

## مطالعه اثر نیتروژن منبع پیتیدی بر قابلیت هضم مواد مغذی، الگوی تخمیر شکمبه‌ای و سنتز نیتروژن میکروبی در گاوهای شیری اواخر دوره شیردهی

مهدی کاظمی بن چناری<sup>۱</sup>، کامران رضایزدی<sup>۲\*</sup>، علی نیکخواه<sup>۳</sup>، حمید کهرام<sup>۴</sup>،  
مهدی دهقان بنادکی<sup>۵</sup> و محمدرضا امامی<sup>۶</sup>  
۱، ۲، ۳، ۴، ۵، دانشجوی دکتری، دانشیار، استاد و استادیاران، پردیس کشاورزی  
و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۶، استادیار دانشگاه فردوسی مشهد  
(تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۲۹ - تاریخ تصویب: ۸۸/۸/۳۰)

### چکیده

به منظور مطالعه اثر نیتروژن منبع پیتیدی بر قابلیت هضم مواد مغذی، الگوی تخمیر شکمبه‌ای و سنتز نیتروژن میکروبی از ۳ راس گاو شیری چند بار زایش کرده دارای فیستولای دائم شکمبه‌ای با وزن بدن  $13 \pm 682$  کیلوگرم و روزهای شیردهی  $20 \pm 210$  روز در قالب طرح چرخشی با سه دوره ۲۱ روزه (۱۴ روز اول آن به منظور دوره عادت‌دهی و ۷ روز آخر به منظور جمع‌آوری نمونه‌ها) استفاده گردید. جیره‌های آزمایشی حاوی جیره پایه به همراه سه سطح متفاوت کازئینات سدیم به عنوان منبع پیتیدی (سطوح صفر، ۵۰ و ۱۰۰ گرم در روز به ترتیب به عنوان جیره‌های ۱، ۲ و ۳) بودند. جیره پایه توسط نرم‌افزار CPM-Dairy متوازن گردید. نتایج به دست آمده نشان داد که غلظت نیتروژن آمونیاکی و نیتروژن پیتیدی حدود ۳ ساعت پس از مصرف خوراک به حداکثر رسید و اثر معنی‌داری بر روی این فراسنجه‌ها با مصرف کازئینات سدیم مشاهده شد ( $P < 0/01$ ). نسبت نیتروژن آمونیاکی به نیتروژن پیتیدی تفاوت معنی‌داری را در اثر مصرف منبع پیتید نشان داد (۰/۵۸، ۰/۷۰ و ۰/۸۲ به ترتیب برای جیره‌های ۱، ۲ و ۳) ( $P < 0/05$ ). میانگین pH مایع شکمبه و کل اسیدهای چرب فرار شکمبه‌ای در میان جیره‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت. پروپیونات و بوتیرات مایع شکمبه نیز در بین جیره‌ها تفاوت معنی‌داری نداشتند. ولی استات تولید شده به طور معنی‌داری در جیره سوم بیشتر بود ( $P < 0/01$ ). قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام جیره پایه تحت تأثیر نیتروژن پیتیدی قرار نگرفت. ولی قابلیت هضم فیبر نامحلول در شوینده خنثی ( $P < 0/05$ )، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ( $P < 0/05$ ) و بویژه قابلیت هضم همی سلولز ( $P < 0/01$ ) جیره پایه با مصرف کازئینات سدیم افزایش یافت. بتاهیدروکسی بوتیریک اسید، اسیدهای چرب استریفه نشده و گلوکز خون گاوها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد و فقط نیتروژن اوره‌ای خون گاوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی کازئینات سدیم افزایش یافت. مقدار ادرار تولیدی روزانه گاوهای آزمایشی با مصرف کازئینات سدیم افزایش پیدا کرد. همچنین دفع آلانتوئین، اسید اوریک و کراتینین در ادرار به طور معنی‌داری افزایش یافت. نیتروژن میکروبی روزانه تولید شده در شکمبه که بر اساس مشتقات پورینی ادرار محاسبه گردید، تفاوت معنی‌داری در بین جیره‌ها داشت ( $P < 0/05$ ). با توجه به نتایج این آزمایش، علیرغم اینکه افزایش نسبت نیتروژن آمونیاکی به نیتروژن پیتیدی با مصرف کازئینات بیشتر باعث بهبود قابلیت هضم الیاف گردید، اما نیتروژن اوره‌ای خون نیز افزایش یافت. بنابراین با توجه به در نظر گرفتن همه صفات، نسبت نیتروژن آمونیاکی به نیتروژن پیتیدی به میزان ۰/۷۰ برای گاوهای اواخر شیردهی قابل توصیه است.

**واژه‌های کلیدی:** نیتروژن پیتیدی، نیتروژن میکروبی، فراسنجه‌های شکمبه‌ای، متابولیت‌های خون و گاوهای شیری.

## مقدمه

تجزیه پروتئین در شکمبه توسط میکروبا باعث ایجاد آمونیاک شده و پپتیدها و اسیدهای آمینه به عنوان حد واسطه‌هایی در این فرایند می‌باشند (Reynal et al., 2007). Chalupa (1975) بیان داشت که مهمترین ویژگی متابولیسی پروتئین حقیقی در شکمبه تامین نیتروژن پپتیدی است. پپتیدها ترکیبات حد واسطه متابولیسم پروتئین‌ها در شکمبه می‌باشند و ممکن است به صورت موقت غلظت آن‌ها در شکمبه بالا باشد (Chen et al., 1987). میکروبا‌های شکمبه جهت سنتز پروتئین میکروبی نیازمند سه منبع نیتروژنی شامل منابع نیتروژن آمونیاکی، نیتروژن اسیدآمینه‌ای و نیتروژن پپتیدی می‌باشند (Russell et al., 1983; Sannes et al., 2002). تنظیم غلظت آمونیاک در شکمبه به جهت هضم الیاف و سنتز پروتئین میکروبی مهم بوده، ولی ممکن است که آمونیاک اضافی تولید شده در شکمبه باعث کاهش بازدهی مصرف پروتئین در جیره گاوهای شیرده گردد (Chen et al., 1987). ولی از طرف دیگر ممکن است که با کاهش غلظت آمونیاک به حد معینی (که معمولاً کمتر از ۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر مایع شکمبه در نظر گرفته می‌شود) هضم الیاف کاهش یابد (Griswold et al., 2003). با اینکه غلظت مناسب نیتروژن آمونیاکی، اسیدآمینه‌ای و پپتیدی و همچنین نسبت بین آن‌ها دقیقاً مشخص نیست، اما با این وجود تا کنون تحقیقات زیادی نشان داده‌اند که با جایگزین کردن اسیدهای آمینه و پپتیدها به جای اوره، رشد میکروبا‌های شکمبه تحریک می‌گردد (Jones et al., 1998; Griswold et al., 2003; Russell et al., 1983). در برخی مطالعات سرعت برداشت و استفاده از پپتیدها نسبت به اسیدهای آمینه توسط میکرو ارگانیزم‌های شکمبه بیشتر بوده است (Erfle et al., 1977; Chen et al., 1983). که احتمال دارد به دلیل غالب بودن مسیرهای انتقال‌دهنده پپتیدها نسبت به مسیرهای انتقال‌دهنده اسیدهای آمینه به تنهایی باشد (Broderick et al., 1991). به نظر می‌رسد پپتیدها نسبت به اسیدهای آمینه با بازدهی بیشتری به پروتئین میکروبی تبدیل می‌شوند (Wright, 1967) که به دلیل کاهش هزینه انرژی مصرف پپتید آماده در مقایسه با

تجزیه آن به اسیدهای آمینه و تبدیل دوباره آنها به پروتئین میکروبی می‌باشد که نوعی صرفه‌جویی بیوانرژی در هزینه سنتز پروتئین میکروبی است (Payne, 1983; Erfle, 1977). با وجود اینکه افزایش مصرف پپتیدها به صورت جایگزین نیتروژن آمونیاکی باعث بهبود هضم الیاف، بهبود تخمیر شکمبه‌ای و سنتز پروتئین میکروبی گردیده است، اما Jones et al. (1998) نشان دادند که جایگزینی بیش از اندازه نیتروژن آمونیاکی با نیتروژن پپتیدی باعث کاهش قابلیت هضم الیاف گردید. Jones et al. (1998) با استفاده از سطوح متفاوت پپتید (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد از کل منبع نیتروژن) و اوره در سیستم محیط کشت مداوم (Continuous culture) نشان دادند که بیشترین میزان قابلیت هضم ماده خشک و سنتز پروتئین میکروبی در جیره‌ای مشاهده شد که ۱۰ درصد از کل نیتروژن آن از پپتید بود. این محققان دریافتند که اگر غلظت آمونیاک در شکمبه به کمتر از ۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر برسد، ممکن است هضم الیاف با مشکل مواجه گردد و سطوح ۲۰ و ۳۰ درصد از نیتروژن با منبع پپتیدی باعث کاهش بیش از حد نیتروژن آمونیاکی شد. طبق نظر Griswold (2003) حفظ نسبت مناسب بین نیتروژن آمونیاکی و پپتیدی در جیره نشخوارکنندگان، اجازه متوازن کردن مناسب جیره با غلظت‌های مناسب پروتئین قابل تجزیه و غیرقابل تجزیه در شکمبه را می‌دهد. Reynal et al. (2007) بیان کردند که تغییر پروتئولیز و ایجاد پپتید در شکمبه ممکن است اثر تغذیه‌ای مفیدی برای میکروبا‌های شکمبه‌ای حیوان میزبان داشته باشد و سبب بهبود مورد استفاده قرار گرفتن نیتروژن جیره شود. پژوهش‌هایی که بیانگر نسبت بهینه آمونیاک، پپتید و اسیدهای آمینه مورد نیاز برای رشد و متابولیسم میکروبا‌های شکمبه باشد، محدود است (Jones et al., 1998). مطالعه Griswold et al. (1996)، نشان داد که شکل‌های دیگر نیتروژن به غیر از آمونیاک، برای حداکثر ساختن رشد میکروبی مورد نیاز است و پیشنهاد کردند که مقداری از نیتروژن جیره از پپتید یا اسید آمینه مورد نیاز بوده و تنها زمانی تأمین می‌گردد که پپتید و یا اسید آمینه به حیوان خوراندن شود. بر این اساس، هدف از این مطالعه بررسی اثر افزایش غلظت نیتروژن پپتیدی

پروتئین خام، ۶ درصد رطوبت، ۱ درصد سدیم، ۳/۵ درصد چربی خام و ۲/۵ درصد خاکستر بود. خوراک مصرفی به شکل روزانه اندازه‌گیری شد و باقی‌مانده خوراک قبل از ریختن وعده جدید جمع‌آوری و توزین گردید.

جدول ۱- اجزای مواد خوراکی تشکیل‌دهنده، انرژی و مواد

درصد در ماده خشک	مغذی جیره پایه	مواد خوراکی
۱۸/۵	یونجه	
۳۱/۲	ذرت سیلو شده	
۶/۵	کاه گندم	
۷/۸	جو	
۶/۵	ذرت	
۵/۵	گندم	
۴/۰	کنجاله سویا	
۶/۵	کنجاله کانولا	
۴/۷	سبوس گندم	
۷/۵	تفاله چغندر قند	
۰/۲۵	بی کربنات سدیم	
۰/۳	نمک	
۰/۲	کربنات کلسیم	
۰/۱۵	دی کلسیم فسفات	
۰/۴	مکمل معدنی- ویتامینی ۱	
	انرژی و مواد مغذی	
	(درصد در ماده خشک)	
	انرژی خالص شیردهی	
۱/۵۲	(مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک)	
۱۳/۵	پروتئین خام	
	پروتئین قابل تجزیه در شکمبه	
۸/۶۴	(درصد از پروتئین خام)	
۴۰/۲	دیواره سلولی	
۲۶/۳	دیواره سلولی عاری از همی سلولز	
۳۴/۶	کربوهیدرات غیر الیافی	
۴/۲	چربی خام	
۰/۴۵	کلسیم	
۰/۲۷	فسفر	

۱. هر کیلوگرم از این مکمل دارای ۵۰۰ هزار واحد بین المللی ویتامین A، ۲۰۰ هزار واحد بین المللی ویتامین D3، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۵۰۰ میلی‌گرم آنتی اکسیدانت، ۱۹۰ گرم کلسیم، ۸۰ گرم فسفر، ۲۱ گرم منیزیم، ۳۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۶۰ گرم سدیم، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۲۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰۰ میلی‌گرم ید و یک میلی‌گرم سلنیوم بود.

۲. انرژی خالص شیردهی و کربوهیدرات غیر الیافی محاسباتی و مابقی مواد مغذی در آزمایشگاه اندازه‌گیری شدند.

در مایع شکمبه بر قابلیت هضم مواد مغذی، الگوی تخمیر شکمبه‌ای و سنتز پروتئین میکروبی و همچنین تعیین نسبت مطلوب نیتروژن آمونیاکی به نیتروژن پپتیدی به منظور حداکثر بازدهی مورد استفاده قرار گرفتن پروتئین توسط میکروب‌ها در شکمبه بود.

## مواد و روش‌ها

### مدیریت گاوها و جیره‌های آزمایشی

سه راس گاو شیری چند بار زایش کرده دارای فیستولای دائم شکمبه‌ای با وزن بدن  $682 \pm 13$  کیلوگرم و روزهای شیردهی  $20 \pm 210$  روز در قالب طرح چرخشی با سه دوره ۲۱ روزه (۱۴ روز اول آن به منظور دوره عادت‌دهی و ۷ روز آخر به منظور جمع‌آوری نمونه‌ها) برای انجام این آزمایش انتخاب شدند. گاوها در جایگاه انفرادی نگهداری شده و آبشخور خودکار نیز در داخل هر جایگاه نصب بود و گاوها دسترسی آزاد به آب و همچنین سنگ نمک داشتند. خوراک‌دهی به صورت جیره کاملا مخلوط در دو نوبت صبح (ساعت ۸) و عصر (ساعت ۱۶) صورت گرفت. به دلیل اینکه گاوهای آزمایشی در اواخر دوره شیردهی بودند و تولید شیر آن‌ها پایین بود، شیردوشی فقط در یک نوبت (ساعت ۱۱ صبح) انجام گردید. گاوها در ابتدا و انتهای هر دوره توزین گردیدند و تغییرات وزن آن‌ها ثبت شد. جیره پایه آزمایش توسط نرم‌افزار CPM-Dairy<sup>۱</sup> فرموله گردید. مواد خوراکی جیره پایه به همراه انرژی و مواد مغذی موجود در آن در جدول ۱ آمده است. سه جیره آزمایشی استفاده شده در این آزمایش شامل جیره شاهد که در واقع همان جیره پایه بود، جیره ۲ حاوی جیره پایه به همراه ۵۰ گرم کازئینات سدیم و جیره ۳ حاوی جیره پایه به همراه ۱۰۰ گرم کازئینات سدیم بودند. از آنجا که یکی از اهداف این آزمایش ایجاد اوج تولید پپتید در شکمبه و تعیین نسبت حداکثر نیتروژن آمونیاکی به نیتروژن پپتیدی بود، کازئینات سدیم در یک وعده، هر روز بلافاصله قبل از وعده خوراکی صبح از طریق فیستولای شکمبه‌ای به درون شکمبه وارد شد. کازئینات سدیم مورد استفاده در این آزمایش دارای ۸۷ درصد

## روش‌های آزمایشگاهی و تجزیه شیمیایی

نمونه‌های مواد خوراکی مورد استفاده و خوراک مخلوط، بعد از خشک کردن توسط آسیاب با توری یک میلی‌متری آسیاب شدند. در نمونه‌ها، نیتروژن، خاکستر و ماده آلی بر اساس روش AOAC (1980) و مقادیر فیبر نامحلول در شوینده خنثی و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی بر اساس روش Van Soest et al. (1991) توسط دستگاه فایبرتک اندازه‌گیری شدند. به این ترتیب انرژی خالص شیردهی به صورت محاسباتی و مابقی مواد مغذی در آزمایشگاه اندازه‌گیری گردیدند. مقدار مصرف ماده خشک برای خوراک مخلوط و باقی‌مانده خوراک محاسبه گردید. در روز اول نمونه‌گیری هر دوره نمونه‌های خون، روز دوم و سوم نمونه‌های مایع شکمبه و روز چهارم جمع‌آوری ادرار صورت گرفت. قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی و مواد مغذی با استفاده از نشان گر خاکستر نامحلول در اسید بر اساس روش Van Keulen & Young (1977) اندازه‌گیری شد. مقدار شیر تولیدی در هر روز ثبت شد و در هفته‌های نمونه‌گیری، ۳ نمونه از شیر به صورت یک روز در میان گرفته شد و برای اندازه‌گیری پروتئین، لاکتوز و چربی به آزمایشگاه منتقل گردید و توسط دستگاه میکواسکن (مدل ۱۳۳B - دانمارک) اندازه‌گیری شد.

نمونه‌های خون در ساعت صفر و ۴ ساعت پس از مصرف خوراک در روز اول نمونه‌برداری هر دوره، از طریق سیاهرگ دمی گرفته شده و در لوله‌های حاوی هپارین ریخته شد. نمونه‌ها سریعاً با دور ۳۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و پلاسما آن‌ها جدا شده و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شد. پس از یخ‌گشایی نمونه‌ها غلظت‌های گلوکز، اسیدهای چرب استریفه نشده (NEFA)، بتا‌هیدروکسی بوتیریک اسید (BHBA) و غلظت نیتروژن اوره‌ای (توسط کیت‌های آزمایشگاهی به ترتیب با شماره کیت‌های ۵۰۵-۱۰، ۵۰۷-۱۰، ۵۱۱-۱۰ و ۵۲۵-۱۰ مربوط به شرکت زیست شیمی) تعیین گردید.

در روز های دوم و سوم نمونه‌گیری هر دوره نمونه‌های مایع شکمبه از طریق کانونولای شکمبه‌ای در صفر، ۳ و ۶ ساعت پس از مصرف خوراک جمع‌آوری شد. مایع شکمبه به دست آمده توسط صافی دو لایه‌ای

صاف گردیده و pH آن اندازه‌گیری شد. دو نمونه ۱۰ میلی‌لیتری از نمونه مایع شکمبه صاف شده (در ساعت‌های ذکر شده) تهیه شد و به هر کدام ۰/۲ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۵۰ درصد اضافه شد و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد گردید. بعد از یخ‌گشایی یک نمونه برای تعیین نیتروژن آمونیاکی با روش Crooke & Simpson (1971) و نمونه دیگر برای تعیین اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه با روش Ottenstein & Batler (1971) و با دستگاه گاز کروماتوگرافی<sup>۱</sup> به کار رفت. جهت اندازه‌گیری نیتروژن پپتیدی در مایع شکمبه ۲۰ میلی‌لیتر از مایع شکمبه صاف شده با ۲ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱۰ درصد اسیدی گردید. برای اندازه‌گیری نیتروژن پپتیدی ابتدا بر اساس روش Choi et al. (2002) ذرات غذایی، پروتوزوا و باکتری‌ها توسط سه مرتبه سانتریفیوژ دور بالا (۱۸۰۰۰ دور، به مدت ۳۰ دقیقه و در ۴ درجه سانتی‌گراد) جدا شدند و در نهایت غلظت نیتروژن پپتیدی در مایع فوقانی (سوپرناتانت) تعیین گردید. نحوه تعیین پپتیدها به این صورت بود که ابتدا توسط اسید کلریدریک در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت هیدرولیز شده و سپس اسیدهای آمینه حاصل از آن به کمک شیوه نینهدرین<sup>۲</sup> و بر اساس روش Rosen (1957) تعیین گردید.

کل ادرار تولیدی ۲۴ ساعت در روز چهارم نمونه‌گیری در هر دوره توسط کیسه جمع‌آوری ادرار (Urine Collection Bag) که از پارچه نفوذناپذیر پارچه شمعی تهیه شده بود و به یک مخزن جمع‌کننده متصل شده بود، انجام گردید (Eriksson et al., 2004). مخزن جمع‌کننده حاوی ۰/۵ لیتر اسید سولفوریک ۴۰ درصد بود تا اینکه همواره pH ادرار زیر ۳ بماند (Valadares et al., 1999). در هر دوره ۱۵ میلی‌لیتر از ادرار تازه، جدا شده و ۴۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۰/۳۶ نرمال به آن اضافه شده و منجمد گردید. بعد از یخ‌گشایی غلظت‌های اسید اوریک و کراتینین (توسط کیت‌های آزمایشگاهی به ترتیب با شماره کیت‌های ۵۲۳-۱۰ و ۵۱۴-۱۰ مربوط به شرکت زیست شیمی) اندازه‌گیری گردید. غلظت آلانتوئین ادرار نیز توسط شیوه

1. Gas-chromatography  
2. Ninhydrin assay (NHA)

کالری متری و بر اساس روش Chen & Gomes (1992) اندازه گیری شد.

### معادلات به کار رفته و مدل آماری

مجموع مشتقات پورینی دفع شده از طریق ادرار به عنوان مجموع آلانتوئین و اسید اوریک دفع شده در ادرار در نظر گرفته شد. سنتز نیتروژن میکروبی روزانه بر اساس معادلات Chen & Gomes (1992) و بر اساس تغییر ایجاد شده توسط Valadares et al. (1999) طبق معادله زیر محاسبه گردید:

$$Y_{ijklm} = \mu + P_j + C_k + T_l + \varepsilon_{ijkl} + Z_m + ZT_{ml} + \omega_{ijklm}$$

در این مدل  $Y_{ijkl}$  متغیر وابسته،  $\mu$  میانگین کل،  $P_j$  اثر دوره  $j$ ،  $C_k$  اثر گاو  $k$ ،  $T_l$  اثر جیره  $l$  (سطح کازئینات سدیم)،  $\varepsilon_{ijkl}$  اثر اشتباه کل،  $Z_m$  اثر زمان  $m$ ،  $ZT_{ml}$  اثر متقابل زمان  $m$  در جیره  $l$  و  $\omega_{ijklm}$  که اثر اشتباه زیر طرح است. عامل برآورد تکرار شده به عنوان اثر مربع در دوره در جیره تعریف گردید. در این مدل نیز، به جز اثر گاو که تصادفی در نظر گرفته شد، همه اجزای مدل ثابت در نظر گرفته شدند (Reynal et al., 2007).

### نتایج و بحث

داده‌های مربوط به ماده خشک مصرفی و عملکرد گاوهای آزمایشی در جدول ۲ آمده است. ماده خشک مصرفی، شیر تولیدی و ترکیبات شیر با مصرف کازئینات سدیم تفاوت معنی داری نشان ندادند. تغییرات وزن برای جیره سوم از نظر عددی بیشتر بود، ولی از نظر آماری تفاوت معنی داری نشان نداد.

$$70 \times \text{مجموع جذب پورین‌ها} = \frac{\text{نیتروژن میکروبی سنتز}}{0.134 \times 1000} \times 0.83$$

شده در روز (گرم در روز)

در این معادله عدد ۷۰ محتوای نیتروژن پورین‌ها (میلی گرم نیتروژن بر میلی مول)، عدد ۰/۱۳۴ میانگین نسبت نیتروژن پورینی به کل نیتروژن میکروبی و عدد ۰/۸۳ نیز قابلیت هضم فرض شده برای پورین‌های میکروبی است.

داده‌های به دست آمده توسط نرم افزار SAS و با استفاده از Proc Mixed تجزیه آماری گردید. مدل آماری زیر برای داده‌هایی که تکرار در زمان نداشته‌اند، استفاده شد:

$$Y_{ijkl} = \mu + P_j + C_k + T_l + \varepsilon_{ijkl}$$

در این مدل  $Y_{ijkl}$  متغیر وابسته،  $\mu$  میانگین کل،  $P_j$  اثر دوره  $j$ ،  $C_k$  اثر گاو  $k$ ،  $T_l$  اثر جیره  $l$  (سطح کازئینات

جدول ۲- ماده خشک مصرفی و عملکرد گاوهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی<sup>۱</sup>

صفت مورد مطالعه	جیره ۱	جیره ۲	جیره ۳	P-value	
				جیره	جیره × زمان
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز)	۱۵/۷	۱۶/۴	۱۵/۳	۰/۸۹	۰/۶۸
تولید شیر خام (کیلوگرم در روز)	۸/۵	۹/۶	۸/۹	۰/۲۶	۰/۳۶
چربی شیر (درصد)	۴/۱۲	۴/۰۵	۴/۱۳	۰/۱۸	۰/۴۵
پروتئین شیر (درصد)	۳/۱۶	۳/۱۳	۳/۲۲	۰/۱۰	۰/۵۶
لاکتوز شیر (درصد)	۴/۸۹	۴/۸۷	۴/۸۴	۰/۰۵	۰/۷۹
چربی شیر (کیلوگرم در روز)	۰/۳۵	۰/۳۸	۰/۳۶	۰/۰۲	۰/۵۳
پروتئین شیر (کیلوگرم در روز)	۰/۲۷	۰/۳۰	۰/۲۸	۰/۰۳	۰/۶۱
لاکتوز شیر (کیلوگرم در روز)	۰/۴۱	۰/۴۵	۰/۴۳	۰/۰۲	۰/۸۳
تغییرات وزن (کیلوگرم در روز)	۰/۶۱	۰/۶۸	۰/۷۰	۰/۰۹	۰/۶۷

۱. جیره‌های آزمایشی شامل: جیره ۱) جیره پایه بدون مصرف کازئینات سدیم؛ جیره ۲) جیره پایه به همراه ۵۰ گرم کازئینات سدیم؛ جیره ۳) جیره پایه به همراه ۱۰۰ گرم کازئینات سدیم بودند.

\*\* حروف غیر مشابه در هر سطر نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح (P < ۰/۰۵) می‌باشند.

### فراسنجه‌های شکمبه‌ای

اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای، فراسنجه‌های ادراری و سنتز نیتروژن میکروبی در جدول ۳ آمده است. استفاده از کازئینات سدیم اثری بر pH مایع شکمبه گاوها نداشت. افزایش مصرف پروتئین قابل تجزیه در مطالعه Reynal & Broderick (2005) تأثیری بر pH مایع شکمبه نداشت. ولی در مطالعه Vanhatalo et al. (2003) با مصرف کازئین، pH مایع شکمبه حدود ۰/۱۶ نسبت به جیره شاهد کاهش یافت. به نظر می‌رسد غلظت بالای آمونیاک به دلیل اینکه تبدیل به یون آمونیوم می‌گردد، می‌تواند خاصیت دوگانه‌ای ایجاد کند. غلظت نیتروژن آمونیاکی سه ساعت پس از مصرف خوراک به حداکثر مقدار خود رسید و تفاوت معنی‌داری بین جیره‌ها مشاهده گردید ( $P < 0/01$ ). غلظت نیتروژن پپتیدی با افزایش مصرف کازئینات سدیم در مایع شکمبه افزایش معنی‌داری پیدا کرد و مقادیر آن برای جیره‌های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۱۳/۹۳، ۱۵/۱۲ و ۱۵/۷۴ میلی‌مول در لیتر بود ( $P < 0/01$ ). نسبت نیتروژن آمونیاکی به نیتروژن پپتیدی در مایع شکمبه برای جیره‌های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۰/۵۶، ۰/۷۰ و ۰/۸۲ بود که تفاوت بین آن‌ها معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). در پژوهش‌های قبلی مصرف ترکیبات حاوی نیتروژن و یا افزایش نیتروژن مصرفی، به طور معنی‌داری غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه‌ای را تحت تأثیر قرار داده است (Vanhatalo et al., 2003). مصرف کازئینات سدیم در مطالعه Vanhatalo et al. (2003)، کربنات آمونیوم در مطالعه سانگ و کنلی (۱۹۹۰) و افزایش مصرف پروتئین قابل تجزیه در شکمبه در مطالعه Broderick & Reynal (2003) باعث افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه گردیدند. Olmos & Broderick (2006) بیان کردند که ممکن است با افزایش پروتئین مصرفی میزان تجزیه شدن پروتئین در شکمبه نیز افزایش یابد. بنابراین افزایش غلظت نیتروژن با مصرف کازئینات سدیم در جیره دوم و سوم ممکن است به دلیل افزایش تجزیه پروتئین باشد. نسبت نیتروژن آمونیاکی به نیتروژن پپتیدی در مطالعه Hristov (2004)، ۰/۶۶ و ۰/۷۷ بود که به ترتیب برای جیره‌های با پروتئین قابل تجزیه در شکمبه ۹/۴ و ۱۱/۶ درصد بوده است. Chalupa (1975) بیان کرد ویژگی اول پروتئین حقیقی

جیره، تامین نیتروژن پپتیدی می‌باشد و بر همین اساس می‌توان بیان کرد که با افزایش مصرف پروتئین حقیقی یا منابع پپتیدی، غلظت نیتروژن پپتیدی در مایع شکمبه افزایش می‌یابد. کل اسیدهای چرب فرار تولید شده در شکمبه که برای جیره‌های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۸۶/۵۷، ۹۱/۴ و ۹۵/۲۱ میلی‌مول در لیتر بود که یک روند افزایشی را با مصرف منبع پپتید داشت ( $P = 0/07$ ). در بین اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه تنها استات تفاوت معنی‌داری در بین جیره‌های مختلف نشان داد ( $P < 0/01$ ). اسیدهای چرب فرار شاخه‌دار (والرات و ایزووالرات) تفاوت معنی‌داری در بین جیره‌ها داشتند ( $P < 0/05$ ). Reynal & Broderick (2005) یک روند غیرمشخصی برای کل اسیدهای چرب فرار شکمبه با مصرف سطوح متفاوت پروتئین قابل تجزیه در شکمبه گزارش کردند، به نحوی که هم حداکثر و هم حداقل پروتئین قابل تجزیه در شکمبه، بیشترین اسید چرب فرار شکمبه‌ای را تولید نمودند. Hristov (2004) با افزایش مصرف پروتئین قابل تجزیه در شکمبه افزایش اسیدهای چرب فرار دارای شاخه جانبی را گزارش نمود. Griswold et al. (1996) گزارش کردند مصرف پروتئین قابل تجزیه در شکمبه که بخشی از آن می‌تواند منبع پپتیدی باشد، باعث افزایش استات و اسیدهای چرب فرار شاخه‌دار می‌شود که مطابق با نتایج این آزمایش است.

### تولید ادرار، ترکیبات ادرار و سنتز نیتروژن میکروبی

مقدار ادرار تولید شده گاوها تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت. به نحوی که با افزایش مصرف کازئینات سدیم، ادرار تولیدی افزایش پیدا کرد (جدول ۳). Kume et al. (2008) بیان کردند که مصرف پروتئین بالا با افزایش مصرف آب بیشتر جهت کاهش اسمولاریته مایع خارج سلولی همراه بوده که به منظور طبیعی شدن اسمولاریته پلاسما است و بنابراین منجر به افزایش دفع آب و افزایش تولید ادرار می‌شود. Reynal & Broderick (2005) نیز مشاهده کردند که با مصرف پروتئین قابل تجزیه بالا در گاوهای شیری، ادرار تولید شده را که با روش نمونه‌برداری نقطه‌ای<sup>۱</sup> تخمین زده شده بود، افزایش معنی‌داری نشان داد ( $P < 0/05$ ).

جدول ۳- فراسنجه‌های شکمبه‌ای و ادراری و سنتز نیتروژن میکروبی گاوهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی<sup>۱</sup>

P-value	SE		جیره ۳	جیره ۲	جیره ۱	صفت مورد مطالعه
	جیره × زمان	جیره				
						فراسنجه‌های تحت بررسی در شکمبه
						pH مایع شکمبه
۰/۷۷	۰/۶۱	۰/۳۶	۶/۴۳	۶/۶۱	۶/۵۹	
۰/۲۱	<۰/۰۱	۲/۱۱	۱۲/۹۶ <sup>a</sup>	۱۰/۶ <sup>ab</sup>	۸/۱۱ <sup>b</sup>	نیتروژن آمونیاکی (میلی‌مول در لیتر)
۰/۱۵	<۰/۰۱	۱/۲۳	۱۵/۷۴ <sup>a</sup>	۱۵/۱۲ <sup>ab</sup>	۱۳/۹۳ <sup>b</sup>	نیتروژن پپتیدی (میلی‌مول در لیتر)
۰/۲۵	<۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۸۳ <sup>a</sup>	۰/۷ <sup>ab</sup>	۰/۵۸ <sup>b</sup>	نسبت نیتروژن آمونیاکی به نیتروژن پپتیدی
۰/۴۸	۰/۰۷	۹/۸	۹۵/۲۱	۹۱/۴	۸۶/۵۷	مجموع اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول در لیتر)
						نسبت مولی اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول در لیتر)
۰/۵۴	۰/۴۸	۲/۹۳	۲۰/۴	۲۰/۱	۱۹/۵	پروپیونات
۰/۷۸	۰/۱۱	۱/۴۶	۱۲/۴	۱۱/۳	۱۰/۹	بوتیرات
۰/۳۶	<۰/۰۱	۴/۳۷	۵۸/۳ <sup>a</sup>	۵۶/۲ <sup>b</sup>	۵۲/۶ <sup>c</sup>	استات
۰/۸۳	۰/۳۶	۱/۳	۲/۸۵	۲/۷۹	۲/۶۸	نسبت استات به پروپیونات
۰/۴۹	<۰/۰۵	۰/۱۳	۲/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۹۴ <sup>ab</sup>	۱/۸۵ <sup>b</sup>	والرات
۰/۳۶	<۰/۰۵	۰/۰۹	۲/۱ <sup>a</sup>	۱/۸۶ <sup>b</sup>	۱/۷۲ <sup>c</sup>	ایزووالرات
						فراسنجه‌های ادراری
۰/۷۴	<۰/۰۵	۲/۸۶	۲۲/۷ <sup>a</sup>	۲۱/۸ <sup>b</sup>	۱۸/۴ <sup>c</sup>	ادرار تولیدی (لیتر در روز)
۰/۸۶	<۰/۰۱	۱۵/۳۲	۱۴۱/۵ <sup>a</sup>	۱۳۵/۹ <sup>ab</sup>	۱۲۰ <sup>b</sup>	کراتینین ادرار (میلی‌مول در روز)
۰/۱۴	<۰/۰۱	۳۴/۷	۳۶۷ <sup>a</sup>	۳۴۲ <sup>b</sup>	۳۲۶ <sup>c</sup>	آلانتوئین ادرار (میلی‌مول در روز)
۰/۵۹	<۰/۰۵	۱/۲۳	۱۱/۴ <sup>a</sup>	۹/۳ <sup>b</sup>	۸/۴ <sup>c</sup>	اسید اوریک ادرار (میلی‌مول در روز)
۰/۳۷	<۰/۰۱	۳۹/۱	۳۷۸/۴ <sup>a</sup>	۳۵۱/۳ <sup>b</sup>	۳۳۴/۴ <sup>c</sup>	مجموع مشتقات پورینی ادرار (میلی‌مول در روز)
۰/۶۸	<۰/۰۱	۲۵/۹	۲۵۷/۵۱ <sup>a</sup>	۲۳۸/۷۵ <sup>b</sup>	۲۲۲/۸۶	نیتروژن میکروبی سنتز شده در شکمبه (گرم در روز)

۱. جیره‌های آزمایشی شامل: جیره ۱) جیره پایه بدون مصرف کازئینات سدیم؛ جیره ۲) جیره پایه به همراه ۵۰ گرم کازئینات سدیم؛ جیره ۳) جیره پایه به همراه ۱۰۰ گرم کازئینات سدیم بودند.

\* حروف غیر مشابه در هر سطر نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشند.

(P<۰/۰۵). نیتروژن میکروبی سنتز شده در این مطالعه با مصرف کازئینات افزایش یافت. به نظر می‌رسد افزایش سنتز نیتروژن میکروبی توسط منبع پپتید وابسته به دو دلیل باشد: اول اینکه مطالعات متفاوتی افزایش اسیدهای چرب فرار شاخه‌دار را با مصرف اسید آمینه و پپتید گزارش کرده‌اند (که در این مطالعه هم والرات و ایزو والرات افزایش معنی‌داری را نشان دادند) و بر اساس نظر Grosword et al. (1996) این اسیدهای چرب فرار شاخه‌دار با آمونیاک موجود در مایع شکمبه پروتئین میکروبی را تشکیل می‌دهد. بنابراین دلیل اول مربوط به اثر غیرمستقیم پپتیدها بر سنتز نیتروژن میکروبی است. دلیل دوم آن است که Broderick et al. (1991) گزارش کردند که پپتیدهای کوچک موجود در مایع شکمبه قابل انتقال به درون میکروب‌ها می‌باشند. همچنین Pittman

تولید آلانتوئین، اسید اوریک و همچنین مشتقات پورینی (آلانتوئین + اسید اوریک) در این آزمایش به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۵). Groff & Wu (2005) افزایش معنی‌داری برای ترکیبات نیتروژنی ادرار را با افزایش محدوده پروتئین (از ۱۵ تا ۱۸/۷۵ درصد پروتئین خام) مشاهده نمودند. از طرف دیگر Hristov et al. (2004) با تغییر مقدار پروتئین قابل تجزیه از ۹/۴ به ۱۱/۶ درصد تمایلی برای افزایش در آلانتوئین گزارش نمود و تفاوت معنی‌داری را برای ترکیبات نیتروژنی ادرار گزارش نکرد. در گاوهای شیری، با افزایش پروتئین مصرفی بیشتر از ۱۶/۵ درصد در ماده خشک جیره، دفع نیتروژن از طریق ادرار افزایش می‌یابد (Olmos & Broderick, 2006). کراتینین تولید شده نیز افزایش معنی‌داری را با مصرف کازئینات سدیم نشان داد

با روش مشتقات پورینی کمتر از AFRC برآورد شده است (به ترتیب برای تیمارهای اول و دوم ۱۳/۹۷ و ۹/۰۵ گرم نیتروژن در روز). در جیره سوم میانگین سنتز نیتروژن میکروبی تخمین زده شده توسط سیستم AFRC نسبت به مشتقات پورینی کمتر برآورد شده است.

#### قابلیت هضم مواد مغذی و فراسنجه‌های خونی

نتایج مربوط به قابلیت هضم مواد مغذی و همچنین فراسنجه‌های خونی گاوهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در جدول ۴ آمده است. قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام جیره‌ها تحت تأثیر کازئینات سدیم قرار نگرفت. قابلیت هضم فیبر نامحلول در شوینده خنثی ( $P < 0.05$ )، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ( $P < 0.05$ ) و به ویژه همی سلولز ( $P < 0.01$ ) تحت تأثیر مصرف کازئینات سدیم قرار گرفت و بالاترین قابلیت هضم همی سلولز مربوط به جیره ۳ بود. مطالعات قبلی نشان دادند که وارد کردن ترکیبات متفاوت به داخل شکمبه تأثیر معنی‌داری بر میزان ماده خشک مصرفی، قابلیت هضم ماده خشک، قابلیت هضم الیاف و پروتئین خام نداشته است (Varvikko et al., 1999; Vanhatalo et al., 2003; Huhtanen et al., 2004). اما در برخی مطالعات نیز مصرف پیتید بر قابلیت هضم الیاف اثر معنی‌داری داشته است (Griswold et al., 2002; Yang et al., 1998; Yang et al., 2002) نشان دادند که افزودن اسید آمینه و پیتید باعث بهبود در قابلیت هضم الیاف می‌گردد و همچنین با افزودن اسیدهای چرب فرار شاخه‌دار به جیره‌های حاوی پیتید و اسید آمینه باز هم قابلیت هضم الیاف بیشتر شد. پیتیدها ممکن است قابلیت هضم الیاف را به دلیل تولید اسیدهای چرب فرار شاخه‌دار افزایش دهند (Gorosito et al., 1985) و یا ممکن است به دلیل اثر مستقیم خود پیتیدها باشد. به دلیل اینکه پیتیدها می‌توانند به طور مستقیم توسط برخی از میکروب‌ها نظیر باکترئوئید رومینوکولا مورد استفاده قرار گیرد (Pittman & Bryant, 1964). در این تحقیق با افزایش قابلیت هضم همی سلولز با مصرف کازئینات سدیم، می‌توان بیان کرد یافته‌های به دست آمده با نتایج آزمایش (Griswold et al., 2003) مطابقت دارد. این محققان بیان کردند که باکتری‌های هضم‌کننده همی سلولز ممکن است قادر به رقابت با

Bryant & (1967) نشان دادند که پیتیدها برای برخی از باکتری‌های شکمبه نظیر باکترئوئید رومینوکولا که سیستم انتقال اسید آمینه ندارد، ضروری است. از طرف دیگر هزینه انرژی استفاده از پیتیدها جهت سنتز نیتروژن میکروبی کمتر از اسیدهای آمینه و آمونیاک باشد که بر این اساس افزایش غلظت پیتیدها می‌تواند بر سنتز پروتئین میکروبی تأثیر گذارد (Payne, 1983). با توجه به اینکه میزان نیتروژن میکروبی حاصل شده در جیره سوم بیشتر از میزان نیتروژن منبع کازئینات مصرفی می‌باشد، ممکن است عواملی مانند تأثیر مصرف کازئینات بر باز چرخ نیتروژن به شکمبه، تأثیر پروتوزوا بر متابولیسم نیتروژن و همچنین تأثیر کازئینات مصرف شده بر آلانتوئین در نهایت بر تخمین نیتروژن میکروبی تأثیرگذار بوده است. همچنین قابل ذکر است که روش مشتقات پورینی یک روش تخمینی (Estimation) برای سنتز پروتئین میکروبی می‌باشد و ممکن است نسبت به روش استفاده از نیتروژن نشاندار که روش دقیق‌تری می‌باشد و یک روش اندازه‌گیری محسوب می‌شود، دارای خطا نیز باشد (Chen & Gomes, 1992).

در صورتی که در این مطالعه مقدار نیتروژن میکروبی بر اساس سیستم AFRC<sup>۱</sup> تخمین زده شود، ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۲۳۶/۸، ۲۴۷/۸ و ۲۳۱/۶ گرم در روز خواهد بود که تفاوت معنی‌داری در بین جیره‌ها نشان می‌دهد ( $P < 0.05$ ). در سیستم AFRC مقدار پروتئین میکروبی سنتز شده از طریق انرژی قابل متابولیسم قابل تخمیر<sup>۲</sup> به دست می‌آید و تابعی از انرژی متابولیسمی جیره پایه می‌باشد که انرژی خوراک‌های سیلو شده و چربی از آن کسر گردیده است. علیرغم اینکه ماده خشک مصرفی در بین جیره‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت، اما افزایش عددی آن در جیره دوم باعث تأمین انرژی بیشتر و بنابراین تخمین بیشتر نیتروژن میکروبی گردید. مقایسه پروتئین میکروبی سنتز شده به روش مشتقات پورینی با روش AFRC نشان می‌دهد که میزان نیتروژن میکروبی تخمین زده شده در جیره دوم و سوم

1. Agricultural and Food Research Council  
2. Fermentable metabolisable energy



نیتروژن به نحوی که بیش از نیاز میکروها و حیوان میزبان باشد، باعث هدرروی انرژی به جهت تبدیل آمونیاک به اوره و سم‌زدایی آن در کبد می‌گردد (Staples et al., 1993). اما به نظر نمی‌رسد که در این پژوهش نیتروژن مصرفی به آن حدی رسیده باشد که باعث هدرروی انرژی گردد و به همین دلیل اسیدهای چرب استریفه نشده، تمایل به معنی‌داری داشته است. اما از طرف دیگر می‌توان اظهار کرد که افزایش معنی‌دار نیتروژن اوره‌ای خون (به ترتیب ۱۲/۶، ۱۲/۹۶ و ۱۴/۳۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر برای جیره‌های ۱، ۲ و ۳) نشان‌دهنده بازده کمتر استفاده از نیتروژن در جیره سوم می‌باشد. Broderick & Clayton (1997) بیان کردند که غلظت‌های بالای اوره خون که محصول نهایی متابولیسم نیتروژن است، به عنوان شاخص بازده کم استفاده از پروتئین مصرف شده توسط گاوهای شیری در نظر گرفته می‌شود.

#### نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر نشان داد که میکروهای شکمبه برای بهینه شدن تخمیر در شکمبه، قابلیت هضم الیاف و سنتز نیتروژن میکروبی نیاز به منبع مناسبی از پپتید دارند. با مصرف کازئینات سدیم، قابلیت هضم الیاف بهبود پیدا کرده و تولید استات و اسیدهای چرب

باکتری‌های هضم‌کننده کربوهیدرات غیرساختمانی در مصرف نیتروژن غیر آمونیاکی باشند و نیتروژن آمونیاکی ممکن است تنها منبع نیتروژنی مورد نیاز برای باکتری‌های هضم‌کننده سلولز باشند. در هر حال به نظر می‌رسد طبق نظر Griswold et al. (1996) شکل دیگری از نیتروژن به جز نیتروژن آمونیاکی جهت بهبود قابلیت هضم الیاف مورد نیاز باشد. لازم به ذکر است با توجه به اینکه گاوها در اواخر دوره شیردهی بوده‌اند، افزایش ضریب هضمی الیاف تنها توانست تمایل به افزایش وزن در دامها ( $P=0/10$ ) را ایجاد کند (جدول ۲) ولی افزودن کازئینات سدیم نتوانست تغییر معنی‌داری در قابلیت هضم ماده خشک و متعاقب آن ماده خشک مصرفی و شیر تولیدی ایجاد نماید.

استفاده از کازئینات سدیم اثر معنی‌داری را بر روی فراسنجه‌های خونی به جز نیتروژن اوره‌ای خون نداشت. در این مطالعه فقط اسیدهای چرب استریفه نشده تمایلی برای افزایش ( $P=0/09$ ) در بین جیره‌ها را داشت و احتمالاً به دلیل اینکه جیره‌ها از نظر پروتئین و انرژی متوازن شده بودند، گاوها با کمبود انرژی مواجه نشده و شاخص‌های توازن انرژی بدن گاو (گلوکز، اسیدهای چرب استریفه نشده و بتا‌هیدروکسی بوتیریک اسید) تفاوت‌های معنی‌داری را نشان ندادند. افزایش مصرف

جدول ۴- فراسنجه‌های خونی و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی گاوهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی<sup>۱</sup>

P-value	SE	جیره ۳	جیره ۲	جیره ۱	صفت مورد مطالعه	جیره × زمان	
						جیره	جیره
					فراسنجه‌های خونی		
۰/۵۴	۴/۱۲	۵۲/۵	۵۴/۱۲	۵۳/۸	گلوکز (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۰/۶۹	۰/۵۴
۰/۲۶	۰/۰۳	۰/۱۹	۰/۱۴	۰/۱۲	NEFA (میلی‌مول در لیتر)	۰/۰۹	۰/۲۶
۰/۹۲	۰/۰۸	۰/۴۴	۰/۴۱	۰/۳۹	BHBA (میلی‌مول در لیتر)	۰/۳۷	۰/۹۲
۰/۰۶	۲/۴	۱۴/۳۲ <sup>a</sup>	۱۲/۹۶ <sup>b</sup>	۱۲/۶ <sup>bc</sup>	BUN (میلی‌گرم در دسی لیتر)	<0/01	۰/۰۶
					قابلیت هضم ظاهری (درصد)		
۰/۸۶	۶/۷۸	۵۸	۵۷/۷	۵۶/۴	ماده خشک	۰/۲۸	۰/۸۶
۰/۶۵	۶/۵۹	۶۵/۴	۶۵	۶۳/۲	ماده آلی	۰/۳۹	۰/۶۵
۰/۷۹	۲/۳	۶۲/۳	۶۱	۶۱/۵	پروتئین خام	۰/۳۱	۰/۷۹
۰/۵۴	۵/۱۲	۴۸/۳ <sup>a</sup>	۴۶/۲ <sup>ab</sup>	۴۵/۲ <sup>b</sup>	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی	<0/05	۰/۵۴
۰/۸۱	۵/۸۶	۵۲/۵ <sup>a</sup>	۵۰/۱ <sup>b</sup>	۴۸/۶ <sup>bc</sup>	فیبر نامحلول در شوینده خنثی	<0/05	۰/۸۱
۰/۲۸	۲/۳۱	۶۰/۴۴ <sup>a</sup>	۵۷/۴۷ <sup>b</sup>	۵۵/۰۳ <sup>c</sup>	همی سلولز	<0/01	۰/۲۸

۱. جیره‌های آزمایشی شامل: جیره ۱) جیره پایه بدون مصرف کازئینات سدیم؛ جیره ۲) جیره پایه به همراه ۵۰ گرم کازئینات سدیم؛ جیره ۳) جیره پایه به همراه ۱۰۰ گرم کازئینات سدیم بودند.

\* حروف غیر مشابه در هر سطر نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ( $P<0/05$ ) می‌باشند.

میزان ۵۰ گرم در گاوهای اواخر دوره شیردهی باعث بهبود تخمیر شکمبه‌ای گردید ولی مصرف سطح ۱۰۰ گرم علیرغم اینکه قابلیت هضم الیاف را بیشتر بهبود داد، اما به دلیل افزایش نیتروژن اوره‌ای خون، پتانسیل کاهش بازدهی استفاده از نیتروژن را داشت.

فرار شاخه‌دار افزایش یافت و همچنین سنتز نیتروژن میکروبی روزانه نیز افزایش نشان داد. اما از طرف دیگر غلظت نیتروژن آمونیاکی در مایع شکمبه و نیتروژن اوره‌ای در خون با مصرف کازئینات سدیم بالا رفت. با توجه به نتایج این آزمایش، مصرف کازئینات سدیم به

## REFERENCES

1. Agricultural and Food Research Council. (1992). Nutrient Requirements of Ruminant Animals: Protein. Technical Committee on Responses to Nutrients. Report No. 9. *Nutr. Abstr. Rev.*, (Ser. B) 62, 787–835.
2. Association of Official Analytical Chemists. (1980). *Official methods of analysis*. (13<sup>th</sup> ed.). AOAC, Washington, DC.
3. Broderick, G. A. (2003). Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 86, 1370–1381.
4. Broderick, G. A. & Murray K. Clayton. (1997). A Statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci*, 80, 2964–2971.
5. Broderick, G. A., Wallace, R. J. & Orskov, E. R. (1991). Control of rate and extent of protein degradation. Pages 541–592 in *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. T. Tsuda, Y. Sasaki, and R. Kawashima, eds. Academic Press, San Diego, CA.
6. Butler, W. R. (1998). Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci*, 81, 2533–2539.
7. Chalupa, W. (1975). Rumen bypass and protection of proteins and amino acids. *J. Dairy Sci*, 58, 1198–1218.
8. Chen, X. B. & Gomes, M. J. (1992). Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: An overview of technical details. Int. Feed Res. Unit, Occasional Publ. Rowett Research Institute, Aberdeen, United Kingdom.
9. Choi, C. W., Ahvenjarvi, S., Vanhatalo, A., Toivonen, V. & Huhtanen, P. (2002). Quantitation of the flow of soluble non-ammonia nitrogen entering the omasal canal of dairy cows fed grass silage based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 96, 203–220.
10. Crooke, W. M. & Simpson, W. E. (1971). Determination of ammonia in kjeldahl digest of crops by an automated procedure. *J. Sci. Food Agri*, 22, 903–916.
11. Erfle, J. D., Sauer, F. D. & Mahadevan, S. (1977). Effect of ammonia concentration on activity of enzymes of ammonia assimilation and on synthesis of amino acids by mixed rumen bacteria in continuous culture. *J. Dairy Sci*, 60, 1064–1072.
12. Eriksson, M., Murphy, M., Cizuk, P. & Burstedt, E. (2004). Nitrogen balance, microbial protein production, and milk production in dairy cows fed fodder beets and potatoes, or barley. *J. Dairy Sci*, 87, 1057–1070.
13. Griswold, K. E., Hoover, W. H., Miller, T. K. & Thayne, W. V. (1996). Effect of Form of Nitrogen on Growth of Ruminant Microbes in Continuous Culture. *J. Anim. Sci*, 74, 483–491
14. Griswold, K. E., Apgar, G. A., Bouton, J. & Firkins, J. L. (2003). Effects of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility, and fermentation in continuous culture. 2003. *J Anim Sci*, 81, 329–336.
15. Gorosito, A. R., Russell, J. B. & VanSoest, P. J. (1985). Effect of carbon -4 and carbon-5 volatile fatty acids on digestion of plant cell wall invitro. *J. Dairy Sci*, 68, 840–847.
16. Groff, E. B. & Wu, Z. (2005). Milk production and nitrogen excretion fed different amounts of protein and varying properties of alfalfa and corn silage. *J. Dairy Sci*, 88, 3619–3632.
17. Hoover, W. H. & Stokes, S. R. (1991). Balancing carbohydrates and protein for optimum rumen microbial yield. *J. Dairy Sci*, 74, 3630–3644.
18. Hristov, A. & Broderick, G. A. (1996). Synthesis of microbial protein in ruminally cannulated cows fed alfalfa silage, alfalfa hay, or corn silage. *J. Dairy Sci*, 79, 1627–1637.
19. Hristov, A. N. & Broderick, G. (1996). Synthesis of microbial protein in ruminally cannulated cows fed alfalfa silage, alfalfa hay, or corn silage. *J. Dairy Sci*, 79, 1627–1637.
20. Hristov, A. N., Etter, R. P., Ropp, J. K. & Grandeen, K. L. (2004). Effect of dietary crude protein level and degradability on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cow. *J. Anim. Sci*, 82, 3219–3229.
21. Huhtanen, P., Nousiainen, J. I., Rinne, M., Kytölä, K. & Khalili, H. (2008). utilization and partition of dietary nitrogen in dairy cows fed grass silage-based diets. *J. Dairy Sci*, 91, 3589–3599.

22. Jones, D. F., Hoover, W. H. & Miller Webster, T. K. (1998). Effect of concentration of peptides on microbial metabolism in continuous culture. *J. Anim. Sci*, 76, 611-616.
23. Kristensen, N. B. & Rauen, B. M. L. (2007). Ruminal and intermediary metabolism of propylene glycol in lactating Holstein cows. *Dairy Sci*, 90, 4707-4717.
24. Kume, S., Nonaka, K., Oshita, T., Kozakai, T. & Hirooka, H. (2008). Effects of urinary excretion of nitrogen, potassium and sodium on urine volume in dairy cows. *Livest. Sci*, 115, 28-33.
25. Olmos Colmenro, J. J. & Broderick, G. A. (2006). Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy. Sci*, 89, 1704-1712.
26. Ottenstein, D. M. & Batler, D. A. (1971). Improved gas chromatography separation of feed acids C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub> in dilute solution. *Annual. Chem*, 43, 952-955.
27. Payne, J. W. (1983). Peptide transport in bacteria: methods, mutants and energy coupling. *Biochemistry Society Transaction*, 11, 794-798.
28. Pittman, K. A. & Bryant, M. P. (1964). Peptides and other nitrogen sources for growth of *Bacteroides ruminicola*. *Journal of Bacteriology*, 93, 1499-1508.
29. Reynal, S. M. & Broderick, G. A. (2005). Effect of dietary level of rumen degraded protein on production and nitrogen metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 88, 4045-4064.
30. Reynal, S. M., Ipharraguerre, I. R., Linñero, M., Brito, A. F., Broderick, G. A. & Clark, J. H. (2007). Omasal flow of soluble proteins, peptides, and free amino acids in dairy cows fed diets supplemented with proteins of varying ruminal degradabilities. *J. Dairy Sci*, 90, 1887-1903.
31. Rosen, H. (1957). A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Arch. Biochem. Biophys.* 67, 10-15.
32. Russell, J. B., Sniffen, C. J. & Van Soest, P. J. (1983). Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. *J. Dairy Sci*, 66, 763-775.
33. Russell, J. B., O'Connor, J. D., Fox, D. G., VanSoest, P. J. & Sniffen, C. J. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *J. Anim. Sci*, 70, 3551-3561.
34. Sannes, R., Messman, A. & Vagnoni, D. B. (2002). Form of rumen-degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. *J. Dairy Sci*, 85, 900-908.
35. SAS Institute. (1999-2000). *SAS/STAT User's Guide* (Release 8.1). SAS Inst., Inc., Cary, NC.
36. Staples, C. R., Garcia-Bojalil, C. M., Oldick, B. S., Thatcher, W. W. & Risco, C. A. (1993). Protein intake and reproductive performance of dairy cows: a review, a suggested mechanism, and blood and milk urea measurements. Pages 37-51. In: *Proceedings of 4<sup>th</sup> Annu. Florida Ruminant Nutr. Symp.*, Univ. Florida, Gainesville.
37. Vagnoni, D. B., Broderick, G. A., Clayton, M. K. & Hatfield, R. D. (1997). Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. *J. Dairy Sci*, 80, 1695-1702.
38. Valadares, R. F. D., Broderick, G. A., Valadaresfilho, S. C. & Clayton, M. K. (1999). Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *J. Dairy Sci*, 82, 2686-2696.
39. Van Keulen, J. & Young, B. A. (1977). Acid insoluble ash as a natural marker for digestibility studies. *J. Anim. Sci*, 44, 282-287.
40. Van Soest, P. J., Roberts, J. B. & Lewis, B. A. (1991). Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci*, 74, 3583-3597.
41. Vanhatalo, A., Huhtanen, P., Toivonen, V. & Varvikko, T. (1999). Response of dairy cows fed grass silage diets to abomasal infusions of histidine alone or in combinations with methionine and lysine. *J. Dairy Sci*, 82, 2674-2685.
42. Vanhatalo, A., Huhtanen, P. & Varvikko, T. (2003). Effect of various glucogenic sources on production and metabolic responses of dairy cows fed grass silage based diets. *J. Dairy Sci*, 86, 3249-3259.
43. Vanhatalo, A., Varvikko, T. & Huhtanen, P. (2003). Effects of casein and glucose on responses of cows fed diets based on restrictively fermented grass silage. *J. Dairy Sci*, 86, 3260-3270.
44. Varvikko, T., Vanhatalo, A., Jalava, T. & Huhtanen, P. (1999). Lactation and metabolic responses to graded abomasal doses of methionine and lysine in cows fed grass silage diets. *J. Dairy Sci*, 82, 2659-2673.
45. Wright, D. E. (1967). Metabolism of peptides by rumen microorganisms. *Appl. Microbial*, 15, 547-550.
46. Yang, C.-M. J. (2002). Response of forage fiber degradation by ruminal microorganisms to branched-chain volatile fatty acids, amino acids, and dipeptides. *J. Dairy Sci*, 85, 1183-1190.