

تأثیر همزمانی ماده مغذی بر تخمیر شکمبه‌ای، ساخت پروتئین میکروبی و تعادل نیتروژن در گوسفند

طاهر یلچی^{1*}، جمال سیف دواتی² و رضا سید شریفی²

تاریخ دریافت: 1397/09/14

تاریخ پذیرش: 1397/12/27

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی آثار همزمان سازی تخمیر شکمبه‌ای ماده مغذی بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای، ساخت پروتئین میکروبی و تعادل نیتروژن در گوسفند انجام شد. ترکیبات شیمیایی به همراه فراسنجه‌های تجزیه پذیری پروتئین خام و کربوهیدرات علوفه یونجه، کاه گندم، دانه جو، دانه ذرت، تقاله چغندر قند، سبوس گندم و کنجاله سویا اندازه‌گیری شد. سه جیره با انرژی و پروتئین خام یکسان اما با شاخص همزمانی متفاوت شامل 0/64، 0/78 و 0/92 که با استفاده از فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری مواد خوراکی محاسبه شده بودند، تنظیم شدند. از شش رأس گوسفند 14 ماهه با میانگین وزن $30/17 \pm 1/17$ کیلوگرم دارای فیستوله شکمبه‌ای در قفس‌های متابولیکی استفاده شد. طرح آزمایشی در قالب طرح مربع لاتین تکرار شده در سه دوره و اختصاص دو گوسفند به هر جیره آزمایشی در هر دوره انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش شاخص همزمانی غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه به ویژه در 1/5 ساعت بعد از مصرف خوراک کاهش یافت. غلظت کل اسیدهای چرب فرار در 3 ساعت بعد از تغذیه در جیره‌ای که بیشترین شاخص همزمانی را داشت بیشترین مقدار بود. با افزایش شاخص همزمانی غلظت کل اسیدهای چرب فرار به ویژه غلظت پروپیونات نیز افزایش معنی‌داری داشت. کل مشتقات پورینی دفع شده یا جذب شده و ساخت پروتئین میکروبی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. با افزایش شاخص همزمانی کل نیتروژن دفع شده کاهش و بازدهی ابقاء نیتروژن افزایش یافت. هرچند در این پژوهش ساخت پروتئین میکروبی تحت تأثیر قرار نگرفت اما سایر نتایج مثبت از جمله بهبود تخمیر در شکمبه و ابقاء نیتروژن در بدن، استفاده از شاخص همزمانی را در تنظیم جیره‌های غذایی برای نشخوارکنندگان به ویژه گوسفندان قابل توصیه می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: ابقاء نیتروژن، تخمیر شکمبه‌ای، شاخص همزمانی، نیتروژن آمونیاکی، نیتروژن اوره‌ای خون

مقدمه

سینکلیز و همکاران (30) داده‌های حاصل از تجزیه پذیری پروتئین خام و ماده آلی اجزای جیره را در محاسبه شاخص همزمانی³ مورد استفاده قرار دادند. این شاخص به صورت ضربی از 1 محاسبه شده و هر چه این شاخص به 1 نزدیک تر باشد، جیره‌ها از همزمانی ماده مغذی بیشتری برخوردار هستند. سینکلیز و همکاران (30) اثر دو جیره با شاخص همزمانی 0/93 و 0/58 را در گوسفندان فیستوله گذاری شده بررسی کردند. جیره‌ای که شاخص همزمانی بیشتری داشت 27 درصد پروتئین میکروبی بیشتری تولید کرده بود. همچنین جیره‌ی با شاخص همزمانی 0/93 از نوسان کمتری در تولید فرآورده‌های تخمیری شکمبه برخوردار بود. واتنی و همکاران (37) اثر شاخص همزمانی (0/37، 0/50 و 0/63) را در جیره‌هایی با 75 درصد کنسانتره و 25 درصد باگاس نیشکر با استفاده از بره‌های نر مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران گزارش کردند با افزایش شاخص همزمانی

همزمان سازی شکمبه‌ای فراهمی انرژی و پروتئین یک استراتژی پیشنهاد شده برای افزایش کارایی فرایندهای متابولیکی نشخوارکنندگان از قبیل ساخت پروتئین میکروبی و کاهش دفع مواد مغذی در محیط است (18). فزون بر این همزمان سازی نرخ تخمیر کربوهیدرات و پروتئین در شکمبه تلاشی برای افزایش جریان یافتن پروتئین میکروبی ساخته شده در شکمبه به بخش‌های بعدی دستگاه گوارش است (26).

1- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی
2- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی

* ایمیل نویسنده مسئول: taheryalchi@uma.ac.ir

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.76961

هضم² جیره‌های آزمایشی مقدار سه گرم از هر نمونه داخل کیسه‌های نایلونی به ابعاد 12×7 سانتی‌متر با قطر منفذ 17 میکرون ریخته شده و در شکمبه پنج رأس گوسفند مجهز به فیستوله شکمبه‌ای به مدت 12 روز (288 ساعت) انکوباسیون شدند. مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی غیرقابل هضم به صورت نسبتی از الیاف نامحلول در شوینده خنثی تعیین شد (34). کربوهیدرات کل از تفاضل مجموع پروتئین خام، چربی خام و خاکستر از کل بخش ماده خشک محاسبه شد. فراسنجه‌های تجزیه پذیر کربوهیدرات و پروتئین خام مواد خوراکی با استفاده از چهار رأس گوسفند دارای فیستوله شکمبه‌ای بعد از دو هفته عادت پذیر تعیین شدند. جیره گوسفندان شامل علوفه و کنسانتره با نسبت 40 به 60 بود. جیره‌ها در حد نگهداری تهیه شده و به صورت کاملاً مخلوط در دو وعده صبح و عصر داده شده و دسترسی به آب و مکمل معدنی آزاد بود. حدود چهار گرم از مواد خوراکی (جدول 1) در کیسه‌های نایلونی با قطر منفذ 40 میکرومتر به ابعاد 15×7 سانتی‌متر ریخته شده و در زمان‌های 2، 4، 8، 16، 24، 36، 48 و 72 ساعت (برای یونجه و کاه گندم تا 96 ساعت) در شکمبه انکوباسیون شد. فراسنجه‌های تجزیه پذیر با رابطه 1 محاسبه شدند (20).

$$P = a + b(1 - e^{-c(t-L)}) \quad (\text{رابطه 1})$$

در این رابطه P درصد ناپدید شدن در زمان t، a بخش قابل تجزیه سریع، b بخش قابل تجزیه کند، c نرخ تجزیه پذیری، t زمان -های تجزیه پذیری و L زمان تأخیر را نشان می‌دهد. تجزیه پذیری موثر³ با رابطه 2 محاسبه شد.

$$ED = a + [b \times c / (c + k)] \quad (\text{رابطه 2})$$

که در آن ED، تجزیه پذیری موثر و k نرخ خروج بخشی از مواد از شکمبه (برابر با 0/05 در ساعت) در نظر گرفته شد.

تنظیم جیره‌ها بر اساس شاخص همزمانی

در ابتدا سه جیره غذایی برای بره‌های پرواری بر اساس نیاز مواد مغذی توصیه شده توسط انجمن ملی تحقیقات (22) و با نرم افزار SRNS⁴ با انرژی و پروتئین خام یکسان تنظیم شد. سپس با مقادیر به‌دست آمده از تجزیه‌پذیری پروتئین خام و کربوهیدرات مواد خوراکی، قابلیت دسترسی نیتروژن و کربوهیدرات در شکمبه با رابطه 3 محاسبه شد (29):

$$P = a + \{[(bc)/(c+k)] [1 - e^{-(c+k)(t-L)}] (e^{-kL})\} \quad (\text{رابطه 3})$$

قابلیت هضم ماده خشک افزایش و نسبت استات به پروپیونات کاهش یافت. در پژوهش دیگری با جیره‌های فوق و گوسفندان فیستوله-گذاری شده در شکمبه مشخص شد که با افزایش شاخص همزمانی تجزیه‌پذیری ماده آلی کاهش اما در مقابل تجزیه‌پذیری پروتئین خام افزایش یافت (26). در یک پژوهش اثر شاخص همزمانی (0/59، 0/73 و 0/87) در جیره های حاوی 70 درصد کنسانتره بر عملکرد بره‌های نر پرواری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش بهبود بازده خوراک و عملکرد رشد را نشان داد (40). گزارش‌ها نشان می‌دهد با افزایش شاخص همزمانی ماده مغذی در جیره علاوه بر افزایش ظرفیت تخمیر شکمبه و عملکرد تولیدی حیوان در گاوهای شیری سیستم ایمنی حیوان نیز بهبود می‌یابد (24).

بررسی نتایج پژوهشگران پیشین در استفاده از جیره‌های همزمان سازی شده بر اساس نرخ تخمیر شکمبه‌ای مواد مغذی در شرایط مختلف و با استفاده از حیوانات مختلف نتایج متناقض و مبهمی بر تولید و کارایی استفاده از مواد مغذی نشان می‌دهد (42). از دلایل آن می‌توان به اثر اقلام خوراکی و ترکیب جیره در تیمارهایی که با سطوح متفاوت همزمانی طراحی شده بودند اشاره کرد به طوری که این آثار مانع از تظاهر اثر همزمانی نرخ تخمیر شکمبه‌ای به‌طور کامل و بدون تداخل سایر عوامل در نتایج می‌شد. گزارش دهورست و همکاران (6) نیز به عدم تفکیک اثر همزمانی به دلیل اثر ویژگی‌های ماده خوراکی استفاده شده در جیره‌های غذایی اشاره دارد. به هر حال، پژوهش اندکی در موضوع همزمانی ماده مغذی در جیره‌های غنی از کنسانتره و مشابه از نظر ساختار و ترکیب صورت گرفته‌است. از این رو هدف از این پژوهش انجام آزمایشی است تا اثر همزمانی ماده مغذی را بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای و خونی، ساخت پروتئین میکروبی و تعادل نیتروژن در گوسفندانی که با جیره‌های غنی از کنسانتره و مشابه از نظر ساختار و ترکیب تغذیه می‌شوند، بررسی نماید.

مواد و روش‌ها

مواد خوراکی و تعیین تجزیه پذیری

این پژوهش بین سال‌های 1395 تا 1397 در دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. مواد خوراکی معمول در تغذیه دام به همراه برخی مکمل‌ها جمع‌آوری شده و ترکیبات شیمیایی آن‌ها در سه تکرار شامل پروتئین خام، چربی خام، ماده آلی و خاکستر با روش‌های معمول (1) اندازه‌گیری شدند. بخش‌های الیافی شامل الیاف نامحلول در شوینده خنثی (با استفاده از آنزیم آلفا آمیلاز مقاوم به حرارت¹) و اسیدی تعیین شدند (35). برای اندازه‌گیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی غیرقابل

2- Indigestible Neutral Detergent Fiber (iNDF)

3- Effective degradability (ED)

4- Small Ruminant Nutrition System (SRNS)

1- α -Amylase, heat-stable, A3306-10ML, Sigma-Aldrich.

جدول 1- فراسنجه‌های تجزیه پذیری پروتئین خام و کربوهیدرات اقلام خوراکی
Table 1- Crude protein and carbohydrate degradability parameters of the feeds

مواد خوراکی Feeds	پروتئین خام Crude protein				کربوهیدرات Carbohydrate			
	a (%)	b (%)	c (%/h)	ED (%)	a (%)	b (%)	c (/h)	ED (%)
یونجه خشک Alfalfa hay	39.80	46.95	6.80	66.86	18.53	46.95	5.06	42.15
کاه گندم Wheat straw	14.52	33.83	9.30	36.52	3.93	51.94	1.97	18.61
دانه جو Barley grain	33.55	60.75	6.41	67.68	22.72	61.55	15.21	69.04
دانه ذرت Corn grain	28.06	60.53	12.94	71.72	20.77	73.00	7.29	64.07
تفاله چغندر قند Sugar beet pulp	15.00	74.25	3.63	46.23	16.17	79.11	5.22	56.58
سبوس گندم Wheat bran	40.29	51.65	28.53	84.24	26.87	41.41	18.91	59.62
کنجاله سویا Soybean meal	15.21	83.34	3.64	50.32	24.09	75.70	5.31	63.08

a¹: بخش قابل تجزیه سریع (درصد)؛ b: بخش قابل تجزیه کند (درصد)؛ c: نرخ تجزیه پذیری (واحد در ساعت)؛ ED: تجزیه پذیری موثر (درصد)
a¹: rapidly soluble fraction; b: potentially degradable fraction; c: rate of degradation of b; ED: effective degradability

نیتروژن و کربوهیدرات قابل دسترس شکمبه‌ای جیره در مدت 24 ساعت و عدد 32 حدمطلوب نسبت گرم نیتروژن به کیلوگرم کربوهیدرات تخمیر شده است (32). شاخص همزمانی جیره‌ها در سه سطح 0/64، 0/78 و 0/92 طوری تنظیم شدند که پروتئین خام، انرژی قابل متابولیسم و نسبت کنسانتره به علوفه برابر بوده یا تغییرات اندکی داشتند (جدول 2). آسیاب کردن بخش کنسانتره‌ای و اندازه خرد کردن بخش علوفه‌ای در هر سه جیره یکسان بود.

تغذیه گوسفندان تحت آزمایش

در این بخش از پژوهش از شش رأس گوسفند نر مغانی با سن بین 14 تا 15 ماهه و با میانگین وزن $30/17 \pm 1/17$ کیلوگرم دارای فیستوله شکمبه‌ای استفاده شد. هر کدام از گوسفندان در یک قفس متابولیکی با امکان اندازه گیری مصرف خوراک و جمع‌آوری جداگانه مدفوع و ادرار قرار داشتند. گوسفندان دسترسی آزاد به آب داشته و شرایط محیطی برای همه آن‌ها یکسان بود. کل آزمایش در سه دوره 19 روزه شامل 14 روز عادت پذیری و پنج روز اندازه‌گیری انجام شد. در هر دوره هر یک از سه جیره غذایی (تیمار) به دو رأس گوسفند داده می‌شد به طوری که در پایان سه دوره هر جیره غذایی توسط شش رأس گوسفند (تکرار) مصرف شده بود. حدود 830 گرم ماده خشک از جیره‌های آزمایشی در دو وعده هشت صبح و 17 عصر در اختیار گوسفندان قرار می‌گرفت و قبل از خوراک‌دهی روز بعد باقی مانده خوراک جمع‌آوری و توزین می‌شد.

در این رابطه، P قابلیت دسترسی ماده مغذی در زمان a، t، b و c فراسنجه‌های حاصل از تجزیه‌پذیری، k نرخ خروج از شکمبه در ساعت و t زمان‌های تجزیه پذیری و L زمان تأخیر بود. طبق خروجی نرم افزار جیره‌نویسی استفاده شده (SRNS) نرخ عبور بخش علوفه‌ای و مواد دانه‌ای در جیره‌های تنظیم شده به ترتیب در محدوده 4/01 تا 4/05 و 5/38 تا 5/44 درصد در ساعت بود. در مورد اوره گرانوله فرض شد که بخش قابل تجزیه سریع (a) آن 95 درصد و پنج درصد باقیمانده با نرخ تجزیه پذیری (c) 0/5 واحد در هر ساعت (50 درصد در هر ساعت) در شکمبه است (31). برخی پژوهشگران (18) معتقدند که محاسبه شاخص همزمانی از روی داده‌های حاصل از تجزیه پذیری پروتئین خام و ماده آلی در شکمبه دستخوش عوامل تصادفی زیادی قرار گرفته و ممکن است به هنگام محاسبه شاخص همزمانی مقدار واقعی به دست نیاید لذا در این پژوهش سعی شد تا حد امکان عوامل افزایشده ایجاد تغییرات محیطی کاهش یافته و برای افزایش دقت به جای ماده آلی در رابطه محاسبه شاخص همزمانی (30) از کربوهیدرات استفاده شد (32). شاخص همزمانی¹ (SI) جیره‌ها با مقادیر به‌دست آمده از قابلیت دسترسی نیتروژن و کربوهیدرات با رابطه 4 محاسبه شد (32):

$$SI = \frac{24 \times \left(\frac{23 - 7a \times t \times N}{CHO} \right)^2}{22 - \sum_{i=1}^n a_i^2} \quad (\text{رابطه 4})$$

در این رابطه SI شاخص همزمانی، N و CHO به ترتیب

جدول 2- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی بر اساس ماده خشک

Table 2- Ingredients and chemical composition of experimental diets on dry matter basis.

اقلام خوراکی (درصد از کل جیره) Ingredients (% of ration)	شاخص همزمانی جیره‌ها Synchrony index of diets		
	0.64	0.78	0.92
یونجه خشک Alfalfa hay	6.38	17.78	24.40
کاه گندم Wheat straw	24.90	13.02	6.54
دانه جو Barley grain	58.00	38.10	21.54
دانه ذرت Corn	0.00	13.30	22.43
تفاله چغندر قند Sugar beet pulp	3.20	0.00	13.08
سبوس گندم Wheat bran	4.90	13.30	6.54
کنجاله سویا Soybean meal	0.00	2.67	4.67
اوره گرانوله (46% ازت) Granulated urea (N=%46)	1.40	0.44	0.20
مکمل معدنی و ویتامینه ¹ Mineral-vitamin premix ¹	0.40	0.40	0.40
نمک Salt	0.14	0.14	0.14
کربنات کلسیم Calcium carbonate	0.68	0.85	0.06
ترکیب شیمیایی Chemical composition			
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	13.65	13.24	13.14
پروتئین قابل متابولیسم (گرم در روز) Metabolizable protein (g d ⁻¹)	121	119	120
انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری به ازای هر کیلوگرم) Metabolizable energy (Mcal Kg ⁻¹)	2.42	2.45	2.48
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) Neutral detergent fiber (%)	39.31	38.21	38.54
الیاف نامحلول در شوینده خنثی غیر قابل هضم (درصد) Indigestible Neutral detergent fiber (%/NDF)	24.54	23.88	23.30
عصاره اتری (درصد) Ether extract (%)	2.31	2.72	2.84
خاکستر (درصد) Ash (%)	5.42	5.67	5.56

¹ هر کیلوگرم از مکمل شامل 500000 واحد بین‌المللی ویتامین A، 100000 واحد بین‌المللی ویتامین D₃، 100 میلی‌گرم ویتامین E، 20 گرم فسفر، 50 گرم سدیم، 20 گرم منیزیم، 3 گرم آهن، 2 گرم منگنز، 3 گرم روی، 280 میلی‌گرم مس، 100 میلی‌گرم کبالت، 100 میلی‌گرم ید و 4 میلی‌گرم سلنیوم بود.

¹ Containing vitamin A (500000 IU), vitamin D₃ (100000 IU), vitamin E (100 mg), P (20 g), Na (50 g), Mg (20 g), Fe (3 g), Mn (2 g), Zn (3 g), Cu (280 mg), Co (100 mg), I (100 mg), Se (4 mg) per kilograms.

دریچه فیستوله شکمبه‌ای قبل از وعده خوراکدهی صبح همچنین 1/5، سه و شش ساعت بعد از مصرف خوراک جمع‌آوری شده و بلافاصله pH آن اندازه‌گیری شد. برای نگهداری مایع شکمبه تا زمان اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی به هر میلی‌لیتر آن 20 میکرولیتر اسید

نمونه‌گیری از مایع شکمبه و تعیین فراسنجه‌های آن از روز 15 تا 19 هر دوره حدود 50 میلی‌لیتر مایع شکمبه از طریق

نیتروژن آمونیاکی و pH شکمبه

بین جیره‌های آزمایشی از نظر pH شکمبه (جدول 3) در شرایط ناشتایی یا قبل از مصرف خوراک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که این نتیجه با گزارش‌های پیشین منطبق است (4، 25). با توجه به اینکه یک فاصله زمانی 12 ساعته بین مصرف خوراک و اندازه‌گیری pH وجود داشت اسیدهای چرب فرار حاصل از تخمیر خوراک در شکمبه جذب شده یا به قسمت‌های بعدی دستگاه گوارش وارد شده‌اند و با ادامه نشخوار توسط حیوان و ورود بزاق به شکمبه شرایط متعادلی در pH شکمبه به وجود می‌آید (7). در اندازه‌گیری 1/5 ساعت بعد از مصرف خوراک تغییرات pH شکمبه بین تیمارها از تفاوت معنی‌داری برخوردار بوده و کمترین pH شکمبه مربوط به تیمار شماره دو با شاخص همزمانی 0/78 بود. هر چند در 1/5 ساعت بعد از مصرف خوراک بین تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده شد اما بررسی روند خطی تیمارها تفاوت معنی‌داری را با افزایش شاخص همزمانی نشان نداد. در اندازه‌گیری‌های سه و شش ساعت بعد از مصرف خوراک نیز تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. شکمبه یک محیط با پایداری نسبی است (5) و این پایداری به جز در 1/5 ساعت بعد از مصرف خوراک که غلظت اسیدهای چرب فرار به واسطه عوامل هضم در اوج تولید است، سبب عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی شده است.

غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه (جدول 3) در وضعیت ناشتایی از الگوی مشابه pH شکمبه تبعیت می‌کند به طوری که تمایل به شرایط پایدار در شکمبه یک ثبات نسبی را به وجود آورده و سبب عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی در 1/5 و شش ساعت بعد از مصرف خوراک شده است. به نظر می‌رسد که بین 1/5 تا سه ساعت بعد از مصرف خوراک پایداری نسبی شکمبه به واسطه تولید اسیدهای چرب فرار و سایر فراورده‌های حاصل از هضم در محیط شکمبه و نگاری به هم خورده و نوع جیره نیز در این شرایط نقش ایفا می‌کند به طوری که در این پژوهش جیره‌ای که از شاخص همزمانی کمتری (0/64) برخوردار بود نسبت به جیره‌ی با همزمانی بالا (0/92) از غلظت نیتروژن آمونیاکی بیشتری نیز برخوردار بود که این نتیجه با گزارش‌های پیشین منطبق است (40). در بررسی جیره‌های با شاخص همزمانی مختلف از 0/61 تا 0/86 در بره‌ها مشخص شد که همزمانی ماده مغذی اثر معنی‌داری بر میانگین pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در ساعات مختلف، نداشت (25). نتایج مشابه دیگری در جیره‌های با شاخص‌های همزمانی مختلف از 0/39 تا 0/74 در گوساله‌های پرواری به دست آمد (4). معنی‌دار نبودن اثر تیمارهای آزمایشی بر pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در وضعیت ناشتا توسط پژوهشگران پیشین نیز گزارش شده بود (4، 25). در پژوهش‌های پیشین جیره‌های با شاخص همزمانی کم از نیتروژن آمونیاکی

سولفوریک 50 درصد اضافه شده و در 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (13). نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با اندکی تغییر در روش سوزا و همکاران (33) تعیین شد (40). غلظت اسیدهای چرب فرار با روش کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC) تعیین شد (41).

برآورد ساخت پروتئین میکروبی و تعادل نیتروژن

از روز 15 هر دوره به مدت پنج روز ادرار و مدفوع هر دام به طور جداگانه جمع‌آوری شد. در ظرف‌های جمع‌آوری ادرار 100 میلی‌لیتر اسید سولفوریک 10 درصد ریخته شده که به هنگام ثبت حجم روزانه ادرار دفعی این میزان حجم از آن کسر می‌شد. حدود 70 میلی‌لیتر از ادرار جمع‌آوری شده و در 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از یخ‌کشایی اسید اوریک ادرار با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون (شماره سفارش 1400031) اندازه‌گیری شد. گزانتین و هیپوگزانتین به همراه آلانتوئین ادرار به روش چن و گومس (3) اندازه‌گیری شد. پروتئین میکروبی ساخته شده از مجموع بازهای پورینی دفع شده محاسبه شد (3). تعادل نیتروژن از کسر مجموع نیتروژن دفعی از ادرار و مدفوع، از نیتروژن دریافتی از خوراک محاسبه شد.

خون‌گیری و تعیین فراسنجه‌های خونی

در روز 19 هر دوره قبل از خوراک‌دهی وعده صبح و سه ساعت بعد از مصرف خوراک از سیاهرگ گردن هر دام خون‌گیری انجام شد. غلظت گلوکز، آلبومین و نیتروژن اوره‌ای خون با دستگاه اتوآنالایزر (شرکت روچ، مدل کوباس، ساخت آلمان) و کیت‌های شرکت پارس آزمون تعیین شد.

تجزیه آماری داده‌ها

داده‌ها در قالب طرح مربع لاتین تکرار شده با رویه مدل خطی عمومی¹ به همراه مقایسه‌های متعامد چندجمله‌ای² با نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در این طرح از مدل آماری به شرح زیر استفاده شد.

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + R_j + C_k + T_j + E_{ijk} \quad (\text{رابطه 5})$$

در این مدل Y_{ijk} نشان‌دهنده‌ی هر مشاهده در آزمایش، μ : میانگین کل جمعیتی که از طریق نمونه‌ها با فرض صفر مورد بررسی قرار می‌گیرد، L_i : اثر مربع، R_j : اثر ردیف، C_k : اثر ستون، T_j : اثر تیمار و E_{ijk} : اثر اشتباه آزمایش است. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای 0/05 استفاده شد.

نتایج و بحث

1- General linear model (GLM)
2- Orthogonal polynomial

بیشتری در مایع شکمبه در ساعات‌های اولیه پس از مصرف خوراک نسبت به جیره‌های با شاخص همزمانی بالا برخوردار بودند که با نتایج

جدول 3- تأثیر سطوح مختلف شاخص همزمانی بر pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) مایع شکمبه در گوسفندان فیستوله‌گذاری شده.

Table 3- Effect of synchrony index levels on rumen pH and NH₃-N (mg dl⁻¹) concentration in fistulated sheep.

Items	شاخص همزمانی جیره‌ها Synchrony index of diets			SEM	P-Value	
	صفات مورد مطالعه	0.64	0.78		0.92	Model
pH						
pH-0 (قبل از خوراک‌دهی) (Before feeding)	6.61	6.51	6.46	0.07	0.1561	0.9117
pH-1.5 (1/5 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (1.5 hours after feeding)	6.00 ^{ab}	5.84 ^b	6.03 ^a	0.04	0.0384	0.6658
pH-3 (3 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (3 hours after feeding)	5.72	5.73	5.76	0.04	0.0583	0.1501
pH-6 (6 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (6 hours after feeding)	5.76	5.86	5.88	0.04	0.0532	0.3404
نیتروژن آمونیاکی NH ₃ -N						
NH ₃ -N -0 (قبل از خوراک‌دهی) (Before feeding)	12.15	12.43	9.91	1.01	0.5858	0.2372
NH ₃ -N -1.5 (1/5 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (1.5 hours after feeding)	24.63 ^a	20.72 ^b	16.07 ^c	0.99	0.0675	0.0075
NH ₃ -N -3 (3 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (3 hours after feeding)	21.00 ^a	18.54 ^a	11.65 ^b	1.26	0.1679	0.0227
NH ₃ -N -6 (6 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (6 hours after feeding)	14.03	12.74	10.05	1.25	0.3728	0.1452

¹ در هر سطر میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<0/05).

¹ Means in the same row with the different letters are significantly different (P<0.05).

افزایش یافت (P=0/0045). این نتیجه با گزارش کیوآ و همکاران (24) در بررسی جیره‌هایی با شاخص همزمانی 0/74، 0/85 و 0/97 روی گاوهای هولشتاین منطبق است. در بین اسیدهای چرب فرار فقط غلظت پروپیونات در بین جیره‌های آزمایشی (P=0/0234) و با روند افزایش خطی شاخص همزمانی افزایش معنی‌داری داشت (P=0/0049).

ریچاردسون و همکاران (25) در پروراندی بره‌های نر با 6 جیره شامل 68 تا 70 درصد کنسانتره در دو گروه بر پایه جو با شاخص همزمانی 0/63، 0/76 و 0/86 و بر پایه تفاله چغندر با شاخص همزمانی 0/61، 0/76 و 0/85 گزارش کردند که غلظت اسیدهای چرب فرار، میانگین pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه که در ساعات مختلف نمونه‌گیری شده بود، تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. نتایج مشابه دیگری نیز با جیره‌های دارای 55 درصد کاه برنج و کنسانتره‌ای بر پایه دانه ذرت با چهار شاخص همزمانی 0/39، 0/50، 0/62 و 0/74 با گاوهای فیستوله‌گذاری شده گزارش شد (4).

غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه

بین جیره‌های آزمایشی از نظر غلظت کل اسیدهای چرب فرار تولید شده در شکمبه (جدول 4) در شرایط ناشتایی یا قبل از مصرف خوراک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. این نتیجه با گزارش پژوهشگران پیشین مطابقت دارد (4، 25، 41). غلظت پروپیونات برخلاف استات و بوتیرات در جیره‌هایی که از شاخص همزمانی بالاتری (0/78 و 0/92) برخوردار بودند بیشتر بود. غلظت ایزوبوتیرات در جیره شماره دو با شاخص همزمانی 0/78 نسبت به دو جیره دیگر بالاتر بود (P=0/0147). هیچ کدام از اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه در وضعیت ناشتایی در سه جیره آزمایشی تفاوت معنی‌داری را با توجه به روند افزایش شاخص همزمانی به صورت خطی نشان ندادند. برخلاف وضعیت ناشتایی در سه ساعت بعد از مصرف خوراک تفاوت معنی‌داری در غلظت کل اسیدهای چرب فرار تولید شده در شکمبه (جدول 4) مشاهده شد (P=0/0401). غلظت کل اسیدهای چرب فرار با روند افزایش شاخص همزمانی نیز به طور معنی‌داری

جدول 4- تأثیر سطوح مختلف شاخص همزمانی بر غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه (میلی‌مول در لیتر) در گوسفندان فیستوله گذاری شده.
Table 4- Effect of synchrony index levels on rumen liquor volatile fatty acids (VFA) (mmol l⁻¹) concentration in fistulated sheep.

صفات مورد مطالعه Items	شاخص همزمانی جیره‌ها Synchrony index of diets				P-Value	
	0.64	0.78	0.92	SEM	Model	Linear
VFA-0 (قبل از خوراک‌دهی) (Before feeding)						
استات Acetate	23.05	22.71	28.01	1.59	0.6422	0.1224
پروپیونات Propionate	11.91 ^b	13.42 ^a	14.12 ^a	0.31	0.0092	0.0928
بوتیرات Butyrate	9.42	9.37	9.37	0.37	0.4210	0.7300
ایزوبوتیرات Iso butyrate	0.03 ^b	0.05 ^a	0.04 ^b	0.003	0.0147	0.9203
ایزووالرات Iso valerate	0.23	0.22	0.24	0.03	0.4167	0.4762
والرات Valerate	1.41	0.98	1.19	0.22	0.7364	0.3078
کل اسیدهای چرب فرار Total VFA	46.13	46.75	52.97	2.24	0.5210	0.1227
VFA-3 (3 ساعت بعد از خوراک‌دهی) (3 hours after feeding)						
استات Acetate	40.38	42.75	49.58	2.37	0.4108	0.1242
پروپیونات Propionate	17.25 ^b	17.69 ^b	21.08 ^a	0.51	0.0234	0.0049
بوتیرات Butyrate	7.27	6.45	10.16	1.40	0.6341	0.1638
ایزوبوتیرات Iso butyrate	0.04	0.03	0.03	0.06	0.6271	0.3019
ایزووالرات Iso valerate	0.36	0.45	0.34	0.07	0.2149	0.2723
والرات Valerate	2.54	1.74	1.64	0.29	0.4966	0.0798
کل اسیدهای چرب فرار Total VFA	67.84 ^b	69.11 ^b	82.83 ^a	1.60	0.0401	0.0045

¹ در هر سطر میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<0/05).

¹ Means in the same row with the different letters are significantly different (P<0.05).

واتی و همکاران (37) با جیره‌هایی شامل 70 درصد کنسانتره و شاخص همزمانی 0/37، 0/50 و 0/63 در پرورش بره‌های نر نیز افزایش پروپیونات و کاهش نسبت استات به پروپیونات را گزارش کردند. مقادیر به‌دست آمده برای نسبت استات، پروپیونات و بوتیرات در بین تیمارها مشابه با نسبت‌های ذکر شده در منابع مختلف (21) بود به طوری که دملو (7) یک نسبت رایج از این سه اسید چرب اصلی را به ترتیب 66، 20 و 14 درصد ذکر کرده است. اما مقادیر این

سینکلیور و همکاران (30) در پژوهشی از بررسی جیره‌هایی با شاخص همزمانی 0/58 و 0/93 دریافتند که هرچند جیره‌ها از نظر تولید اسیدهای چرب فرار تفاوت معنی‌داری نداشتند اما جیره‌ی با شاخص همزمانی بالا نوسان کمتری در تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه داشت. عدم تفاوت معنی‌دار در غلظت اسیدهای چرب فرار در جیره‌هایی شامل کاه گندم و 60 تا 65 درصد کنسانتره با شاخص همزمانی 0/55 تا 0/87 در پرورش بره میش‌ها نیز گزارش شد (38).

آلانتوئین، گزانتین، هیپوگزانتین و اسیداوریک همچنین کل مشتقات پورینی جذب شده (جدول 5) تفاوت معنی‌داری نداشتند. نیتروژن میکروبی یا پروتئین میکروبی ساخته شده در بین جیره‌های آزمایشی همچنین در بررسی روند خطی همگام با افزایش شاخص همزمانی تفاوت معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). این نتیجه با گزارش کیوآ و همکاران (24) در بررسی جیره‌هایی با شاخص همزمانی 0/74، 0/85 و 0/97 روی گاوهای هولشتاین که با افزایش شاخص همزمانی ساخت پروتئین میکروبی به صورت خطی افزایش یافته بود، در تقابل است. البته به نظر می‌رسد در جیره شماره سه که از بیشترین شاخص همزمانی (0/92) برخوردار است مقدار گزانتین و هیپوگزانتین نیز بیشتر است هر چند در مقایسه بین تیمارها این مقدار معنی‌دار نشده است اما در بررسی روند خطی تیمارها این مقدار تمایل به معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P=0/0589$). در پژوهش‌های پیشین انجام شده روی گاو نتایج موافق (9، 23) یا مخالف (27، 28) با نتایج این پژوهش در مورد ساخت پروتئین میکروبی گزارش شد. تنظیم جیره‌ها در این پژوهش به نحوی انجام شد که علاوه بر یکسان بودن (یا تفاوت ناچیز) ترکیب شیمیایی مانند پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و محتوی انرژی، نسبت علوفه به کنسانتره نیز برابر بود. همچنین، ساختار جیره‌ها از نظر اندازه ذرات علوفه و کنسانتره مشابه بود.

اسیدها و نسبت‌های آن‌ها بر اساس نوع جیره (نسبت کنسانتره به علوفه یا نوع منبع کربوهیدراتی) و مدت زمان بعد از مصرف خوراک متغیر است. افزایش نسبت الیاف از منبع علوفه‌ای در جیره می‌تواند نسبت استات را تا 74 درصد افزایش داده و افزایش نسبت مواد دانه‌ای یا جیره غنی از نشاسته می‌تواند نسبت پروبیونات را تا 40 درصد افزایش می‌دهد هرچند بوتیرات کمتر تحت تأثیر نوع جیره قرار می‌گیرد (21). در این جیره‌ها با توجه به این که نسبت علوفه به کنسانتره همچنین اندازه ذرات که از عوامل اصلی و تأثیرگذار در غلظت و نسبت اسیدهای چرب فرار هستند مشابه بود لذا عدم تفاوت معنی‌دار بین نسبت اسیدهای چرب فرار دور از انتظار نبود. این نتیجه با یافته‌های پیشین در گوسفندان نر فیستوله گذاری شده (11) و گوساله‌های پرواری تغذیه شده با جیره‌هایی با شاخص همزمانی 0/51، 0/77 و 0/95 (23) مطابقت داشت، اما با نتایج پژوهش‌های انجام شده در گوسفند‌های نر فیستوله گذاری شده که با جیره‌هایی با شاخص همزمانی 0/58 و 0/93 تغذیه شدند (30) و گوسفند‌های نر یکساله در قفس‌های متابولیک (با شاخص همزمانی 0/5 و 0/7) (12) در تقابل است.

بازهای پورینی و ساخت پروتئین میکروبی

جیره‌های آزمایشی از نظر مقدار دفع بازهای پورینی شامل

جدول 5- تأثیر سطوح مختلف شاخص همزمانی بر بازهای پورینی و ساخت پروتئین میکروبی در گوسفندان فیستوله گذاری شده.

Table 5- Effect of synchrony index levels on purine bases and microbial protein synthesis in fistulated sheep.

صفات مورد مطالعه Items	شاخص همزمانی جیره‌ها Synchrony index of diets			SEM	P-Value	
	0.64	0.78	0.92		Model	Linear
آلانتوئین (میلی مول در روز) Allantoin (mmol d ⁻¹)	5.25	4.91	5.25	0.22	0.1688	0.1302
گزانتین+هیپوگزانتین (میلی مول در روز) Xanthine + Hypoxanthine (mmol d ⁻¹)	0.72	0.72	1.20	1.58	0.1363	0.0589
اسید اوریک (میلی مول در روز) Uric acid (mmol d ⁻¹)	1.21	1.33	1.13	0.11	0.5894	0.4730
کل مشتقات پورینی دفع شده (میلی مول در روز) Total purine derivates excretion (mmol d ⁻¹)	7.12	7.01	7.34	0.14	0.3964	0.5938
کل مشتقات پورینی جذب شده (میلی مول در روز) Total purine derivates absorption (mmol d ⁻¹)	7.97	7.83	8.22	0.17	0.3964	0.5938
نیتروژن میکروبی تولید شده (گرم در روز) Microbial nitrogen produced (g d ⁻¹)	5.79	5.69	5.98	0.07	0.3964	0.5938
پروتئین میکروبی تولید شده (گرم در روز) Microbial protein produced (g d ⁻¹)	36.20	35.56	37.34	0.76	0.3964	0.5938

¹ در هر سطر میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P<0/05$).

¹ Means in the same row with the different letters are significantly different ($P<0.05$).

مغذی، پروتئین میکروبی ساخته شده به‌عنوان یک نتیجه کلیدی و

در اغلب پژوهش‌های پیشین مرتبط با موضوع همزمانی ماده

شماره یک با شاخص همزمانی 0/64 تغذیه کرده بودند بیشتر و در مقابل نیتروژن ابقاء شده و بازدهی ابقاء آن کمتر بود ($P=0/0019$). افزایش ابقاء نیتروژن با افزایش همزمانی در فراهمی انرژی و نیتروژن در شکمبه با استفاده از گوسفندهای فیستوله‌گذاری شده (8) و بره‌های در حال رشد (19) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در مقابل پژوهش‌های انجام شده در بره‌های در حال رشد (تغذیه شده با جیره‌هایی با شاخص همزمانی 0/55 تا 0/87) (39) و گاوهای شیری (16) نشان داد که فراهمی همزمان انرژی و نیتروژن اثر معنی‌داری در دفع نیتروژن از حیوان نداشت هرچند سبب بهبود ساخت پروتئین میکروبی شده است. گزارش‌های دیگری نیز مبنی بر عدم تأثیر همزمانی ماده مغذی بر ابقاء نیتروژن وجود دارد (12، 25، 39). وضعیت غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه (کاهش معنی‌دار همگام با افزایش شاخص همزمانی) (جدول 3) به همراه زیاد بودن ابقاء نیتروژن نشان‌دهنده بهبود بازدهی استفاده از نیتروژن همگام با افزایش همزمانی ماده مغذی است.

عوامل اصلی برای ساخت پروتئین میکروبی در شکمبه انرژی، اسکلت کربنی و منابع مناسب نیتروژنی (آمونیاک، اسیدآمینها و پپتیدها) هستند. در جیره‌های غنی از کسنانتره محدودیتی از نظر منابع انرژی و اسکلت کربنی برای رشد سلول باکتری‌های شکمبه به دلیل فراوانی کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم وجود ندارد و اغلب منابع نیتروژنی عامل اصلی محدودکننده رشد میکروبی هستند (9). در پژوهش حاضر مقدار پروتئین خام هر سه جیره برابر بوده اما قابلیت دسترسی همزمان و مقادیر متناسب آن با منابع انرژی (به طور عمده کربوهیدرات‌ها) با یکدیگر متفاوت بود. بنابراین با افزایش شاخص همزمانی در جیره‌ها دسترسی همزمان و متناسب عوامل اصلی دخیل در ساخت پروتئین میکروبی، سبب استفاده بیشتر از منابع نیتروژنی موجود در شکمبه و کاهش اتلاف ATP حاصل از تخمیر کربوهیدرات (از مسیر تبدیل گلوکز-6-فسفات به گلیکوژن که نیازمند مصرف یک ATP است و مسیر هدررفت انرژی¹) شده است (9). پژوهشگران پیشین گزارش کردند که جیره‌هایی که از شاخص همزمانی بالایی (0/93 در مقابل 0/58) برخوردار هستند، می‌توانند با در اختیارگیری بهتر نیتروژن کارایی استفاده از آن را در گوسفند افزایش دهند (30).

فراسنجه‌های خونی

نتایج مربوط به اندازه‌گیری گلوکز، آلبومین و نیتروژن اوره‌ای خون در شرایط قبل از مصرف خوراک تفاوت معنی‌داری بین جیره‌های آزمایشی نشان نداد. عدم معنی‌داری مقادیر فراسنجه‌های خونی اندازه‌گیری شده در سه ساعت بعد از مصرف خوراک نیز مشاهده شد.

مهم گزارش شده است (40). ساخت پروتئین میکروبی توسط عوامل حیوانی و جیره‌ای زیادی تحت تأثیر قرار می‌گیرد که شامل مقادیر نیتروژن، منابع نیتروژن، نرخ‌های تجزیه کربوهیدرات و نیتروژن، نوع و مقدار کربوهیدرات در جیره، ماده خشک مصرفی و همزمانی بین نیتروژن و انرژی است (14). ساخت پروتئین میکروبی در شکمبه به عوامل زیادی از جمله قابلیت دسترسی کربوهیدرات و نیتروژن در شکمبه، pH شکمبه، اثرات فیزیولوژیک، مقادیر و منابع ترکیبات نیتروژنی، و پایداری تخمیری شکمبه‌ای وابسته است (15). مقادیر زیاد کربوهیدرات قابل تخمیر سریع در شکمبه می‌تواند کارایی ساخت پروتئین میکروبی در شکمبه را کاهش دهد (17). هرچند همزمان سازی کربوهیدرات قابل تخمیر سریع با ترکیبات نیتروژنی غیرپروتئینی در بهبود بازدهی ساخت پروتئین میکروبی باید مورد توجه قرار گیرد (2). جیره تنها عامل تعیین کننده کمیت و کیفیت مواد مغذی فراهم شده برای جمعیت میکروبی شکمبه و حیوان نیست بلکه مخازن داخل بدن و شکمبه نیز فراهمی برخی مواد مغذی از جمله نیتروژن را تحت تأثیر قرار می‌دهند. ترکیبات نیتروژنی از مخازن بدنی به شکل اوره از راه بزاق و دیواره شکمبه به داخل شکمبه وارد شده و مورد استفاده قرار می‌گیرند همچنین می‌توانند از مخزن شکمبه‌ای و از متلاشی شدن میکروب‌های شکمبه حاصل شوند. میکروب‌های شکمبه در شرایط مختلف از نظر فراوانی یا نقصان منابع غذایی مورد نیازشان پاسخ‌های مناسبی (عادت‌پذیری) می‌توانند داشته باشند به طوری که در شرایط فراوانی، مواد مغذی مورد نیاز را به صورت درون سلولی ذخیره نموده و در مواقع کمبود از این ذخایر استفاده می‌کنند (12). همچنین، برخی مخازن داخل شکمبه‌ای کربوهیدرات از جمله ذخایر گلیکوژنی درون سلول میکروبی که به هنگام مازاد کربوهیدرات سهل‌الهضم در شکمبه افزایش و به هنگام نیاز باکتری‌ها به انرژی تجزیه شده و کاهش می‌یابد، می‌تواند نقش یک تعدیل‌کننده را داشته باشد (9). لذا برای رسیدن به موفقیت در برقراری همزمانی ماده مغذی در جیره باید کلیه جوانب مربوط به منابع جیره‌ای و غیر جیره-ای مواد مغذی در نظر گرفته شود (10). به نظر می‌رسد که مجموعه‌ای از عوامل جیره‌ای (شباهت در ترکیب شیمیایی و ساختار) و عوامل غیر جیره‌ای از جمله تلاش حیوان برای برقراری هموستازی (10) و اثر تعدیلی مخازن مواد مغذی بدن و شکمبه مانع بروز اثر شاخص همزمانی ماده مغذی در ساخت پروتئین میکروبی شده است.

تعادل و بازدهی نیتروژن

تراز نیتروژن همچنین ابقاء و بازدهی آن در گوسفندان تحت آزمایش در جدول شش نشان داده شده است. بررسی نیتروژن دفع شده از مدفوع و ادرار به طور جداگانه در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. کل نیتروژن دفع شده در گوسفندانی که از جیره

جدول 6- تأثیر سطوح مختلف شاخص همزمانی بر تعادل و ابقاء نیتروژن در گوسفندان فیستوله گذاری شده.

Table 6- Effect of synchrony index levels on nitrogen balance and reinstating in fistulated sheep.

صفات مورد مطالعه Items	شاخص همزمانی جیره‌ها Synchrony index of diets				P-Value	
	0.64	0.78	0.92	SEM	Model	Linear
نیتروژن مصرفی (گرم در روز) Nitrogen intake (g d ⁻¹)	17.26	17.26	17.26	-	-	-
نیتروژن دفع شده از مدفوع (گرم در روز) Nitrogen excretion from feces (g d ⁻¹)	3.55	2.96	3.25	0.16	0.2036	0.4112
نیتروژن دفع شده از ادرار (گرم در روز) Nitrogen excretion from urine (g d ⁻¹)	3.71	3.55	3.36	0.17	0.1216	0.3334
کل نیتروژن دفع شده (گرم در روز) ¹ Total nitrogen excretion (g d ⁻¹)	7.26 ^a	6.51 ^b	6.61 ^b	0.08	0.0019	0.0123
نیتروژن ابقاء شده (گرم در روز) Reinstated nitrogen (g d ⁻¹)	10.00 ^b	10.76 ^a	10.65 ^a	0.08	0.0019	0.0123
بازدهی ابقاء نیتروژن (درصد) Reinstated nitrogen efficiency (%)	57.94 ^b	62.30 ^a	61.69 ^a	0.14	0.0019	0.0123

¹ بدون احتساب ریزش پشم و لایه‌های جدا شده از پوست؛ ² در هر سطر میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<0/05).

¹ Wool loss and dandruff skin was considered negligible; ² Means in the same row with the different letters are significantly different (P<0.05).

جدول 7- تأثیر سطوح مختلف شاخص همزمانی بر فراسنج‌های خونی در گوسفندان فیستوله گذاری شده.

Table 7- Effect of synchrony index levels on blood parameters in fistulated sheep.

صفات مورد مطالعه Items	شاخص همزمانی جیره‌ها Synchrony index of diets				P-Value	
	0.64	0.78	0.92	SEM	Model	Linear
قبل از مصرف خوراک Before feeding						
گلوکز (میلی گرم در دسی‌لیتر) Glucose (mg dl ⁻¹)	63.50	62.92	66.50	0.89	0.0616	0.2472
آلبومین (گرم در لیتر) Albumin (g l ⁻¹)	3.80	3.55	3.87	0.27	0.5920	0.7221
نیتروژن اوره‌ای خون (میلی گرم در دسی‌لیتر) Blood urea nitrogen (mg dl ⁻¹)	16.10	15.18	15.76	1.37	0.6754	0.7508
3 ساعت بعد از مصرف خوراک 3 hours after feeding						
گلوکز (میلی گرم در دسی‌لیتر) Glucose (mg dl ⁻¹)	73.00	74.20	74.00	4.09	0.3982	0.9047
آلبومین (گرم در لیتر) Albumin (g l ⁻¹)	3.66	3.58	4.04	0.33	0.6071	0.2953
نیتروژن اوره‌ای خون (میلی گرم در دسی‌لیتر) Blood urea nitrogen (mg dl ⁻¹)	17.48	16.56	16.28	1.23	0.4194	0.5086

¹ در هر سطر میانگین‌های با حروف غیرمشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<0/05).

¹ Means in the same row with the different letters are significantly different (P<0.05).

فیستوله گذاری شده (شاخص همزمانی جیره‌ها 0/5 و 0/7) (12)،
بره‌های پرواری (شاخص همزمانی جیره‌ها 0/61، 0/76 و 0/85) (25)

طبق نتیجه به‌دست آمده در این پژوهش، پژوهشگران پیشین اثر
معنی‌داری را از همزمانی ماده مغذی روی اوره پلاسمای گوسفندان

نشان داد. هرچند انتظار دستیابی به شرایطی از قبیل افزایش معنی‌دار در ساخت پروتئین میکروبی و کاسته شدن از نیتروژن آورده‌ای خون دیده نشد اما بهبود شرایط تخمیر و افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار به ویژه پروپیونات در شکمبه نشان دهنده افزایش بازدهی تخمیر و شرایط مطلوب در شکمبه است. تلاش‌هایی در تغییر رابطه محاسبه شاخص همزمانی توسط پژوهشگران مختلف صورت گرفته است اما با توجه به دخالت عوامل مختلف در تخمیر شکمبه‌ای و پیچیدگی‌های حیوان میزبان، مخازن ماده مغذی در بدن و شرایط محیطی به نظر می‌رسد که برای محاسبه این شاخص رابطه پیچیده‌تری نیاز است. به طوری که علاوه بر افزایش دقت در برآورد نتایج تجزیه‌پذیری مواد مغذی در شکمبه سایر عوامل در محاسبه شاخص همزمانی از جمله نوع منبع الیافی (علوفه‌ای یا غیر علوفه‌ای)، اندازه ذرات، سطح تغذیه، مقادیر کافی و مناسب از مواد معدنی (از جمله گوگرد) و ویتامین‌ها نیز در محاسبه این شاخص دخالت داده شوند.

و تلیسه‌های در حال رشد (شاخص همزمانی جیره‌ها 0/73 و 0/83) (29) مشاهده نکردند. در مقابل گزارش‌هایی با استفاده از بره‌های پرواری (شاخص همزمانی جیره‌ها 0/59، 0/73 و 0/87) (40)، گاوهای شیری (شاخص همزمانی جیره‌ها 0/74، 0/85 و 0/97) (24) و گاوهای گوشتی (شاخص همزمانی جیره‌ها 0/39، 0/50، 0/62 و 0/74) مبنی بر موثر بودن جیره‌های غذایی با سطوح مختلف همزمانی ماده مغذی بر نیتروژن آورده‌ای خون وجود دارد (4) به طوری که با افزایش شاخص همزمانی ماده مغذی در جیره‌های استفاده شده غلظت نیتروژن آورده‌ای خون کاهش یافته است. افزایش نیتروژن آورده-ای خون به دنبال افزایش نیتروژن آمونیاکی شکمبه گزارش شده است (36).

نتیجه‌گیری کلی

این پژوهش نتایج مثبتی را از اثر به کارگیری شاخص همزمانی در تنظیم جیره‌های غذایی برای نشخوارکنندگان به ویژه گوسفندان

منابع

- 1- AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- 2- Chanjula, P., M. Wanapat, C. Wachirapakorn, and P. Rowlinson. 2004. Effect of synchronizing starch sources and protein (NPN) in the rumen on feed intake, rumen microbial fermentation, nutrient utilization and performance of lactating dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 17:1400-1410.
- 3- Chen X. B. and M. J. Gomes. 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 Institute, Bucksburn Aberdeen AB2 9SB, UK. 21p.
- 4- Chumpawadee, S., K. Sommart, T. Vongpralub, and V. Pattarajinda. 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 Sciences*, 19:181-188.
- 5- Czerwaski, J.W. 1986. An Introduction to Rumen Studies. Pergamon Press, Oxford, UK, 236p.
- 6- Dewhurst, R. J., D. R. Davies, and R. J. Merry. 2000. Microbial protein supply from the rumen. *Animal Feed Science Technology*, 85:1-21.
- 7- D'Mello, J. P. F. 2000. Farm Animal Metabolism and Nutrition. CABI Pub. 438p.
- 8- Elseed, F. A. M. A. 2005. Effect of supplemental protein feeding frequency on ruminal characteristics and microbial N production in sheep fed treated rice straw. *Small Ruminant Research*, 57:11-17.
- 9- Hall, M. B. 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.
- 10- Hall, M. B. and G. B. Huntington. 2008. Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. *Journal of Animal Science*, 86: E287-E292.
- 11- Henning, P. H., D. G. Steyn, and H. H. Meissner. 1993. Effect of synchronization of energy and nitrogen supply on ruminal characteristics and microbial growth. *Journal of Animal Science*, 71:2516-2528.
- 12- Ichinohe, T. and T. Fujihara. 2008. Adaptive changes in microbial synthesis and nitrogen balance with progressing dietary feeding periods in sheep fed diets differing in their ruminal degradation synchronicity between nitrogen and organic matter. *Animal Science Journal*, 79:322-331.
- 13- Kargar, S., G. R. Ghorbani, M. Alikhani, M. Khorvash, L. Rashidi, and D. J. Schingoethe. 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.
- 14- Karsli, M. A. and J. R. Russell. 2002. Effects of source and concentrations of nitrogen and carbohydrate on ruminal microbial protein synthesis. *Turkish Journal of Veterinary Science*, 26:201-207.
- 15- Khorasani, G. R., G. Deboer B. Robinson, and J. J. Kennelly. 1994. Influence of dietary protein and starch on

- production and metabolic responses of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 77:813-284.
- 16- Kim, K. H., J. J. Choung, and D. G. Chamberlian. 1999. Effects of varying the degree of synchrony of energy and nitrogen release in the rumen on the synthesis of microbial protein in lactating dairy cows consuming a diet of grass silage and a cereal-based concentrate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79:1441-1447.
 - 17- Kim, K. H., S. S. Lee, and K. J. Kim. 2005. Effect of in traruminal sucrose infusion on volatile fatty acid production and microbial protein synthesis in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 18:350-353.
 - 18- Malekjahani, F., M. Danesh Mesgaran, A. Vakili, M. Sadeghi, and P. Yu. 2017. A novel approach to determine synchronization index of lactating dairy cow diets with minimal sensitivity to random variations. *Animal Feed Science and Technology*, 225:143-156.
 - 19- Matras, J., S. J. Bartle, and R. L. Preston. 1991. Nitrogen utilization in growing lambs: Effects of grain (starch) and protein sources with various rates of ruminal degradation. *Journal of Animal Science*, 69:339-347.
 - 20- McDonald, I. 1981. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. *The Journal of Agricultural Science*, 96:251-252.
 - 21- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F D.Greenhalgh, C. A. Morgan, L. A. Sinclair and R. G. Wilkinson. 2010. *Animal Nutrition*. 7th Ed. Pearson Education Canada. 712 p.
 - 22- NRC. 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. Natl. Acad. Press, Washington DC.
 - 23- Piao, M. Y., H. J. Kim, J. K. Seo, T. S. Park, J. S. Yoon, K. H. Kim, and J. K. Ha. 2012. Effects of synchronization of carbohydrate and protein supply in total mixed ration with Korean rice wine residue on ruminal fermentation, nitrogen metabolism and microbial protein synthesis in Holstein steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25:1568-1574.
 - 24- Qiao, G. H., Z. G. Xiao, Y. Li, G. J. Li, L. C. Zhao, T. M. Xie, and D. W. Wang. 2018. Effect of diet synchrony on rumen fermentation, production performance, immunity status and endocrine in Chinese Holstein cows. *Animal Production Science*, 59:664-672.
 - 25- Richardson, J. M., R. G. Wilkinson, and L. A. Sinclair. 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.
 - 26- Sani, F. F., L. K. Nuswantara, E. Pangestu, F. Wahyono, and J. Achmadi. 2016. Synchronization of carbohydrate and protein supply in the sugarcane bagasse based ration on in situ nutrient degradability. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 41:28-36.
 - 27- Seo, J. K., J. Y. Yang, H. J. Kim, S. D. Upadhaya, W. M. Cho, and J. K. Ha. 2010. Effects of synchronization of carbohydrate and protein supply on ruminal fermentation, nitrogen metabolism and microbial protein synthesis in Holstein steers. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 23:1455-1461.
 - 28- Seo, J. K., M. H. Kim, J. Y. Yang, H.J. Kim, C. H. Lee, K. H. Kim, and J. K. Ha. 2013. Effects of synchronicity of carbohydrate and protein degradation on rumen fermentation characteristics and microbial protein synthesis. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 26:358-365.
 - 29- Sinclair, K. D., L. A. Sinclair, and J. J. Robinson. 2000. Nitrogen metabolism and fertility in cattle: I. Adaptive changes in intake and metabolism to diets differing in their rate of energy and nitrogen release in the rumen. *Journal of animal science*, 78:2659-2669.
 - 30- Sinclair, L. A., P. C. Garnsworthy, J. R. Newbold, and P. J. Buttery. 1993. Effect of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. *The Journal of Agricultural Science*, 120:251-263.
 - 31- Sinclair, L. A., P. C. Garnsworthy, J. R. Newbold, and P. J. Buttery. 1995. Effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release in diets with a similar carbohydrate composition on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. *The Journal of Agricultural Science*, 124:463-472.
 - 32- Sinclair, L. A., P. C. Garnsworthy, P. Beardsworth, P. Freeman, and P. J. Buttery. 1991. The use of cytosine as a marker to estimate microbial protein synthesis in the rumen. *Animal Production*, 52:592(Abstr).
 - 33- Souza, N. K. P., E. Detmann, S. C. Valadares Filho, V. A. C. Costa, D. S. Pina, D. I. Gomes, A. C. Queiroz, and H. C. Mantovani,. 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.
 - 34- Thonney, M. L. and D. E. Hogue. 2013. Fermentable fiber for diet formulation. P 174-189, In: *Proceedings 2013 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Doubletree hotel, East Syracuse, New York.
 - 35- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-3597.
 - 36- Vongsamphan, P. and M. Wanapat. 2004. Effect of levels of cassava hay (CH) supplementation in native beef cattle feed on rice straw. In: Chumpawadee, S., K. Sommart, T. Vongpralub and V. Pattarajinda. (Eds). *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 Sciences*, 19:181-188.

- 37- Wati, N. E., L. K. Nuswantara, F. Wahyono, E. Pangestu, and J. Achmadi. 2015. The effects of Synchronization of carbohydrate and protein supply in the sugarcane bagasse based ration on body composition of sheep. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 40:222-228.
- 38- Witt, M. W., L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson, and P. J. Buttery. 1999a. The effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen supply to the rumen on the production and metabolism of sheep: food characterization and growth and metabolism of ewe lambs given food ad libitum. *Animal Science*, 69:223-235.
- 39- Witt, M. W., L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson, and P. J. Buttery. 1999b. The effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen supply to the rumen on the metabolism and growth of ram lambs given food at a restricted level. *Animal Science*, 69:627-636.
- 40- Yalchi, T. A. Teimouri Yanesari, M. Rezaee, and Y. Chashnidel. 2016. Effect of Synchronizing Rate of Ruminant 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).
- 41- Yalchi, T. A. Teimouri Yanesari, M. Rezaee, and Y. Chashnidel. 2017. Enhancement of fattening efficiency and performance through nutrient synchrony in high concentrate-fed sheep. Ph.D. thesis. Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University. 170p. (In Persian).
- 42- Yang, J. Y., J. Seo, H. J. Kim, S. Seo, and J. K. Ha. 2010. Nutrient synchrony: Is it a suitable strategy to improve nitrogen utilization and animal performance. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23:972-979.



Effect of Nutrient Synchrony on Ruminal Fermentation, Microbial Protein Synthesis and Nitrogen Balance in Sheep

Taher Yalchi^{1*} - Jamal Seifdavati² - Reza Seyed Sharifi²

Received: 05-12-2018

Accepted: 18-03-2019

Introduction: The nutrient synchrony is synchronization of ruminal fermentation rate of energy and nitrogen which is a method to increasing microbial protein synthesis, improving nitrogen efficiency, decreasing urinary nitrogen excretion and improving animal performance. Microbial protein production is important for ruminants. Current concepts of ruminant nutrition focus on optimizing ruminal microbial protein synthesis. Microbial yield in rumen depends largely on the supply of carbohydrates and nitrogen in the rumen. Balancing the rate of supply of nitrogen and energy yielding substrates to rumen microbes has been proposed in order to maximize the capture of rumen degradable protein and to optimize microbial growth rate and its efficiency. A more efficient capture of rumen degradable protein would reduce the requirement for expensive undegradable protein sources and also reduce the excretion of urinary nitrogen which case to environmental pollution and economical losses. Synchronization index expressed as the ratio between the hourly degradability of nitrogen with organic matter or carbohydrates in the rumen where the highest value for the synchrony index is 1.0. This research was done to evaluate the effect of synchronizing the rate of carbohydrate and crude protein ruminal fermentation on ruminal fermentation products, microbial protein synthesis, and nitrogen balance and blood parameters in sheep which were fed with similar components or structure high concentrate diets.

Materials and methods: Chemical compositions and degradability parameters of crude protein and carbohydrate for alfalfa hay, wheat straw, barley grain, corn grain, sugar beet pulp, wheat bran and soybean meal were determined. Three diets were formulated for feedlot male lambs with same energy and metabolizable protein but containing different synchrony index 0.64, 0.78 and 0.92 which calculated by using degradation parameters of carbohydrate and crude protein of feeds from the diet. The effects of synchrony index of diets by 6 rumen-fistulated sheep with an average weight of 30.17 ± 1.17 kg in metabolic cages were assigned in a duplicate 3×3 Latin square design (2×3 animals; 3 periods). Samplings were done in 3 periods (each period containing 14 days for adaptation and 5 days for sampling). Rumen fluid was collected for 5 consecutive days in the end of each period and ruminal fermentation parameters containing pH, $\text{NH}_3\text{-N}$ and volatile fatty acids were determined. Urine of sheep was collected end of each period for 5 days and microbial protein synthesis was estimated by measuring purine bases also nitrogen balance was calculated from the values of nitrogen consumption and excretion. Bleeding (19th trial day) were done from sheep and blood parameters such as glucose, albumin and blood urea nitrogen were determined.

Results and discussion: There was no significant difference in ruminal pH among diets during fasting conditions or before feeding. Also there was no significant difference in ruminal pH between treatments at 3 or 6 hours after feed intake. With increasing synchrony index, ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentrate reduced especially at 1.5 and 3 hours after feed intake. Total volatile fatty acids highest at 3 hours after feed intake for diet had highest synchrony index. With increasing synchrony index, total volatile fatty acids concentration increased almost by 20 percent. Also the propionate concentrates increased not only before feeding but also at 3 hours after feeding. Total volatile fatty acids and propionate concentration showed a linear trend between diets at 3 hours after feeding. Purine bases such as allantoin, uric acid, xanthine and hypoxanthine, total purine derivatives excreted or absorbed also microbial protein synthesis not affected by experimental diets. With increasing synchrony index, total excreted nitrogen reduced but nitrogen retained and its efficiency increased. Blood parameters such as glucose, albumin and blood urea nitrogen not affected by treatments.

Conclusion: with increasing synchrony index of the diets, microbial protein synthesis did not increase but total volatile fatty acids concentration and retained nitrogen increased whereas ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration and total excreted nitrogen decreased. However, increasing nutrient synchrony index in high concentrated diets did

1-Assistant professor, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh ardabili.

2-Associate professor, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh ardabili

(* Corresponding author: taheryalchi@uma.ac.ir)

DOI:10.22067/ijasr.v12i1.76961

not show the expected desirable results such as increasing microbial protein synthesis however did not also show undesirable results such as animal health. Due to the beneficial effects as increasing in fermentation and decreasing nitrogen excretion or environmental pollution using the high synchrony index diets can be useful for feed formulation or providing the perfect mix of feed items to meet nutritional requirements of sheep.

Keywords: Blood urea nitrogen, Microbial protein, Nitrogen retained, Ruminant fermentation, and Synchrony index.