اسید پروپیونیک (بیش از ٤۰ درصد کل اسیدهای چرب فرار تولیدی) می‌گردد معادل ۲/۳٤ می‌باشد (بلومل ۲۰۰۰).

اندازه گیری مقدار متان تولیدی (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک انکوبه شده)

پس از اندازه گیری مقدار گاز تولیدی در ساعات ۱۲ و ۲٤، مقدار ۵ میلی لیتر از گاز تولیدی در هر کدام از این زمان‌ها به درون بطری‌های ۱۰ میلی‌لیتری پنی‌سیلین ریخته شد به‌طوری‌که در نهایت برای هر بطری انکوبه شده خوراک یک بطری ۱۰ میلی‌لیتری که حاوی ۵ میلی‌لیتر از گاز تولیدی زمان ۱۲ ساعت و ۵ میلی‌لیتر از گاز تولیدی زمان ۲٤ ساعت بوداختصاص یافت و در هنگام آنالیز مقدار ۰/۲میلی‌لیتر از گاز محبوس شده درون بطری‌ها با استفاده از سرنگ همیلتون مخصوص تزریق گاز به درون ستون گاز کروماتوگرافی (Agilent, 7890A) تزریق گردید.

۲,۷. آنالیز داده ها:

در نهایت داده‌های حاصل با استفاده از مدل زیر آنالیز گردیدند:

$$Y_{ijk}= \mu + R_i + S_{(ij)j} + B_k + \varepsilon_{(ijk)l}$$

Y_{ijk}= مقدار هر مشاهده

μ= میانگین جمعیت

R_i= اثرات ثابت مربوط به i امین غلظت پروتئین قابل تجزیه در شکمبه

$S_{(i)j}$= اثرات ثابت مربوط به j امین غلظت نشاسته قرار گرفته در i امین غلظت پروتئین قابل تجزیه

B_k= اثرات تصادفی بلوک (دوره های انکوباسیون)

$\varepsilon_{(ijk)l}$= خطای تصادفی با این فرض که مقادیر خطا دارای توزیع نرمال هستند

در نهایت مقایسات بین سطوح مختلف نشاسته درون هر سطح از پروتئین قابل تجزیه در شکمبه با استفاده از مقایسات ارتوگونال کنتراست و با لحاظ نمودن کلیه درجه اثرات ممکن (خطی[1] درجه دو[2] درجه سه[3] و درجه چهار[4]) صورت گرفت. لازم به ذکر است که از رویه آماری mixed نرم افزار SAS نسخه ۹,۱با سطح معنی داری ۵ درصد استفاده گردید. به منظور تعیین ارتباط بین مقدار متان تولیدی با نسبت استات به پروپیونات (C2/C3) و همچنین ارتباط بین مقدار متان تولیدی با نسبت استات به اضافه بوتیرات تقسیم بر پروپیونات ((C2+C4)/C3) با استفاده از همبستگی مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

فراسنجه‌های تولید گاز

نتایج نشان‌داد که با افزایش غلظت نشاسته برای سطوح ۱۰/۵، ۱۱/۵و ۱۲/۵ درصد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه، مقدار گاز تولیدی از بخش با سرعت تجزیه-پذیری بالا (V1) بصورت خطی افزایش یافت در حالی‌که برای سطح ۹/۵ درصد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه، این روند درجه دوم بود (جدول شماره ۲). برعکس با افزایش یافتن غلظت نشاسته برای سطوح ۱۰/۵، ۱۱/۵و ۱۲/۵ درصد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه، مقدار گاز تولیدی از بخش با سرعت تجزیه‌پذیری کند (V2) بصورت خطی کاهش یافت در حالیکه برای سطح ۹/۵

---

[1]- Linear
[2] - Quadratic
[3] - Cubic
[4] - Quartic

درصد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه، این روند درجه سوم بود (جدول شماره ۲). تفاوت معنی داری بین سطوح مختلف نشاسته درون هر سطح پروتئین قابل تجزیه از لحاظ نرخ تولید گاز از هر دو بخش با سرعت تجزیه‌پذیری سریع (K1) و کند (K2) وجود داشت. همچنین نتایج نشان داد که وقفه زمانی[1]برای بخش با سرعت تجزیه‌پذیری سریع (L1) در دامنه ۰/۵۱-۰/۳٤ متغییر بود در حالی‌که برای بخش با سرعت تجزیه-پذیری کند(L2)در دامنه ٦/٤-٤/٥ متغییر بود.

مقدار تجزیه‌پذیری ماده خشک و شاخص بخش‌پذیری پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون

برای فراسنجه‌هایی از قبیل مقدار تجمعی گاز تولیدی و مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت حقیقی و ظاهری، افزایش یافتن غلظت نشاسته درون هر سطح پروتئین قابل تجزیه‌دارای روند خطی و درجه سوم بود (جدول شماره ۳). لازم به ذکر است که مقدار ماده خشک تجزیه‌شده بصورت حقیقی برای جیره‌های حاوی ۱۱/۵ درصد پروتئین قابل تجزیه بیشترین بود (P<۰/۰۵) در حالی‌که فراسنجه‌هایی از قبیل بخش-پذیری، تولید بیوماس میکروبی و بازدهی تولید بیوماس میکروبی برای جیره‌های حاوی ۱۲/۵ درصد پروتئین قابل تجزیه بیشترین بود (P<۰/۰۵). در مطالعه حاضر دامنه تغییرات برای بخش‌پذیری در محدوده۳/۳٤ تا ۳/۹۲ (میلی گرم به ازای میلی لیتر) و برای بازدهی تولید بیوماس میکروبی در محدوده ۰/۳۰ تا ۰/٤۰ متغییر بود. برای فراسنجه‌هایی از قبیل بخش‌پذیری و بازدهی تولید بیوماس میکروبی، اثر افزایشی غلظت نشاسته برای کلیه سطوح پروتئین قابل تجزیه در شکمبه دارای روند درجه سوم بود (جدول شماره ۳). افزایش غلظت نشاسته درون سطوح مختلف پروتئین قابل تجزیه منتج به کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در محیط درون بطری‌ها گردید.

تولید اسیدهای چرب فرار ومتان

در مطالعه حاضر غلظت استات از ۳۳/۳ تا ٥۳/٤، پروپیونات از ۱۳/۳ تا ۱۸/٤ و بوتیرات از ۳/۲ تا ۷/٤ میلی مول به ازای لیتر متغییر بود (جدول شماره ٤). افزایش غلظت نشاسته منجر به کاهش هر دو شاخص استات و کل اسیدهای چرب فرار گردید و بیشترین غلظت استات و کل اسیدهای چرب فرار در جیره‌های حاوی ۹/۵ درصد پروتئین قابل تجزیه مشاهده گردید (P<۰/۰۵) در حالی‌که افزایش سطوح نشاسته درون هر سطح پروتئین قابل تجزیه منتج به افزایش غلظت پروپیونات تولیدی گردید. نسبت استات به پروپیونات (C2/C3) از ۱/۸٤ تا ٤/۰۳ و نسبت استات به علاوه بوتیرات تقسیم بر پروپیونات ((C2+C4)/C3) از ۲/۰۲ تا ٤/٥٦ متغییر بود (جدول ٤). تولید متان برای جیره‌ها دارای روند مشابه‌ی با غلظت استات تولیدی و کل اسیدهای چرب تولیدی بود بدین ترتیب که با افزایش سطوح نشاسته درون هر سطح پروتئین قابل تجزیه، متان تولیدی کاهش یافت و این کاهش برای جیره‌های حاوی ۹/۵، ۱۰/۵، ۱۱/۵ و ۱۲/۵ درصد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه به ترتیب دارای روند درجه سوم، درجه سوم، درجه سوم و خطی بود.

بحث

فراسنجه‌های تولید گاز

بنظر می‌رسد که استفاده از منبع نشاسته خالص در مقایسه با نشاسته موجود در غلات در مطالعه حاضر منجر به افزایش سرعت تجزیه‌پذیری نشاسته گردیده است و همین امر منجر به افزایش تولید گاز از بخش با سرعت تجزیه‌پذیری سریع جیره‌ها (V1) گردیده است. کون و همکاران (۱۹۹۷) بیان نمودند که پروفایل گاز تولیدی ناشی از تخمیر خورا کها را می‌توان به دو زیر بخش[2]تقسیم نمود، گاز تولیدی ناشی از بخش قابل حل

[1]- Lag time

[2]-Two pool

(در آب) خوراک از قبیل قندها و اکثر پروتئین ها و گاز تولیدی ناشی از بخش نامحلول خوراک از قبیل نشاسته و دیواره سلولی. گروت و همکاران (۱۹۹٦)، کون و ون گیلدیر (۱۹۹۹) و چای و همکاران (۲۰۰٤) بیان نمودند که بخش عمده گاز تولیدی در زمان‌های اولیه پس از انکوباسیون ناشی از بخش قابل حل خوراک است در حالی که در مطالعه حاضر افزایش غلظت نشاسته منجر به افزایش تولید گاز از بخش اول گردید همانطور که پیشتر ذکر گردید ممکن است استفاده از منبع نشاسته خالص منجر به این افزایش تولید گاز از بخش محلول خوراک گردیده باشد زیرا واقعیت این است که تقاوت موجود بین جیره‌های مختلف از لحاظ قند و پروتئین آنقدر زیاد نیست که توانایی توجیه این تغییرات عمده در مقدار گاز تولیدی از بخش محلول خوراک را داشته باشد و نهایتا می‌توان نتیجه گرفت که تفاوت در گاز تولیدی بخش محلول ناشی از منبع نشاسته است.

در مطالعه حاضر افزایش سطوح نشاسته منجر به کاهش مقدار گاز تولیدی از بخش نامحلول خوراک گردید که این یافته بر خلاف یافته‌های گزارش شده توسط محققان دیگر بود (گروت و همکاران ۱۹۹٦: کون و همکاران ۱۹۹۹ و چای و همکاران ۲۰۰٤) هر چند که کاهش سطح دیواره سلولی(NDF) همزمان با افزایش سطوح نشاسته می‌تواند دلیل دیگری برای این کاهش تولید گاز از بخش نامحلول خوراک باشد بطوریکه مطالعات گذشته نشان داده است که بخش دیواره سلولی معمولا بیشترین سهم را در تولید گاز از بخش نامحلول خوراک دارد.

این نرخ تولید گاز به نرخ تجزیه‌پذیری دیواره سلولی نزدیک است (اسنیفن و همکاران ۱۹۹۲). راسل و همکاران (۱۹۹۲) گزارش کردند باکتری‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی نیاز نیتروژن خود را عمدتا از نیتروژن آمونیاکی تامین می‌کنند و بیان نمودند که حداقل غلظت آمونیاک برای داشتن تجزیه‌پذیری مطلوب در حدود ٥ میلی گرم به ازای دسی‌لیتر است. در مطالعه حاضر غلظت نیتروژن آمونیاکی برای همه جیره‌ها (و برای تمامی سطوح پروتئین قابل تجزیه) بالاتر از این مقدار بود. افزایش سطح پروتئین قابل تجزیه از سطح ۹/٥ تا ۱۲/٥ درصد باعث کاهش وقفه زمانی (L) و افزایش نرخ تولید گاز (K) برای هر دو بخش قابل حل و نامحلول خوراک گردید.

مقدار تجزیه‌پذیری ماده خشک و شاخص بخش‌پذیری پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون

تفاوت موجود بین جیره‌های مورد مطالعه از لحاظ کل گاز تولیدی و مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت حقیقی و ظاهری می‌تواند ناشی از تفاوت ماده خشک بطور بالقوه قابل تجزیه باشد بطوریکه افزایش غلظت نشاسته درون تمامی سطوح پروتئین قابل تجزیه باعث افزایش در مقدار ماده خشک تجزیه شده گردید. لازم به ذکر است که برای سطوح ۱۱/٥ و ۱۲/٥ درصد، افزایش سطح نشاسته منجر به افزایش ماده خشک تجزیه‌شده گردید که همین امر منجر به تولید بیوماس میکروبی بیشتر برای این جیره‌ها گردید و این یافته‌ها بیانگر این واقعیت است که در جیره‌های نامبرده، بخش بیشتری از انرژی حاصل از خوراک تجزیه‌شده به تولید بیوماس میکروبی و نه تولید گازهای دفعی (دی اکسید کربن و متان) و اسیدهای چرب‌فرار اختصاص یافته است که بالاتر بودن شاخص بخش‌پذیری برای جیره‌های نامبرده موید این ادعا است.

جدول ۲- اثرات غلظت های مختلف نشاسته درون هر سطح پروتئین قابل تجزیه در شکمبه بر فراسنجه های تولید گاز در جیره‌های کاملا مخلوط

Table 2- The effect of increasing starch level for each rumen degradable protein level on gas production parameters

سطوح پروتئین قابل تجزیه در شکمبه[۱] RDP Level	سطوح نشاسته[۱] Starch Level	فراسنجه های تولید گاز Gas Production Parameters					
		V_1[۲]	K_1[۳]	L_1[۴]	V_2[۵]	K_2[۶]	L_2[۷]
	20	123	0.13	0.51	209.2	0.03	6.07
	23	127	0.15	0.50	211.3	0.03	5.54
9.5	26	137.9	0.14	0.50	200.9	0.03	5.91
	29	148.5	0.13	0.44	181.7	0.03	6.45
	32	160.4	0.13	0.49	174.6	0.02	6.27
	20	114.9	0.13	0.34	212.9	0.03	6.77
	23	126.5	0.15	0.39	207.1	0.03	5.2
10.5	26	132.4	0.13	0.37	196.3	0.03	5.87
	29	147.7	0.14	0.40	189.8	0.03	5.61
	32	158	0.14	0.47	176.6	0.03	5.94
	20	117.6	0.15	0.34	212.5	0.03	5.4
	223	128.1	0.15	0.37	203.7	0.03	5.06
11.5	26	135	0.15	0.36	193.3	0.03	5.14
	29	150.3	0.15	0.39	181.2	0.03	5.05
	32	159.9	0.14	0.42	164.9	0.03	5.64
	20	108.5	0.18	0.35	219.3	0.03	4.55
	23	121.3	0.16	0.39	205.1	0.03	4.85
12.5	26	103.3	0.16	0.41	194.5	0.03	4.90
	29	145.1	0.16	0.41	185.5	0.03	4.86
	32	160.4	0.16	0.38	174.6	0.03	0.05
SEM[۸]		1.93	0.003	0.008	2.83	0.0004	0.12
اثرات سطوح مختلف نشاسته در هر سطح پروتئین قابل تجزیه							Effect of starch for each protein level
9.5		Quadratic درجه سوم	Cubic درجه دوم	NS غیر معنی دار	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم
10.5		Linear خطی	Quartic درجه سوم	Linear خطی	Linear خطی	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم
11.5		Linear خطی	NS غیر معنی دار	Linear خطی	Linear خطی	Cubic درجه دوم	Quadratic درجه سوم
12.5		Linear خطی	Linear خطی	NS غیر معنی دار	Linear خطی	Cubic درجه دوم	Linear خطی

۱. بر حسب درصدی از ماده خشک، ۲. گاز تولیدی از بخش سریع التجزیه خوراک (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک)، ۳. نرخ تولید گاز از بخش سریع التجزیه خوراک (به ازای هر ساعت)، ٤. وقفه زمانی برای بخش سریع التجزیه خوراک (بر حسب ساعت)، ٥. گاز تولیدی از بخش با سرعت تجزیه پذیری پایین خوراک (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک)، ٦. نرخ تولید گاز از بخش با سرعت تجزیه پذیری پایین خوراک (به ازای هر ساعت)، ۷. وقفه زمانی برای بخش با سرعت تجزیه پذیری پایین خوراک (بر حسب ساعت)، ۸. خطای استاندارد میانگین ها

1. Based on the dry matter; 2. Gas (ml/mg of DM) produced from soluble fraction (fast pool); 3. gas production rate (ml/h) from fast pool; 4. Lag time for (h) fast pool; 5. Gas (ml/mg of DM) produced from insoluble fraction (slow pool); 6. gas production rate (ml/h) from slow pool; 7. Lag time for (h) slow pool; 5. Standard error of means.

در مطالعه حاضر نرخ تولید گاز برای بخش نامحلول خوراک (K2) در حدود ۰/۰۲۷ (به ازای ساعت) بود، که هرچندکه پارامترهایی از قبیل تولید بیوماس میکروبی و مقداره ماده خشک تجزیه‌شده بصورت حقیقی حاوی اطلاعات مفیدی هستند اما واقعیت این است که این فراسنجه‌ها اطلاعات کاملی در مورد اثرات نشاسته و پروتئین قابل تجزیه بر روی فراورده‌های حاصل از تخمیر به محقق نمی‌دهند. بلومل و همکاران (۱۹۹۷) و گتاچیو و همکاران (۱۹۹۸) گزارش نمودند که شاخص بخش‌پذیری می‌تواند اطلاعاتی در مورد اینکه چه مقدار از خوراک تخمیر شده صرف تولید اسیدهای چرب فرار و گازهای دفعی (عمدتا دی اکسید کربن و متان) و چه مقدار آن صرف تولید بیوماس میکروبی شده است، ارائه نمایند.

در مطالعه حاضر مقادیر شاخص بخش پذیری از ۳/۳٤ تا ۳/۹۲ متغییر بود و در محدوده تئوری اعلام شده توسط بلومل و همکاران (۱۹۹۷) بود بطوریکه این محققین بیان نمودند که شاخص بخش‌پذیری خوراک‌ها از ۲/۷۵ تا ٤/٤۱ متغییر است که این دامنه منعکس کننده تولید مقدار از ۱۰ تا ۳۲ مول آدنوزین تری فسفات است به ازای تخمیر هر مول گلوکز می باشد که مقدار ۳۲ مول آدنوزین تری فسفات به عنوان حداکثر بازدهی تولید بیوماس میکروبی مطرح شده است. حداکثر نمودن تولید پروتئین میکروبی از خوراک تخمیر شده در شکمبه به عنوان یک اصل در تغذیه نشخوارکنندگان پذیرفته شده است بطوریکه افزایش بازدهی پروتئین میکروبی منجر به افزایش پروتئین عبوری از شکمبه به روده باریک می‌گردد و در عوض باعث کاهش اتلاف کربن خوراک در قالب گازهای تخمیری می‌گردد (آنیلی و همکاران ۲۰۱۱ و بیوییر ۱۹۹۳).

مطالعات گذشته نشان داده است که پروتئین میکروبی منبع عمده پروتئین مورد نیاز گاو شیری برای اهداف نگهداری و تولید شیر است به همین دلیل افزایش تولید پروتئین میکروبی یکی از راه‌های ایده آل برای بهبود کارایی استفاده از پروتئین خام جیره در گاو شیری است (برودریک و رینال ۲۰۰۹ و بریتو و همکاران ۲۰۰۷). در ضمن برودریک (آ۲۰۰٦) بیان نمود که همزمان سازی تخمیر نشاسته می‌تواند به بهبود بازدهی نیتروژن مصرفی منتج گردد. در مطالعه حاضر نیز بیشترین شاخص بخش‌پذیری و بازدهی تولید بیوماس میکروبی در جیره‌های حاوی ۱۲/۵درصد پروتئین قابل تجزیه و ۲٦ درصد نشاسته مشاهده گردید. در مطالعه حاضر بازدهی تولید پروتئین میکروبی در محدوده ۰/۳۰ تا ۰/٤۰ میلی گرم به ازای میلی گرم متغییر بود و هماهنگ با نتایج مطالعه حاضر، سیستم پروتئین و کربوهیدرات خالص کرنل نیز نشان دادند که حداکثر بازدهی تبدیل خوراک تخمیر شده به بیوماس میکروبی در صورت عدم حضور پروتوزواها ۵۰ درصد و در صورت وجود پروتوزوا در حدو ٤۰ درصد می‌باشد(راسل و همکاران ۱۹۹۲). در ضمن افزایش غلظت نشاسته درون تمامی سطوح پروتئین قابل تجزیه باعث کاهش غلظت آمونیاک گردید و این یافته می‌تواند بیانگر این واقعیت باشد که با افزایش منبع انرژی (نشاسته)، آمونیاک بیشتری صرف تولید بیوماس میکروبی گردیده است.

مطالعات گذشته نشان داده است که پروتئین میکروبی منبع عمده پروتئین مورد نیاز گاو شیری برای اهداف نگهداری و تولید شیر است به همین دلیل افزایش تولید پروتئین میکروبی یکی از راه‌های ایده آل برای بهبود کارایی استفاده از پروتئین خام جیره در گاو شیری است (برودریک و رینال ۲۰۰۹؛ بریتو و همکاران ۲۰۰۷). در ضمن برودریک (آ۲۰۰٦) بیان نمود که همزمان سازی تخمیر نشاسته می‌تواند به بهبود بازدهی نیتروژن مصرفی منتج گردد. در مطالعه حاضر نیز بیشترین شاخص بخش‌پذیری و بازدهی تولید بیوماس میکروبی در جیره‌های حاوی ۱۲/۵درصد پروتئین قابل تجزیه و ۲٦ درصد نشاسته مشاهده گردید.

جدول ۳- اثرات غلظت های مختلف نشاسته درون هر سطح پروتئین قابل تجزیه بر تجزیه پذیری ماده خشک، تولید بیوماس میکروبی و شاخص بخش پذیری

Table 3- The effect of increasing starch level for each rumen degradable protein on dry matter degradability, microbial mass production and partitioning factor

سطوح پروتئین قابل تجزیه در شکمبه[1]	سطوح نشاسته[1]	فراسنجه ها						
		CGP[2]	IVADDM[3]	IVTDDM[4]	PF[5]	MBP[6]	EMBP[7]	NH_3-N[8]
9.5	20	182.3	528	619	3.40	192	0.31	16.3
	23	198.8	556	644	3.34	199	0.30	16.0
	26	208	591	730	3.51	243	0.33	15.2
	29	213.7	681	769	3.60	269	0.35	15.1
	32	212.7	689	792	3.72	294	0.37	14.5
10.5	20	189.3	538	672	3.55	229	0.34	18.4
	23	194.6	564	666	3.42	210	0.31	17.7
	26	201.9	623	733	3.63	260	0.36	17.3
	29	206.3	674	783	3.80	301	0.38	16.9
	32	206.3	707	783	3.80	301	0.38	16.7
11.5	20	186.5	555	663	3.55	226	0.34	19.7
	23	194	591	717	3.69	263	0.37	19.4
	26	200.9	633	742	3.69	271	0.37	18.9
	29	206.3	693	783	3.80	301	0.38	18.5
	32	209	691	809	3.87	320	0.40	18.3
12.5	20	188	564	665	3.54	225	0.34	21.8
	23	191.3	612	696	3.64	248	0.36	20.7
	26	189.7	673	744	3.92	300	0.40	20.4
	29	193.6	691	756	3.91	303	0.40	19.7
	32	204.0	717	796	3.88	316	0/40	19/00
SEM[9]		4.24	12.2	12.9	0.06	5.07	0.006	0.29
اثرات سطوح مختلف نشاسته در هر سطح پروتئین قابل تجزیه		Effect of starch for each protein level						
9.5		Cubic درجه دوم	Linear خطی	Linear خطی	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Linear خطی
10.5		Cubic درجه دوم	Linear خطی	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Quadratic درجه سوم
11.5		Linear خطی	Cubic درجه دوم	Linear خطی	Cubic درجه دوم	Linear خطی	Cubic درجه دوم	Linear خطی
12.5		Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Linear خطی	Cubic درجه دوم	Quadratic درجه سوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم

۱.بر حسب درصدی از ماده خشک، ۲. مقدار تجمعی گاز تولیدی (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک)، ۳. مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت ظاهری (میلی گرم به ازای گرم ماده خشک)، ٤. مقدار ماده خشک تجزیه شده بصورت حقیقی(میلی گرم به ازای گرم ماده خشک)، ٥. شاخص بخش پذیری (میلی گرم به ازای میلی لیتر)، ٦. تولید بیوماس میکروبی (میلی گرم به ازای گرم ماده خشک)، ۷. بازدهی تولید بیوماس میکروبی

(میلی گرم به ازای میلی گرم)، ۸. غلظت نیترژوژن آمونیاکی (میلی گرم به ازای دسی لیتر). ۹. خطای استاندارد میانگین ها
1. Based on the dry matter; 2. Cumulative Gas production (ml/mg of DM) 3. Apparently degraded dry matter (mg/ g of DM); 4. Truly degraded dry matter (mg/ g of DM); 5. Partitioning factor (mg/ml) 6. Microbial biomass production (mg/g of dry matter); 7. Efficiency of microbial mass production (mg/mg); 8. Nitrogen ammonia concentration (mg/dl) 9. Standard error of means

در مطالعه حاضر بازدهی تولید پروتئین میکروبی در محدوده ۰/۳۰ تا ۰/٤۰ میلی گرم به ازای میلی گرم متغییر بود و هماهنگ با نتایج مطالعه حاضر، سیستم پروتئین و کربوهیدرات خالص کرنل نیز نشان دادند که حداکثر بازدهی تبدیل خوراک تخمیر شده به بیوماس میکروبی در صورت عدم حضور پروتوزواها ۵۰ درصد و در صورت وجود پروتوزوا در حدو ٤۰ درصد می‌باشد(راسل و همکاران ۱۹۹۲). در ضمن افزایش غلظت نشاسته درون تمامی سطوح پروتئین قابل تجزیه باعث کاهش غلظت آمونیاک گردید و این یافته می‌تواند بیانگر این واقعیت باشد که با افزایش منبع انرژی (نشاسته)، آمونیاک بیشتری صرف تولید بیوماس میکروبی گردیده است.

تولید اسیدهای چرب فرار و متان

همانطور که قبلا اشاره شد در مطالعه حاضر افزایش سطوح نشاسته منجر به کاهش کل اسیدهای چرب فرار گردید و این با نتایج حاصل توسط هانگیت (۱۹٦٦) که بیانگر وجود رابطه منفی بین تولید بیوماس میکروبی و تولید اسیدهای چرب فرار است، همخوانی دارد. همچنین گتاچیو و همکاران (۱۹۹۸) و رایمیر و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که شاخص بخش‌پذیری بسته به نسبت مولی اسیدهای چرب فرار(نسبت استات به پروپیونات) و تولید آدنوزین تری فسفات می تواند متغییر باشد بطوریکه تولید پروپیونات بیشتر در مقایسه با تولید استات بیشتر می‌تواند به حصول شاخص بخش‌پذیری بالاتری منجر گردد.

مطالعه حاضر نشان داد که اثرات متقابل بین نشاسته و پروتئین قابل تجزیه نه تنها تولید بیوماس میکروبی و اسیدهای چرب فرار بلکه تولید متان را نیز متاثر خواهد نمود. بطوریکه افزایش غلظت نشاسته منجر به کاهش تولید متان گردید. همچنین مطالعات گذشته نیز بیانگر این است که نشاسته از طریق افزایش غلظت پروپیونات باعث کاهش تولید متان می‌گردد (موس و همکاران ۲۰۰۰: بوشمین و همکاران ۲۰۰۸ و کوبایاشی ۲۰۱۰) در مطالعه حاضر نیز همبستگی منفی بین تولید پروپیونات و تولید متان مشاهده گردید. همچنین موس و همکاران (۲۰۰۰) و کوبایاشی (۲۰۱۰) نشان دادند که نسبت مولی اسیدهای چرب فرار، تولید متان در شکمبه را تحت تاثیر قرار می‌دهد و گزارش نمودند که استات و و بوتیرات، تولید متان را تحریک می‌کند در حالی‌که شکل گیری پروپیونات می‌تواند از طریق مصرف هیدروژن موجود در شکمبه با تولید متان رقابت کند. در مطالعه حاضر نیز بین متان و نسبت استات به پروپیونات (C2/C3) همبستگی وجود داشت (۰/٦٤۱)، لحاظ کردن بوتیرات در معادله مورد اشاره (یعنی نسبت استات به علاوه بوتیرات تقسیم بر پروپیونات) به دلیل در نظر گرفتن همزمان اسیدهای چرب فرار تولید کننده هیدروژن (استات و بوتیرات) و اسید چرب مصرف کننده هیدروژن (پروپیونات) باعث افزایش ضریب همبستگی بین اسیدهای چرب فرار و متان گردید (۰/٦۹۵). این یافته‌ها نیز موید این است که تولیدپروپیونات و تولید متان با هم در رقابت هستند و هر دو مسیر به عنوان مسیرهای جایگزینی به لحاظ تولید مجدد کوفاکتورهای اکسید شده در شکمبه مطرح هستند (کوبایاشی ۲۰۱۰). همچنین موس و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که همبستگی حاصل بین متان و نسبت استات به علاوه بوتیرات تقسیم بر پروپیونات ((C2+C4)/C3) در مقایسه با همبستگی با بین متان و نسبت استات به پروپیونات بیشتر است (۰/۷۷۸ در مقابل ۰/۷۷۲).

در مطالعه حاضر بازدهی تولید پروتئین میکروبی در محدوده ۰/۳۰ تا ۰/٤۰ میلی گرم به ازای میلی گرم متغییر بود و هماهنگ با نتایج مطالعه حاضر، سیستم پروتئین و کربوهیدرات خالص کرنل نیز نشان دادند که حداکثر بازدهی تبدیل خوراک تخمیر شده به بیوماس میکروبی در صورت عدم حضور پروتوزواها ۵۰ درصد و در صورت وجود پروتوزوا در حدو ٤۰ درصد می‌باشد(راسل و همکاران ۱۹۹۲). در ضمن افزایش غلظت نشاسته درون تمامی سطوح پروتئین قابل تجزیه باعث کاهش غلظت آمونیاک گردید و این یافته می‌تواند بیانگر این واقعیت باشد که با افزایش منبع انرژی (نشاسته)، آمونیاک بیشتری صرف تولید بیوماس میکروبی گردیده است.

تولید اسیدهای چرب فرار و متان

همانطور که قبلا اشاره شد در مطالعه حاضر افزایش سطوح نشاسته منجر به کاهش کل اسیدهای چرب فرار گردید و این با نتایج حاصل توسط هانگیت (۱۹٦٦) که بیانگر وجود رابطه منفی بین تولید بیوماس میکروبی و تولید اسیدهای چرب فرار است، همخوانی دارد. همچنین گتاچیو و همکاران (۱۹۹۸) و رایمیر و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که شاخص بخش‌پذیری بسته به نسبت مولی اسیدهای چرب فرار(نسبت استات به پروپیونات) و تولید آدنوزین تری فسفات می تواند متغییر باشد بطوریکه تولید پروپیونات بیشتر در مقایسه با تولید استات بیشتر می‌تواند به حصول شاخص بخش‌پذیری بالاتری منجر گردد.

مطالعه حاضر نشان داد که اثرات متقابل بین نشاسته و پروتئین قابل تجزیه نه تنها تولید بیوماس میکروبی و اسیدهای چرب فرار بلکه تولید متان را نیز متاثر خواهد نمود. بطوریکه افزایش غلظت نشاسته منجر به کاهش تولید متان گردید. همچنین مطالعات گذشته نیز بیانگر این است که نشاسته از طریق افزایش غلظت پروپیونات باعث کاهش تولید متان می‌گردد (موس و همکاران ۲۰۰۰: بوشمین و همکاران ۲۰۰۸ و کوبایاشی ۲۰۱۰) در مطالعه حاضر نیز همبستگی منفی بین تولید پروپیونات و تولید متان مشاهده گردید. همچنین موس و همکاران (۲۰۰۰) و کوبایاشی (۲۰۱۰) نشان دادند که نسبت مولی اسیدهای چرب فرار، تولید متان در شکمبه را تحت تاثیر قرار می‌دهد و گزارش نمودند که استات و و بوتیرات، تولید متان را تحریک می‌کند در حالی‌که شکل گیری پروپیونات می‌تواند از طریق مصرف هیدروژن موجود در شکمبه با تولید متان رقابت کند. در مطالعه حاضر نیز بین متان و نسبت استات به پروپیونات (C2/C3) همبستگی وجود داشت (۰/٦٤۱)، لحاظ کردن بوتیرات در معادله مورد اشاره (یعنی نسبت استات به علاوه بوتیرات تقسیم بر پروپیونات) به دلیل در نظر گرفتن همزمان اسیدهای چرب فرار تولید کننده هیدروژن (استات و بوتیرات) و اسید چرب مصرف کننده هیدروژن (پروپیونات) باعث افزایش ضریب همبستگی بین اسیدهای چرب فرار و متان گردید (۰/٦۹۵). این یافته‌ها نیز موید این است که تولیدپروپیونات و تولید متان با هم در رقابت هستند و هر دو مسیر به عنوان مسیرهای جایگزینی به لحاظ تولید مجدد کوفاکتورهای اکسید شده در شکمبه مطرح هستند (کوبایاشی ۲۰۱۰). همچنین موس و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که همبستگی حاصل بین متان و نسبت استات به علاوه بوتیرات تقسیم بر پروپیونات ((C2+C4)/C3) در مقایسه با همبستگی با بین متان و نسبت استات به پروپیونات بیشتر است (۰/۷۷۸ در مقابل ۰/۷۷۲).

جدول ۴- اثرغلظت‌های مختلف نشاسته درون هر سطح پروتئین قابل تجزیه بر روی تولید اسیدهای چرب فرار (بر حسب میلی مولار) و متان (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک انکوبه شده) پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون

Table 4- The effect of increasing starch level for each rumen degradable protein on VFA (Mmol) and Methane (ml per gram incubated dry matter) after 24 h incubation

سطوح پروتئین قابل تجزیه در شکمبه[1] RDP Level	سطوح نشاسته[1] Starch Level	فراسنجه ها: استات[5] Acetate	پروپیونات[5] Propionate	بوتیرات[5] Butyrate	والرات[5] Valerate	ایزو والرات[5] Iso-Valerate	کل اسیدهای چرب فرار[5] Total VFA	C2/C3[2]	((C2+C4)/C3)[3]	متان[6] Methane
	20	53.44	13.25	7.00	1.00	0.71	75.39	4.03	4.56	38.02
	23	49.86	13.73	5.70	1.06	0.76	71.12	3.63	4.05	33.91
9.5	26	41.47	15.51	4.70	1.31	0.92	69.55	3.06	3.34	25.68
	29	42.86	16.83	3.60	1.29	0.94	65.52	2.55	2.76	16.46
	32	39.26	17.21	3.20	1.46	0.99	62.12	2.28	2.47	16.46
	20	49.40	13.41	6.70	1.13	0.81	71.44	3.68	4.18	33.91
	23	46.15	14.29	5.30	1.18	0.84	67.76	3.23	3.60	37.03
10.5	26	44.43	15.14	4.10	1.48	0.84	65.99	2.94	3.21	25.68
	29	38.70	17.22	4.00	1.47	0.96	62.35	2.25	2.48	20.57
	32	36.51	16.81	3.70	1.61	0.98	59.61	2.17	2.39	17.45
	20	47.47	15.10	7.2	1.29	0.92	72.00	3.14	3.62	37.03
	23	44.81	15.90	5.50	1.34	1.00	68.56	2.82	3.16	34.98
11.5	26	40.52	16.12	3.80	1.39	1.04	64.92	2.23	2.44	27.73
	29	36.00	17.96	3.60	1.46	1.05	60.53	1.96	2.15	20.57
	32	33.83	18.09	3.30	1.41	1.06	55.71	2.10	2.30	20.57
	20	46.36	17.79	7.40	1.18	1.01	71.74	2.94	3.40	34.98
	23	44.02	16.42	6.10	1.37	1.04	68.95	2.68	3.05	33.91
12.5	26	41.29	17.68	4.00	1.40	1.10	65.47	2.34	2.56	28.80
	29	37.94	18.17	3.50	1.54	1.12	62.07	2.11	2.31	21.56
	32	33.34	18.41	3.20	1.57	1.15	57.34	1.84	2.02	18.52
SEM[4]		0.88	0.31	0.09	0.02	0.02	1.31	0.06	0.07	0.52
اثرات نشاسته در هر سطح پروتئین قابل تجزیه		Effect of starch for each protein level								
9.5		Linear خطی	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Quadratic درجه سوم	Cubic درجه دوم	Linear خطی	Linear خطی	Linear خطی	Cubic درجه دوم
10.5		Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Linear خطی	Cubic درجه دوم
11.5		Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Linear خطی	Cubic درجه دوم
12.5		Linear خطی	Linear خطی	Quadratic درجه سوم	Cubic درجه دوم	Cubic درجه دوم	Linear خطی	Linear خطی	Linear خطی	Linear خطی

۱.بر حسب درصدی از ماده خشک، ۲. نسبت استات به پروپیونات، ۳. نسبت استات به علاوه بوتیرات تقسیم بر پروپیونات. ٤. میانگین خطای استاندارد ها، ٥. بر حسب میلی مولار، ٦. میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک انکوبه شده.

1. Based on the dry matter; Acetate to propionate ratio; 3. Acetate+butyrate/propionate; 4. Standard error of means; 5. Based on the mM; 6. Ml/g of incubated dry matter.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که سطوح متفاوت نشاسته و پروتئین قابل تجزیه در جیره‌های کاملا مخلوط، فراسنجه‌هایی همچون مقدار گاز تولیدی (کربن دی اکسید و متان)، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، شاخص بخش‌پذیری و تولید بیوماس میکروبی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. لازم به ذکر است که تعیین سطح مطلوب نشاسته در جیره‌های کاملا مخلوط تحت تاثیر غلظت پروتئین قابل تجزیه در شکمبه قرار دارد و برعکس تعیین سطح مطلوب پروتئین قابل تجزیه در جیره‌های کاملا مخلوط متاثر از غلظت نشاسته در این جیره‌ها می‌باشد. همچنین جهت ارزیابی اثرات همزمان انرژی و پروتئین در جیره‌های کاملا مخلوط، فراسنجه‌هایی همچون شاخص بخش‌پذیری و بازدهی تولید بیوماس میکروبی در مقایسه با سایر فراسنجه‌ها از اعتبار بیشتری برخوردار هستند. در مطالعه حاضر مشاهده گردید که هر دو شاخص بخش‌پذیری و بازدهی تولید بیوماس میکروبی، در جیره‌های حاوی ۱۲/۵درصد پروتئین قابل تجزیه و ۲۶ درصد نشاسته بیشترین بود و این نتیجه می‌تواند بیانگر این واقعیت باشد که حتی در سطوح بالاتر از حد نرمال پروتئین قابل تجزیه درشکمبه وجود مقادیر بالاتر از ۲۶ درصد نشاسته (بر اساس ماده خشک) نه تنها به افزایش بازدهی تولید بیوماس میکروبی منجر نمی‌گردد بلکه باعث اتلاف مقادیر بیشتری از مواد مغذی خوراک در قالب گازهای دفعی و در نتیجه کاهش شاخص بخش‌پذیری گردد.

منابع مورد استفاده

Anele UY, Südekum KH, Hummel, J Arigbede OM, Oni AO, Olanite JA, Böttger C, Ojo VO and Jolaosho AO, 2011. Chemical characterization, in vitro dry matter and ruminal crude protein degradability and microbial protein synthesis of some cowpea (Vignaunguiculata L. Walp) haulm varieties. Animal Feed Science and Technology 163:161–169.

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.

Beever DE, 1993. Ruminant animal production from forages -present position and future opportunities. In: BAKER, M. J. (ed.), Grassland for our World. SIR Publishing, p. 158.

Blümmel M and Lebzien P. 2001. Predicting ruminal microbial efficiencies of dairy ration by in vitro techniques. Livestock Production Science68: 107–117.

Blümmel M, 2000. Predicting the partitioning of fermentation products by combined in vitro gas volumechniques. iques. techniques. (ed.), Grassland for our World. SIR Publishing, p. 1tion: Fermentation Kinetics for Feed Evaluation and to Assess Microbial activity. British Society of Animal Science, Penicuik, Midlothian, pp. 48, p.

Blummel B, Makkar HPS. & Becker K, 1997. In vitro gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 77: 24–34.

Brito AF, Broderick GA, Olmos Colmenero GAJJ and Reynal SM, 2007. Effects of feeding formate-treated alfalfa silage or red clover silage on omasal nutrient flow and microbial protein synthesis in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 90:1392–1404.

Broderick GA, 2006a. Nutritional Strategies to Reduce Crude Protein in Dairy Diets. 21stAnnual Southwest Nutrition & Management Conference, February 23-24.

Broderick GA, 2006b. Improving Nitrogen Utilization in the Rumen of the Lactating Dairy Cow. Florida Ruminant Nutrition Symposium, Best Western Gateway Grand, Gainesville FL.

Broderick GA and Reynal SM. 2009. Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 92: 2822-34.

Cameron MR, Klusmeyer TH, Lynch GL, Clark JH and Nelson DR. 1991. Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. Journal of Dairy Science: 74:1321–1336.

Casper DP and Schingoethe DJ. 1989. Lactational response of dairy cows to diets varying in ruminal solubilities of carbohydrate and crude protein. Journal of Dairy Science 72: 928–941.

Chai WZ, van Gelder AH and Cone JW, 2004. Relationship between gas production and starch degradation in feed samples. Animal Feed Science and Technology 114: 195–204.

Cone JW and Van Gelder AH. 1999. The influence of protein fermentation on gas production profiles. Animal Feed Science and Technology 76: 251–264.

Getachew G, Blummel M, Makkar HPS, Becker K. 1998. In vitro gas measuring techniques for assessment ofnutritional quality of feeds: a review. Animal Feed Science and Technology 72: 261–281.

Goering HK and Van Soest PJ, 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures and some applications). In: USDA Agriculture Handbook No. 379. USDA-ARS, Washington, DC, USA.

Grings EE, Blummel M and Sudekum KH. 2005. Methodological considerations in using gas production techniques for estimating ruminal microbial efficiencies for silage-based diets. Animal Feed Science and Technology 123: 527–545.

Groot JCJ, Cone JW, Williams BA, Debersaques FMA and Lantinga EA. 1996. Multiphasic analysis of gas production kinetics for in vitro fermentation of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology 64: 77–89.

Hansen J and Møller I. 1975. Percolation of starch and soluble carbohydrates from plant tissue for quantitative determination with enthrone. Anal Biochemistry 68: 87-94.

Hungate RE. 1966. The Rumen and its Microbes. Academic Press, NY, USA.

Ipharraguerre IR and Clark JH, 2005. Impacts of the source and amount of crude protein on the intestinal supply of nitrogen fractions and performance of dairy cows. Journal of Dairy Science88: E22– E37.

Kobayashi Y, 2010. Abatement of Methane Production from Ruminants: Trends in the Manipulation of Rumen Fermentation. Asian-Aust. Journal of Animal Science 23: 410 – 416.

Menke KH, Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Anim. Res. Dev. 28, 7–55.

Moss AR, Jouany JP and Newbold J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. Anal Zoo technology 49: 231–253.

Nocek JE. 1988. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: A review. Journal of dairy Science 71: 2051-2069.

Russell JB, O'Connor JD, Fox DG, Van Soest PJ and Sniffen CJ. 1992. A net-carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. Journal of Animal Science 70: 3551–3561.

Rymer C, Huntington JA, Williams BA and Givens DI, 2005. In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. Animal Feed Science and Technology 124: 9–30

SAS®, 2002. User'sguide: Statistics, Version 9. 1. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA.

Schofield P, Pitt RE and Pell AN. 1994. Kinetics of fibre digestion from in vitro gas production. Journal of Animal Science 72: 2980–2991.

Sniffen CJ, O'Connor JD, Van Soest PJ, Fox DG and Russel JB, 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets II carbohydrate and protein availability. Journal of Animal Science 70: 3562-3577.

Stern MD, Bach A and Calsamiglia S, 2006. New Concepts in Protein Nutrition of Ruminants. 21st Annual Southwest Nutrition & Management Conference, February 23-24, Tempe, AZ – 45.

Stern MD and Hoover WH, 1979. Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: A review. Journal of Animal Science 49: 1590-1603.

Stern MD, Hoover H, Sniffen CJ, Crooker BA and Knowlton PH, 1978. Effects of nonstructural carbohydrate, urea and soluble protein on microbial protein synthesis in continuous culture of rumen contents. Journal of Animal Science 47: 944–956.

Tamminga S, 1992. Nutrition management of dairy-cows as a contribution to pollution control. Journal of Dairy Science75:345–357.

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. Animal Feed Science and Technology 48: 185-197.

Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74: 3583–3597.

The study of synchrony effect of starch and rumen degradable protein concentrations by gas production technique

F Fatehi[1], A Zali[2*], M Dehghan-Banadaky[2] and M Danesh Mesgaran[3]

Received: September 06, 2015 Accepted: November 23, 2015

[1]Assistant Professor, Department of Animal Science, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran 31587-77871, Karaj, Iran
[2]Associate Professor, Department of Animal Science, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran 31587-77871, Karaj, Iran
[3]Professor, Department of Animal Science, Excellence Center for Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad 91775-1163, Mashhad, Iran
[*] Corresponding author: zalia@can.ut.ac.ir

Abstract

BACKGROUND: Synchronization between energy and protein is an important topic in feeding programs of high producing lactating cows **OBJECTIVES:** Effects of four concentrations of rumen degradable protein (RDP) (9.5, 10.5, 11.5 and 12.5%) and five concentrations of starch (20, 23, 26, 29 and 32%) on gas production measurements from different pools (fast and slow) after 96 h of incubation, microbial biomass production, partitioning factor (mg of truly digested DM/ml of gas produced), short-chain fatty acids (SCFA) and methane after 24 h of incubation of a total mixed ration were evaluated *in vitro*. **RESULTS:** Increasing starch within each RDP concentration resulted in a linear increase for diets with 10.5, 11.5 and 12.5% RDP, whereas diets with 9.5% RDP had a quadratic pattern in gas production from the rapidly degradable pool as starch concentration increased. Conversely, gas production from the slowly degradable pool decreased linearly for all RDP concentrations except for diets containing 9.5% RDP, which exhibited a cubic pattern. The *in vitro* truly degraded dry matter (DM) was greatest ($P<0.05$). in diets with 11.5% RDP, while other variables like partitioning factor (PF), microbial biomass production (MBP) and efficiency of microbial biomass production (EMBP) were greatest ($P < 0.05$) in diets with 12.5% RDP. Increasing starch concentration resulted in greater degraded DM but a decrease in ammonia nitrogen concentration ($P<0.05$). More DM was degraded in both 11.5 and 12.5% RDP diets, which also led to greater microbial mass production. Increasing starch decreased total SCFA of the diets. The influence of starch on propionate concentration was similar to that noted in the PF, MBP and EMBP of the diets. **CONCLUSIONS:** Overall, partitioning factor and efficiency of microbial biomass production are more reliable criteria to use in evaluating differences in energy and protein concentrations of total mixed ration than total gas production and degraded DM.

Keywords: Energy, Protein, In vitro gas production technique, Dairy cow diets