Animal Production Research

Vol. 14, No. 2, 2025 (31-46)
doi: 10.22124/ar.2025.26928.1816
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872

University of Guilan

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Influence of replacing soybean meal and cottonseed meal with commercial supplement of mixed concentrate on feed intake, activity of hydrolytic enzymes, rumen parameters, and liver enzymes of Dalagh ewes

A. Teymouri, A. Toghdory*, T. Ghoorchi, M. Asadi, K. Ghezelsofli

Department of Animal and Poultry Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

(Received: 04-03-2024 – Revised: 07-03-2025 – Accepted: 17-03-2025 – Available online: 13-04-2025)

Abstract

Introduction: Soybean meal is one of the main sources of protein in animal nutrition; however, its high price and limited production have constrained its widespread use. As global demand for animal products continues to rise, identifying alternative protein sources that can effectively replace soybean meal is crucial for sustainable animal nutrition and production. Soybean meal undergoes extensive protein degradation in the rumen, which is often undesirable for ruminant nutrition. In recent years, cotton cultivation has expanded in Golestan province, Iran, increasing the availability of cottonseed meal as a potential alternative protein source. Utilizing agricultural by-products like cottonseed meal in livestock diets can help reduce reliance on soybean meal while promoting sustainable feed formulations. Cottonseed meal contains lower energy and protein levels than soybean meal but has a higher proportion of rumen-undegradable protein (RUP). Incorporating bypass protein in ruminant diets enhances the availability of essential amino acids, supporting growth and productivity. Since microbial protein alone cannot fully meet the protein requirements for optimal production, ruminants benefit from dietary sources of RUP to ensure sufficient nutrient supply. The commercial mixed concentrate supplement is a formulated blend containing poultry meat by-products, cotton waste, rice bran, wheat bran, corn meal, pistachio powder, and corn steep liquor. This mixture is processed under steam and high pressure in a conditioner, making it a viable protein source for animal diets. Its significance lies in providing a combination of both plant- and animal-derived proteins, which may offer superior nutritional benefits compared to solely plant-based protein sources. This study aimed to evaluate the effects of replacing soybean meal and cottonseed meal with a commercial mixed concentrate supplement on feed intake, hydrolytic enzyme activity, rumen fermentation parameters, and liver enzyme activity in lactating Dalagh ewes.

Materials and methods: Twenty-one lactating Dalagh ewes in their sixth week of lactation (38±2.6 kg) were randomly assigned to three dietary treatments, with seven ewes per group. The treatments included: (1) A basal diet supplemented with soybean meal, (2) A basal diet supplemented with cottonseed meal, and (3) A basal diet supplemented with a mixed concentrate. The experiment lasted for 42 days. Ewes were weighed at the beginning and end of the experimental period. Feed refusals were weighed daily, and daily feed intake was calculated by subtracting refusals from the feed offered. Rumen fluid sampling was conducted on day 42, three hours post-feeding, using an esophageal tube. The rumen pH was immediately measured and recorded using a mobile digital pH meter (Metrohm Laboratory pH Meter-691), which was calibrated on-site before use. The ammonia nitrogen concentrations were measured in the samples using standard methods. In addition, the Dehority and Males method was used to count protozoa. The rumen fluid was filtered with a cloth in a test tube wrapped in foil, then 4 mL of

* Corresponding author: Toghdory@gau.ac.ir

CC BY

rumen fluid was poured. After that, 1 mL of 18.5% formalin, 5 drops of methylene blue dye, and 3 mL of glycerol were added. Counting of protozoa was done by a microscope and a lens with 40X magnification by a Neobar slide. To determine the concentration of volatile fatty acids, 5 mL rumen fluid samples were collected, and 1 mL of 25% metaphosphoric acid was added to each sample to preserve them. The samples were then stored at -20 °C until analysis. The extraction of ruminal hydrolytic enzymes, including carboxymethyl-cellulase and microcrystalline-cellulase, was performed following the method described by Hristov.

Results and discussion: The results indicated that dry matter intake (DMI) was significantly higher in the group receiving the mixed concentrate compared to the other treatments (P<0.05). Additionally, calves in the mixed concentrate group exhibited a significant increase in daily milk production compared to those receiving soybean meal or cottonseed meal (P<0.05). Addition of mixed concentrate to the diet of ewes caused a significant decrease in rumen pH and a significant increase in ammonia nitrogen and rumen protozoa population compared to other treatments (P<0.05). Also, rumen acetate concentration decreased under the influence of mixed concentrate consumption, while rumen propionate concentration increased in the rumen of ewes receiving mixed concentrate (P<0.05). But the concentration of butyrate, isobutyrate, valerate, isovalerate, and total rumen volatile fatty acids was not affected by the experimental treatments. The activity of carboxymethyl cellulose and microcrystalline cellulose enzymes in the cell section, extracellular section, solid part, and total rumen parts in the treatments receiving soybean meal and cottonseed meal was higher than in the treatment receiving mixed concentrate (P<0.05). There were no significant differences among the experimental treatments in serum concentrations of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, and alkaline phosphatase (P>0.05).

Conclusions: The results obtained showed that soybean meal and cottonseed meal can be completely replaced in the diet of ewes without affecting feed intake or rumen health.

Keywords: Liver enzymes, Cottonseed meal, Soybean meal, Sheep, Feed intake

Ethics statement: This study was conducted with the full consideration of animal welfare and the approval of this study was granted by the Ethics Committee of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.

Data availability statement: The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.

Funding: The authors received no specific funding for this project.

Acknowledgment: The authors thank the Department of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, for providing the laboratory and field facilities for this research.

How to cite this article:

Teymouri, A., Toghdory, A., Ghoorchi, T., Asadi, M., & Ghezelsofli, K. (2025). Influence of replacing soybean meal and cottonseed meal with commercial supplement of mixed concentrate on feed intake, activity of hydrolytic enzymes, rumen parameters, and liver enzymes of Dalagh ewes. *Animal Production Research*, *14*(2), 31-46. doi: 10.22124/ar.2025.26928.1816

تحقیقات تولیدات دامی

سال چهاردهم/شماره دوم/تابستان ۱۴۰۴ (۴۶-۳۱)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

تأثیر جایگزینی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه با مکمل تجاری کنسانتره میکس بر مصرف خوراک، فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک، فراسنجه‌های شکمبه‌ای و آنزیم‌های کبدی میش‌های دالاق

آیدا تیموری، عبدالحکیم توغدری*، تقی قورچی، محمد اسدی، کوثر قزلسفلی

گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۴ – تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۲/۱۷ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۷ – تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۴/۰۱/۲۴)

چکیده

در این تحقیق، اثر جایگزینی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه با مکمل تجاری کنسانتره میکس (متشکل از پودر گوشت بدون خون، ضایعات پنبه، سبوس شالی، سبوس گندم، کنجاله جوانه ذرت، پودر پسته و خیساب ذرت) بر مصرف خوراک، فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک، فراسنجه‌های شکمبه‌ای و آنزیم‌های کبدی میش‌های دالاق بررسی شد. بدین منظور، از تعداد ۲۱ رأس میش شیرده سه شکم زایش نژاد دالاق با میانگین وزنی ۲/۶±۳۸ کیلوگرم و شش هفته پس از زایش در سه تیمار و هفت تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تیمارها شامل: جیره حاوی کنجاله سویا، جیره حاوی کنجاله پنبه‌دانه و جیره حاوی کنسانتره میکس بودند. طول دوره آزمایش برابر با ۴۲ روز بود. نتایج نشان داد که ماده خشک مصرفی در تیمار حاوی کنسانتره میکس نسبت به سایر تیمارها افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). افزودن کنسانتره میکس به جیره میش‌ها سبب کاهش معنی‌دار pH شکمبه و افزایش معنی‌دار نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوآی شکمبه نسبت به سایر تیمارها شد ($P<۰/۰۵$). غلظت استات شکمبه تحت تأثیر مصرف کنسانتره میکس کاهش یافت، در حالی که غلظت پروپیونات شکمبه در شکمبه میش‌های تیمار حاوی کنسانتره میکس افزایش یافت ($P<۰/۰۵$)، اما غلظت بوتیرات، ایزوبوتیرات، والرات، ایزووالرات و کل اسیدهای چرب فرار شکمبه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. فعالیت آنزیم‌های کربوکسی‌متیل‌سلولاز و میکروکریستالین‌سلولاز در بخش-های جامد، خارج سلولی، درون سلولی و کل شکمبه در تیمارهای حاوی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه بیشتر از تیمار حاوی کنسانتره میکس بود ($P<۰/۰۵$). اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف آزمایشی از نظر غلظت آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز مشاهده نشد. با توجه به نتایج حاضر، کنسانتره میکس را می‌توان به‌طور کامل جایگزین کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه کرد و تا سطح ۱۵ درصد در جیره میش‌ها استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های کبدی، کنجاله پنبه‌دانه، کنجاله سویا، گوسفند، مصرف خوراک

* نویسندهٔ مسئول: Toghdory@gau.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2025.26928.1816

مقدمه

برای حفظ موضع رقابتی در بازار جهانی، صنعت دام به‌طور فعال به‌دنبال راهبردهای پایدار و عملی است. هدف این راهکارها، تولید و تأمین پروتئین غذایی و مواد معدنی است، در حالی که به‌طور همزمان از عملکرد مناسب و حفظ سطح سلامت بهینه حیوان اطمینان حاصل شود. کنجاله سویا از دیرباز به‌عنوان مناسب‌ترین مکمل گیاهی تأمین‌کننده احتیاجات پروتئینی در جیره دام مورد استفاده قرار گرفته است، اما به دلیل وجود مشکلاتی مانند نوسانات قیمت محصول، خروج ارز از کشور و افزایش قیمت تمام شده جیره، استفاده از آن با محدودیت‌هایی مواجه شده است (Silva et al., 2015; Palmieri et al., 2016). بنابراین با افزایش تقاضای جهانی برای تولید دام و طیور، شناسایی مواد خام جایگزینی که می‌تواند جایگزین کنجاله سویا شود به‌طور فزاینده‌ای ضرورت یافته است (He et al., 2024). درصد بالایی از پروتئین کنجاله سویا در شکمبه به‌نفع ساخت پروتئین میکروبی تجزیه می‌شود که نامطلوب است (Singh et al., 2019). محصولات فرعی کشاورزی حاصل از استخراج روغن‌های گیاهی، مانند کنجاله پنبه‌دانه، می‌توانند از گزینه‌های جایگزین به‌عنوان منبع پروتئینی گیاهی برای کنجاله سویا باشند (Imaizumi et al., 2016; Asadi et al., 2021). کنجاله پنبه‌دانه از سطوح پایین‌تری از انرژی و پروتئین نسبت به کنجاله سویا برخوردار است، اما دارای پروتئین غیرقابل تجزیه بیشتری در شکمبه است (Broderick et al., 2013) و استفاده از پروتئین عبوری در جیره، باعث بهبود دسترسی به پروتئین مورد نیاز حیوان می‌شود (Singh et al., 2019). کنجاله پنبه‌دانه مقدار اندکی اسیدآمینه ضروری لیزین دارد و با اینکه می‌تواند جایگزین مناسبی برای کنجاله سویا باشد، اما به‌علت وجود ترکیب ضدتغذیه‌ای گوسیپول در کنجاله پنبه دانه و باند شدن آن با اسیدآمینه لیزین که باعث کمبود شدیدتر لیزین می‌شود، استفاده از آن در جیره دام با محدودیت مواجه می‌شود (Broderick & Brito, 2007).

مکمل تجاری کنسانتره میکس، نام مخلوطی است که حاوی مقادیری از پودر گوشت بدون خون، خیساب ذرت، سبوس شالی، سبوس گندم، کنجاله جوانه ذرت، پودر ضایعات پسته، شامل پوست نرم و رنگین پسته و بخشی از شاخه و برگ درخت، و ضایعات پنبه، شامل درصدی پنبه‌دانه، کرک، پوسته، ساقه و برگ است و از آن می‌توان به‌عنوان منبع پروتئینی در جیره دام استفاده نمود. مزیت مهم این کنجاله، در اختیار گذاشتن پروتئین‌های گیاهی و حیوانی به‌صورت همزمان است که به‌نظر می‌رسد می‌تواند از جایگزین‌های کنجاله‌های گیاهی باشد. ساختن ترکیبی حاوی هر دو نوع منبع پروتئینی گیاهی و حیوانی، علاوه بر کاهش قیمت، سبب ایجاد تعادل پروتئین‌ها می‌شود (Ghorbani et al., 2016). نیتروژن قابل دسترس در شکمبه که غالباً از بخش پروتئین قابل تجزیه خوراک به‌دست می‌آید و برای میکروب‌های شکمبه قابلیت استفاده دارد با افزایش سطح پروتئین قابل تجزیه در شکمبه در نشخوارکنندگان دارای تأثیر مثبتی بر بهبود عملکرد شکمبه است (Cochran et al., 1997)، اما نیازهای پروتئینی دام‌ها برای عملکرد و تولید بهینه به‌صورت کامل به‌وسیله پروتئین میکروبی تولید شده برآورده نمی‌شود. بر این اساس، تأمین مقدار مناسب پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه ضروری است (Shirazi et al., 2023). جایگزینی منابع پروتئین حیوانی در جیره به‌خاطر تجزیه‌پذیری آهسته در شکمبه و افزایش پروتئین عبوری سبب بهبود در کارآیی، رشد، تغییرات وزن و به‌دنبال آن، بهبود تولید دام می‌شود (Asadi & Shavandi, 2023). از محصولات استفاده شده در این کنسانتره، خیساب ذرت است که حدود ۳۰ درصد از پروتئین آن، پروتئین محلول است (Azizi-Shotorkhoft et al., 2016). کنجاله جوانه ذرت دارای ۲۰ تا ۳۰ درصد پروتئین خام بوده و دارای مقادیر بالایی از اسیدهای آمینه ضروری مانند لیزین، لوسین و آرژنین است (Toghdory et al., 2024a). تانن موجود در ضایعات پسته، با اتصال به پروتئین جیره، آن را از دسترس میکروارگانیسم‌های شکمبه خارج کرده و باعث کاهش تجزیه در شکمبه و سپس سبب افزایش ورود اسیدهای آمینه ضروری به روده و جذب در آن می‌شوند (Jolazadeh et al., 2015). پس، ساختن ترکیبی حاوی هر دو نوع منبع پروتئینی، علاوه بر کاهش قیمت، سبب ایجاد تعادل در هضم و جذب پروتئین‌ها می‌شود (Yazdi et al., 2009). افزایش مقدار ماده خشک مصرفی و بهبود عملکرد با افزایش سطح پروتئین عبوری در بزهای شیرده (Sampelayo et al., 1999) گزارش شده است.

با توجه به نکات قید شده در مورد اهمیت یافتن جایگزینی در دسترس و متوازن از نظر میزان جذب و عبور پروتئین از

شکمبه و فراهم نمودن اسیدهای آمینه ضروری که سبب بهبود رشد و عملکرد بهینه دام می‌شود و این نکته که اطلاعاتی در رابطه با جایگزینی کنجاله‌های گیاهی با مکمل تجاری کنسانتره میکس در جیره میش‌ها وجود ندارد، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر جایگزینی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه با مکمل تجاری کنسانتره میکس بر مصرف خوراک، فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک، فراسنجه‌های شکمبه‌ای و آنزیم‌های کبدی میش‌های دالاق انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور انجام این آزمایش، ۲۱ رأس میش شیرده سه بار زایش نژاد دالاق با میانگین وزنی ۲/۶±۳۸ کیلوگرم و شش هفته پس از زایش انتخاب شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و هفت میش (تکرار) در هر تیمار آزمایشی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره حاوی کنجاله سویا، ۲- جیره حاوی کنجاله پنبه‌دانه، و ۳- جیره حاوی کنسانتره میکس بودند. دام‌ها در هر تیمار پس از اطمینان یافتن از سلامتی جهت یک دوره ۴۲ روزه در قفس‌های انفرادی نگهداری شدند. جیره‌های آزمایشی بر اساس جداول احتیاجات غذایی نشخوارکنندگان کوچک (NRC, 2007) تنظیم شدند و جیره‌ها از لحاظ انرژی و پروتئین هم‌اندازه بودند و نسبت کنسانتره به علوفه نیز ۶۰ به ۴۰ بود. خوراک در حد اشتهای میش‌ها در دو نوبت صبح (ساعت ۸) و عصر (ساعت ۱۶) در اختیار آنها قرار گرفت. دام‌ها در تمام طول آزمایش، به‌طور آزاد به آب دسترسی داشتند. اجزای مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ نشان داده شده است. مکمل تجاری کنسانتره میکس مورد استفاده در این پژوهش حاوی مقادیری از پودرگ وشت بدون خون، ضایعات پنبه، سبوس شالی، سبوس گندم، کنجاله جوانه ذرت، پودر پسته و خیساب ذرت بود که تجزیه ترکیبات شیمیایی آن در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (بر حسب درصد ماده خشک یا واحد بیان شده)

Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimantal diets (% DM or as stated)

Ingredient	Diets containing different protein sources		
	Soybean meal	Cottonseed meal	Mixed concentrate
Alfalfa hay	20.00	20.00	20.00
wheat straw	20.00	20.00	20.00
Barley grain	15.00	15.00	15.00
Corn grain	14.00	14.00	14.00
Soybean meal	15.00	0.00	0.00
Cottonseed meal	0.00	15.00	0.00
Mixed concentrate	0.00	0.00	15.00
Wheat bran	6.76	6.59	6.62
Sugar beet pulp	6.00	6.00	6.00
Slow release urea	0.24	0.41	0.38
Salt	0.50	0.50	0.50
Calcium carbonate	1.00	1.00	1.00
Sodium Bicarbonate	0.50	0.50	0.50
Mineral-vitamin supplement*	1.00	1.00	1.00
Chemical composition			
Metabolizable energy (Mcal/kg DM)	2.33	2.32	2.31
Crude protein (%)	13.24	13.28	13.30
RDP (%)	7.98	7.94	7.60
RUP** (%)	5.26	5.34	5.70
Ash (%)	6.66	6.54	6.61
Crude fat (%)	1.78	1.74	1.82
NDF (%)	34.62	36.89	38.02
ADF (%)	17.28	16.89	16.01
Calcium (%)	0.86	0.89	0.92
Phosphorus (%)	0.38	0.39	0.41

*Vitamin-trace mineral pre-mix provides per kg of mixed ration: 1000000 IU Vitamin A; 75000 IU Vitamin D_3; 3000 mg Antioxidants; 150000 mg Ca; 60000 mg P; 300009 mg Mg; 2000 mg Mn; 3000 mg Fe; 500 mg Cu; 2500 mg Zn; 10 mg Co; 20 mg I. ** The RUP was calculated from tabular values.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی کنسانتره میکس، کنجاله سویا و کنجاله پنبه دانه (بر حسب درصد ماده خشک یا واحد بیان شده)
Table 2. Chemical composition of mixed concentrate, soybean meal, and cottonseed meal

Chemical composition	Mixed concentrate	Soybean meal	Cottonseed meal
Dry matter (%)	88.42	88.10	90.00
Metabolizable energy (Mcal/kg DM)	1.94	1.29	1.24
Crude protein (%)	35.47	46.14	37.70
Crude fat (%)	4.92	3.86	3.42
Ash (%)	3.96	4.22	5.16
NDF (%)	35.92	16.11	36.20
ADF (%)	11.64	8.07	22.00
Calcium (%)	0.57	0.33	0.27
Phosphorus (%)	0.74	0.67	0.94

میش‌ها در ابتدا و انتهای دوره توزین شدند. باقی‌مانده خوراک در هر روز وزن شده و با کسر از خوراک مصرف شده، مصرف خوراک روزانه محاسبه شد. نمونه‌گیری از مایع شکمبه در روز ۴۲ صورت گرفت. مایع شکمبه در زمان قبل از خوراک‌دهی صبح (ساعت صفر) و در ساعت‌های سه و شش بعد از خوراک‌دهی با سوند مری گرفته شد (Asadi et al., 2018a)، سپس، مقدار pH محتویات شکمبه بلافاصله پس از استحصال به‌وسیله دستگاه pHمتر دیجیتال سیار (Metrohm laboratory pH meter- 691) که در همان محل نیز کالیبره شده بود، اندازه‌گیری و ثبت شد. جهت اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه، از نمونه‌های سه ساعت بعد از خوراک‌دهی صبح استفاده شد. نمونه مایع شکمبه بعد از اندازه‌گیری pH با استفاده از پارچه چهار لایه متقال صاف شده و سپس، شیرابه حاصل با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال به‌نسبت ۵ به ۱ (پنج شیرابه به یک ۰/۲ HCl نرمال) رقیق شد و تا روز آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. جهت تعیین میزان نیتروژن آمونیاکی شکمبه از روش Broderick and Kang (1980) و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (Spectrophotometer-471-Germany) در طول موج ۶۳۰ نانومتر استفاده شد. برای شمارش پروتوزوآ از روش Dehority and Males (1984) استفاده شد. ابتدا پس از صاف نمودن مایع شکمبه با پارچه متقال در یک لوله آزمایش پیچیده شده در فویل، ۴ میلی‌لیتر مایع شکمبه ریخته شد. سپس به‌ترتیب ۱ میلی‌لیتر فرمالین ۱۸/۵ درصد، پنج قطره رنگ متیلن بلو (۲ گرم متیلن بلو با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم رسانده شد) و در نهایت، ۳ میلی‌لیتر گلیسرول به محتوای لوله آزمایش اضافه شد. عمل شمارش پروتوزوآ با میکروسکوپ و عدسی با بزرگنمایی ۴۰ X به‌وسیله لام نئوبار صورت گرفت. برای هر نمونه، چهار بار شمارش انجام گرفت و در صورتی که بین پروتوزوآی شمارش‌شده اختلاف زیادی وجود داشت، شمارش تکرار می‌شد. در نهایت، تعداد پروتوزوآ در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری غلظت اسیدهای چرب فرار، نمونه‌های ۵ میلی‌لیتری از مایع شکمبه تهیه شد و به آن‌ها ۱ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۲۵ درصد افزوده شد و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. تعیین اسیدهای چرب فرار با استفاده از دستگاه گاز کارماتوگرافی با ستون مویینه انجام شد (Ottenstein & Bartley, 1971). برنامه دمایی و سایر مشخصات دستگاه به‌صورت زیر بود: دمای تزریق‌کننده و تشخیص‌دهنده دستگاه به‌ترتیب ۱۱۰ و ۲۰۰ درجه سلسیوس بود. گاز ناقل در این دستگاه، هلیوم و تشخیص‌دهنده آن از نوع Flame Ionized (FID) Detector بود. دمای ستون دستگاه در آغاز، ۱۱۰ درجه سلسیوس بود که به‌مدت دو دقیقه در این دما نگه داشته شد و آنگاه در طول پنج دقیقه به ۲۰۰ درجه سلسیوس رسانده شد و برای یک دقیقه در این دما باقی ماند. ستون مورد استفاده از نوع مویینه به طول۳۰ متر بود. ایزوکاپروئیک اسید به‌عنوان استاندارد داخلی استفاده شد. نسبت غلظت هر یک از اسیدهای چرب فرار از تقسیم سطح زیر نقطه اوج آن اسید چرب بر سطح زیر نقطه اوج مجموع اسیدهای چرب محاسبه و به درصدی از مجموع اسیدهای چرب فرار بیان شد.

در روز آخر دوره آزمایش، به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک شکمبه شامل کربوکسی‌متیل-سلولاز و میکروکریستالین‌سلولاز، نمونه‌های شیرابه شکمبه طی سه ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح از دام‌ها به‌وسیله لوله مری جمع‌آوری شده و بلافاصله با یک فلاسک عایق در دمای ۳۹ درجه سلسیوس به آزمایشگاه انتقال داده

شد. آنزیم‌های شکمبه‌ای مورد آزمایش در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه با روش Hristov et al. (2001) استخراج شدند. به‌منظور بخش‌بندی آنزیم‌های مورد بررسی در شیرابه شکمبه به سه بخش جامد، خارج سلولی و درون سلولی، ابتدا شیرابه (حدود۵۰ میلی‌لیتر) با دو لایه پارچه متقال صاف شد و مواد باقی‌مانده روی پارچه به‌عنوان بخش جامد در نظر گرفته شدند. برای جداسازی بخش‌های پروتوزوآیی و باکتریایی، ابتدا شیرابه با دور ۴۵۰g به‌مدت پنج دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. پلت به‌دست آمده به‌عنوان بخش پروتوزوآیی در نظر گرفته شد. مایع شفاف رویی (سوپرناتانت) مجدداً با دور ۲۷۰۰۰g به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. پلت به‌دست آمده در این مرحله به‌عنوان بخش باکتریایی مشخص شد. در نهایت، مایع شفاف رویی به‌عنوان منبع آنزیم‌های خارج سلولی مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک در هر حیوان و در هر یک از سه بخش شیرابه شکمبه طبق روش Agarwal (2000) محاسبه شد (شکل۱) (Dousti et al., 2017). گلوکز آزاد شده در اثر فعالیت هر یک از آنزیم‌های مورد آزمون بر اساس روش Miller (1959) تخمین زده شد. فعالیت‌های آنزیمی بر اساس این فرض که یک واحد آنزیم، توانایی تولید یک نانو مول گلوکز در هر دقیقه در هر میلی‌لیتر از مایع شکمبه را در شرایط مخلوط واکنش دارد محاسبه شد (Dousti et al., 2017).

به‌منظور تعیین اثر تیمارها بر آنزیم‌های کبدی خون، نمونه خونی از راه ورید وداج میش‌ها در روز ۴۲ دوره و زمان ناشتا، با استفاده از لوله‌های خلاءدار حاوی ماده ضدانعقاد سدیم هپارین تهیه شد. نمونه پلاسما با سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس جداسازی شده و تا زمان تجزیه در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. فعالیت آنزیم‌های کبدی در پلاسما با کیت‌های پارس پیوند با شماره 13485:2024، به‌وسیله دستگاه پلیت‌ریدر (مدل NADA-3200) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

تجزیه واریانس داده‌های بدست آمده با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (2004) انجام شد. همچنین، مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به تأثیر جایگزینی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه با مکمل تجاری کنسانتره میکس بر مصرف خوراک میش‌های دالاق در شکل ۱ نشان داده شده است. ماده خشک مصرفی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت به‌طوری که تیمار حاوی کنسانتره میکس، بیشترین مقدار مصرف خوراک را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($P<۰/۰۵$). ماده خشک مصرفی به‌سبب تأمین مواد مغذی جهت حفظ سلامت و تولید دام دارای اهمیت بالایی است و جیره‌های حاوی سطوح بالاتر پروتئین به‌ویژه پروتئین تجزیه‌ناپذیر، به نفع تولید و حفظ امتیاز بدنی دام هستند (NRC, 2007). مطابق با پژوهش حاضر، Amirabadi Farahani et al. (2012) در مطالعه‌ای روی گاوهای تازه‌زا گزارش‌کردند که با افزایش سطوح پروتئین تجزیه‌ناپذیر در جیره، مقدار ماده خشک مصرفی افزایش می‌یابد. همسو با نتایج پژوهش حاضر، Wang et al. (2008) بیان داشتند که جایگزینی منابع پروتئینی حیوانی نسبت به کنجاله‌های گیاهی سبب افزایش عملکرد تولیدی و مصرف خوراک می‌شود. استفاده از ضایعات پنبه در جیره سبب افزایش مصرف ماده خشک بره‌های پرواری شد (Mirzaei et al., 2024). از طرفی، افزایش مقدار ماده خشک مصرفی در جایگزینی پروتئین حیوانی به‌جای پروتئین‌های گیاهی در بزهای شیرده گزارش شده است (Sampelayo et al., 1999). جایگزینی کنجاله جوانه ذرت با کنجاله سویا، تغییری در مصرف ماده خشک و ضریب تبدیل غذایی بره‌های پرواری ایجاد نکرد (Toghdory et al., 2024a). در پژوهش Savari et al. (2017) روی گاوهای شیری نشان داده شد که مصرف خوراک تحت‌تأثیر سطوح مختلف پروتئین عبوری جیره قرار نمی‌گیرد. طی بررسی منابع گسترده، جایگزینی منبع پروتئین قابل تجزیه در شکمبه با منابع حاوی پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه، تفاوتی در میزان ماده خشک مصرفی گزارش نکردند (Santos et al., 1998; Shen et al., 2015). تأثیرگذاری منابع پروتئینی مختلف بر مصرف خوراک، تا حد زیادی به خوش‌خوراکی سایر ترکیبات جیره وابسته است (Khalid et al., 2012) که با توجه ترکیبات کنسانتره میکس، بخصوص به‌سبب وجود کنجاله جوانه ذرت، می‌توان افزایش مصرف ماده خشک را به خوش‌خوراکی این ماده خوراکی نسبت داد. غلظت چربی،

الیاف، انرژی و میزان تجزیه و عبور پروتئین جیره می‌تواند مصرف ماده خشک را کنترل کند (Abbasalam et al., 2011). تفاوت در نتایج مختلف را می‌توان به نوع دام، جیره پایه، منبع پروتئینی مختلف و شرایط پرورشی نسبت داد. اثر استفاده از منابع مختف پروتئینی بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که pH شکمبه با استفاده از کنسانتره میکس در جیره میش‌ها، کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). کنسانتره میکس باعث افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی شد ($P<۰/۰۵$)، به‌طوری که بیشترین مقدار مربوط به تیمار کنسانتره میکس (۲۰/۸۴ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) و کمترین مقدار مربوط به کنجاله پنبه‌دانه (۱۸/۷۷ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) بود. جمعیت پروتوزوآی شکمبه با گنجاندن کنسانتره میکس افزایش یافت ($P<۰/۰۵$)، اما جمعیت پروتوزوآ در میش‌هایی که با جیره حاوی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه تغذیه می‌شدند تفاوت معنی‌داری نداشتند. دلیل کاهش pH شکمبه می‌تواند کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده الیاف باشد که احتمالاً به علت وجود اسیدلاکتیک در کنجاله میکس است که سبب اسیدی شدن pH شکمبه می‌شود. جایگزینی کنجاله جوانه ذرت با کنجاله سویا، تأثیری بر pH و جمعیت پروتوزوآی بره‌های پرواری نداشت و باعث افزایش نیتروژن آمونیاکی شکمبه در سه ساعت بعد از تغذیه صبح آنها شد (Toghdory et al., 2024b). در تضاد با نتایج پژوهش حاضر، Martin et al. (2016) گزارش کردند که منابع پروتئینی مختلف با سطوح متفاوتی از جذب و عبور پروتئین در جیره، تأثیر معنی‌داری بر pH شکمبه گاوهای شیری نداشتند. همچنین، مخالف با نتایج پژوهش حاضر، Kelzer et al. (2009) بیان کردند pH شکمبه گاوهای هلشتاین تحت تأثیر تغذیه منابع مختلف پروتئینی قرار نگرفت. علاوه بر این، گنجاندن پروتئین حیوانی به جیره گوساله‌های پرواری، تأثیر معنی‌داری بر pH شکمبه نداشت (Freeman, 2008). از دلایل اختلاف مقدار pH مایع شکمبه میش‌های پژوهش حاضر با نتایج گزارش شده از مطالعات سایر محققین می‌توان به نوع جیره پایه، نوع دام، نوع بافر و زمان نمونه‌گیری اشاره کرد (Krause et al., 2002). غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در تیمار مصرف‌کننده خیساب ذرت نیز از تیمارهای حاوی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه بالاتر بوده است که در راستای نتایج پژوهش حاضر است که می‌تواند به‌دلیل سطح پروتئین محلول بالاتر آن در شکمبه باشد (Nazari et al., 2022). نتایج آزمایش حاضر نشان داد که استفاده از منبع دارای مقادیر مناسب پروتئین عبوری و تجزیه‌پذیر، غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه را افزایش می‌دهد. همچنین، همسو با پژوهش حاضر، Nazari et al. (2022) گزارش کردند که دریافت پروتئین محلول سبب افزایش سطح نیتروژن آمونیاکی شکمبه می‌شود که هم‌راستا با مطالعه Khalilzad et al. (2022) در رابطه با جایگزینی کنجاله کتان با کنجاله پنبه‌دانه در جیره میش‌ها است. افزایش فعالیت باکتری‌های تولیدکننده آمونیاک، تخمیر پروتئین و سایر مواد نیتروژن‌دار منجر به افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه می‌شود. از سوی دیگر، از تجزیه و دی‌آمیناسیون مواد پروتئینی در شکمبه، آمونیاک و اسیدهای آمینه حاصل می‌شود که منبع نیتروژن برای رشد میکروبی است (Wickersham et al., 2004; Wang et al., 2017). به‌طور کلی، می‌توان بیان کرد که غلظت بالای نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در این پژوهش نشان‌دهنده آزاد شدن نیتروژن به‌صورت آمونیاک از ترکیبات نیتروژن‌دار و پروتئین‌های قابل تجزیه خوراک در شکمبه است. در مجموع، غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه به عوامل مختلفی مانند تجزیه شکمبه‌ای پروتئین، میزان جذب شکمبه‌ای آمونیاک به جریان خون و نیز استفاده میکروب‌ها وابسته است (Gelvin et al., 2004). احتمالاً به‌علت وجود تانن در کنسانتره میکس، جمعیت میکروبی شکمبه توسعه یافته است (Vaithiyanatha et al., 2007). کنسانتره میکس حاوی پروتئین تجزیه‌پذیر و عبوری بوده و ممکن است وجود پروتئین محلول باعث افزایش جمعیت پروتوزوآ و فعالیت آن شود. عوامل مختلفی از جمله مصرف خوراک، pH، سرعت عبور و سرعت خوردن خوراک، دفعات تغذیه و میزان خوراک بر غلظت پروتوزوآها در شکمبه، تأثیرگذار هستند (Toghdory et al., 2024a).

نتایج مربوط به تأثیر جایگزینی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه با مکمل تجاری کنسانتره میکس بر غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه میش‌های دالاق در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مقدار استات با مصرف کنسانتره میکس نسبت به دو کنجاله

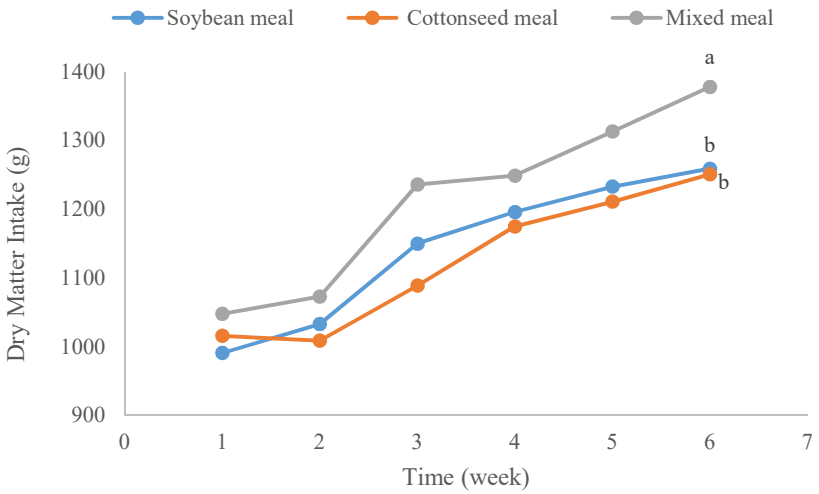

Fig. 1. Effect of different protein sources on dry matter intake of ewes

شکل ۱- اثر منابع مختلف پروتئینی بر مصرف ماده خشک میش‌ها

جدول ۳- اثر منابع مختلف پروتئینی بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای میش‌ها

Table 3. Effect of different protein sources on rumen fermentation parameters of ewes

Rumen parameters	Protein sources			SEM	*P*-value
	Soybean meal	Cottonseed meal	Mixed concentrate		
pH	6.24[a]	6.33[a]	5.64[b]	0.108	<0.01
NH_3-N (mg/dL)	18.81[b]	18.77[b]	20.84[a]	1.099	<0.01
Protozoa number (10^5 /mL)	7.52[b]	7.47[b]	8.66[a]	0.323	0.02

[a-b] Different superscript letters in the same row represent a significant difference (P<0.05). SEM: Standard error of the means

دیگر کاهش یافت (P<۰/۰۵). همچنین، افزایش معنی‌داری در مقدار پروپیونات شکمبه میش‌های تغذیه شده با تیمار حاوی کنسانتره میکس نسبت به تیمارهای حاوی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه مشاهده شد (P<۰/۰۵). غلظت بوتیرات، ایزو بوتیرات، والرات، ایزو والرات و کل اسیدهای چرب فرار تحت تأثیر مصرف کنجاله‌های مختلف قرار نگرفت، اما نسبت استات به پروپیونات در تیمار دریافت‌کننده کنسانتره میکس کمتر از دو تیمار دیگر بود (P<۰/۰۵). از آنجایی که کنجاله جوانه ذرت موجود در کنسانتره میکس سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع است (Toghdory et al., 2024a)، افزایش غلظت پروپیونات در پژوهش حاضر، احتمالاً به‌دلیل غلظت‌های بیشتر اسیدهای چرب غیراشباع در کنسانتره میکس در مقایسه با کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه باشد که تخمیر شکمبه را به‌سمت تولید پروپیونات بیشتر و کاهش تولید استات سوق داده است که این امر می‌تواند به‌علت اثر سمّی اسیدهای چرب آلفا لینولئیک و آلفا لینولنیک بر باکتری‌های تجزیه‌کننده سلولز باشد (Shingfield et al., 2007; Maia et al., 2007). مطابق با نتایج پژوهش حاضر، Chegini et al. (2020) گزارش کردند که استفاده از خیساب ذرت که منبع پروتئین محلول است، سبب افزایش غلظت پروپیونات و کاهش استات می‌شود. نتایج آزمایش حاضر نشان داده است که با تغذیه کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه، سطح بالاتر اسید استیک حاصل می‌شود که این سطح بالاتر اسیدهای چرب فرار نشان‌دهنده بازده کالریک بالاتر در تغذیه نشخوارکنندگان است (Yang, 2002). استفاده از ضایعات کشتارگاهی به‌عنوان منبع پروتئین و جایگزینی ۳۳ و ۶۶ درصد آن با کنجاله سویا، سبب افزایش پروپیونات، نسبت استات به پروپیونات، بوتیرات، والرات و کاهش ایزوبوتیرات و ایزووالرات در بره‌های پرواری شد (Kamali et al., 2023). در پژوهشی، جایگزینی کنجاله جوانه ذرت با کنجاله سویا، تأثیری بر غلظت اسیدهای چرب

فرار شکمبه بره‌های پرواری نداشت (Toghdory et al., 2024a). در راستای نتایج مطالعه حاضر، Nazari et al. (2022) گزارش کردند که با جایگزینی کنجاله سویا با سایر کنجاله‌ها، غلظت پروپیونات شکمبه بره‌های پرواری افزایش یافت. همچنین، تأثیری بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار، استات، بوتیرات، ایزو بوتیرات، والرات و ایزو والرات شکمبه مشاهده نشد. گزارش شده است که جایگزینی منبع پروتئین حیوانی با کنجاله سویا سبب افزایش کل اسیدهای چرب فرار در میش‌های شیرده شد (Sajjadi et al., 2024). در پژوهش‌های دیگر اشاره شده است که با جایگزینی کنجاله سویا با کنجاله کاملینا در جیره گاوهای شیری، پروپیونات، افزایش و استات، کاهش یافت (Hurtaud & Peyraud, 2007; Lawrence et al., 2016).

نتایج مربوط به تأثیر جایگزینی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه با مکمل تجاری کنسانتره میکس بر فعالیت آنزیم‌های کربوکسی‌متیل سلولاز و میکروکریستالین‌سلولاز شکمبه میش‌های دالاق در جدول ۵ نشان داده شده است. بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های کربوکسی‌متیل‌سلولاز و میکروکریستالین‌سلولاز و کل فعالیت آنها در هر سه بخش (داخل سلولی، خارج سلولی و وابسته به ذرات) در تیمارهای حاوی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه و کمترین میزان فعالیت آنزیم‌های مذکور در میش‌های تغذیه شده با جیره حاوی کنسانتره میکس مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). فعالیت آنزیم‌های شکمبه منعکس‌کننده میکروب‌هایی است که در هضم ذرات خوراکی فعال هستند. آنزیم‌های تجزیه‌کننده الیاف شامل کربوکسی‌متیل‌سلولاز و میکروکریستالین‌سلولاز هستند که کربوکسی‌متیل‌سلولاز در تجزیه سلولزهای بی‌نظم و میکروکریستالین‌سلولاز در تجزیه سلولزهای با نظم فعال هستند (Agarwal, 2000). فعالیت این آنزیم‌ها در سه بخش مجزا از محتویات شکمبه شامل ذرات ریز (میکروب‌های متصل به بخش ذرات شکمبه)، بخش درون سلولی (سلول‌هایی که به‌صورت آزادانه در بخش مایع شکمبه معلق هستند) و بخش خارج سلولی (آنزیم‌های موجود در بخش مایع) اندازه‌گیری می‌شوند. در بین این سه بخش، بیشترین فعالیت هیدرولایتیکی آنزیم‌ها مربوط به بخش میکروب‌های متصل به ذرات ریز، پس از آن، آنزیم‌های درون سلولی و در نهایت، آنزیم‌های خارج سلولی است (Agarwal, 2000). در این آزمایش نیز فعالیت آنزیم‌های وابسته به ذرات بیشتر از فعالیت آنزیم‌های دو بخش درون سلولی و خارج سلولی به‌دست آمد. این پاسخ می‌تواند به‌دلیل سرعت تجمع میکروب‌ها روی ذرات خوراکی باشد (Asadi et al., 2018b). تفاوت بین تیمارهای آزمایشی در مورد فعالیت آنزیم می‌تواند در نتیجه تغییر در جمعیت میکروبی با توجه به جیره ارائه شده به حیوانات و در نتیجه، تغییر در حالت آنزیم‌ها باشد (Agarwal et al., 2004). میزان فعالیت کل به‌دست آمده از آنزیم‌های مورد بررسی در این آزمایش مشابه با میزان فعالیت کل گزارش شده به‌وسیله Asadi et al. (2018a) در بره‌های دالاق است که فعالیت کل در آنزیم‌های کربوکسی‌متیل‌سلولاز و میکروکریستالین‌سلولاز را به‌ترتیب در دامنه ۴۲۰ تا ۵۷۰ و ۳۳۰ تا ۵۰۰ میکرومول گلوکز آزاد شده در ساعت در هر میلی لیتر مایع شکمبه گزارش کردند. در رابطه با آثار منابع پروتئینی بر فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک شکمبه اطلاعات محدودی وجود دارد. در گزارشی بیان شده است که استفاده از منابع پروتئینی گیاهی (کنجاله کتان و کنجاله پنبه‌دانه) در جیره میش‌ها سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کربوکسی‌متیل‌سلولاز و میکروکریستالین‌سلولاز در هر سه بخش جامد، خارج سلولی و داخل سلولی و همچنین، مجموع کل بخش‌های شکمبه می‌شود (Khalilzad et al., 2022). میزان فعالیت کربوکسی‌متیل‌سلولاز در بخش‌های جامد، خارج سلولی، درون سلولی و کل شیرابه شکمبه نسبت به بخش‌های مذکور در آنزیم میکروکریستالین‌سلولاز بیشتر بود. آنزیم‌های کربوکسی‌متیل‌سلولاز روی بخش میانی زنجیر سلولز اثر نموده و آن‌را از راه هیدرولیز متلاشی می‌نماید و تولید دو زنجیره کوتاه‌تر می‌کند، اما میکروکریستالین‌سلولاز به قسمت انتهایی آزاد زنجیره حمله نموده و طی مراحل متوالی، سلوبیوز را تولید می‌نماید. بنابراین، افزایش کل فعالیت کربوکسی‌متیل‌سلولاز نسبت به میکروکریستالین‌سلولاز احتمالاً به‌دلیل وجود سوبسترای بیشتر برای آن باشد و با یافته‌های سایر محققین مطابقت دارد (Munasik et al., 2013; Mehrani et al., 2021). تغییرات فعالیت آنزیمی به‌علت نوع منبع پروتئین مصرفی احتمالاً به‌دلیل تغییرات رخ داده در جمعیت میکروبی شکمبه است. به‌عبارت دیگر، نوع جیره تغذیه شده به حیوانات باعث تغییر جمعیت میکروبی و متعاقب آن، تغییر در الگوی آنزیمی شده است

(Raghuvansi et al., 2007). کاهش فعالیت آنزیم‌های کربوکسی‌متیل‌سلولاز و میکروکریستالین‌سلولاز با جایگزینی کنسانتره میکس در جیره احتمالاً به‌دلیل کاهش pH شکمبه است زیرا باکتری‌های فیبرولایتیک شکمبه به تغییرات pH بسیار حساس هستند و زمانی که pH شکمبه به کمتر از ۶/۲ برسد رشد آنها مهار می‌شود (Sung et al., 2007). ساز و کار اثر منفی pH بر رشد باکتری‌های شکمبه به‌خصوص باکتری‌های فیبرولایتیک به‌خوبی شناخته نشده است، اما ب راساس نظریه کیمواوسموتیک (Mitchell, 1961)، مهار رشد میکروبی در pH پایین ممکن است به‌دلیل انرژی ناکافی برای انتقال پروتون به خارج از سلول به‌وسیله غشای سلولی برای ایجاد یک گرادیان پروتونی باشد (Kamra et al., 2012).

نتایج مربوط به تأثیر جایگزینی کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه با مکمل تجاری کنسانتره میکس بر فعالیت آنزیم‌های کبدی خون میش‌های دالاق در جدول ۶ نشان داده شده است. اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف آزمایشی از نظر غلظت آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز مشاهده نشد. گزارش شده است که افزایش سطح آنزیم‌های کبدی در حیوانات با افزودن مکمل پروتئین و چربی به جیره، ممکن است نشان‌دهنده آسیب کبدی باشد که این امر سبب کاهش وزن کبد می‌شود (Bianchi et al., 2014). تعیین فعالیت آنزیم‌های کبدی در سرم خون در شناسایی عملکرد کبد مفید خواهد بود، زیرا این آنزیم‌ها، شاخص‌های حساس آسیب کبدی هستند. بنابراین، افزایش آن‌ها می‌تواند اختلال عملکرد کبد را نشان دهد (Healy et al., 1974). مطابق با نتایج پژوهش حاضر، Valizadeh et al. (2020) بیان داشتند که استفاده از منابع پروتئینی مختلف در جیره با نسبت قابلیت تجزیه متفاوت در شکمبه گوسفندان، تأثیری بر غلظت آنزیم‌های کبدی خون نداشت.

جدول ۴- اثر منابع مختلف پروتئینی بر غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه میش‌ها

Table 4. Effect of different protein sources on concentration of volatile fatty acids in the rumen of ewes

Rumen VFA (mmol/L)	Protein sources			SEM	*P*-value
	Soybean meal	Cottonseed meal	Mixed concentrate		
Acetate	64.98[a]	68.54[a]	56.22[b]	2.428	<0.01
Propionate	26.77[b]	25.28[b]	31.02[a]	1.077	<0.01
Butyrate	7.44	7.61	7.56	0.621	0.58
Iso butyrate	1.42	1.41	1.49	0.098	0.74
Valerate	1.94	1.82	1.88	0.411	0.62
Iso valerate	1.27	1.22	1.29	0.124	0.72
Total VFA	103.84	102.88	99.46	4.119	0.76
Acetate:Propionate	2.43[a]	2.71[a]	1.82[b]	0.049	<0.01

[a-b] Different superscript letters in the same row represent a significant difference (P<0.05). SEM: Standard error of the means

جدول ۵- اثر منابع مختلف پروتئینی بر فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک شکمبه میش‌ها

Table 5. Effect of different protein sources on activity of hydrolytic enzymes in the rumen of ewes

Hydrolytic enzymes	Protein sources			SEM	*P*-value
	Soybean meal	Cottonseed meal	Mixed concentrate		
Carboxymethyl cellulose (Micro-molar glucose released per hour per mL of ruminal fluid)					
Cell section	87.64[a]	92.59[a]	61.02[b]	6.544	<0.01
Extracellular section	186.52[a]	190.60[a]	129.17[b]	8.550	<0.01
Solid part	252.94[a]	249.62[a]	200.04[b]	2.479	<0.01
Total	549.88[a]	562.27[a]	427.19[b]	19.914	<0.01
Microcrystalline cellulose (Micro-molar glucose released per hour per mL of ruminal fluid)					
Cell section	149.20[a]	160.01[a]	117.98[b]	8.621	<0.01
Extracellular section	111.54[a]	124.81[a]	92.06[b]	9.969	<0.01
Solid part	261.48[a]	255.69[a]	202.86[b]	9.478	<0.01
Total	491.00[a]	478.51[a]	331.32[b]	13.535	<0.01

[a-b] Different superscript letters in the same row represent a significant difference (P<0.05). SEM: Standard error of the means

جدول ۶- اثر منابع مختلف پروتئینی بر فعالیت آنزیم‌های کبدی خون میش‌ها

Table 6. Effect of different protein sources on activity of liver enzymes in the blood of ewes

Liver enzymes	Different protein sources			SEM	*P*-value
	Soybean meal	Cottonseed meal	Mixed concentrate		
Aspartate aminotransferase (U/L)	82.46	79.50	78.61	8.342	0.42
Alanine aminotransferase (U/L)	18.24	19.38	20.02	1.247	0.64
Alkaline phosphatase (U/L)	162.66	156.07	160.14	11.248	0.47

SEM: Standard error of the means

در مطالعه‌ای، عدم تغییر در غلظت آنزیم‌های کبدی در سه تیمار مختلف خیساب ذرت، کنجاله سویا و کنجاله پنبه دانه تحت تأثیر جایگزینی خیساب ذرت در جیره گوسفندان گزارش شده است (Chegini et al., 2020). همچنین، Karimi-Daeini et al. (2018) نشان دادند که تغییر منبع پروتئین جیره از کنجاله سویا به پودر گوشت در گوساله‌های پرواری تأثیری بر غلظت آنزیم‌های کبدی ندارد. آنزیم‌های کبدی ممکن است تحت تأثیر شرایط خاصی مانند آبسه‌های کبدی یا تجمع بیش از حد چربی قرار گیرند که نشان‌دهنده شرایط حاد در کبد باشد (Cebra et al., 1997; Asadi et al., 2024). به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر، فعالیت کبد تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی و منابع پروتئینی مورد استفاده قرار نگرفت.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با استفاده از مکمل تجاری کنسانتره میکس به‌جای کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه در جیره میش‌های دالاق، ماده خشک مصرفی، ازت آمونیاکی شکمبه، جمعیت پروتوزوآ و غلظت پروپیونات شکمبه افزایش یافت در حالی که سبب افت pH شکمبه شد و تأثیر منفی بر آنزیم‌های کبدی در میش‌ها نداشت. بنابراین، می‌توان مکمل تجاری کنسانتره میکس را به شرط کنترل pH شکمبه، با استفاده از برنامه‌های مدیریتی و تغذیه‌ای مانند بافرهای قدرتمندی که دام را به‌سمت اسیدوز سوق ندهد، به‌طور کامل به‌جای کنجاله سویا و کنجاله پنبه‌دانه در جیره میش‌های دالاق جایگزین نمود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌واسطه فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی و مرزعه‌ای این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

فهرست منابع

Abbasalan, M., Khorvash, M., Mirzaei, M., Reisi, A. A., Mirzaei, M. R., & Hosseini Ghafari, M. (2011). The effect of different levels of healthy cottonseed on performance, carcass yield, and morphology of small intestine villi in Arabi male lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *1*(3), 56-62. doi: 10.22067/IJASR.V3I1.10583 [In Persian]

Agarwal, N. (2000). Estimation of fibre degrading enzyme. In: Feed Microbiology (eds Chaudhary, L.C., Agarwal, N., Kamra, D.N., and Agarwal D.K.,). CAS *Animal Nutrition*, *IVRI*, *Izatnagar*, *India*. 283-290. doi: 10.1080/09712119.2000.9706325

Agarwal, N., Saxena, J., Saha, S., Chaudhary, L. C., & 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

Amirabadi-Farahani, T., Amanlou, H., & Eslamian-Farsuni, N. (2012). Effects of varying crude protein and rumen undegradable protein on performance of Holstein fresh cows. *Iranian Journal of Animal science*, *42*(4), 297-309. doi: 20.1001.1.20084773.1390.42.4.2.4 [In Persian]

Asadi, M., Toghdary, A., Ghoorchi, T., & Kargar, Sh. (2018). The effect of physical form of concentrate and buffer type on the activity of some hydrolytic enzymes of different segments of rumen fluid, nitrogen Retention and hematology in Dalagh fattening lambs. *Journal of Ruminant Research*, *6*(1), 127-146. doi: 10.22069/EJRR.2018.14976.1632 [In Persian]

Asadi, M., Toghdory, A., Ghoorchi, T., & Kargar, Sh. (2018). Effect of physical form of the concentrate and buffer type on the rumen and blood parameters and microbial protein synthesis in fattening Dalagh lamb.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi), *122*(1), 143-158. doi: 10.22092/asj.2018.121090.1658 [In Persian]

Asadi, M., Ghoorchi, T., Toghdory, A., & Shahi, M. (2021). Effect of replacing different levels of wheat straw with cottonseed plant on performance, digestibility, blood parameters, and rumination behavior in Dalagh ewes. *Animal Production Research*, *10*(2), 63-72. doi: 10.22124/ar.2021.14438.1446 [In Persian]

Asadi, M., & Shavandi, M. (2023). Effects of replacing soybean meal with poultry byproduct meal on performance, nutrient digestibility, excreted nitrogen and feeding behavior in Holstein lactating cows. *Journal of Animal Environment*, *14*(4), 55-64. doi: 10.22034/AEJ.2022.306732.2647 [In Persian]

Asadi, M., Toghdory, A., Ghoorchi, T., & Hatami, M. (2024). The effect of maternal organic manganese supplementation on performance, immunological status, blood biochemical and antioxidant status of Afshari ewes and their newborn lambs in transition period. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *108*(2), 493-499. doi: 10.1111/jpn.13909

Azizi-Shotorkhoft, A., Sharifi, A., Mirmohammadi, D., Baluch-Gharaei, H., & Rezaei, J. (2016). Effects of feeding different levels of corn steep liquor on the performance of fattening lambs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *100*, 109-117. doi: 10.1111/jpn.12342

Bahrami-Yekdangi, H., Khorvash, M., Ghorbani, G. R., Alikhani, M., Jahanian, R., & Kamalian, E. (2014). Effects of decreasing metabolizable protein and rumen-undegradable protein on milk production and composition and blood metabolites of Holstein dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, *97*(6), 3707-3714. doi: 10.3168/jds.2013-6725

Bianchi, A. E., Macedo, V. P., França, R. T., Lopes, S. T., Lopes, L. S., Stefani, L. M., & Silva, A. S. (2014). Effect of adding palm oil to the diet of dairy sheep on milk production and composition, function of liver and milk production and composition function of liver and kidney, and the concentration of cholesterol triglycerides and progesterone in blood serum. *Small Ruminant Research*, *117*(1), 78-83. doi: 10.1016/j.smallrumres.2013.12.025

Broderick, G. A., & 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: 10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8

Cebra, C. K., Gerry, F. B., Getzy, D. M., & Fettman, M. J. (1997). Hepatic lipidosis in anorectic lactating Holstein cattle. A retrospective study of serum biochemical abnormalities. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *4*, 231-237. doi: 10.1111/j.1939-1676.1997.tb00096.x

Chegini, R., Kazemi-Bonchenari, M., Khodaei-Motlagh, M., & Khaltabadi-Farahani, A. H. (2020). Evaluation the effects of liquid protein source in sheep diet fed high wheat straw diet on ruminal fermentation, microbial protein, hematology and blood metabolites. *Research on Animal Production*, *11*(27), 57-65. doi: 10.29252/rap.11.27.57 [In Persian]

Cochran, R. C., Köster, H. H., Olson, K. C., Heldt, J. S., Mathis, C. P., & Woods, B. C. (1997). Observations regarding the amount and source of degradable intake protein in supplements for beef cattle consuming low-quality forages. In: *AFIA Liquid Feed Symposium Proceedings*, St. Louis, MO. Pp. 17-30. doi: 10.2527/1999.77102846x

Dehority, B. A., & Males, J. R. (1984). Rumen Fluid Osmolality: Evaluation of influence upon the occurrence and numbers of holotrich protozoa in sheep. *Journal of Animal Science*, *38*, 865-870. doi: 10.2527/jas1974.384865x

Ferraretto, L. F., Crump, P. M., & Shaver, R. D. (2013). Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion, and milk production by dairy cows through a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, *96*(1), 533-550. doi: 10.3168/jds.2012-5932

Freeman, S. R. (2008). Utilization of poultry byproducts as protein sources in ruminant. Food and Agriculture Organization. doi: 3/a-ax255e

Gelvin, A. A., Lardy, G. P., Soto-Navarro, S. A., Landblom, D. G., & Caton, J. S. (2004). Effect of field pea-based creep feed on intake, digestibility, ruminal fermentation, and performance by nursing calves grazing native range in western North Dakota. *Journal of Animal Science*, *82*(12), 3589-3599. doi: 10.2527/2004.82123589x

Gonzalez, J. J. A., Hernandez, J. R. O., Ibarra, O. O., Gomez, J. J. U., & Fuentes, V. O. (2007). Poultry by-product meal as a feed supplement in mid-lactation dairy cows. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, *6*, 139-141. doi: 198.170.104.138/medwellonline/java/2007/139-141

Healy, P. J. (1974). Serum alkaline phosphatase activity in phosphatase activity in sheep. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, *52*, 375-385. doi: 10.1038/icb.1974.35

Hristov, A. N., Ivan, M., Rode, L. M., & McAllister, T. A. (2001). Fermentation characteristics and ruminal ciliate protozoal populations in cattle fed medium- or high concentrate barley-based diets. *Journal of Animal Science, 79*, 515-524. doi: 10.2527/2001.792515x

Hurtaud, C., & Peyraud, J. L. (2007). Effects of feeding camelina (seeds or meal) on milk fatty acid composition and butter spread ability. *Journal of Dairy Science*, *90*(11), 5134-5145. doi: 10.3168/jds.2007-0031

Ipharraguerre, I. R., & Clark, J. H. (2005). Impacts of the source and amount of crude protein on the intestinal supply of nitrogen fractions and performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *88*, 22-37. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)73134-9

Jolazadeh, A. R., Dehghan-Banadaky, M., & Rezayazdi, K. (2015). Effects of soybean meal treated with tannins extracted from pistachio hulls on performance, ruminal fermentation, blood metabolites and nutrient digestion of Holstein bulls. *Animal Feed Science and Technology*, *203*, 33-40. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.02.005

Kamali, R., Chashnidel, Y., Teimouri, A., Mohajer, M., & Toghdari, A. (2023). Evaluation of poultry by-product meal replacement with soybean meal on growth, microbial population, rumen parameters, blood and microbial protein synthesis of fattening lambs. *Animal Science Research*, 33(1), 63-76. doi: 10.22034/as.2022.43416.1601 [In Persian]

Kamra, D. N., Agarwal, N., & McAllister, T. A. (2010). Screening for compounds enhancing fiber degradation. In: Vercoe, P. E., Makkar, H. P. S., & Schlink A. C., (Eds.). *In vitro* Screening of Plant Resources for Extra –nutritional attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. *IAEA, Dordrecht, the Netherlands*. Pp. 85-107. doi: 10.1007/978-90-481-3297-3_6

Karimi-Daeini, H., Kazemi-Bonchenari, M., Khodaei-Motlagh, M., & Moradi, M. H. (2018). Effect of increased protein level supplied by soybean meal or meat meal on performance, blood metabolites and insulin and liver enzymes in Holstein male calves. *Research on Animal Production*, *8*(18), 100-106. doi: 10.29252/rap.8.18.100 [In Persian]

Kelzer, J. M., Kononoff, P. J., Gehman, A. M., Tedeschi, L. O., Karges, K., & Gibson, M. L. (2009). Effects of feeding three types of corn-milling coproducts on milk production and ruminal fermentation of lactating Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, *92*(10), 5120-5132. doi: 10.3168/jds.2009-2208

Khalilzad, H. M., Ghoorchi, T., Dastar, B., & Toghdory, A. (2022). Effect of different levels substitution of cottonseed meal with flax meal on the ruminal fibrolytic enzyme activity and blood parameters and immune system in ewes. *Research on Animal Production*, *13*(35), 93-99. doi: 10.52547/rap.13.35.93 [In Persian]

Krause, K. M., Combs, D. K., & Beauchemin, K. A. (2002). Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. II. Ruminal pH and chewing activity. *Journal of Dairy Science*, *85*, 1947-1957. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74271-9

Lawrence, R. D., Anderson, J. L., & Clapper, J. A. (2016). Evaluation of camelina meal as a feedstuff for growing dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, *99*(8), 6215-6228. doi: 10.3168/jds.2016-10876

Lobley, G. E., Bremner, D. M., & Zuur, G. (2000). Effects of diet quality on urea fates in sheep as assessed by refined, non-invasive [15N15N] urea kinetics. *British Journal of Nutrition*, *84*, 459-468. doi: 10.1017/s0007114500001768

Maia, M. R., Chaudhary, L. C., Figueres, L., & Wallace, R. J. (2007). Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie Van Leeuwenhoek*, *91*, 303-314. doi: 10.1007/s10482-006-9118-2

Martin, C., Ferlay, A., Mosoni, P., Rochette, Y., Chilliard, Y., & Doreau, M. (2016). Increasing linseed supply in dairy cow diets based on hay or corn silage: Effect on enteric methane emission, rumen microbial fermentation, and digestion. *Journal of Dairy Science*, *99*(5), 3445-3456. doi: 10.3168/jds.2015-10110

Mehrani, K., Ghoorchi, T., Toghdory, A., & Rajabi AliAbadi, R. (2021). Effect of different levels of potato on nutrient digestibility, fibrolytic enzyme and ruminal characteristics in Dalagh ewes. *Research on Animal Production*, *11*(30), 49-56. doi: 10.52547/rap.11.30.49 [In Persian]

Miller, J. L. (1959). Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry*, *31*, 426-429. doi: 10.1021/ac60147a030

Mirzaei, A., Chashnidel, Y., & Teimouri Yansari, A. (2024). The effects of different levels of cotton waste on growth performance, nutrient digestibility, quantitative and qualitative carcass traits, blood parameters, and liver enzymes Afshari lambs. *Journal of Ruminant Research*, *12*(2), 93-110. doi: 10.22069/ejrr.2023.21800.1920 [In Persian]

Mitchell, P. (1961). Couping of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. *Nature* (*London*), *191*, 144-147.

Munasik, C., Sutrisno, I., Anwar, S., & Prayitno, S. (2013). Physical characteristics of pressed complete feed for dairy cattle. *International Journal of Science and Engine*, *4*, 61-65. doi: 10.12777/ijse.4.2.61-65

National Research Council (NRC). (2007). Nutrient requirements of small ruminants. Sheep, goats, cervide and new world camelids. National Academy Press, Washington, DC.

Nazari, S., Azizi, A., Kiani, A., & Sharifi, A. (2022). Effect of substituting different levels of Camellina sativa meal instead of soybean meal on performance, rumen fermentation parameters, blood metabolites, and feeding behavior of fattening lambs. *Animal Production Research*, *11*(2), 17-30. doi: 10.22124/AR.2022.21052.1661 [In Persian]

Ottenstein, D. M., & Batler, D. A. (1971). Imoroved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. *Analytical Chemistry*, *43*, 952-955. doi: 10.1093/chromsci/9.11.673

Raghuvansi, S. K. S., Prasad, P., Tripathi, M. K., Mishra, A. S., Chaturvedi, O. H., Misra, A. K., Saraswat, B. L., & Jakhmola, R. C. (2007). Effect of complete feed blocks or grazing and supplementation of lambs on performance, nutrient utilization, rumen fermentation and rumen microbial enzymes. *Animal*, *1*, 221-226. doi: 10.1017/S1751731107284058

Sajjadi, S., Toghdory, A., Ghoorchi, T., & Asadi M. (2024). The effect of replacing soybean meal with poultry slaughter residue powder on feed intake and rumen parameters of Dalagh dairy ewes. *Research on Animal Production*, *15*(1), 1-12. doi: 10.61186/rap.15.43.1 [In Persian]

Santos, F. A. P., Santos, J. E. P., Theurer, C. B., & Huber, J. T. (1998). Effects of umenundegradable protein on dairy cow performance: A 12-year literature review. *Journal of Dairy Science*, *81*(12), 3182-3213. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(98)75884-9

SAS Institute. (2004). User's Guide. Version 9.1: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.

Savari, M., Khorvash, M., Amanlou, H., Ghorbani, G. R., Ghasemi, E., Mirzaei, M., & Mohammadi, F. (2017). Effects of the source and level of rumen undegradable protein and corn processing on production performance of dairy cows. *Journal of Ruminant Research*, *5*(3), 41-56. doi: 10.22069/ejrr.2017.13524.1562 [In Persian]

Schwab, C. G., & Foster, G. N. (2009). Maximizing milk components and metabolizable protein utilization through amino acid formulation. In: Proceedings of Cornell Nutrition Conferance, Cornell University, Ithaca, NY. Pp. 1-15.

Shen, J. S., Song, L. J., Sun, H. Z., Wang, B., Chai, Z., Chacher, B., & Liu, J. X. (2015). Effects of corn and soybean meal types on rumen fermentation, nitrogen metabolism and productivity in dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *28*(3), 351-359 doi: 10.5713/ajas.14.0504

Shingfield, K. J., Ahvenjärvi, S., Toivonen, V., Vanhatalo, A., Huhtanen, P., & Griinari, J. M. (2008). Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. *British Journal of Nutrition*, *99*(5), 971-983. doi: 10.1017/S0007114507853323

Shirazi, J., Ghoorchi, T., Toghdory, A., & Seyed-Almousavi, S. M. M. (2023). Investigating the effect of replacing soybean meal with poultry slaughterhouse waste mixed with rice bran and urea on performance, blood and rumen parameters of fattening lambs. *Research on Animal Production*, *13*(38), 110-117. doi: 10.52547/rap.13.38.110 [In Persian]

Sung, H. G., Kobayashi, Y., Chang, J., Ha, A., Hwang, I. H., & Ha, J. K. (2007). Low ruminal pH reduces dietary fiber digestion via reduced microbial attachment. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, *20*, 200-207. doi: 10.5713/ajas.2007.200

Toghdory, A., Ghoorchi, T., Asadi, M., Amozadeh Araee, K., & Alipour, M. (2024a). The effect of replacing soybean meal with corn germ meal in diet on feed intake, ruminal parameters and blood metabolites of Atabai fattening lambs. *Research Journal of Livestock Science*, *37*(143), 71-84. doi: 10.22092/asj.2023.362376.2316 [In Persian]

Toghdory, A., Ghoorchi T., Asadi, M., Amozadeh Araee, K., & Aalipour, M. (2024b). The effect of replacing soybean meal with corn germ meal in the diet on performance, digestibility, rumination behavior and blood parameters of fattening lambs. *Research on Animal Production*, *15*(1), 13-24. doi: 10.61186/rap.15.43.12 [In Persian]

Vaithiyanatha, S., Bhatta, R., Mishra, A. S., Prasad, R., Verma, D. L., & Singh, N. P. (2007). Effect of feeding graded levels of Prosopis cineraria leaves on rumen ciliate protozoa, nitrogen balance and microbial protein supply in lambs and kids. *Animal Feed Science and Technology*, *133*, 177-191. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.04.003

Valizadeh, A., Kazemi-Bonchenari, M., Khodaei-Motlagh, M., & Moradi, M. H. (2020). The effect of different RUP: RDP ratios in sheep fed high wheat straw diet on ruminal fermentation, nutrient digestibility, blood metabolites, and microbial protein yield. *Journal of Ruminant Research*, *8*(1), 109-124. doi: 10.22069/EJRR.2020.17432.1728 [In Persian]

Walker, R. S., LaMay, D., Davis, J. R., & Bandyk, C. A. (2013). Method of feeding a liquid-protein supplement with low- to medium-quality hay affects hay waste and cow performance. *The Professional Animal Scientists*, *29*, 552-558. doi: 10.15232/S1080-7446(15)30277-1

Wang, C., Liu, J. X., Zhai, S. W., Lai, J. L., & Wu, Y. M. (2008). Effects of rumen-degradable-protein to rumen-undegradable-protein ratio on nitrogen conversion of lactating dairy cows. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A-Animal Science*, *58*(2), 100-103. doi: 10.1080/09064700802187210

Wang, Z., Cui, Y., Liu, P., Zhao, Y., Wang, L., Liu, Y., & Xie, J. (2017). Small peptides isolated from enzymatic hydrolyzate of fermented soybean meal promote endothelium-independent vasorelaxation and ACE inhibition. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, *65*, 10844-10850. doi: 10.1021/acs.jafc.7b05026

Wickersham, E. E., Shirley, J. E., Titgemeyer, E. C., Brouck, M. J., DeFrain, J. M., Park, A. F., Johnson, D. E., & Ethington, R. T. (2004). Response of lactating dairy cows to diets containing wet corn gluten feed or

a raw soybean hull-corn steep liquor pellet. *Journal of Dairy Science*, *87*, 3899-3911. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73529-8

Yang, C. M. J. (2002). Response of forage fiber degradation by ruminal microorganisms to branchedchain volatile fatty acids, amino acids and dipeptides. *Journal of Dairy Science*, *85*, 1183-1190. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74181-7

Yazdi, M. H., Amanlou, H., & Mahjoubi, E. (2009). Increasing prepartum dietary crude protein using poultry by-product meal dose not influence performance of multiparous Holstein dairy cows. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *12*(22), 1448-1454. doi: 10.3923/pjbs.2009.1448.1454