Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 16, Issue 3, 2025 p: 192-204

OPEN ACCESS

Research Paper

The Impact of Dietary Cation-Anion Difference Variation on Physiological Responses and Rumen Fermentation in Heat-Stressed Male Zandi Sheep

Mohammad Khani[1], Amir Fattah[2], Seyyed Roohollah Ebrahimi-Mahmoudabad[3] and Sahereh Joezy-Shekalgorabi[4]

1- Ph.D. student, Department of Animal Science, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, (Corresponding author: amir1356fattah@yahoo.com)
3- Associate Professor, Department of Animal Science, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
4- Associate Professor, Department of Animal Science, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 28 January, 2025 Revised: 09 April, 2025 Accepted: 15 May 2025

Extended abstract

Background: Heat stress is one of the most important challenges in the livestock breeding industry of Iran, especially in sheep farming. Excessive increase in body temperature under such conditions is associated with a decrease in feed consumption and energy retention, resulting in reduced livestock production, a prolonged fattening period, and the feed consumed for weight gain being used to deal with heat stress, imposing significant economic losses. Therefore, the selection of efficient management and nutritional solutions is of particular importance. Research has shown that altering the dietary cation-anion difference (DCAD) levels under heat stress conditions can compensate for the high excretion of minerals and reduce feed consumption and the negative effects of heat stress by increasing dietary electrolytes and changing blood acid-base balance. On the other hand, as the price of animal feed increases progressively, the addition of nutrients that are low in price and smooth the challenges caused by heat stress can be a good option to achieve yield from the usual feed consumption under normal conditions. Consequently, investigating the effects of changing the levels of DCAD on livestock, while providing a suitable view for breeders, provides appropriate solutions for experts in the field of dietary design. In this regard, this study aimed to elucidate the effects of varying DCAD levels on organic matter digestibility, blood parameters, and rumen fermentation parameters in male Zandi lambs under heat stress.

Methods: To investigate the objective of the present study, 40 male Zandi lambs, averaging 39 kg in body weight, were randomly assigned to five treatment groups, each with eight replicates. The diets were formulated to contain different concentrations of DCAD (150, 300, 450, 600, and 750 mEq/kg dry matter). The experimental period lasted 100 days following a 21-day adaptation phase. For the chemical composition of the diets, daily samples of the diet were collected and analyzed according to the guidelines of AOAC. Sodium, potassium, and chlorine levels were measured using an atomic absorption spectrometer, and daily dry matter intake was measured and calculated taking into account the remainder. Blood parameters were measured according to AOAC methods. Ruminal fluid osmolality was measured using an osmometer, and volatile acids were analyzed according to the guidelines. N-ammonia levels were also determined using salicylate hypochlorite analysis. The temperature-humidity index was evaluated to investigate heat stress. Analyses and statistics were also performed using SAS 9.4 software with the GLM method, and the least significant difference (LSD) test method was used for Post Hoc comparisons of means.

Results: The findings of this study showed that the temperature-humidity index was continuously above 75 during the test period, emphasising the presence of heat stress. The rectal temperature of the control group was not significantly different from the other groups. There was a statistically significant difference between the treatments containing different levels of DCAD in terms of dry matter intake, nutrient intake, and apparent digestibility ($P < 0.05$). Dry matter intake, crude protein digestibility, and dry matter digestibility were significantly lower in the control group than in the other treatments ($P < 0.05$). In addition, ruminal pH was notably lower in the control group than in the other treatments ($P < 0.05$). However, rumen fermentation parameters, such as butyric acid, buffering capacity, acetic acid, propionic acid, the combined total of acetic acid and propionic acid, and the acetic acid to propionic acid ratio, were unaffected by varying DCAD concentrations ($P > 0.05$). Blood glucose parameters revealed significant differences between treatments ($P < 0.05$), and the control group demonstrated the most significant impact on blood glucose levels. Conversely, no significant differences ($P > 0.05$) were observed for other blood markers, including

Copyright ©2025 Khani et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 Unported License, which allows users to read, copy, distribute, and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

potassium, magnesium, chlorine, nitrogen balance, and phosphate. The highest levels of calcium and sodium were observed in the control group, and the highest level of cholesterol was associated with the fifth group, with the highest level of DCAD ($P < 0.05$).
Conclusion: Overall, the findings showed that manipulating the level of DCAD significantly affected rumen pH, but it did not statistically impact the concentration of volatile fatty acids and, as a result, rumen fermentation. Numerically, however, the control group contained the highest levels of ammonia and total volatile fatty acids. The observed decrease in ammonia concentration with increasing DCAD levels increases rumen acidity, which creates a favorable environment for the synthesis of more volatile fatty acids; therefore, these levels are lower in the control group. The direct relationship between dry matter intake, crude protein digestibility, and dry matter digestibility and increased DCAD levels indicates that lambs under heat stress conditions can maintain their apparent digestibility and performance by increasing the level of DCAD. In general, since most of the studied parameters and biochemical metabolites of the sheep's blood did not change significantly and were in the normal range, this could be the reason for the relative adaptation of native sheep to heat stress conditions. On the other hand, increasing the DCAD level could partially solve the problems caused by heat stress.

Keywords: Blood physiology, DCAD, Digestion, Rumen fermentation, Zandi sheep

How to Cite This Article: Khani, M., Fattah, A., Ebrahimi-Mahmoudabad, S. R., & Joezy-Shekalgorabi, S. (2025). The Impact of Dietary Cation-Anion Difference Variation on Physiological Responses and Rumen Fermentation in Heat-Stressed Male Zandi Sheep. *Res Anim Prod,* 16(3), 192-204. DOI: 10.61882/rap.2025.1487

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر تغییرات اختلاف کاتیون-آنیون جیره بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی و تخمیر شکمبه در قوچ‌های زندی دچار تنش گرمایی

محمد خانی[۱]، امیر فتاح[۲]، سید روح اله ابراهیمی محمود آباد[۳] و ساحره جوزی شکالگورابی[۴]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه علوم دامی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، (نویسنده مسوول: amir1356fattah@yahoo.com)
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۴- دانشیار، گروه علوم دامی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۰۹ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۲۵
صفحه ۱۹۲ تا ۲۰۴

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تنش گرمایی یکی از چالش‌های مهم در صنعت دامپروری کشور به‌ویژه پرورش گوسفند است. افزایش بیش از حد دمای بدن در چنین شرایطی با کاهش مصرف خوراک و ابقاء انرژی همراه می‌شود و درنتیجه تولید دام افت می‌کند، دوره پرواربندی طولانی‌تر می‌شود و خوراک مصرف‌شده جهت افزایش وزن، صرف مقابله با تنش گرمایی می‌گردد و در نتیجه زیان‌های اقتصادی قابل توجهی تحمیل می‌شود. از این روی، انتخاب راهکارهای مدیریتی و تغذیه‌ای کارآمد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. تحقیقات نشان داده‌اند که تغییر سطوح اختلاف کاتیون - آنیون جیره (DCAD) در شرایط تنش گرمایی می‌تواند از طریق افزایش الکترولیت‌های جیره و تغییر تعادل اسید - باز خون باعث جبران دفع زیاد مواد معدنی و کاهش مصرف خوراک شود و آثار منفی تنش حرارتی را کاهش دهد. از طرفی، از آنجایی‌که روز به روز قیمت خوراک مصرفی دام افزایش می‌یابد، اضافه کردن مواد مغذی که قیمت پایین دارند و چالش‌های ناشی از تنش گرمایی را هموار می‌سازند، می‌تواند گزینه مناسبی برای دستیابی به بازده حاصل از مصرف خوراک معمول در شرایط نرمال باشد. بنا بر این، بررسی اثرات تغییر سطوح اختلاف کاتیون - آنیون جیره بر دام ضمن ارائه دید مناسب برای پرورش‌دهندگان، راهکارهای مناسبی را در اختیار کارشناسان حوزه طراحی جیره قرار می‌دهد. در این راستا، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف اختلاف کاتیون - آنیون جیره بر فراسنجه‌های قابلیت هضم مواد آلی، فراسنجه‌های خون و تخمیر شکمبه در قوچ‌های زندی نر تحت تنش گرمایی انجام شد.

مواد و روش‌ها: به‌منظور بررسی هدف پژوهش حاضر، ۴۰ رأس بره نر زندی با میانگین وزن ۳۹ کیلوگرم به طور تصادفی در پنج گروه تیمار، هرکدام با هشت تکرار، اختصاص داده شدند. جیره‌ها برای سطوح مختلف DCAD (۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰، ۶۰۰ و ۷۵۰ میلی اکی والان بر کیلوگرم ماده خشک) طراحی گردیدند. دوره آزمایش پس از یک دوره تطبیق ۲۱ روزه، ۱۰۰ روز طول کشید. برای تعیین ترکیب شیمیایی جیره، نمونه‌های روزانه از جیره جمع‌آوری و براساس دستورالعمل‌های AOAC بررسی گردیدند. سطوح سدیم، پتاسیم و کلر با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری و مصرف روزانه ماده خشک با در نظر گرفتن باقیمانده اندازه‌گیری و محاسبه شدند. فراسنجه‌های خونی با استفاده از روش‌های AOAC اندازه‌گیری گردیدند. اسمولالیته مایع شکمبه با استفاده از اسمومتر اندازه‌گیری گردید و اسیدهای چرب فرار مطابق با دستورالعمل‌ها آنالیز شدند. همچنین، سطوح N- آمونیاک با استفاده از آنالیز سالیسیلات - هیپوکلریت تعیین شد. شاخص دمایی- رطوبتی برای بررسی تنش گرمایی مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری نیز با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ با بهره‌گیری از روش GLM صورت پذیرفت و برای مقایسه‌های میانگین پس از آزمون روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) به‌کار گرفته شد.

یافته‌ها: در طول دوره آزمایش، شاخص دمایی- رطوبتی به طور مستمر بالای ۷۵ بود و وجود تنش گرمایی را تاکید نمود. دمای رکتال گروه کنترل با دیگر گروه‌ها تفاوت قابل‌توجهی نداشت. تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارهای حاوی سطوح مختلف DCAD از نظر مصرف ماده خشک، دریافت مواد مغذی و قابلیت هضم ظاهری وجود داشت ($P < ۰/۰۵$)؛ به‌طوری که مصرف ماده خشک، قابلیت هضم پروتئین خام و قابلیت هضم ماده خشک در گروه کنترل به‌طور قابل‌توجهی پایین‌تر از بقیه تیمارها بودند ($P < ۰/۰۵$). علاوه بر این، pH شکمبه در گروه کنترل به‌طور قابل‌توجهی کمتر از بقیه تیمارها بود ($P < ۰/۰۵$). با این‌حال، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه شامل اسید بوتیریک، ظرفیت بافر، اسید استیک، اسید پروپیونیک، مجموع ترکیبی اسید استیک و اسید پروپیونیک و نسبت اسید استیک به اسید پروپیونیک تحت تأثیر سطوح مختلف اختلاف کاتیون - آنیون جیره قرار نگرفتند ($P > ۰/۰۵$). فراسنجه‌های قند خون اختلاف قابل‌توجهی ($P < ۰/۰۵$) را در تیمارهای مختلف نشان دادند، به‌طوری‌که گروه کنترل بیشترین میزان سطح قند خون را داشت. در مقابل، در سایر نشانگرهای خون از جمله پتاسیم، منیزیم، کلر، بالانس نیتروژن و فسفات اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$). بیشترین میزان کلسیم و سدیم در گروه کنترل مشاهده شد، و بالاترین سطح کلسترول مربوط به گروه پنجم با بیشترین سطح DCAD بود ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، یافته‌ها نشان دادند که دستکاری سطح اختلاف کاتیون - آنیون جیره تأثیر قابل‌توجهی بر pH شکمبه داشت ولی اثرات آماری معنی‌داری بر غلظت اسیدهای چرب فرار و در نتیجه تخمیر شکمبه نداشت. با این‌حال، گروه کنترل به‌لحاظ عددی بالاترین سطوح آمونیاک و کل اسیدهای چرب فرار را نشان داد. کاهش مشاهده‌شده در غلظت آمونیاک با افزایش سطح DCAD باعث افزایش اسیدیته شکمبه شد و این امر محیط مطلوبی برای سنتز بیشتر اسیدهای چرب فرار ایجاد می‌کند؛ از این‌رو، این سطوح در گروه کنترل کمتر هستند. وجود رابطه مستقیم بین مصرف ماده خشک، قابلیت هضم پروتئین خام و قابلیت هضم ماده خشک و افزایش سطح DCAD نشان می‌دهد که بره‌ها در شرایط تنش گرمایی می‌توانند قابلیت هضم ظاهری و عملکرد خود را با افزایش مصرف سطح اختلاف کاتیون - آنیون جیره حفظ کنند. در کل، اکثر پارامترهای مختلف مورد مطالعه و متابولیت‌های بیوشیمیایی خون بره‌ها تغییر معنی‌داری نداشتند و در محدوده نرمال قرار داشتند، که می‌تواند دلیل سازگاری نسبی گوسفندان بومی با شرایط تنش گرمایی باشد. از طرف دیگر، بالا بردن سطح کاتیون- آنیون جیره تا حدودی مشکلات ناشی از تنش گرمایی را مرتفع نمود.

واژه‌های کلیدی: تخمیر شکمبه، فیزیولوژی خون، گوسفند نژاد زندی، هضم، DCAD

مقدمه

اصطلاح اختلاف کاتیون-آنیون جیره[۱] (DCAD) به تغییر بالقوه مثبت یا منفی در ترکیبات یونی غیرقابل متابولیزه جیره اشاره دارد (Tucker *et al.*, 1988). در اولین مطالعات، بلاک (Block, 1984) اذعان داشت که درمان با DCAD منفی ۱۷۲/۳ میلی اکی‌والان بر کیلوگرم ماده خشک در پیشگیری از

[1] Dietary cation-anion difference

کمبود کلسیم در مقایسه با DCAD مثبت ۴۴۸/۶ میلی اکی‌والان بر کیلوگرم ماده خشک گروه کنترل مؤثر بود. این یافته بنیادی نخستین گام در شناسایی مزایای مرتبط با سطوح مختلف DCAD جیره بود. تحقیقات بعدی بر تأثیر قابل توجه سطوح DCAD بر سلامت و بازده اقتصادی دام‌های شیرده در دوران گذر تأکید کرده‌اند. تحقیقات اخیر عمدتاً بر درک چگونگی برهم‌کنش DCAD با متابولیسم کلسیم (Ca) (Collazos *et al.*, 2018؛ Diehl *et al.*, 2018؛ Lopera *et al.*, 2018؛ Rajeerad *et al.*, 2021) و همچنین ارتباطات آن با ویتامین D، ۵-هیدروکسی ترپیتوفان و کوله کلسیفرول/کلسیدیول (Collazos *et al.*, 2018؛ Martinez Rodney *et al.*, ؛Martinez *et al.*, 2018a؛ *et al.*, 2018b 2018) متمرکز شده‌اند. این مطالعات کارایی تنظیم هموستاز کلسیم خون محیطی از طریق کاهش DCAD همراه با فراسنجه‌های مذکور را نشان داده‌اند. سطوح بهینه DCAD در دام‌های شیرده برای به حداکثر رساندن تولید شیر، بین ۲۰۰ تا ۳۷۰ میلی‌اکی والان بر کیلوگرم ماده خشک توصیه شده‌اند (Tucker *et al.*, 1988؛ West *et al.*, 1991؛ Caixeta *et al.*, 2020). در حالی‌که جیره‌هایی حاوی ۲۵۰ میلی‌اکی والان بر کیلوگرم ماده خشک برای طیور و خوک به‌منظور افزایش نرخ رشد پیشنهاد شده‌اند (Mongin, 1981).

تنش گرمایی باعث تشدید تعریق و خروج ادرار (مرتبط با یون‌های بی‌کربنات)، از دست دادن CO_2 تنفسی (منجر به آلکالوز تنفسی) و کاهش سدیم و پتاسیم می‌شود. حیوانات به‌دلیل تلاش برای تنظیم درجه حرارت بدن، با کاهش مصرف خوراک، مانع از افزایش بیش از حد دمای بدن در هنگام تنش گرمایی می‌شوند. با کاهش مصرف خوراک، انرژی‌های قابل هضم، قابل متابولیسم و خالص کاهش می‌یابند؛ بنابراین، ابقا انرژی کاهش می‌یابد و در نتیجه تولید حیوان افت می‌کند. این عمل سبب طولانی شدن دوره پروار و افزایش انرژی نگهداری و غیره و به‌تبع آن کاهش سودآوری می‌شود. به این ترتیب، به‌لحاظ تئوری، تغییر سطوح DCAD می‌تواند گزینه مناسبی برای مقابله با تنش گرمایی باشد چرا که تغییر آن با تغییرات تعادل اسید-باز خون و عدم تعادل الکترولیت‌های بعدی مقابله می‌کند. چنین تغییراتی در جیره ممکن است مستقیماً بر pH شکمبه نشخوارکنندگان تأثیر بگذارند و در نتیجه بر بهره‌وری میکروفلور شکمبه، مصرف ماده خشک و هضم غذا (Yang *et al.*, 2021؛ Nguyen *et al.*, 2020) اثر بگذارند. تغییرات در غلظت نمک جیره که بر DCAD تأثیر می‌گذارند می‌توانند به سرعت بر قابلیت هضم غذا و مصرف ماده خشک تأثیر بگذارند. با توجه به آنچه که گفته شد و توجه به این مهم که تأثیر تنظیمات DCAD بر عملکرد گوسفند تقریباً مورد بررسی قرار نگرفته است، در این مطالعه سعی شده است تا اثرات خاص افزایش DCAD از ۱۵۰ به ۷۵۰ میلی‌اکی والان بر کیلوگرم ماده خشک بر تخمیر شکمبه، متابولیت‌های خون، مصرف ماده خشک و قابلیت هضم ماده آلی در بره‌های نر مورد بررسی قرار گیرند. علاوه بر این، در این مطالعه سعی بر این است تا مشخص شود که سطوح مثبت DCAD در محیط‌هایی با دمای بالا می‌توانند مصرف ماده خشک، تخمیر شکمبه و بهره‌وری بره را افزایش دهند یا خیر؟

مواد و روش‌ها

مجوز تولید مثل حیوانات تحت عنوان IUA-2020-P312 از شورای اخلاق در آزمایش روی حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی اخذ گردید. چهل بره قوچ زندی، بومی مناطق مرکزی ایران (شهرستان ورامین)، در ۷۵ روزگی با میانگین وزنی ۳۹ کیلوگرم از شیر گرفته شدند و به‌مدت ۱۰۰ روز از اول خرداد سال ۱۴۰۰ در مزرعه تحقیقاتی پرواربندی شدند. دامنه تغییرات دما در ماه‌های فروردین و اردیبهشت بین ۶ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد متغیر بود. در طول دوره پرواربندی، میانگین دمای منطقه ۳۵ درجه گزارش شد که بیشترین میانگین دمای هوا مشاهده شده مربوط به ماه تیر (۴۲ درجه سانتی‌گراد) و کمترین آن مربط به ماه شهریور (۲۹ درجه سانتی‌گراد) بودند. بره‌ها با استفاده از طرح بلوک کاملاً تصادفی به پنج گروه تیمار، هرکدام شامل هشت تکرار، تقسیم شدند. بره‌ها در طول آزمایش به‌صورت انفرادی نگهداری شدند و جیره‌هایی با سطوح مختلف DCAD (mEq/kg ماده خشک) دریافت کردند: ۱۵۰+ (کنترل؛ گروه ۱)، ۳۰۰+ (گروه ۲)، ۴۵۰+ (گروه ۳)، ۶۰۰+ (گروه ۴) و ۷۵۰+ (گروه ۵). برای تغذیه، جیره مخلوط کامل (TMR) با نسبت کنسانتره به علوفه ۳۰:۷۰ پلت شد. برای دستکاری سطوح DCAD، کربنات پتاسیم (K_2CO_3) و بی‌کربنات سدیم ($NaHCO_3$) اضافه گردیدند. این آزمایش ۱۰۰ روز به طول انجامید که شامل یک دوره آزمایش ۱۲ هفته‌ای به دنبال یک دوره تطبیق ۳ هفته‌ای بود. بره‌ها دو بار در روز در ساعات ۹:۰۰ و ۱۸:۰۰ با جیره‌های تیمار تغذیه شدند و دسترسی آزاد به آب داشتند. مواد مغذی و اجزای شیمیایی جیره‌ها در جدول ۱ به تفصیل آمده‌اند.

جدول ۱- مواد تشکیل‌دهنده و اجزای شیمیایی جیره برای بره‌ها (جیره براساس توصیه‌های NRC 2001 فرموله شد و به تدریج در اختیار بره‌ها قرار گرفت. این آزمایش شامل پنج جیره با سطوح انرژی و پروتئین یکسان بود).

Table 1. Ingredients and chemical components of diet for lambs (diets were formulated according to the recommendations of NRC (2001) and gradually provided to lambs. This experiment included five diets with the same energy and protein levels)

گویه‌ها Items	گروه‌ها (mEq/kg ماده خشک) Groups (mEq/kg DM)				
	گروه اول (۱۵۰+) Group 1, +150	گروه دوم (۳۰۰+) Group 2, +300	گروه سوم (۴۵۰+) Group 3, +450	گروه چهارم (۶۰۰+) Group 4, +600	گروه پنجم (۷۵۰+) Group 5, +750
مواد تشکیل‌دهنده (g/d) Ingredients (g/d)					
یونجه Alfalfa	400	400	400	400	400
پوسته گندم Wheat husk	100	100	100	100	100
کنجاله ذرت Corn meal	300	300	300	300	300
جو Barley	300	300	300	300	300
ذرت سیلو Corn silage	350	350	350	350	350
سبوس گندم Wheat bran	120	120	120	120	120
کنجاله سویا Soybean meal	100	100	100	100	100
نمک Salt	10	10	10	10	10
سدیم کربنات Na2CO3	–	7	15	23	31
سدیم بی‌کربنات NaHCO3	–	7	15	23	31
اجزای شیمیایی Chemical components					
ماده خشک Dry matter	93.91	93.01	93.23	92.98	92.89
پروتئین خالص Pure protein	13.41	13.48	13.51	13.54	13.4
فیبر خنثی-شوینده Neutral-detergent fiber	39.94	39.75	39.52	39.44	39.32
فیبر اسیدی-شوینده Acid-detergent fiber	30.75	30.64	30.52	30.44	30.41
خاکستر خام Raw ash	12.28	12.12	12.17	11.98	11.85

پایش شاخص دما-رطوبت (THI)

شاخص دما-رطوبت (THI) به‌عنوان معیاری برای تنش گرمایی در نظر گرفته شد. این شاخص با استفاده از دماسنج‌های تر و خشک در ارتفاع ۱/۵ متری در آغل‌های تغذیه اندازه‌گیری شد. THI به‌صورت روزانه با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

رابطه (۱) $$THI = (Td + Tw) * 0.72 + 40.6$$

که در آن Td و Tw به‌ترتیب نشان‌دهنده دماهای اندازه‌گیری شده توسط دماسنج‌های تر و خشک هستند. شاخص THI به‌عنوان معیار نشان‌دهنده وجود تنش گرمایی سه بار در روز در ساعت‌های ۸، ۱۴ و ۱۸ محاسبه شد تا وجود تنش گرمایی در طول ساعت‌های مختلف روز بررسی گردد. دمای رکتوم (RT) بره‌ها به‌صورت روزانه با استفاده از دماسنج الکترونیکی و به‌مدت ۳ تا ۴ دقیقه قرار گرفتن در رکتوم حیوان ثبت شد، به‌طوری‌که در هر تیمار به‌طور تصادفی ۳ بره انتخاب و ثبت دمای رکتومی صورت پذیرفت.

جمع‌آوری اطلاعات و تعیین قابلیت هضم

برای تعیین ترکیب شیمیایی جیره، از جمله ماده خشک (DM)، فیبر اسیدی-شوینده (ADF)، فیبر خنثی شوینده (NDF)، چربی کل (خاکستر)، خاکستر خام و پروتئین خام (CP)، از روز ۲۱ تا ۱۰۰ نمونه‌های روزانه از جیره جمع‌آوری شدند که بر اساس دستورالعمل‌های ای او ای سی (AOAC, 1990) انجام گرفت. سطوح سدیم (Na)، پتاسیم (K) و کلر (Cl) با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شدند. DCAD با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

رابطه (۲) $$DCAD= Na (\%) / 0.0023 + K(\%) / 0.0039 - Cl (\%) / 0.00355 - S(\%) / 0.0016$$

وزن تک‌تک بره‌ها در طول دوره ۱۰۰ روزه، هر ۱۴ روز ثبت شد و مصرف روزانه ماده خشک (DMI) با در نظر گرفتن باقیمانده اندازه‌گیری و محاسبه شد.

اندازه‌گیری متابولیت‌های پلاسما

به‌منظور ارزیابی فراسنجه‌های بیوشیمیایی، ماهانه نمونه خون از سیاهرگ ژوگولار (رگ گردنی) با سرنگ جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در لوله‌های خلأ EDTA قرار داده شده، با سانتریفوژ جدا و برای آنالیز نگهداری شدند. سطوح گلوکز، پتاسیم، سدیم، کلسترول، فسفر و منیزیم با استفاده از روش‌های AOAC اندازه‌گیری شدند.

جمع‌آوری و بررسی مایع شکمبه برای اسیدهای چرب فرار

نمونه‌های مایع شکمبه از ۴۰ بره با استفاده از سرنگ و لوله معده و با به‌کارگیری روش چندین لوله برای به‌حداقل رساندن آلودگی بزاق به‌دست آمد. دهانه‌گیر دهان مجهز به یک لوله لاستیکی بیرونی (قطر داخلی = ۲/۵ سانتی‌متر) و یک لوله

جمع‌آوری داخلی (قطر خارجی = ۱/۲ سانتی‌متر، طول = ۱۱۰ سانتی‌متر) برای جمع‌آوری مایع وارد شکمبه شد (Yalchi, 2023; Babaei *et al*., 2023).

در روز ۹۰ آزمایش، بلافاصله پس از تغذیه صبحگاهی و بعد از ۲/۵ ساعت، ۲۵ میلی‌لیتر نمونه مایع شکمبه با استفاده از pH سنج اندازه‌گیری شد. سپس مایع شکمبه از دو لایه تنظیف صاف شد و ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۶ نرمال برای نگهداری قبل از انجماد نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای سنجش‌های بعدی اسید چرب فرار (VFA)، اسمولالیته و N–آمونیاک اضافه گردید. اسمولالیته مایع شکمبه با استفاده از اسمومتر اندازه‌گیری شد، در حالی که اسیدهای چرب فرار مطابق با دستورالعمل‌های تاماکارون (Thammacharoen, 2001) آنالیز شدند. سطوح N–آمونیاک با استفاده از آنالیز سالیسیلات–هیپوکلریت تعیین شد.

تحلیل آلانتوئین دفع شده و جمع‌آوری ادرار

نمونه‌های ادرار به‌طور همزمان با نمونه‌های مدفوع (۱۵ میلی‌لیتر H_2SO_4 در محلول ۱۰ درصد در ۹۰ میلی‌لیتر ادرار) هر هفته جمع‌آوری شدند. ادرار در ظروف پلاستیکی با اسید سولفوریک ۱۰٪ برای به‌حداقل رساندن از دست رفتن نیتروژن و حفظ pH زیر سه جمع‌آوری و اندازه‌گیری شد. در پایان آزمایش، ۳۰ میلی‌لیتر ادرار از هر روز جمع‌آوری، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد و با استفاده از تکنیک‌های رنگ‌سنجی و مطابق با روش‌های ذکرشده توسط چن و گومز (Chen and Gomes, 1992) برای نیتروژن و دفع آلانتوئین تجزیه و تحلیل شد. احتباس نیتروژن با تعیین تفاوت بین خروجی نیتروژن و جذب نیتروژن (از مصرف خوراک) محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های آزمایش در نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ با بهره‌گیری از طرح کامل تصادفی با پنج تیمار و هشت تکرار و با مدل GLM تجزیه و تحلیل شدند. مدل آماری مورد استفاده به شرح زیر بود:

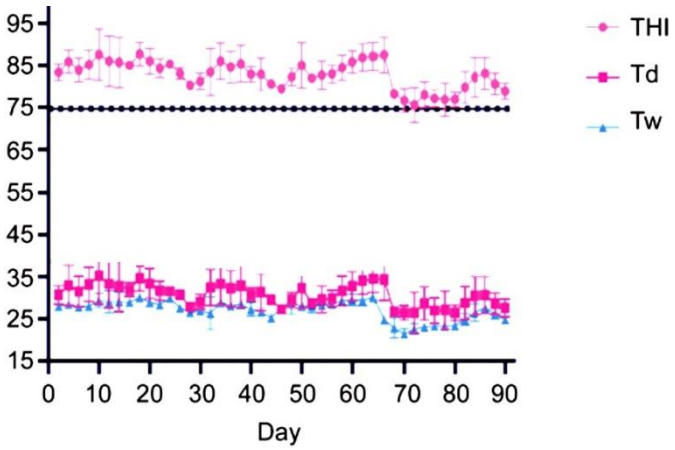
رابطه (۳) $$Yij = \mu + Ti + Eij$$

در این معادله، Yij مقدار هر متغیر، Ti اثر تیمارو μ میانگین صفت مرتبط را نشان می‌دهند و Eij معرف خطا است. میانگین‌ها پس از آزمون با استفاده از روش آزمون LSD مقایسه شدند و سطح معنی‌داری برابر $P < ۰/۰۵$ تعیین گردید. لازم به توضیح است که تنش گرمایی در تمام دوره پرواربندی وجود داشت (شکل ۱)، لذا تأثیر این متغیر دامی (همواره ۱) به‌عنوان عامل ثابت است و رفتار تصادفی ندارد.

نتایج و بحث

دمای رکتال بره‌ها و شاخص دمایی–رطوبتی (THI)

در طول دوره مطالعه، دماسنج خشک میانگین دمای ۳۳/۹۴ درجه سانتی‌گراد را با دامنه ۲۹/۰۳ تا ۳۹/۲۵ درجه سانتی‌گراد ثبت کرد. دمای دماسنج مرطوب از ۲۰/۱۶ تا ۳۰/۰۱ درجه سانتیگراد با میانگین ۲۵/۶۱ درجه سانتیگراد متغیر بود. THI محاسبه شده بین ۷۵/۱۳ تا ۸۶/۵۵ و با میانگین ۸۱/۲۳ متغیر بود. قابل ذکر است که THI در طول آزمایش به‌طور مداوم بالای ۷۵ باقی ماند. دمای رکتال در مقایسه با گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف DCAD نشان نداد به‌طوری‌که دامنه این دما در گروه‌ها ۳۷/۹-۳۷/۶ درجه بود. در گروه‌های مختلف تیمار DCAD، هیچ تفاوت قابل‌توجهی در دمای رکتال مشاهده نشد. شکل (۱) شاخص THI را در دوره آزمایش نشان می‌دهد که خط افقی در ۷۵ آستانه تنش گرمایی را نشان می‌دهد. همچنین جدول (۲) میانگین شاخص THI را به صورت ماهانه نشان می‌دهد. براساس این جدول، میانگین شاخص THI از آستانه تنش گرمایی (۷۵) در طول دوره پرواربندی و تقریبا در تمام ساعات شبانه‌روز عبور کرده است. این شاخص نشان می‌دهد که با شروع دوره پرواربندی تنش گرمایی روند صعودی دارد و در ماه تیر بیشترین تنش مشاهده شد و بعد از آن شاخص نزولی می‌شود ولی با این‌حال از آستانه تنش گرمایی کمتر نبود و بره‌ها همواره درگیر تنش گرمایی بودند.



شکل ۱- میانگین روزانه شاخص دما–رطوبت (THI)، دمای حباب خشک (Td) و دمای حباب مرطوب (Tw)

Figure 1. The daily average temperature-humidity index (THI), drybulb temperatures (Td), and wet-bulb temperatures (Tw)

جدول ۲- میانگین ماهانه شاخص دما-رطوبت (THI)

Table 2. The monthly average temperature-humidity index (THI)

ماه Month	میانگین شاخص THI THI average index	عبور از آستانه تنش گرمایی =۷۵ Heat-stress threshold exceeding = 75
خرداد May-June	84.5	>75
تیر June-July	86.2	>75
مرداد July-August	81.4	>75
شهریور August	79.6	>75

تأثیر DCAD بر متابولیت‌های پلاسما

تجزیه واریانس برای فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون در بره‌ها نشان‌دهنده تفاوت‌های معنی‌داری در فراسنجه‌های نمک، کلسترول و گلوکز در تیمارهای مختلف بود ($P < ۰/۰۵$، جدول ۳). نتایج نشان دادند که گروه کنترل بیشترین تأثیر را بر سطوح قند خون داشت ($P < ۰/۰۵$). با این حال، بین گروه‌های ۳، ۴ و ۵ در سطوح قند خون تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. گروه ۵ در مقایسه با سایر گروه‌ها تفاوت قابل توجهی در کلسترول خون نشان داد و بالاترین سطح کلسترول مشاهده شد. سطوح خونی پتاسیم، منیزیم و فسفر تغییرات معنی‌داری را نشان ندادند ($P > ۰/۰۵$). با این وجود، گروه ۵ بالاترین سطوح فسفر، منیزیم و پتاسیم خون را نشان داد، در حالی که گروه کنترل دارای پایین‌ترین سطوح بود (جدول ۳).

جدول ۳- تأثیر تفاوت کاتیون-آنیون جیره بر متابولیت‌های پلاسما و تعادل نیتروژن بره‌های نر.

Table 3. Effects of the dietary cation–anion difference on plasma metabolites and nitrogen balance of male lambs

گویه‌ها Items	گروه (mEq/kg ماده خشک) Groups(mEq/kg DM)					
	گروه اول (۱۵۰+) Group 1, +150	گروه دوم (۳۰۰+) Group 2, +300	گروه سوم (۴۵۰+) Group 3, +450	گروه چهارم (۶۰۰+) Group 4, +600	گروه پنجم (۷۵۰+) Group 5, +750	P-value
کلسیم Calcium	2.82a	2.71ab	2.64ab	2.61ab	2.42b	0.05
گلوکز Glucose	105.15a	104.21b	103.63c	103.55c	103.40c	0.04
کلسترول Cholesterol	116.46b	116.55b	115.22b	115.13b	118.12a	0.05
فسفر Phosphorus	1.45	1.56	1.57	2.05	2.17	0.75
منیزیم Magnesium	1.13	1.00	1.76	1.30	1.76	0.82
پتاسیم Potassium	113.39	113.30	113.44	113.50	113.52	0.84
سدیم Sodium	124a	108abc	111ab	94bc	84c	0.05
کلر Chlorine	112.50	112.00	111.50	111.00	110.23	0.32
بالانس نیتروژن Nitrogen balance	9.65	9.40	11.80	12.39	12.06	0.83

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و اثر DCAD

تفاوت معنی‌داری در pH شکمبه بین تیمارها در سطح $P < ۰/۰۱$ مشاهده شد. گروه کنترل پایین‌ترین pH شکمبه و گروه ۵ بالاترین pH شکمبه را نشان دادند ($P < ۰/۰۵$) (جدول ۴). با این حال، کل اسیدهای چرب فرار، از جمله بوتیرات، پروپیونات، استات، اسید ایزوالریک، اسید والریک، نسبت استات به پروپیونات، آمونیاک و اوره تحت تأثیر تغییرات در سطوح DCAD قرار نگرفتند. با این وجود، گروه کنترل به لحاظ عددی بالاترین سطوح آمونیاک، کل اسیدهای چرب فرار، اوره، اسید ایزوالریک، اسید والریک، بوتیرات و نسبت استات به پروپیونات را نشان داد. برعکس، گروه ۵ کمترین سطوح آمونیاک، اوره، بوتیرات، اسید والریک، اسید ایزوالریک، نسبت استات به پروپیونات و کل اسیدهای چرب فرار را داشت.

جدول ۴– اثرات DCAD و سطح کنسانتره (conc) بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه بره‌های نر.
Table 4. Effects of DCAD on the rumen fermentation parameters of male lambs

گویه‌ها Items	گروه (mEq/kg ماده خشک) Groups (mEq/kg DM)					P-value
	گروه اول (۱۵۰+) Group 1, +150	گروه دوم (۳۰۰+) Group 2, +300	گروه سوم (۴۵۰+) Group 3, +450	گروه چهارم (۶۰۰+) Group 4, +600	گروه پنجم (۷۵۰+) Group 5, +750	
PH	6.54b	6.68ab	6.64ab	6.71ab	6.82a	0.04
کل VFA Total VFA	75.15	72.21	71.36	72.65	73.40	0.33
استات (٪) Acetate (%)	61.46	56.55	58.22	55.13	54.12	0.44
پروپیونات(٪) Propionate(%)	19.44	19.10	18.53	18.01	17.83	0.24
بوتیرات (٪) Butyrate (%)	13.60	13.31	13.10	13.04	13.04	0.75
والریک (٪) Valeric (%)	0.34	0.33	0.33	0.31	0.30	0.84
ایزووالریک(٪) Isovaleric(%)	1.14	0.96	0.98	0.84	1.01	0.06
استات/پروپیونات Acetate/propionate	3.74	3.20	3.10	3.08	3.01	0.86
آمونیاک Ammonia	112.50	112.00	111.50	111.00	110.23	0.32

تأثیر DCAD بر مصرف ماده خشک و قابلیت هضم

تغییرات معنی‌داری در مصرف ماده خشک و قابلیت هضم پروتئین خام در تیمارهای مختلف مشاهده شدند ($P < ۰/۰۵$، جدول ۵). مصرف ماده خشک و قابلیت هضم پروتئین خام در گروه کنترل به‌طور قابل‌توجهی پایین‌تر بودند ($P < ۰/۰۵$). برعکس، گروه ۴ بالاترین قابلیت هضم ظاهری ماده آلی، پروتئین خام و مصرف ماده خشک را نشان داد ($P < ۰/۰۵$). جدول ۵ نشان می‌دهد که گروه ۱ پایین‌ترین قابلیت هضم پروتئین خام را داشت ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۵– اثرات تفاوت کاتیون و آنیون جیره بر مصرف ماده خشک، قابلیت هضم ماده آلی و قابلیت هضم پروتئین خام
Table 5. Effects of dietary cation and anion difference on dry matter intake, organic matter digestibility, and crude protein digestibility

گویه‌ها Items	گروه (mEq/kg ماده خشک) Groups (mEq/kg DM)					P-value
	گروه اول (۱۵۰+) Group 1, +150	گروه دوم (۳۰۰+) Group 2, +300	گروه سوم (۴۵۰+) Group 3, +450	گروه چهارم (۶۰۰+) Group 4, +600	گروه پنجم (۷۵۰+) Group 5, +750	
DMI (g/kg وزن بدن)	31.69b	36.75a	38.11a	38.21a	37.11a	0.01
دریافت مواد مغذی (گرم کیلوگرم وزن بدن، روز) (g/kg BW/d) Nutrient intake						
مواد آلی Organic matter	29.59b	34.39a	35.61a	35.67a	34.60a	0.04
پروتئین خام Crude protein	4.44b	5.46a	6.53a	6.42a	6.83a	0.04
فیبرشوینده خنثی Neutral detergent fiber	16.60	16.90	19.10	19.07	19.04	0.09
فیبر شوینده اسیدی Acid detergent fiber	8.34	8.56	9.33	9.59	9.30	0.84
قابلیت هضم ظاهری (٪) Apparent digestibility (%)						
ماده خشک Dry matter	73.74b	74.40a	77.10a	78.75a	80.01a	0.02
ماده آلی Organic matter	61.50b	68.05a	73.50a	74.86a	76.23a	0.02
پروتئین خام Crude protein	65.87b	73.03a	77.05a	78.08a	78.22a	0.02

تفاوت کاتیون–آنیون جیره یک فراسنجه حیاتی است که به‌عنوان نسبت کاتیون‌های اصلی (سدیم و پتاسیم) به آنیون‌های اصلی (کلر و سولفور) در هر کیلوگرم ماده خشک تعریف می‌شود (Riond, 2001). در سال‌های اخیر، مطالعات (Edwards *et al.*, 2010 ;Shahzad *et al.*, 2018; Cardoso ;Heer *et al.*, 2017 ;Nørgaard *et al.*, 2014 (Hassanien *et al.*, 2022 *et ;al.*, 2010 بر اهمیت فزاینده DCAD در فرمول‌بندی جیره حیوانات تأکید کرده‌اند. علاوه بر این، متاآنالیزهای اخیر انجام‌شده (Santos *et al.*, 2019; Lean *et al.*, 2019) به تأثیرات متنوع DCAD بر سلامت، بهره‌وری و عملکرد دام پرداخته‌اند. یافته‌های آن‌ها نشان می‌دهند که DCAD پیش‌زایشی بر سطوح کلسیم خون کل در حین زایمان تأثیر منفی می‌گذارد و ممکن است به کاهش کلی نتایج بهداشتی در گاوها کمک کند.

تحقیق حاضر، تفاوت‌های قابل‌توجهی را در مصرف ماده خشک، پروتئین خام و قابلیت هضم ماده آلی بین گروه‌های تیمار نشان داد. به‌طور قابل‌توجهی، بره‌های گروه کنترل کمترین مصرف ماده خشک را نشان دادند که حاکی از علاقه آن‌ها به اجزای خشک‌تر علوفه است. به‌طور مشابه، گروه ۵ کمترین مصرف ماده خشک و نیز پایین‌ترین قابلیت هضم پروتئین خام و بیشترین محتوای ماده آلی را نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد. این یافته‌ها بر تأثیر مکمل‌دهی بر قابلیت

هضم مواد مغذی در بره‌های نر تأکید می‌کنند. افزایش مشاهده شده در قابلیت هضم ممکن است به نبود نیازمندی‌های جمعیت میکروبی شکمبه در جیره پایه نسبت داده شود، همان‌طور که ملاکی و همکاران (Mallaki *et al*., 2015) پیشنهاد کرده‌اند.

مطالعات مختلف (Bougouin *et al.*, 2019؛ Glosson *et al.*, 2020؛ Samarin *et al.*, 2022) چندین عامل مؤثر بر قابلیت هضم مواد مغذی را شناسایی کرده‌اند، از جمله غلظت مکمل، منبع مکمل (آلی یا معدنی)، تعادل جیره (نسبت علوفه به کنسانتره) و غلظت مکمل جیره پایه. در این مطالعه، تغییرات قابل توجهی در pH شکمبه بین تیمارها مشاهده شد. با این حال، بر اساس تحلیل داده‌ها، کل اسیدهای چرب فرار، از جمله بوتیرات، پروپیونات، استات، نسبت استات به پروپیونات، ایزوالریک، والریک، آمونیاک و ازت اوره، تغییرات قابل‌توجهی در بین تیمارها نشان ندادند. pH شکمبه در گروه کنترل بالاترین میزان را داشت، در حالی که پایین‌ترین pH شکمبه در گروه ۵ مشاهده شد. این یافته‌ها نشان می‌دهند که در حالی که مکمل‌دهی بر سطوح pH شکمبه تأثیر می‌گذارد، اما تأثیر قابل‌توجهی بر غلظت اسیدهای چرب فرار ندارد.

نتایج این مطالعه بر تاثیر مستقیم منبع کاتیونی جیره بره‌ها بر تعادل آنیون–کاتیون خوراک آن‌ها و در نتیجه، بر ویژگی‌های تخمیر شکمبه تأکید می‌کنند. یکی از شاخص‌های کلیدی برای ارزیابی شرایط تخمیر شکمبه، سطح نیتروژن آمونیاکی تولیدشده در آن است. هدف از یک جیره متعادل، به حداقل رساندن اتلاف ناشی از مازاد آمونیاک و در عین‌حال تامین پروتئین و نیتروژن غیرقابل تجزیه کافی برای سنتز بهینه پروتئین میکروبی است. آمونیاک به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مواد حاوی نیتروژن توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه برای سنتز پروتئین استفاده می‌شود. اوره موجود در بزاق، اجزای حاوی نیتروژن در خوراک و اوره نفوذپذیر به دیواره شکمبه، همگی در تولید آمونیاک شکمبه نقش دارند. این یافته‌ها بر پیچیدگی‌های پویایی تخمیر شکمبه و اهمیت حفظ تعادل بهینه نیتروژن برای سنتز پروتئین میکروبی و سلامت کلی شکمبه تاکید می‌کنند (Lee *et al.,* 2020؛ Afsahi *et al.,* 2020).

کاهش مشاهده‌شده در غلظت آمونیاک با افزایش سطح DCAD، حاکی از افزایش متناظر اسیدیته شکمبه است. این افزایش اسیدی، محیط مطلوبی را برای سنتز بیشتر در شکمبه ایجاد می‌کند. تجزیه پروتئین خام به طور قابل توجهی بر تولید آمونیاک توسط میکروارگانیسم‌ها در جیره تاثیر می‌گذارد و به تجزیه جمعیت میکروبی، به ویژه در شرایط نامناسبی که بازیافت نیتروژن رخ می‌دهد، کمک می‌کند. مطالعات دوداروا (Dudareva *et al.,* 2004) نشان داده‌اند که کاهش تولید آمونیاک شکمبه می‌تواند سنتز پروتئین میکروبی را افزایش دهد یا تجزیه پروتئین شکمبه را کاهش دهد. به‌طور مشابه، یافته‌های روپل وهایرلی (Doepel & Hayirli, 2011) با مطالعه حاضر مطابقت دارد و نشان می‌دهد که افزودن بی‌کربنات سدیم به جیره تاثیری معنی‌دار بر سطوح آمونیاک شکمبه ندارد. این یافته‌ها بر اهمیت برهم‌کنش پیچیده بین عوامل جیره، اسیدیته شکمبه و تولید پروتئین میکروبی در اکوسیستم شکمبه تاکید می‌کنند.

اختلال در چرخه انرژی بین باکتری‌ها و تک‌یاخته‌ها هنگامی رخ می‌دهد که جمعیت تک‌یاخته‌ای شکمبه کاهش یابد یا حذف شود که منجر به کاهش تجزیه پروتئین‌های باکتریایی می‌شود. در نتیجه، غلظت آمونیاک به‌دلیل افزایش جریان ازت میکروبی از شکمبه کاهش می‌یابد، همان‌طور که مطالعات کاواناق و همکاران (Kavanagh *et al.,* 2019) و تانه و همکاران (Thanh *et al.,* 2020) نشان داده‌اند. مطابق با یافته‌های این پژوهش و تحقیقات هریسون و همکاران (Harrison *et al.,* 2012)، پتاسیم کربنات می‌تواند بافر مؤثری باشد که مصرف ماده خشک و سنتز اسیدهای چرب فرار را تقویت و pH شکمبه و نسبت استات به پروپیونات را حفظ کند. در حالی‌که تفاضل کاتیون–آنیون جیره بر نسبت استات به پروپیونات تأثیر می‌گذارد، طبق گزارش آیانیوک و اردمن (Iwaniuk & Erdman, 2015)، بر نسبت مولی پروپیونات تأثیر قابل‌توجهی ندارد. این یافته‌ها نقش بالقوه پتاسیم کربنات در تنظیم پویایی تخمیر شکمبه و بهبود بهره‌وری از مواد مغذی در محیط شکمبه را برجسته می‌کنند.

شهزاد و همکاران (Shahzad *et al.,* 2008) گزارش کرده‌اند که افزایش سطح تفاضل کاتیون–آنیون جیره، الگوی تخمیر را حفظ می‌کند و منجر به مقادیر متعادلی از بوتیرات و استات می‌شود. این الگوی تخمیر متعادل به نوبه خود، سنتز اسیدهای چرب فرار از جمله بوتیرات و استات را که نقش قابل توجهی در تولید چربی شیر دارند (تا ۲۵ درصد از محتوای چربی شیر را تشکیل می‌دهند) را افزایش می‌دهد. در نتیجه، افزایش سطح تفاضل کاتیون–آنیون جیره به کاهش آلودگی محیطی ناشی از تولید متان کمک می‌کند که در راهبردهای تغذیه عملی معاصر با هدف پایداری و مسئولیت زیست‌محیطی بسیار موردتوجه قرار دارد. تحقیقات اولیه مانند تحقیقات آپر–بوسارد و همکاران (Apper-Bossard *et al.*, 2010) نشان می‌دهند که افزودن پتاسیم کربنات برای افزایش سطح تفاضل کاتیون–آنیون جیره منجربه افزایش مصرف ماده خشک می‌شود. این یافته‌ها مزایای بالقوه دستکاری سطوح تفاضل کاتیون–آنیون جیره در جهت بهینه‌سازی الگوهای تخمیر شکمبه، افزایش کارایی تولید شیر و کاهش اثرات زیست‌محیطی را برجسته می‌کنند. می‌توان استنتاج کرد که افزودن پتاسیم‌کربنات به جیره، فرآیندهای تخمیر شکمبه را تقویت و مواد مغذی ضروری مانند پتاسیم و کلسیم را برای جمعیت میکروبی تأمین می‌کند. این مکمل‌سازی نهایتاً منجر به افزایش قابلیت هضم ماده خشک می‌شود. مطالعاتی مانند مطالعات انجام‌شده توسط وست و همکاران (West *et al*., 1987) و ژانگ و همکاران (Zhang *et al*., 2022) نشان دادند که تیمار حاوی پتاسیم کربنات و منیزیم کربنات با سطح تفاضل کاتیون–آنیون جیره ۹۰۵+ میلی‌اکی‌والان در لیتر، بالاترین قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و سطح زیر منحنی قابلیت هضم (نشان‌دهنده نوسانات در قابلیت هضم ماده خشک در زمان‌های مختلف) را نشان داد. علاوه بر این، تحقیقات آیانیوک و اردمن (Iwaniuk and Erdman, 2015) این یافته‌ها را تأیید می‌کنند و نشان می‌دهند که با افزایش سطح تفاضل کاتیون–آنیون جیره، قابلیت هضم ماده خشک نیز افزایش

می‌یابد. این نتایج جمعی، اثرات مفید افزودن پتاسیم کربنات به جیره را در بهبود پویایی تخمیر شکمبه و افزایش بهره‌وری از مواد مغذی برجسته می‌کنند که در نهایت منجر به بهبود قابلیت هضم ماده خشک و در کل، سلامت و عملکرد بهتر دام می‌شود.

فانک و همکاران (Funk *et al*., 1986) تأثیر افزودن لاسالوسید و پتاسیم بر قابلیت هضم فیبر نامحلول در شوینده خنثی (NDF) را بررسی کردند و دریافتند که همزمان‌سازی مکمل هر دو ماده، قابلیت هضم فیبر نامحلول NDF را بهبود بخشید. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که افزایش سطوح DCAD جیره، اسیدیته شکمبه را افزایش می‌دهد و در نتیجه، هضم فیبر نامحلول NDF را بهبود می‌بخشد. این بهبود در قابلیت هضم ماده خشک با یافته‌های ماتینز و همکاران (Martinez et al., 2018) مطابقت دارد. علاوه‌بر این، ارزیابی سلامت متابولیک حیوانات از طریق اندازه‌گیری‌های خون قابل دستیابی است. این مطالعه تغییرات قابل توجهی در سطوح سدیم، کلسترول و گلوکز را در رژیم‌های غذایی مختلف نشان داد که نشان‌دهنده تأثیرات بالقوه متابولیکی مرتبط با سطوح DCAD و مکمل‌های غذایی است. این یافته‌ها بر تأثیرات چندوجهی مداخلات تغذیه‌ای بر دینامیک تخمیر شکمبه، قابلیت هضم مواد مغذی و سلامت متابولیک در نشخوارکنندگان تأکید می‌کنند. گروه کنترل، در مقایسه با میانگین تیمارها بیشترین تأثیر را بر سطح قند خون نشان داد، در حالی که گروه‌های ۳، ۴ و ۵ تفاوت قابل توجهی را نشان ندادند. این مشاهدات با تحقیقات قبلی مطابقت دارند که نشان می‌دهند غلظت پروپیونات در مایع شکمبه به طور قابل توجهی بر سطح قند خون در نشخوارکنندگان تأثیر می‌گذارد (McDonald *et al.*, 2010).

علاوه بر این، سطح کلسترول خون در گروه‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ تفاوت قابل توجهی نشان نداد، در حالی که گروه ۵ بیشترین تأثیر را نشان داد. در حالی که غلظت‌های پتاسیم، منیزیم و فسفر در پلاسمای خون بین گروه‌ها تفاوت‌های معنی‌داری نداشتند، گروه ۵ به لحاظ عددی بالاترین غلظت‌های پتاسیم، منیزیم و فسفر را نشان داد. برعکس، گروه کنترل بیشترین تأثیر را بر سطح نمک خون داشت. این یافته‌ها بر پاسخ‌های متابولیکی متنوع مرتبط با تیمارهای غذایی مختلف و همچنین بر رابطه پیچیده بین دینامیک تخمیر شکمبه و غلظت متابولیت‌های خون در نشخوارکنندگان تأکید می‌کنند.

تغییرات در فراسنجه‌های خون می‌توانند ناشی از عوامل مختلفی باشند که بر سنتز پروپیونات شکمبه تأثیر می‌گذارند، مانند ترکیب جیره، منبع مکمل و دوز مصرفی (Spears *et al.*, 2004). اختلافات جزئی در سطوح سدیم و پتاسیم پلاسما می‌توانند با تغییرات رژیمی در این مواد معدنی مرتبط باشند، زیرا سدیم و پتاسیم اضافی توسط کلیه‌ها دفع می‌شوند. به‌طور مشابه، یافته‌های وست و همکاران (West *et al*., 1991) با مطالعه حاضر همسو هستند و نشان می‌دهند که افزایش DCAD از ۱۱۶- به ۳۱۲+ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم ماده خشک، هیچ تغییر قابل‌توجهی در سطوح پتاسیم و سدیم پلاسما ایجاد نمی‌کند. این مشاهدات بر اهمیت برهم‌کنش ظریف بین اجزای جیره، متابولیسم شکمبه و شیمی خون تأکید می‌کنند و پیچیدگی مداخلات تغذیه‌ای در فیزیولوژی نشخوارکنندگان را برجسته می‌سازند.

نتیجه‌گیری کلی

این مطالعه به تبیین ارتباط پیچیده بین اختلاف کاتیون–آنیون جیره (DCAD) و فراسنجه‌های فیزیولوژیکی مختلف در قوچ‌های زندی نر تحت شرایط تنش گرمایی پرداخت. در مطالعه حاضر، با بررسی شاخص THI مشخص گردید که بره‌ها در طول دوره پرواربندی و تقریبا در تمام ساعات شبانه‌روز درگیر تنش گرمایی بودند و این شاخص همیشه بالاتر ازآستانه خود (۷۵) بود. دمای رکتال در گروه‌های مختلف DCAD تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد. بررسی فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون نشان داد که متغیرهای کلسیم، گلوکز، کلسترول و سدیم در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری داشتند. همچنین، تفاوت معنی‌داری در pH شکمبه بین تیمارها مشاهده شد، با این‌حال، اختلاف معنی‌داری در اسیدهای چرب فرار وجود نداشت. همچنین، مصرف ماده خشک و قابلیت هضم پروتئین خام در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری داشتند.

تغییرات مشاهده‌شده در متابولیت‌های خون، از جمله گلوکز، کلسترول و سطوح الکترولیت، تأثیرات DCAD را بر حفظ پایداریِ محیط داخلی بدن و ثابت نگه داشتن شرایط فیزیکی و شیمیایی متابولیک در گوسفند نشان می‌دهند. علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهند که تغییرات در سطوح DCAD می‌توانند دینامیک تخمیر شکمبه را تعدیل کنند و بر سنتز اسیدهای چرب فرار و تولید آمونیاک تأثیر بگذارند. بهبود قابلیت هضم ماده خشک مشاهده‌شده با تیمارهای خاص DCAD، پتانسیل مداخلات جیره غذایی را برای بهینه‌سازی استفاده از مواد مغذی و کارایی متابولیک در نشخوارکنندگان گوشتی برجسته می‌کند. به علاوه، پاسخ‌های افتراقی در فراسنجه‌های خون بر اهمیت در نظر گرفتن DCAD به‌عنوان یک عامل تعیین‌کننده کلیدی سلامت متابولیک و عملکرد در گوسفند تأکید می‌کنند. در مجموع، این که اکثر فراسنجه‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌داری در گروهای مختلف تیمار نداشتند می‌تواند دال بر سازگاری نسبی گوسفندان بومی با شرایط تنش گرمایی حاکم بر منطقه باشد. با این حال، نتایج نشان دادند که بالا بردن سطح کاتیون–آنیون جیره تا حدی می‌تواند مشکلات به‌وجود آمده از تنش گرمایی را برطرف نماید.

لازم به ذکر است که تحقیقات بیشتری برای روشن شدن مکانیسم‌های زمینه‌ای حاکم بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی مشاهده‌شده به دستکاری DCAD موردنیاز هستند. لازم است که مطالعات مکرر در بازه‌های زمانی بلندمدت برای ارزیابی اثرات طولانی‌مدت مکمل‌دهی DCAD بر عملکرد رشد، تولیدمثل و فراسنجه‌های کلی سلامت صورت پذیرند تا پیامدهای عملی آنها برای سیستم‌های تولید گوسفند ارائه شوند. علاوه بر این، بررسی اثرات هم‌افزایی DCAD با سایر مداخلات جیره غذایی، مانند منابع فیبر و افزودنی‌های میکروبی، می‌تواند راهکارهای نوینی را برای بهبود استفاده از مواد مغذی و کاهش تنش گرمایی در جمعیت گوسفند ارائه دهد.

References

Afsahi, A., Ahmadi-Hamedani, M., & Khodadi, M. (2020). Comparative evaluation of urinary dipstick and pH-meter for cattle urine pH measurement. *Heliyon*, 6(2). doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03316

Apper-Bossard, E., Faverdin, P., Meschy, F., & Peyraud, J. L. (2010). Effects of dietary cation-anion difference on ruminal metabolism and blood acid-base regulation in dairy cows receiving 2 contrasting levels of concentrate in diets. *Journal of Dairy Science*, 93(9), 4196-4210. doi: 10.3168/jds.2009-2975.

Babaei, M., Ghoorchi, T., & Toghdory, A. (2023). Impact of replacing different levels of potato waste silage with barley on growth performance, digestibility, rumen and blood parameters of fattening lambs. *Research on Animal Production*, 14(4), 51-61. doi: 10.61186/rap.14.42.51. [In Persian]

Block, E. (1984). Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *Journal of Dairy Science,* 67(12), 2939-2948. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(84)81657-4

Bougouin, A., Martin, C., Doreau, M., & Ferlay, A. (2019). Effects of starch-rich or lipid-supplemented diets that induce milk fat depression on rumen biohydrogenation of fatty acids and methanogenesis in lactating dairy cows. *Animal*, 13(7), 1421-1431. doi.org/10.1017/S1751731118003154.

Caixeta, L. S., Weber, W. J., Johnson, D. M., Faser, J., Visser, B. M., & Crooker, B. A. (2020). Effects of anionic supplement source in prepartum negative dietary cation-anion difference diets on serum calcium, feed intake, and lactational performance of multiparous dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 103(5), 4302-4314. doi: 10.3168/jds.2019-16991

Cardoso, F. C., Kalscheur, K. F., & Drackley, J. K. (2020). Symposium review: Nutrition strategies for improved health, production, and fertility during the transition period. *Journal of Dairy Science*, 103(6), 5684-5693. doi.org/10.3168/jds.2019-17271

Chen, X. B., & Gomes, M. (1992). Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of the technical details. International Feed Resources Unit. Rowett Research Institute, Bucksburn Aberdeen AB2 9SB, UK, Occasional Publication 1992

Collazos, C., Lopera, C., Santos, J. E. P., & Laporta, J. (2018). Effects of the level and duration of maternal diets with negative dietary cation-anion differences prepartum on calf growth, immunity, and mineral and energy metabolism. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9835-9850. doi: 10.3168/jds.2017-13200

Cunniff, P., & Washington, D. (1997). Official methods of analysis of AOAC International. *Journal of AOAC International,* 80(6), 127A. doi.org/10.1093/jaoac/80.6.127A

Diehl, A. L., Bernard, J. K., Tao, S., Smith, T. N., Kirk, D. J., McLean, D. J., & Chapman, J. D. (2018). Effect of varying prepartum dietary cation-anion difference and calcium concentration on postpartum mineral and metabolite status and milk production of multiparous cows. *Journal of Dairy Science*, 101(11), 9915-9925. doi.org/10.3168/jds.2018-14828

Doepel, L. & Hayirli, A. (2011). Exclusion of dietary sodium bicarbonate from a wheat-based diet: Effects on milk production and ruminal fermentation. *Journal of Dairy Science*, 94(1), 370-375. doi.org/10.3168/jds.2010-3488

Dudareva, N., Pichersky, E., & Gershenzon, J. (2004). Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiology,* 135(4), 1893-1902. doi.org/10.1104/pp.104.049981

Edwards, L. N., Engle, T. E., Paradis, M. A., Correa, J. A., & Anderson, D. B. (2010). Persistence of blood changes associated with alteration of the dietary electrolyte balance in commercial pigs after feed withdrawal, transportation, and lairage, and the effects on performance and carcass quality. *Journal of Animal Science*, 88(12), 4068-4077. doi.org/10.2527/jas.2009-2139

Funk, M. A., Galyean, M. L., & Ross, T. T. (1986). Potassium and lasalocid effects on performance and digestion in lambs. *Journal of Animal Science*, 63(3), 685-691. doi.org/10.2527/jas1986.633685x

Glosson, K. M., Zhang, X., Bascom, S. S., Rowson, A. D., Wang, Z., & Drackley, J. K. (2020). Negative dietary cation-anion difference and amount of calcium in prepartum diets: Effects on milk production, blood calcium, and health. *Journal of Dairy Science,* 103(8), 7039-7054. doi.org/10.3168/jds.2019-18068

Harrison, J., White, R., Kincaid, R., Block, E., Jenkins, T. & St-Pierre, N. (2012). Effectiveness of potassium carbonate sesquihydrate to increase dietary cation-anion difference in early lactation cows. *Journal of Dairy Science,* 95(7), 3919-3925. doi.org/10.3168/jds.2011-4840

Hassanien, H. E., Galyean, M. L., Ballou, M. A., Mahmoud, A. M., Abdel-Raouf, E. M., & Eweedah, N. M. (2022). Effects of altering prepartum and postpartum dietary cation–anion difference on calcium concentrations and blood metabolites of Holstein dairy cows. *Animal Science Journal*, 93(1), e13715. doi.org/10.1111/asj.13715

Heer, F., Dobenecker, B. & Kienzle, E. (2017). Effect of cation–anion balance in feed on urine pH in rabbits in comparison with other species. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,* 101(6), 1324-1330. doi.org/10.1111/jpn.12653

Iwaniuk, M. E., & Erdman, R. A. (2015). Intake, milk production, ruminal, and feed efficiency responses to dietary cation-anion difference by lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science,* 98(12), 8973-8985. doi.org/10.3168/jds.2015-9949

Kavanagh, I., Burchill, W., Healy, M. G., Fenton, O., Krol, D. J., & Lanigan, G. J. (2019). Mitigation of ammonia and greenhouse gas emissions from stored cattle slurry using acidifiers and chemical

amendments. *Journal of Cleaner Production*, 237, 117822. doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117822

Lean, I. J., Santos, J. E. P., Block, E., & Golder, H. M. (2019). Effects of prepartum dietary cation-anion difference intake on production and health of dairy cows: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 102(3), 2103-2133. doi.org/10.3168/jds.2018-14769

Lee, C., Morris, D. L., Lefever, K. M., & Dieter, P. A. (2020). Feeding a diet with corn distillers grain with solubles to dairy cows alters manure characteristics and ammonia and hydrogen sulfide emissions from manure. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2363-2372. doi.org/10.3168/jds.2019-17524

Lopera, C., Zimpel, R., Vieira-Neto, A., Lopes, F. R., Ortiz, W., Poindexter, M., ... & Santos, J. E. P. (2018). Effects of level of dietary cation-anion difference and duration of prepartum feeding on performance and metabolism of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *101*(9), 7907-7929. doi.org/10.3168/jds.2018-14580

Mallaki, M., Norouzian, M. A., & Khadem, A. A. (2015). Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization, and plasma zinc status in lambs. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 39(1), 75-80. doi: 10.3906/vet-1405-79

Martinez, N., Rodney, R. M., Block, E., Hernandez, L. L., Nelson, C. D., Lean, I. J., & Santos, J. E. P. (2018). Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Lactation performance and energy metabolism. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 2544-2562. doi.org/10.3168/jds.2017-13739

McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L.A., & Wilkinson, R. G. (2010). Animal nutrition. 7th ed. Longman Scientific and Technical, New York, USA. 692 pp.

Mongin, P. (1981). Recent advances in dietary anion-cation balance: applications in poultry. *Proceedings of the Nutrition Society*. 40(3), 285-294. doi.org/10.1079/PNS19810045

National Research Council. (2001). Marine Environmental Quality: Suggested Research Programs for Understanding Man's Effect on the Oceans.

Nguyen, T., Chanpongsang, S., Chaiyabutr, N., & Thammacharoen, S. (2020). Effects of dietary cation and anion difference on eating, ruminal function and plasma leptin in goats under tropical condition. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(6), 941. doi: 10.5713/ajas.19.0288

Nørgaard, J. V., Højberg, O., Sørensen, K. U., Eriksen, J., Medina, J. M. S. & Poulsen, H. D. (2014). The effect of long-term acidifying feeding on digesta organic acids, mineral balance, and bone mineralization in growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 195, 58-66. doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.05.010

Rajeerad, A., Ghorbani, G. R., Khorvash, M., Sadeghi-Sefidmazgi, A., Mahdavi, A. H., & Wilkens, M. R. (2021). Low potassium diets with different levels of calcium in comparison with different anionic diets fed to prepartum dairy cows: Effects on sorting behaviour, total tract digestibility, energy metabolism, oxidative status and hormonal response. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 105(1), 14-25. doi.org/10.1111/jpn.13438

Riond, J. L. (2001). Animal nutrition and acid-base balance. *European Journal of Nutrition*, 40, 245-254. doi.org/10.1007/s394-001-8352-2

Rodney, R. M., Martinez, N. P., Celi, P., Block, E., Thomson, P. C., Wijffels, G., ... & Lean, I. J. (2018). Associations between bone and energy metabolism in cows fed diets differing in level of dietary cation-anion difference and supplemented with cholecalciferol or calcidiol. *Journal of Dairy Science,* 101(7), 6581-6601. doi.org/10.3168/jds.2017-14033

Rodney, R. M., Martinez, N., Block, E., Hernandez, L. L., Celi, P., Nelson, C. D., ... & Lean, I. J. (2018). Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Vitamin D, mineral, and bone metabolism. *Journal of Dairy Science,* 101(3), 2519-2543. doi.org/10.3168/jds.2017-13737

Samarin, A. A., Norouzian, M. A., & Afzalzadeh, A. (2022). Effect of trace mineral source on biochemical and hematological parameters, digestibility, and performance in growing lambs. *Tropical Animal Health and Production*, 54(1), 40. doi.org/10.1007/s11250-021-03042-1

Santos, J. E. P., Lean, I. J., Golder, H., & Block, E. (2019). Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 102(3), 2134-2154. doi.org/10.3168/jds.2018-14628

Shahzad, M. A., & Sarwar, M. (2008). Influence of altering dietary cation anion difference on milk yield and its composition by early lactating Nili Ravi buffaloes in summer. *Livestock Science.* 113(2-3), 133-143. doi.org/10.1016/j.livsci.2007.03.002

Spears, J. W., Schlegel, P., Seal, M. C., & Lloyd, K. E. (2004). Bioavailability of zinc from zinc sulfate and different organic zinc sources and their effects on ruminal volatile fatty acid proportions. *Livestock Production Science*, 90(2-3), 211-217. doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.05.001

Thammacharoen, S., Chanpongsang, S., & Chaiyabutr, N. (2001). Effects of monensin administation on mammary function in late lactating crossbred Holstein cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 14(12), 1712-1718. doi.org/10.5713/ajas.2001.1712

Thanh, T. N., Van, P. D., Cong, T. D., Le Minh, T., & Vu, Q. H. N. (2020). Assessment of testis histopathological changes and spermatogenesis in male mice exposed to chronic scrotal heat stress. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 8(3), 174-180. doi.org/10.31893/jabb.20023

Tucker, W. B., Harrison, G. A., & Hemken, R. W. (1988). Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood, urine, and rumen fluid in lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 71(2), 346-354. doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79563-6

West, J. W., Coppock, C. E., Nave, D. H., Labore, J. M., Greene, L. W., & Odom, T. W. (1987). Effects of potassium carbonate and sodium bicarbonate on rumen function in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 70(1), 81-90. doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)79982-2

West, J. W., Mullinix, B. G. & Sandifer, T. G. (1991). Changing dietary electrolyte balance for dairy cows in cool and hot environments. *Journal of Dairy Science*, 74(5), 1662-1674. doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78329-X

Yang, K., Tian, X., Ma, Z., & Wu, W. (2021). Feeding a negative dietary cation-anion difference to female goats is feasible, as indicated by the non-deleterious effect on rumen fermentation and rumen microbial population and increased plasma calcium level. *Animals*, 11(3), 664. doi.org/10.3390/ani11030664

Yalchi, T. (2023). The effect of oscillating dietary protein concentration on growth performance in fattening male lambs. *Research on Animal Production*, 14(1), 48-55. 10.61186/rap.14.39.48 [In Persian]

Zhang, X., Glosson, K. M., Bascom, S. S., Rowson, A. D., Wang, Z., & Drackley, J. K. (2022). Metabolic and blood acid-base responses to prepartum dietary cation-anion difference and calcium content in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 105(2), 1199-1210. doi.org/10.3168/jds.2021-21191