نشریه علوم دامی

شماره ۱۵۰، بهـار ۱۴۰۵

ص‌ص: ۱۳~۲۸

اثرات جایگزینی سطوح مختلف بیورت به جای اوره بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های تخمیری، فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه و سنتز پروتئین میکروبی بره‌های نر پرواری

• **سمیرا نظری**[۱]، **ایوب عزیزی** (نویسنده مسئول)[۲]، **علی کیانی**[۳]، **مریم اثنی‌عشری**[۴]

۱- دانشجوی دکتری تغذیهٔ دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

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

۳- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

۴- استادیار، گروه فرآوری تولیدات دامی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

تاریخ دریافت : بهمن ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش : اردیبهشت ۱۴۰۴

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۰۶۳۵۸۵۰۴

Email: azizi.ay@lu.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI):10.22092/ASJ.2025.368414.2455

چکیده

پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات جایگزینی سطوح مختلف بیورت به جای اوره بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های تخمیری شکمبه، فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک میکروبی و سنتز پروتئین میکروبی شکمبه بره‌های نر پرواری نژاد افشاری انجام شد. تعداد ۲۸ رأس بره با میانگین سن ۱۵±۱۳۵ روز و میانگین وزن زندهٔ ۳/۴۹±۳۴ کیلوگرم در ٤ تیمار و ۷ تکرار در هر تیمار در قالب طرح کاملاً تصادفی برای استفاده از چهار نوع جیره شامل جایگزینی سطوح صفر (شاهد)، ۳٤، ٦۷ و ۱۰۰ درصد مادهٔ خشک بیورت به جای اوره در یک دورهٔ پرواز ۷۰ روزه مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که با افزایش سطح بیورت در جیره، افزایش وزن کل دوره، میانگین افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی به طور خطی در مقایسه با تیمار شاهد بهبود یافت (P<۰/۰۵). اما، میانگین وزن نهایی و مصرف مادهٔ خشک تحت تأثیر تیمار قرار نگرفت (P>۰/۰۵). با افزایش سطح بیورت در جیره، غلظت نیتروژن آمونیاکی و فعالیت پروتئازی شکمبه به طور خطی کاهش یافت (P<۰/۰۵)، هرچند pH شکمبه تحت تأثیر نوع جیرهٔ غذایی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). غلظت استات شکمبه و فعالیت آنزیم میکروکریستالین سلولاز با افزایش سطح بیورت در جیره به صورت خطی افزایش یافت (P<۰/۰۵). همچنین، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز و آلفا آمیلاز بین تیمارهای آزمایشی مشابه بود (P>۰/۰۵). غلظت آلانتوئین دفعی ادرار، کل مشتقات پورینی دفعی ادرار، کل مشتقات پورینی جذب شده و سنتز پروتئین میکروبی با افزایش سطح بیورت در جیره به طور خطی افزایش یافت (P<۰/۰۵). غلظت اسید اوریک و گزانتین+هیپوگزانتین تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). به طور کلی، جایگزینی بیورت به جای اوره تا سطح ۱۰۰ درصد در تغذیهٔ بره‌های پرواری سبب بهبود عملکرد رشد، فراسنجه‌های تخمیر و سنتز پروتئین میکروبی شکمبه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: برهٔ پرواری، بیورت، پروتئین میکروبی، تخمیر شکمبه، فعالیت آنزیمی.

Copyright: © 2025 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by **Research Journal of Livestock Science** (https://asj.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited

Research Journal of Livestock Science No 150 pp: 13-28

Effects of substituting different levels of urea with biuret on growth performance, fermentation parameters, rumen microbial enzyme activity and microbial protein synthesis in fattening lambs

By: Nazari[1], S., Azizi[1*], A., Kiani[1], A., Asnaashari, M.[2]
1- Animal Science Group, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran.
2- Department of Animal Processing, Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
[*] Corresponding author :Email: azizi.ay@lu.ac.ir; azizi.msc.modares@gmail.com

Received: February 2025 **Accepted: May 2025**

The present study was conducted to investigate the effects of substituting different levels of urea with biuret on growth performance, rumen fermentation parameters, microbial hydrolytic enzyme activity, and rumen microbial protein synthesis in Afshari fattening male lambs. Twenty-eight lambs with average age of 135±15 days and average live weight of 34±3.49 kg were used with 4 treatments and 7 replications in a completely randomized design. Four experimental diets were used, including substitution of 0 (control), 34, 67 and 100% levels of biuret instead of urea on dty matter (DM) basis during a 70-day fattening period. Results showed that with increasing the level of biuret in the diet, total weight gain, average daily weight gain and feed conversion ratio significantly improved linearly compared to the control treatment (P<0.05). But, the average final weight and DM and organic matter intake were not affected by the experimental diets (P>0.05). With increasing dietary biuret level, rumen ammonia-N concentration and rumen protease activity decreased linearly (P<0.05), although rumen pH was not affected by diet type (P>0.05). Ruminal acetate concentration and microcrystalline cellulase enzyme activity increased linearly with increasing dietary biuret level compared to the urea-containing treatment (P<0.05). Moreover, total volatile fatty acid concentration, carboxymethyl cellulase enzyme activity and α-amylase were similar between experimental treatments (P>0.05). The urinary allantoin concentration, total urinary purine derivatives excreted, total absorbed purine derivatives and microbial protein synthesis increased linearly with increasing biuret levels in the diet (P<0.05). The concentration of uric acid and xanthine+hypoxanthine were not affected by the experimental diets (P>0.05). Overall, replacing biuret with urea up to 100% in fattening lambs diet improved growth performance, fermentation parameters, and rumen microbial protein synthesis.

Key words: Fattening lamb, Biuret, Microbial protein, Rumen fermentation, Enzyme activity.

مقدمه

پروتئین یکی از مواد مغذی گران قیمت در تغذیهٔ نشخوارکنندگان است (Mapato و همکاران، ۲۰۱۰) که منبع اصلی اسیدهای آمینه و نیتروژن برای تولید پروتئین میکروبی در شکمبه است (Hashem و Tayeb، ۲۰۲۴). امروزه منابع پروتئینی گیاهی (مانند کنجالهٔ سویا، کنجالهٔ کلزا و غیره) و حیوانی (مانند پودر گوشت و فرآورده‌های دریایی) و نیتروژن غیر پروتئینی برای تأمین پروتئین مورد نیاز نشخوارکنندگان استفاده می‌شود (NRC، ۲۰۰۷). با این حال، کمبود منابع پروتئینی یک مشکل جهانی بوده و زیاد بودن قیمت جهانی کنجالهٔ سویا به عنوان یک منبع مهم پروتئینی استاندارد، باعث افزایش هزینه‌های تولید می‌شود (Jiang و همکاران، ۲۰۲۳). بنابراین، یافتن منابع جایگزین کنجالهٔ سویا امری ضروری به نظر می‌رسد. استفاده از منابع پروتئینی جایگزین

کنجالهٔ سویا مانند منابع نیتروژن غیر پروتئینی به دلیل کاهش هزینه‌های خوراک باعث بهبود بهره‌وری تولید در گاوهای شیری شده است (Jiang و همکاران، ۲۰۲۳). منابع نیتروژن غیر پروتئینی ترکیباتی هستند که پروتئین نبوده، اما حاوی نیتروژن در ساختار خود هستند و شامل اوره، نمک‌های آمونیوم، نیترات‌ها، آلکالوئیدها، آسپاراژین، پورین، کولین، اسید اوریک، آمین‌ها، آمیدها، اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک می‌باشند (Zurak و همکاران، ۲۰۲۳). در ایران ظرفیت نسبتاً زیادی جهت تولید اوره و امکان ساخت ترکیبات نیتروژن‌دار آهسته‌رهش از آن وجود دارد. این در حالی است که متأسفانه استفاده از منابع نیتروژن غیر پروتئینی در تغذیهٔ دام به شایستگی مورد توجه قرار نگرفته است و نوع آهسته‌رهش این ترکیبات عمدتاً از خارج کشور تأمین می‌شود (ورەزردی و همکاران، ۱۴۰۲). اوره به دلیل هزینهٔ کمتر به عنوان یک منبع نیتروژن غیر پروتئینی کاربردی در نظر گرفته می‌شود (Colmenero و Broderick، ۲۰۰۶) و دارای ۴۶ درصد نیتروژن است که معادل ۲۸۷/۵ درصد پروتئین خام می‌باشد. با این وجود، تجزیهٔ سریع منابع نیتروژن غیر پروتئینی در شکمبه و آزادسازی زیاد آمونیاک، باعث افزایش مقدار نیتروژن دفع شده در ادرار و کاهش عملکرد دام خواهد شد. این امر منجر به استفاده از ترکیبات اورهٔ آهسته‌رهش شده است (Huntington و همکاران، ۲۰۰۶). یکی از منابع اوره آهسته‌رهش که کمتر مورد توجه قرار گرفته است بیورت است. بیورت (کاربامیل اوره، آلفانامیدها) با فرمول شیمیایی $NH_2CONHCONH_2$ از ترکیب دو مولکول اوره در دمای زیاد طی فرآیند Bosh-Meiser شکل می‌گیرد (Robinson و همکاران، ۲۰۱۸) و به عنوان یک منبع نیتروژن غیر پروتئینی آهسته‌رهش در تغذیهٔ نشخوارکنندگان قابل استفاده است (ورەزردی و همکاران، ۱۴۰۲). بیورت در مقایسه با اوره با سرعت کندتری توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه تجزیه می‌شود و به عنوان یک منبع نیتروژن غیر پروتئینی برای افزایش وزن دام مؤثرتر است (Robinson و همکاران، ۲۰۱۸). بیورت حاوی حدود ۴۱ درصد نیتروژن (۲۵۶ درصد پروتئین خام) است. خوشخوراکی و پذیرش بهتر توسط دام‌ها از دیگر مزایای تغذیهٔ بیورت نسبت به اوره است (Kondos و Mutch، ۱۹۷۵). در پژوهش انجام شده توسط ورەزردی و همکاران (۱۴۰۲) گزارش گردید که بره‌های تغذیه شده با جیره مکمل شده با بیورت (۱/۱۵ درصد مادهٔ خشک جیره) افزایش وزن روزانه بیشتر و ضریب تبدیل بهتری نسبت به گروه تغذیه شده با اوره (۱ درصد مادهٔ خشک جیره) داشتند. تاکنون مطالعات اندکی راجع به تعیین سطح مناسب بیورت و نیز مقایسهٔ بازدهی استفاده از نیتروژن بیورت در مقایسه با اوره در تغذیهٔ نشخوارکنندگان صورت گرفته است. لذا، هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثرات جایگزینی سطوح مختلف بیورت به جای اوره بر عملکرد رشد، مصرف خوراک، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه، فعالیت آنزیم‌های میکروبی و سنتز پروتئین میکروبی شکمبه در بره‌های پرواری نژاد افشاری بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات، تیمارهای آزمایشی و مدیریت پرورش

آزمایش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۷ بره (تکرار) در هر تیمار (جمعاً ۲۸ برهٔ نر نژاد افشاری) در بهار سال ۱۴۰۳ در ایستگاه دامپروری دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه لرستان انجام شد. میانگین سن بره‌ها ۱۵±۱۳۵ روز و میانگین وزن زندهٔ آن‌ها بعد از دورهٔ عادت‌پذیری ۳/۴۹±۳۴ کیلوگرم بود. بره‌ها طی دورهٔ آزمایش در جایگاه‌های انفرادی با ابعاد ۱۵۰×۱۰۰×۱۰۰ سانتی‌متر (طول، عرض و ارتفاع) پرورش داده شدند. دو هفته قبل از شروع آزمایش بره‌ها علیه بیماری آنتروتوکسمی واکسینه شدند و یک میلی‌لیتر شربت ضد انگل کلوزانتل ۵ درصد[1] به ازای هر کیلوگرم وزن زنده و مقدار یک میلی‌لیتر شربت ضد انگل نیکلوزومايد ۲۰ درصد[2] به ازای هر ۴ کیلوگرم وزن بدن به بره‌ها خورانده شد. بره‌ها به مدت ۸۴ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند که ۱۴ روز اول به عنوان دورهٔ عادت‌پذیری و ۷۰ روز به عنوان دورهٔ اصلی آزمایش در نظر گرفته شد. جیره‌ها به صورت کاملاً مخلوط (TMR) و در دو نوبت در ساعت‌های ۰۸:۰۰ و ۱۶:۰۰ در اختیار بره‌ها قرار گرفت. اقلام خوراکی و ترکیب

۱- شرکت داروسازی رویان دارو، تهران، ایران

۲-(شرکت داروسازی رویان دارو، تهران، ایران)

شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است. هر روز قبل از خوراکدهی نوبت صبح، پسماند خوراک هر بره از آخور جمع‌آوری و سپس خوراک تازه در آخور قرار می‌گرفت. همهٔ بره‌ها همواره به آب تمیز دسترسی داشتند. جیره‌های آزمایشی که بر اساس جداول احتیاجات غذایی نشخوارکنندگان کوچک (NRC، ۲۰۰۷) تنظیم شده بودند، به ترتیب شامل سطوح صفر (تیمار شاهد)، ۳۴، ۶۷ و ۱۰۰ درصد بیورت به جای اوره بودند.

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف بیورت به جای اوره

اقلام خوراکی (درصد مادهٔ خشک)	جیره‌های آزمایشی[1]			
	صفر	۳۴	۶۷	۱۰۰
کاه گندم	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
جو بلغور شده	۳۲	۳۲	۳۲	۳۲
ذرت آسیاب شده	۳۲	۳۲	۳۲	۳۲
کنجاله سویا	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰
سبوس گندم	۷/۵۵	۷/۵۰	۷/۴۵	۷/۳۹
مکمل معدنی-ویتامینی[2]	۴/۲۵	۴/۲۵	۴/۲۵	۴/۲۵
اوره	۱/۲۰	۰/۸۰	۰/۴۰	–
بیورت	–	۰/۵۴	۱/۰۸	۱/۶۱
ترکیب شیمیایی				
مادهٔ خشک	۹۰	۹۰	۹۰	۹۰
مادهٔ آلی	۹۳/۳	۹۳/۳۱	۹۳/۳	۹۳/۳
پروتیئن خام	۱۴/۴	۱۴/۴	۱۴/۴	۱۴/۴
پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه	۳۷/۵	۳۷/۴	۳۷/۴	۳۷/۴
الیاف نامحلول در شویندهٔ خنثی	۲۸/۹	۲۸/۸	۲۸/۸	۲۸/۷
الیاف نامحلول در شویندهٔ اسیدی	۱۹/۲	۱۹/۱	۱۹/۱	۱۹/۰
چربی خام	۲/۶۱	۲/۶۰	۲/۶۰	۲/۲۹
کلسیم	۰/۷۴	۰/۷۳	۰/۷۳	۰/۷۳
فسفر	۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۳۷
نیتروژن	۲/۳۰	۲/۳۰	۲/۳۰	۲/۳۰
گوگرد	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳
نسبت نیتروژن به گوگرد	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
انرژی قابل متابولیسم (Mcal/kg DM)	۲/۶۷	۲/۶۶	۲/۶۶	۲/۶۶

۱- جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح صفر، ۳۴، ۶۷ و ۱۰۰ درصد بیورت به جای اوره بر حسب مادهٔ خشک جیره بودند؛ ۲- هر کیلوگرم مکمل معدنی-ویتامینی حاوی: ۲۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۲۵۰ میلی‌گرم منگنز، ۲۵۰۰ میلی‌گرم روی، ۳۷۵ میلی‌گرم مس، ۲۵ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۴۰۰۰۰ میلی‌گرم کلسیم، ۲۵۰۰ میلی‌گرم فسفر، ۲۰ میلی‌گرم کبالت، ۲۵ میلی‌گرم ید، ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم منیزیم، ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم سدیم به صورت نمک، ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم سدیم به صورت بیکربنات سدیم و ۱۰۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان می‌باشد.

در این مطالعه فرآیند تولید بیورت از اوره در دمای ۱۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد و به مدت ۳ ساعت و بدون استفاده از کاتالیزور انجام شد (Ryul Park و همکاران، ۲۰۰۹).

تعیین غلظت آمونیاک به روش آزمون تولید گاز

به منظور بررسی اثر جیره‌های آزمایشی بر غلظت آمونیاک شکمبه در شرایط برون‌تنی، شیرابهٔ شکمبه از دو رأس گوسفند که به مدت دو هفته با جیرهٔ آزمایشی حاوی ۸۵ درصد کنسانتره و ۱۵ درصد علوفه عادت‌دهی شده بودند، قبل از خوراک‌دهی نوبت صبح توسط لولهٔ مری جمع‌آوری گردید. شیرابهٔ به دست آمده بلافاصله توسط چهار لایه پارچهٔ متقال صاف گردید و در دمای ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد به آزمایشگاه انتقال داده شد. همچنین برای تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه، ۲۵۰ میلی‌گرم از هر نمونهٔ خوراک آسیاب شده و با اندازه ذرات ۱ میلی‌متر (Wiley mill, Swedesboro, NJ, USA) داخل بطری‌های شیشه‌ای قرار داده شد (۷ بطری به ازای هر تیمار به علاوه ۳ بطری بلانک، جمعاً ۳۱ بطری آزمایشی). سپس هر بطری با ۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه و ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی تلقیح گردید (Marten و Barnes، ۱۹۸۰). در تمام مراحل گاز دی اکسید کربن جهت بی‌هوازی کردن محیط کشت استفاده شد. سپس درب بطری‌ها بسته شده و در بن‌ماری با دمای ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شدند. نمونه‌گیری از محیط کشت در فواصل زمانی یک ساعته و تا ده ساعت پس از انکوباسیون صورت گرفت. جهت تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی، یک میلی‌لیتر محیط کشت از محتوای هر بطری برداشت شد و با یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال کاملاً مخلوط گردید. نمونه‌ها سریعاً به فریزر با دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شدند. غلظت نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها بر اساس روش فنل-هیپوکلرایت تعیین شد (Broderick و Kang، ۱۹۸۰).

عملکرد رشد

در پایان دورهٔ پروار، وزن‌کشی بره‌ها پس از ۱۶ ساعت گرسنگی انجام شد. از اختلاف وزن نهایی و وزن شروع پروار، کل افزایش وزن هر بره طی دورهٔ پروار تعیین شد. میانگین افزایش وزن روزانهٔ هر دام در دورهٔ پروار با تقسیم کردن کل افزایش وزن (بر حسب کیلوگرم) به تعداد روز دوره (۷۰ روز) تعیین شد. ضریب تبدیل غذایی هر دام از تقسیم کردن کل خوراک مصرفی بر اساس مادهٔ خشک (کیلوگرم) به کل افزایش وزن (کیلوگرم) طی دوره آزمایشی به دست آمد.

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

جهت تعیین فراسنجه‌های تخمیر شکمبه شامل pH، غلظت نیتروژن آمونیاکی، اسیدهای چرب فرار و تعیین فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه، در روز ۴۵ آزمایش و ۳ ساعت پس از خوراکدهی نوبت صبح، مایع شکمبه توسط لولهٔ مری از تمامی دام‌ها برداشت شد. میزان ۱۰ تا ۲۰ میلی‌لیتر اولیه جهت کاهش اثرات منفی بزاق بر pH دور ریخته شد. pH مایع شکمبه بلافاصله توسط دستگاه pHمتر سیار[۳] اندازه‌گیری شد. سپس، محتویات شکمبه از ۴ لایه پارچهٔ متقال عبور داده شد و به ازای هر ۱/۲ میلی‌لیتر مایع شکمبه ۰/۳ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۲۵ درصد به آن اضافه شد. نمونه‌ها جهت تجزیهٔ اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (Hewlett-Packard, model 5890, Avondale, PA, USA) در فریزر با دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. از اسید ۲-اتیل بوتیریک به عنوان استاندارد داخلی دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شد. نمونه‌های مایع شکمبه ابتدا در دمای اتاق یخ‌گشایی شدند و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور g×۱۵۰۰۰ در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس، بخش مایع شفاف رویی (Supernatant) به داخل ویال‌های مخصوص کروماتوگرافی جهت تزریق به دستگاه انتقال داده شد. به منظور تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه، ابتدا مقدار یک میلی‌لیتر مایع شکمبه با یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال کاملاً مخلوط شد. غلظت نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها بر اساس روش فنل-هیپوکلرایت تعیین شد (Broderick و Kang، ۱۹۸۰).

[۳]- مدل ۷۴۴، شرکت Metrohm سوئیس

تخمین فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک میکروبی شکمبه

فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه موجود در هر سه بخش مایع شکمبه شامل بخش خارج سلولی، بخش داخل سلولی و بخش جامد محتویات شکمبه بر اساس روش Agarwal (۲۰۰۰) تخمین زده شد. برای این منظور، نمونه‌های مایع شکمبه به مدت ۲۰ دقیقه و با g×۵۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و بقایای پلت جمع‌آوری گردید. سپس پلت حاصله با تراکلرید کربن و آنزیم لیزوزیم (سیگما آلدریچ، CAS Number 12650-88-3) فرآیند شدند و مخلوط آنزیم‌های مایع شکمبه در بافر فسفات در سانتریفیوژ با دور g×۲۷۰۰۰ در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه بدست آمد. برای تخمین فعالیت کربوکسی متیل سلولاز در هر بخش سلولی، مخلوط واکنش شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۵ میلی‌لیتر شیرابهٔ شکمبه و ۰/۵ میلی‌لیتر کربوکسی متیل سلولز ۱ درصد (سیگما آلدریچ CAS Number 9004-32-4) بود که در دمای ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت انکوبه گردید. مخلوط واکنش برای آنزیم میکروکریستالین سلولاز که شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۱ میلی‌لیتر شیرابهٔ شکمبه و ۱ میلی‌لیتر میکروکریستالین سلولز ۱ درصد (به عنوان سوبسترا) بود در دمای ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت مورد انکوباسیون قرار گرفت. به منظور محاسبهٔ فعالیت کاغذ صافی، مخلوط واکنش شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۱ میلی‌لیتر شیرابهٔ شکمبه و ۰/۵ گرم کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (به عنوان سوبسترا)، در دمای ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت انکوبه گردید. به منظور محاسبه فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز، مخلوط واکنش شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، نیم میلی‌لیتر شیرابهٔ شکمبه و نیم میلی لیتر محلول نشاسته یک درصد بود که در دمای ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید. در همهٔ آزمون‌های مذکور، واکنش با افزودن ۳ میلی‌لیتر محلول اسید دی‌نیترو سالیسیلیک متوقف گردید. گلوکز آزاد شده در اثر فعالیت هر یک از آنزیم‌های مورد آزمون بر اساس روش Miller (۱۹۵۹) تخمین زده شد. فعالیت‌های آنزیمی بر اساس این فرض که یک واحد آنزیمی توانایی تولید ۱ میکرومول گلوکز در هر دقیقه در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه را تحت شرایط مخلوط واکنش دارد، محاسبه گردید. برای تعیین فعالیت پروتئازی شکمبه در هر بخش سلولی، مخلوط واکنش شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۲۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف شده و ۰/۲۵ میلی‌لیتر کازئین (۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بود که در دمای ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت انکوبه گردید. سپس، مخلوط واکنش با افزودن تری‌کلرو استیک اسید (۲۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) متوقف شد و پروتئین بر اساس روش مربوطه تعیین شد (Lowry و همکاران، ۱۹۵۱).

سنتز پروتئین میکروبی شکمبه

به منظور بررسی اثر جیره‌های آزمایشی بر سنتز پروتئین میکروبی شکمبه، در روز ۴۸ آزمایش از هر تیمار ۴ بره وارد قفس‌های متابولیکی شد و کل ادرار روزانهٔ آن‌ها به مدت ۵ روز در ظرف‌های پلاستیکی ۱۰ لیتری جمع‌آوری و توزین شد. سپس، نمونهٔ نهایی ۵۰ میلی‌لیتری از مخلوط ادرار ۵ روزه هر دام به فریزر منتقل شد. تخمین سنتز پروتئین میکروبی شکمبه بر اساس تعیین کل مشتقات پورینی دفع شده در ادرار شامل مجموع آلانتوئین، اسید اوریک و گزانتین+هیپوگزانتین صورت گرفت (Chen و Gomez، ۱۹۹۵). سپس بر اساس معادلات مربوطه، کل مشتقات پورینی جذب شده تعیین شد و در نهایت پروتئین میکروبی سنتز شده تخمین زده شد.

تجزیهٔ شیمیایی نمونه‌ها

میزان مادهٔ خشک نمونه‌های جیره و پسماند خوراک در آون با دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد و به مدت ۴۸ ساعت تعیین شد (AOAC، ۲۰۰۵). میزان خاکستر خام نمونه‌های خوراک در کورهٔ الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد و به مدت ۷ ساعت تعیین شد. میزان مادهٔ آلی نمونه‌ها از اختلاف بین وزن مادهٔ خشک نمونهٔ اولیه و وزن خاکستر خام محاسبه شد (AOAC، ۲۰۰۵). میزان پروتئین خام نمونه‌ها توسط دستگاه کلدال اندازه‌گیری شد

(AOAC، ۲۰۰۵). میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) نمونه‌های خوراک و مدفوع و پسماند خوراک به ترتیب بر اساس روش‌های (AOAC، ۲۰۰۵) و Van Soest و همکاران (۱۹۹۱) محاسبه شد.

تجزیه آماری

داده‌ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS (۲۰۰۵) آنالیز آماری شد.

$$Y_{ij} = T_i + b_1 (X_{ij} - \bar{\ }) + e_{ij}$$

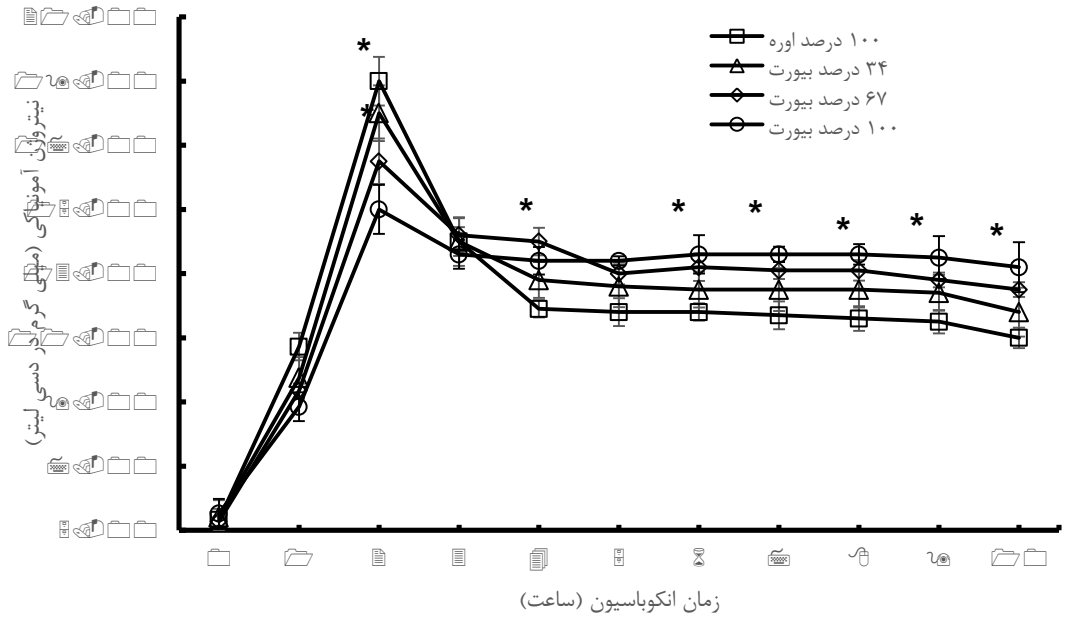
که در آن Y_{ij} صفت مورد نظر، μ میانگین کل، Ti اثر تیمار آزمایشی، b ضریب رگرسیون، X_{ij} وزن اولیه با میانگین $\bar{X}$ و e_{ij} خطای آزمایش می‌باشد.

میانگین صفات در تیمارهای مختلف توسط آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. برای بررسی اثرات خطی و غیر خطی بیورت در جیره بر صفات مختلف از مقایسات ارتوگونال (متعامد) استفاده شد.

نتایج و بحث

غلظت نیتروژن آمونیاکی در شرایط برون‌تنی

اثر انکوباسیون جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف بیورت به جای اوره بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) در ۱۰ ساعت اول انکوباسیون برون‌تنی در شکل ۱ ارائه شده‌است. بیشترین میزان غلظت نیتروژن آمونیاکی مشاهده شده در دو ساعت پس از انکوباسیون، مربوط به جیرهٔ شاهد و کمترین آن مربوط به تیمار حاوی بیشترین میزان بیورت بود ($P<0/05$). پس از گذشت ۴ ساعت از شروع انکوباسیون، غلظت نیتروژن آمونیاکی جیرهٔ شاهد از جیره‌های حاوی بیورت کمتر بود ($P<0/05$). این نتایج نشان می‌دهد که بیورت در مقایسه با اوره به صورت تدریجی تجزیه شده است. مطابق با این نتایج، در پژوهشی گزارش شد که اورهٔ آهسته‌رهش سرعت آزادسازی آمونیاک در شکمبه را در مقایسه با اورهٔ معمولی کاهش می‌دهد (Salami و همکاران، ۲۰۲۰).



شکل ۱- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف بیورت به جای اوره بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) در زمان‌های مختلف انکوباسیون در شرایط برون‌تنی (*: میانگین تیمارها در هر زمان دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند)

در تحقیقی دیگر مشخص شد که غلظت آمونیاک محیط کشت با انکوباسیون پلیمر اورهٔ آهسته‌رهش و گروه کنجالهٔ سویا پس از ۸ ساعت در مقایسه با تیمار حاوی اوره کاهش یافت (Xin و همکاران، ۲۰۱۰)، که نشان می‌دهد جیره‌های حاوی اورهٔ آهسته‌رهش برای مدت طولانی‌تری دسترسی نیتروژن را برای استفاده میکروارگانیسم‌های شکمبه در طول فرآیند تخمیر فراهم کرده‌اند.

مصرف خوراک و عملکرد رشد

اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف بیورت به جای اوره بر عملکرد رشد و مصرف خوراک در جدول ۲ ارائه شده‌است. با افزایش سطح بیورت در جیره عملکرد بره‌ها شامل کل افزایش وزن، میانگین افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی به طور خطی بهبود یافت ($P<۰/۰۵$). میانگین وزن نهایی و مصرف مادهٔ خشک و مادهٔ آلی تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$). عملکرد رشد و مصرف خوراک در نشخوارکنندگان تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله خوشخوراکی جیره، محتوای مواد ضد تغذیه‌ای خوراک‌ها، سن، وضعیت توسعهٔ شکمبه، کیفیت جیره، نسبت علوفه به کنسانتره، اتساع شکمبه، دورهٔ سازگاری حیوان به جیره، دفعات تغذیه‌ای روزانه، محتوای پروتئین خام جیره و سلامت دام قرار می‌گیرد. در مطالعهٔ حاضر با این که مصرف خوراک در جیره‌های آزمایشی مشابه بود، اما با افزایش سطح بیورت در جیره عملکرد رشد دام بهبود پیدا کرد که دلیل آن احتمالاً بازدهی و ابقاء بهتر نیتروژن بیورت در مقایسه با اوره بوده است. رهاسازی کندتر آمونیاک از بیورت به عنوان یک منبع نیتروژن غیر پروتئینی در مقایسه با اوره احتمالاً سبب شده که بیورت به طور کارآمدتری توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه مورد استفاده قرار گیرد (Kondos و Mutch، ۱۹۷۵). نکتهٔ دیگری که باید مد نظر قرار گیرد این است که با اینکه بیورت خوشخوراکی مطلوب‌تری نسبت به اوره دارد، اما این امر نتوانست اثر قابل توجهی بر مصرف مادهٔ خشک و مادهٔ آلی بگذارد. دربارهٔ اثر منابع نیتروژن غیر پروتئینی مختلف روی عملکرد نشخوارکنندگان مطالعات زیادی صورت گرفته‌است، اما تحقیقات راجع به اثرات بیورت به عنوان یک منبع نیتروژن غیر پروتئینی اندک می‌باشد. مطابق با نتایج تحقیق حاضر، در آزمایشی استفاده از بیورت در تغذیهٔ گوسالهٔ گوشتی سبب بهبود هضم و تخمیر و افزایش سنتز پروتئین میکروبی شکمبه در مقایسه با تیمار شاهد یا تیمار حاوی اوره گردید (Currier وهمکاران، ۲۰۰۴). مطالعات دیگری نیز نشان داده‌اند که کاربرد اورهٔ آهسته‌رهش در تغذیهٔ نشخوارکنندگان بدون تأثیر بر مصرف خوراک، منجر به بهبود ضریب تبدیل غذایی شده است (Khan و همکاران، ۲۰۱۵). همچنین، نتایج یک متاآنالیز نشان داد که جایگزین کردن جزئی اورهٔ آهسته‌رهش (۰/۸۸ درصد مادهٔ خشک) به جای منابع پروتئین گیاهی جیره بهبود افزایش وزن و بازده خوراک در گاوهای در حال رشد را به دنبال داشت (Salami و همکاران، ۲۰۲۰). برخلاف نتایج آزمایش حاضر، گزارش گردید که وزن نهایی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در بره‌های تغذیه شده با جیرهٔ مکمل شده با اورهٔ آهسته‌رهش در مقایسه با اوره تفاوت قابل توجهی نداشت (Saro و همکاران، ۲۰۲۳). در مطالعهٔ دیگری توسط Khan و همکاران (۲۰۱۵)، اثر جیره‌های آزمایشی حاوی یک درصد اوره یا اپتیژن (اورهٔ آهسته‌رهش) بر مصرف خوراک و عملکرد رشد گاومیش‌های نیلی-راوی بررسی شد و مشخص شد که حداکثر مصرف خوراک و افزایش وزن با تغذیهٔ تیمار حاوی اوره در مقایسه با اورهٔ آهسته‌رهش مشاهده شد که بر خلاف تحقیق حاضر است.

جدول ۲- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف بیورت به جای اوره بر عملکرد رشد و مصرف خوراک در بره‌های پرواری

صفت	سطح بیورت به جای اوره در جیره (درصد مادهٔ خشک)				SEM	سطح	نوع رابطه	
	صفر	۳۴	۶۷	۱۰۰		معنی‌داری	خطی	غیر خطی
وزن اولیه (کیلوگرم)	۳۴/۵	۳۴/۵	۳۴/۳	/۰	۱/۳۹	۰/۶۵	۰/۷۹	۰/۸۹
وزن نهایی (کیلوگرم)	۴۹/۰۱	۴۹/۵	۵۰/۵	۵۱/۸	۱/۱۵	۰/۱۷	۰/۱۲	۰/۷۸
کل افزایش وزن (کیلوگرم)	۱۴/۵^{b}	۱۵/۰^{ab}	۱۶/۲	۱۷/۸^{a}	۰/۹۵۵	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۵۸
افزایش وزن روزانه (گرم)	۲۰۷^{b}	۲۱۴^{b}	۲۳۱^{ab}	۲۵۴^{a}	۱۱/۷	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۶۰
ضریب تبدیل غذایی	۷/۸۰^{a}	۷/۶۲^{ab}	۷/۲۰	۶/۶۴	۰/۴۳۳	۰/۰۴	۰/۰۲	۰/۵۲
مادهٔ خشک مصرفی روزانه (گرم)	۱۶۱۴	۱۶۳۰	۱۶۶۳	۱۶۸۶	۳۰/۵	۰/۱۴	۰/۱۲	۰/۹۱
مادهٔ آلی مصرفی روزانه (گرم)	۱۵۰۶	۱۵۲۱	۱۵۵۱	۱۵۷۳	۲۸/۲	۰/۱۵	۰/۱۲	۰/۹۳

میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهندهٔ اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

در پژوهش دیگری با بررسی اثر منابع متفاوت نیتروژن غیر پروتئینی (اوره، پلیمر اورهٔ آهسته‌رهش و اورهٔ ژلاتینه شده) بر عملکرد گوساله‌های آنگوس، عملکرد رشد و ضریب تبدیل غذایی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (Fan و همکاران، ۲۰۲۴). در آزمایش دیگری نیز مکمل کردن جیرهٔ گاوها با ۰/۶ درصد پلیمر اورهٔ پوشش‌دار شده سبب افزایش ۱۲/۸ درصدی مصرف مادهٔ خشک در مقایسه با گروه تغذیه شده با اوره گردید (Xin و همکاران، ۲۰۱۰). وجود اختلاف در نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر با سایر تحقیقات احتمالاً به خاطر تفاوت در نوع اورهٔ آهسته‌رهش یا نوع منبع نیتروژن غیر پروتئینی استفاده شده، نژاد، ترکیب جیره، نوع دام، نوع منبع علوفه‌ای، سطح کنسانترهٔ جیره و یا وضعیت فیزیولوژیکی دام‌ها باشد.

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف بیورت بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه در جدول ۳ ارائه شده‌است. با افزایش سطح بیورت در جیره غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه به طور خطی کاهش یافت ($P<0/05$)، هرچند pH شکمبه تحت تأثیر نوع جیرهٔ غذایی قرار نگرفت ($P>0/05$). بیشترین میزان استات شکمبه در جیرهٔ حاوی ۱۰۰ درصد بیورت و کمترین میزان آن در تیمار شاهد به دست آمد ($P<0/05$). با افزایش سطح بیورت در جیره، غلظت استات شکمبه به طور خطی افزایش یافت ($P<0/05$)، هرچند غلظت سایر اسیدهای چرب فرار شامل پروپیونات، بوتیرات، والرات، ایزووالرات، نسبت استات به پروپیونات و غلظت کل اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر شکمبه تحت تأثیر نوع جیره قرار نگرفت ($P>0/05$).

جدول ۳- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف بیورت به جای اوره بر پارامترهای تخمیر شکمبه بره‌های پرواری

صفت	سطح بیورت به جای اوره در جیره (درصد مادهٔ خشک)				SEM	سطح	نوع رابطه	
	صفر	۳۴	۶۷	۱۰۰		معنی‌داری	خطی	غیر خطی
pH	۶/۵۲	۶/۴۸	۶/۴۳	۶/۲۸	۰/۰۸۸	۰/۱۱	۰/۰۹	۰/۴۵
نیتروژن آمونیاکی (mg/dl)	۱۸/۶^{a}	۱۷/۹^{a}	۱۷/۴^{ab}	۱۶/۴^{b}	۰/۴۰۴	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۶۹
کل اسیدهای چرب فرار (mmol/l)	۱۱۸	۱۲۱	۱۲۲	۱۲۴	۲/۳۶	۰/۲۳	۰/۱۹	۰/۶۳
استات (mmol/l)	۷۸/۴^{b}	۸۰/۷^{ab}	۸۱/۹^{a}	۸۳/۵^{a}	۰/۹۰۹	۰/۰۴	۰/۰۲	۰/۸۰
پروپیونات (mmol/l)	۱۹/۱	۱۹/۴	۱۹/۵	۱۹/۶	۰/۶۰۵	۰/۴۵	۰/۵۵	۰/۸۷
بوتیرات (mmol/l)	۱۵/۱	۱۵/۷	/۹	۱۵/۸	۰/۶۱۷	۰/۵۱	۰/۴۵	۰/۶۲
والرات (mmol/l)	۱/۵۸	۱/۶۳	۱/۵۶	۱/۶۱	۰/۰۶۴	۰/۶۶	۰/۶۷	۰/۷۶
ایزووالرات (mmol/l)	۱/۰۱	۰/۹۸۲	۱/۰۴	۱/۰۶	۰/۰۳۶	۰/۳۲	۰/۲۶	۰/۴۷
استات به پروپیونات	۴/۱۰	۴/۱۷	۴/۲۱	۴/۲۷	۰/۱۱۶	۰/۳۵	۰/۳۱	۰/۹۱

میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهندهٔ اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

مطابق با نتایج تحقیق حاضر، در مطالعهٔ دیگر pH مایع شکمبه بزها تحت تأثیر جیره‌های حاوی ترکیبات مختلف اوره قرار نگرفت (Cherdthong و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه بر این، در پژوهشی با تغذیهٔ اورهٔ آهسته‌رهش به جای کنجالهٔ سویا در جیرهٔ گاوهای شیری، pH شکمبه مشابهی گزارش شد (Jiang و همکاران، ۲۰۲۳). Fan و همکاران (۲۰۲۴) نیز اخیراً دریافتند که با تغذیهٔ منابع مختلف اورهٔ آهسته‌رهش در جیرهٔ گوساله‌های نژاد آنگوس تفاوت قابل توجهی در pH شکمبه حاصل نشد. در این مطالعه با افزایش سطح بیورت در جیره غلظت نیتروژن آمونیاکی کاهش قابل توجهی پیدا کرد که این امر مطابق با نتایج آزمایش برون‌تنی (شکل ۱) بود و نشان دهندهٔ اثرات مثبت و مطلوب بیورت در مقایسه با اوره از نظر نرخ و میزان تجزیه‌پذیری شکمبه‌است. ممکن است تغذیهٔ بیورت در مقایسه با اوره سبب همزمانی مطلوب‌تر بین آزادسازی انرژی سهل الهضم از مواد آلی و آمونیاک در شکمبه شده، و لذا تخمیر شکمبه به سمت افزایش سنتز پروتئین میکروبی و کاهش غلظت آمونیاک شکمبه‌ای پیش رفته‌است (Xin و همکاران، ۲۰۱۰؛ Ahmed و همکاران، ۲۰۱۷). غلظت آمونیاک در شکمبه انعکاسی از تجزیهٔ منابع نیتروژن جیره‌ای به وسیلهٔ میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌باشد. افزایش غلظت آمونیاک در مایع شکمبه احتمالاً نشان دهندهٔ وجود منابع پروتئین جیره‌ای کافی برای تجزیه در شکمبه بوده که میکروارگانیسم‌ها نمی‌توانند به طور بهینه از آن استفاده نمایند و ممکن است بخشی از آن هدر رود (Fan و همکاران، ۲۰۲۴). کاهش غلظت آمونیاک شکمبه با مکمل کردن جیرهٔ غذایی نشخوارکنندگان با اورهٔ آهسته‌رهش در مقایسه با اوره در پژوهش‌های دیگری نیز گزارش شده است (Cherdthong و همکاران، ۲۰۱۱). همچنین، نتایج آزمایشی نشان داد که غلظت آمونیاک مایع شکمبهٔ دام‌های تغذیه شده با اوره بیشتر از دام‌های تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی حاوی منابع مختلف اورهٔ آهسته‌رهش شامل ایزوبوتیرآلدئید منو اوره و اپتیژن بود (طالبیان‌مسعودی و همکاران، ۱۳۹۵). هرچند، مغایر با نتایج تحقیق حاضر، در پژوهشی تغذیهٔ منابع مختلف اورهٔ آهسته‌رهش در جیرهٔ گوساله‌های نژاد آنگوس اثری روی غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه نداشت (Fan و همکاران، ۲۰۲۴). کاهش غلظت آمونیاک مایع شکمبه منعکس کنندهٔ استفاده بهینه از آن برای سنتز پروتئین میکروبی است (Chamberlain و همکاران، ۱۹۹۳). کاهش غلظت آمونیاک مایع شکمبه با تغذیهٔ بیورت در مقایسه با اوره ممکن است به دلیل کاهش فعالیت پروتئازی شکمبه باشد (عزیزی و همکاران، ۱۳۹۸) که در همهٔ بخش‌های مایع شکمبه (بخش خارج سلولی، بخش داخل سلولی و بخش جامد) اتفاق افتاده است. در بحث غلظت اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر شکمبه، دلیل افزایش نسبت مولی استات با مکمل کردن جیره با سطوح مختلف بیورت در مقایسه با اوره، احتمالاً به خاطر دسترسی میکروارگانیسم‌های شکمبه و به خصوص باکتری‌های سلولولایتیک به آمونیاک در مدت زمان طولانی‌تر باشد. زیرا مشخص شده است که باکتری‌های تجزیه کنندهٔ فیبر فقط از آمونیاک به عنوان تنها منبع نیتروژن برای رشد خود استفاده می‌کنند و نمی‌توانند با دیگر منابع نیتروژن رشد قابل توجهی داشته باشند (Tadele و Amha، ۲۰۱۵). در تحقیق حاضر، غلظت کمتر آمونیاک در شکمبه با تغذیهٔ جیره‌های مکمل شده با بیورت ممکن است نشان دهندهٔ مصرف بیشتر آمونیاک توسط میکروارگانیسم‌های سلولولایتیک شکمبه‌ای و تولید بیشتر استات باشد. احتمالاً همزمانی مطلوب بین آزادسازی نیتروژن بیورت و تخمیر کربوهیدرات‌ها سبب متعادل شدن دسترسی میکروارگانیسم‌ها به مواد مغذی، افزایش جمعیت میکروبی و به تبع آن افزایش فعالیت میکروبی شده و هضم بیشتر فیبر و تولید استات بیشتر را به دنبال داشته است. در آزمایشی گزارش شد که با جایگزینی بخشی از کنجالهٔ سویای جیرهٔ گوساله‌ها با منابع مختلف اورهٔ آهسته‌رهش شامل پلیمر اورهٔ آهسته‌رهش و اوره–نشاستهٔ ژلاتینه شده، غلظت استات شکمبه افزایش یافت (Fan و همکاران، ۲۰۲۴)، که مطابق با نتایج پژوهش حاضر است.

فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک میکروبی شکمبه

اثر جیره‌های آزمایشی بر فعالیت آنزیم هیدرولیتک میکروبی در بخش‌های مختلف شیرابهٔ شکمبه در جدول ۴ ارائه شده‌است. در همهٔ بخش‌های مورد بررسی یعنی بخش خارج سلولی، داخل سلولی، بخش جامد و کل فعالیت، بیشترین و کمترین میزان فعالیت میکروکریستالین سلولاز به ترتیب در جیرهٔ حاوی ۱۰۰ درصد بیورت و تیمار شاهد به دست آمد ($P<0/05$). فعالیت آنزیم میکروکریستالین سلولاز در همهٔ بخش‌های مورد بررسی با افزایش سطح بیورت در جیره به صورت خطی افزایش یافت ($P<0/05$).

هرچند، بین تیمارها تفاوتی در فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز و آلفا آمیلاز در همه بخش‌های مورد بررسی مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بیشترین میزان فعالیت تجزیهٔ کاغذ صافی در بخش جامد و کل فعالیت مربوط به تیمار حاوی بیشترین میزان بیورت و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). فعالیت تجزیهٔ کاغذ صافی در بخش جامد و کل فعالیت آن با افزایش سطح بیورت در جیره به طور خطی افزایش یافت (P<۰/۰۵). در همهٔ بخش‌های آنزیمی مورد بررسی، بیشترین میزان فعالیت پروتئازی شکمبه مربوط به تیمار شاهد و کمترین آن در تیمار حاوی ۱۰۰ درصد بیورت به دست آمد (P<۰/۰۵). با افزایش سطح بیورت در جیره فعالیت آنزیم پروتئازی شکمبه در همه بخش‌های مورد بررسی به طور خطی در مقایسه با تیمار مکمل شده با اوره کاهش یافت (P<۰/۰۵).

جدول ٤- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف بیورت به جای اوره بر فعالیت آنزیم‌های میکروبی در بخش‌های مختلف شکمبهٔ (بر حسب U/ml/min یا واحد ذکر شده) بره‌های پرواری

صفت	سطح بیورت به جای اوره در جیره (درصد مادهٔ خشک)				SEM	سطح	نوع رابطه	
	صفر	۳۴	۶۷	۱۰۰		معنی‌داری	خطی	غیر خطی
کربوکسی متیل سلولاز								
بخش خارج سلولی	۹۲/۶	/۳	/۱	۹۵/۱	۱/۷۹	۰/۳۲	۰/۲۷	۰/۷۳
بخش داخل سلولی	۱۲۱	۱۲۴	۱۲۵	۱۲۶	۲/۹۲	۰/۲۳	۰/۱۹	۰/۸۰
بخش جامد	۲۶۶	۲۶۹	۲۷۶	۲۷۹	۵/۸۵	۰/۱۵	۰/۱۲	۰/۹۸
فعالیت کل	۴۷۹	۴۸۵	۴۹۴	۴۹۹	۶/۵۸	۰/۱۷	۰/۱۳	۰/۸۷
میکروکریستالین سلولاز								
بخش خارج سلولی	۲۱/۱^{b}	۲۳/۴^{ab}	۲۵/۶^{ab}	۲۶/۹	۱/۴۰	۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۷۲
بخش داخل سلولی	۶۴/۵^{b}	۶۶/۱^{ab}	۶۷/۶	۷۲/۵	۲/۲۳	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۵۶
بخش جامد	۱۲۰^{b}	۱۲۴^{ab}	۱۲۶^{a}	۱۳۰^{a}	۱/۹۵	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۷۸
فعالیت کل	۲۰۵^{c}				۳/۱۴	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۷۶
فعالیت تجزیهٔ کاغذ صافی								
بخش خارج سلولی	۱۵/۴	۱۶/۵	۱۶/۹	۱۹/۹	۱/۶۱	۰/۱۱	۰/۰۷	۰/۵۴
بخش داخل سلولی	۴۵/۶	/۱	۵۰/۱	۵۴/۳	۳/۱۱	۰/۱۰	۰/۰۷	۰/۵۲
بخش جامد	۹۸/۶^{b}				۳/۵۰	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۸۷
فعالیت کل	۱۶۱^{b}	۱۶۵^{b}	۱۷۳^{ab}	۱۸۵^{a}	۵/۴۶	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۴۹
آلفا آمیلاز								
بخش خارج سلولی	۱۳۱	۱۲۹	۱۲۴	۱۲۸	۵/۱۹	۰/۶۶	۰/۵۱	۰/۵۴
بخش داخل سلولی	۲۵۲	۲۵۷	۲۶۲	۲۶۶	۱۲/۱	۰/۴۹	۰/۴۲	۰/۷۸
بخش جامد	۴۵۲	۴۶۸	۴۶۵	۴۸۶	۱۲/۷	۰/۱۴	۰/۱۰	۰/۸۳
فعالیت کل	۸۳۵	۸۵۴	۸۵۰	۸۸۰	۱۷/۷	۰/۱۷	۰/۱۳	۰/۷۵
پروتئاز (**µg/h/min**)								
بخش خارج سلولی	۹۱/۹^{a}	۹۰/۹^{a}	۸۵/۷^{ab}	۸۰/۴	۲/۶۷	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۴۴
بخش داخل سلولی	۱۸۷^{a}	۱۷۸^{ab}	۱۷۳^{ab}	۱۶۱^{b}	۷/۲۵	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۸۲
بخش جامد	۳۰۱^{a}	۲۹۳^{ab}	۲۸۰b^{c}	۲۶۷^{c}	۶/۲۳	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۶۵
فعالیت کل	۵۸۰^{a}	۵۶۲^{a}	۵۳۸^{ab}	۵۰۷^{b}	۱۲/۱	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۵۹

میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهندهٔ اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

در مطالعهٔ حاضر، بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیمی در آنزیم‌های مورد بررسی به ترتیب در بخش جامد و بخش خارج سلولی مشاهده گردید که با نتایج ارائه شده توسط Agarwal و همکاران (۲۰۰۴) مطابقت دارد. وجود اختلاف در فعالیت آنزیم میکروکریستالین سلولاز و فعالیت تجزیهٔ کاغذ صافی با تغذیهٔ جیره‌های آزمایشی ممکن است به دلیل تغییرات ایجاد شده در جمعیت میکروارگانیسم‌های شکمبه به دلیل نوع منبع نیتروژن غیر پروتئینی مصرفی و سپس تغییر پروفیل آنزیمی باشد (Kamra و همکاران، ۲۰۱۰). دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های شاخص تجزیه کنندهٔ فیبر با مکمل کردن جیره با بیورت نسبت به اوره احتمالاً به دلیل تجزیهٔ آهستهٔ بیورت باشد که با آزاد سازی کندتر آمونیاک، باکتری‌های سلولایتیک فرصت کافی برای استفاده از آن و رشد میکروبی را داشته‌اند. تولید بیشتر استات (جدول ۳) با تغذیهٔ بیورت این یافته‌ها را تأیید می‌کند. مطابق با این نتایج، در پژوهشی با انکوباسیون جیره‌های آزمایشی حاوی منابع مختلف نیتروژن غیر پروتئینی شامل اوره، اورهٔ آهسته‌رهش و اپتیژن، بیشترین میزان فعالیت تجزیهٔ کاغذ صافی به عنوان شاخصی از تجزیهٔ فیبر در جیرهٔ حاوی اورهٔ آهسته‌رهش و کمترین میزان آن در جیرهٔ حاوی اوره مشاهده گردید (عزیزی و همکاران، ۱۳۹۸). عدم تفاوت بین جیره‌های آزمایشی از نظر فعالیت آلفا آمیلاز شکمبه‌ای، احتمالاً به دلیل محتوای غلات مشابه جیره‌های تغذیه شده (جدول ۱) به عنوان سوبسترای رشد باشد. فعالیت پروتئازی شکمبه به عنوان شاخص تجزیهٔ شکمبه‌ای پروتئین است. تجزیهٔ بیش از حد پروتئین جیره یک فرآیند ناکارآمد است، زیرا باعث تجزیهٔ اسیدهای آمینه به آمونیاک و سایر محصولات نیتروژنه در شکمبه می‌شود. گزارش شده است که حدود ۷۰ درصد پروتئین جیره‌ای توسط فعالیت مخلوط پروتئازها و پپتیدازهای میکروبی شکمبه تجزیه می‌شود (Selinger و همکاران، ۱۹۹۶). در تحقیق حاضر اثرات مثبت مکمل کردن جیره با بیورت در مقایسه با اوره بر فعالیت پروتئازی شکمبه مشاهده شد. نتایج غلظت آمونیاک شکمبه در شرایط برون‌تنی (شکل ۱) و دام زنده (جدول ۳) این یافته‌ها را تأیید می‌کند. مطابق با این نتایج، در پژوهشی ورهزردی و همکاران (۱۴۰۲) با بررسی اوره و بیورت در تغذیهٔ برهٔ پرواری نشان دادند که فعالیت پروتئازی شکمبه با تغذیهٔ جیرهٔ حاوی بیورت در مقایسه با اوره به طور قابل توجهی کاهش یافت. کاهش فعالیت پروتئازی شکمبه با مکمل کردن جیره با بیورت احتمالاً به دلیل تولید پیوسته آمونیاک در شکمبه بوده است و این امر ممکن است نیاز به تجزیهٔ پپتیدها و اسیدهای آمینه را توسط میکروارگانیسم کاهش داده باشد.

سنتز پروتئین میکروبی

اثر جیره‌های آزمایشی حاوی منابع مختلف نیتروژن غیر پروتئینی بر غلظت مشتقات پورینی ادرار و سنتز پروتئین میکروبی شکمبه در جدول ۵ نشان داده شده‌است. از مشتقات پورینی دفع شده در ادرار، غلظت آلانتوئین به عنوان مهمترین جزء مشتقات پورینی دفعی، مجموع کل مشتقات پورینی دفعی ادرار و کل مشتقات پورینی جذب شده با افزایش سطح بیورت در جیره به طور خطی افزایش یافت ($P<0/05$). هرچند، غلظت اسید اوریک و گزانتین+هیپوگزانتین تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ($P>0/05$). میزان گرم نیتروژن میکروبی و پروتئین میکروبی تولید شده روزانه با افزایش سطح بیورت در جیره به طور خطی در مقایسه با تیمار اوره افزایش یافت ($P<0/05$)، هرچند میزان تولید پروتئین میکروبی به ازای کیلوگرم مادهٔ خشک و مادهٔ آلی بین جیره‌های آزمایشی تفاوتی نداشت ($P>0/05$). مفهوم مشتقات پورینی ادرار به عنوان یک شاخص از وجود نیتروژن میکروبی شکمبه در نظر گرفته می‌شود. بنابراین دفع مشتقات پورینی در ادرار به طور مثبتی مرتبط با جریان نیتروژن از شکمبه و یک شاخص مطلوب برای سنتز نیتروژن میکروبی شکمبه است (Manju و همکاران، ۲۰۲۲).

جدول ۵- اثر جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف بیورت به جای اوره بر سنتز پروتئین میکروبی شکمبهٔ بره‌های پرواری

صفت	سطح بیورت به جای اوره در جیره (درصد مادهٔ خشک)				SEM	سطح	نوع رابطه	
	صفر	۳۴	۶۷	۱۰۰		معنی‌داری	خطی	غیر خطی
آلانتوئین (mmol/d)	۸/۵۳^{b}	۸/۶۸^{ab}	۸/۸۱	۹/۱۱	۰/۱۵۲	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۶۲
اسید اوریک (mmol/d)	۲/۱۹	۲/۳۲	۲/۴۲	۲/۳۹	۰/۰۸۶	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۳۸
گزانتین+هیپوگزانتین (mmol/d)	۰/۶۷۴	۰/۶۶۳	۰/۶۷۵	۰/۶۹۱	۰/۰۱۰	۰/۲۵	۰/۲۱	۰/۲۲
کل مشتقات پورینی دفعی ادرار (mmol/d)	۱۱/۴^{c}	۱۱/۷^{bc}	۱۱/۹	۱۲/۲^{a}	۰/۱۵۳	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۸۷
کل مشتقات پورینی جذب شده (mmol/d)	۱۲/۹^{c}	۱۳/۳^{bc}	۱۳/۶	۱۴/۱	۰/۱۵۴	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۷۸
نیتروژن میکروبی سنتز شده (g/d)	۹/۴۰^{c}	۹/۶۷^{bc}	۹/۹۲^{ab}	۱۰/۲^{a}	۰/۱۱۱	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۹۲
پروتئین میکروبی (MP) سنتز شده (g/d)	۵۸/۶^{c}	۶۰/۴^{bc}	۶۲/۱^{ab}	۶۳/۸^{a}	۰/۶۹۱	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۹۱
گرم MP به ازای kg مادهٔ خشک مصرفی	۳۶/۳	/۱	۳۷/۳	/۸	۰/۶۴۴	۰/۱۵	۰/۱۲	۰/۸۰
گرم MP به ازای kg مادهٔ آلی مصرفی	۳۸/۹	۳۹/۷	/۹	۴۰/۵	۰/۶۹۸	۰/۲۳	۰/۱۹	۰/۷۹

میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهندهٔ اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

مهمترین عامل مؤثر بر سنتز پروتئین میکروبی میزان مادهٔ خشک مصرفی است که در پژوهش حاضر تفاوت در سنتز پروتئین میکروبی توسط جیره‌ها را نمی‌توان با مصرف خوراک توجیه کرد، زیرا همهٔ گروه‌های آزمایشی مصرف خوراک یکسانی داشتند (جدول ۲). افزایش سنتز پروتئین میکروبی با افزایش سطح بیورت در مقایسه با تیمار حاوی اوره احتمالاً به دلیل همزمانی مطلوب بین آزادسازی آمونیاک از بیورت و کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم بوده است که میکروارگانیسم‌های شکمبه فرصت کافی برای استفادهٔ بهینه از آمونیاک و رشد و توسعهٔ مناسب را داشته‌اند. کاهش غلظت آمونیاک شکمبه (جدول ۳) با تغذیهٔ بیورت ممکن است دلیل دیگری برای بهبود سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه باشد، زیرا مشخص شده است که کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه می‌تواند به عنوان یک شاخص از بهبود تولید پروتئین میکروبی در نظر گرفته‌شود (Chamberlain و همکاران، ۱۹۹۳)، زیرا آمونیاک منبع اصلی و عمدهٔ شکمبه‌ای نیتروژن برای سنتز پروتئین میکروبی می‌باشد (Fan و همکاران، ۲۰۲۴). مطابق با این نتایج، قنبری و همکاران (۱۴۰۰) با جایگزینی سطوح مختلف اورهٔ آهسته‌رهش نیتروزا با اوره افزایش کل مشتقات پورینی دفعی در ادرار، مشتقات پورینی جذب شده، تولید نیتروژن میکروبی و سنتز پروتئین میکروبی را گزارش کردند. در آزمایش دیگری توسط Guo و همکاران (۲۰۲۲)، بهره‌وری نیتروژن میکروبی در جیرهٔ مکمل شده با اورهٔ آهسته‌رهش در مقایسه با تیمار حاوی اوره افزایش یافت (۱۱/۷ در مقابل ۹/۵). برخلاف این نتایج، در مطالعاتی تفاوت قابل توجهی در سنتز پروتئین میکروبی با مکمل کردن جیره با اورهٔ آهسته‌رهش در مقایسه با اوره در شرایط درون‌تنی (Alipour و همکاران، ۲۰۲۰) گزارش نشده است. وجود اختلافات در سنتز پروتئین میکروبی در مطالعهٔ حاضر و سایر مطالعاتی که از اوره یا انواعی از اورهٔ آهسته‌رهش در جیره استفاده کرده‌اند احتمالاً به دلیل تفاوت در مصرف مادهٔ خشک، سرعت عبور خوراک، شرایط محیط شکمبه، نوع جیرهٔ غذایی، سطح تغذیه، ترکیب شیمیایی جیره، نسبت نیتروژن به کربن جیره، ویتامین‌ها، مواد معدنی، دفعات تغذیه‌ای و میزان گوگرد جیره‌ای بوده است (Fan و همکاران، ۲۰۲۴) که اثرات قابل توجهی روی سنتز پروتئین میکروبی تأثیر می‌گذارند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که جایگزینی سطوح مختلف بیورت به عنوان یک منبع نیتروژن غیر پروتئینی به جای اوره در جیرهٔ بره‌های پرواری، بدون مشاهدهٔ اثرات منفی بر مصرف خوراک یا مسمومیت سبب بهبود عملکرد رشد، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و سنتز پروتئین میکروبی شد. در کل، جایگزینی بیورت به جای اوره در جیرهٔ بره‌های پرواری قابل توصیه است.

سپاسگزاری

در اینجا لازم می‌داند از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان، به خاطر فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام پژوهش حاضر تشکر و قدردانی به عمل آید.

منابع

طالبیان‌مسعودی، ع.، معینی، م.م.، سوری، م.، منصوری، ه. و عبدلی سنجانی، م. (۱۳۹۵). بررسی اثر کاربرد ترکیبات نیتروژن غیر پروتئینی آهسته رهش ایزوبوتیرآلدئید منو اوره و اپتیژن بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای و گوارش‌پذیری مواد مغذی در گوسفند. پژوهش در نشخوارکنندگان، ۴(۲): ۴۴-۲۳. doi.org/10.22069/ejrr.2016.3226

عزیزی، ا.، شریفی، ا. و فضائلی، ح. (۱۳۹۸). اثر یک ترکیب اوره آهسته رهش تولید شده بر تولید گاز، تخمیر، گوارش‌پذیری مواد مغذی و فعالیت آنزیمهای میکروبی با استفاده از شیرابه شکمبه گوسفند. پژوهش و سازندگی، ۱۲۲(۳۲): ۲۹۰-۲۷۹. doi.org/10.22092/asj.2018.121403.1675

قنبری، ا.، سیف دواتی، ج.، یلچی، ط.، عبدی، ب. و سیدشریفی، ر. (۱۴۰۰). اثر جایگزینی منبع نیتروژن غیر پروتئینی آهسته رهش با اوره در جیره‌های حاوی پوسته بادام بر تولید پروتئین میکروبی و تعادل نیتروژن در گوسفند. پژوهشهای تولیدات دامی، ۱۲ (۳۴): ۸۹-۹۹ doi.org/10.52547/rap.12.34.89

وره‌زردی، س.، عزیزی، ا.، کیانی، ا.، فدایی‌فر، ا. و شریفی، ا. (۱۴۰۲). اثر منبع نیتروژن غیر پروتئینی در جیره حاوی پروتئین زیاد و تعداد نوبت خوراک دهی بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های تخمیر و فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه در بره‌های پرواری. تحقیقات تولیدات دامی، ۱۲(۴): ۷۸-۶۳. doi.org/10.22124/ar.2023.24395.1764

Agarwal, N. (2000). Estimation of fiber degrading enzyme. P: 278–291, In: Chaudhary, L.C., N. Agarwal, D.N. Kamra and D.K. Agarwal (eds) feed microbiology. Izatnagar (India): CAS Animal Nutrition.

Agarwal, N., Saxena, J., Saha, S., Chaudhary, L.C. and Kamra, D.N. (2004). Changes in fermentation characteristics, microbial populations and enzyme profile in the rumen of buffaloes affected by roughage level in the diet. Bubalusbubal, 111: 81–90. doi: 10.5713/ajas.2013.13182

Ahmed, Z., Khan, S.A., Nawaz, M., Shamim, A., Waqas, M., Mohi-Uddin, I., Ahmed, I., Kuthu, Z.H. and Rasool, F. (2017). Effect of slow release urea supplementation (Optigen®) on the production performance of Kaghani sheep. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 5: 155–159. doi.org/10.14737/journal.aavs/2017/5.4.155.159

Alipour, D., Saleem, A.M., Sanderson, H., Brand, T., Santos, L.V., Mahmoudi-Abyane, M., Marami, M.R. and McAllister, T.A. (2020). Effect of combinations of feed-grade urea and slow-release urea in a finishing beef diet on fermentation in an artificial rumen system. *Translational Animal Science*, 4: 839–847. doi: 10.1093/tas/txaa013

AOAC. (2005). Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. USA.

Broderick, G. and Kang, J.H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*, 63: 64-75. doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8

Chamberlain, D.G., Robertson, S. and Choung, J.J. (1993). Sugars versus starch as ruminal fermentation and the supply of microbial protein to the small intestine supplements to grass silage: effects on estimated from the urinary excretion of purine derivatives in sheep. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 63: 189-194. doi.org/10.1002/jsfa.2740630204

Chen, X.B. and Gomes, M.J. (1995). Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives—An overview of technical details. Available online.

Cherdthong, A., Wanapat, M. and Wachirapakorn, C. (2011). Effects of urea–calcium mixture in concentrate containing high cassava chip on feed intake, rumen fermentation and performance of lactating dairy cows fed on rice straw. *Livestock Science*, 136: 76–84. doi.org/10.1016/j.livsci.2010.08.002

Colmenero, J.O. and Broderick, G.A. (2006). Effect of dietary crude protein concentration on ruminal nitrogen metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89 (5): 1694-1703. doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72237-8

Currier, T.A., Bohnert, D.W., Falck, S.J., Schauer, C.S. and Bartle, S.J. (2004). Daily and alternate day supplementation of urea or biuret to ruminants consuming low-quality forage: II. Effects on site of digestion and microbial efficiency in steers. *Journal of Animal Science*, 82(5): 1518-1527. doi:10.2527/2004.8251518x

Fan, C., Li, H., Li, S., Zhong, G., Jia, W., Zhuo, Z. and Cheng, J. (2024). Effect of different slow-release urea on the production performance, rumen fermentation, and blood parameter of Angus heifer. *Animals*, 14 (16): 2296. doi: 10.3390/ani14162296

Guo, Y., Xiao, L., Jin, L., Yan, S., Niu, D. and Yang, W. (2022). Effect of commercial slow-release urea product on *in vitro* rumen fermentation and ruminal microbial community using RUSITEC technique. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 13: 56. doi.org/10.1186/s40104-022-00700-8

Hashem, W. and Tayeb, A.M. (2024). The impact of using slow-release urea instead of fast-release urea in feed on the milk production of Awassi sheep and some blood traits. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 55 (2): 443-451. doi.org/10.21608/ejvs.2023.235038.1605

Huntington, G.B., Harmon, D.L., Kristensen, N.B., Hanson, K.C. and Spears, J.W. (2006). Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 130: 225–241. doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.01.012

Jiang, M., Zhang, X., Wang, K., Datsomor, O., Li, X., Lin, M., Feng, C., Zhao, G. and Zhan, K. (2023). Effect of slow-release urea partial replacement of soybean meal on lactation performance, heat shock signal molecules, and rumen fermentation in heat-stressed mid-lactation dairy cows. *Animals*, 13(17): 2771. doi.org/10.3390/ani13172771.

Kamra, D.N., Agarwal, N. and McAllister, T.A. (2010). Screening for compounds enhancing fiber degradation. P: 87-107, In: Vero, P.E., H.P.S. Makkar and A.C. Schlink (eds.) *in vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies, Chapter 6. Dordrecht (the Netherlands): IAEA.

Khan, M.I., Ahmed, S., Rahman, A., Ahmad, F., Khalique, A., Nisar, A. and Azam, B.E. (2015). Comparative efficacy of urea and slow-release non-protein nitrogen on performance of Nili-Ravi buffalo calves. *Pakistan Journal of Zoology*, 47 (4): 1097-1102.

Kondos, A.C. and Mutch, B. (1975). Biuret and urea in maintenance and production diets of cattle. *The Journal of Agricultural Science*, 85(2): 359-368. doi.org/10.1017/S0021859600062195

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the pholin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 262–275. doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6

Manju, G.U., Nagalakshmi, D., Balakrishanan, U., Nagabhushana, V., Venkateswarlu, M., Rajanna, N. and Sriharsha, K.V.S. (2022). Effect of feeding slow release non protein nitrogen sources on nutrient utilization, rumen fermentation pattern, microbial protein supply and bacterial diversity in deccani rams. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 22(1): 79-94. doi.org/10.5958/0974-181X.2022.00007.5

Mapato, C., Wanapat, M. and Cherdthong, A. (2010). Effects of urea treatment of straw and dietary level of vegetable oil on lactating dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*, 42: 1635-1642. doi.org/ 10.1007/s11250-010-9613-3

Marten G.C. and Barnes R.F. (1980). Prediction of energy digestibility of forages with *in vitro* rumen fermentation and fungal enzymes systems. P: 61-71, In: Pidgen, W.J., C.C. Balch and M. Graham (eds.) standardization of analytical methodology for feeds. International Development Research Center, Ottawa.

Miller, J.L. (1959). Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry*, 31: 426–429. doi.org/10.1016/j.molliq.2023.122286

National Research Council. (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervide and New York Camelids. National Academy of Science, Washington,

Robinson, S.L., Badalamenti, J.P., Dodge, A.G., Tassoulas, L.J. and Wackett, L.P. (2018). Microbial biodegradation of biuret: defining biuret hydrolases within the isochorismatase superfamily. *Environmental Microbiology*, 20(6): 2099-2111. Doi.org/10.1111/1462-2920.14094

Ryul Park, D., Kim, H., Chul Jung, J., Seung Shin, M., Jin Han, S. and Kyu Song, I. (2009). Catalytic conversion of urea to biuret: A catalyst screening study. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 26: 990–993. doi.org/10.1007/s11814-009-0164-0

Salami, S.A., Moran, C.A., Warren, H.E. and Taylor-Pickard, J. (2020). A meta-analysis of the effects of slow-release urea supplementation on the performance of beef cattle. *Animals* 10:657. doi.org/10.3390/ani10040657

Saro, C., Degeneffe, M.A., Andrés, S., Mateo, J., Caro, I., López-Ferreras, L. and Giráldez, F.J. (2023). Conventional feed-grade or slow-release coated urea as sources of dietary nitrogen for fattening lambs. *Animals*, 13(22): 3465. doi.org/10.3390/ani13223465

SAS Institute Inc. (2005). User's Guide: Statistics, Version 9.0 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Selinger, L.B., Forsberg, C.W. and Cheng, K.J. (1996). The rumen: a unique source of enzymes for enhancing livestock production. *Anaerobe*, 2: 263-284. Doi.org/10.1006/anae.1996.0036

Tadele, Y. and Amha, N. (2015). Use of differentnn protein nitrogen sources in ruminant nutrition: a review. *Advances in Life Science and Technology*, 29: 100-105. doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33752

Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583–3597. doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2

Xin, H.S., Schaefer, D.M., Liu, Q.P., Axe, D.E. and Meng, Q.X. (2010). Effects of polyurethane coated urea supplement on *in vitro* ruminal fermentation, ammonia release dynamics and lactating performance of Holstein dairy cows fed a steam-flaked corn-based diet. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23: 491–500. doi.org/10.5713/ajas.2010.90153

Zurak, D., Kljak, K. and Aladrovic, J. (2023). Metabolism and utilisation of non-protein nitrogen compounds in ruminants: a review. *Journal of Central European Agriculture*, 24 (1): 1-14. doi.org/10.5513/JCEA01/24.1.3645