Journal of Animal Biology, Summer 2025; 17(4):41-54

ISSN: 1735-9724

Research Article

The Effect of Commercial NPN Product on Dairy Cows in Vitro

Amin Dindar Safa[1], Mehdi Dehghan Banadaky[1*], Hamed Khalilvandi Behrouzyar[2], Mehdi Ganjkhanlou[1]

1- Department of Animal Sciences, Faculties of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, Karaj, Iran

2- Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

*Corresponding author: dehghanb@ut.ac.ir

Received: 2 February 2025 Accepted: 30 May 2025

DOI: 10.60833/ascij.2025.1198439

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of replacing soybean meal (SBM) with slow-release urea (SRU) on in vitro fermentation, gas production parameters, and nutrient disappearance. Five dietary treatments were set up in a completely randomized design including: 1- control diet (without urea); 2- diet containing 0.5% urea (CU) replacing SBM; 3- diet containing 0.5% SRU replacing SBM; 4- diet containing 0.1% CU replacing SBM; and 5- diet containing 0.1% SRU replacing SBM. The gas production of the experimental diets was measured using the standard water displacement method at time series of 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 72, and 96 hours of incubation After 8 hours of incubation, the highest gas production volume and potential were significantly higher for the diet containing 0.5% SRU instead of SBM ($p < 0.05$). The lowest gas production rate constant was obtained for the fourth diet, which had the highest concentration of conventional urea (0.038 ml/h). The dissociation index value was significant among the experimental diets and the highest value was for the control diet. The highest metabolizable energy value was 23.6 MJ/kg dry matter for the diet containing 0.5% SRU instead of SBM. Significantly, the highest and lowest levels of short-chain fatty acids were obtained for the third diet containing 0.5% SRU instead of SBM and the diet containing 0.1% CU instead of SBM, respectively (0.641 vs. 0.513 mmol). The percentage disappearance of dry matter and crude protein at 12, 24, and 48 hours of incubation was significantly different among the experimental diets. The use of a protected source of urea without having a detrimental effect on the fermentation process and nutrient disappearance would be a suitable alternative to soybean meal.

Keyword: Gas production, Non-protein nitrogen, Nutrient disappearance, Polymer, Slow-release urea.

زیست‌شناسی جانوری، سال هفدهم، شماره چهارم، تابستان ۱۴۰۴، صفحات ۵۴-۴۱

ISSN:۱۷۳۵-۹۷۲۴

مقاله پژوهشی

بررسی اثر محصول تجاری NPN (نیتروژن غیرپروتئینی) روی گاوهای شیری در شرایط برون‌تنی

امین دیندار صفا[۱]، مهدی دهقان بنادکی[۱*]، حامد خلیل‌وندی بهروزیار[۲]، مهدی گنج خانلو[۱]

۱- گروه علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

*مسئول مکاتبات: dehghanb@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۹

DOI: 10.60833/ascij.2025.1198439

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر جایگزینی کنجاله سویا (SBM) با اوره آهسته‌رهش (SRU) بر تخمیر آزمایشگاهی، فراسنجه‌های تولید گاز و ناپدید شدن ماده مغذی روی گاوهای شیری اجرا شد. پنج تیمار غذایی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی شامل: ۱- جیره شاهد (بدون اوره)؛ ۲- جیره حاوی ۰/۵ درصد اوره (CU) جایگزین SBM؛ ۳- جیره حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM؛ ٤- جیره حاوی ۱/۰ درصد CU جایگزین SBM؛ و ۵- جیره حاوی ۱/۰ درصد SRU جایگزین SBM تنظیم شدند. میزان تولید گاز جیره‌های آزمایشی با استفاده از روش استاندارد جابجایی آب در سری‌های زمانی ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ۱٦، ۲٤، ۳٦، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت انکوباسیون اندازه‌گیری شد. بعد از ۸ ساعت انکوباسیون به‌طور معنی‌دار بیش‌ترین حجم و پتانسیل گاز تولیدی مربوط به جیره حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM بود ($p < ۰/۰۵$). کم‌ترین ثابت نرخ تولید گاز برای جیره چهارم که بیش‌ترین غلظت اوره معمولی را دارا بود بدست آمد (۰/۰۳۸ میلی‌لیتر/ساعت). مقدار شاخص تفکیک در بین جیره‌های آزمایشی معنی‌دار و بیشترین مقدار برای جیره شاهد بود. بیشترین مقدار انرژی قابل متابولیسم مربوط به جیره حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM برابر ٦/۲۳ مگاژول/کیلوگرم ماده خشک بود. به طور معنی‌داری بیشترین و کمترین مقدار اسیدهای چرب زنجیر کوتاه به ترتیب برای جیره سوم حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM و جیره حاوی ۱/۰ درصد CU جایگزین SBM بدست آمد (۰/٦٤۱ در مقابل ۰/۵۱۳ درصد میلی‌مول). درصد ناپدید شدن ماده‌ی خشک و پروتئین خام در ساعات ۱۲، ۲٤ و ٤۸ انکوباسیون در بین جیره‌های آزمایشی اختلاف معنی‌دار داشت. استفاده از منبع محافظت شده اوره بدون آن‌که اثر مخربی بر روند تخمیر و ناپدید شدن ماده مغذی داشته باشد، یک جایگزین مناسب برای کنجاله سویا خواهد بود.

کلمات کلیدی: اوره آهسته‌رهش، پلیمر، تولید گاز، ناپدید شدن ماده‌ی مغذی، نیتروژن غیر پروتئینی.

مقدمه

با توسعه صنعت پرورش نشخوارکنندگان در ایران، چالش‌های مهمی از جمله محدودیت منابع، مخاطرات زیست‌محیطی برای توسعه پایدار و تقاضای پروتئین حیوانی وجود دارد. پروتئین جیره نقش مهمی در تغذیه نشخوارکنندگان ایفا می‌کند و اسیدهای آمینه و منابع نیتروژنی را برای تولید پروتئین میکروبی شکمبه فراهم می‌کند و معمولاً از خوراک گران‌قیمت، مانند کنجاله سویا (SBM) به دست می‌آید (۱). در ایران، کمبود منابع پروتئینی به یک مشکل عمده در صنعت دامپروری تبدیل شده است، که به‌طور جدی پیشرفت

پرورش نشخوارکنندگان در ایران را محدود کرده است. بنابراین، توسعه و استفاده از جایگزین‌های خوراک پروتئینی، از جمله نیتروژن غیرپروتئینی (NPN)، برای کاهش استفاده از SBM یکی از موضوعات مهم و دشوار در حال حاضر ما است (۲). برای نشخوارکنندگان، استفاده از منابع NPN در جیره یک جایگزین عملی برای جایگزین SBM است، زیرا میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌توانند NPN را به پروتئین میکروبی تبدیل کنند که ۵۰ تا ۸۰ درصد پروتئین وارد شده به روده کوچک گاو را تشکیل می‌دهد (۳). اوره یک منبع رایج از NPN است که معمولاً برای جایگزینی نسبی SBM استفاده می‌شود، اما هیدرولیز سریع آن در شکمبه و تبدیل به آمونیاک (NH_3) می‌تواند منجر به تجمع بیش از حد NH_3 در شکمبه و افزایش سطح NH_3 خون شود (٤). اوره و چرخه آن در نشخوارکنندگان مجموعه‌ای از فرآیندهای شیمیایی متوالی است که نتیجه نهایی آن سنتز اوره در اثر ایجاد تغییرات شیمیایی در آمونیاک است. اوره به‌دلیل هزینه کم و در دسترس بودن، یک مکمل پروتئینی مهم برای نشخوارکنندگان است (٥). اوره پس از ورود به شکمبه توسط اوره‌آز تولید شده توسط باکتری‌ها به سرعت به آمونیاک تجزیه می‌شود سپس به پروتئین میکروبی سنتز می‌شود. اما سرعت تجزیه اوره در شکمبه بسیار سریع‌تر از سرعت استفاده از آمونیاک توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه است، بنابراین باعث تجمع آمونیاک در شکمبه‌شده، که در نتیجه آن دفع نیتروژن از طریق ادرار افزایش یافته و آلودگی محیطزیست افزایش می‌یابد (٦). همزمان‌سازی احتیاجات میکروبی با تامین نیتروژن در شکمبه یک استراتژی تغذیه‌ای مهم برای بهبود بازده انرژی شکمبه و استفاده از نیتروژن است (٤).

اوره آهسته‌رهش (SRU) یک منبع کارآمد از NPN است (۷). امروزه استفاده از ترکیبات NPN پوشش‌دار در اشکال مختلف از جمله بیورت، فسفات اوره، اوره محافظت‌شده با روغن، فرمالدهید و یا پلیمر وجود دارد (۸). پوشش‌دار کردن اوره به روش‌های مختلف این امکان را می‌دهد که نیتروژن اوره به تدریج در شکمبه آزاد شود و استفاده از مواد مغذی توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه را بهبود بخشد. تحقیقات بسیاری بر روی اثرات این محصولات صورت گرفته است به‌طوری که نشان داده شده است اگر چه SRU نسبت به SBM نیتروژن بیش‌تری آزاد می‌کند، اما سبب غلظت بالای آمونیاک در محیط شکمبه نیز می‌شود، با این حال می‌توان تا ۱ درصد از مقدار SBM را با SRU جایگزین کرد بدون این‌که عملکرد تولیدی در گاوهای شیرده تحت تاثیر قرار گیرد (۲، ۳، ٤، ۷، ۸). در این خصوص، نتایج ارائه شده به‌طور قابل ملاحظه‌ای متفاوت است که احتمالاً به نرخ آزادسازی اوره، مقدار گنجاندن در جیره روزانه، نوع جیره، جمعیت میکروبی شکمبه و صفات میزبان مانند جذب NH_3 شکمبه و سرعت عبور مواد مایع و جامد بستگی دارد. اصلی‌ترین محصولات SRU مورد استفاده در نشخوارکنندگان اوره پوشش داده شده با پلیمر است اما با سایر روش‌های محافظت شده قیمت زیادی دارد ولی در گاوهای پرواری نشان داده‌اند که SRU عملکرد حیوانات را بدون تأثیر بر تخمیر شکمبه بهبود می‌بخشد (۹)، اما اثرات آنها برای قابلیت هضم و تخمیر در شرایط آزمایشگاهی به‌ندرت گزارش شده است. بنابراین، هدف از اجرای این آزمایش، بررسی جایگزینی کنجاله سویا با منبع نیتروژن غیرپروتئینی آهسته‌رهش محافظت شده بر تخمیر آزمایشگاهی، فراسنجه‌های تولیدگاز و میزان ناپدید شدن ماده مغذی با روش اصلاح یافته بود.

مواد و روش‌ها

برای این آزمایش ابتدا یک جیره کاملاً مخلوط (TMR) توسط نرم‌افزار CPMDairy (نسخه 3.0.8.01) برای گاوهای شیرده (۱۵ ± ۶۸۰ کیلوگرم وزن بدن) با تعداد روزهای شیردهی ۱۳ ± ۱۰۰ روز و مقدار ۴۵ کیلوگرم تولید شیر فرموله شد (جدول ۱). جیره‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند، سپس با الک ۱ میلی‌متری آسیاب شدند (۱۰). پنج جیره آزمایشی حاوی نیتروژن و انرژی برابر فرموله شدند که عبارتند از: ۱) جیره شاهد (بدون اوره)؛ ۲) جیره حاوی ۰/۵ درصد CU جایگزین SBM (0.5CU)؛ ۳) جیره حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM (0.5SRU)؛ ۴) جیره حاوی ۱/۰ درصد CU جایگزین SBM (1.0CU)؛ و ۵) جیره حاوی ۱/۰ درصد SRU جایگزین SBM (1.0SRU) بود. تجزیه شیمیایی جیره‌های غذایی با استفاده از روش‌های استاندارد AOAC (۱۱) اندازه-گیری شد. اندازه‌گیری میزان تولید گاز با استفاده از روش فدوراک و هرودی (۱۲) در آزمایشگاه تغذیه گروه علوم دامی دانشگاه تهران انجام شد. از جیره‌های کاملاً مخلوط آسیاب شده با الک ۱ میلی‌متری مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم توزین و داخل ویال‌های مخصوص ۶۰ میلی‌لیتری استریل ریخته شد (۱۳). تعداد ۶ تکرار به ازای هر تیمار، برای سری زمان‌های انکوباسیون در نظر گرفته شد. نمونه مایع شکمبه از ۲ رأس گاو شیری هلشتاین مزرعه دانشگاه تهران با وزن بدن ۱۵ ± ۵۸۰ کیلوگرم و شکم زایش ۲ که با نسبت علوفه به کنسانتره ۵۰ به ۵۰ به‌مدت ۱۰ روز تغذیه‌شده بودند، جمع‌آوری و با پارچه تنظیف ۲ لایه‌ای صاف و در ظرف درپوش‌دار محتوی گاز CO_2 در مدت زمان کوتاه به آزمایشگاه منتقل گردید. طبق روش مکدوگال (۱۴) مایع شکمبه و بافر به نسبت ۱ به ۲ تهیه شد. سپس مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از مخلوط مایع شکمبه و بافر در هر ویال حاوی نمونه، ریخته شد و با استفاده از درپوش لاستیکی پس از بی‌هوازی نمودن محیط داخل ویال‌ها (ویال) درب آن محکم بسته شد و در دستگاه انکوباتور شیکردار در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد با ۶۰ دور در دقیقه برای زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت قرار داده شد. به‌منظور تصحیح مواد خوراکی، تخمیر و تولید گاز با منشاء مایع شکمبه در هر دوره انکوباسیون نمونه بلانک نیز در نظر گرفته شد. مقدار گاز تولیدی ناشی از تخمیر ماده غذایی مورد آزمایش به روش فدوراک (جابجایی آب مایع) قرائت و ثبت گردید (۱۲). تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به فراسنجه‌های کنیتیک تولید گاز توسط معادله پیشنهادی ارسکوف و مک‌دونالد (۱۵) و با استفاده از رویه NLIN و نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و Fitcurve برآورد شد. فرمول (۱): $GP = A\ [1-e^{\{-c(T-Lag)\}}]$ که GP: گاز تولیدی تجمعی در زمان t؛ A: پتانسیل تولید گاز بر حسب میلی‌لیتر بر گرم ماده‌ی خشک؛ C: ثابت نرخ تولید گاز در واحد زمان؛ Lag: زمان تاخیر؛ و t مدت زمان انکوباسیون (ساعت) و e عدد ثابت نپرین (۲/۷۱۸) می‌باشد. شاخص بخش-پذیری جیره‌های آزمایشی بر اساس روش بلومل و همکاران، (۱۶) اندازه‌گیری شد. و برای محاسبه شاخص بخش‌پذیری از فرمول‌های (۲) و (۳) استفاده گردید:

فرمول(۲):

= ماده آلی هضم شده حقیقی (میلی‌گرم)

[خاکستر – باقیمانده – مقدار اولیه]

فرمول(۳):

$$\text{شاخص بخش‌پذیری} = \frac{\text{میلی‌گرم ماده آلی حقیقی هضم شده}}{\text{میلی‌لیتر گاز تولیدشده}}$$

تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی بر اساس روش بلومل و بولردیک (۱۷) و با استفاده از

فرمول‌های (٤) و (٥) محاسبه گردید. فرمول (٤): MBP= [TDOM– (gas at $t_{1/2}$ ×SF)] در رابطه بالا، MBP: تولید توده میکروبی، TDOM: ماده آلی هضم شده حقیقی، gas at $t_{1/2}$: مقدار گاز تولید شده در زمان ۱/۲، SF: که فاکتور ثابت که برای مواد خشبی ۲/۲ و برای مواد کنسانتره‌ای ۲/۳٤ در نظر گرفته می‌شود. فرمول (٥): EMBS= (MBP/TDOM) ×100 که EMPS: بازده تولید توده میکروبی، MBP: تولید توده میکروبی بر حسب میلی‌گرم، TDOM: ماده آلی واقعاً هضم شده بر حسب میلی‌گرم در گرم ماده خشک می‌باشند. به‌منظور بررسی اثرات محصول تجاری اوره آهسته‌رهش [پرشیامین@] بر قابلیت هضم ماده‌ی مغذی با استفاده از یک روش برون‌تنی اصلاح یافته توسط پرنیان و همکاران (۱۸) مشابه تکنیک تولید گاز انجام شد. جیره کاملاً مخلوط تهیه‌شده برای هر پنج تیمار به مقدار ٥۰۰ میلی‌گرم توزین و در کیسه‌های پلی‌استر (با اندازه منافذ ٤٥ میکرومتر) با ابعاد ۲×٥×۳ سانتی‌متر ریخته و درب کیسه‌ها توسط پرس حرارتی مهر و موم گردید. کیسه‌های حاوی ماده خوراکی مورد آزمایش در داخل شیشه‌های ۱۲۰ میلی‌لیتری قرار داده شد. سپس ویال‌ها در داخل انکوباتور شیکردار و در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد. برای اندازه‌گیری قابلیت‌هضم ماده‌ی مغذی هر تیمار در هر دوره زمانی ۱۲، ۲٤، ٤۸ ساعت تعداد ٦ تکرار در نظر گرفته شد. در پایان هر دوره انکوباسیون، شیشه‌های مربوطه به همراه شیشه‌های بلانک آن دوره برداشته‌شده و کیسه‌های داخل شیشه‌ها تخلیه شدند، برای اطمینان از حذف هرگونه آلودگی میکروبی توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه، کیسه‌های تخلیه‌شده با بافر فسفات مطابق با روش پرنیان و همکاران، (۱۹) شستشو گردید. داده‌های نمونه خوراک باقیمانده برای اندازه‌گیری میزان ناپدید شدن پروتئین خام (۱۱) و فیبر شوینده خنثی (۲۰) تجزیه و قابلیت‌هضم ماده‌ی مغذی CP و NDF در شرایط آزمایشگاهی (IVBCD) به صورت فرمول (٦) محاسبه گردید:

فرمول (٦)

$$IVBCD = \frac{\{[(\text{درصد ماده مغذی خوراک باقیمانده}) \times (\text{گرم خوراک باقیمانده})] - [(\text{درصد ماده مغذی جیره کاملاً مخلوط}) \times (\text{گرم جیره کاملاً مخلوط})]\}}{[(\text{درصد ماده مغذی جیره کاملاً مخلوط}) \times (\text{گرم جیره کاملاً مخلوط})]}$$

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های مربوط به فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری و تولید گاز با استفاده از طرح کاملاً تصادفی و رویه‌ی GLM نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (فرمول ۷) و مقایسه میانگین‌ها در سطح معنی‌داری ۰/۰٥ درصد و با آزمون دانکن انجام شد. فرمول (۷): $Y_i=\mu+T_i+e_i$ که در این مدل مشاهدات (Y_i)؛ میانگین کل (μ)؛ اثر تیمار (T_i)؛ اثر خطای آزمایشی (e_i) بود.

جدول ۱- اجزا و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 1. Components and chemical compositions of experimental diets

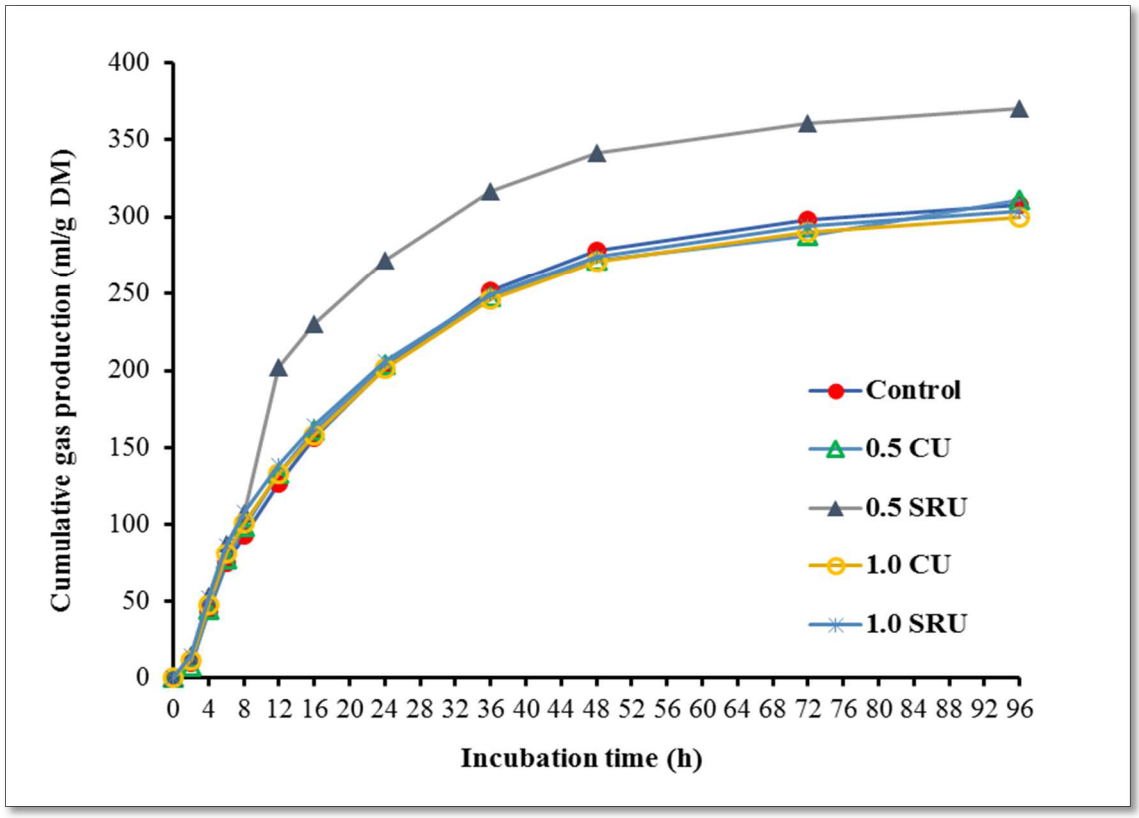
Food	Experimental diets*				
	Control	0.5CU	0.5SRU	1.0CU	1.0SRU
Diet components based on dry matter (%)					
Corn silage	23.84	23.54	23.59	23.75	23.67
Alfalfa	14.09	13.91	13.94	14.03	13.99
Wheat straw	2.21	2.18	2.18	2.20	2.19
Crushed corn kernels	23.45	23.16	23.21	23.37	23.28
Crushed barley grain	9.87	9.74	9.77	9.83	9.80
Wheat bran	0.58	4.20	5.97	2.62	4.30
Cottonseed meal	4.37	4.32	4.33	4.36	4.34
Soybean meal	10.06	7.26	4.56	8.02	5.96
Corn gluten meal (60% CP)	2.90	2.87	3.29	2.89	3.27
Fat powder	1.78	1.76	1.76	1.77	1.77
Dicalcium phosphate	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Calcium carbonate	0.37	0.36	0.36	0.39	0.38
Sodium bicarbonate	0.97	0.96	0.96	0.96	0.96
Vitamins and minerals**	0.62	0.61	0.61	0.62	0.61
Magnesium oxide	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
Zeolite	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
Salt	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Regular urea (281% CP)	0	0.30	0	0.61	0
Slow-release urea (220% CP)	0	0	0.30	0	0.61
Chemical analysis (DM%)					
DM	52.11	52.41	52.38	52.19	52.29
(Mcal/kg) NEl	1.55	1.54	1.53	1.54	1.53
CP	14.69	14.68	14.88	14.71	14.89
NDF	35.3	35.43	35.37	35.34	35.27
ADF	20.35	20.00	19.71	20.12	19.86
EE	4.36	4.32	4.30	4.34	4.31
Ash	8.25	8.19	8.13	8.22	8.15

* جیره آزمایشی Control: جیره شاهد (بدون اوره)؛ 0.5CU: جیره حاوی ۰/۵ درصد CU جایگزین SBM؛ 0.5SRU: جیره حاوی ۰/۵ درصد اوره آهسته‌رهش (SRU) جایگزین SBM؛ 1.0CU: جیره حاوی ۱/۰ درصد CU جایگزین SBM؛ و 1.0SRU: جیره حاوی ۱/۰ درصد SRU جایگزین. ** مکمل معدنی و ویتامینی: کلسیم: ۱۷۰ گرم، فسفر ٦۰ گرم، منیزیم: ۱۰۰ گرم، منگنز: ۱۳۰۰۰ میلی‌گرم، مس: ٥۰۰۰ میلی‌گرم، آهن: ٤۰۰۰ میلی‌گرم، کبالت: ۸۰ میلی‌گرم، سلنیوم: ۱۱۰ میلی‌گرم، ید: ۲۰۰ میلی‌گرم، ویتامین A: ۱,۲٥۰,۰۰۰ واحد بین-المللی، ویتامین D_3: ۳۰۰,۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E: ٦۰۰۰ واحد بین‌المللی. DM: ماده خشک؛ NEl: انرژی خالص برای شیردهی؛ CP: پروتئین خام؛ EE: عصاره اتری؛ NDF: الیاف شوینده خنثی؛ ADF: الیاف شوینده اسیدی؛ Ash: خاکستر.

* Control diet: control diet (without urea); 0.5CU: diet containing 0.5% CU replacing Soybean meal (SBM); 0.5SRU: diet containing 0.5% Slow-release urea (SRU) replacing SBM; 1.0CU: diet containing 0.1% CU replacing SBM; and 1.0SRU: diet containing 0.1% SRU replacing SBM. ** Mineral and vitamin supplement: Calcium: 170 g, Phosphorus 60 g, Magnesium: 100 g, Manganese: 13,000 mg, Copper: 5,000 mg, Iron: 4,000 mg, Cobalt: 80 mg, Selenium: 110 mg, Iodine: 200 mg, Vitamin A: 1,250,000 IU, Vitamin D3: 300,000 IU, Vitamin E: 6,000 IU. DM: dry matter; NEl: net energy for lactation; CP: crude protein; EE: ether extract; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber; Ash: ash.

نتایج

داده‌های مربوط به روند تخمیر تولید گاز در ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ۱٦، ۲٤، ۳٦، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت انکوباسیون در شکل (۱) نشان می‌دهد که در ساعات اولیه انکوباسیون (تا ۸ ساعت) روند تخمیر تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت و یکسان بود (p > ۰/۰٥). که می‌تواند ناشی از تأخیر در اتصال میکروارگانیسم‌ها به سوبسترا و رقابت بین جمعیت میکروبی در این اتصال باشد. داده‌های فراسنجه‌های تولید گاز ارائه شده در جدول (۲) نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین پتانسیل تولید گاز به ترتیب مربوط به جیره حاوی ۰/٥ درصد SRU جایگزین SBM و جیره حاوی ۱/۰ درصد CU جایگزین SBM (۳۱۲/۷٥ در مقابل ۲٦٥/۰۱ میلی‌لیتر در ساعت) بود (p < ۰/۰۰۱). بیش‌ترین ثابت نرخ تولید گاز برای جیره شاهد (۰/۰٥٦ میلی‌لیتر در ساعت) و کم‌ترین آن برای جیره حاوی ۱/۰ درصد CU جایگزین SBM بدون منبع اوره (۰/۰۳۸ میلی‌لیتر در ساعت) مشاهده شد.



شکل ۱- منحنی روند تولید گاز در ساعات انکوباسیون (p < ۰/۰٥)

Fig. 1. Gas production trend curve during incubation hours (p < 0.05)

جدول ۲- نتایج تولید گاز و فراسنجه‌های تغذیه‌ای گاز تولیدی جیره‌های آزمایشی حاوی منابع مختلف نیتروژن غیرپروتئینی

Table 2. Results of gas production and nutritional parameters of gas produced by experimental diets containing different NPN sources

	Experimental groups					SEM	*p*-value
	Control	0.5CU	0.5SRU	1.0CU	1.0SRU		
A	295.62a	284.99b	312.75a	265.01c	280.41b	7.355	< 0.001
C	0.056a	0.042bc	0.052a	0.038c	0.045b	0.002	< 0.001
IVOMD	73.05a	70.88ab	74.32a	62.45c	69.11bc	4.249	0.002
PF	4.78a	3.26c	4.48b	3.03c	4.13b	0.211	< 0.001
MBP	101.42a	82.84b	105.36a	75.45c	83.11b	4.955	< 0.001
EMBP	0.49a	0.48ab	0.52a	0.43c	0.48ab	0.011	< 0.001
ME	6.15a	5.88bc	6.23a	5.54c	6.01ab	0.428	0.01
SCFA	0.611b	0.525c	0.641a	0.513d	0.617a	0.118	< 0.001

* کنترل: جیره شاهد (بدون اوره)؛ 0.5CU: جیره حاوی ۰/۵ درصد CU جایگزین SBM؛ 0.5SRU: جیره حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM؛ 1.0CU: جیره حاوی ۱/۰ درصد CU جایگزین SBM؛ و 1.0SRU: جیره حاوی ۱/۰ درصد SRU جایگزین؛ A: حداکثر پتانسیل تولید گاز (تولید گاز بخش محلول و غیرمحلول) برحسب میلی‌لیتر/ساعت؛ C: ثابت نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر/ساعت)؛ PF: شاخص تفکیک براساس میلی‌گرم ماده آلی قابل هضم به حجم گاز تولیدی؛ EMPS: راندمان تولید توده میکروبی، MBP: تولید توده میکروبی بر حسب میلی‌گرم، IVOMD: ماده آلی قابل تجزیه در شرایط آزمایشگاهی براساس درصد؛ ME: انرژی قابل متابولیسم برحسب مگاژول در کیلوگرم ماده خشک؛ SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول)؛ SEM: میانگین خطای استاندارد؛ حروف غیر مشترک در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار است (p < ۰/۰۵).

* Control: control diet (without urea); 0.5CU: diet containing 0.5% CU as a substitute for SBM; 0.5SRU: diet containing 0.5% SRU as a substitute for SBM; 1.0CU: diet containing 0.1% CU as a substitute for SBM; and 1.0SRU: diet containing 0.1% SRU as a substitute for SBM; A: maximum gas production potential (gas production of soluble and insoluble fractions) in ml/h; C: gas production rate constant (ml/h); PF: separation index based on mg of digestible organic matter per volume of gas produced; EMPS: microbial mass production efficiency; MBP: microbial mass production in mg; IVOMD: in vitro degradable organic matter in percent; ME: metabolizable energy in megajoules per kilogram of dry matter; SCFA: short-chain fatty acids (mmol); SEM: standard error of the mean; Non-common letters in each row indicate significant differences (p < 0.05).

جدول ۳- نتایج ناپدید شدن ماده‌ی مغذی جیره‌های آزمایشی حاوی منابع مختلف NPN

Table 3. Nutrient disappearance results of experimental diets containing different NPN sources

Incubation time	Experimental diets*					SEM	*p*-value
	Control	0.5CU	0.5SRU	1.0CU	1.0SRU		
Dry matter (%)							
12h	65.38a	62.12a	64.48a	59.36b	63.08a	4.56	0.039
24h	76.74a	67.51bc	75.24a	62.08c	69.35b	5.62	0.043
48h	84.29a	70.22bc	81.55a	68.14c	75.71b	5.77	0.001
Crude protein (%)							
12h	55.18a	50.19b	52.02b	48.77b	50.35b	5.32	0.031
24h	69.09a	53.11c	64.85b	51.33c	60.74b	6.12	0.002
48h	82.41a	65.55c	78.43ab	63.97c	73.87bc	6.85	0.015

* کنترل: جیره شاهد (بدون اوره)؛ 0.5CU: جیره حاوی ۰/۵ درصد CU جایگزین کنجاله سویا (SBM)؛ 0.5SRU: جیره حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM؛ 1.0CU: جیره حاوی ۱/۰ درصد CU جایگزین SBM؛ و 1.0SRU: جیره حاوی ۱/۰ درصد SRU جایگزین؛ SEM: میانگین خطای استاندارد، حروف غیرمشترک در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار است (p < ۰/۰۵).

* Control: control diet (without urea); 0.5CU: diet containing 0.5% CU as a substitute for SBM; 0.5SRU: diet containing 0.5% SRU as a substitute for SBM; 1.0CU: diet containing 0.1% CU as a substitute for SBM; and 1.0SRU: diet containing 0.1% SRU as a substitute for SBM; SEM: standard error of the mean; different letters in each row indicate significant differences (p < 0.05).

بحث

در راستای نتایج بدست آمده عنوان شده است در زمان‌های اولیه انکوباسیون بعلت تجزیه سریع اوره به آمونیاک و در دسترس بودن نیتروژن آزاد برای میکروارگانیسم‌های موجود در محیط کشت، سرعت تخمیر مواد مغذی بالا بوده و حجم گاز تولیدی تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۱۳، ۲۱). در مطالعه‌ی که اخیراً گزارش گردید عنوان شده است گازی که طی ساعات اولیه انکوباسیون تولید می‌شود گاز تولیدی مرتبط با بخش سریع‌الهضم (محلول) می‌باشد (۱۳). با گذشت زمان یعنی در ۸ ساعت بعد از انکوباسیون حجم گاز تولیدی برای جیره حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM به‌طور معنی‌دار نسبت به جیره شاهد و سایر جیره‌های حاوی نیتروژن غیرپروتئینی افزایش یافت. راب و همکاران (۲۲) تکنیک تولید گاز را به‌عنوان روشی برای تخمین تجزیه‌پذیری پروتئین خوراک‌های رایج پیشنهاد کرد. با این‌حال، مشخص شده است که همزمانی بین انرژی سهل‌الهضم و نیتروژن تجزیه‌پذیر در شکمبه تأثیر مهمی در سنتز پروتئین میکروبی و مانع از هدرروی نیتروژن به شکل آمونیاک می‌شود (۲۳). با توجه به منحنی تولید گاز تیمار حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM تا زمان ۹٦ ساعت حجم گاز تولیدی بیش‌تری نسبت به سایر تیمارها نشان داد. منحنی تولید گاز با توجه به ماهیت ماده تخمیر شونده شامل دو مرحله است بخش محلول در آب و بخش دیگر ماده نامحلول در آب می‌باشد (۱۳). که منحنی سیگموئیدی (**S**) را تشکیل می‌دهد و سه مرحله‌ای می‌باشد شامل نفوذ آب به ذرات خوراک و چسبیدن باکتری، مرحله دوم به‌صورت نمایی و بیانگر هضم آنزیمی بوده و نهایتاً تولید گاز متوقف شده و به مرحله صفر می‌رسد (۲۲). در مطالعه‌ی حاضر کلیه منحنی‌های تولید گاز از الگوی فوق تبعیت کرد. اندک گاز تولیدی در ساعات پایانی ناشی از لاشه باکتری‌های تولید شده ناشی از تخمیر می‌باشد که خود سوبسترای دیگر اجرام میکروبی داخل ویال‌ها بوده که طبق گزارش لوپز و همکاران (۲٤) مقدار گاز تولید شده جزئی در ساعات پایانی انکوباسیون را توجیه می‌کند. مطالعات قبلی گزارش دادند غلظت بالای آمونیاک به‌واسطه اشباع شدن محیط و سمّیت برای باکتری‌های شکمبه باعث کاهش هضم‌پذیری ذرات خوراک می‌گردد (۲۵، ۲٦). در مطالعه حاضر مقدار ماده آلی تجزیه‌شده برای سوبستراهای مورد بررسی در زمان $T_{1/2}$ برای جیره حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM همانند جیره شاهد نسبت به جیره‌های حاوی ۰/۵ و ۱/۰ درصد CU جایگزین SBM بیش‌تر بود. بیش‌ترین مقدار شاخص تفکیک (PF) برای جیره شاهد و کم‌ترین مقدار برای جیره حاوی ۱/۰ درصد CU جایگزین SBM بود. در مطالعه حاضر مقادیر شاخص تفکیک (PF) از ۳/۰۳ تا ٤/۷۸ متغیر بود و در محدوده نظریه‌ی بلومل و همکاران (۱۷) بود که دامنه شاخص تفکیک را ۲/۷۵ تا ٤/٤۱ گزارش کردند؛ همسو با نتایج حاضر، صادقی و همکاران نیز در مطالعه‌ی خود شاخص تفکیک را در این محدوده‌ی عنوان نمودند و بیش‌ترین مقدار PF را برای تیماری که حاوی ۰/۳۸ درصد ماده خشک از *SRULab* در جیره لحاظ شده بود، گزارش کردند (۱۳). حداکثر نمودن تولید پروتئین میکروبی از خوراک تخمیر شده در شکمبه به‌عنوان یک اصل در تغذیه نشخوارکنندگان پذیرفته شده است به‌طوری که افزایش بازدهی پروتئین میکروبی منجر به افزایش پروتئین عبوری از شکمبه به روده باریک می‌گردد و در عوض باعث کاهش اتلاف کربن خوراک در قالب گازهای تخمیری می‌گردد (۱، ۲۷). تولید توده میکروبی (MBP) و راندمان تولید توده میکروبی (EMBP) برای جیره حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM و جیره شاهد بیش‌ترین مقدار

مشاهده شد (جدول ۲). همسو با نتایج ما، صادقی و همکاران گزارش کردند با افزایش غلظت اوره راندمان تولید پروتئین میکروبی کاهش یافت (۱۳). عنوان شده است که بیشتر از ٦۰ درصد نیتروژن اوره‌ای که از شکمبه گاوهای شیرده خارج می‌شود را پروتئین میکروبی تشکیل می‌دهد (۲۸، ۲۹) و حدود ۸۰ درصد این پروتئین در روده باریک گوارش‌پذیری دارد و نسبت اسید آمینه‌های لیزین و متیونین در پروتئین میکروبی با نسبت این اسیدهای آمینه در شیر مشابه می‌باشد (۳۰). بنابراین اتخاذ هر استراتژی که بتواند منجر به تولید حداکثر پروتئین میکروبی شود نه تنها بازدهی نیتروژن مصرفی را افزایش می‌دهد بلکه باعث کاهش هزینه‌های تمام شده خوراک و نیز کاهش آلودگی‌های محیط زیستی می‌گردد (۱). گزارش شده است بعلت آزادسازی تدریجی اوره در فرم محافظت شده آن بخش محلول‌پذیری کاهش یافته و از اشباع تولید آمونیاک در ویال انکوباسیون جلوگیری می‌کند که منجر به افزایش بازده تولید پروتئین میکروبی می‌شود (۱۳، ۳۱). بیش‌ترین مقدار انرژی قابل متابولیسم مربوط به جیره حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM برابر ٦/۲۳ مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک بود. جیره‌های حاوی نیتروژن غیر پروتئینی محافظت شده با پلیمر (جیره سوم و پنجم) از نظر ME نسبت به جیره شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت ($p > ۰/۰۵$)، اما جیره‌های حاوی اوره معمولی ME کم‌تری نسبت به جیره شاهد و جیره حاوی ۰/۵ و ۱/۰ درصد SRU جایگزین SBM برابر بودند ($p < ۰/۰۵$). همچنین به طور معنی‌دار بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار اسیدهای چرب زنجیر کوتاه (SCFA) به ترتیب برای جیره سوم حاوی ۰/۵ درصد SRU جایگزین SBM و جیره حاوی ۱/۰ درصد CU جایگزین SBM بدست آمد (۰/٦٤۱ در مقابل ۰/۵۱۳ درصد میلی‌مول $p < ۰/۰۵$). تجزیه کربوهیدرات‌ها در شرایط تخمیر آزمایشگاهی به قندهای ساده (هگزوزها) تبدیل می‌گردد، که جهت نگهداری و یا رشد میکروارگانیسم‌های دخیل در تخمیر مورد نیاز است (۲۲). از باقیمانده این فرآیند تجزیه کربوهیدرات‌ها تولید اسیدهای چرب فرار که به‌عنوان منبع انرژی برای حیوان میزبان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۷). انرژی قابل متابولیسم یک خوراک نمایانگر آن قسمتی از خوراک که توسط حیوان مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مطالعه‌ی حاضر اثر منفی اوره محافظت نشده روی پارامترهای تغذیه‌ای تولید گاز از جمله ME و SCFA مشهود بود. همسو با نتایج ما اسپانگرو و همکاران (۲۰۱۸) عنوان کردند که با افزایش غلظت NPN جیره مقدار انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب زنجیر کوتاه کاهش معنی‌داری داشت (۳۲). برخلاف نتایج بدست آمده، در مطالعه دیگر مقدار SCFA تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت (۳۱). که احتمالاً به غلظت NPN استفاده شده در جیره، مایع شکمبه، نوع دام، جیره پایه و غیره بستگی داشته باشد. محققین عنوان نمودند که بین میزان ME، حجم گاز تولیدی زمان ۲٤ انکوباسیون و ترکیبات موجود در نمونه خوراک ارتباط قوی وجود دارد (۱٦، ۱۷). بنابراین ماده‌ی مغذی موجود در خوراک سرعت تخمیر را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۲). به‌عنوان مثال هر چه غلظت اوره و NPN در ترکیب جیره افزایش یابد، احتمال کاهش انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب فرار نیز کاهش خواهد یافت (۱٦). در این شرایط در اثر تجزیه‌پذیری ذرات خوراک به جای تولید اسیدهای چرب فرار (منبع اصلی انرژی برای میزبان) به سمت تولید آمونیاک پیش خواهد رفت (۱۹). میزان ناپدید شدن ماده‌ی خشک و پروتئین خام در شرایط آزمایشگاهی جیره حاوی منابع مختلف نیتروژن غیر پروتئینی جایگزین کنجاله سویا در جدول (۳) نشان داده شده است. درصد ناپدید شدن

ماده‌ی خشک و پروتئین خام در ساعات ۱۲، ۲٤ و ٤۸ انکوباسیون در بین جیره‌های آزمایشی اختلاف معنی‌دار داشت ($p < ۰/۰٥$). نتایج این‌گونه بود که کم‌ترین درصد ناپدید شدن ماده‌ی خشک و پروتئین خام برای جیره چهارم که حاوی ۱/۰ درصد CU جایگزین SBM بود، بدست آمد. جیره‌های حاوی اوره معمولی روی تجزیه‌پذیری ماده خشک و پروتئین خام اثر کاهشی معنی‌دار نشان داد ($p < ۰/۰٥$). و لازم به ذکر است در تمام ساعات انکوباسیون سطح ۰/٥ درصد جایگزین کنجاله سویا با SRU اثر مشابه با جیره شاهد داشت. نتایج مطالعه‌ی حاضر، با برخی گزارشات همخوانی داشت (۳۳ و ۳٤). در مقابل، برخی مطالعات حاکی از آن است که غلظت بالای منابع اوره محافظت شده، درصد گوارش‌پذیری ماده‌ی خشک و فیبر شویده خنثی را افزایش داد (۲ و ۳٥). شین و همکاران، (۲۰۱۰) هیچ تفاوتی معنی‌دار در گوارش‌پذیری ماده مغذی جیره گاوهای شیری حاوی CU و یا SRU با پلی‌اورتان گزارش نکردند (۳٤). همچنین گاردینال و همکاران، (۲۰۱۷) عنوان کردند که تجزیه‌پذیری ماده‌ی مغذی در کل دستگاه گوارش با گنجاندن ۲ درصد SRU در جیره غذایی بوفالوها هیچ تفاوت معنی‌دار نشان نداد (۳۳). در مقابل گو و همکاران، (۲۰۱۸) گزارش دادند که تجزیه‌پذیری ماده‌ی خشک جیره غذایی حاوی کنسانتره بالا با افزایش غلظت SRU افزایش یافت (۲). مطالعه دیگری نشان داد است که افزایش تجزیه‌پذیری پروتئین خام کل دستگاه گوارش هنگام تغذیه گاوهای شیرده با جیره حاوی SRU مشاهده شد (۳٦). اساس بکارگیری SRU به‌عنوان منبع نیتروژن جهت افزایش فعالیت میکروبی فیبرولایتیک و تولید پروتئین میکروبی و کاهش انتشار ازت آمونیاکی است (۱۳). منبع پایدار ازت غیر پروتئینی (محافظت شده از دسترس میکروارگانیسم‌ها) می‌تواند بر گوارش‌پذیری بهینه ماده‌ی مغذی در محیط شکمبه تأثیر بگذارد (۳۲). اما مقالات مختلف در مورد غلظت بهینه نیتروژن آمونیاک برای گوارش‌پذیری الیاف خوراک متفاوت می‌باشد (۳۷، ۳۸). ران و همکاران، (۲۰۲۱) گزارش کردند که سطح نیتروژن آمونیاکی بیش‌تر از ٥ mg/dl برای افزایش جمعیت باکتری‌های سلولولایتیک ضروری است (۳۷). در حالی‌که علیپور و همکاران، (۲۰۱۸) اظهار داشتند که هر جیره غذایی دارای غلظت آمونیاک بهینه است زیرا تولید پروتئین میکروبی و مصرف آمونیاک به سرعت و نرخ تخمیر کربوهیدرات مربوط می‌شود (۲). در مطالعه حاضر، علت این‌که در جیره حاوی ۰/٥ و ۱/۰ درصد SRU جایگزین SBM قابلیت هضم مواد مغذی نسبت به جیره پایه تغییر نکرد آزادسازی تدریجی ماده‌ی نیتروژنی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که استفاده از منابع مختلف نیتروژن غیر پروتئینی به‌جای کنجاله سویا مخصوصاً نوع محافظت شده آن بدون آن‌که اثر مخربی بر روند تخمیر و ناپدید شدن ماده مغذی داشته باشد، یک جایگزین مناسب برای منابع پروتئینی گیاهی گران‌قیمت که بخش قابل توجه آن در شکمبه تجزیه‌پذیر است می‌باشد در کنار این مطلب از انتشار نیتروژن آمونیاکی نیز جلوگیری می‌کند و از اتلاف ماده مغذی مخصوصاً انرژی مورد نیاز حیوان میزبان ممانعت می‌کند. نیتروژن غیر پروتئینی محافظت شده که آزادسازی تدریجی را برای ازت در شکمبه فراهم می‌کند یک استراتژی تغذیه‌ای کارآمد برای افزایش قابلیت هضم ماده‌ی مغذی موجود در جیره می‌باشد. محصول مورد استفاده در این آزمایش از یک پوشش پلیمری برای محافظت کردن اوره بهره برده است که نتایج این مطالعه در موارد مورد بررسی در شرایط

آزمایشگاهی حاکی از آن است که روند پوشش‌دار کردن به درستی انجام شده است.

منابع

1. Azizi A, Sharifi A, Fazaeli H. Effect of one produced slow-release urea component on gas production, fermentation, nutrient disappearance and activity of microbial enzymes using rumen liquor of sheep. J Anim Sci. 2019;32(122):279-290

2. Alipour D, Saleem AM, Sanderson H, Brand T, Santos LV, Mahmoudi-Abyane M, Marami MR, McAllister TA. Effect of combinations of feed-grade urea and slow-release urea in a finishing beef diet on fermentation in an artificial rumen system. Translation Anim Sci. 2020; 4(2):839-847.

3. Guo Y, Xiao L, Jin L, Yan S, Niu D, Yang W. Effect of commercial slow-release urea product on in vitro rumen fermentation and ruminal microbial community using RUSITEC technique. J Anim Sci Biotechnol. 2022;13(1):56.

4. Amani-Yengejeh M, Taghizadeh A, Mohammadzadeh H, Hosseinkhani A, Shirmohammadi S, Abachi S, et al. Utilisation of slow-release non-protein nitrogen produced from agro-industrial by-products: feed digestibility and ruminal parameters. J Anim Feed Sci. 2023; 32(1):76-84.

5. Getahun D, Alemneh T, Akeberegn D, Getabalew M, Zewdie D. Urea metabolism and recycling in ruminants. Biomed J Sci Tech Res, 2019;20(1):14790-14796.

6. Marini JC, Sands JM, Van Amburgh ME. Urea transporters and urea recycling in ruminants. In Ruminant physiology (pp. 155-171). Wageningen Academic, 2006; pp. 155-17.

7. Ma SW, Faciola AP. Impacts of slow-release urea in ruminant diets: A review. Fermentation. 2024;10(10):527.

8. Salami SA, Moran CA, Warren HE, Taylor-Pickard J. Meta-analysis and sustainability of feeding slow-release urea in dairy production. Plos One. 2021; 16(2):e0246922.

9. Salami SA, Moran CA, Warren HE, Taylor-Pickard J. A meta-analysis of the effects of slow-release urea supplementation on the performance of beef cattle. Animals. 2020;10(4):657.

10. Trei J, Hale WH, Theurer B. Effect of grain processing on in vitro gas production. J Animal Sci. 1970;30(5):825-831.

11. AOAC. Official methods of analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemist. Arlington, V.A. 2005; pp:806-842.

12. Fedorah PM, Hrudey SE. A simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultures in serum bottles. Environ Technol. 1983;4(10):425-432.

13. Sadeghi K, Ganjkhanlou M, Dehghan Banadaky M, sadeghi M, Zali A, Tagizadeh A. Evaluating the effects of dietary supplementation with different sources of urea on nitrogen release rate, fermentation kinetics, gas production parameters and nutrient disappearance rate in Vitro. Iran J Anim Sci. 2024;52(4):38-51. In Persian

14. McDougall EI. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. Biochem J. 1948;43(1):99.

15. Ørskov ER, McDonald I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J Agric Sci. 1979;92(2):499-503.

16. Blümmel M, Makkar HPS, Becker K. In vitro gas production: a technique revisited. Journal of animal physiology and animal nutrition, 1997;77(1-5):24-34.

17. Blümmel M, Bullerdieck P. The need to complement in vitro gas production measurements with residue determinations from in Sacco degradabilities to improve the prediction of voluntary intake of hays. Animal Sci. 1997;64(1):71-75.

18. Parnian-Khajehdizaj F, Taghizadeh A, Hosseinkhani A, Mesgaran MD. Evaluation of dietary supplementation of B vitamins and HMBI on fermentation kinetics, ruminal or post-ruminal diet digestibility using modified in vitro techniques. J BioSci Biotechnol. 2018;7(2-3):125-133.

19. Parnian-Khajehdizaj FP, Taghizadeh, A, Nobari BB. Effect of feeding microwave irradiated sorghum grain on nutrient utilization, rumen fermentation and serum metabolites in sheep. Livestock Sci. 2014;167:161-170.

20. VanSoest PV, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J Dairy Sci. 1991;74(10):3583-3597.

21. Wanapat M, Phesatcha K, Kang S. Rumen adaptation of swamp buffaloes (Bubalus bubalis) by high level of urea supplementation when fed on rice straw-based diet. Tropic Anim Health Prod. 2016; 48:1135-1140.

22. Raab L, Cafantaris B, Jilg T, Menke KH. Rumen protein degradation and biosynthesis: 1. A new method for determination of protein degradation in rumen fluid in vitro. Br J Nutr. 1983;50(3): 569-582.

23. Cherdthong A, Wanapa M. In vitro gas production in rumen fluid of buffalo as affected by urea□calcium mixture in high□ quality feed block. J Anim Sci. 2014; 85(4):420-426.

24. López S, Dhanoa MS, Dijkstra JA, Bannink A, Kebreab E, France J. Some methodological and analytical considerations regarding application of the gas production technique. Anim Feed Sci Technol. 2007;135(1-2):139-156.

25. Highstreet A, Robinson PH, Robison J, Garrett JG. Response of Holstein cows to replacing urea with a slowly rumen released urea in a diet high in soluble crude protein. Livestock Sci. 2010;129(1-3):179-185.

26. Ceconi I, Ruiz-Moreno MJ, DiLorenzo N, DiCostanzo A, Crawford GI. Effect of urea inclusion in diets containing corn dried distillers grains on feedlot cattle performance, carcass characteristics, ruminal fermentation, total tract digestibility, and purine derivatives-to-creatinine index. J Anim Sci. 2015; 93(1):357-369.

27. Anele UY, Südekum KH, Hummel J, Arigbede OM, Oni AO, Olanite JA, Böttger, C, Ojo VO, Jolaosho AO. Chemical characterization, in vitro dry matter and ruminal crude protein degradability and microbial protein synthesis of some cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) haulm varieties. Anim Feed Sci Technol. 2011; 163(2-4):161-169.

28. Reynal SM, Broderick GA. Effects of feeding dairy cows protein supplements of varying ruminal degradability. J Dairy Sci. 2003;86(3):835-843.

29. Korhonen M. Amino acid supply and metabolism in relation to lactational performance of dairy cows fed grass silage based diets (Doctoral dissertation, Helsingin yliopisto). 2003; P:355.

30. National Research Council, Committee on Animal Nutrition and Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition, Nutrient requirements of dairy cattle: 2001. National Academies Press. 2001; p:178.

31. Guo Y, Xiao L, Jin L, Yan S, Niu D, Yang W. Effect of commercial slow-release urea product on in vitro rumen fermentation and ruminal microbial community using RUSITEC technique. J Anim Sci Biotechnol. 2022;13(1):56.

32. Spanghero M, Nikulina A, Mason F. Use of an in vitro gas production procedure to evaluate rumen slow-release urea products. Anim Feed Sci Technol. 2018; 237:19-26.

33. Gardinal R, Calomeni GD, Cônsolo NRB, Takiya CS, Freitas JE, Gandra JR, et al. Influence of polymer-coated slow-

36. Galo E, Emanuele SM, Sniffen CJ, White JH, Knapp JR. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. J Dairy Sci. 2003;86(6):2154-2162.

37. Ran T, Jin L, Abeynayake R, Saleem AM, Zhang X, Niu D, et al. Effects of brewers' spent grain protein hydrolysates on gas production, ruminal fermentation characteristics, microbial protein synthesis and microbial community in an artificial rumen fed a high grain diet. J Anim Sci Biotechnol. 2021;12(1):1-14.

38. Mehrez AZ, Ørskov ER, McDonald I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. Br J Nutr. 1977; 38(3):437-443.

release urea on total tract apparent digestibility, ruminal fermentation and performance of Nellore steers. Asian-Australasian J Anim Sci. 2017;30(1):34.

34. Xin HS, Schaefer DM, Liu QP, Axe DE, Meng QX. 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 J Anim Sci. 2010;23(4): 491-500.

35. Calomeni GD, Gardinal R, Venturelli BC, Freitas Júnior JED, Vendramini THA, Takiya CS, et al. Effects of polymer-coated slow-release urea on performance, ruminal fermentation, and blood metabolites in dairy cows. R. Bras. Zootec. 2015;44:327-334.