مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۴ شماره ۱/ سال۱۴۰۳/ صفحات ۱۷ تا ۳۰
DOI: 10.22034/as.2023.53618.1677

تأثیر تغذیه ثابت و متناوب پروتئین خام جیره بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای و سنتز پروتئین میکروبی در گوسفند

طاهر یلچی۱*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۲
استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی
هسته پژوهشی رفاه و تغذیه حیوانات، پژوهشکده سلامت و امنیت تولیدات کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی
*مسئول مکاتبه: Email: taheryalchi@uma.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: پروتئین خام یک عنصر کلیدی در تنظیم جیره غذایی نشخوارکنندگان بوده و یکی از گرانترین مواد مغذی مورد نیاز دام محسوب می‌شود. یکی از راهکارهای استفاده بهینه از پروتئین خام تغذیه متناوب آن و ایجاد نوسان در سطح پروتئین خام جیره در فواصل زمانی یک تا سه روز است. **هدف**: این پژوهش به منظور بررسی تأثیر تغذیه ثابت و متناوب پروتئین خام جیره بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای و سنتز پروتئین میکروبی در گوسفند انجام شد. **روش کار**: سه جیره غذایی با پروتئین خام ۱۲، ۱٤ و ۱٦ درصد اما با انرژی یکسان تنظیم شدند. از ۸ رأس گوسفند نر در قفس‌های متابولیک به صورت طرح مربع لاتین ٤×٤ (چهار تیمار با ۲ مربع و در مجموع ۸ تکرار) استفاده شد. تیمار اول جیره‌ای با سطح پروتئین خام ۱٤ درصد را به صورت ثابت دریافت می‌کرد. تیمار دوم دو جیره با پروتئین خام ۱۲ و ۱٦ درصد را با فاصله زمانی ۲٤ ساعت به طور متناوب دریافت می‌کرد. تیمارهای سوم و چهارم نیز جیره‌های با پروتئین خام ۱۲ و ۱٦ درصد را به ترتیب در فواصل زمانی ٤۸ و ۷۲ ساعت به طور متناوب دریافت می‌کردند. تعادل و ابقای نیتروژن، فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خونی و سنتز پروتئین میکروبی اندازه گیری شد. **نتایج**: کمترین نیتروژن دفع شده کل (از طریق ادرار و مدفوع) در تیمار با تناوب مصرف پروتئین خام ٤۸ ساعته مشاهده شد (P<۰/۰۵). نیتروژن ابقاء شده نیز در این تیمار در مقایسه با تیمار تغذیه ثابت پروتئین خام افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). بیشترین نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در تیمار با تناوب مصرف پروتئین خام ٤۸ ساعته مشاهده شد اما pH و غلظت اسیدهای چرب فرار تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارهای آزمایشی نشان ندادند. تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی از نظر آلانتوئین، کل بازهای پورینی دفع شده و همچنین تولید نیتروژن و سنتز پروتئین میکروبی مشاهده شد که تیمار با تناوب مصرف پروتئین خام در فاصله زمانی ٤۸ ساعته دارای بیشترین مقدار بود. آلبومین و پروتئین کل خون اندازه‌گیری شده در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد اما نیتروژن اوره‌ای خون در تیمار با تناوب مصرف پروتئین خام ٤۸ ساعته، بیشترین مقدار بود (P<۰/۰۱). **نتیجه‌گیری‌نهایی**: نتایج نشان داد که استفاده از راهبرد تغذیه پروتئین خام به صورت متناوب در جیره گوسفند سبب بهبود ابقای نیتروژن، فعالیت‌های تخمیری شکمبه و سنتز پروتئین میکروبی می‌شود.

واژگان کلیدی: آلودگی محیط زیست، ابقای نیتروژن، بره نر، تعادل نیتروژن، تخمیر شکمبه‌ای

مقدمه

منابع پروتئینی گرانترین اجزای خوراک را در جیره‌های غذایی دام تشکیل می‌دهند. دفع نیتروژن در فضولات حیوانی در دهه‌های اخیر به طور قابل توجهی افزایش یافته و سبب آلودگی‌های زیاد آب و هوا شده است (پفیفر و هریستاو ۲۰۰۵). مدیریت خوراکدهی نقش مهمی در دفع نیتروژن در محیط زیست تولید و انتشار گازهای گلخانه‌ای در سیستم‌های دامپروری دارد (اواتهار و همکاران ۲۰۲۱). وقتی دفع بیش از حد نیتروژن در محیط وجود داشته باشد سبب به هم خوردن تعادل بوم شناختی در آب‌های سطحی و آلودگی آب‌های زیر زمینی می‌شود (دیجکسترا و همکاران ۲۰۱۱). دفع این ترکیبات در محیط با تخمیر، هضم و متابولیسم ناکارآمد افزایش خواهد یافت و افزایش ناکارآمدی رخ داده در شکمبه ناشی از مسیرهای متابولیک پیچیده و رقابتی در جمعیت میکروبی شکمبه است (خضری و همکاران ۲۰۰۹). بنابراین افزایش بازدهی در مورد استفاده قرارگیری مواد مغذی به ویژه نیتروژن برای به حداقل رساندن دفع آنها از بدن حیوان باید مورد توجه قرار گیرد.

نگرانی‌های روبه افزایشی که در مورد آلودگی محیط زیست ناشی از دفع بیش از حد نیتروژن از نشخوارکنندگان وجود دارد سبب علاقه‌مندی پژوهشگران در یافتن راهکارهایی برای افزایش بازدهی استفاده از نیتروژن در دام شده است. عامل اصلی تعیین کننده کل نیتروژن دفعی در دام‌ها، کل نیتروژن دریافتی از جیره غذایی است (رینولد و کریستنسن ۲۰۰۸). پژوهش‌های پیشین در مورد عملکرد دام نشان داده‌اند که محدود کردن یا کاهش پروتئین خام دریافتی از طریق جیره غذایی از آنجایی‌که افزایش وزن بدن و تولید شیر را کاهش می‌دهد لذا راهکار مناسبی برای کاهش دفع نیتروژن نیستند (اریکسون و کلوپفنستین ۲۰۰۱).

جمعیت میکروبی شکمبه و نوع ماده خوراکی تغذیه شده عواملی هستند که در بازدهی استفاده از پروتئین خام در نشخوارکنندگان نقش دارند. از آنجا که نشخوارکنندگان دارای میکروفلور شکمبه برای هضم جیره‌های غذایی با علوفه بالا هستند، بنابراین در استفاده از جیره‌های با نسبت علوفه بالا برای کاهش هزینه‌های تغذیه علاقه‌مندی وجود دارد اما این کار سبب کاهش انرژی و کیفیت جیره‌های غذایی می‌شود. زمانی که انرژی کمی در اختیار میکروارگانیسم‌های شکمبه باشد، آن‌ها از اسیدهای آمینه به عنوان منبع انرژی خود استفاده می‌کنند که در این صورت غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه افزایش یافته (رینولد و کریستنسن ۲۰۰۸) و به دنبال آن نیتروژن بیشتری نیز دفع نیز خواهد شد (لاپیری و لوبلی ۲۰۰۱). خوراک تخمیر شده در شکمبه حاوی مقادیر بالایی از نیتروژن غیرپروتئینی است، زیرا در فرایندهای تخمیری شکمبه بخشی از پروتئین خوراک به نیتروژن آمونیاکی تجزیه می شود. این مورد می تواند سبب استفاده ناکارآمد نیتروژن از پروتئین میکروبی شود زیرا برخی گونه‌های باکتریایی استفاده از منابع خاص نیتروژن مانند پپتیدها، اسیدهای آمینه و نیتروژن آمونیاکی را ترجیح می‌دهند (راسل و همکاران ۱۹۹۲). میکروب‌های شکمبه ماهیت پروتئولیتیک دارند در نتیجه پروتئین خوراک به نیتروژن آمونیاکی تجزیه شده و اندازه مخزن نیتروژن آمونیاکی شکمبه مازاد بر احتیاجات میکروبی به آن می‌شود (بلانچی و همکاران ۲۰۱۲). نیتروژن آمونیاکی مازاد از شکمبه جذب شده و به شکل اوره از طریق ادرار دفع شده و به هدر می‌رود. نیتروژن اوره‌ای ادرار به سرعت توسط آنزیم‌های موجود در محیط به آمونیاک تجزیه شده و در محیط پخش می‌شود. آمونیاک آزاد شده در اتمسفر در ایجاد باران‌های اسیدی (وان دی هار و استی پیری ۲۰۰۶)، انتشار گاز گلخانه‌ای (ورجی و همکاران ۲۰۰۸) و کاهش کیفیت هوا (بورگوس و همکاران ۲۰۱۰) مشارکت می‌نماید. روش‌های مختلفی را در یک واحد دامپروی برای بهبود مورد استفاده قرارگیری نیتروژن در نشخوارکنندگان می‌توان اجرا کرد. یکی از این راهکارها کاهش پروتئین خام جیره است اما گزارش شده است که این روش بر تولید حیوان می‌تواند اثر منفی داشته باشد (چیبیسا و

موتسوانگوا ۲۰۱۳). از راهکارهای دیگر همزمانی ماده مغذی یا همزمان سازی نرخ تخمیر منابع پروتئین و انرژی جیره است که منجر به موفقیت‌های محدودی شده است (ریچاردسون و همکاران ۲۰۰۳؛ یلچی و همکاران ۲۰۲۰). راهکار دیگر ایجاد نوسان در غلظت‌های پروتئین خام جیره و تغذیه متناوب آن در فواصل زمانی یک تا سه روز است و گزارش‌ها نشان می‌دهد که این روش نسبت به خوراندن مقادیر ثابتی از پروتئین خام به صورت روزانه در گوسفند و گاو سبب بهبود ابقای نیتروژن و مورد استفاده قرارگیری آن در بدن شده است (راچ و همکاران ۲۰۲۱). کایران و موتسوانگا (۲۰۰۹) گزارش کردند که تغذیه بره‌های نر با جیره‌های دارای نوسان پروتئین خام (۹/۵ و ۱۵/۵ درصد) در فواصل زمانی ٤٨ ساعته نسبت به جیره‌های با پروتئین خام ثابت (۱۲/۵) سبب ابقای بیشتر نیتروژن (٤٧٦ در مقابل ۳۲۳ گرم به ازای هر کیلوگرم نیتروژن مصرفی) در بدن و تولید بیشتر نیتروژن میکروبی در شکمبه می‌شود. خطاب و عبدالواحد (۲۰۱۸) گزارش کردند که تغذیه میش‌های شیرده با جیره‌های دارای نوسان پروتئین خام (۱۱/۲ و ۱۷/۳ درصد) در فواصل زمانی ۳ و ٤ روز نسبت به جیره‌های با پروتئین خام ثابت (۱٤/۱ درصد) سبب ابقای بیشتر نیتروژن در بدن و سنتز پروتئین میکروبی بیشتر در شکمبه شده اما بر pH، نیتروژن آمونیاکی و غلظت کل اسیدهای چرب فرار شکمبه تأثیری نداشت.

پژوهش‌های محدودی در مورد تأثیر تغذیه متناوب در گوسفند انجام شده است همچنین پژوهش‌های پیشین زمان‌های مختلفی را برای ایجاد نوسان در سطح پروتئین خام جیره و تغذیه متناوب در نظر گرفته بودند لذا هدف از این پژوهش تعیین بهترین فاصله زمانی در تغذیه متناوب پروتئین خام جیره وایجاد نوسان در آن (زمان‌های ۲٤، ٤٨ و ۷۲ ساعت) در تعادل نیتروژن، فعالیت تخمیر در شکمبه، برخی فراسنجه‌های خونی و سنتز پروتئین میکروبی در گوسفند می‌باشد.

مواد و روش‌ها

سه جیره غذایی برای گوسفندان نر با متوسط وزن ۳۰ کیلوگرم و افزایش وزن روزانه ۲۵۰ گرم بر اساس نیازهای غذایی توصیه شده توسط انجمن ملی تحقیقات (NRC ۲۰۰۷) و با استفاده از نرم افزار SRNS[1] با سه سطح پروتئین خام ۱۲، ١٤ و ١٦ درصد و انرژی و پروتئین قابل متابولیسم یکسان تنظیم شدند (جدول ۱). در تیمار اول جیره شماره یک با ١٤ درصد پروتئین خام به صورت ثابت و روزانه به تغذیه گوسفندان می رسید. تیمار دوم، دو جیره با ۱۲ و ١٦ درصد پروتئین خام را با فاصله زمانی ٢٤ ساعت به طور متناوب دریافت می‌کرد. تیمار سوم، دو جیره با ۱۲ و ١٦ درصد پروتئین خام را با فاصله زمانی ٤٨ ساعت به طور متناوب دریافت می‌کرد. تیمار چهارم نیز دو جیره با ۱۲ و ١٦ درصد پروتئین خام را با فاصله زمانی ۷۲ ساعت به طور متناوب دریافت می‌کرد.

از ۸ رأس گوسفند نر با میانگین وزن ٢٤/٤٤±٠/٦٤ کیلوگرم در قالب طرح مربع لاتین ٤×٤ (با دو مربع ادغام شده یا مستطیل لاتین) استفاده شد. هر تیمار در هر دوره به ۲ گوسفند خورانده شد (چهار تیمار، دو مربع و در مجموع هشت تکرار). گوسفندان به‌طور تصادفی در بین تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. نحوه تصادفی کردن بدین‌گونه شد که هر گوسفند در هر مربع فقط یک‌بار یکی از جیره‌های آزمایشی را مصرف نماید. هر کدام از دام‌ها در یک قفس متابولیک با امکان اندازه گیری مصرف خوراک و جمع‌آوری جداگانه مدفوع و ادرار قرار داشتند. عملیات بهداشتی نظیر کنترل سلامت عمومی، انجام واکسیناسیون با واکسن آنتروتوکسمی و خوراندن داروی ضد انگل انجام شد. دام‌ها دسترسی آزاد به آب داشته و شرایط محیطی برای همه آن‌ها یکسان بود. کل آزمایش در چهار دوره ٢٤ روزه شامل ١٦ تا ١٨ روز عادت پذیری و ٦ تا ٨ روز اندازه‌گیری انجام شد (در تیمار ۳ که جیره‌ای با تناوب زمانی ٤٨ ساعته دریافت می‌کرد برای یکسان

[1] Small Ruminant Nutrition System

شدن تناوب دریافت جیره غذایی، اندازه‌گیری به مدت ۸ روز انجام شد). دام‌ها با جیره‌های آزمایشی و در حدود ۳ درصد وزن بدن خود در دو وعده ۸ صبح و ۱۷ عصر تغذیه شدند. هر صبح قبل از خوراک‌دهی باقی‌مانده خوراک روز قبل جمع‌آوری و توزین می‌شد. از روز ۱۸ هر دوره به مدت ٦ روز (برای تیمار ۳ از روز ١٦ هر دوره به مدت ۸ روز) ادرار و مدفوع هر دام به طور جداگانه جمع‌آوری شد. ترکیبات شیمیایی شامل ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر با روش‌های معمول (AOAC ۲۰۱۲) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی با روش ون‌سوست و همکاران (۱۹۹۱) تعیین شدند. در ظرف‌های جمع‌آوری ادرار ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱۰ درصد ریخته شده و به هنگام ثبت حجم روزانه ادرار دفعی این میزان حجم از آن کسر می‌شد. حدود ۷۰ میلی‌لیتر از ادرار جمع‌آوری شده و تا زمان انجام آزمایش در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای اندازه‌گیری نیتروژن ادرار دو میلی‌لیتر از ادرار جمع‌آوری شده به بالن‌های کجلدال منتقل شده و مطابق روش‌های توصیه شده (AOAC ۲۰۱۲) درصد نیتروژن کل آن اندازه‌گیری شد. از روی درصد نیتروژن ادرار و حجم ادرار دفع شده کل نیتروژن دفعی از طریق ادرار محاسبه شد. برای اندازه‌گیری درصد نیتروژن مدفوع یک گرم از نمونه خشک شده مدفوع برای اندازه‌گیری با روش کجلدال (AOAC ۲۰۱۲) استفاده شد. از روی درصد نیتروژن مدفوع و کل وزن خشک مدفوع جمع‌آوری شده کل نیتروژن دفعی از طریق مدفوع محاسبه شد. تعادل نیتروژن از کسر مجموع نیتروژن دفعی از ادرار و مدفوع، از نیتروژن دریافت شده از خوراک محاسبه شد (یلچی و همکاران ۲۰۱٦). آلانتوئین، اسید اوریک، گزانتین و هیپوگزانتین در نمونه‌های ادرار جمع‌آوری شده با استفاده از روش‌های طیف سنجی (آلانتوئین: ٥۲۲، اسیداوریک: ٥٤٦ و گزانتین و هیپوگزانتین: ۲۹۳ نانومتر) اندازه‌گیری شده و مجموع بازهای پورینی دفع شده برای برآورد سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه با استفاده از روش چن و گومس (۱۹۹۲) محاسبه شد.

Table 1- Experimental diets based on 100% dry matter in percentage along with chemical compositions

Ingredients	Diet 1 (12% crude protein)	Diet 2 (14% crude protein)	Diet 3 (16% crude protein)
Alfalfa hay	5	5	5
Corn silage	10	10	10
Wheat straw	10	10	10
Almond hull	15	12.1	11.9
Barley grain	25	25	25
Corn grain	10	9.5	9
Sugar beet pulp	4	4	4
Wheat bran	14	16	14
Soybean meal	5	5.9	8.1
Urea	0.06	0.56	1.06
Di-calcium phosphate	0.70	0.70	0.70
Sodium bicarbonate	0.24	0.24	0.24
M-V supplement[1]	1	1	1
Chemical compositions			
Crude protein (%)	11.98	13.99	15.98
Metabolizable energy (Mcal/kg)	2.67	2.67	2.67
Metabolizable protein (g/d)	97	100	103
Neutral detergent fiber (%)	35.20	35.56	34.71
Ether extract (%)	2.76	2.80	2.70
Ash (%)	6.69	6.70	6.70

1- Mineral and Vitamin supplement, each kilogram contain vitamin A: 500000 IU, vitamin D_3: 100000 IU, vitamin E: 100 mg, phosphorous: 20 g, sodium: 50 g, magnesium: 20 g, iron: 3 g, manganese: 2 g, zinc: 3 g, cooper: 280 mg, cobalt: 100 mg, iodine: 100 mg and selenium: 4 mg.

در روز آخر هر دوره با رعایت تناوب زمانی حدود ۵۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه با استفاده از لوله معدی سه ساعت بعد از مصرف خوراک از گوسفندان اخذ شد (شبخوان و همکاران ۲۰۲۰). مایع اخذ شده با پارچه متقال دو لایه صاف شده و بلافاصله pH آن با دستگاه pH متر مدل PB-11Sartorius با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شد. برای نگهداری مایع شکمبه تا زمان اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی به هر میلی‌لیتر مایع شکمبه ۲۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۵۰ درصد اضافه شده و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (کارگر و همکاران ۲۰۱۲). نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با اندکی تغییر (یلچی و همکاران ۲۰۱۶) در روش سوزا و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد. برای این کار حدود ۷ میلی‌لیتر از مایع شکمبه بلافاصله بعد از یخگشایی به لوله آزمایش منتقل و به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد (در این پژوهش انجام سانتریفیوژ به منظور تهیه مایع شفاف بود) سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول شفاف در دستگاه تقطیر کجلدال با ۳۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکسیدسدیم (در روش اصلی از هیدروکسیدپتاسیم استفاده شده است) ۲ مول تقطیرشده و با اسیدکلریدریک ۰/۰۱ نرمال (در روش اصلی نرمالیته اسیدکلریدریک ۰/۰۰۵ است) تیتر شد. در نهایت نیتروژن آمونیاکی برحسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر از رابطه $NH_3\text{-}N\ (mg/dl) = \frac{V*N*f*14*100}{L}$ محاسبه شد. در این رابطه V حجم اسید استاندارد مصرف شده، N نرمالیته اسید استاندارد، f عامل تصحیح اسید استاندارد با محلول کربنات‌دی‌سدیم و L حجم مایع خالص آماده شده برای آزمایش است.

برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار ۲۵ میلی‌لیتر از مایع شکمبه صاف شده با ۱/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک شش نرمال به آرامی مخلوط شده و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. بعد از یخگشایی مقداری از مایع شکمبه به میکروتیوپ‌های دو میلی‌لیتری منتقل شده و به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. مایع شفاف به‌دست آمده با نسبت پنج به یک با محلول اسید متافسفریک ۲۵ درصد مخلوط شده و غلظت اسیدهای چرب فرار آن با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با فشار بالا[2] تعیین شد. دستگاه به‌کار رفته مجهز به دیتکتور UV (Sykam S 3210, Germany) و ستون مورد استفاده از نوع C_{18} به ابعاد ۳۰۰×۷/۸ میلی‌متر در دمای ۴۰ درجه سلسیوس بود. فاز متحرک متانول و آب به همراه محلول اسید سولفوریک ۵ میلی‌مول در لیتر و با شدت جریان حداکثر یک میلی‌لیتر در دقیقه بود. برای کالیبراسیون منحنی استاندارد از اسید استیک با غلظت ۲۰ میلی‌مول در لیتر، اسید پروپیونیک با غلظت ۱۰ میلی‌مول در لیتر و اسید بوتیریک با غلظت ۱۰ میلی‌مول در لیتر استفاده شد.

خونگیری از بره‌ها در روز آخر هر دوره با رعایت تناوب زمانی قبل از خوراکدهی وعده صبح از سیاهرگ گردن انجام شد. نمونه‌های خون بعد از جدا شدن سرم در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. اندازه‌گیری غلظت فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز، آلبومین، پروتئین کل و نیتروژن اوره‌ای خون با دستگاه اتوآنالایزر (شرکت روچ، مدل کوباس، ساخت آلمان) و کیت‌های شرکت پارس آزمون انجام شد.

داده‌های به‌دست آمده در قالب طرح مربع لاتین تکرار شده (ادغام شده) با رویه مدل خطی عمومی به همراه مقایسه‌های متعامد با نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ (SAS ۲۰۰۴) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (سو ۲۰۰۶). در این طرح از مدل آماری زیر استفاده شد.

$$Y_{lik(j)}=\mu+R_j+C_{ik}+T_l+E_{lik(j)}$$

در این مدل $Y_{lik(j)}$ نشان‌دهنده‌ی هر مشاهده در آزمایش، μ: میانگین کل جمعیتی که از طریق نمونه‌ها با فرض صفر مورد بررسی قرار می‌گیرد، R_j: اثر ردیف، C_{ik}: اثر ستون در داخل مربع، T_l: اثر تیمار و $E_{lik(j)}$: اثر اشتباه آزمایش است. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

[2] High performance liquid chromatography (HPLC)

نتایج و بحث

تعادل نیتروژن، ابقاء و بازدهی آن در گوسفندان تحت آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است. از نظر مصرف نیتروژن تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده نشد (P= ۰/۷۸٦). نیتروژن دفع شده از ادرار و مدفوع تفاوت آماری معنی‌داری را بین تیمارها نشان نداد اما کل نیتروژن دفع شده (مجموع دفع نیتروژن از طریق ادرار و مدفوع) در گوسفندانی که جیره‌های با سطح پروتئین نوسان‌دار شده (۱۲ و ۱٦ درصد) با تناوب ٤٨ ساعت دریافت می‌کردند کمترین مقدار بود به طوری‌که با مقدار دفع گوسفندانی که با سطح ثابت پروتئین و با تناوب ٢٤ ساعته تغذیه می‌شدند تفاوت معنی‌داری داشت (۰/۰۳۱ =P). همچنین مقایسه گوسفندانی که با سطح ثابت پروتئین خام (١٤ درصد) تغذیه می‌شدند نسبت به گوسفندانی که تناوب مصرف در پروتئین خام (۱۲ و ١٦ درصد در فواصل زمانی ٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت) داشتند، تمایل به کاهش معنی‌داری را نشان داد. نیتروژن ابقاء شده در تیماری که جیره‌ای با تناوب مصرف پروتئین خام ٤٨ ساعته را دریافت می‌کرد افزایش ۳۱ درصدی و معنی‌داری (P< ۰/۰۵) را در مقایسه با تیمار تغذیه ثابت پروتئین خام نشان داد. افزایش ۳۰ درصدی و تمایل به معنی‌داری بازدهی ابقاء نیتروژن در تیمار با تناوب مصرف پروتئین خام ٤٨ ساعته در مقایسه با تیمار تغذیه ثابت پروتئین خام مشاهده شد. مقایسه تیمار تغذیه ثابت پروتئین خام (١٤ درصد) با تیمارهای دارای تناوب مصرف پروتئین خام (۱۲ و ١٦ درصد) تفاوت معنی‌داری را از نظر نیتروژن ابقاء شده و بازدهی ابقاء نیتروژن نشان ندادند. در نشخوارکنندگانی که جیره‌های پرکنسانتره با سطح پروتئین خام نوسان دار شده در فواصل زمانی ٤٨ ساعت دریافت می‌کردند نسبت به آن‌هایی که جیره‌ای با سطح پروتئین ثابت مصرف می‌کردند، ابقای نیتروژن بیشتری در گوسفند (کول ۱۹۹۹ و کایران و موتسواگوا ۲۰۰۹) و گوساله‌های پرواری (کول و همکاران ۲۰۰۳ و لودن و همکاران ۲۰۰۳) داشتند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. هرچند لودن و همکاران (۲۰۰۲) به هنگام تغذیه بره‌های نر با جیره‌های دارای نوسان در سطح پروتئین خام با تناوب مصرف ٤٨ ساعته نسبت به جیره‌های با سطح پروتئین خام ثابت افزایش معنی‌داری را در ابقای نیتروژن گزارش نکردند. در این پژوهش هرچند نیتروژن مصرف شده در بین تیمارها برابر بود اما کل نیتروژن دفع شده در تیمارهای دارای تناوب مصرف در پروتئین خام کمتر بود و این نتیجه نشان می‌دهد که ابقای نیتروژن و مورد استفاده قرارگیری آن در بدن بهبود یافته است. تبی و ویس (۲۰۲۰) نشان دادند که گاوهای شیری تغذیه شده با جیره‌های با نوسان در تراکم پروتئین (۱۱/۹ و ١٦/٢ درصد) و تناوب مصرف ٢٤ ساعته نسبت به جیره‌های با تراکم پروتئین ثابت (١٤/١ درصد) کارایی استفاده از نیتروژن، تولید شیر، پروتئین شیر و شیر تصحیح شده برای انرژی بهبود یافته است. مشخص شده است که بازدهی مورد استفاده قرارگیری نیتروژن در نشخوارکنندگان پایین است و این سبب می‌شود که مقدار بیشتری نیتروژن بعد از مصرف خوراک از بدن دام دفع شود (استینفلد و همکاران ۲۰۰٦). گزارش شده است که افزایش ابقای نیتروژن در نشخوارکنندگانی که جیره‌هایی با نوسان در سطح پروتئین خام دریافت می‌کردند به علت افزایش بازیافت اوره در شکمبه است (کول ۱۹۹۹). به نظر می‌رسد که انتقال اوره از خون به شکمبه در زمان‌های مصرف جیره‌هایی با سطح پروتئین خام کم (زمان‌های ٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت) در جیره‌های نوسان‌دار شده، بیشتر شده و کمبود نیتروژن را در شکمبه جبران می‌نماید در این شرایط دفع نیتروژن از طریق ادرار نیز کاهش یافته و بازدهی استفاده از نیتروژن بیشتر می‌شود.

Table 2- Effect of constant and oscillating dietary crude protein concentration on nitrogen balance and nitrogen retention in sheep.

	Experimental treatments					P-value	
parameters	Const[1]	Osc 24-h[2]	Osc 48-h[3]	Osc 72-h[4]	SEM	Model	Contrast[5]
Feed intake (g/d)	872	871	869	867	3.70	0.790	0.474
Nitrogen intake (g/d)	19.53	19.50	19.46	19.42	0.08	0.786	0.473
Nitrogen excreted from urine (g/d)	10.08	9.95	9.22	10.35	0.43	0.308	0.635
Nitrogen excreted from feces (g/d)	5.51	5.44	5.07	4.67	0.28	0.153	0.175
Total nitrogen excreted[6] (g/d)	15.58[a]	15.39[a]	14.29[b]	15.01[ab]	0.30	0.031	0.061
Nitrogen retention (g/d)	3.95[b]	4.12[b]	5.18[a]	4.41[ab]	0.30	0.045	0.093
Nitrogen retention efficiency (%)	20.61	21.31	26.85	23.03	1.59	0.053	0.106
Average daily gain (g/d)	129	146	145	135	8.73	0.508	0.235

1: constant feeding of diet containing 14% crude protein on a daily basis; 2 to 4: feeding diets containing 12 and 16 percent crude protein oscillating with intervals of 24, 48 and 72 hours; 5: Comparison of constant feeding with treatments with oscillating dietary crude protein; 6: Not counting wool shedding and layers separated from the skin. Means in a same row with different superscripts are significantly different (P <0.05).

فراسنجه‌های شکمبه‌ای گوسفندان تحت آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است. میانگین pH شکمبه در بین تیمارهای آزمایشی بین ٦/٢٠ تا ٦/٣٥ متغیر و بدون تفاوت معنی‌دار بود. شکمبه یک سیستم باز مرکب با پایداری نسبی است (سزروفسکی ۲۰۱۳) و این پایداری سبب عدم تفاوت معنی‌دار pH بین تیمارهای آزمایشی شده است. نتایج پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهد که به هنگام مصرف جیره‌های با سطح ثابت یا نوسان‌دار شده پروتئین خام pH شکمبه تفاوت معنی‌داری در بره‌های نر در حال رشد (دورنالی و همکاران ۲۰۱۱) و میش‌های شیرده (خطاب و عبدالواحد ۲۰۱۸) نداشته است و این مطابق با نتایج پژوهش حاضر است. بیشترین میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در تیمار با تناوب مصرف پروتئین خام ٤٨ ساعته بود که اختلاف معنی‌داری (P< ۰/۰۱) را با تیمارهای تغذیه ثابت و با تناوب مصرف ۷۲ ساعته پروتئین خام نشان داد هرچند که با تیمار دارای تناوب مصرف ٢٤ ساعته معنی‌دار نبود. مقایسه نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه تیمار تغذیه ثابت با تیمارهای دارای تناوب در مصرف پروتئین خام (٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. گزارش شده است که نیتروژن آمونیاکی شکمبه به هنگام اجرای برنامه تناوب در مصرف پروتئین خام در مقایسه با تغذیه ثابت در بره‌های در حال رشد (دورنالی و همکاران ۲۰۱۱) و میش‌های شیرده (خطاب و عبدالواحد ۲۰۱۸) تفاوت معنی‌داری نداشته است که این برخلاف نتایج پژوهش حاضر می‌باشد. اقلام جیره غذایی و نوع منابع پروتئینی استفاده شده می‌تواند دلیلی بر این عدم تطابق نتایج باشد که در نتایج پژوهشگران پیشین به آن اشاره شده است (نریمانی قراجه و همکاران ۲۰۲۲). مقایسه تیمار تغذیه ثابت پروتئین خام (١٤ درصد) با تیمارهای دارای تناوب مصرف پروتئین خام (۱۲ و ١٦ درصد) از نظر غلظت اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه گوسفندان تحت آزمایش شامل استات، پروپیونات و بوتیرات و همچنین کل اسیدهای چرب فرار تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. یکسان بودن نسبت کنسانتره به علوفه و مشابهت اقلام خوراکی موجود در جیره‌های غذایی می‌تواند دلیلی بر عدم معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی باشد که همسو با نتایج پژوهش‌های پیشین (خطاب و عبدالواحد ۲۰۱۸) است. دورنالی و همکاران (۲۰۱۱) در مقایسه جیره‌های با تغذیه ثابت و متناوب پروتئین خام هر چند گزارش کردند که غلظت بوتیرات در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت اما غلظت کل اسیدهای چرب فرار، استات و پروپیونات تفاوت معنی‌داری داشت.

Table 3- Effect of constant and oscillating dietary crude protein concentration on pH, N-NH_3 and concentration of rumen volatile fatty acids in sheep.

	Experimental treatments					P-value	
parameters	Const[1]	Osc 24-h[2]	Osc 48-h[3]	Osc 72-h[4]	SEM	Model	Contrast[5]
pH	6.20	6.25	6.24	6.35	0.07	0.450	0.315
N-NH_3 (mg/dl)	11.87[bc]	13.24[ab]	13.99[a]	11.63[c]	0.50	0.010	0.077
Acetate (mmol/L)	64.08	62.20	66.10	59.43	1.67	0.065	0.446
(% TVFA[6])	(65.21)	(63.57)	(65.58)	(63.95)			
Propionate (mmol/L)	20.87	21.84	20.42	19.04	1.00	0.288	0.710
(% TVFA[6])	(21.37)	(22.32)	(20.26)	(20.48)			
Butyrate (mmol/L)	10.50	11.14	11.60	11.69	0.88	0.767	0.348
(% TVFA[6])	(10.64)	(11.39)	(11.51)	(12.5)			
Total VFAs[7] (mmol/L)	98.26	97.85	100.79	92.93	2.09	0.095	0.661

1: constant feeding of diet containing 14% crude protein on a daily basis; 2 to 4: feeding diets containing 12 and 16 percent crude protein oscillating with intervals of 24, 48 and 72 hours; 5: Comparison of constant feeding with treatments with oscillating dietary crude protein; 6: Percentage of total volatile fatty acids; 7: volatile fatty acids. Means in a same row with different superscripts are significantly different (P <0.05).

بازهای پورینی دفعی، جذبی و سنتز پروتئین میکروبی در گوسفندان تحت آزمایش در جدول ٤ نشان داده شده است. در بین بازهای پورینی فقط آلانتوئین تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارهای آزمایشی نشان داد که بیشترین مقدار آن در تیمار با تناوب مصرف ٤٨ ساعته بود. اسید اوریک، گزانتین و هیپوگزانتین تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای آزمایشی نشان ندادند. از نظر کل بازهای پورینی دفعی و جذبی و همچنین تولید نیتروژن و سنتز پروتئین میکروبی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد که تیمار با تناوب مصرف ٤٨ ساعته دارای بیشترین مقدار بود. این تفاوت معنی‌دار همچنین در مقایسه تیمار تغذیه ثابت (١٤ درصد پروتئین خام) با تیمارهای دارای تناوب مصرف (١٢ و ١٦ درصد پروتئین خام) نیز مشهود است که همسو با نتایج گزارش‌های پیشین است (کایران و موتسوانگوا ٢٠٠٩). خطاب و عبدالواحد (٢٠١٨) به هنگام مقایسه مصرف جیره‌های با سطح پروتئین خام ثابت (١٤/١ درصد) و نوسان دار شده (١١/٢ و ١٧/٣ درصد در فواصل زمانی ٣ و ٤ روز) در میش‌های شیرده گزارش کردند که سنتز پروتئین میکروبی در جیره‌های با تناوب مصرف پروتئین خام افزایش می‌یابد. ویکرشام و همکاران (٢٠٠٨) با مکمل‌سازی کازئین در جیره‌های علوفه‌ای با کیفیت پایین در گوساله‌های نر اخته شده به صورت روزانه یا ثابت و متناوب یا هر سه روز یکبار (به ترتیب ٦١ و ١٨٣ میلی گرم نیتروژن به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) گزارش کردند که خوراندن متناوب کازئین سبب ابقای بیشتر نیتروژن (٢٦/٧ در مقابل ١٧ درصد مصرف) در بدن و افزایش جریان نیتروژن و پروتئین میکروبی از شکمبه به دوازده گردید اما pH و غلظت کل اسیدهای چرب فرار شکمبه تحت تأثیر قرار نگرفتند. سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه توسط عوامل حیوانی و جیره‌ای زیادی متأثر می‌شود که شامل مقادیر نیتروژن، منابع نیتروژن، نرخ‌های تجزیه کربوهیدرات و نیتروژن، نوع و مقدار کربوهیدرات در جیره، ماده خشک مصرفی، پایداری تخمیر در شکمبه و همزمانی بین نیتروژن و انرژی است (کارسلی و راسل ٢٠٠٢ و هال ٢٠١٣). به نظر می‌رسد در جیره‌های غذایی که نوسان و تناوب در ورود منابع پروتئینی به شکمبه ایجاد می‌کنند بازچرخش نیتروژن به شکمبه از طریق مخازن خونی و کبد به نحو موثرتری انجام می‌شود که این مورد علاوه بر کاهش دفع نیتروژن از بدن، سنتز پروتئین میکروبی را نیز افزایش می‌دهد یا به عبارت دیگر بازدهی استفاده از نیتروژن خوراک افزایش می‌یابد که این موارد در نتایج این پژوهش مشهود است.

Table 4- Effect of constant and oscillating dietary crude protein concentration on purine derivatives and microbial protein synthesis in sheep.

	Experimental treatments					P-value	
parameters	Const[1]	Osc 24-h[2]	Osc 48-h[3]	Osc 72-h[4]	SEM	Model	Contrast[5]
Allantoin (mmol/d)	8.03[b]	8.78[ab]	9.79[a]	8.88[ab]	0.35	0.018	0.012
Xanthine+Hypoxanthine (mmol/d)	1.10	1.11	1.02	0.94	0.09	0.478	0.433
Uric acid (mmol/d)	0.33	0.34	0.42	0.36	0.03	0.264	0.252
Excreted total purine derivatives (mmol/d)	9.46[b]	10.23[ab]	11.22[a]	10.18[ab]	0.38	0.035	0.025
Absorbed total purine derivatives (mmol/d)	10.77[b]	11.68[ab]	12.86[a]	11.62[ab]	0.46	0.036	0.026
Microbial nitrogen produced (g/d)	7.83[b]	8.49[ab]	9.35[a]	8.45[ab]	0.33	0.036	0.026
Microbial protein synthesized (g/d)	48.93[b]	53.06[ab]	58.42[a]	52.80[ab]	2.07	0.036	0.026

1: constant feeding of diet containing 14% crude protein on a daily basis; 2 to 4: feeding diets containing 12 and 16 percent crude protein oscillating with intervals of 24, 48 and 72 hours; 5: Comparison of constant feeding with treatments with oscillating dietary crude protein. Means in a same row with different superscripts are significantly different (P <0.05).

برخی فراسنجه‌های خونی گوسفندان تحت آزمایش در جدول ۵ نشان داده شده است. هرچند گلوکز، آلبومین و پروتئین کل خون اندازه‌گیری شده در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد اما نیتروژن اوره‌ای خون در تیماری که دارای تناوب مصرف ٤٨ ساعته بود، بیشترین مقدار بود (P< ۰/۰۱). نیتروژن اوره‌ای خون در تیمارهایی که دارای تناوب مصرف (٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت) در سطح پروتئین خام (١٢ و ١٦ درصد) مصرفی بودند نسبت به تیمار با تغذیه ثابت افزایش معنی‌داری را نشان داد. افزایش در غلظت نیتروژن اوره‌ای خون در تیمارهای دارای نوسان در سطح پروتئین خام جیره نسبت به تیمار با سطح ثابت پروتئین خام در پژوهش حاضر برخلاف نتایج پژوهش‌های پیشین (کول ١٩٩٩) است. کایران و موتسوانگوا (٢٠٠٩) گزارش کردند که تغذیه بره‌ها با جیره‌های داری نوسان در پروتئین خام (۹/۵ و ۱۵/۵ درصد) و با تناوب مصرف ٤٨ ساعته نسبت به جیره‌هایی که سطح پروتئین خام ثابتی (۱۲/۵ درصد) داشتند در غلظت نیتروژن اوره‌ای خون تأثیری نداشت. نتایج مشابهی توسط خطاب و عبدالواحد (٢٠١٨) به هنگام مقایسه مصرف جیره‌های با سطح پروتئین خام ثابت و نوسان‌دار شده در میش‌های شیرده گزارش شده است. همچنین منزس و همکاران (٢٠١٩) به هنگام مقایسه مصرف جیره‌های با سطح پروتئین خام ثابت و نوسان‌دار شده در گوساله‌های نر از نظر غلظت نیتروژن اوره‌ای خون تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارها مشاهده نکردند. افزایش نیتروژن اوره‌ای خون به دنبال افزایش نیتروژن آمونیاکی شکمبه گزارش شده است (چامپاوادی و همکاران ٢٠٠٦) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. قابلیت تجزیه‌پذیری پروتئین خام خوراک در شکمبه می‌تواند در نیتروژن اوره‌ای خون تأثیر داشته باشد (کول ١٩٩٩). گزارش شده است که افزودن مکمل پروتئینی به جیره مانند کنجاله گلوتن ذرت (با تجزیه پذیری پروتئین پایین در شکمبه) تأثیر چندانی در افزایش نیتروژن اوره‌ای خون ندارد اما زمانی که در مکمل سازی پروتئین خام جیره از کنجاله سویا (با تجزیه پذیری پروتئین بالا در شکمبه) استفاده شد، نیتروژن اوره‌ای خون افزایش یافت (کولینس و پریتچارد ١٩٩٢).

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از راهبرد تغذیه پروتئین خام با سطوح نوسان دار شده و در فواصل زمانی یک تا سه روزه به طور متناوب در جیره‌های غذایی گوسفند سبب کاهش دفع نیتروژن در محیط زیست، بهبود ابقای نیتروژن در بدن، فعالیت‌های تخمیری شکمبه و افزایش سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه می‌شود.

Table 5- Effect of constant and oscillating dietary crude protein concentration on blood parameters in sheep.

	Experimental treatments					P-value	
parameters	Const[1]	Osc 24-h[2]	Osc 48-h[3]	Osc 72-h[4]	SEM	Model	Contrast[5]
Glucose (mg/dl)	83.13	81.16	82.33	80.82	1.12	0.455	0.205
Albumin (g/dl)	3.03	3.14	2.93	3.06	0.13	0.722	0.930
Total protein (g/dl)	7.29	7.36	7.48	7.30	0.16	0.818	0.620
Blood urea nitrogen (mg/dl)	15.62[b]	16.31[b]	17.41[a]	16.08[b]	0.31	0.005	0.013

1: constant feeding of diet containing 14% crude protein on a daily basis; 2 to 4: feeding diets containing 12 and 16 percent crude protein oscillating with intervals of 24, 48 and 72 hours; 5: Comparison of constant feeding with treatments with oscillating dietary crude protein. Means in a same row with different superscripts are significantly different (P <0.05).

References

AOAC International, 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.

Belanche A, De la Fuente G, Moorby JM and Newbold CJ, 2012. Bacterial protein degradation by different rumen protozoal groups. Journal of Animal Science 90(12): 4495-4504.

Burgos SA, Embertson NM, Zhao Y, Mitloehner FM, DePeters EJ and Fadel JG, 2010. Prediction of ammonia emission from dairy cattle manure based on milk urea nitrogen: Relation of milk urea nitrogen to ammonia emissions. Journal of Dairy Science 93(6): 2377-2386.

Chen XB and Gomes MJ, 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - An overview of the technical details. Rowett Research Institue, University of Aberdeen (UK). 21p.

Chibisa GE and Mutsvangwa T, 2013. Effects of feeding wheat or corn-wheat dried distillers grains with solubles in low-or high-crude protein diets on ruminal function, omasal nutrient flows, urea-N recycling, and performance in cows. Journal of Dairy Science 96(10): 6550-6563.

Chumpawadee S, Sommart K, Vongpralub T, Pattarajinda V, 2006. Effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on ruminal fermentation, microbial protein synthesis, blood urea nitrogen and nutrient digestibility in beef cattle. Asian- Australasian Journal of Animal Science 19(2): 181-188.

Cole NA, 1999. Nitrogen retention by lambs fed oscillating dietary protein concentrations. Journal of Animal Science 77(1): 215-222.

Cole NA, Greene LW, McCollum FT, Montgomery T, McBride K, 2003. Influence of oscillating dietary crude protein concentration on performance, acid-base balance, and nitrogen excretion of steers. Journal of Animal Science 81(11): 2660-2668.

Collins RM, Pritchard RH, 1992. Alternate day supplementation of corn stalk diets with soybean meal or corn gluten meal fed to ruminants. Journal of Animal Science 70(12): 3899-3908.

Cue RI, 2006. Statistical methods AEMA-610. Department of Animal Science. McGill University. 281p.

Dijkstra J, Oenema O, Bannink A, 2011. Dietary strategies to reducing N excretion from cattle: implications for methane emissions. Current Opinion in Environmental Sustainability 3(5): 414-22.

Erickson GE, Klopfenstein TJ, 2001. Nutritional methods to decrease N losses from open-dirt feedlots in Nebraska. The Scientific World Journal 1: 836-843.

Hall MB, 2013. Dietary starch source and protein degradability in diets containing sucrose: Effects on ruminal measures and proposed mechanism for degradable protein effects. Journal of Dairy Science 96: 7093-7109.

Kargar S, Ghorbani GR, Alikhani M, Khorvash M, Rashidi L, and Schingoethe DJ, 2012. Lactational performance and milk fatty acid profile of Holstein cows in response to dietary fat supplements and forage: concentrate ratio. Livestock Science, 150: 274–283.

Karsli MA and Russell JR, 2002. Effects of source and concentrations of nitrogen and carbohydrate on ruminal microbial protein synthesis. Turkish Journal of Veterinary Science 26: 201-207.

Khattab IM and Abdel-Wahed AM, 2018. Effect of oscillating crude protein content on nitrogen utilization, milk production and performance of sheep. Egyptian Journal of Nutrition and Feeds 21(2): 373-380.

Khezri A, Rezayazdi K, Danesh Mesgaran M and Moradi-Sharbabak M, 2009. Effect of different rumen-degradable carbohydrates on rumen fermentation, nitrogen metabolism and actation performance of Holstein dairy cows. Asian-Australian Journal of Animal Sciences 22: 651-658.

Kiran D and Mutsvangwa T, 2009. Nitrogen utilization in growing lambs fed oscillating dietary protein concentrations. Animal Feed Science and Technology 152(1-2): 33-41.

Lapierre H and Lobley GE, 2001. Nitrogen recycling in the ruminant: A review. Journal of Dairy Science 84: E223-E236.

Ludden PA, Wechter TL, Hess BW, 2002. Effects of oscillating dietary protein on nutrient digestibility, nitrogen metabolism, and gastrointestinal organ mass in sheep. Journal of Animal Science 80(11): 3021-3026.

Ludden PA, Wechter TL, Scholljegerdes EJ, Hess BW, 2003. Effects of oscillating dietary protein on growth, efficiency, and serum metabolites in growing beef steers. The Professional Animal Scientist 19(1): 30-34.

Narimani Garajeh S, Seifdavati J, Abdi Benemar H, Salem AZM and Seyed Sharifi R, 2022. In-vitro bioconversion of potato byproduct by rumen microorganisms. Journal of Animal Science Research (Agricultural Science) 32(1): 45-56. (In persian)

NRC, 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. National Academy Press, Washington DC.

Ouatahar L, Bannink A, Lanigan G, Amon B, 2021. Modelling the effect of feeding management on greenhouse gas and nitrogen emissions in cattle farming systems. Science of the Total Environment 776: 145932.

Pfeffer, E and Hristov AN, 2005. Nitrogen and phosphorous nutrition of cattle. First edition. CABI Publishing. USA. 304p.

Rauch R, Martín-Tereso J, Daniel JB and Dijkstr, J, 2021. Dietary protein oscillation: Effects on feed intake, lactation performance, and milk nitrogen efficiency in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 104(10): 10714-10726.

Reynolds CK and Kristensen NB, 2008. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis. Journal of Animal Science 86(suppl_14): E293-E305.

Richardson JM, Wilkinson RG and Sinclair LA, 2003. Synchrony of nutrient supply to the rumen and dietary energy source and their effects on the growth and metabolism of lambs. Journal of Animal Science 81: 1332-1347.

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(11): 3551-3561.

SAS Institute, 2004. SAS 9.1 for Windows. SAS Institute, Cary, NC.

Shabkhan S, Bashtani M and Farhangfar SH, 2020. Effect of different levels of sesame meal on performance, some blood factors and antioxidant parameters in fattening lambs. Journal of Animal Science Research (Agricultural Science) 30(3): 1-12. (In persian)

Souza NKP, Detmann E, Valadares Filho SC, Costa VAC, Pina DS, Gomes DI, Queiroz AC and Mantovani HC, 2013. Accuracy of the estimates of ammonia concentration in rumen fluid using different analytical methods. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia 65: 1752-1758.

Steinfeld H, Gerber P, Wassenaar T, Castel V, Rosales M, de Haan C, 2006. Food and Agriculture Organization of the United Nations; Rome. Livestock's long shadow: environmental issues and options.

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

VandeHaar MJ and St-Pierre N, 2006. Major advances in nutrition: Relevance to the sustainability of the dairy industry. Journal of Dairy Science 89(4): 1280-1291.

Vergé XPC, Dyer JA, Desjardins RL and Worth D, 2008. Greenhouse gas emissions from the Canadian beef industry. Agricultural Systems 98(2): 126-134.

Yalchi T, Seif Davati J and Seyyed Sharifi R, 2020. Effect of Nutrient Synchrony on Ruminal Fermentation, Microbial Protein Synthesis and Nitrogen Balance in Sheep. Iranian Journal of Animal Science Research 12(1): 19-33. (In persian)

Yalchi T, Teimouri Yanesari A, Rezaee M and Chashnidel Y, 2016. Effect of Synchronizing Rate of Ruminal Fermentation on Nitrogen Balance, Microbial Protein Synthesis and Growth Performance in Feedlot Male Lori Lambs. Journal of Ruminant Research 4(4):67-90. (In Persian)

Effect of constant and oscillating dietary crude protein concentration on ruminal parameters and microbial protein synthesis in sheep

T Yalchi [1*]

Received: September 29, 2022 Accepted: January 2, 2023
[1]Assistant professor, Moghan College of Agriculture and Natural Resourses, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
Animal welfare and nutrition research core, Research institute of health and safety of agricultural products, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[*]Corresponding author: Email: taheryalchi@uma.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research
Journal of Animal Science/vol.34 No.1/ 2024/pp 17-30
https://animalscience.tabrizu.ac.ir
OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)
DOI: 10.22034/as.2023.53618.1677

Introduction: Crude protein is a key element in regulating the diet of ruminants and is considered one of the most expensive nutrients needed by livestock. Feeding management plays an important role in the elimination of nitrogen in the production environment and the emission of greenhouse gases in animal husbandry systems (Avathar et al 2021). When there is excessive discharge of nitrogen in the environment, it causes the ecological balance in surface waters to be disrupted and the groundwater to be polluted (Dijkstra et al 2011). Excretion of these compounds in the environment will increase with fermentation, digestion and inefficient metabolism, and the increase in inefficiency in the rumen is caused by the complex and competitive metabolic pathways in the rumen microbial population. Therefore, increasing efficiency in the use of nutrients, especially nitrogen, to minimize their excretion from the animal's body should be considered. Various methods can be implemented in an animal husbandry unit to improve the use of nitrogen in ruminants. One of these solutions is to reduce the crude protein in the diet, but it has been reported that this method can have a negative effect on animal production (Chibisa and Motswangwa 2013). Another solution is nutrient synchronization or synchronizing the fermentation rate of dietary protein and energy sources, which has led to limited success (Yelchi et al. 2020). Another solution is to create oscillating in the concentration of crude protein in the diet and feed it intermittently at intervals of one to three days, and previous reports show that this method has improved nitrogen retention and its utilization in the body compared to eating constant amounts of crude protein daily in sheep and cattle (Rach et al., 2021). This study was conducted in order to investigate the effect of constant and intermittent feeding of dietary crude protein on ruminal parameters and microbial protein synthesis in sheep.
Material and methods: Three diets were adjusted with 12, 14 and 16% crude protein but with the same metabolizable energy and protein. 8 male sheep were used in metabolic cages in a 4x4 Latin square design (four treatments with 2 squares and 8 replications). The first treatment received a diet with a crude protein level of 14% constantly. The second, third and fourth treatments received diets with 12 and 16% crude protein at intervals of 24, 48 and 72 hours, respectively. Nitrogen balance and retention, rumen and blood parameters, volatile fatty acids and microbial protein synthesis were measured.
Results and discussion: The lowest total excreted nitrogen (via urine and feces) was observed in the treatment with 48-hour raw protein consumption interval ($P<0.05$). The retained nitrogen showed a significant increase in this treatment as compared to the constant crude protein feeding treatment ($P<0.05$). It has been reported that the increase in nitrogen retention in ruminants that received diets

with oscillating crude protein levels is due to increased urea recycling in the rumen (Cole 1999). It seems that the transfer of urea from the blood to the rumen during the consumption of diets with low crude protein level (times 24, 48 and 72 hours) in oscillating diets increased and it compensates for the shortage of nitrogen in the rumen. In this condition, nitrogen excretion through urine also decreases and the efficiency of nitrogen use increases. The highest rumen liquid ammonia nitrogen was observed in the treatment with 48-hour crude protein consumption interval, but the pH and concentration of volatile fatty acids did not show any significant difference among the experimental treatments. Comparing the treatment of constant crude protein feeding (14%) with the treatments with intermittent consumption of crude protein (12 and 16%) in terms of the concentration of volatile fatty acids in the rumen fluid of the experimental sheep, including acetate, propionate and butyrate, as well as total volatile fatty acids, there is not a significant difference. The same ratio of concentrate to fodder and the similarity of the feed ingredients in the diets can be a reason for the lack of significance between the experimental treatments, which is in line with the results of previous researches (Khattab and Abdulwahid 2018). A significant difference was observed between the experimental treatments in terms of allantoin, total purine bases excreted, as well as nitrogen and microbial protein production, and the treatment with oscillating consumption of raw protein at a time interval of 48 hours had the highest amount. Albumin and total blood protein measured between the experimental treatments showed no significant difference, but blood urea nitrogen was the highest in the treatment with 48-hour crude protein consumption interval ($P<0.01$). Microbial protein synthesis in the rumen is affected by many animal and dietary factors, including nitrogen amounts, nitrogen sources, carbohydrate and nitrogen degradation rates, type and amount of carbohydrates in the diet, dry matter consumption, stability of fermentation in the rumen, and synchronization between nitrogen and energy (Hall 2013). It seems that in diets that cause fluctuation in the entry of protein sources into the rumen, the recycling of nitrogen to the rumen is done more effectively through the blood vessels and the liver, which in addition to reducing the excretion of nitrogen from the body also increases the production of microbial protein, in other words, the efficiency of using feed nitrogen increases, which is evident in the results of this research.

Conclusion: The results showed that using the strategy of oscillating dietary crude protein concentration in sheep's diet improved nitrogen retention, rumen fermentation activities and microbial protein synthesis.

Keywords: Environmental pollution, Male lamb, Nitrogen balance, Nitrogen retention, Ruminal fermentation