



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گیلان

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان

جلد پنجم، شماره اول، ۱۳۹۶

<http://ejrr.gau.ac.ir>

ارتباط متابولیت های خونی با وقوع اسیدوز با استفاده از خوراک پلت جو و گندم در گاو شیری

سید محمود نصراللهی^۱، *ابولفضل زالی^۲ و غلامرضا قربانی^۳

^۱دانش آموخته دکتری و ^۲دانشیار گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران،

^۳استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۳

چکیده

سابقه و هدف: مشخص شده است که در زمان بروز اسیدوز با انتقال برخی متابولیت‌ها از شکمبه به خون، متابولیسم عمومی تغییر می‌کند. اما چگونگی تغییر در سطح متابولیت‌های خونی و ارتباط آن با عملکرد دام روشن نیست. این مطالعه به منظور شناسایی نشانگرهای با قابلیت اندازه‌گیری آسان به منظور پیش‌بینی اسیدوز، پرداخته است.

مواد و روش‌ها: تعداد ۹ رأس گاو هلشتاین در اواسط دوره شیردهی (دارای وزن بدن $55/6 \pm 650$ کیلوگرم) با میانگین روزهای شیردهی 13 ± 102 روز و میانگین تولید شیر روزانه $6/26 \pm 53/7$ کیلوگرم، به صورت تصادفی در سه مربع لاتین 3×3 قرار گرفتند. گاوها در طول سه دوره ۲۱ روزه یکی از سه جیره‌ای را دریافت می‌کردند که از نظر درجه القای اسیدوز متفاوت بودند. درجات مختلف القای اسیدوز به وسیله افزایش سهم مخلوط برابر دانه‌های جو و گندم پلت شده بدست می‌آمد که از $11/7$ ، تا $23/3$ و $35/0$ درصد ماده خشک جیره جایگزین دانه ذرت می‌شدند. هر دوره از ۱۴ روز عادت‌پذیری و ۷ روز نمونه‌گیری تشکیل می‌شد. مقادیر pH و پروفایل اسیدهای چرب فرار شکمبه، مصرف خوراک، شاخص انتخاب، فعالیت جویدن، تولید شیر و کارایی آن (تولید شیر به ازای ماده خشک مصرفی) و متابولیت‌های خونی (با اندازه‌گیری در دو زمان قبل و ۴ ساعت

*نویسنده مسئول: a.zali@ut.ac.ir

بعد از تغذیه وعده صبح) مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. در نهایت ضرایب همبستگی ($n=27$) معنی‌دار بین متابولیت‌های خونی و سایر متغیرهای ذکر شده مورد گزارش و بحث قرار گرفت.

یافته‌ها: سطح سرمی آمیلوئید A در خون در ۴ ساعت بعد از وعده غذایی صبح ارتباط معنی‌داری با pH شکمبه ($r=-0/45$) و غلظت کل اسیدهای چرب فرار شکمبه ($r=0/51$) داشت ($P<0/05$). همچنین سطح آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز خون در قبل از وعده غذایی صبح ارتباط معنی‌داری با مقادیر نسبی اسیدهای چرب فرار شکمبه داشت ($P<0/05$). این آنزیم همچنین همراه با آلکالین فسفاتاز خون در ۴ ساعت بعد از وعده غذایی صبح ارتباط معنی‌داری با رفتار جویدن ($0/38 \leq r \leq 0/57$) و شاخص‌های مربوط به تولید چربی شیر ($-0/61 \leq r \leq -0/44$) و کارایی خوراک (تولید شیر به ازای ماده خشک مصرفی) ($r=0/43$) داشتند ($P<0/05$). سطح کلسترول خون در ۴ ساعت بعد از وعده غذایی صبح ارتباط معنی‌داری با اکثر شاخص‌های مصرف خوراک و تولید شیر و درصد پروتئین شیر داشت ($0/57 \leq r \leq 0/77$). همچنین سطح گلوکز خون در ۴ ساعت بعد از تغذیه با مصرف خوراک در زمان‌های اولیه روز ارتباط داشت ($r=-0/55$). به‌علاوه ظرفیت آنتی‌اکسیدانت خون در قبل از تغذیه وعده صبح نیز با درصد پروتئین شیر ($r=-0/55$)، تولید شیر ($r=0/57$) و کارایی خوراک ($r=0/44$) ارتباط داشت. اما روند مشخصی از ارتباط بین متابولیت‌های خونی با شاخص انتخاب مشخص نشد.

نتیجه‌گیری کلی: متابولیت‌های خونی ارتباط قابل توجهی با شاخص‌ها مربوط به بروز اسیدوز شکمبه‌ای داشتند و سطح آنزیم‌های کبدی آلکالین فسفاتاز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز می‌تواند در پیش‌بینی بروز اسیدوز و رخدادهای متعاقب کمک کننده باشد.

واژه‌های کلیدی: پیش‌بینی اسیدوز، متابولیت‌های خونی، گاو شیری

مقدمه

اسیدوز به عنوان یکی از مسائل عمده در پرورش گاو شیری به شمار می‌رود. اگرچه برای این ناهنجاری تعاریف مختلف عنوان شده است اما در کل می‌توان این ناهنجاری را به افت pH شکمبه از آستانه سلامت تعریف کرد که بسته به میزان و مدت زمان این افت، صدمات مربوطه تغییر خواهد کرد. در مطالعات مختلف این آستانه از ۶ تا ۵/۳ متغیر بوده است (۲۰). این ناهنجاری که معمولاً در گاوهای اوایل و اواسط شیردهی اتفاق می‌افتد می‌تواند اثرات جبران ناپذیری را بر عملکرد تولید شیر و سلامت گله برجای گذارد. در سال ۲۰۰۹ گزارش شده است که ۲۷ درصد گاوهای شیرده در منطقه خراسان ایران در مواجهه با اسیدوز بوده‌اند (۲۴). نشان داده شده است که اسیدوز همزمان سبب کاهش مصرف خوراک، آبسه کبدی، افت چربی شیر، لنگش و افزایش آندوتوکسین باکتریایی و اسهال می‌شود (۸). این ناهنجاری و عواقب آن نیز از دیر باز مورد مطالعه قرار گرفته است اما به علت چند بعدی بودن و پیچیده بودن آن، هنوز باب تحقیقات در این رشته باز بوده و هر روز اطلاعات بیشتری در این رابطه در اختیار دانشمندان و پرورش دندگان گاو شیری قرار می‌گیرد.

علی‌رغم اهمیت اسیدوز بر عملکرد گله‌های گاو شیری، اندازه‌گیری وقوع آن به ندرت در سطح گله‌های تجاری صورت می‌گیرد. یکی از علت‌های عمده این امر سختی روش اندازه‌گیری است که سبب عدم استقبال از این امر شده است. علاوه بر آن تهاجمی بودن روش‌های موجود اندازه‌گیری اسیدوز (۹) و عدم اطمینان به نتایج به علت اثر بزاق بر میزان pH نمونه‌های اخذ شده (۱۶) سبب عدم تمایل پرورش دهندگان به پیروی از این روش‌ها شده است.

مشخص شده است که در موقع ابتلا به اسیدوز آزاد شدن و انتقال اجزای پیکره باکتری گرم منفی به جریان خون اتفاق می‌افتد که سبب فعال شدن واکنش‌های التهابی در بدن گاو می‌شود (۱۹). زبلی و آمتاج در سال ۲۰۰۹ تحقیقی انجام داده و نشان داده‌اند که افزایش برخی از متابولیت‌های خونی مانند سرم آمیلوئید A که در اثر اسیدوز افزایش می‌یابد سبب کاهش کارایی خوراک (تولید شیر به ازای ماده خشک مصرفی) می‌شود (۲۶). اما مطالعه آنها متابولیت‌های محدودی را بررسی کرده است و هنوز در زمینه تغییرات متابولیکی خون در اثر حضور این مواد مطالعه جامعی صورت نگرفته است. بر این اساس در صورتی که ارتباط بین تغییر متابولیت‌های خونی و تغییر رفتار گاو و عملکرد تولید شیر مشخص شود در آینده می‌توان با یک اندازه‌گیری ساده از این متابولیت‌ها میزان سلامت و کارایی گله و به همان دقت میزان بروز اسیدوز در گله را پیش‌بینی کرد. لذا هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین

برخی متابولیت‌های خونی با pH و اسیدهای چرب فرار شکمبه، رفتارهای تغذیه‌ای و تولید شیر و کارایی خوراک (تولید شیر به ازای ماده خشک مصرفی) در شرایط القای درجات مختلف اسیدوز شکمبه‌ای بود. برای القای اسیدوز راهکارهای مختلفی وجود دارد که یکی از آنها تغذیه مخلوط پلت شده دانه های جو و ذرت می باشد که در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفت (۱۳ و ۱۹).

مواد و روش‌ها

محل و زمان اجرای طرح: این تحقیق به صورت همکاری بین دانشگاهی بین گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان به اجرا درآمد. تمام روش‌ها و مواد بکار رفته بر اساس استانداردهای پذیرفته شده بودند (۱۰). مرحله مزرعه‌ای این آزمایش در مزرعه لورک وابسته به دانشگاه صنعتی اصفهان (جاده نجف آباد به فولاد شهر) در اواخر بهار و تابستان سال ۱۳۹۴ به اجرا درآمد.

انتخاب دام‌ها و طراحی آزمایش: تعداد ۹ رأس گاو هلشتاین در اواسط دوره شیردهی با میانگین روزهای شیردهی 102 ± 13 روز و میانگین تولید شیر روزانه 53.7 ± 6.26 کیلوگرم و دارای وزن بدن 650 ± 55.6 کیلوگرم انتخاب شدند که دارای تعداد دفعات زایش بیش از $2 (3.0 \pm 1.32)$ بودند. گاوها در جایگاه‌های انفرادی قرار داشتند. گاوهای انتخاب شده در سه مربع لاتین 3×3 وارد شدند و بعد از اینکه به مدت یک هفته با شرایط جایگاه‌های انفرادی عادت پیدا کردند تحت تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی سطوح درجه‌بندی شده از چالش اسیدوز تحت حاد بود که بر اساس دستورالعملی به اجرا درآمد که قبلاً القای اسیدوز آن تأیید شده بود (۱۳). چالش مورد نظر با جایگزینی یک مخلوط پلت شده از نسبت‌های برابر دانه‌های جو و گندم با دانه ذرت به اجرا درآمد. مراحل تهیه پلت بدین صورت بود که ابتدا آسیاب کردن غلات با توری ۴ میلی‌متر و مخلوط کردن آنها برای ۵ دقیقه انجام می‌شد و سپس دمیدن بخار ۸۰ درجه برای ۳۰ ثانیه و عبور از پلت ساز با قطر منافذ ۸ میلیمتر صورت می‌گرفت. مخلوط دانه پلت شده به صورت ۱۱/۷، ۲۳/۳ و ۳۵/۰ درصد ماده خشک جیره جایگزین دانه ذرت شد که به ترتیب تیمارهای با درجه اسیدوز ضعیف، متوسط و شدید را تشکیل می‌دادند. جیره‌های استفاده شده در این مطالعه براساس سیستم خالص کربوهیدرات و پروتئین دانشگاه کرنل برای تأمین احتیاجات غذایی گاوهای با تولید ۵۳ کیلوگرم و مصرف خوراک واقعی ۲۸ کیلوگرم ماده خشک در روز نوشته شد که در جدول ۱ آمده است (۷).

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان (۵)، شماره (۱) ۱۳۹۶

جدول ۱- مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های مورد استفاده در این آزمایش (براساس درصد ماده خشک).

Table 1. Feed ingredients and chemical composition of the ration that used in this experiment (dry matter percentage based)

جیره‌های آزمایشی، درجه القای اسیدوز (Dietary treatments, level of inducing of acidosis)			
شدید (High)	متوسط (moderate)	ضعیف (Low)	ماده خوراکی
			Feed ingredients
25.4	25.4	25.4	سیلاژ ذرت Corn silage
14.7	14.7	14.7	یونجه خشک Alfalfa hay
8.6	6.6	4.5	تفاله چغندر Beet pulp
35.0	23.3	11.7	پلت دانه‌های جو و گندم Pelleted wheat and barley grains
۰	11.7	23.4	دانه ذرت آسیاب شده Corn grain, ground
8.8	8.8	8.8	کنجاله سویا Soybean meal
3.7	5.4	7.2	کنجاله سویا حرارت دیده Heat treated Soybean meal
1.14	1.29	1.43	پودر ماهی Fish meal
0.36	0.47	0.57	مکمل چربی Fat supplement
1.04	1.07	1.11	کربنات کلسیم Calcium carbonate
0.29	0.29	0.29	نمک NaCl
0.25	0.21	0.18	دی-کلسیم فسفات DCP
0.53	0.53	0.53	مکمل مواد معدنی ^۱ Trace mineral mix 1
0.34	0.34	0.34	مکمل ویتامینه ^۲ Vitamin mix
			ترکیب شیمیایی Chemical composition
48.3	50.2	52.3	ماده خشک Dry matter

سید محمود نصراللهی و همکاران

14.0	14.2	14.5	پروتئین
			Protein
2.3	2.6	2.9	عصاره اتری
			Ether extract
37.7	37.5	36.8	فیبر نامحلول در شوینده خشتی
			Neutral detergent fiber
1.55	1.54	1.54	انرژی خالص شیردهی (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک) ^۳
			NEL (Mcal/kg of DM)

۱- به ترتیب حاوی ۸۰۰، ۳۰۰۰، ۱۰۰۰۰، ۱۲۰، ۱۶۰۰۰، ۸۰، ۱۵۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آهن، مس، منگنز، کبالت، روی، سلنیم، ید و مونتسین بود.

۲- به ترتیب حاوی ۱۳۰۰، ۳۶۰، ۱۲ هزار واحد بین المللی بر کیلوگرم از ویتامین های A، D و E بود.

۳- بر اساس مقادیر جداول (۷).

دوره های آزمایشی ۲۱ روز بودند که ۱۴ روز جهت عادت پذیری به جیره و ۷ روز به عنوان دوره نمونه گیری در نظر گرفته شد. بین هر دوره ۲ هفته جهت بازگشت از اسیدوز در نظر گرفته شد که از جیره رایج گله همراه با ۱ کیلوگرم یونجه سرک استفاده شد. جایگاه اختصاص یافته به گاوها در این آزمایش دارای ابعاد ۳ متر در ۳ متر بودند و دارای سایبان و دسترسی آزاد به آب و خوراک بودند. بستر دام ها از مخلوط کود خشک و پوشال چوب تشکیل شده بود که به صورت روزانه بخش های آلوده به ادرار و مدفوع تعویض می شدند. تغذیه به صورت خوراک کاملاً مخلوط و دو بار در روز در ساعت ۱۰ صبح و ۶ بعد از ظهر صورت می گرفت.

اندازه گیری pH شکمبه و اسیدهای چرب فرار: در روز پایانی آزمایش مایع شکمبه از محل مشخص در کیسه شکمی با روش رومینوستتیزس مورد نمونه گیری قرار گرفت (۱۶). نمونه گیری مایع شکمبه در ۴ ساعت بعد از ارائه خوراک صبح صورت گرفت. به سرعت pH مایع شکمبه به وسیله دستگاه pH سنج (اچ آی ۸۳۱۸، موسسه هانا، کلوج-ناپوکا، رمانی) که در محل با دو بافر ۴ و ۷ کالیبره شده بود مورد اندازه گیری قرار گرفت.

همچنین به منظور اندازه گیری اسیدهای چرب فرار در شکمبه، نمونه از مایع شکمبه در روز ۲۰ آزمایش از گاوها به روش لوله مری در ۴ ساعت پس از ارائه خوراک تهیه شد. اولین نمونه اخذ شده (۱۰۰ میلی لیتر) دور ریخته می شد و از نمونه دوم ۴ میلی لیتر مایع شکمبه با یک میلی لیتر اسید متا فسفریک مخلوط شده و در دمای ۱۰- درجه سانتی گراد ذخیره شد. اندازه گیری اسیدهای چرب فرار

با روش کراماتوگرافی گازی به انجام رسید (فلیپس، پی یو ۴۴۱۰، آمریکا) که بر اساس دستورالعمل توصیف شده توسط اوتنسن و بارتلی (۱۹۷۱) بود (۱۸).

اندازه‌گیری میزان مصرف خوراک در ساعت‌های مختلف بعد از وعده غذایی صبح: برای ۲ روز متوالی در روزهای ۱۶ و ۱۷ آزمایش تغییر میزان مصرف در طول روز برای هر گاو محاسبه شد. در هر دوره همه گاوها در دو روز یکسان مورد اندازه‌گیری این متغیر قرار گرفتند. برای این منظور در ساعت‌های ۲، ۴ و ۶ بعد از ارائه خوراک وعده صبح کل آخور گاوها تخلیه، توزین و مورد نمونه‌گیری قرار گرفت. نمونه‌های گرفته شده مورد اندازه‌گیری ماده خشک و اندازه ذرات طبق روش توصیه شده برای الک‌های پنسیلوانیا قرار گرفتند (۱۸).

فعالیت جویدن: به مدت دو روز متوالی در روزهای ۱۸ و ۱۹ فعالیت جویدن به صورت چشمی برای هر گاو برای یک دوره ۲۴ ساعته مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت‌های خوردن و نشخوار به صورت هر ۵ دقیقه یکبار ثبت شد و فرض بر این بود که این فعالیت برای این مدت ۵ دقیقه پایدار خواهد ماند (۵۵).

متابولیت‌های خونی: متابولیت‌های خونی در دو نوبت در روز ۱۸ دوره آزمایشی اندازه‌گیری شدند. دو نوبت خون‌گیری در هر روز در ساعت ۸ صبح و ۲ بعد از ظهر انجام گرفت. به منظور اندازه‌گیری متابولیت‌های خونی برای هر دام یک لوله دارای عامل ضد انعقاد هپارین و یک لوله فاقد ماده ضد انعقاد در نظر گرفته شد. زمان‌های خون‌گیری قبل و ۴ ساعت بعد از خوراک ریزی صبح در نظر گرفته شد. نمونه‌های خون بعد از اخذ، به سرعت وارد یخ شدند و با ۳۰۰۰ دور در ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. نمونه‌های سرم و پلاسما بعد از جدا سازی در میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری در دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند. نمونه‌های سرم بعد از یخ‌گشایی در آزمایشگاه مورد اندازه‌گیری غلظت‌های گلوکز، کلسترول، لیپوپروتئین با دانسیته بالا، تری‌گلیسرید، پروتئین تام، کراتین، نیتروژن اوره‌ای خون، آسپارات آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز بوسیله دستگاه اتوآنالایزر (ابوت آیکون ۳۰۰، آمریکا) با استفاده از کیت‌های صنعتی (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده قرار گرفتند. بتا هیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب بلند زنجیر غیر استریفه سرم بوسیله کیت‌های رنگ سنجی صنعتی (شرکت رندوکس، انگلستان) و دستگاه اتوآنالایزر که در قبل ذکر شد اندازه‌گیری شدند. غلظت گلوبولین خون به روش تفاوتی و با کسر میزان آلبومین از پروتئین تام خون بدست آمد. غلظت سرمی آمیلوئید A پلاسمایی به وسیله کیت الایزای گاوی (شرکت بیوتک شانگهای، چین) و بر اساس روش توصیه شده توسط کارخانه تولیدی مورد محاسبه

قرار گرفت. در این آزمایش غلظت عناصر کلسیم، فسفر، منیزیم، کلر، سدیم و پتاسیم در خون نیز اندازه‌گیری شد. روش استفاده شده برای کلسیم، فسفر، منیزیم و کلر به با استفاده از دستگاه اسپکتروفتو متریک (ابوت، آسیوان ۳۰۰، آمریکا) با استفاده از کیت های شرکت پارس آزمون و بر اساس روش درج شده در دستورالعمل کیت اندازه‌گیری شدند. سدیم و پتاسیم نیز بر اساس روش^۱ ISE مورد سنجش قرار گرفت (۲۵).

تولید و ترکیب شیر: گاوها سه وعده در شبانه روز در ساعات ۹:۰۰، ۱۷:۰۰ و ۱:۰۰ دوشیده شدند. رکورد شیر در طول روزهای ۱۵ تا ۱۹ برای همه گاوها در سه وعده ثبت شد و در سه روز اول، نمونه‌گیری از سه وعده به منظور اندازه‌گیری ترکیبات شیر صورت گرفت. نمونه‌های شیر به وسیله دی کرومات پتاسیم در دمای ۴ درجه نگه‌داری شدند و بعد از روز سوم تمام نمونه‌ها به آزمایشگاه جهت اندازه‌گیری درصد چربی، پروتئین و لاکتوز بوسیله دستگاه میلکواسکن (فوسوماتیک ۵۰۰۰، فوس الکتریک، هیلرود، دانمارک) منتقل شدند. تولید شیر تصحیح شده برای انرژی بر اساس رابطه زیر به دست آمد:

$$\text{تولید پروتئین} \times 7/04 + \text{تولید چربی} \times 12/96 + \text{تولید شیر} \times 0/3246 = \text{شیر تصحیح شده برای انرژی}$$

محاسبات و آنالیز آماری: رابطه همبستگی ($n=27$) متابولیت‌های خونی با متغیرهای مختلف اندازه‌گیری شده با استفاده از پروک رگرسیون^۲ نسخه نهم نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۲) بررسی شد (22۲۲). رابطه‌های با سطح معنی‌داری $P \leq 0/001$ به عنوان بسیار به شدت معنی‌دار، رابطه‌های با سطح معنی‌داری $0/001 < P \leq 0/01$ به عنوان بسیار معنی‌دار، رابطه‌های با سطح معنی‌داری $0/01 < P \leq 0/05$ به عنوان معنی‌دار و رابطه‌های با سطح معنی‌داری $0/05 < P \leq 0/10$ به عنوان تمایل به معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

ارتباط متابولیت‌های خونی با pH و اسیدهای چرب فرار شکمبه: ضرایب همبستگی آن دسته از متابولیت‌های خونی که با pH و اسیدهای چرب فرار شکمبه ارتباط معنی‌دار داشتند در جدول ۲ به نمایش در آمده است. میزان آنتی‌اکسیدانت در خون در ۴ ساعت بعد از خوراک دهی صبح (T_4) قویترین ارتباط را با pH شکمبه داشت ($r=-0/53$). همچنین میزان سرمی آمیلوئید A خون در این زمان

1. Ion Selective Electrode

2. REG

نیز به شکل منفی و معنی دار با pH شکمبه و به شکل مثبت با میزان کل اسیدهای چرب فرار همبستگی داشت. غلظت سرمی آمیلوئید A خون به عنوان مارکر التهاب قلمداد می‌شود و افزایش آن در شرایط اسیدوز تحت حاد به اثبات رسیده است (۱۹). با توجه به اینکه التهاب همراه با تولید رادیکال‌های آزاد و واکنش‌های اکسیداسیونی می‌باشد لذا کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی خون در زمان افت pH می‌تواند توجیه‌پذیر باشد (۳).

جدول ۲: همبستگی متابولیت‌های خون با pH و پروفایل اسیدهای چرب مایع شکمبه در گاو شیری

Table 2. Correlation of blood metabolites and ruminal pH and VFA profile in dairy cows

الرات Valerate	ایزو والرات Iso-valerate	بوتیرات Butyrate	پروپیونات Propionate	استات Acetate	اسیدهای چرب فرار VFA	pH	آیتم (Item)
	0.43* ²						گلوکز (T _۴) Glucose (T ₄)
					0.44*		کلسترول (T _۰) Cholesterol (T ₀)
		-0.49**	0.51**	-0.46*			آسپاراتات آمینو ترانسفراز (T _۰) Aspartate amino transferase (T ₀)
				0.40*			کلسیم (T _۴) Calcium (T ₄)
		0.42*				0.46*	پروتئین (T _۰) Protein (T ₀)
	-0.38*						گلوبولین (T _۰) Globulin (T ₀)
			0.42*			-0.53***	آنتی‌اکسیدانت (T _۴) anti-oxidant (T ₄)
							بتا هیدروکسی بوتیرات (T _۴) β- hydroxy butyrate (T ₄)
0.39*						-0.45*	پتاسیم (T _۴) Potassium (T ₄)
		-0.43*	0.44*				سدیم (T _۴) Sodium (T ₄)
					0.51**	-0.45*	سرم آمیلوئید A (T _۴) Serum amyloid A (T ₄)

۱- T_۰ و T_۴ به ترتیب زمان نمونه‌گیری در صفر و ۴ ساعت بعد از وعده خوراک ریزی صبح می‌باشند.

۲- رابطه‌های با سطح معنی داری ۰/۰۰۱ ≤ P به عنوان بسیار به شدت معنی دار (***)، رابطه‌های با سطح معنی داری ۰/۰۱ ≤ P < ۰/۰۰۱ به عنوان بسیار معنی دار (**)، رابطه‌های با سطح معنی داری ۰/۰۵ ≤ P < ۰/۰۱ به عنوان معنی دار (*) و رابطه‌های با سطح معنی داری ۰/۱ ≤ P < ۰/۰۵ به عنوان تمایل به معنی داری (^) در نظر گرفته شد.

غلظت آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز خون در قبل از تغذیه وعده صبح (T) همبستگی قوی با غلظت اکثر اسیدهای چرب فرار شکمبه داشت. این ارتباط با استات و بوتیرات منفی و با پروپیونات و والرات مثبت بود و در مورد والرات ارتباط در سطح بسیار معنی دار ($r=0/59$) بود. آسپاراتات آمینو ترانسفراز یکی از آنزیم‌های کبدی است که در صورت بروز آسیب به کبد در سطح خون احشایی قابل مشاهده است و لذا افزایش آن در خون احشایی می‌تواند نشان دهنده آسیب‌های کبدی باشد (۲۲). مطالعه قبلی ما نیز که بر روی ۷۸ رأس گاو پرتولید با کنسانتره بالا به انجام رسید ارتباط معنی‌دار سطح این آنزیم با غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه و حتی pH شکمبه را تأیید کرد (۱۵).

ارتباط متابولیت‌های خونی با مصرف خوراک: ضرایب همبستگی آن دسته از متابولیت‌های خونی که با مصرف خوراک در ساعت‌های مختلف بعد از تغذیه ارتباط داشتند در جدول ۳ به نمایش در آمده است. سطح گلوکز سرم خون در ۴ ساعت بعد از تغذیه صبحگاهی همبستگی بسیار معنی‌داری با مصرف خوراک در ۲ ساعت اول روز داشت ($r=-0/55$) و در حقیقت افزایش گلوکز در این زمان سبب افت مصرف خوراک شد. بر اساس یکی از جدیدترین تئوری‌های مصرف خوراک، اکسیداسیون متابولیت‌ها در کبد کنترل کننده مصرف خوراک است (۱). لذا منطقی به نظر می‌رسد که سطح بالای گلوکز در افت مصرف خوراک نقش داشته باشد. مصرف خوراک در ساعت‌های اولیه روز نقش عمده‌ای در کنترل اسیدوز دارد و لذا شناسایی مارکرهای خونی مؤثر بر آن می‌تواند کمک ارزنده‌ای در جهت بهبود اسیدوز خواهد نمود (۱۴).

سطح کلسترول پلاسما در ۴ ساعت بعد از تغذیه ارتباط بسیار معنی‌دار و مثبتی با بیشتر شاخص‌های مربوط به مصرف خوراک داشت. سطح کلسترول پلاسما نشان دهنده سلامت کبد است و نشان داده شده است که مقدار آن با کاهش کبد چرب افزایش پیدا می‌کند (۲). این متابولیت همچنین به عنوان شاخص بهبود تعادل انرژی دام قلمداد می‌شود (۴). با توجه به ارتباط قوی این متابولیت با شاخص‌های تولید شیر که در ادامه ارائه خواهد شد می‌توان اینگونه فرض کرد که گاوهایی که از سلامت کبدی بهتری برخوردار بودند دارای مصرف خوراک و تولید شیر بالاتری بودند و شاخص این کمیت نیز می‌تواند سطح کلسترول پلاسما باشد.

سطح بتاهیدروکسی بوتیریک اسید در سرم خون در ۴ ساعت بعد از وعده غذایی صبح نیز ارتباط معنی‌دار با مصرف خوراک مصرف در فواصل زمانی بین ۰ تا ۶ ساعت بعد از تغذیه وعده صبح داشت. اگرچه قدرت رابطه آن به اندازه کلسترول نبود اما با افزایش این متابولیت نیز مصرف خوراک افزایش -

یافت. اگرچه برای این ارتباط، مکانیسم روشنی یافت نشد اما ممکن است این ارتباط نشان‌دهنده احتیاجات تغذیه‌ای بالا به منظور تولید شیر باشد که سبب افزایش مصرف خوراک شده است (۶).

جدول ۳: همبستگی متابولیت‌های خون با الگوی مصرف خوراک در ساعات مختلف بعد از خوراک‌دهی وعده صبح در گاو شیری.

Table 3. Correlation of blood metabolites and the pattern of feed intake during difference hours after morning feeding in dairy cows

آیتم (Item)	ساعات‌های مختلف بعد از تغذیه وعده صبح				
	hours after morning feeding				
	0-24	6-24	4-6	2-4	0-2
گلوکز (T _۴) Glucose (T ₄)					-0.55*** ²
کلسترول (T _۴) Cholesterol (T ₄)	0.57**	0.59***			0.62***
کراتین (T _۴) Creatinine (T ₄)	-0.47**				
آلکالین فسفاتاز (T _۴) alkaline phosphatase (T ₄)		-0.47*			
کلسیم (T _۰) Calcium (T ₀)				0.47**	
پروتئین (T _۴) Protein (T ₄)			-0.33 [^]		
بتا هیدروکسی بوتیرات (T _۴) β- hydroxy butyrate (T ₄)	0.50*		0.42*	0.33 [^]	0.40*

۱- T_۰ و T_۴ به ترتیب زمان نمونه‌گیری صفر و ۴ ساعت نسبت به وعده خوراک ریزی صبح می‌باشند.

۲- رابطه‌های با سطح معنی‌داری $P \leq 0.001$ به عنوان بسیار به شدت معنی‌دار (***)، رابطه‌های با سطح معنی‌داری $0.001 < P \leq 0.01$ به عنوان بسیار معنی‌دار (***)، رابطه‌های با سطح معنی‌داری $0.05 < P \leq 0.1$ به عنوان معنی‌دار (*) و رابطه‌های با سطح معنی‌داری $0.1 < P \leq 0.05$ به عنوان تمایل به معنی‌داری ([^]) در نظر گرفته شد.

ارتباط متابولیت‌های خونی با شاخص انتخاب ذرات: ضرایب همبستگی آن دسته از متابولیت‌های خونی که با شاخص انتخاب ذرات ارتباط معنی‌داری داشتند در جدول ۴ به نمایش در آمده است. اگرچه ارتباط معنی‌دار برخی از عناصر و متابولیت‌ها با شاخص‌های رفتاری قابل مشاهده بود اما نکته حائز توجه آن بود که این ارتباطات از روند مشخصی (مانند آنچه در متابولیت‌های شکمبه و مصرف خوراک مشاهده شد) پیروی نمی‌کردند و در کل ضرایب همبستگی دارای قدرت کمی بودند. نشان

داده شده است که الگوی رفتارهای یک موجود زنده تحت تأثیر عوامل متعددی از متغیرهای درونی و بیرونی است (۲۳) و بر اساس نتایج حاصل می‌توان عنوان داشت که براساس الگوی متابولیت‌های خونی نمی‌توان بینش روشنی از تغییرات رفتار انتخاب‌گری دام ارائه کرد.

جدول ۴: همبستگی متابولیت‌های خون با شاخص انتخاب ذرات مختلف خوراک در ساعات‌های مختلف بعد از خوراک‌دهی وعده صبح در گاو شیری.

Table 4. Correlation of blood metabolites and sorting index of feed particle during varying hours after morning feeding of dairy cows.

ساعات‌های مختلف بعد از تغذیه وعده صبح (hours after morning feeding)						آیتم (Item)
0-24		6-24		0-6		
ذرات مختلف خوراک (Feed particle size)						
8-19mm	>19 mm	8-19mm	>19 mm	8-19mm	>19 mm	
				-0.38* ²		گلوکز (T ₀) Glucose (T ₀)
	-0.37 [^]		-0.54			نیترژن اوره‌ای خون (T ₀) Blood urea nitrogen (T ₀)
	-0.44					آلکالین فسفاتاز (T ₄) alkaline phosphatase (T ₄)
	0.36 [^]			0.49**		کلسیم (T ₄) Calcium (T ₄)
0.41*			-0.33 [^]	0.52**		فسفر (T ₀) Phosphorus (T ₀)
			-0.49**			منیزیم (T ₀) Magnesium (T ₀)
				-0.52**		مالون دی‌آلدهید (T ₀) Malondialdehyde (T ₀)
				0.38*		پتاسیم (T ₄) Potassium (T ₄)
-0.33 [^]			-0.45*			سدیم (T ₀) Sodium (T ₀)
			-0.43*	0.38 [^]		سرم آمیلوئید A (T ₄) Serum amyloid A (T ₄)

۱- T₀ و T₄ به ترتیب زمان نمونه‌گیری صفر و ۴ ساعت نسبت به وعده خوراک ریزی صبح می‌باشند.

۲- رابطه‌های با سطح معنی‌داری $P \leq 0.001$ به عنوان بسیار به شدت معنی‌دار (***)، رابطه‌های با سطح معنی‌داری $0.01 \leq P < 0.001$ به عنوان بسیار معنی‌دار (**)، رابطه‌های با سطح معنی‌داری $0.05 \leq P < 0.01$ به عنوان معنی‌دار (*) و رابطه‌های با سطح معنی‌داری $0.10 \leq P < 0.05$ به عنوان تمایل به معنی‌داری ([^]) در نظر گرفته شد.

ارتباط متابولیت‌های خونی با فعالیت جویدن: ضرایب همبستگی آن دسته از متابولیت‌های خونی که با فعالیت جویدن ارتباط معنی‌داری داشتند در جدول ۵ به نمایش درآمده‌اند. برخلاف رفتار انتخاب، شاخص‌های مربوط به فعالیت جویدن تحت الگوی مشخصی با متابولیت‌های خونی مرتبط می‌شدند. سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز در سرم خون ۴ ساعت بعد از تغذیه صبح دارای ارتباط مثبت و به نسبت قوی با اکثر شاخص‌های فعالیت جویدن بود. همچنین سطح آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز در سرم خون در قبل از تغذیه وعده صبح نیز ارتباط مشابه و با شدت کمتری با شاخص‌های مربوط به رفتار جویدن داشت. آلکالین فسفاتاز نیز مانند آسپاراتات آمینو ترانسفراز از آنزیم‌های کبدی است که افزایش آن در پلاسما نشان دهنده آسیب‌های کبدی می‌باشد (۲). اما در مرور منابع مکانیسمی برای ارتباط این آنزیم و فعالیت جویدن شناسایی نشد. ممکن است افزایش فعالیت جویدن گاوهای دارای سطح بالاتر این آنزیم‌ها بعنوان مکانیسم سازش‌پذیری جهت کنترل آسیب‌های کبدی در اثر اسیدوز افتاده باشد. گزارش شده است که فعالیت جویدن در دام‌های حساس به اسیدوز از دام‌های مقاوم بیشتر است (۸).

جدول ۵: همبستگی متابولیت‌های خون با فعالیت جویدن در گاو شیری

Table 5. Correlation of blood metabolites and chewing activity in dairy cows

آیتم (Item)	فعالیت روزانه			فعالیت روزانه به ازای ماده خشک مصرفی		
	خوردن	نشخوار	جویدن	خوردن	نشخوار	جویدن
	Eating	Rumination	Chewing	Eating	Rumination	Chewing
کراتینین (T _۴) Creatinine (T ₄)			0.42*			0.50** ²
آسپاراتات آمینو ترانسفراز (T _۰) Aspartate amino transferase (T ₀)			0.39*	0.38		0.53**
آلکالین فسفاتاز (T _۴) alkaline phosphatase (T ₄)			0.57***	0.44*	0.53**	0.54***
کلسیم (T _۴) Calcium (T ₄)						0.39*
منیزیم (T _۰) Magnesium (T ₀)						0.42*
گلوبولین (T _۴) Globulin (T ₄)						0.42*
(T _۰) HDL						0.40*
آنتی‌اکسیدانت (T _۰) anti-oxidant (T ₀)						0.53***

			بتا هیدروکسی بوتیرات (T _β)
	-0.58**	-0.59***	-0.47**
			β- hydroxy butyrate (T ₄)
	0.45*		پتاسیم (T _p) Potassium (T ₄)

- ۱- T_β و T₄ به ترتیب زمان نمونه‌گیری صفر و ۴ ساعت نسبت به وعده خوراک ریزی صبح می‌باشند.
- ۲- رابطه‌های با سطح معنی‌داری P ≤ ۰/۰۰۱ به عنوان بسیار به شدت معنی‌دار (***)، رابطه‌های با سطح معنی‌داری ۰/۰۰۱ < P ≤ ۰/۰۱ به عنوان بسیار معنی‌دار (**)، رابطه‌های با سطح معنی‌داری ۰/۰۱ < P ≤ ۰/۰۵ به عنوان معنی‌دار (*) و رابطه‌های با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ < P ≤ ۰/۱۰ به عنوان تمایل به معنی‌داری (^) در نظر گرفته شد.

سایر متابولیت‌ها مانند ظرفیت آنتی‌اکسیدانت خون و بتا-هیدروکسی بوتیرات نیز ارتباط قابل توجهی با شاخص‌های مختلف فعالیت جویدن داشتند اما گستردگی روابط به اندازه آنزیم‌های ذکر شده (آلکالین فسفاتاز و اسپاراتات آمینو ترانسفراز) نبود.

ارتباط متابولیت‌های خونی با تولید و ترکیب شیر: ضرایب همبستگی آن دسته از متابولیت‌های خونی که با تولید و ترکیبات شیر و کارایی خوراک ارتباط معنی‌داری داشتند در جدول ۶ به نمایش درآمده است. سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز در خون قبل از تغذیه صبح با متغیرهای مختلف مثل درصد چربی، نسبت چربی به پروتئین و کارایی تولید شیر خام (تولید شیر خام به ازای ماده خشک مصرفی) ارتباط بسیار معنی‌داری را داشت. ارتباط با دو متغیر اول مربوط به چربی منفی و با تولید شیر مثبت بود. آنزیم اسپاراتات آمینو ترانسفراز نیز ارتباط قابل قبولی با درصد چربی شیر و نسبت چربی به پروتئین داشت اما این ارتباط به قدرت ارتباط آلکالین فسفاتاز نبود. عنوان شده است که آنزیم آلکالین فسفاتاز می‌تواند به عنوان نشانگر استرس حرارتی قلمداد شود و در این زمان افزایش می‌یابد (۲۱). با توجه به اینکه این مطالعه در اواخر بهار و طول تابستان صورت گرفت درگیری گاوها با استرس حرارتی می‌تواند قابل تصور باشد و لذا در این شرایط این آنزیم می‌تواند میزان افت چربی شیر گاوها را پیش‌بینی کند.

نکته قابل توجه این مطالعه آن بود که دو آنزیم کبدی آلکالین فسفاتاز در سرم خون ۴ ساعت بعد از تغذیه صبح و اسپاراتات آمینو ترانسفراز در سرم خون قبل از تغذیه وعده صبح به صورت همزمان همبستگی با متابولیت‌های شکمبه‌ای، شاخص‌های مربوط به فعالیت نشخوار، چربی شیر و تا حدی مصرف خوراک و رفتار انتخاب داشتند. بر این اساس می‌توان این فرضیه را مطرح کرد که افت pH و

تغییر متابولیت‌های شکمبه در زمان اسیدوز می‌تواند با تأثیر بر عملکرد کبدی سبب آثار ثانویه اسیدوز بر رفتارهای تغذیه‌ای و عملکرد تولید شیر شود.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانت خون نیز ارتباط قابل توجهی با درصد پروتئین شیر، تولید شیر و کارایی آن داشت. این ارتباط برای درصد پروتئین منفی و برای دو متغیر دیگر مثبت بود. از طرف دیگر سطح کلسترول در سرم خون ۴ ساعت بعد از تغذیه وعده صبح ارتباط قابل توجهی با تولید شیرخام ($r=0/64$) و شیر تصحیح شده برای انرژی ($r=0/77$) داشتند. همان‌طور که در قبل توضیح داد شد سطح کلسترول با توجه به ارتباطی که با مصرف خوراک داشت، نشان دهنده قابلیت تولید دام است و احتمالاً با خصوصیات ژنتیکی قابلیت تولید بالا ارتباط داشته باشد.

جدول ۶- همبستگی متابولیت‌های خون با تولید و ترکیب شیر و کارایی خوراک در گاو شیری

Table 6. Correlation of blood metabolites and milk production and composition, and feed efficiency of dairy cows

کارایی ECM Efficiency	کارایی شیرخام Milk production efficiency	ECM	تولید شیر Milk Producti on	چربی به پروتئین Fat protein	پروتئین Protein	چربی Fat	آیتم (Item)
0.52** ²							گلوکز (T ₀) Glucose (T ₀)
		0.77***	0.64***				کلسترول (T ₄) Cholesterol (T ₄)
				-0.54***		-0.44*	آسپاراتات آمینو ترانسفراز (T ₀) Aspartate amino transferase (T ₀)
	0.43*			-0.61***		0.60***	آلکالین فسفاتاز (T ₄) alkaline phosphatase (T ₄)
					-0.46*		کلسیم (T ₄) Calcium (T ₄)
						-0.44*	منیزیم (T ₀) Magnesium (T ₀)
0.55***	0.44*		0.77***	0.68***			آلبومین (T ₀) Albumin (T ₀)
							(T ₀) HDL
	0.44*		0.57***		-0.55***		آنتی‌اکسیدانت (T ₀) anti-oxidant (T ₀)
		0.53**					بتا هیدروکسی بوتیرات (T ₄) β- hydroxy butyrate (T ₄)

0.39*	0.46*	مالون دی آلدئید (T ₊) Malondialdehyde (T ₄)
-------	-------	---

۱- T₊ و T₄ به ترتیب زمان نمونه‌گیری صفر و ۴ ساعت نسبت به وعده خوراک ریزی صبح می‌باشند.

۲- رابطه‌های با سطح معنی‌داری $P \leq 0.001$ به عنوان بسیار به شدت معنی‌دار (***)، رابطه‌های با سطح معنی‌داری

$0.001 < P \leq 0.01$ به عنوان بسیار معنی‌دار (**)، رابطه‌های با سطح معنی‌داری $0.05 < P \leq 0.1$ به عنوان معنی‌دار (*) و رابطه‌های با

سطح معنی‌داری $0.10 < P \leq 0.05$ به عنوان تمایل به معنی‌داری (^) در نظر گرفته شد.

در کل می‌توان عنوان کرد که بررسی همبستگی متابولیت‌های خونی با pH و غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه، مصرف خوراک، رفتارهای تغذیه‌ای و میزان تولید شیر در جیره‌های با درجات مختلف از القای تغذیه‌ای اسیدوز می‌تواند کمک ارزنده‌ای در پیش‌بینی آسان‌تر وقوع اسیدوز و ردیابی مسیرهای تأثیر گذاری آن بر سلامت و عملکرد دام را مشخص کند. همچنین با توجه به اینکه سنجش این متابولیت‌ها در دو زمان از روز صورت گرفته است زمان مناسب نمونه‌گیری نیز تا حدی می‌تواند مشخص شود. اما با توجه به محدود بودن مطالعات انجام شده در این رابطه، تفسیر نتایج به نسبت مشکل خواهد بود.

نتیجه‌گیری کلی

این تحقیق نشان داد که سطح سرمی آمیلوئید A خون در ۴ ساعت بعد از تغذیه وعده صبح ارتباط معنی‌داری با pH شکمبه و غلظت کل اسیدهای چرب فرار شکمبه داشت. همچنین سطح آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز سرمی در قبل از وعده غذایی صبح ارتباط معنی‌داری با نسبت اسیدهای چرب فرار شکمبه داشت. این آنزیم همچنین همراه با آنزیم آلکالین فسفاتاز در خون در ۴ ساعت بعد از تغذیه ارتباط معنی‌داری با اکثر شاخص‌های فعالیت جویدن و شاخص‌های مربوط به تولید چربی در شیر داشتند. اما سطح کلسترول سرمی در ۴ ساعت بعد از تغذیه ارتباط معنی‌داری با اکثر شاخص‌های مربوط به مصرف خوراک و تولید شیر و درصد پروتئین شیر داشت. در کل می‌توان نتیجه‌گیری کرد که متابولیت‌های خونی ارتباط قابل توجهی با شاخص‌ها مربوط به بروز اسیدوز شکمبه‌ای داشتند و سطح آنزیم‌های کبدی آلکالین فسفاتاز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز می‌تواند در پیش‌بینی بروز اسیدوز و رخدادهای متعاقب کمک کننده باشد.

منابع

1. Allen, M.S., Bradford, B.J., and Oba, M. 2009. Board-Invited Review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *J. Anim. Sci.* 87: 3317-3334.
2. Bobe, G., Young, J.W., and Beitz, D.C. 2004. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 3105-3124.
3. Bradford, B.J., Yuan, K., Farney, J.K., Mamedova, L.K., and Carpenter, A.J. 2015. Invited review: Inflammation during the transition to lactation: new adventures with an old flame. *J. Dairy Sci.* 98: 6631-6650.
4. Cavestany, D., Blanc, J.E., Kulcsar, M., Uriarte, G., Chilibroste, P., Meikle, A., Febel, H., Ferraris, A., and Krall, E. 2005. Studies of the transition cow under a pasture-based milk production system. *J. Vet. Med.* 52: 1-7.
5. Colenbrander, V.F., Noller, C.H., and Grant, R.J. 1991. Effect of fiber content and particle size of alfalfa silage on performance and chewing behavior. *J. Dairy Sci.* 74: 2681-2690.
6. Drackley, J.K. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?. *J. Dairy Sci.* 82: 2259-2273.
7. Fox, D.G., Tylutki, T.P., Czymmek, K.J., Rasmussen, C.N., and Durbal V.M. 2000. Development and application of the Cornell University nutrient management planning system. Pages 167-179 in *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf.*, Rochester, NY. Cornell Univ., Ithaca, NY.
8. Gao, X., and Oba, M. 2014. Relationship of severity of subacute ruminal acidosis to rumen fermentation, chewing activities, sorting behavior, and milk production in lactating dairy cows fed a high-grain diet. *J. Dairy Sci.* 97: 3006-3016.
9. Gao, X., and Oba, M. 2015. Short communication: Noninvasive indicators to identify lactating dairy cows with a greater risk of subacute rumen acidosis. *J. Dairy Sci.* 98: 5735-5739.
10. Iranian Council of Animal Care. 1995. *Guide to the Care and Use of Experimental Animals*. Vol. 1. Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
11. Khafipour, E., Krause, D.O., and Plaizier, J.C. 2009. A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation. *J. Dairy Sci.* 92: 1060-1070.
12. Lammers, B.P., Buckmaster, D.R., and Heinrichs, A.J. 1996. A simple method for the analysis of particle sizes of forages and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 79: 922-928.
13. Li, F., Cao, Y., Liu, N., Yang, X., Yao, J., and Yan, D. 2014. Subacute ruminal acidosis challenge changed in situ degradability of feedstuffs in dairy goats. *J. Dairy Sci.* 97: 5101-5109.

14. Nasrollahi S.M., Zali, A., Ghorbani, G.R., and Moradi Shahrababak, M. 2017. The daily patterns of the change in chewing behavior, feed intake, rumen pH and milk composition in high producing Holstein dairy cows. *J. Rumin. Res.* 4: 171-191 (In Persian).
15. Nasrollahi, S.M., Zali, A., Ghorbani, G.R., Moradi Shahrababak, M., and Krueger, L.A. 2016. Variability in susceptibility to acidosis among high producing mid-lactation dairy cows is associated with rumen pH, fermentation, feed intake, sorting and chewing activities, and milk fat percentage. *J. Anim. Feed Sci. Tech.* 228: 72-82.
16. Nordlund, K. 2003. Herd-based diagnosis of subacute ruminal acidosis. In: *Proceedings of the 36th Annual Conference of American Association of Bovine Practitioners*, Columbus, OH, pp. 1–6.
17. Nordlund, K.V., and Garrett, E.F. 1994. Rumenocentesis: A technique for the diagnosis of subacute rumen acidosis in dairy herds. *J. Bovine Pract.* 28: 109–112.
18. Ottenstein, D.M., and Bartley, D.A. 1971. Improved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. *J. Anal. Chem.* 43:952-955.
19. Plaizier, J.C., Khafipour, E., Li, S., Gozho, G.N., and Krause, D.O. 2012. Subacute ruminal acidosis (SARA), endotoxins and health consequences. *J. Anim. Feed Sci. Tech.* 172: 9-21.
20. Plaizier, J.C., Krause, D.O., Gozho, G.N., and McBride, B.W. 2008. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *J. Vet.* 176: 21–31.
21. Ronchi, B., Bernabucci, U., Lacetera, N., Verini Supplizi, A., and Nardone, A. 1999. Distinct and common effects of heat stress and restricted feeding on metabolic status of Holstein heifers. *J. Zoot. Nutr. Anim.* 25: 11–20.
22. SAS Institute. 2002. *User's Guide: Statistics. Version 9.1.* SAS Inst., Inc., Cary, NC.
23. Stern, P.C. 2000. New environmental theories: toward a coherent theory of environmentally significant behavior. *J. Soc. Issues* 56: 407-424.
24. Tajik, J., Nadalian, M.G., Raoofi, A., Mohammadi, G.R., and Bahonar, A.R. 2009. Prevalence of subacute ruminal acidosis in some dairy herds of Khorasan Razavi province, northeast of Iran. *Iran. J. Vet. Res.* 10: 28-32.
25. Tajik, J., Nazifi, S., Naghib, S.M., and Ghasrodashti, A.R. 2012. Comparison of electrocardiographic parameters and serum electrolytes and microelements between single infection of rotavirus and coronavirus and concurrent infection of *Cryptosporidium parvum* with rotavirus and coronavirus in diarrheic dairy calves. *J. Comp. Clin. Pathol.* 21: 241-244.
26. Zebeli, Q., and Ametaj B.N. 2009. Relationships between rumen lipopolysaccharide and mediators of inflammatory response with milk fat production and efficiency in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92: 3800-3809.



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Ruminant Research, Vol. 5(1), 2017
<http://ejrr.gau.ac.ir>

Relationships between blood metabolites and acidosis induced by feeding pelleted barley and wheat grains in dairy cows

S.M. Nasrollahi¹, *A. Zali² and G.R. Ghorbani²

¹Ph.D. Graduated and ²Associate Prof., Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Tehran University, Karaj, ²Professor, Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan

Received: 01/18/2017; Accepted: 05/24/2017

Abstract

Background and objectives: It has been demonstrated that in acidosis condition due to transferring some metabolites from the rumen to blood, total metabolism could be changed. But relative change in blood metabolites and their relationship with behavior and performance of animal are not clear. The study investigated the relationship of the change in blood metabolites and the occurrence of acidosis to find easy to measure indicators.

Materials and methods: Nine multiparous cows (650±56 kg BW; mean±SD) averaging 102±13 days in milk and producing 54±6 kg/d were randomly assigned to a triplicate 3 × 3 Latin square. During each 21-d period, cows were offered one of three total mixed rations that varied in diet fermentability. The three levels of diet fermentability were achieved by increasing the proportion of pellets containing ground wheat and barley in the dietary DM from 11.7%, to 23.3% and 35.0% by replacing ground corn grain. Each period had 14 d of adaptation and 7 d of sampling. Rumen pH and VFA profiles, feed intake, sorting index, chewing activity, milk production and efficiency, and blood metabolites (measured before and 4 h after morning feeding) were measured. The significant correlation between the blood metabolite and aforementioned variable were considered.

Results: The result of this study showed the concentration of serum amyloid A measured 4 h after morning feeding was correlated with rumen pH ($r=-0.45$) and total VFA concentrations ($r=0.51$). Also, the concentration of aspartate amino transferase in the blood measured before morning feeding was significantly correlated with the proportion of rumen VFA. The metabolite along with alkaline

*Corresponding author; a.zali@ut.ac.ir

phosphatase that measured 4 h after morning feeding were correlated with most variables of chewing activities ($0.38 \leq r \leq 0.57$), milk fat production ($-0.61 \leq r \leq -0.44$) and feed efficiency ($r=0.43$). The concentration of cholesterol measured at 4 h post feeding was strongly correlated with most indicators of feed intake, milk production and its efficiency ($0.57 \leq r \leq 0.77$). Also, the concentration of glucose in the blood measured 4 h after morning feeding was correlated with feed intake at early time after morning feeding ($r=-0.55$). Moreover, the concentration of anti-oxidant in the blood measured before morning feeding was related to protein percentage ($r=-0.55$), milk production ($r=0.57$) and its efficiency ($r=0.44$). There were no clear relationships between blood metabolites and sorting index.

Conclusion: Overall, according to results it could be concluded that blood metabolites had a strong relationship with indicators of rumen acidosis and the concentration of alkaline phosphatase and aspartate amino transferase were a good indicators for predicting acidosis and relative consequences.

Keywords: Blood metabolites, Dairy cows, Predicting for acidosis