نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد ششم، شماره دوم، ۱۳۹۷
http://ejrr.gau.ac.ir

اثر کاهش سطح پروتئین جیره و استفاده از لیزین و متیونین محافظت شده بر عملکرد گاوهای شیرده هلشتاین در اوایل دوره شیردهی

آرمان رستمی[۱]، *عثمان عزیزی[۲] و حسین جهانی عزیزآبادی[۳]
[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد، [۲]دانشیار و [۳]استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی ، دانشگاه کردستان
تاریخ دریافت: ۹۷/۱/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/٤/۲۳

چکیده

سابقه و هدف: در مطالعات پیشین در جیره‌های کم پروتئین، عمدتاً از منابع خالص متیونین یا منابع توأم لیزین و متیونین استفاده شده و در مطالعات محدودی از منبع خالص لیزین محافظت شده جهت متعادل کردن نسبت لیزین به متیونین استفاده شده است. به نظر می‌رسد که بررسی اثر استفاده انفرادی و هم‌زمان اسیدهای آمینه محافظت‌شده لیزین و متیونین در جیره‌های کم پروتئین برای دست‌یابی به حداکثر عملکرد خصوصاً در اوایل دوره شیردهی مفید باشد. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی اثر کاهش سطح پروتئین جیره و استفاده انفرادی و هم‌زمان از اسیدهای آمینه محافظت شده لیزین و متیونین بر تولید و ترکیبات شیر و غلظت متابولیت‌های شیمیایی خون گاوهای شیرده هلشتاین در اوایل دوره شیردهی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ۸ رأس گاو شیرده هلشتاین با میانگین روزهای شیردهی ۳۷±۸۹ روز در قالب طرح تکرار در زمان در دو دوره سه هفته ای (۱۷ روز عادت دهی و ٤ روز نمونه گیری) استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) جیره پایه فرموله شده با ۱۷/۸ درصد پروتئین خام، ۲) جیره فرموله شده با ۱٦/۵ درصد پروتئین خام به‌علاوه ٦ گرم در روز لیزین محافظت‌شده، ۳) جیره فرموله شده با ۱٦/۵ درصد پروتئین خام همراه با ۱۳ گرم در روز متیونین محافظت‌شده، ٤) جیره فرموله شده با ۱٦/۵ درصد پروتئین خام همراه با ٦ گرم لیزین و ۱۳ گرم متیونین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای بودند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ماده خشک مصرفی، درصد چربی و پروتئین شیر، نسبت مولی اسیدهای چرب فرار، pH مایع شکمبه و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند (P>۰/۰۵). نتایج مقایسات مستقل در تولید شیر و بازدهی خوراک مصرفی نشان داد که کاهش سطح پروتئین جیره و افزودن لیزین و متیونین محافظت شده به صورت انفرادی و هم‌زمان موجب افزایش معنی‌داری تولید شیر و بازده خوراک مصرفی در بیشتر تیمارها نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). اما در مقایسات مستقل بین تیمار لیزین و متیونین محافظت‌شده در تولید شیر و بازدهی خوراک مصرفی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). افزودن لیزین و متیونین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای به‌صورت انفرادی و هم‌زمان موجب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر نسبت به گروه شاهد شد (به ترتیب ۱۲/۳٦، ۱۲/۷٤، ۱۳/۱۲، نسبت به ۱۵/۳۷). افزودن متیونین و لیزین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای (به‌صورت انفرادی و هم‌زمان باهم) موجب افزایش معنی‌دار غلظت آلبومین و پروتئین کل سرم نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). در گاوهای دریافت‌کننده‌ی متیونین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای غلظت نیتروژن اوره‌ای سرم نسبت به تیمار شاهد کمتر بود (P<۰/۰۵). افزودن متیونین

*نویسنده مسئول: O.azizi@uok.ac.ir

محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای (به‌صورت انفرادی و هم‌زمان با لیزین) موجب افزایش معنی‌دار غلظت گلوکز سرم گاوها در اوایل دوره شیردهی شد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که با کاهش میزان پروتئین جیره از ۱۷/۸ درصد به ١٦/٥ درصد در اوایل دوره شیردهی و استفاده از اسیدهای آمینه محافظت شده لیزین و متیونین بدون تأثیر منفی بر عملکرد، بازده استفاده از نیتروژن خوراک افزایش یافت. همچنین نتایج حاصل از این مطالعات نشان داد که استفاده توأم از لیزین و متیونین محافظت شده از تجزیه شکمبه‌ای نسبت به استفاده انفرادی از آن‌ها سبب بهبود بیشتری بر عملکرد گاوهای شیرده در اوایل دوره شیردهی شد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای آمینه محافظت شده، بازده نیتروژن، تولید شیر، گاوشیرده، گلوکز

مقدمه

نشخوارکنندگان دارای رابطه‌ای همزیستی با میکروارگانیسم‌های شکمبه هستند، در این رابطه حیوان میزبان مواد مغذی و شرایط محیطی مناسب را برای میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌کند و میکروارگانیسم‌ها، اسیدهای چرب فرار و پروتئین میکروبی در اختیار دام قرار می‌دهند (٦). پروفایل اسیدهای آمینه پروتئین میکروبی بسیار نزدیک به پروفایل اسیدهای آمینه پروتئین‌های سنتز شده در بدن گاو است و به این‌ترتیب پروتئین میکروبی منبع پروتئینی بسیار باکیفیت می‌باشد که حیوان میزبان برای تأمین احتیاجات تولید شیر و نیازهای بدن به آن دسترسی دارد (٥). از طرفی بازده استفاده از پروتئین در نشخوارکنندگان به‌دلیل تولید آمونیاک در شکمبه و دفع آن از طریق ادرار و مدفوع بسیار پایین می‌باشد (٣٢). اما پروتئین میکروبی به تنهایی نمی تواند تمام نیاز پروتئینی حیوان میزبان خصوصا در نشخوارکنندگان پرتولید را تامین کند. بنابراین استفاده از منابع پروتئین عبوری جهت تامین پروتئین مورد نیاز حیوان ضروری است. اما از نظر کیفیت، منابع پروتئین عبوری خصوصاً منابع گیاهی همانند پروتئین میکروبی نیست. مطالعات نشان داده است که در گاوهای شیرده لیزین و متیونین بسته به نوع منبع پروتئین جیره اولین و دومین اسیدآمینه محدودکننده می باشد انجمن تحقیقات ملی آمریکا (٢٠٠١). استفاده از لیزین و متیونین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای به‌صورت جداگانه و هم‌زمان و کاهش سطح پروتئین خوراک موجب کاهش تولید نیتروژن آمونیاکی و کاهش دفع نیتروژن از طریق مدفوع و ادرار می شود (٥). افزودن لیزین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای بیشترین پتانسیل را برای بهبود عملکرد شیر برای گاو پر تولید در اوایل دوره شیردهی داشته است (١١و ٣٦). افزودن شکل‌های محافظت‌شده متیونین به جیره گاوهای شیرده در اوایل دوره شیردهی باعث افزایش تولید شیر، پروتئین شیر و مقدار چربی شیر شده است (٢٧). در پژوهش‌های انجام‌شده در مورد افزودن متیونین و لیزین محافظت‌شده به جیره‌های کم پروتئین، عمدتاً از منابع خالص متیونین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای یا منابع ترکیبی حاوی لیزین و متیونین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای استفاده‌شده است و در مطالعات محدودی از منبع خالص لیزین محافظت شده جهت متعادل کردن نسبت لیزین به متیونین استفاده‌شده است (٢٠ و ٣١). به نظر می‌رسد که بررسی اثر استفاده انفرادی و هم‌زمان اسیدآمینه محافظت‌شده لیزین و متیونین در هنگام کاهش پروتئین جیره برای دست‌یابی به حداکثر عملکرد مفید باشد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر کاهش میزان پروتئین خام جیره و افزودن لیزین و متیونین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای بر مصرف خوراک، قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی، تولید و ترکیبات شیر و غلظت متابولیت‌های شیمیایی خون گاوهای شیرده هلشتاین در اوایل دوره شیردهی بود.

مواد و روش‌ها

محل انجام طرح، انتخاب دام و طراحی آزمایش: تحقیق حاضر در گاوداری تحقیقاتی دانشگاه کردستان انجام شد. در این مطالعه ۸ رأس گاو شیرده هلشتاین با میانگین وزن زنده ۵۰±۶۵۰ کیلوگرم و تولید شیر ۳/۵±۳۲ کیلوگرم و میانگین روزهای شیردهی ۳۷±۸۹ روز در شروع آزمایش در دو دوره ۲۱ روزه (۷ روز تغییر جیره، ۱۰ روز عادت دهی و ٤ روز نمونه‌گیری) برای بررسی اثرات استفاده‌ی انفرادی، یا هم‌زمان سطوح انتخاب‌شده‌ی اسیدهای آمینه محافظت‌شده لیزین و متیونین، مورداستفاده قرار گرفت. دام‌ها در طول آزمایش در جایگاه‌های انفرادی نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب و نمک داشتند. جیره‌های آزمایشی در سه نوبت در ساعات ۷، ١٤ و ۲۱ به‌صورت کاملاً مخلوط در اختیار دام‌ها قرار گرفت. همچنین دام‌ها سه نوبت در شبانه‌روز در ساعات ٦، ۱۳ و ۲۰ شیردوشی شدند. تیمارهای آزمایشی در هر وعده به‌صورت پیش مخلوط با بخشی از کنسانتره مخلوط و در سه نوبت به‌صورت مساوی به‌کل جیره اضافه و به دام‌ها ارائه گردید. جیره‌ی دام‌های مورد آزمایش بر اساس پیشنهادهای انجمن تحقیقات ملی آمریکا(۲۳) تنظیم شد (جدول ۱ و ۲). تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) جیره پایه فرموله شده با ۱۷/۸ درصد پروتئین خام؛ ۲) جیره فرموله شده با ١٦/٥ درصد پروتئین خام به‌علاوه ٦ گرم در روز لیزین محافظت‌شده؛ ۳) جیره فرموله شده با ١٦/٥ درصد پروتئین خام همراه با ۱۳ گرم در روز متیونین محافظت‌شده؛ ٤) جیره فرموله شده با ١٦/٥ درصد پروتئین خام همراه با ٦ گرم لیزین و ۱۳ گرم متیونین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای بودند. در این مطالعه از لیزین عبوری بانام تجاری «لیزی زا» حاوی ٦٥ درصد لیزین (۱۰۰ درصد عبوری و ٦٥ درصد قابلیت جذب) و متیونین محافظت‌شده بانام تجاری «زی پران» حاوی ۷۰ درصد متیونین (۹۰ درصد عبوری و ٦٣ درصد قابلیت جذب) استفاده شد، این دو محصول از شرکت پژوهش پرور زایند اصفهان تهیه شده اند. در روزهای جمع‌آوری نمونه در هر دوره، میزان تولید شیر روزانه‌ی هرکدام از گاوها در هر وعده ثبت گردید و نمونه‌ای از شیر هر وعده برای اندازه‌گیری درصد چربی، پروتئین، لاکتوز و آنالیز شیر و مواد جامد فاقد چربی برداشته و بلافاصله با دستگاه میلکواسکن ساخت کشور بلغارستان[2] آنالیز شد. همچنین در دوره نمونه برداری میزان خوراک مصرفی روزانه، پس مانده خوراک ثبت شد و نمونه‌های مدفوع هر یک از گاوها در دو روز متوالی نمونه برداری و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد. سپس نمونه‌ها با آسیاب دارای الک ۱/۵ میلی‌متری آسیاب و تا زمان انجام آنالیز تقریبی در محلی خشک و به دور از نور نگهداری شد. نمونه‌های مدفوع دو ساعت بعد از خوراک صبحگاهی از داخل رکتوم جمع‌آوری شد. قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی با استفاده از روش خاکستر نامحلول در اسید (AIA)[3] به‌عنوان مارکر داخلی اندازه‌گیری شد (۳۳). در روز ۲۱ هر دوره، برای اندازه‌گیری متابولیت‌های شیمیایی خون، چهار ساعت بعد از خوراک صبحگاهی از سیاهرگ وداج خون‌گیری شد و سپس نمونه‌ها در لوله‌های بدون ماده ضد انعقاد در هوای آزاد گذاشته شدند تا سرم آن جدا شود. بعد از جداسازی سرم، نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز ذخیره شدند. بلافاصله پس از خون‌گیری با استفاده از لوله مری و پمپ خلأ نمونه‌های مایع شکمبه نیز گرفته شد. سپس اسیدیته (pH) مایع شکمبه بلافاصله با استفاده از pH متر قرائت و ثبت گردید. همچنین از مایع شکمبه گرفته‌شده نمونه‌هایی برای تعیین غلظت اسیدهای

1. Milkana Kam 98-2a, Bulteh
2. Acid insoluble ash (AIA)

چرب فرار(۱/۵میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف‌شده به‌علاوه ۳۷۵ میکرو لیتر اورتوفسفریک ۲۵ درصد) و نیتروژن آمونیاکی (۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه به‌علاوه ۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال)، برداشته و ذخیره شد. متابولیت‌های شیمیایی خون (گلوکز، تری‌گلیسرید، نیتروژن اوره‌ای خون، آلبومین، کل پروتئین و کلسترول) و غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر با استفاده از کیت‌های اختصاصی ساخت شرکت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی موجود در خوراک اولیه، پس‌ماند خوراک و مدفوع طبق روش پیشنهادی ون سوست و همکاران (۱۹۹۱) اندازه‌گیری شد(۳۵).

جدول ۱: اجزای جیره‌های آزمایشی

Table 1. The ingredient of experimental diets

تیمار (Treatment)*				ماده خوراکی (گرم در کیلوگرم) Ingredient (g/kg)	
لیزین+متیونین lysine + methionine	لیزین lysine	متیونین methionine	شاهد control		
200	200	200	200	Alfalfa hay	یونجه خشک
200	200	200	200	Corn silage	سیلاژ ذرت
147.4	147.4	147.4	147.4	Corn grain	دانه ذرت
168.7	168.7	168.7	168.8	Barley grain	دانه جو
111.3	111.3	111.3	147.1	Soybean meal	کنجاله سویا
46.7	46.7	46.7	10.7	Wheat bran	سبوس گندم
52.5	52.5	52.5	52.6	Cottonseed meal	کنجاله تخم پنبه
18.7	18.7	18.7	18.7	Calcium salt Fat powder	پودر چربی-کلسیمی
34.7	34.7	34.7	34.7	Fish meal	پودر ماهی
15.8	15.8	15.8	15.8	Vitamin and minerals supplemented	مکمل ویتامینه و معدنی**
3.6	3.6	3.6	3.6	Salt	نمک
0.6	0.6	0.6	0.6	Toxin Binder	توکسین بایندر
				AA Supplements (g/day)	مکمل‌های اسیدآمینه‌ای (گرم در روز)
6	6	—	—	Lysine (Lezyza®)	لیزین (لیزی زا®)
13	—	13	—	Methionine (Zepron®)	متیونین (زی پران®)

* تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (جیره پایه با ۱۷/۸ درصد پروتئین بدون افزودنی)، لیزین (جیره با ۱٦/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ٦ گرم در روز لیزین)، متیونین (جیره با ١٦ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳گرم در روز متیونین) و متیونین × لیزین (جیره با ١٦/٥ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳ گرم متیونین به‌علاوه ٦ گرم لیزین). **حاوی: ۷/٦ درصد اکسید روی، ۱۹ درصد اکسید منیزیم، ۱۱/٤ درصد کلسیم کربنات، ۲۸/۲ درصد جوش‌شیرین و ۳۳/۸ درصد مکمل ویتامینی-معدنی (هر کیلوگرم شامل: ۱۹۰ گرم کلسیم، ۹۰ گرم فسفر، ۵۰ گرم سدیم، ۱۹ گرم منیزیم، ۳ گرم مس، ۳ گرم آهن، ۲ گرم منگنز، ۳ گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۱ میلی‌گرم سلنیوم، ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E و ۳ گرم آنتی‌اکسیدان).

*Treatments included: Control (basal diet with 17.8% protein without additives), Lysine (diet with 16.5% protein plus 6-gram per day of lysine), Methionine (diet with 16.5% protein plus 13-gram per day of methionine) and methionine × lysine (a diet with 16.5% protein plus 13-gram of methionine, plus 6-gram of lysine).

**This mixture contains: 7.6% zinc oxide, 19% magnesium oxide, 11.4% calcium carbonate, 28.2% Sodium bicarbonate and 33.8% vitamin and trace mineral (each kg contains: 190-gram calcium, 90-gram phosphorus, 50-gram Sodium, 19-gram magnesium, 3-gram copper, 3-gram iron, 2-gram manganese, 3-gram zinc, 100-milligram cobalt, 100-milligram iodine, 1-milligram selenium, 500,000- international units vitamin A, 100,000 international units vitamin D3, 100-milligram vitamin E, and 3-gram antioxidant.

جدول ۲: ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 2. Chemical compositions of experimental diets

ترکیب شیمیایی (گرم در کیلوگرم) Chemical composition(g/kg)		تیمار (Treatment)*			
		شاهد control	متیونین methionine	لیزین lysine	لیزین+متیونین lysine +methionine
پروتئین خام	Crude Protein	178	165	165	165
عصاره اتری	Ether extract	43	43	43	43
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	Neutral detergent fiber	265	275	275	275
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	Acid detergent fiber	187	188	188	188
خاکستر	Ash	91	91	91	91
کربوهیدرات‌های غیر الیافی** Non-fibrous carbohydrates		477	474	474	474
انرژی خاص شیردهی (مگا کالری / کیلوگرم) NEL (Mcal/kg)		1.65	1.64	1.64	1.64

*تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (جیره پایه با ۱۷/۸ درصد پروتئین بدون افزودنی)، لیزین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۶ گرم در روز لیزین)، متیونین (جیره با ۱۶ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳گرم در روز متیونین) و متیونین × لیزین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳ گرم متیونین به‌علاوه ۶ گرم لیزین).

**کربوهیدرات‌های غیر الیافی = ۱۰۰- (درصد پروتئین خام+ درصد چربی خام+ درصد خاکستر+ درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی).

*Treatments included: Control (basal diet with 17.8% protein without additives), Lysine (diet with 16.5% protein plus 6-gram per day of lysine), Methionine (diet with 16.5% protein plus 13-gram per day of methionine) and methionine × lysine (a diet with 16.5% protein plus 13-gram of methionine, plus 6-gram of lysine).

** Non-fibrous carbohydrates = 100- (crude protein% + crude fat% + ash% +Neutral detergent fiber %).

آنالیز آماری

داده‌های به‌دست‌آمده از این آزمایش در قالب طرح تکرار در زمان[1] توسط نرم‌افزار آماری SAS (نسخه۹/٤) و رویه‌ی MIXED (۳۰) تجزیه آماری شد. مدل آماری مورداستفاده در این آزمایش شامل:

$$y_{ijkl} = \mu + T_i + C_j + P_k + (T*K)_{ik} + e_{ijkl}$$

در این رابطه Yijkl هریک از مشاهدات، μ میانگین جامعه، T_i اثر تیمار آزمایشی، C_j واریانس بین حیوان در داخل هر تیمار، P_k اثر k امین دوره، $(T*K)_{ik}$ اثر متقابل بین i امین تیمار و k امین دوره

e_{ijkl} واریانس بین اندازه گیری‌ها درون حیوانات بود.

از مقایسات مستقل برای مقایسه میانگین اثرات هرکدام از تیمارهای آزمایشی بر تولید شیر و بازدهی خوراک مصرفی به صورت دوبه‌دو استفاده گردید.

1- Repeated Measurement

نتایج و بحث

ماده خشک و مواد مغذی مصرفی و تخمیر شکمبه-ای: اثرات کاهش پروتئین جیره و افزودن اسیدآمینه محافظت‌شده لیزین (٦ گرم در روز) و متیونین (۱۳ گرم در روز) به‌صورت انفرادی و هم‌زمان (٦ گرم لیزین و ۱۳ گرم متیونین) بر مصرف خوراک و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در جدول ۳ نشان داده‌شده است. تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر مصرف ماده‌ی خشک، ماده‌ی آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی نداشتند (P>۰/۰۵). با کاهش پروتئین خام جیره و افزودن اسیدهای آمینه محافظت‌شده متیونین و لیزین به‌صورت انفرادی و هم‌زمان نسبت به گروه شاهد مصرف پروتئین خام به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم ظاهری ماده‌ی خشک، پروتئین خام،

الیاف نامحلول در شوینده‌ی خنثی و الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی نداشتند (P>٠/٠٥). برودریک و همکاران (٢٠٠٩) نشان دادند که افزودن متیونین محافظت‌شده به جیره‌های با سطوح مختلف پروتئین قابل‌تجزیه در شکمبه موجب افزایش ماده خشک مصرفی شد(٤). بنفیلد و همکاران (٢٠٠٦) گزارش کردند که اثر مثبت افزودن متیونین محافظت‌شده بر ماده خشک مصرفی و پارامترهای تولیدی به طول مدت آزمایش بستگی دارد و با افزایش طول دوره این اثر کاهش می‌یابد(١). بلوم و همکاران (١٩٩٩)، برتیموم و همکاران (٢٠٠٦) و لئوناردی و همکاران (٢٠٠٣) گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری در میزان ماده خشک مصرفی در گاوهای که با و یا بدون لیزین و متیونین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای در جیره تغذیه‌شده بودند مشاهده نشد (٢، ٣ و ٢٠) که با یافته‌های این مطالعه مطابقت داشت. افزودن لیزین و متیونین محافظت‌شده اثر معنی‌داری (P>٠/٠٥) بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار، نسبت مولی استات، پروپیونات، بوتیرات، والرات، ایزووالرات و نسبت استات به پروپیونات نداشت (جدول ٤). غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در گاوهای دریافت‌کننده‌ی لیزین محافظت‌شده نسبت به سایر تیمارها به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت (P<٠/٠٥). عدم تأثیر کاهش پروتئین جیره بر نسبت مولی استات، پروپیونات و دیگر اسیدهای چرب فرار با مشاهدات داوید سون و همکاران (٢٠٠٣) و برودریک و همکاران (٢٠٠٨) که سطوح پروتئینی مشابهی با سطوح پروتئین مورداستفاده در مطالعه حاضر را موردبررسی قرار داده بودند مطابقت داشت (٤ و ٩).

تولید و ترکیب شیر: با کاهش سطح پروتئین جیره از ١٧/٨ درصد به ١٦/٥ درصد و افزودن متیونین (١٣ گرم در روز)، لیزین (٦ گرم در روز) و لیزین به‌علاوه متیونین (٦ گرم + ١٣ گرم در روز) محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای به جیره‌ی گاوهای شیرده تولید شیر روند افزایشی داشت، به‌طوری‌که نتایج مقایسات مستقل تولید شیر نشان داد که تیمارهای متیونین و لیزین محافظت‌شده نسبت به تیمار شاهد و تیمار لیزین محافظت‌شده نسبت به لیزین به‌علاوه متیونین محافظت‌شده به‌طور معنی‌داری سبب افزایش تولید شیر شد (P<٠/٠٥). درحالی‌که اثر تیمار لیزین محافظت‌شده نسبت به تیمار شاهد و متیونین و همچنین تیمار متیونین نسبت به لیزین به‌علاوه متیونین بر تولید شیر معنی‌دار نبود (P>٠/٠٥) (جدول ٥). با کاهش سطح پروتئین جیره و افزودن متیونین و لیزین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای (به‌صورت انفرادی و هم‌زمان باهم) به جیره‌ی گاوهای شیرده، میزان شیرتصحیح شده بر اساس ٤ درصد چربی (FCM) و شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی (ECM) و همچنین بازده تولید شیر به ماده خشک مصرفی روند افزایشی داشت (P>٠/٠٥).

نتایج مقایسات مستقل نشان داد که افزودن لیزین ، متیونین و لیزین به علاوه متیونین محافظت شده نسبت به گروه شاهد بازدهی شیر تصحیح‌شده بر اساس ٤ درصد چربی به ماده‌ی خشک مصرفی و شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی به ماده‌ی خشک مصرفی را افزایش داد (P<٠/٠٥)، درحالی که تیمار لیزین محافظت‌شده نسبت به تیمار شاهد و متیونین محافظت‌شده اثر معنی‌داری بر تولید شیر و شیرتصحیح شده بر اساس ٤ درصد چربی، شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی و بازدهی خوراک مصرفی (تولید شیر به ماده خشک مصرفی) نداشت (P>٠/٠٥). تیمار لیزین و متیونین محافظت‌شده نسبت به لیزین به‌علاوه متیونین محافظت‌شده به‌طور معنی‌داری میزان شیرتصحیح شده بر اساس ٤ درصد چربی، شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی و بازدهی خوراک مصرفی افزایش یافته بود (P<٠/٠٥) درحالی که تولید شیر در تیمار لیزین با لیزین به‌علاوه متیونین به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافته بود (P<٠/٠٥).

جدول ۳: اثرات کاهش سطح پروتئین جیره و افزودن لیزین و متیونین محافظت‌شده بر مصرف خوراک و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در گاوهای شیرده هلشتاین

Table 3. Effects of decrease dietary crude protein and adding protected lysine and methionine on the feed intake and apparent digestibility nutrients in Holstein lactating cow

سطح معنی‌داری (P-Value)				تیمار* (Treatment)*					
تیمار×دوره Treat × Period	دوره Period	تیمار Treat	SEM	لیزین × متیونین Lysine×Methionine	متیونین Methionine	لیزین Lysine	شاهد Control	Parameter	فراسنجه
								Nutrient intake (kg / day)	ماده مغذی مصرفی (کیلوگرم\ روز)
0.89	0.82	0.19	0.255	21.04	21.91	20.68	22.37	Dry matter	ماده خشک
0.89	0.94	0.25	0.227	19.14	19.98	19	20.31	Organic matter	ماده آلی
0.87	0.50	0.03	0.053	3.50^{b}	3.64^{b}	3.46^{b}	3.99^{a}	Crude Protein	پروتئین خام
0.86	0.82	0.42	0.074	5.76	6.07	5.76	6.05	Neutral detergent fiber	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
0.88	0.58	0.28	0.056	3.89	4.10	3.87	4.18	Acid detergent fiber	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی
								Apparent digestibility(g/kg)	قابلیت هضم ظاهری (گرم\کیلوگرم)
0.07	0.07	0.89	15.32	474.6	416.3	437.8	430.4	Dry matter	ماده خشک
0.08	0.08	0.90	14.34	509.8	463.1	429.7	463.2	Organic matter	ماده آلی
0.12	0.35	0.90	17.26	501.6	458.2	475.2	518.2	Crude Protein	پروتئین خام
0.06	0.06	0.77	18.18	388	304.4	378.4	374.1	Neutral detergent fiber	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
0.21	0.10	0.84	17.09	374.4	324.3	376.9	327.6	Acid detergent fiber	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی

*تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (جیره پایه با ۱۷/۸ درصد پروتئین بدون افزودنی)، لیزین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۶ گرم در روز لیزین)، متیونین (جیره با ۱۶ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳گرم در روز متیونین) و متیونین × لیزین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳ گرم متیونین به‌علاوه ۶ گرم لیزین). ^{ab}میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار نیستند (P>۰/۰۵). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

*Treatments included: Control (basal diet with 17.8% protein without additives), Lysine (diet with 16.5% protein plus 6-gram per day of lysine), Methionine (diet with 16.5% protein plus 13-gram per day of methionine) and methionine × lysine (a diet with 16.5% protein plus 13-gram of methionine, plus 6-gram of lysine).^{ab} The meanings with the same letters in each row are not significant (P <0.05). SEM: standard error of means

جدول ٤: اثرات کاهش سطح پروتئین جیره و افزودن لیزین و متیونین محافظت شده بر غلظت اسیدهای چرب فرار و اسیدیته شکمبه‌ای در گاوهای شیرده هلشتاین

Table 4. Effects of decrease dietary crude protein and adding protected lysine and methionine on the concentration of volatile fatty acids and ruminal pH in Holstein lactating cows

سطح معنی‌داری (P-Value)			SEM	تیمار (Treatment)*				Parameter	فراسنجه
تیمار×دوره Treat × Period	دوره Period	تیمار Treat		لیزین × متیونین Lysine×Methionine	متیونین Methionine	لیزین Lysine	شاهد Control		
0.92	0.73	0.05	0.262	14.45^{ab}	13.16^{ab}	14.60^{b}	15.68^{a}	Ammonia Nitrogen (mg/dl)	نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم\دسی لیتر)
0.52	0.61	0.60	0.026	6.56	6.61	6.44	6.94	pH	اسیدیته
0.07	0.07	0.75	2.279	102.66	104.24	97.26	99.98	Total VFA(mmol / Lit)	کل اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول\ لیتر)
								Molar proportion of VFA (mol/100mol)	نسبت مولی اسیدهای چرب فرار (مول \ ۱۰۰ مول)
0.38	0.81	0.37	0.386	55.68	54.86	52.76	53.49	Acetate	استات
0.66	0.72	0.39	0.422	20.42	22.30	22.25	23.33	Propionate	پروپیونات
0.98	0.66	0.26	0.342	20.25	19.06	21.60	19.07	Butyrate	بوتیرات
0.62	0.12	0.19	0.051	1.40	1.57	1.66	1.48	Valerat	والرات
0.78	0.03	0.27	0.129	1.95	2.20	1.72	2.60	Iso valerat	ایزووالرات
0.63	0.68	0.44	0.059	2.69	2.50	2.38	2.31	Acetate: propionate	استات:پروپیونات

*تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (جیره پایه با ۱۷/۸ درصد پروتئین بدون افزودنی)، لیزین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۶ گرم در روز لیزین)، متیونین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳گرم در روز متیونین) و متیونین × لیزین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳ گرم متیونین به‌علاوه ۶ گرم لیزین). ^{ab}میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار نیستند (P>۰/۰۵). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

*Treatments included: Control (basal diet with 17.8% protein without additives), Lysine (diet with 16.5% protein plus 6-gram per day of lysine), Methionine (diet with 16.5% protein plus 13-gram per day of methionine) and methionine × lysine (a diet with 16.5% protein plus 13-gram of methionine, plus 6-gram of lysine).^{ab} The meanings with the same letters in each row are not significant (P <0.05). SEM: standard error of means

درصد و مقدار چربی، پروتئین، لاکتوز و مواد جامد بدون چربی (جدول ٦) ازنظر آماری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند (P>۰/۰۵). غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر با کاهش سطح پروتئین جیره به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). اما اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای حاوی اسیدهای آمینه محافظت‌شده لیزین و متیونین به‌صورت انفرادی و هم‌زمان در خصوص غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه مشاهده نشد (جدول ٤) که با نتایج چانگ و همکاران (۲۰۰٦) مطابقت داشت (۸). غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر با کاهش سطح پروتئین جیره و افزودن اسیدهای آمینه محافظت‌شده به صورت انفرادی و هم زمان نسبت به تیمار شاهد به‌صورت معنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش یافت (جدول ۵). هوف و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که نیتروژن اوره‌ای شیر شاخص خوبی از وضعیت تغذیه‌ای پروتئین در گاوهای شیرده محسوب می‌شود. رابطه بین نیتروژن اوره‌ای شیر و درصد پروتئین قابل تجزیه در شکمبه رابطه‌ای مستقیم است (۱۷). لئوناردی و همکاران (۲۰۰۳) کاهش غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر را با کاهش درصد پروتئین مشاهده کردند(۲۰). داویدسون و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که کاهش۱/۷ درصدی پروتئین خام از ۱۸/٤ تا ۱٦/۷ درصد منجر به کاهش غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر شد (۹). کاهش غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر و خون (فقط در تیمار متیونین) در این مطالعه به‌واسطه کاهش دریافت پروتئین قابل‌تجزیه در شکمبه می‌باشد.

متابولیت‌های شیمیایی خون: نتایج مربوط به اثرات کاهش سطح پروتئین جیره و افزودن لیزین و متیونین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای بر برخی متابولیت‌های شیمیایی خون در جدول ۷ آورده شده است. غلظت تری گلیسرید و کلسترول تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). کاهش سطح پروتئین جیره و افزودن لیزین و لیزین به‌علاوه متیونین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای موجب افزایش معنی‌دار غلظت آلبومین و پروتئین کل سرم نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). همچنین کاهش سطح پروتئین جیره و افزودن متیونین محافظت‌شده از تجزیه شکمبه‌ای (به‌صورت انفرادی و هم‌زمان با لیزین محافظت شده) موجب افزایش معنی‌دار غلظت گلوکز سرم نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). عضله، کبد و کلیه مکان اصلی کاتابولیسم آلبومین هستند(۲۸). پروتئین کل و آلبومین شاخص‌های از افزایش جذب پروتئین از سطح روده بوده و به عبارتی افزایش پروتئین قابل متابولیسم می باشد. آلبومین و پروتئین کل در مطالعه ونگ و همکاران (۲۰۱۰) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند که برخلاف یافته‌های مطالعه حاضر است. آلبومین پروتئین ناقل غیراختصاصی و عمومی هورمون‌های استروئیدی هستند (۱۲ و ۲٦). در گاوهای شیرده پر تولیدی که جیره آن‌ها ازنظر انرژی و پروتئین دریافتی ناکافی است کاهش آلبومین رخ می‌دهد که در پروتئین کل خون سبب کاهش باوری تا حد سه برابر (۱٤) و افزایش تعداد دفعات تلقیح به ازای آبستنی می‌گردد (۷ و ۲۵). آلبومین در حیوانات، بین ۳۵ و۵۰ درصد کل پروتئین سرم آن را تشکیل می‌دهد و نقش مهمی در حفظ و هوموستازیس، حمل مواد دارد و به‌عنوان یک دارنده رادیکال آزاد عمل می‌کند (۱٦). آلبومین مسئول حدود ۷۵ درصد فشار اسمزی پلاسما است و یک منبع اصلی اسیدآمینه‌ای است که می‌تواند در صورت نیاز توسط حیوان مورداستفاده قرار گیرد (۲۱). آلبومین به‌عنوان شاخصی برای پیش‌بینی خطر بیماری در گاوهای که در دوره نزدیک زایش و یا تازه‌زا هستند استفاده می‌شود. گاوهای تازه‌زایی که غلظت آلبومین سرم را بالاتر از ۳/۵ گرم در دسی لیتر حفظ کنند، احتمال کمتری دارد که به بیماری‌های بعد از زایش دچار شوند.

جدول ۵: اثرات کاهش سطح پروتئین جیره و افزودن لیزین و متیونین محافظت شده بر ترکیبات شیر در گاوهای شیرده هلشتاین

Table 5. Effects of decrease dietary crude protein and adding protected lysine and methionine on milk composition in Holstein lactating cows

سطح معنی‌داری (P-Value)				تیمار* (Treatment)*				فراسنجه	
تیمار×دوره Treat × Period	دوره Period	تیمار Treat	SEM	لیزین × متیونین Lysine×Methionine	متیونین Methionine	لیزین Lysine	شاهد Control	Parameter	
								Milk composition (%)	ترکیب شیر (درصد)
0.05	0.01	0.42	0.018	3.32	3.50	3.30	3.38	Protein	پروتئین
0.14	0.17	0.22	0.048	3.81	3.55	3.53	3.49	Fat	چربی
0.02	0.01	0.72	0.023	4.92	5.03	4.88	4.93	Lactose	لاکتوز
0.02	0.01	0.79	0.043	9.15	9.36	9.09	9.16	SNF	مواد جامد بدون چربی
								Milk composition (kg/day)	ترکیب شیر (کیلوگرم / روز)
0.04	0.35	0.67	0.026	1.35	1.28	1.13	1.15	Protein	پروتئین
0.05	0.14	0.57	0.040	1.55	1.30	1.21	1.18	Fat	چربی
0.03	0.25	0.67	0.039	1.99	1.85	1.67	1.67	Lactose	لاکتوز
0.03	0.32	0.67	0.074	3.44	3.72	3.11	3.11	SNF	مواد جامد بدون چربی
0.34	0.03	0.02	0.353	13.12^{b}	12.74^{b}	12.36^{b}	15.35^{a}	MUN (mg/dL)	نیتروژن اوره‌ای شیر (میلی‌گرم / دسی لیتر)

*تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (جیره پایه با ۱۷/۸ درصد پروتئین بدون افزودنی)، لیزین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۶ گرم در روز لیزین)، متیونین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳گرم در روز متیونین) و متیونین × لیزین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳ گرم متیونین به‌علاوه ۶ گرم لیزین). ^{ab}میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار نیستند (P>۰/۰۵). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

*Treatments included: Control (basal diet with 17.8% protein without additives), Lysine (diet with 16.5% protein plus 6-gram per day of lysine), Methionine (diet with 16.5% protein plus 13-gram per day of methionine) and methionine × lysine (a diet with 16.5% protein plus 13-gram of methionine, plus 6-gram of lysine).^{ab} The meanings with the same letters in each row are not significant (P <0.05). SEM: standard error of means. MUN: Milk urea nitrogen. SNF: Solid non fat

جدول ٦: اثرات کاهش سطح پروتئین جیره و افزودن لیزین و متیونین محافظت‌شده بر تولید شیر و بازدهی خوراک مصرفی در گاوهای شیرده هلشتاین

Table 6. Effects of decrease dietary crude protein and adding protected lysine and methionine on milk production and feed efficiency use in Holstein lactating cows

فراسنجه Parameter	تیمار* (Treatment)				سطح معنی‌داری (P-Value)				**مقایسات مستقل (P-Value)					
	شاهد Control	لیزین Lysine	متیونین Methionine	لیزین × متیونین Methionin Lysine× e	SEM	تیمار Treat	دوره Period	تیمار×دوره Period× Treat	۱	۲	۳	۴	۵	۶
تولید شیر (کیلوگرم/ روز) Milk production (kg / day)	32.12	33.80	34.91	37.23	0.535	0.89	<0.01	0.04	0.27	0.01 <	0.01 <	0.32	0.05	0.10
شیر تصحیح‌شده بر اساس ۴ درصد چربی[1] (FCM)	29.62	31.49	32.55	36.07	0.526	0.77	<0.01	<0.01	0.19	0.01 <	0.01 <	0.34	0.01 <	0.01 <
شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی[2] (ECM)	30.51	32.06	34.01	36.60	0.502	0.71	<0.01	<0.01	0.25	0.01 <	0.01 <	0.06	0.01 <	0.04
بازدهی خوراک مصرفی Feed efficiency														
تولید شیر: ماده خشک مصرفی Milk production: DMI	1.43	1.58	1.59	1.78	0.029	0.82	<0.01	0.05	0.07	0.01 <	0.01 <	0.82	0.04	0.01 <
شیر تصحیح‌شده بر اساس چربی: ماده خشک مصرفی FCM:DMI	1.32	1.53	1.48	1.72	0.027	0.67	<0.01	0.02	0.01 <	0.01 <	0.01 <	0.44	0.03	0.01 <
شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی: ماده خشک مصرفی ECM:DMI	1.36	1.56	1.55	1.75	0.026	0.68	<0.01	0.03	0.01 <	0.01 <	0.01 <	0.90	0.02	0.01 <

*تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (جیره پایه با ۱۷/۸ درصد پروتئین بدون افزودنی)، لیزین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۶ گرم در روز لیزین)، متیونین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳گرم در روز متیونین) و متیونین × لیزین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳ گرم متیونین به‌علاوه ۶ گرم لیزین). [ab] میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار نیستند (P>۰/۰۵). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها **مقایسه ۱: تیمار شاهد با لیزین؛ مقایسه ۲: تیمار شاهد با متیونین؛ مقایسه ۳: تیمار شاهد با لیزین × متیونین؛ مقایسه ۴: تیمار لیزین با متیونین؛ مقایسه ۵: تیمار لیزین با لیزین × متیونین؛ مقایسه ۶: تیمار متیونین با لیزین × متیونین. [1] شیر تصحیح‌شده بر اساس ۴ درصد چربی (کیلوگرم در روز)= [(درصد چربی شیر × ۰/۱۵) + ۰/۴] × تولید شیر (کیلوگرم در روز). [2] شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی (کیلوگرم در روز)= [۳۸/۳ × چربی شیر (گرم در کیلوگرم)+ ۲۴/۲× پروتئین شیر (گرم در کیلوگرم) + ۱۶/۵۴ × لاکتوز شیر (گرم در کیلوگرم) + ۲۰/۷) ÷ ۳۱۴۰]

*Treatments included: Control (basal diet with 17. 8% protein without additives), Lysine (diet with 16.5% protein plus 6-gram per day of lysine), Methionine (diet with 16.5% protein plus 13-gram per day of methionine) and methionine × lysine (a diet with 16.5% protein plus 13-gram of methionine, plus 6-gram of lysine).[ab] The meanings with the same letters in each row are not significant (P <0.05). SEM: standard error of means **Comparison 1: Control vs lysine; Comparison 2: Control vs methionine; Comparison 3: Control vs lysine × methionine; Comparison 4: Lysine vs methionine; Comparison 5: Lysine vs lysine × methionine; Comparison 6: Methionine vs lysine × methionine. [1] 4% fat corrected milk (kilogram per day) = (milk fat percentage × 0.15) + 0.4] × milk production (kilogram per day). [2] Milk corrected for energy (kilogram per day) = (38.3 Milk fat (gram per kilogram) + 24.2 × Milk protein (gram per kilogram) + 16.54 × Milk lactose (gram per kilogram) + 20.7) 3140 ÷ 3140

جدول ۷: اثرات کاهش سطح پروتئین جیره و افزودن لیزین و متیونین محافظت‌شده بر برخی متابولیت‌های شیمیایی خون در گاوهای شیرده هلشتاین

Table 7. Effects of decrease dietary crude protein and adding protected lysine and methionine- protected on some blood chemistry metabolites in Holstein lactating cows

سطح معنی‌داری (P-Value)				تیمار* (Treatment)				Parameter	فراسنجه
تیمار×دوره Treat×Period	دوره Period	تیمار Treat	SEM	لیزین × متیونین × Methionine Lysine	متیونین Methionine	لیزین Lysine	شاهد Control		
0.968	0.002	0.008	0.070	3.33^{a}	3.30^{ab}	3.09^{b}	2.42^{c}	Albumin(g/dl)	آلبومین (گرم در دسی لیتر)
0.095	0.081	0.044	0.073	5.79^{ab}	5.52^{bc}	6.08^{a}	5.19^{c}	Total protein (g/dl)	پروتئین کل (گرم در دسی لیتر)
0.798	0.023	0.039	0.409	61.90^{a}	63.03^{a}	60.37^{ab}	58.27^{b}	Glucose (mg/dl)	گلوکز (میلی‌گرم در دسی لیتر)
0.127	0.972	0.556	0.199	13.11	12.75	13.86	12.85	Triglyceride (mg/dl)	تری گلیسرید (میلی‌گرم در دسی لیتر)
0.844	0.219	0.799	0.919	237.69	226.91	235.87	239.17	Cholestrol (mg/dl)	کلسترول (میلی‌گرم در دسی لیتر)
0.013	0.012	0.152	0.229	14.15^{ab}	12.98^{b}	13.50^{ab}	15.27^{a}	Blood urea nitrogen (mg/dl)	نیتروژن اوره‌ای خون (میلی‌گرم در دسی لیتر)

*تیمارهای آزمایشی شامل: شاهد (جیره پایه با ۱۷/۸ درصد پروتئین بدون افزودنی)، لیزین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۶ گرم در روز لیزین)، متیونین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳گرم در روز متیونین) و متیونین × لیزین (جیره با ۱۶/۵ درصد پروتئین به‌علاوه ۱۳ گرم متیونین به‌علاوه ۶ گرم لیزین). ^{ab} میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار نیستند (P<۰/۰۵). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

*Treatments included: Control (basal diet with 17.8% protein without additives), Lysine (diet with 16.5% protein plus 6-gram per day of lysine), Methionine (diet with 16.5% protein plus 13-gram per day of methionine) and methionine × lysine (a diet with 16.5% protein plus 13-gram of methionine, plus 6-gram of lysine).^{ab} The meanings with the same letters in each row are not significant (P <0.05). SEM: standard error of means

به‌طورکلی در گاوهای تازه‌زایی که غلظت نیتروژن اوره‌ای خون و آلبومین (کمتر از ۳ گرم در دسی لیتر) پایینی دارند به نظر می‌رسد در پاسخ به هر بیماری شکست بخورند و بیماری‌هایی از قبیل متریت، اندومتریت، جفت ماندگی، ورم پستان و گندیدگی سم را تجربه کنند (۱۹ و ۳٤). گاوهای دریافت‌کننده‌ی جیره کم پروتئین به همراه متیونین محافظت‌شده شکمبه‌ای غلظت نیتروژن اوره‌ای خون کمتری نسبت به تیمار شاهد داشتند (P<۰/۰۵). غلظت نیتروژن اوره‌ای خون تابع پروتئین خام جیره، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام (۱۸ و ۲٤)، زمان نمونه‌گیری نسبت به زمان خوراک‌دهی و سطح آمونیاک شکمبه‌ای است (۱۵). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که با کاهش سطح پروتئین خام و پروتئین قابل‌تجزیه در شکمبه و استفاده از اسیدهای آمینه محافظت شده در اوایل دوره شیردهی سطح آمونیاک در شکمبه و غلظت نیتروژن اوره‌ای خون کاهش یافت و موجب افزایش معنی‌دار غلظت گلوکز خون نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵) که سبب کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های متابولیکی و غیر متابولیکی می شود. افزودن متیونین محافظت‌شده (به‌صورت انفرادی یا هم‌زمان با لیزین محافظت‌شده) موجب افزایش غلظت گلوکز خون نسبت به گروه شاهد گردید (٦۳/۰۳ و ٦۱/۹۰ در مقابل ۵۸/۲۷ میلی‌گرم در دسی لیتر). هرچند که نقش متیونین در فرآیند گلوکونئوژنز از اسیدهای آمینه کم است ولی این اسیدآمینه از طریق افزایش خروج چربی از کبد و ممانعت از تجمع چربی در کبد، فعالیت گلوکونئوژنزی کبد از پروپیونات در نشخوارکنندگان را بهبود می‌بخشد و از این طریق موجب افزایش سطح گلوکز خون در گاوها می‌شود (١٦). دین و همکاران (۱۹۹۸) مشاهده کردند که با کاهش سطح پروتئین خام جیره میزان گلوکز خون افزایش یافت که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد(۱۰).

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن لیزین و متیونین محافظت شده شکمبه‌ای در شرایط این مطالعه می تواند باعث افزایش تولید شیر و بازدهی استفاده از خوراک مصرفی شود، در حالیکه ترکیبات شیر تحت تاثیر افزودن لیزین و متیونین محافظت شده قرار نگرفته بودند. افزودن متیونین محافظت شده به‌صورت انفرادی و هم‌زمان با لیزین محافظت‌شده در شرایط این مطالعه باعث افزایش سطح گلوکز خون شد بنابراین افزودن لیزین و متیونین محافظت شده در اوایل دوره شیردهی می تواند از این طریق افزایش سطح گلوکز خون احتمال ابتلا به ناهنجاری‌های متابولیکی از قبیل کتوز را کاهش می‌دهد. افزودن لیزین محافظت‌شده به‌صورت انفرادی و هم‌زمان با متیونین محافظت‌شده موجب افزایش سطوح آلبومین و پروتئین کل شد. همچنین با کاهش سطح پروتئین خام جیره به ١٦/۵ درصد و افزودن اسیدآمینه محافظت شده لیزین و متیونین غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر و خون و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه نسبت به جیره‌های با سطوح بالاتر پروتئین کاهش یافت. کاهش سطح پروتئین خام جیره و افزودن نسبت بهینه از اسیدهای آمینه محدودکننده می‌تواند در حفظ تولید، کاهش هزینه‌های تولیدی واحدهای پرورش گاوشیرده و کاهش خطرات زیست‌محیطی ناشی از دفع نیتروژن اضافی به محیط سودمند باشد.

سپاسگزاری

محققین از شرکت پژوهش پرور زایند اصفهان به خاطر تأمین اسیدهای آمینه استفاده شده در این مطالعه، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

1. Benefield, B., Patton, R., Stevenson, M. and Overton, T. 2006. Evaluation of rumen-protected methionine (RP-Met) sources and period length on performance of lactating dairy cows within latin squares. J. Anim. Sci. 84: 76.
2. Berthiaume, R., Thivierge, M., Patton, R., Dubreuil, P., Stevenson, M., McBride, B. and Lapierre, H. 2006. Effect of ruminally protected methionine on splanchnic metabolism of amino acids in lactating dairy cows. J. Dairy. Sci. 89: 1621-1634.
3. Blum, J.W., Bruckmaier, R.M. and Jans, F. 1999. Rumen-protected methionine fed to dairy cows: bioavailability and effects on plasma amino acid pattern and plasma metabolite and insulin concentrations. J. Dairy. Sci. 82: 1991-1998.
4. Broderick, G.A., Stevenson, M.J. and Patton, R.A. 2009. Effect of dietary protein concentration and degradability on response to rumen-protected methionine in lactating Dairy cows. J. Dairy. Sci. 92: 2719-2728.
5. Broderick, G.A., Stevenson, M.J., Patton, R.A., Lobos, N.E. and Colmenero, J.J. 2008. Effect of supplementing rumen-protected methionine on production and nitrogen excretion in lactating dairy cows1. J. Dairy. Sci. 91: 1092-1102.
6. Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P., Castillejos, L. and Ferret, A. 2007. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. J. Dairy. Sci. 90: 2580-2595.
7. Canfield, R.W., Sniffen, C.J. and Butler, W.R. 1990. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. J. Dairy. Sci. 73: 2342 - 2349.
8. Chung, Y., Bateman, H., Williams, C., Stanley, C., Gantt, D., Braud, T., Southern, L., Ward, J., Hoyt, P. and Sod, G. 2006. Effects of methionine and lysine on fermentation in vitro and in vivo, nutrient flow to the intestine, and milk production. J. Dairy. Sci. 89: 1613-1620.
9. Davidson, S., Hopkins, B., Diaz, D., Bolt, S., Brownie, C., Fellner, V. and Whitlow, L. 2003. Effects of amounts and degradability of dietary protein on lactation, nitrogen utilization, and excretion in early lactation Holstein cows. J. Dairy. Sci. 86: 1681-1689.
10. Dinn, N.E., Shelford, J.A. and Fisher, L.J. 1998. Use of the Cornell net carbohydrate and protein system and rumen-protected lysine and methionine to reduce nitrogen excretion from lactating dairy cows. J. Dairy. Sci. 81: 229-237.
11. Donkin, S.S., Varga, G.A., Sweeney, T.F. and Muller, L.D. 1989. Rumen-protected methionine and lysine: effects on animal performance, milk protein yield, and physiological measures. J. Dairy. Sci. 72: 1484-1491.
12. Eldon, J., Olafsson, T. H. and Thorsteinsson, T. H. 1988. The relationship between blood and fertility parameters in post-partum dairy cows. Acta Veterinaria Scandinavia, 29: 393-399.
13. Ferguson, J.D. and Chalupa, W. 1989. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. J. Dairy. Sci. 72: 746-766.
14. Folman, Y., Rosenberg, M., Herz, Z. and Davidson, M. 1973. The relationship betwen plasma progesterone concentration and conception in post - partum dairy cows maintained on two levels of nutrition. Journal of Reproduction and Fertility. 34: 267 - 78.
15. Gustafsson, A.H., and Palmquist, D.L. 1993. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. J. Dairy. Sci. 76: 475–484.
16. Hankins J. 2006. The role of albumin in fluid and electrolyte balance. Journal of Infusion Nursing. 29: 260–265.
17. Hof, G., Vervoorn, M., Lenaers, P. and Tamminga, S. 1997. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. J. Dairy. Sci. 80: 3333-3340.
18. Jordan, E.R., Chapman, T.E., Holtan, D.W., and Swanson, L.V. 1983. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and

28. Prinsen B.H .2004. Albumin turnover: experimental approach and its application in health and renal diseases. Clinica Chimica Acta. 347: 1–14.
29. Rode, L., Fujeieda, T ,.Sato, H., Suzuki, H., Julien, W. and Sniffen, C. 1994. Rumen-protected amino acid (RPAA) supplementation to dairy cows pre-and post parturition. J. Dairy. Sci. 77: 243.
30. SAS Institute Inc. 2014. SAS User's Guide. Version 9.4. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
31. Socha, M.T., Putnam, D.E., Garthwaite, B.D., Whitehouse, N.L., Kierstead, N.A., Schwab, C.G., Ducharme, G.A. and Robert, J.C. 2005. Improving intestinal amino acid supply of pre- and postpartum dairy cows with rumen-protected methionine and lysine. J. Dairy. Sci. 88: 1113-1126.
32. Tamminga, S. 1996. A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. J. Anim. Sci. 74: 3112-3124.
33. Van Keulen, J. and Young, B. 1977. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. J .Anim. Sci. 44: 282-287.
34. Van Saun, R. J. 2004. Metabolic profiling and health risk in transition cows. Proc. Am. Assoc. Bov. Pract. 37: 212-213.
35. Van Soest, P.V., Robertson, J. and Lewis, B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and no starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy. Sci. 74(10): 3583-3597.
36. Wang, C., Liu, H., Wang, Y., Yang, Z., Liu, J., Wu, Y., Yan, T. and Ye, H. 2010. Effects of dietary supplementation of methionine and lysine on milk production and nitrogen utilization in dairy cows. J. Dairy. Sci. 93: 3661-3670.
37. Wu, Z., Fisher, R., Polan, C. and Schwb, C. 1997. Lactational performance of cows fed low or high ruminally undegradable protein prepartum and supplemental methionine and lysine postpartum1. J. Dairy. Sci. 80: 722-729.
blood in highproducing postpartum Dairy cows. J. Dairy. Sci. 66: 1854–1862.
19. Le Blanc, S.J., Leslie, K.E. and Duffield, T.F. 2005. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. J. Dairy. Sci. 88: 159-170.
20. Leonardi, C., Stevenson, M. and Armentano, L.E. 2003. Effect of two levels of crude protein and methionine supplementation on performance of dairy cows. J. Dairy. Sci. 86: 4033-4042.
21. Mackiewicz A. 1997. Acute phase proteins and transformed cells. International Review of Cytology 170: 225–300.
22. Moorby, J.M., Dewhurst, R.J., Evans, R. and Fisher, W. 2002. Effects of level of concentrate feeding during the second gestation of Holstein-Friesian dairy cows. 2. Nitrogen balance and plasma metabolites. J. Dairy. Sci. 85: 178-189.
23. NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
24. Oltner, R., Emanuelson, M. and Wiktorsson, H. 1985. Urea concentration in milk in relation to milk yield, live weight, lactation number, and amount and composition of feed given to Dairy cows. Livest. Prod. Sci. 12: 47–52.
25. Opsomer, G.. Grohn, Y.T.; Hertl, J.; Laevens, H.; Coryn, M. and de Kruif, A. 1999. Protein metabolism and the resumption of ovarian cyclicity post partum in high yielding Dairy cows. Reproduction in Domestic Animals, Suppl. 6: 54-57.
26. Opsomer, G.; Grohn, Y.T., Hertl, J., Coryn, M., Deluyker, H. and de Kruif, A. 2000. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing Dairy cows in Belgium: a field study. Theriogenology. 53: 841-857.
27. Pisulewski, P., Rulquin, H., Peyraud, J. and Verite, R. 1996. Lactational and systemic responses of dairy cows to postruminal infusions of increasing amounts of methionine. J. Dairy. Sci. 79: 1781-1791.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 6(2), 2018
http://ejrr.gau.ac.ir

Effect of decreasing dietary protein and the use of rumen-protected lysine and methionine on performance of Holstein dairy cows during early lactation

A. Rostami[1], *O. Azizi[2] and H. Jahani-azizabadi[3]
[1]M.Sc. student, [2]Associate Prof., and [3]Assistant Prof., Dept. of Animal Sciences, Agriculture Faculty, Kurdistan University
Received: 9/4/2018; Accepted: 14/7/2018

Abstract

Background and objectives: In previous studies in low-protein diets, mostly used pure sources of protected methionine or combined lysine and methionine used. It has been used in limited studies of the pure source of protected lysine to balance the dietary amino acids. It seems that investigating the effect of protected lysine and methionine supplementation alone and in combination, in low-protein diets, especially in early lactation, is useful to achieve maximum performance. Therefore, the purpose of this study was aimed to investigate the effects of reducing dietary crude protein (CP) concentration and alone and in combination use of protected lysine and methionine amino acids on milk yield and milk composition and concentration of blood chemical metabolites in Holstein lactating cows during early lactation.

Materials and methods: In this study, eight Holstein lactating cows with average 89±37 days in milk were used in a repeated measurement design two 21 day periods; each period contains 17 days for adaptation and four days for sampling. Treatments were: 1) a formulated diet with 17.8% CP, 2) a formulated diet with 16.5% CP plus 6-gram per day protected lysine, 3) a formulated diet with 16.5% CP plus 13-gram head per day protected methionine, 4) a formulated diet with 16.5% CP plus 6-gram lysine and 13-gram protected methionine per head day.

Results: The results of this study showed that dry matter intake, the percentage of milk fat and protein, molar proportion of volatile fatty acids, pH of rumen fluid, and apparent digestibility of nutrients were not affected by experimental treatments. ($P>0.05$). The results of independent comparisons in milk yield and feed efficiency indicated that by reducing the dietary protein concentration and the addition of protected methionine (alone and in combination with lysine) led to significantly increased in milk yield and feed efficiency, relative to the control group ($P < 0.05$). But in independent comparisons inside the treatments there was no significant difference between protected lysine and methionine in milk production and feed efficiency ($P > 0.05$). The addition protected lysine and methionine, alone and in combination, resulted in a significant decrease ($P<0.05$) in the milk concentration of urea nitrogen, relative to the control (respectively 12.36, 12.74, 13.12, to 15.37). Crude protein intake in the supplemented protected methionine and lysine, alone and in combination, group compared to the control group was significantly decreased ($P<0.05$). Methionine and lysine supplementation (alone and in combination) resulted in an increase ($P<0.05$) in the serum albumin total protein concentration, compared to the control group. In cattle receiving protected methionine serum urea nitrogen concentration was lower than that of control ($P<0.05$). The addition of protected methionine (alone and in combination with lysine) led to significantly increase ($P<0.05$) in serum glucose concentration in early lactation.

*Corresponding author; O.azizi@uok.ac.ir

Conclusion: The results of this study indicated that by decreasing the amount of protein in the diet from 17.8% to 16.5% in early lactation and the use of protected amino acids increased feed nitrogen efficiency without adversely affecting the nutrients. Also, the results of the present study showed that combined use of protected lysine and methionine compared to their individual use, was more effective to improve the performance of Holstein lactating cows during early lactation**.**

***Keywords*:** Protected amino acids, Nitrogen efficiency, Milk yield, Lactating cow, Glucose