تحقیقات تولیدات دامی

سال دهم/شماره چهارم/زمستان ۱۴۰۰ (۱۷-۱)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

اثر اکسترود کردن کنجاله سویا و کلزا و کاهش سطح پروتئین خام جیره بر فراسنجه-های خونی و جمعیت میکروبی شکمبه گوساله‌های پرواری

امیر هادی‌پور[۱]، اردشیر محیط[۲*]، حسن درمانی کوهی[۲]، فرزاد هاشم‌زاده[۳]

۱- دانشجوی دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۰۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۴)

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثر کاهش سطح پروتئین خام جیره و افزودن کنجاله‌های سویا و کلزای اکسترود شده بر فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای، جمعیت متانوژن‌ها و باکتری‌های با تولید آمونیاک زیاد (HAB) شکمبه گوساله‌های پرواری بود. بدین منظور، ۳۶ رأس گوساله نر پرواری در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و شش تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱) شاهد (کنجاله سویا) (CP=۱۵ درصد)، ۲) کنجاله سویا (CP=۱۳ درصد، 13SBM)، ۳) کنجاله سویای اکسترود (CP=۱۳ درصد، EXSBM)، ۴) کنجاله کلزا (CP=۱۳ درصد، 13CM)، ۵) کنجاله کلزای اکسترود (CP=۱۳ درصد، EXCM)، و ۶) پودر ماهی (CP=۱۳ درصد، FM) بودند. غلظت آلبومین، پروتئین تام، کراتینین و نیتروژن اوره‌ای خون در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد، کاهش یافت (P<۰/۰۵). بالاترین میزان آمونیاک و استات شکمبه و کمترین میزان پروپیونات و اسیدهای چرب فرار در گروه شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵). کمترین جمعیت HAB شکمبه در تیمارهای تغذیه شده با کنجاله سویا و کلزای اکسترود شده و سپس در دیگر تیمارهای با پروتئین پائین بود و در تیمار شاهد بیشترین بود (P<۰/۰۵). همچنین تیمارهای دریافت کننده کنجاله سویا و کلزای اکسترود شده دارای جمعیت کمتری از متانوژن‌ها نسبت به گروه شاهد بودند (P<۰/۰۵). با توجه به نتایج به‌دست آمده، کاهش سطح CP جیره و عمل اکسترود کردن کنجاله سویا و کلزا سبب کاهش جمعیت HAB و آمونیاک شکمبه و اوره خون شد. در ضمن، اکسترود کردن، جمعیت متانوژن‌ها و نسبت استات به پروپیونات را کاهش و موجب افزایش غلظت تام اسیدهای چرب فرار به عنوان شاهدی از بهبود راندمان تخمیر شکمبه، شد.

واژه‌های کلیدی: اکستروژن، آمونیاک، پروتئین، گوساله پرواری، متان

* نویسندهٔ مسئول: ar_mohit@guilan.ac.ir

doi: 10.22124/AR.2022.19997.1631

مقدمه

کنجاله کلزا و کنجاله سویا به عنوان متداول‌ترین منابع پروتئینی در تغذیه گاوها هستند. اگر چه کنجاله سویا به عنوان منبع اصلی پروتئینی در جیره غذایی حیوانات اهلی و طیور به شمار می‌رود (de Coca-Sinova *et al.*, 2008)، ولی از کنجاله کلزا نیز به عنوان منبع پروتئینی ارزان قیمت‌تر نسبت به کنجاله سویا در فرمولاسیون جیره حیوانات اهلی استفاده می‌شود (Ariyibi, 2018). در دهه‌های اخیر، با افزایش فشار بر منابع دریایی و اقیانوسی، افزایش تقاضا و قیمت فزاینده پودر ماهی (به عنوان منبع غنی از پروتئین عبوری[1]) در بازار، متخصصین تغذیه در صدد یافتن منابع پروتئینی با قیمت کمتر بوده‌اند (Ahmed *et al.*, 2019; Biswas *et al.*, 2019). پروتئین نیز به عنوان یکی از مواد مغذی با ارزش در جیره‌های غذایی گاوهای شیری و پرواری به حساب می‌آید. هر چند، استفاده بیش از حد از نیتروژن یکی از موارد رایج در پرورش دام‌های پرواری و شیری بوده است و منجر به ضررهای اقتصادی و همچنین آسیب‌های جدی به محیط زیست می‌شود (Hristov *et al.*, 2015; Niu *et al.*, 2016). علاوه بر این، تحقیقات نشان داده است که کاهش سطح پروتئین خام و تغییر سطح پروتئین عبوری در گاوهای پرواری هیچ تأثیر منفی بر خصوصیات عملکردی و یا فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای نداشته است (Menezes *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2020).

از دیرباز، روش‌های فیزیکی و شیمیایی گوناگونی برای کاهش قابلیت هضم شکمبه‌ای پروتئین خام در شکمبه و افزایش قابلیت دسترسی اسیدهای آمینه در روده مورد بررسی قرار گرفته است (Nowak *et al.*, 2005). تحقیقات حاکی از آن است که استفاده از تیمارهای حرارتی نسبت به روش‌های شیمیایی برای محافظت پروتئین از تجزیه‌پذیری در شکمبه موثرتر بوده است. افزون بر این، روش‌های شیمیایی ممکن است باعث بروز آثار مضر بر قابلیت هضم اسیدهای آمینه در روده شوند (Mustafa *et al.*, 2000). مطالعات نشان داده است که اکسترود کردن[2] سبب افزایش میزان کل اسیدهای آمینه ورودی به روده می‌شود و در عین حال، فعالیت عوامل ضدتغذیه‌ای را به حداقل می‌رساند (Stern *et al.*, 1985; Benchaar and Moncoulon, 1993). افزون بر این، عمل‌آوری حرارتی موجب اصلاح میزان و نرخ هضم پروتئین و نشاسته در شکمبه شده و به عنوان یک ابزار مهم و ویژه برای تغییر محل هضم نشاسته و پروتئین از شکمبه به روده به شمار می‌رود (Tothi *et al.*, 2003).

درک سوخت و ساز شکمبه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و به عنوان پیش مقدمه تأمین احتیاجات مواد مغذی و انرژی حیوانات در نظر گرفته می‌شود. میکروبیوتای شکمبه متشکل از یک اکوسیستم پیچیده است که فعالیت متابولیکی آن مسئول سوخت و ساز شکمبه است که شامل فعالیت‌های گوناگونی از قبیل تولید متان و بازچرخ نیتروژن است (Hartinger *et al.*, 2018). از این رو، درک اساسی و بنیادین میکروبیوم شکمبه و رابطه آن با حیوان میزبان، متانوژن‌ها و سایر میکروارگانیسم‌ها برای اصلاح شکمبه در مسیری که به بهبود بازدهی پرورش، سودآوری و امنیت غذایی منجر شود لازم و ضروری است.

باکتری‌های شکمبه عوامل اصلی تجزیه پروتئین و اسیدهای آمینه خوراک هستند. پروتئین جیره در شکمبه به وسیله فعالیت پروتئازها، پپتیدازها و دآمینازها به ترتیب به پپتیدها، اسیدهای آمینه و آمونیاک تبدیل می‌شود (Arriola Apelo *et al.*, 2014). بخش اعظم آمونیاک تولید شده به وسیله باکتری‌های شکمبه به عنوان منبع نیتروژن مورد استفاده قرار می‌گیرد. از آنجایی که کاتابولیسم کربوهیدرات‌ها نسبت به استفاده از آمونیاک به وسیله میکروارگانیسم‌های شکمبه سریع‌تر صورت می‌گیرد، تجمع آمونیاک در شکمبه باعث جذب آن از دیواره شکمبه شده و متعاقباً در کبد به اوره تبدیل شده و از راه ادرار دفع می‌شود (Arriola Apelo *et al.*, 2014).

متانوژن‌ها گروه متنوعی از موجودات زنده هستند که در محیط‌های بی‌هوازی گوناگون نظیر شکمبه نشخوارکنندگان یافت می‌شوند. بخش عمده‌ای از انرژی مواد مغذی در فرآیند تولید متان در نشخوارکنندگان به هدر می‌رود و متان تولیدی نیز باعث آثار نامطلوب روی محیط زیست می‌شود (Knapp *et al.*, 2014).

1. Rumen undegradable protein (RUP)
2. Extrusion

باکتری‌های با تولید آمونیاک زیاد (نظیر کلستریدیوم استیک‌لندی[1]، کلستریدیوم آمینوفیلوم[2] و باکتروئیدها[3]) باکتری‌های گرم مثبتی هستند که به‌طور بسیار اختصاصی وظیفه تولید آمونیاک را دارند و در بین میکروارگانیسم‌های شکمبه دارا بیشترین فعالیت پروتئولیتیکی هستند (Szumacher-Strabel and Cieślak, 2010). این باکتری‌ها با وجود فراوانی اندک در محیط شکمبه (کمتر از ۰/۰۱ درصد از کل باکتری‌های شکمبه)، فعالیت متابولیکی بسیار بالایی از خود نشان می‌دهند (Russell *et al.*, 1988) به‌طوری که تا حد ۵۰ درصد فرآیند تجزیه پروتئین در شکمبه و در نتیجه تولید آمونیاک به آنها وابسته است (Hart *et al.*, 2008).

مطالعات صورت گرفته روی آثار پروتئین خام یا تأثیر عمل‌آوری منابع پروتئینی روی جداسازی، جمعیت و تعیین خصوصیات باکتری‌های با تولید آمونیاک زیاد و آرکه‌آهای متانوژنیک، به خصوص در گاوهای پرواری، محدود هستند. بنابراین هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی اثر اکسترود کردن کنجاله سویا و کنجاله کلزا و کاهش سطح پروتئین خام جیره روی فراسنجه‌های بیوشیمایی خون و شکمبه و همچنین باکتری‌های با تولید آمونیاک زیاد و آرکه‌آهای متانوژنیک در گاوهای پرواری بود.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش و ویژگی‌های دام‌ها: این پژوهش در محدوده زمانی خرداد تا مرداد ماه سال ۱۳۹۷ و به مدت ۷۰ روز در گاوداری پرواری شرکت نوید مرغ گیلان، رشت، استان گیلان، انجام شد. کلیه دام‌ها بر اساس دستورالعمل‌های انجمن ملی حفظ و نگهداری حیوانات ایران پرورش داده شدند. برای این منظور، تعداد ۳۶ رأس گوساله نر اخته شده نژاد هلشتاین با متوسط وزن زنده ۴۶±۳۰۸ کیلوگرم استفاده شد. کلیه دام‌ها در جایگاه‌های انفرادی بسته شده و به صورت جداگانه و در سه وعده غذایی صبح، بعد از ظهر و شب تغذیه شدند. حیوانات در طول مدت آزمایش با استفاده از آبخوری‌های فنجانی به آب تازه دسترسی آزاد داشتند.

تیمارهای آزمایشی و عمل‌آوری حرارتی: به منظور انجام این پژوهش از یک طرح کاملاً تصادفی در قالب شش تیمار و شش تکرار استفاده شد. برای تنظیم جیره‌های آزمایشی از نرم افزار جیره‌نویسی CNCPS 6.5.5.1 برای دام‌های با متوسط وزنی ۳۰۰ کیلوگرم و متوسط افزایش وزن روزانه ۱۶۵۰ گرم استفاده شد. تیمارهای غذایی به شرح زیر ارائه شدند: ۱) شاهد (جیره تنظیم شده بر اساس احتیاجات مواد مغذی گاوهای گوشتی) و بر پایه کنجاله سویا به عنوان منبع پروتئین و حاوی حدود ۱۵ درصد پروتئین خام (Ctrl, 15SBM)، و تیمارهای با سطح پروتئین کمتر نسبت به گروه شاهد و حاوی حدود ۱۳ درصد پروتئین خام به ترتیب بر پایه ۲) کنجاله سویا به عنوان منبع پروتئین (13SBM)، ۳) کنجاله سویای اکسترود شده (EXSBM)، ۴) کنجاله کلزا (13CM)، ۵) کنجاله کلزای اکسترود شده (EXCM)، و ۶) پودر ماهی (FM). اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی به ترتیب در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است.

با همیاری شرکت‌های گیلک دانه نوید و سنا دام پارس، مقادیر پنج تن از هر یک از کنجاله‌های سویا و کلزا و یک تن پودر ماهی خریداری شد. کنجاله سویا با منشاء وارداتی (آرژانتین) و کنجاله کلزا با منشاء داخلی (شرکت روغن‌کشی کندوج، شهرک صنعتی صومعه سرا، استان گیلان) بودند. پودر ماهی نیز از منشاء ماهی جنوب (ضایعات کنسروسازی ماهی هوور) (شرکت گیلمان پودر، بندر کیاشهر، استان گیلان) تأمین شد. کلیه اقلام خوراکی شامل یونجه، کاه گندم، سیلاژ ذرت، دانه ذرت، دانه گندم، سبوس گندم، تفاله چغندرقند، پودر چربی، روغن سویا و سایر مکمل‌ها و افزودنی‌ها از شرکت گیلک دانه نوید تهیه شد و ترکیب شیمیایی آنها با مشارکت شرکت پایا آمین مهر به روش NIRS (Fontaine *et al.*, 2001) تخمین زده شد و نتایج حاصل برای تنظیم جیره‌های غذایی مورد استفاده قرار گرفت.

1. *Clostridium sticklandii*
2. *Clostridium aminophilum*
3. *Bacteroides*

برای عمل‌آوری حرارتی کنجاله سویا و کنجاله کلزا به روش اکسترود (مدت زمان ۴۵ دقیقه و دمای ۹۷ درجه سلسیوس و رطوبت ۲۰ درصد)، مقادیر کافی نمونه‌های مدنظر با استفاده از یک دستگاه اکسترودر تک مارپیچ (Amandus Kahl, Gmbh) مورد عمل‌آوری حرارتی قرار گرفتند. برای این منظور، پس از انجام آزمایشات اولیه (تعیین درصد رطوبت، پروتئین خام، چربی خام، الیاف خام، حلالیت در KOH و تست اوره‌آز)، نسبت به عمل‌آوری آنها مطابق روش-های انحصاری شرکت سنا دام پارس اقدام شد.

نمونه‌گیری خون و اندازه‌گیری فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون: در روز ۶۵ آزمایش، نمونه‌گیری خون از کلیه دام‌ها جهت اندازه‌گیری و سنجش فراسنجه‌های بیوشیمایی خون از سیاهرگ دمی و با لوله‌های خلاء نه میلی‌لیتری فاقد ماده ضد انعقاد انجام شد. کلیه نمونه‌ها بلافاصله در ظرف حاوی یخ نگهداری شدند و در فاصله زمانی حداکثر دو ساعت به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های خون با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند (Hashemzadeh-Cigari *et al.*, 2015) و نمونه‌های سرم به-دست آمده در میکروتیوب‌های دو میلی‌لیتری در دو تکرار در دمای ۲۰- °C برای تجزیه‌های بعدی نگهداری شدند. بررسی فراسنجه‌های خونی (آلبومین، گلوبولین، پروتئین تام، نیتروژن اوره‌ای خون (BUN) و کراتینین) بر اساس روش معتبر (Hashemzadeh-Cigari *et al.*, 2015) و با استفاده از کیت‌های تجاری (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) و به روش الایزا[1] (Automatic biochemistry analyzer ChemWell® 2910) انجام شد.

نمونه‌گیری مایع شکمبه و اندازه‌گیری pH، آمونیاک و اسیدهای چرب فرار شکمبه: برای اندازه‌گیری pH، آمونیاک و اسیدهای چرب فرار، در روز ۶۰ دوره آزمایش، نمونه‌گیری از مایع شکمبه کلیه دام‌ها به روش رومنوسنتسیس[2] صورت گرفت (Kargar *et al.*, 2012). برای این منظور از یک سرنگ ۶۰ میلی‌لیتر و یک نیدل مخصوص به طول mm ۱۲۷ و گیج ۱۶ استفاده شد. قبل از نمونه‌گیری، فضای حدود cm^2 ۱۰۰ بین دنده شماره ۱۲ و ۱۳ سمت چپ بدن به‌طور کامل با تیغ تراشیده شد و چهار ساعت بعد از وعده غذایی صبح با محلول پوویدین آیوداین ۱۰ درصد ضدعفونی شد و پس از حدود ۳۰ ثانیه حدود ۵۰ میلی‌لیتر نمونه مایع شکمبه گرفته شد. pH نمونه‌های حاصله بلافاصله با یک دستگاه pH متر دیجیتال پورتابل (TESTO، 206PH1، Germany) اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها سپس به دو قسمت تقسیم شد. یک قسمت برای بررسی غلظت کل اسیدهای چرب فرار و نسبت آنها با مقدار هشت میلی‌لیتر مایع شکمبه با دو میلی‌لیتر محلول ۲۵ درصد اسید متافسفریک مخلوط شد و قسمت دیگر برای بررسی غلظت نیتروژن آمونیاکی بدون هیچ افزودنی در دمای ۲۰- °C فریز شد. برای اندازه-گیری غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه از روش کروماتوگرافی گازی (Chrompack, model CP-9002; Chrompack International BV, Middelburg, the Netherlands) استفاده شد (Kargar *et al.*, 2012). اندازه-گیری نیتروژن آمونیاکی نیز بر اساس روش کالری‌متری فنول-هیپوکلریت انجام شد (Broderick and Kang, 1980).

نمونه‌گیری مایع شکمبه و اندازه‌گیری میکروب‌های شکمبه (متانوژن‌ها و باکتری‌های با تولید بالای آمونیاک): در پایان دوره آزمایش، نمونه‌گیری از مایع شکمبه برای اندازه‌گیری جمعیت میکروب‌های شکمبه بر اساس روش لوله‌گذاری دهانی-معدی[3] صورت گرفت (Wang *et al.*, 2016). برای این منظور، با استفاده از یک پمپ خلاء مخصوص نمونه-گیری مجهز به لوله‌ای به طول ۱/۸ متر و به قطر یک اینچ حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه هر دام و چهار ساعت بعد از وعده غذایی صبح روز ۷۰ دوره آزمایش استحصال شد. نمونه‌های حاصل از هر تیمار (شش نمونه ۵۰۰ میلی‌لیتری) مخلوط، از دو لایه پارچه متقال عبور داده شد و در نهایت به سه نمونه ۱۵۰ میلی‌لیتری تقسیم شد و بلافاصله در تانک ازت قرار داده شد و پس از انتقال به آزمایشگاه در دمای ۸۰- °C منجمد شد تا برای تجزیه‌های بعدی مورد استفاده قرار گیرد. برای اندازه‌گیری میکروب‌های متانوژن و باکتری-های با تولید آمونیاک زیاد از روش Quantitative Real-Time PCR استفاده شد (Mohammed *et al.*, 2011).

1. ELISA
2. Rumenocentesis
3. Oral stomach tubing

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده جیره‌های آزمایشی (بر حسب درصد ماده خشک)

Table 1. Ingredients of experimental treatment diets (as DM (%))

Ingredients	Treatments[1]					
	Ctrl	13SBM	EXSBM	13CM	EXCM	FM
Alfalfa hay (chopped)	5.88	5.89	5.89	5.18	5.18	5.31
Wheat straw (chopped)	2.01	2.01	2.01	1.94	1.94	1.99
Corn silage	13.37	13.39	13.39	12.95	12.95	13.28
Ground corn	40.78	42.84	42.84	41.45	41.45	44.89
Ground wheat	5.35	5.35	5.35	5.18	5.18	5.31
Wheat bran	4.01	7.50	7.50	6.99	6.99	7.70
Sugar beet pulp	7.49	7.50	7.50	7.25	7.25	7.44
Soybean meal	13.77	8.03	0.00	0.00	0.00	0.00
Extruded soybean meal	0.00	0.00	8.03	0.00	0.00	0.00
Canola meal	0.00	0.00	0.00	11.79	0.00	0.00
Extruded canola meal	0.00	0.00	0.00	0.00	11.79	0.00
Fish meal	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.64
Calcium salts of fatty acids	3.07	3.21	3.21	3.11	3.11	3.19
Soya oil	0.67	0.67	0.67	0.65	0.65	0.66
$CaCO_3$	0.40	0.40	0.40	0.39	0.39	0.40
Mono-calcium phosphate	0.53	0.54	0.54	0.52	0.52	0.53
Common salt	0.67	0.67	0.67	0.65	0.65	0.66
$NaHCO_3$	0.67	0.67	0.67	0.65	0.65	0.66
Vitamin-mineral premixes[2]	0.67	0.67	0.67	0.65	0.65	0.66
K_2CO_3	0.27	0.27	0.27	0.26	0.26	0.27
MgO	0.40	0.40	0.40	0.39	0.39	0.40

[1] Ctrl: Control (according to nutrient requirements of beef cattle) with supplementation of SBM as protein source (15SBM), 15% reduction in level of CP compared to the control group including 13SBM: Supplementation with SBM, EXSBM: Supplementation with extruded SBM (EXSBM), 13CM: Supplementation with CM, EXCM: Supplementation with extruded CM, and FM: Supplementation with fish meal. [2] Supplied per kilogram of feed: vitamin A: 3100 IU, vitamin D_3: 275 IU, vitamin E: 35 IU; Mn: 30 mg, Zn: 30 mg, Fe: 50 mg, Cu: 16.8 mg, I: 0.5 mg, Se: 0.3 mg, Co: 0.6 mg.

بدین منظور، DNA ژنومی از مخلوط شش مایع شکمبه و مواد هضمی بر اساس روش Guan *et al.* (2008) استخراج شد. بر اساس اطلاعات موجود در بانک‌های ژنی برای جایگاه‌های به شدت حفاظت شده و اختصاصی نظیر ژن 16S rRNA در گونه‌های متانوژن (Mohammed *et al.*, 2011) و باکتری‌های با تولید آمونیاک زیاد (Attwood *et al.*, 1998)، آغازگرهای اختصاصی طراحی شد (جدول ۳) و پس از بهینه‌سازی فرآیند تکثیر، با کمک Real-Time PCR نسبت به تعیین تعداد کپی‌های کل ژن 16S rRNA میکروب‌های متانوژن و میکروب‌های با تولید آمونیاک زیاد اقدام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از طرح کاملاً تصادفی و رویه GLM نرم‌افزار SAS (SAS, 2003) استفاده شد. همچنین برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون توکی و در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

داده‌های حاصل از آثار اکسترود کردن کنجاله سویا و کنجاله کلزا و کاهش سطح پروتئین خام جیره روی فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون گوساله‌های پرواری در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد که کاهش سطح پروتئین خام، صرف‌نظر از منبع پروتئین یا روش عمل‌آوری باعث کاهش (۵/۱۹٪-) معنی‌دار غلظت آلبومین سرم خون شد (P<۰/۰۱). از سوی دیگر، اختلاف غلظت گلوبولین سرم خون، علی‌رغم تبعیت از روند کاهش غلظت آلبومین با کاهش سطح پروتئین خام، تنها از نظر عددی نسبت به گروه شاهد پائین‌تر بود (۵/۶۴٪-) (P=۰/۱۳۲). با این وجود، غلظت پروتئین تام خون در نتیجه استفاده از جیره‌های با کاهش ۱۵ درصدی پروتئین خام نسبت به گروه شاهد، کاهش (۵/۲۴٪-) داشت (P<۰/۰۱)، اگر چه این اختلاف در

جدول ۲- ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی بر حسب ماده خشک

Table 2. Chemical composition of experimental diets on dry matter basis

Item	Treatments[1]					
	Ctrl	13SBM	EXSBM	13CM	EXCM	FM
Dry matter (%)	66.60	66.50	66.55	67.10	67.10	66.50
Forage (%)	21.20	21.30	21.30	20.10	20.10	20.70
Concentrate (%)	78.80	78.70	78.70	79.90	79.90	79.30
ME (Mcal/kg)	2.73	2.73	2.73	2.68	2.68	2.74
CP[2] (%)	14.79	12.78	12.78	12.78	12.78	12.81
RUP[3] (%CP)	34.09	34.29	41.79	37.95	45.23	42.24
RDP[4] (%CP)	65.91	65.71	58.21	62.05	54.77	57.76
RUP (%DM)	5.04	4.38	5.34	4.85	5.78	5.41
RDP (%DM)	9.75	8.40	7.44	7.93	7.00	7.40
NDF[5] (%)	21.06	21.97	22.31	23.02	23.02	21.40
NFC[6] (%)	50.28	51.46	51.26	50.23	50.23	51.33
EE (%)	6.30	6.44	6.44	6.55	6.55	7.11
Lysine (%)	6.72	6.74	6.72	6.61	6.61	6.76
Methionine (%)	2.21	2.28	2.26	2.34	2.34	2.43
Lys:Met ratio	3.04	2.95	2.97	2.82	2.82	2.78
Calcium (%)	0.89	0.88	0.88	0.90	0.90	1.11
Total Phosphorous (%)	0.56	0.57	0.59	0.64	0.64	0.64
Na (%)	0.44	0.44	0.44	0.43	0.43	0.46
K (%)	1.07	1.01	1.01	0.94	0.94	0.91
Cl (%)	0.51	0.51	0.51	0.49	0.49	0.54

[1] Ctrl: Control (according to nutrient requirements of beef cattle) with supplementation of SBM as protein source (15SBM), 15% reduction in level of CP compared to the control group including 13SBM: Supplementation with SBM, EXSBM: Supplementation with extruded SBM (EXSBM), 13CM: Supplementation with CM, EXCM: Supplementation with extruded CM, and FM: Supplementation with fish meal. [2] CP: crude protein, [3] RUP: Rumen undegradable protein, [4] RDP: Rumen degradable protein, [5] NDF: Neutral detergent fiber, [6] NFC: Non fiber carbohydrate.

جدول ۳- آغازگرهای استفاده شده برای تعیین جمعیت‌های میکروبی هدف شکمبه گوساله‌های پرواری

Table 3. Primers used to determine target rumen microbial populations of feedlot cattle

Primer	Sequence (5′ to 3′)	Target Population	Reference
Met1f[1] Met1r[2]	CGATGCGGACTTGGTGTTG GTTTCAGTCTTGCGACCGTACTT	Total Methanogens	Mohammed *et al.* (2011)
D1f[1] D1r[2]	GAGTTTGATCCTGGCTCAG AAGGAGGTGATCCAGCC	HAB[3] bacteria	Attwood *et al.* (1998)

[1] f: Forward primer; [2] r: Reverse primer; [3] HAB: Hyper ammonia producing bacteria

تیمار EXCM، علی‌رغم کاهش ۴/۳۹- درصدی، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت (P>۰/۰۵). بر عکس، نسبت آلبومین به گلوبولین بین تمام تیمارها صرف‌نظر از کاهش سطح پروتئین خام، منبع پروتئین یا روش عمل‌آوری از نظر آماری مشابهت داشت (P=۰/۹۱۲). غلظت کراتینین خون، با کاهش سطح پروتئین خام، کاهش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۱) و بیشترین میزان کاهش نسبت به گروه شاهد به ترتیب در تیمار FM (۲۳/۷۴٪-)، EXSBM (۱۸/۶۸٪-) و EXCM (۱۷/۶۷٪-) و سپس در تیمارهای 13SBM (۱۵/۶۵٪-) و 13CM (۱۳/۱۳٪-) مشاهده شد. غلظت نیتروژن اوره‌ای خون نیز تحت تأثیر کاهش سطح پروتئین خام جیره نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۱) و مشابه با غلظت کراتینین، به ترتیب استفاده از پودر ماهی (۲۹/۸۸٪-)، کنجاله سویا اکسترود شده یا معمولی و کنجاله کلزای اکسترود شده (۲۷/۵۹٪-) یا معمولی (۲۵/۳۴٪-) منجر به افت این فراسنجه خونی شد.

نتایج حاصل از این پژوهش در رابطه با فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون با مطالعات انجام شده روی کاهش سطح پروتئین خام در جیره گاوهای شیری (Law *et al.*, 2009;

Ghorbani *et al.*, 2010) مطابقت داشت، ولی با نتایج گزارش شده از مطالعه دیگر (Bahrami-Yekdangi *et al.*, 2014) مشابهت نداشت. تحقیقات نشان داده است که با افزایش سطح پروتئین خام جیره، غلظت نیتروژن اوره‌ای خون، پروتئین تام و آلبومین بیشتر شده و غلظت گلوبولین خون تحت تأثیر سطح پروتئین جیره قرار نگرفته است (Law *et al.*, 2009). همچنین در مطالعه اخیر (Lee *et al.*, 2020) در گاوهای گوشتی، با تغذیه سطوح مختلف پروتئین خام و پروتئین عبوری، تنها آثار مشاهده شده روی نیتروژن اوره‌ای خون معنی‌دار بود و سایر فراسنجه‌های بیوشیمیایی نظیر پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین و کراتینین تحت تأثیر تیمار قرار نگرفت (P>۰/۰۵).

افزایش غلظت نیتروژن اوره‌ای خون به عنوان شاخص افزایش سم‌زدایی آمونیاک در کبد بوده، ولی افزایش میزان پروتئین تام خون بیانگر جذب بیشتر پروتئین از ناحیه روده بوده است و تعیین کننده آن است که، با فرض عدم کمبود کربوهیدرات‌های قابل تخمیر، میزان بیشتری از پروتئین در جیره فراهم بوده است. به بیان دیگر، افزایش غلظت فرآورده‌های نیتروژنی (نظیر BUN و کراتینین) در خون می‌تواند ناشی از تأمین مازاد بر نیاز پروتئین تجزیه‌پذیر در شکمبه[1] باشد (Law *et al.*, 2009). همچنین، پروتئین قابل جذب بیشتر که به تولید گوشت یا شیر منجر نشود برای مصرف انرژی، کاتابولیسم می‌شود و این نیتروژن مازاد در مخزن اوره‌ای بدن به شکل نیتروژن اوره خون یا شیر سهیم می‌شود (Ghorbani *et al.*, 2010). تغذیه مقادیر بیش از حد از پروتئین تجزیه‌پذیر در شکمبه با غلظت‌های بالای BUN ارتباط دارد که می‌تواند باعث دآمیناسیون بیشتر اسیدهای آمینه شود. به بیان دیگر، نشخوارکنندگانی که سهم پروتئین تجزیه‌پذیر در شکمبه نسبت به پروتئین تجزیه‌ناپذیر در شکمبه جیره آنها بیشتر باشد مقادیر بالاتری BUN خواهند داشت (Lee *et al.*, 2020). در واقع، در جیره‌های با مقادیر بالاتر RUP (نظیر تیمارهای EXSBM، EXCM و FM)، میکروارگانیسم‌ها فرصت کافی و بیشتری برای مصرف آمونیاک شکمبه‌ای داشته و بخش بیشتری از آن‌را به پروتئین میکروبی تبدیل می‌کنند.

نتایج مربوط به آثار اکسترود کردن کنجاله‌های سویا و کلزا و کاهش سطح پروتئین خام جیره بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای گوساله‌های پرواری در جدول ۵ ارائه شده است. این نتایج حاکی از آن است که استفاده از جیره‌های با کاهش ۱۵٪ پروتئین خام تنها منجر به کاهش عددی pH محتویات شکمبه نسبت به گروه شاهد شده است (P=۰/۵۱۸).

همچنین، میزان اسید بوتیریک نیز تحت تأثیر غلظت پروتئین جیره یا نوع روش عمل‌آوری قرار نگرفت (P>۰/۰۵). در خصوص میزان آمونیاک شکمبه‌ای، کاهش ۱۵ درصدی سطح پروتئین خام نسبت به گروه شاهد کاهش چشمگیری (۱۹/۳۷٪-) از خود نشان داد (P<۰/۰۱)، ولی روند کاهش غلظت آمونیاک شکمبه‌ای با استفاده از کنجاله سویا و کنجاله کلزای اکسترود شده یا پودر ماهی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمارهای عمل‌آوری نشده (13SBM و 13CM) نداشت (P>۰/۰۵). به طور مشابه، با کاهش سطح پروتئین خام جیره، میزان تولید اسید استیک نیز کاهش (۹/۸۹٪-) معنی‌داری داشت (P<۰/۰۱) و بین دیگر تیمارها نیز تفاوت‌های معنی‌دار آماری مشاهده نشد. بر عکس، میزان اسید پروپیونیک شکمبه‌ای با کاهش غلظت پروتئین خام جیره، افزایش معنی‌داری (۱۹/۸۵٪+) یافت (P<۰/۰۱). با وجود افزایش ۴/۹۶٪+ درصدی غلظت اسید پروپیونیک در تیمارهای حاوی کنجاله سویا و کنجاله کلزای عمل‌آوری شده نسبت به دو تیمار 13SBM و 13CM، ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). با توجه به روند کاهشی و افزایشی غلظت دو اسید چرب فرار اصلی شکمبه، یعنی اسید استیک و اسید پروپیونیک، نسبت این دو اسید (A:P) در اثر کاهش غلظت پروتئین خام جیره کاهش (۲۴/۹۴٪-) یافت (P<۰/۰۱)، ولی استفاده از منابع پروتئین عبوری (تیمارهای EXSBM، EXCM و FM) علی‌رغم کاهش بیشتر این نسبت (۲۷/۱۵٪- در مقایسه با ۲۱/۶۲٪-)، موجب اختلاف معنی‌داری با تیمارهای با کاهش صرف پروتئین خام (13SBM و 13CM) نشد.

1. Rumen degradable protein (RDP)

جدول ۴- اثر اکسترود کردن کنجاله‌های سویا و کلزا و کاهش سطح پروتئین خام جیره بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون گوساله‌های پرواری

Table 4. Effect of the extrusion of soybean and canola meals and reducing dietary crude protein on blood biochemical parameters of feedlot cattle

Item	Treatments[1]						SEM[2]	*P*-value
	Ctrl	13SBM	EXSBM	13CM	EXCM	FM		
Albumin (g/dL)	3.54[a]	3.36[b]	3.32[b]	3.39[b]	3.37[b]	3.34[b]	0.012	<0.001
Globulin (g/dL)	3.30	3.11	3.13	3.11	3.16	3.06	0.024	0.132
Total Protein (g/dL)	6.83[a]	6.47[b]	6.45[b]	6.51[b]	6.53[ab]	6.40[b]	0.029	<0.01
Alb/Glob[3]	1.07	1.08	1.06	1.09	1.07	1.09	0.008	0.912
Creatinine (mg/dL)	1.98[a]	1.67[bc]	1.61[c]	1.72[b]	1.63[c]	1.51[d]	0.008	<0.0001
BUN[4] (mg/dL)	18.74[a]	13.57[bc]	13.57[bc]	13.99[b]	13.58[bc]	13.14[c]	0.062	<0.0001

[1] Ctrl: Control (according to nutrient requirements of beef cattle) with supplementation of SBM as protein source (15SBM), 15% reduction in level of CP compared to the control group including 13SBM: Supplementation with SBM, EXSBM: Supplementation with extruded SBM (EXSBM), 13CM: Supplementation with CM, EXCM: Supplementation with extruded CM, and FM: Supplementation with fish meal. [2] SEM: Standard Error of Means, [3] Alb/Glob: Albumin to globulin ratio, [4] Blood urea Nitrogen.
[a-d] Means within a row with no common superscript letters differ significantly ($P<0.05$).

جدول ۵- اثر اکسترود کردن کنجاله‌های سویا و کلزا و کاهش سطح پروتئین خام جیره بر pH و غلظت آمونیاک و اسیدهای چرب فرار شکمبه گوساله‌های پرواری

Table 5. Effect of the extrusion of soybean and canola meals and reducing dietary crude protein on ruminal pH, ammonia and volatile fatty acids (VFAs) of feedlot cattle

[tem	Treatments[1]						SEM[2]	*P*-value
	Ctrl	13SBM	EXSBM	13CM	EXCM	FM		
pH	5.83	5.68	5.68	5.70	5.68	5.55	0.039	0.518
Ammonia (NH_3-N) (mg/dL)	5.78[a]	4.75[b]	4.63[b]	4.74[b]	4.65[b]	4.53[b]	0.031	<0.0001
Acetate (mol/100 mol)	61.03[a]	54.84[b]	54.05[b]	56.40[b]	54.54[b]	55.12[b]	0.324	<0.001
Propionate (mol/100 mol)	23.60[c]	27.02[b]	28.62[ab]	27.77[ab]	28.89[a]	29.12[a]	0.147	<0.0001
A/P[3]	2.59[a]	2.03[b]	1.89[b]	2.03[b]	1.88[b]	1.89[b]	0.021	<0.0001
Butyrate (mol/100 mol)	11.55	13.86	13.19	11.95	12.66	12.17	0.339	0.427
Total VFAs (mol/100 mol)	113.67[b]	129.94[a]	137.22[a]	125.41[ab]	133.03[a]	126.45[ab]	1.229	<0.01

[1] Ctrl: Control (according to nutrient requirements of beef cattle) with supplementation of SBM as protein source (15SBM), 15% reduction in level of CP compared to the control group including 13SBM: Supplementation with SBM, EXSBM: Supplementation with extruded SBM (EXSBM), 13CM: Supplementation with CM, EXCM: Supplementation with extruded CM, and FM: Supplementation with fish meal. [2] SEM: Standard Error of Means, [3] A/P: Acetate to Propionate Ratio.
[a-b] Means within a row with no common superscript letters differ significantly ($P<0.05$).

با توجه به تجمیع میزان کل اسیدهای چرب فرار شکمبه‌ای، در کل استفاده از جیره‌های با کاهش درصد پروتئین خام منجر به افزایش (۱۴/۷۳٪+) غلظت کل اسیدهای چرب فرار شده است ($P<۰/۰۱$). اگر چه تأثیر جیره‌های بر پایه کنجاله سویای معمولی یا عمل‌آوری شده بیشتر از جیره‌های بر پایه کنجاله کلزای معمولی یا عمل‌آوری شده بود (به ترتیب ۱۷/۵۱٪+ در مقایسه با ۱۳/۶۸٪+). به هر حال، استفاده از روش عمل‌آوری حرارتی اکستروژن موجب افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار شکمبه‌ای نسبت به گروه شاهد (۱۸/۸۷٪+) ($P<۰/۰۱$) و تیمارهای 13SBM و 13CM (۵/۸۴٪+) ($P>۰/۰۵$) شد.

تحقیقات نشان داده است که تولید متان، به عنوان فرآورده نهایی طبیعی تخمیر شکمبه‌ای، نقش بسیار مهمی به عنوان اصلی‌ترین ذخیره الکترونی در اکوسیستم‌های میکروبی بی‌هوازی بازی می‌کند (Janssen, 2010). تحقیقات متعدد T(Van Soest, 1994; Hunerberg *et al.*, 2015) حساسیت بالای متانوژن‌ها به pH پائین را به اثبات رسانده‌اند، به‌طوری که کاهش pH در شرایط آزمایشگاهی به زیر شش، تولید متان را کاهش و برگشت مجدد آن به بالاتر از شش، تولید متان را به حالت قبل برگردانده است. این نتایج بیانگر آن بود که در pHهای زیر شش، متانوژن‌ها از بین نمی‌روند و

تنها به سکون متابولیکی[1] می‌روند (Hunerberg *et al.*, 2015). مشابه با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، تغذیه جیره‌های با درصد بالایی از کربوهیدرات‌های محلول یا نشاسته منجر به افت pH شکمبه به زیر شش برای مدت زمان طولانی‌تر نسبت به جیره‌های با علوفه بالا خواهد شد (Owens *et al.*, 1998) و بنابراین کاهش در تولید متان را می‌توان به استفاده از جیره‌های با غلات بیشتر نسبت داد (Beauchemin *et al.*, 2008). اگر چه تغییرات در نسبت علوفه به کنسانتره یا افزایش میزان کربوهیدرات‌های غیر الیافی (NFC) در بین تیمارهای این پژوهش، اندک نبوده است، اما تغییرات نسبت انرژی به پروتئین و در نتیجه، کاهش سطح پروتئین خام، موجب کاهش آثار منفی فراهمی نیتروژن مازاد در شکمبه شده و قابلیت دسترسی انرژی برای میکروب‌های شکمبه افزایش یافته است. به‌طور کلی، القای اسیدوز شکمبه‌ای تحت بالینی (SARA, pH=5.2-5.5) یا اسیدوز شکمبه‌ای بالینی (ARA, pH<5.2) به عنوان راهکار کاهش دهنده تولید متان عملی نبوده و حتی موجب بروز آثار منفی روی سلامت حیوان یا نقصان عملکرد رشد می‌شود (Hunerberg *et al.*, 2015). به نظر می‌رسد راهکار اتخاذ شده در این پژوهش، یعنی کاهش سطح پروتئین خام و افزایش قابلیت دسترسی آن برای حیوان از راه روش‌های عمل‌آوری و جلوگیری از افزایش نسبت کنسانتره به علوفه یا افزایش مقادیر کربوهیدرات‌های غیر الیافی موجب پایداری شرایط نسبی محیط شکمبه از نظر pH شده و از احتمال بروز اسیدوزهای بالینی کاسته است.

ارتباط تولید اسیدهای چرب فرار شکمبه‌ای در نرخ تولید متان تا حد زیادی به جریان هیدروژن در شکمبه بستگی دارند (Knapp *et al.*, 2014; Hunerberg *et al.*, 2015). این موضوع به حذف کارآمد هیدروژن برای اکسیداسیون مجدد پیوسته اکی‌والان‌های احیاء کننده (نظیر NADH و NAD^+) کمک کرده که نهایتاً اجازه تبدیل کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌های جیره را به سلول‌های میکروبی و یا تولید اسیدهای چرب فرار می‌دهد (Hegarty and Gerdes, 1999). مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از جیره‌های با درصد بالاتر کربوهیدرات‌های غیر الیافی یا نشاسته قابل تخمیر بالاتر موجب تولید غلظت بالاتری از اسیدهای چرب فرار و اسید پروپیونیک شده است (Hünerberg *et al.*, 2013a; Hünerberg *et al.*, 2013b). بنابراین، تخمیر جیره‌های با درصد بالای غلات برای رشد متانوژن‌ها نامطلوب بوده و به دنبال کاهش pH و در نتیجه استفاده از این جیره‌ها، به دلیل افزایش سرعت عبور شیرابه هضمی، تشکیل اسید پروپیونیک نسبت به سایر اسیدهای چرب فرار پیشی می‌گیرد. سرعت بالاتر شیرابه هضمی به دلیل کاهش درصد علوفه یا افزایش استفاده از کربوهیدرات‌های قابل تخمیر، خطر شستشوی میکروب‌های با رشد آهسته (کند) نظیر متانوژن‌ها را افزایش می‌دهد به‌طوری که مدت زمان ماندگاری کمتر، زمان کافی برای رشد سلولی را تأمین نخواهد کرد تا جمعیت میکروبی در یک حالت پایدار و با ثبات باقی بماند (Van Soest, 1994; Janssen, 2010; Hunerberg *et al.*, 2015).

نتایج مربوط به اندازه‌گیری جمعیت باکتری‌های با تولید آمونیاک زیاد (HAB) در شکل ۱ ارائه شده است. نتایج حاکی از آن است که کاهش ٪۱۵ سطح پروتئین خام در تیمارهایی که از کنجاله سویا و یا کنجاله کلزا استفاده کرده‌اند باعث کاهش (٪۴۵-) معنی‌دار جمعیت باکتری‌های با تولید بالای آمونیاک، در مقایسه با گروه شاهد، شده است (P<۰/۰۵). اگر چه، کاهش مقدار پروتئین خام جیره و استفاده از پودر ماهی باعث بروز تفاوت معنی‌دار آماری در میزان جمعیت HAB در مقایسه با گروه‌های شاهد، 13SBM و 13CM نشد (P>۰/۰۵). به هر حال، اکسترود کردن کنجاله‌های سویا و کلزا موجب کاهش معنی‌دار جمعیت باکتری‌های با تولید آمونیاک زیاد در مقایسه با گروه شاهد و پودر ماهی شد (P<۰/۰۵). علاوه بر این، تأثیر عمل‌آوری حرارتی کنجاله سویا و کنجاله کلزا نسبت به تیمارهای عمل‌آوری نشده معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

1. Metabolic stasis

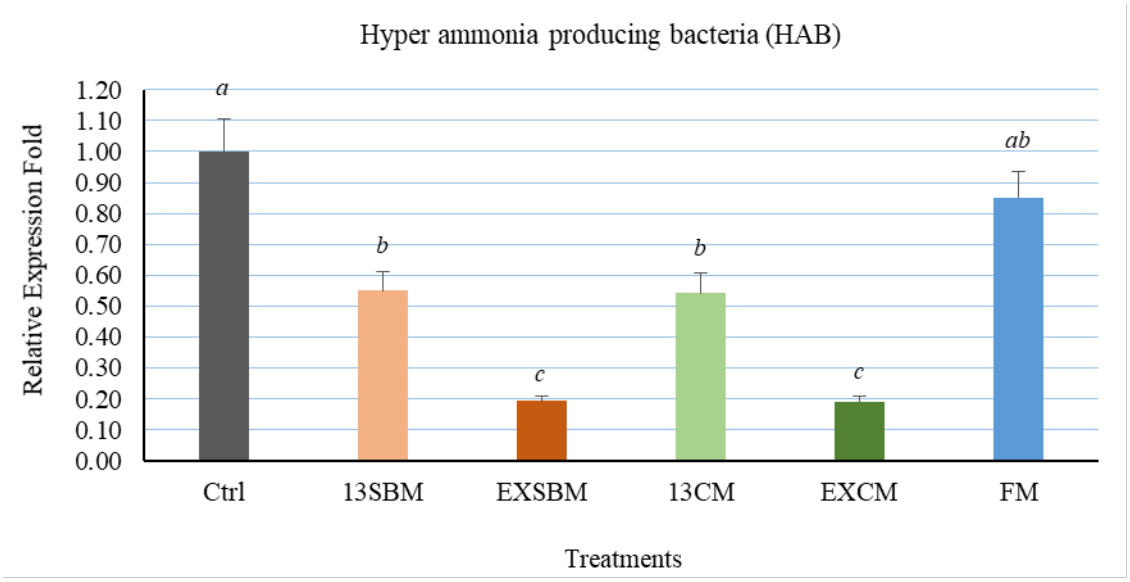

Fig. 1. Effect of the extrusion of soybean and canola meals and reducing of dietary crude protein on ruminal population of HAB in feedlot calves (Ctrl: Control (according to nutrient requirements of beef cattle) with supplementation of SBM as protein source (15SBM), 15% reduction in level of CP compared to the control group including 13SBM: Supplementation with SBM, EXSBM: Supplementation with extruded SBM (EXSBM), 13CM: Supplementation with CM, EXCM: Supplementation with extruded CM, and FM: Supplementation with fish meal)

شکل ۱- اثر اکسترود کردن کنجاله‌های سویا و کلزا و کاهش سطح پروتئین خام جیره بر جمعیت باکتری‌های با تولید آمونیاک زیاد در گوساله‌های پرواری (تیمارهای غذایی شامل: شاهد (جیره تنظیم شده بر اساس احتیاجات مواد مغذی گاوهای گوشتی) و بر پایه کنجاله سویا به عنوان منبع پروتئین و حاوی حدود ۱۵ درصد پروتئین خام (Ctrl, 15SBM)، و تیمارهای با سطح پروتئین کمتر نسبت به گروه شاهد و حاوی حدود ۱۳ درصد پروتئین خام به ترتیب بر پایه کنجاله سویا به عنوان منبع پروتئین (13SBM)، کنجاله سویای اکسترود شده (EXSBM)، کنجاله کلزا (13CM)، کنجاله کلزای اکسترود شده (EXCM)، و پودر ماهی (FM) بودند)

عمل‌آوری‌های حرارتی نظیر اکستروژن از جمله راهکارهایی است که روی سوخت و ساز نیتروژن شکمبه‌ای موثر است (Hartinger *et al.*, 2018). نتایج بررسی حاضر با تحقیقات دیگر انجام شده (Bento *et al.*, 2015) در گوساله‌های نر اخته مشابهت داشت که نشان داد استفاده از منابع RDP مانند کازئین باعث افزایش تعداد و یا فعالیت متابولیکی باکتری‌های با تولید آمونیاک زیاد می‌شود. همچنین، این محققین دریافتند که این موضوع باعث افزایش ۳۳ درصدی آمونیاک تولیدی در مایع شکمبه می‌شود. علاوه بر این، بر اساس تحقیقات صورت گرفته، اثر عصاره‌های گیاهی روی میزان فعالیت باکتری‌های با تولید آمونیاک زیاد به درصد پروتئین خام جیره غذایی وابسته است (Wallace, 2004) که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. به طور مشابه، کاهش سطح پروتئین خام جیره از ۱۳ به ۱۰ درصد در نرهای اخته هلشتاین باعث کاهش انتشار آمونیاک شد (Chiavegato *et al.*, 2015). در توضیح این مطلب، باکتری‌های HAB بخش اعظمی از نیتروژن آمینی شکمبه را به آمونیاک تبدیل می‌کنند، اگر چه فراوانی آنها در شکمبه زیاد نیست (Russell *et al.*, 1988). بنابراین، نقش باکتری‌های HAB در بازچرخ سریع پپتیدها و اسیدهای آمینه شکمبه و ایجاد تعادل بهینه بین تجزیه و ساخت پروتئین میکروبی به بهبود تولید، صرفه‌جویی در اسیدهای آمینه و کاهش دفع نیتروژن به محیط زیست کمک می‌کند (Bento *et al.*, 2015). ترکیب اقلام خوراکی مختلف برای هماهنگی تأمین نیتروژن و انرژی خوراک می‌تواند روی میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده ترکیبات نیتروژنی موثر باشد. در جیره‌های حاوی مقادیر بالای ترکیبات نیتروژنی تجزیه‌پذیر و انرژی با قابلیت دسترسی با سرعت پایین (نظیر کربوهیدرات‌های محلول در

آب)، باکتری‌های با تولید آمونیاک زیاد می‌توانند از نظر فعالیت و فراوانی افزایش یافته، چرا که این مزیت احتمالی از قابلیت آنها از نظر انرژی در مصرف اسیدهای آمینه بدون وابستگی به کربوهیدرات‌ها منشا می‌گیرد (Hartinger *et al.*, 2018). داده‌های حاصل از اندازه‌گیری جمعیت متانوژن‌های شکمبه گوساله‌های پرواری در شکل ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که کاهش ۱۵٪ سطح پروتئین خام جیره تنها باعث کاهش عددی جمعیت متانوژن‌ها در تیمارهای کنجاله سویا، کنجاله کلزا و پودر ماهی شده است (P>۰/۰۵). به هر حال، استفاده از روش عمل‌آوری حرارتی اکستروژن باعث کاهش ۳۸٪ جمعیت متانوژن‌ها در مقایسه با گروه شاهد شد (P<۰/۰۵)، اگر چه تفاوت ایجاد شده در مقایسه با گروه‌های دریافت کننده کنجاله‌های سویا و کلزای عمل‌آوری نشده و پودر ماهی تنها از لحاظ عددی پائین‌تر بود (P>۰/۰۵).

با توجه به نتایج به‌دست آمده، تاثیر کاهش سطح پروتئین خام روی جمعیت متانوژن‌ها روند کاهشی، اگر چه غیرمعنی‌دار، از خود نشان داده است، ولی با تغییر کینتیک هضم پروتئین و افزایش میزان RUP از راه اکسترود کردن، کاهش چشمگیری در این روند بروز کرد. افزون بر این، اثر مشابهی از جایگزینی کنجاله سویا یا کنجاله کلزا روی جمعیت متانوژن‌های شکمبه گوساله‌های پرواری مشاهده شد. به‌طور کلی، تجزیه پروتئین خوراک و تبدیل و ساخت مجدد آن به پروتئین میکروبی منجر به مصرف و یا تولید خالص هیدروژن، به عنوان سوبسترای تولید متان، می‌شود (Knapp *et al.*, 2014).

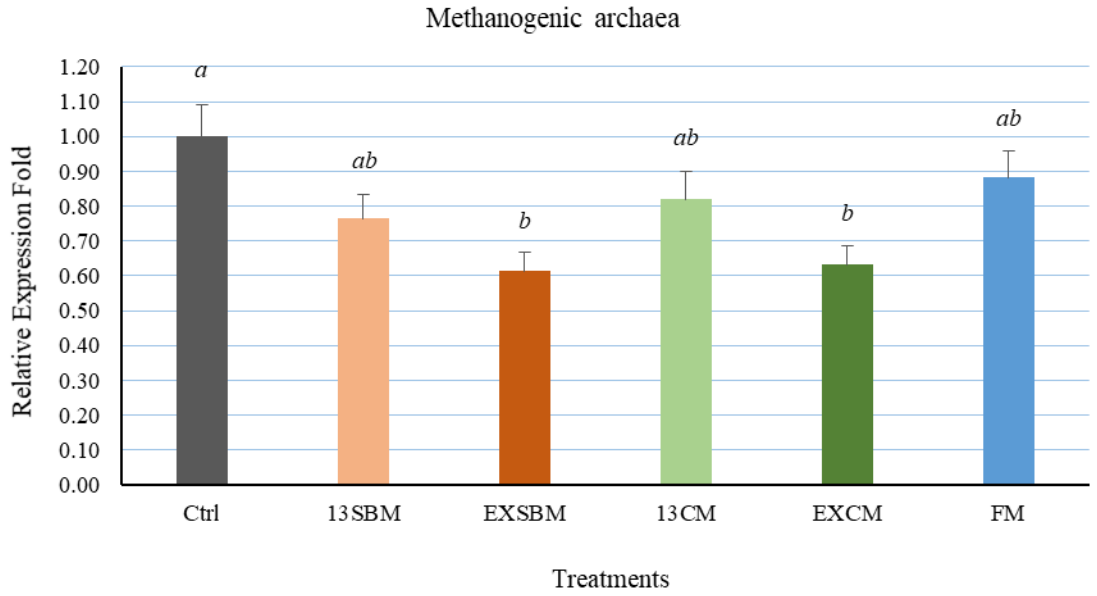

Fig. 2. Effect of extrusion of soybean and canola meals and reducing of dietary crude protein on ruminal population of methanogenic archaea in feedlot calves (Ctrl: Control (according to nutrient requirements of beef cattle) with supplementation of SBM as protein source (15SBM), 15% reduction in level of CP compared to the control group including 13SBM: Supplementation with SBM, EXSBM: Supplementation with extruded SBM (EXSBM), 13CM: Supplementation with CM, EXCM: Supplementation with extruded CM, and FM: Supplementation with fish meal)

شکل ۲- اثر اکسترود کردن کنجاله‌های سویا و کلزا و کاهش سطح پروتئین خام جیره بر جمعیت آرکه‌آهای متانوژنزنیک گوساله-های پرواری (تیمارهای غذایی شامل: شاهد (جیره تنظیم شده بر اساس احتیاجات مواد مغذی گاوهای گوشتی) و بر پایه کنجاله سویا به عنوان منبع پروتئین و حاوی حدود ۱۵ درصد پروتئین خام (Ctrl, 15SBM)، و تیمارهای با سطح پروتئین کمتر نسبت به گروه شاهد و حاوی حدود ۱۳ درصد پروتئین خام به ترتیب بر پایه کنجاله سویا به عنوان منبع پروتئین (13SBM)، کنجاله سویای اکسترود شده (EXSBM)، کنجاله کلزا (13CM)، کنجاله کلزای اکسترود شده (EXCM)، و پودر ماهی (FM) بودند)

مطالعات اخیر حاکی از آن است که ارتباط مستقیمی بین جمعیت میکروب‌های متانوژن با تولید متان وجود دارد (Patra *et al.*, 2017) و هرگونه کاهشی در جمعیت میکروب‌های متانوژن می‌تواند به کاهش انتشار متان نیز منجر شود (He *et al.*, 2018). همچنین فراوانی ژن‌های آرکه‌آ در محتویات هضمی شکمبه همبستگی زیادی با تغییرات انتشار متان داشته است (Wallace *et al.*, 2015). از طرف دیگر، تحقیقات گذشته تاثیر مشخصی در رابطه با استفاده از پروتئین در نشخوارکنندگان روی تولید متان گزارش نکرده‌اند. به عنوان مثال، می‌توان به آثار افزایش تولید متان (DeRamus *et al.*, 2003)، عدم تاثیر (Doreau *et al.*, 2014) یا کاهش انتشار متان (Tavendale *et al.*, 2005) اشاره کرد.

موافق با نتایج آزمایش حاضر، جایگزین کردن کنجاله سویا با کنجاله کلزا نیز در گاوهای گوشتی هیچ تاثیر منفی روی تخمیر شکمبه‌ای، قابلیت هضم خوراک و تولید پروتئین میکروبی نداشته است (Guadagnin *et al.*, 2013). تحقیقات گذشته (Van Nevel and Demeyer, 1996) نشان داده است که عمل‌آوری‌های حرارتی نظیر پلت کردن، پرک کردن، اکسترود کردن و بو دادن، نرخ تجزیه‌پذیری پروتئین و کربوهیدرات را تغییر و موجب کاهش نسبت استات به پروپیونات می‌شود، اما ارتباط آن با تولید متان بستگی به خوراک و به همان اندازه، ترکیب جیره و میزان مصرف خوراک دارد. مطالعات حاکی از آن است که تغییر جمعیت میکروبی متانوژن‌های شکمبه در جهت کاهش انتشار متان هیچ تاثیر منفی روی عملکرد گاوهای شیری نداشته است (Cunha *et al.*, 2017). همچنین، گزارش شده است که آثار سطوح پروتئین خام روی تولید متان گوارشی واضح نیست و تا حد زیادی به ترکیب جیره غذایی بستگی دارد (Cardenas *et al.*, 2007). در جیره‌های با پروتئین پایین، اگر الیاف یا کربوهیدرات به عنوان منبع اصلی انرژی برای تخمیر شکمبه‌ای باشد، متان بیشتری تولید می‌شود (Bannink *et al.*, 2008). بر عکس، اگر انرژی خالص بیشتری با افزایش میزان چربی و نشاسته بای‌پس حاصل شود تولید متان گوارشی کاهش پیدا می‌کند (Ellis *et al.*, 2008). به هر حال، توصیه جیره‌هایی که به‌طور همزمان با کاهش سطح ترکیبات نیتروژنی به کاهش انتشار متان در گاوها منجر شود، چالش برانگیز است. بنابراین، تولید متان گوارشی وابسته به محل جذب و نوع کربوهیدرات استفاده شده به جای پروتئین در جیره‌هایی است که سطح پروتئین آنها کاهش یافته است (Dijkstra *et al.*, 2011).

کاهش سطح پروتئین خام جیره از ۱۳ به ۱۰ درصد در نرهای اخته هلشتاین باعث کاهش انتشار آمونیاک شد، اگر چه روی انتشار متان گوارشی تاثیر معنی‌داری نداشت (Chiavegato *et al.*, 2015)، که با نتایج این پژوهش در خصوص استفاده از کنجاله‌های سویا و کلزای عمل‌آوری نشده و پودر ماهی هماهنگی داشت. علاوه بر این، استفاده از جیره‌های با پروتئین کاهش یافته در حد ٪۲۰ از احتیاجات موجب کاهش جمعیت باکتریایی، قارچ‌های بی‌هوازی، متانوژن‌ها، پروتوزوآها، باکتری‌های سلولایتیک و همچنین تنوع میکروبی محیط شکمبه در مقایسه با جیره‌های با پروتئین بالا شده است (Belanche *et al.*, 2012). به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که عمده میکروارگانیسم‌های شکمبه به کمبود نیتروژن شکمبه حساس هستند. ارتباط مثبت بین میزان آمونیاک شکمبه و فراوانی متانوژن‌ها و یا قارچ‌های بی‌هوازی بیانگر حساسیت این میکروارگانیسم‌ها به پروتئین تجزیه‌پذیر در شکمبه و ارتباط غیرمستقیم آنها با غلظت پائین آمونیاک شکمبه است (Doreau *et al.*, 1990). در تائید این موضوع، گزارشات اخیر (Ramirez-Bribiesca *et al.*, 2018) نشان داده است که تغییر نسبت بخش‌های مختلف پروتئین (a، b_1، b_2، b_3 و c) اقلام خوراکی همانند کنجاله کلزا روی تولید متان تاثیرگذار است.

از آنجایی که در این پژوهش، کاهش ٪۱۵ سطح پروتئین خام باعث افزایش نسبت انرژی به پروتئین شده است، بنابراین، به نظر می‌رسد بخشی از این آثار مشاهده شده به افزایش میزان دسترسی انرژی و هماهنگی آن با نیتروژن تأمین شده برای میکروب‌های شکمبه نسبت داده می‌شود. از نظر بیوانرژتیک، هدررفت انرژی در صورت عدم توازن مناسب بین انرژی و پروتئین در محیط شکمبه اتفاق می‌افتد که می‌تواند به واسطه تولید مازاد H_2 یا CO_2 در فرآیند تولید متان و یا تولید آمونیاک حاصل شود (Hackmann and Firkins, 2015).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج آزمایش حاضر، کاهش سطح پروتئین خام و بهبود دسترسی پروتئین عبوری از راه استفاده از روش‌های عمل‌آوری نظیر اکسترود کردن توانست به حفظ پایداری pH شکمبه و بهبود تولید اسیدهای چرب فرار نظیر اسید پروپیونیک بدون تاثیر منفی بر فراسنجه‌های بیوشیمایی خون کمک کند. کاهش سطح پروتئین خام باعث کاهش چشمگیر غلظت آمونیاک شکمبه‌ای و جمعیت باکتری‌های با تولید آمونیاک زیاد شکمبه شد. هم‌چنین، کاهش سطح پروتئین خام و اکسترود کردن کنجاله سویا و کلزا موجب کاهش قابل توجه فراوانی میکروب‌های با تولید آمونیاک زیاد و آرکه‌آهای متانوژنیک شکمبه گوساله‌های پرواری شد که علاوه بر بهبود بازدهی استفاده از نیتروژن و انرژی، آثار زیست محیطی مطلوبی را نیز به دنبال خواهد داشت.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نگارندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از شرکت‌های نوید مرغ گیلان، گیلک دانه نوید و سنا دام پارس به ترتیب بابت فراهم کردن محل انجام آزمایش، تأمین نهاده‌ها و فراهم کردن شرایط فرآیند حرارتی به روش اکستروژن ابراز می‌دارند.

فهرست منابع

Ahmed M., Liang H., Chisomo Kasiya H., Ji K., Ge X., Ren M., Liu B., Zhu X. and Sun A. 2019. Complete replacement of fish meal by plant protein ingredients with dietary essential amino acids supplementation for juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). Aquaculture Nutrition, 25(1): 205-214.

Ariyibi S. 2018. High inclusion levels of canola meal in broiler chicken nutrition. Graduate Thesis, University of Manitoba, USA.

Arriola Apelo S. I., Knapp J. R. and Hanigan M. D. 2014. Invited review: Current representation and future trends of predicting amino acid utilization in the lactating dairy cow. Journal of Dairy Science, 97(7): 4000-4017.

Attwood G. T., Klieve A. V., Ouwerkerk D. and Patel B. K. 1998. Ammonia-hyperproducing bacteria from New Zealand ruminants. Applied and Environmental Microbiology, 64(5): 1796-1804.

Bahrami-Yekdangi H., Khorvash M., Ghorbani G. R., Alikhani M., Jahanian R. and Kamalian E. 2014. Effects of decreasing metabolizable protein and rumen-undegradable protein on milk production and composition and blood metabolites of Holstein dairy cows in early lactation. Journal of Dairy Science, 97(6): 3707-3714.

Bannink A., France J., Lopez S., Gerrits W., Kebreab E., Tamminga S. and Dijkstra J. 2008. Modelling the implications of feeding strategy on rumen fermentation and functioning of the rumen wall. Animal Feed Science and Technology, 143(1-4): 3-26.

Beauchemin K., Kreuzer M., O'mara F. and McAllister T. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. Australian Journal of Experimental Agriculture, 48(2): 21-27.

Belanche A., Doreau M., Edwards J. E., Moorby J. M., Pinloche E. and Newbold C. J. 2012. Shifts in the rumen microbiota due to the type of carbohydrate and level of protein ingested by dairy cattle are associated with changes in rumen fermentation. The Journal of Nutrition, 142(9): 1684-1692.

Benchaar C. and Moncoulon R. 1993. Effect of extrusion at 195 degrees C on *in situ* ruminal and intestinal disappearance of the cow amino acids in lupin seeds. Annales de Zootechnie, 42(2): 128-129.

Bento C. B. P., de Azevedo A. C., Detmann E. and Mantovani H. C. 2015. Biochemical and genetic diversity of carbohydrate-fermenting and obligate amino acid-fermenting hyper-ammonia-producing bacteria from Nellore steers fed tropical forages and supplemented with casein. BMC Microbiology, 15(1): 28.

Biswas A., Araki H., Sakata T., Nakamori T. and Takii K. 2019. Optimum fish meal replacement by soy protein concentrate from soymilk and phytase supplementation in diet of red sea bream, Pagrus major. Aquaculture, 506: 51-59.

Broderick G. A. and Kang J. H. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino-acids in ruminal fluid and invitro media. Journal of Dairy Science, 63(1): 64-75.

Chiavegato M., Powers W. and Palumbo N. 2015. Ammonia and greenhouse gas emissions from housed Holstein steers fed different levels of diet crude protein. Journal of Animal Science, 93(1): 395-404.

Cunha C. S., Veloso C. M., Marcondes M. I., Mantovani H. C., Tomich T. R., Pereira L. G. R., Ferreira M. F., Dill-McFarland K. A. and Suen G. 2017. Assessing the impact of rumen microbial communities on methane

emissions and production traits in Holstein cows in a tropical climate. Systematic and Applied Microbiology, 40(8): 492-499.

de Coca-Sinova A., Valencia D., Jiménez-Moreno E., Lázaro R. and Mateos G. 2008. Apparent ileal digestibility of energy, nitrogen, and amino acids of soybean meals of different origin in broilers. Poultry Science, 87(12): 2613-2623.

DeRamus H. A., Clement T. C., Giampola D. D. and Dickison P. C. 2003. Methane emissions of beef cattle on forages: efficiency of grazing management systems. Journal of Environmental Quality, 32(1): 269-277.

Dijkstra J., Oenema O. and Bannink A. 2011. Dietary strategies to reducing N excretion from cattle: implications for methane emissions. Current Opinion in Environmental Sustainability, 3(5): 414-422.

Doreau M., Delacroix A., Jouany J., Durier C. and Rémond B. 1990. The influence of physiological state and dietary nitrogen supply on digestion in the dairy cow. Journal of Animal Science, 68(11): 3853-3860.

Doreau M., Ferlay A., Rochette Y. and Martin C. 2014. Effects of dehydrated lucerne and soya bean meal on milk production and composition, nutrient digestion, and methane and nitrogen losses in dairy cows receiving two different forages. Animal, 8(3): 420-430.

Ellis J., Dijkstra J., Kebreab E., Bannink A., Odongo N., McBride B. and France J. 2008. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. The Journal of Agricultural Science, 146(2): 213-233.

Fontaine J., Hörr J. and Schirmer B. 2001. Near-infrared reflectance spectroscopy enables the fast and accurate prediction of the essential amino acid contents in soy, rapeseed meal, sunflower meal, peas, fishmeal, meat meal products, and poultry meal. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(1): 57-66.

Ghorbani B., Ghoorchi T., Amanlou H. and Zerehdaran S. 2010. Effects of using monensin and different levels of crude protein on milk production, blood metabolites and digestion of dairy cows. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 24(1): 65-72.

Guadagnin M., Tagliapietra F., Cattani M., Schiavon S., Worgan H., Belanche A., Newbold C. and Bailoni L. 2013. Rumen fermentation and microbial yield of high-or low-protein diets containing ground soybean seeds or homemade rapeseed expellers evaluated with RUSITEC. Canadian Journal of Animal Science, 93(3): 363-371.

Guan L. L., Nkrumah J. D., Basarab J. A. and Moore S. S. 2008. Linkage of microbial ecology to phenotype: correlation of rumen microbial ecology to cattle's feed efficiency. FEMS Microbiology Letters, 288(1): 85-91.

Hackmann T. J. and Firkins J. L. 2015. Maximizing efficiency of rumen microbial protein production. Frontiers in Microbiology, 6: 465.

Hart K., Yáñez-Ruiz D. R., Duval S., McEwan N. and Newbold C. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology, 147(1-3): 8-35.

Hartinger T., Gresner N. and Südekum K.-H. 2018. Does intra-ruminal nitrogen recycling waste valuable resources? A review of major players and their manipulation. Journal of Animal Science and Biotechnology, 9(1): 33.

Hashemzadeh-Cigari F., Ghorbani G. R., Khorvash M., Riasi A., Taghizadeh A. and Zebeli Q. 2015. Supplementation of herbal plants differently modulated metabolic profile, insulin sensitivity, and oxidative stress in transition dairy cows fed various extruded oil seeds. Preventive Veterinary Medicine, 118(1): 45-55.

He Y., Yu Z., Qiu Q., Shao T., Niu W., Xia C., Wang H., Su H. and Cao B. 2018. Effects of dietary protein levels and calcium salts of long-chain fatty acids on nitrogen mobilization, rumen microbiota and plasma fatty acid composition in Holstein bulls. Animal Feed Science and Technology, 246: 1-10.

Hegarty R. and Gerdes R. 1999. Hydrogen production and transfer in the rumen. Recent Advances in Animal Nutrition in Australia, 12: 37-44.

Hristov A., Heyler K., Schurman E., Griswold K., Topper P., Hile M., Ishler V., Fabian-Wheeler E. and Dinh S. 2015. CASE STUDY: Reducing dietary protein decreased the ammonia emitting potential of manure from commercial dairy farms. The Professional Animal Scientist, 31(1): 68-79.

Hünerberg M., McGinn S., Beauchemin K., Okine E., Harstad O. and McAllister T. 2013a. Effect of dried distillers grains plus solubles on enteric methane emissions and nitrogen excretion from growing beef cattle. Journal of Animal Science, 91(6): 2846-2857.

Hünerberg M., McGinn S., Beauchemin K. A., Okine E., Harstad O. M. and McAllister T. A. 2013b. Effect of dried distillers' grains with solubles on enteric methane emissions and nitrogen excretion from finishing beef cattle. Canadian Journal of Animal Science, 93(3): 373-385.

Hünerberg M., McGinn S. M., Beauchemin K. A., Entz T., Okine E. K., Harstad O. M. and McAllister T. A. 2015. Impact of ruminal pH on enteric methane emissions. Journal of Animal Science, 93(4): 1760-1766.

Janssen P. H. 2010. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. Animal Feed Science and Technology, 160(1-2): 1-22.

Kargar S., Ghorbani G. R., Alikhani M., Khorvash M., Rashidi L. and Schingoethe D. J. 2012. Lactational performance and milk fatty acid profile of Holstein cows in response to dietary fat supplements and forage:concentrate ratio. Livestock Science, 150(1-3): 274-283.

Knapp J., Laur G., Vadas P., Weiss W. and Tricarico J. 2014. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. Journal of Dairy Science, 97(6): 3231-3261.

Law R. A., Young F. J., Patterson D. C., Kilpatrick D. J., Wylie A. R. G. and Mayne C. S. 2009. Effect of dietary protein content on animal production and blood metabolites of dairy cows during lactation. Journal of Dairy Science, 92(3): 1001-1012.

Lee Y. H., Ahmadi F., Lee M., Oh Y.-K. and Kwak W. S. 2020. Effect of crude protein content and undegraded intake protein level on productivity, blood metabolites, carcass characteristics, and production economics of Hanwoo steers. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 33(10): 1599-1609.

Menezes A. C. B., Valadares Filho S. C., Costa e Silva L. F., Pacheco M. V. C., Pereira J. M. V., Rotta P. P., Zanetti D., Detmann E., Silva F. A. S., Godoi L. A. and Rennó L. N. 2016. Does a reduction in dietary crude protein content affect performance, nutrient requirements, nitrogen losses, and methane emissions in finishing Nellore bulls? Agriculture, Ecosystems and Environment, 223: 239-249.

Mohammed R., Zhou M., Koenig K., Beauchemin K. and Guan L. 2011. Evaluation of rumen methanogen diversity in cattle fed diets containing dry corn distillers grains and condensed tannins using PCR-DGGE and qRT-PCR analyses. Animal Feed Science and Technology, 166: 122-131.

Mustafa A., McKinnon J. and Christensen D. 2000. Protection of canola (low glucosinolate rapeseed) meal and seed protein from ruminal degradation. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 13(4): 535-542.

Niu M., Appuhamy J., Leytem A., Dungan R. and Kebreab E. 2016. Effect of dietary crude protein and forage contents on enteric methane emissions and nitrogen excretion from dairy cows simultaneously. Animal Production Science, 56(3): 312-321.

Nowak W., Michalak S. and Wylegala S. 2005. In situ evaluation of ruminal degradability and intestinal digestibility of extruded soybeans. Czech Journal Animal Science, 50(6): 281-287.

Owens F. N., Secrist D. S., Hill W. J. and Gill D. R. 1998. Acidosis in cattle: A review. Journal of Animal Science, 76(1): 275-286.

Patra A., Park T., Kim M. and Y. Z. 2017. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. Journal of Animal Science and Biotechnology, 8(1): 13.

Ramirez-Bribiesca J. E., McAllister T., Ungerfeld E. and Ortega-Cerrilla M. E. 2018. In vitro rumen fermentation and effect of protein fractions of canola meals on methane production. Scientia Agricola, 75: 12-17.

Russell J., Strobel H. and Chen G. 1988. Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. Applied and Environmental Microbiology, 54(4): 872-877.

SAS. 2003. User's Guide: Statistics Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Stern M., Santos K. and Satter L. 1985. Protein degradation in rumen and amino acid absorption in small intestine of lactating dairy cattle fed heat-treated whole soybeans. Journal of Dairy Science, 68(1): 45-56.

Szumacher-Strabel M. and Cieślak A. 2010. Potential of phytofactors to mitigate rumen ammonia and methane production. Journal of Animal and Feed Sciences, 19(3): 319-337.

Tavendale M. H., Meagher L. P., Pacheco D., Walker N., Attwood G. T. and Sivakumaran S. 2005. Methane production from *in vitro* rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. Animal Feed Science and Technology, 123: 403-419.

Tothi R., Lund P., Weisbjerg M. R. and Hvelplund T. 2003. Effect of expander processing on fractional rate of maize and barley starch degradation in the rumen of dairy cows estimated using rumen evacuation and in situ techniques. Animal Feed Science and Technology, 104(1-4): 71-94.

Van Nevel C. and Demeyer D. 1996. Control of rumen methanogenesis. Environmental Monitoring and Assessment, 42(1-2): 73-97.

Van Soest P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell university press.

Wallace R. J. 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proceedings of the Nutrition Society, 63(4): 621-629.

Wallace R. J., Rooke J. A., McKain N., Duthie C. A., Hyslop J. J., Ross D. W., Waterhouse A., Watson M. and Roehe R. 2015. The rumen microbial metagenome associated with high methane production in cattle. BMC Genomics, 16(1): 839.

Wang M., Wang R., Janssen P. H., Zhang X. M., Sun X. Z. Pacheco D. and Tan Z. L. 2016. Sampling procedure for the measurement of dissolved hydrogen and volatile fatty acids in the rumen of dairy cows1. Journal of Animal Science, 94(3): 1159-1169.

Animal Production Research

Vol. 10, No. 4, 2021 (1-17)

University of Guilan

Research paper

Effect of soybean meal and canola meal extrusion and reducing the dietary level of crude protein on blood parameters and rumen microbial populations of feedlot calves

A. Hadipour[1], A. Mohit[2*], H. Darmani Kuhi[2], F. Hashemzadeh[3]

1. Ph.D. Student of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
3. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

(Received: 27-04-2021 – Accepted: 25-06-2021)

Abstract

This study aimed to investigate the effect of reducing the dietary level of crude protein (CP) and inclusion of extruded soybean meal (SBM) and canola meal (CM) on blood and ruminal parameters, the population of methanogens, and hyper-ammonia producing bacteria (HAB) of feedlot calves. To this purpose, 36 male calves were used in a completely randomized experimental design with six treatments and six replicates. Experimental treatments included: 1) Control (CP=15%, SBM (15SBM)), 2) SBM (CP=13%, 13SBM), 3) Extruded SBM (CP=13%, EXSBM), 4) CM (CP=13%, 13CM), 5) Extruded CM (CP=13%, EXCM), and 6) Fish meal (CP=13%, FM). Concentrations of albumin, total protein, creatinine, and blood urea nitrogen in experimental treatments decreased compared to 15SBM (P>0.05). The highest values of ruminal ammonia and acetate and the lowest amounts of propionate and volatile fatty acids (VFA) were observed in the 15SBM (P<0.05). The minimum ruminal HAB population was observed in EXSBM and EXCM and then in 13SBM, 13CM and FM and was maximum in 15SBM (P<0.05). Also, treatments fed EXSBM and EXCM had a smaller methanogens population than the control group (P<0.05). Based on the results obtained, decreasing dietary CP level and processing of extrusion for SBM and CM decreased HAB population, rumen ammonium, and blood urea concentration. Furthermore, extrusion declined methanogens bacteria population and acetate to propionate ratio and increased total VFA concentrations which can be considered as an indication of the rumen improvement in fermentation efficiency index.

Keywords: Extrusion, Ammonia, Protein, Feedlot calves, Methane

*Corresponding author: ar_mohit@guilan.ac.ir

doi: 10.22124/AR.2022.19997.1631