مجله علوم دامی ایران
دوره ۴۴، شماره ۳، ۱۳۹۲ (۲۴۵-۲۳۵)

اثر سطوح مختلف پروتئین قابل متابولیسم روی عملکرد و متابولیت های خونی گاوهای هلشتاین

ایوب لکی[1]، مهدی دهقان بنادکی[2] و کامران رضا یزدی[2*]
۱، دانشجوی دکتری تغذیه دام و ۲، دانشیاران پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱۳ - تاریخ تصویب: ۹۲/۷/۲۷)

چکیده

هدف این مطالعه بررسی اثرات سطوح مختلف پروتئین قابل متابولیسم(MP) جیره روی عملکرد گاوهای هلشتاین در اوایل زایش بود. ۲۴ راس گاو هلشتاین(میانگین وزن بدن۲۳±۵۸۰، میانگین روزهای شیردهی ۲۳±۳۰ و میانگین تعداد شکم زایش ۰/۵±۲/۴) به طور تصادفی با ۴ جیره حاوی ۱) ۱۰/۶۰، ۲) ۱۱/۰۷، ۳) ۱۱/۵۴ و ۴) ۱۲/۰۰ درصد پروتئین قابل متابولیسم براساس ماده خشک به مدت ۵۵ روز تغذیه شدند. براساس نتایج این مطالعه ماده خشک مصرفی، تغییرات وزن بدن، تولید چربی شیر و مواد جامد شیر تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. تولید شیر تصحیح شده براساس ۴ درصد چربی(FCM) و تولید پروتئین شیر با افزایش سطح MP جیره تا ۱۱/۵۴ درصد افزایش یافت، اما با افزایش بیشتر از این سطح کاهش یافت(p<۰/۰۵) . متابولیت های شکمبه شامل غلظت اسیدهای چرب فرار، نسبت مولی اسیدهای چرب فرار، pH و غلظت آمونیاک مایع شکمبه تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. همچنین غلظت گلوکز پلاسما، کلسترول، اسیدهای چرب غیر استریفه بین تیمارها معنی دار نبود. غلظت نیتروژن اوره ای خون(BUN) و شیر(MUN) با افزایش سطح MP جیره به طور خطی افزایش و بازده استفاده از نیتروژن به طور خطی کاهش یافت (p<۰/۰۵). براساس نتایج این مطالعه ارتباط بین سطح MP جیره با تولید شیر و پروتیئن شیر غیر خطی می باشد. همچنین سطح مناسب پروتئین قابل متابولیسم در اوایل زایش برای گاوهای هلشتاین شیرده ۱۱/۵۴ درصد در ماده خشک می باشد.

واژه های کلیدی: اوایل زایش، تولید و ترکیب شیر، پروتئین قابل متابولیسم و متابولیت های خون

مقدمه

پروتئین به عنوان یک ماده مغذی، نقش مهم کنترلی در تولید شیر بویژه در اوایل زایش دارد (law et al., 2009). در اوایل زایش، گاوهای پر تولید قادر به تامین نیاز انرژی و پروتئین تنها از طریق مصرف خوراک نبوده وبرای جبران کمبود، ذخیره چربی و پروتئین بدنی را آزاد می کنند (NRC, 2001). در پرورش گاوهای شیری، تامین پروتئین مورد نیاز گاوها گران می باشد، زیرا اقلام خوراکی غنی از پروتیئن گران قیمت ترین بخش جیره را تشکیل می دهند. حداکثر تولید شیر زمانی اتفاق می افتد، که پروتئین جیره نیز افزایش یابد، اما زمانی که سطح پروتئین قابل متابولیسم جیره نزدیک یا بیشتر از توصیه های کنونی برای گاوهای شیری می رسد، بازده استفاده از نیتروژن (تولید پروتئین شیر تقسیم بر پروتئین مصرفی) کاهش می یابد(Doepel et al., 2004; Wang et al., 2007; Weiss et al., 2009a). بنابراین

* نویسنده مسئول: کامران رضا یزدی تلفن: ۰۹۱۲۵۳۹۱۲۵۳ E-mail: rezayazdi@ut.ac.ir

حداکثر بازده استفاده از پروتئین در سطوح پایین پروتئین جیره اتفاق می افتد، اما در این حالت تولید شیر کاهش می یابد. در سطوح بالای پروتئین قابل متابولیسم نسبت به سطح پایین تر، برداشت اسیدهای آمینه توسط کبد و بافت های احشایی(کبد و دستگاه گوارش و ضمایم) افزایش می یابد (Raggio et al., 2004). برداشت و اکسیداسیون اسیدهای آمینه بیش از نیاز تولید شیر توسط بافت احشایی و کبد دلیل اولیه بازده پایین پروتئین در سطوح بالای تغذیه پروتئین به گاوهای شیری می باشد(Blouin et al., 2002; Lapierre et al., 2002). دفع نیتروژن زیادتر از طریق ادرار و مدفوع در گاوهای مصرف کننده سطح بالای پروتئین برای محیط زیست و انسان خطرناک است(NRC, 2001). همچنین افزایش نیتروژن اوره ای خون منجر به کاهش عملکرد تولید مثلی می گردد(NRC, 2001). میزان دفع نیتروژن توسط گاوهای شیری از طریق ادرار و مدفوع همبستگی بالای با غلظت پروتئین خام جیره دارد(Jonkeret al., 2002; Wang et al., 2007; Rius et al., 2010). وضعیت بهینه برای تولید شیر زمانی است که حجم شیر تولیدی حداکثر و نسبت تبدیل اسیدآمینه های جذب شده به جریان خون به پروتئین شیر بهینه باشد(Raggio et al.,2004).بخش زیادی از اسیدهای آمینه ای که توسط غدد پستانی برای سنتز پروتئین شیر استفاده نشود، به کبد منتقل شده و توسط کبد و بافت احشایی متابولیزه می شود(Hanigan, 2005). بنابراین تغذیه گاوهای شیری براساس نیازهای آن ها باعث حداکثر شدن برداشت اسیدهای آمینه توسط غدد پستانی برای سنتز پروتئین شیر شده و بازچرخش اسیدهای آمینه بین غدد پستانی و بافت احشایی کاهش یافته و بازده استفاده از نیتروژن بهبود می یابد. همچنین با افزایش نگرانی ها در ارتباط با اثرات مخرب تولید گاز آمونیاک آزاد شده از نیتروژن ادرار و مدفوع گاوها ، تحقیقات زیادی روی این موضوع در حال انجام است. مطالعات متعددی با استفاده از گاوهای کاتترگذاری شده و گاوهای فیستولا دار نشان داده است که افزایش سطح پروتئین قابل متابولیسم باعث افزایش خطی تولید شیر و پروتئین شیر نمی شود (Blouinet al., 2002; Weiss & Wyatt., 2006; Raggio et al., 2007).

بنابراین هدف از مطالعه حاضر با توجه به محدود بودن مطالعات انجام شده در اوایل زایش،بررسی پاسخ گاوهای شیری در اوایل زایش به سطوح مختلف پروتیئن قابل متابولیسم جیره و تعیین سطح بهینه پروتئین قابل متابولیسم در جیره گاوهای هلشتاین در اوایل زایش بود.

مواد و روش ها

گاوها و جیره های آزمایشی

۲۴ راس گاو هلشتاین در اوایل زایش(میانگین وزن بدن۲۳±۵۸۰، میانگین روز های شیردهی۷±۳۰ و میانگین تعداد شکم زایش ۰/۵±۲/۴) استفاده شد. گاوها براساس وزن بدن، تولید شیر، روزهای شیردهی و تعداد شکم زایش تصحیح شده و بعد به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند و هر گروه به یکی از چهار تیمار اختصاص داده شدند. گاوها در جایگاه انفرادی با بستر لاستیکی نگهداری شدند. تیمار ها به ترتیب شامل ۱) ۱۰/۶۰ ، ۲) ۱۱/۰۷ ، ۳) ۱۱/۵۴ و ۱۲/۰۰ درصد پروتئین قابل متابولیسم در هر کیلوگرم ماده خشک بود. جیره ها با نرم افزار CNCPS ویرایش ۶ طوری فرموله شدند (جدول۱) که نیاز پروتئین قابل متابولیسم یک سطح پایین تر، یک سطح توصیه شده و دو سطح بیشتر از توصیه شده نرم افزار برای گاوهای مورد مطالعه بود. برای افزایش سطح MP جیره ها منبع پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه از منبع کنجاله گلوتن ذرت تامین گردید.

همچنین با افزایش سطح پروتئین قابل تجزیه در شکمبه سنتز پروتئین میکروبی نیز افزایش یافت که در نتیجه سطح پروتئین قابل متابولیسم افزایش یافت.نسبت علوفه به کنسانتره در همه تیمار ها ۴۰ به ۶۰ درصدی از ماده خشک بود و ۴ جیره از لحاظ NEL[1](۱/۷۰ مگاکالری انرژی خالص شیردهی در هر کیلوگرم ماده خشک) یکسان بودند. جیره ها به طور کاملا مخلوط و در دو نوبت(ساعت ۷ و ۱۵) به طور آزاد به طوری که ۵ درصد به عنوان پس آخور در آخورها بماند تغذیه شدند. طول مدت آزمایش ۵۵ روز(۱۵ روز جهت عادت دهی و ۴۰ روز برای نمونه برداری) بود.

1. Net Energy for Lactation

نمونه برداری و تجزیه آماری داده ها

گاوها سه بار در روز شیردوشی شده و مقدار شیر تولیدی هر وعده ثبت گردید. نمونه شیر به طور هفتگی از هر سه وعده گرفته شده و داخل ظروف نمونه برداری حاوی نگهدارنده به آزمایشگاه شیر منتقل شد. ترکیبات شیر شامل چربی، پروتئین خام، اوره، مواد جامد، مواد جامد بدون چربی و سلول های بدنی توسط دستگاه میلکو اسکن اندازه گیری شد. هر روز باقی مانده خوراک از آخور جمع آوری و وزن کشی شد و با کسر کردن از میزان خوراک ریخته شده به آخور، میزان ماده خشک مصرفی(DMI[1]) هر روز ثبت گردید. از جیره، پس آخور واقلام خوراکی به طور هفتگی نمونه گیری شده ونمونه ها بلافاصله در آون تحت خلاء به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد خشک گردید. بعد از خشک شدن نمونه ها با آسیاب ۱ میلی متری خرد شده و همه نمونه های گرفته شده در طول آزمایش برای هر گاو براساس وزن با هم مخلوط و در نهایت یک نمونه برای آنالیز استفاده گردید.

ماده خشک نمونه ها توسط قرار دادن آن ها در آون ۱۰۵ درجه برای ۴۸ ساعت بدست آمد. خاکستر نمونه با قرار دادن نمونه ها به مدت ۵ ساعت در کوره ۵۵۰ درجه سانتیگراد محاسبه گردید(AOAC, 1990). دیواره سلولی(NDF) و دیواره سلولی بدون همی سلولز(ADF) براساس روش(Van Soestetal., 1991) و کل نیتروژن براساس (AOAC, 1990) اندازه گیری شد. نمونه خون در روز آخر آزمایش و پس از ۴ ساعت از خوراک دهی صبح از رگ دمی با استفاده از لوله حاوی هپارین از همه گاوها گرفته شد. نمونه های خون در داخل یخ به آزمایشگاه منتقل و به مدت ۱۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. پلاسمای خون تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد فریزگردید. ترکیبات پلاسما شامل گلوکز، تری گلیسیرید، پروتئین کل، کلسترول، غلظت اسیدهای چرب غیراستریفه و نیتروژن اوره‌ای خون با کیت های مخصوص(پارس آزمون) در آزمایشگاه اندازه گیری شدند. همچنین همزمان با نمونه گیری خون، نمونه گیری از مایع شکمبه با استفاده از لوله مری انجام شد. برای کاهش اثرات بزاق روی pH مایع شکمبه بخش اولیه مایع شکمبه دور ریخته شد. نمونه مایع شکمبه با استفاده از ۴ لایه پارچه پنیرسازی صاف گردید. pH مایع شکمبه بلافاصله با استفاده از pH متر قابل حمل ثبت گردید. داخل دو ظرف جداگانه ۵۰ میلی لیتر مایع شکمبه ریخته شده و به هرکدام از ظرف ها ۱ میلی لیتر اسید سولفوریک ۵۰ درصد برای جلوگیری از ادامه تخمیر اضافه گردید. نمونه ها در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند. بعد از یخگشایی یکی از ظرف ها برای اندازه گیری اسیدهای چرب فرار(VFA[2]) با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل (Philips PU 4410) استفاده شد و ظرف دیگر برای اندازه گیری غلظت نیتروژن آمونیاکی با استفاده از روش تیتراسیون با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال و به روش (Ottenstein &Bartly, 1971) استفاده گردید. همه گاوها در روز شروع و آخر آزمایش پس از شیردوشی صبح و قبل از خوراکی دهی وزن کشی شدند و امتیاز وضعیت بدنی توسط سه نفر و براساس روش (Wildman et al., 1982) تعیین گردید.

داده ها با استفاده از نرم افزار SAS (۲۰۰۳) آنالیز گردید. در مورد پارامترهای تکرار شده مانند تولید شیر، ترکیبات شیر و مصرف خوراک از رویه Mixed استفاده شد(مدل شماره ۱) که اثر متقابل زمان وتیمار نیز بررسی گردید و گاو به عنوان عامل تصادفی در نظر گرفته شد. برای پارامترهای که یکبار اندازه گیری شدند شامل متابولیت های خون و شکمبه از رویه GLM استفاده شد(مدل شماره ۲). وزن بدن در شروع آزمایش و میزان شیر تولیدی قبل از شروع آزمایش به عنوان عامل کوواریت در مدل قرار داده شد،که پس از آنالیز به دلیل معنی دار نشدن وزن اولیه، از مدل حذف گردید. میانگین تیمار ها با استفاده از آمون توکی مقایسه گردید. و سطح معنی داری ۵ درصد و ۱ درصد برای مقایسه میانگین ها در نظر گرفته شد.

۱) $Y_{ijklme}= \mu +T_i + L_j+A_K + P_l+ T.P_{ie} + T.L_{ij} +Pmilk_m+e_{ijklme}$

۲) $Y_{ijkm}= \mu +T_i + L_j +A_K + T.L_{ij} +Pmilk_m +e_{ijkm}$

1. Dry matter intake

2. Volatile fatty acid

Y_{ijke} = مقادیر مشاهده شده صفت مورد اندازه گیری

μ = میانگین صفات اندازه گیری شده

T_i = اثر i امین جیره

L_j = اثر j امین دفعات زایش دام ها (۱ , ۲)

A_K = اثر k امین حیوان

$T.P_{ie}$= اثر متقابل جیره های آزمایشی و زمان نمونه گیری

$T.L_{ij}$= اثر متقابل جیره های آزمایشی و تعداد دفعات زایش

$Pmilk_m$= عامل کواریت میزان تولید شیر اولیه گاوها

e_{ijkmne} = اثرات باقیمانده

جدول۱- مواد خوراکی تشکیل دهنده جیره ها (بر اساس ۱۰۰٪ ماده خشک)

مواد خوراکی	جیره ها[1]			
	۱	۲	۳	۴
یونجه	۲۱/۹۵	۲۱/۹۵	۲۱/۹۵	۲۱/۹۵
ذرت سیلو شده	۱۸/۰۹	۱۸/۰۹	۱۸/۰۹	۱۸/۰۹
جو آسیاب شده	۱۷/۵۴	۱۷/۵۴	۱۷/۵۴	۱۷/۵۴
ذرت آسیاب شده	۱۳/۱۶	۱۳/۱۶	۱۳/۱۶	۱۳/۱۶
تفاله چغندر قند	۵/۲۶	۵/۲۶	۵/۲۶	۵/۲۶
سبوس برنج	۱/۳۲	۰/۸۸	۰/۲۲	۰/۱۳
سبوس گندم	۲/۹۷	۱/۲۳	۰/۳۱	۰/۱۳
پودر چربی	۱/۸۶	۱/۶۶	۱/۴۹	۱/۳۲
کنجاله کلزا	۱/۳۲	۲/۶۳	۳/۹۵	۴/۱۷
کنجاله گلوتن ذرت	۰/۰۸	۰/۷۷	۱/۳۲	۱/۸۴
تخم پنبه	۷/۰۲	۶/۰۵	۴/۰۸	۰/۷۵
کنجاله سویا	۶/۴	۷/۷۵	۹/۸۱	۱۲/۶۳
بی کربنات سدیم	۱/۲۳	۱/۲۳	۱/۲۳	۱/۲۳
کربنات کلسیم	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵
دی کلسیم فسفات	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵
مکمل ویتامینی و معدنی*	۰/۸۸	۰/۸۸	۰/۸۸	۰/۸۸
نمک	۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۲۲

* یک کیلوگرم مکمل معدنی و ویتامینی دارای ۴۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰واحد بین المللی ویتامین D، ۲۰۰ میلی گرم ویتامین E، ۴۰۰ میلی گرم آنتی اکسیدان، ۱۸۰ گرم کلسیم، ۷۰ گرم فسفر، ۳۰ گرم منیزیم، ۵۰۰۰ میلی گرم منگنز، ۴۰۰۰ میلی گرم آهن، ۳۰۰ میلی گرم مس، ۳۰۰۰ میلی گرم روی، ۱۰۰ میلی گرم کبالت، ۱۰۰ میلی گرم ید و ۲۰ میلی گرم سلنیوم بود.

[1]جیره های یک الی چهار به ترتیب حاوی ۱۰/۶۰، ۱۱/۰۷، ۱۱/۵۴ و ۱۲/۰۰ درصد MP در کیلوگرم ماده خشک.

جدول ۲- غلظت انرژی و مواد مغذی جیره پایه (بر اساس۱۰۰ درصد ماده خشک)

انرژی و مواد مغذی	جیره‌ها			
	۱	۲	۳	۴
ماده خشک(درصد)[1]	۵۷	۵۷	۵۸	۵۶
انرژی خالص شیردهی(مگاکالری در کیلوگرم)[2]	۱/۷۰	۱/۷۰	۱/۷۰	۱/۷۰
پروتئین خام(درصد)[1]	۱۴/۱۰	۱۵/۹۴	۱۶/۶۱	۱۷/۶۷
پروتئین قابل تجزیه در شکمبه(درصدپروتئین خام)[2]	۶۶	۶۵	۶۵	۶۴
پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه(درصدپروتئین خام)[2]	۳۴	۳۵	۳۵	۳۶
پروتئین قابل متابولیسم(درصد ماده خشک)[2]	۱۰/۶۰	۱۱/۰۷	۱۱/۵۴	۱۲/۰۰
چربی(درصد ماده خشک)[1]	۵/۵۰	۵/۱۰	۴/۶۰	۴/۸۰
کربوهیدرات غیر الیافی(درصد)[2]	۴۰	۴۰	۴۰	۴۱
دیواره سلولی(درصد)[1]	۳۴/۲	۳۳/۳	۳۲/۵	۳۱/۷
کلسیم(درصد)[2]	۰/۷۰	۰/۷۱	۰/۷۲	۰/۷۳
فسفر(درصد)[2]	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۴۲
سدیم(درصد)[2]	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴

۱- از طریق اندازه گیری در آزمایشگاه بدست آمده است.

۲- از طریق نرم افزار جیره نویسی CNCPSمحاسبه شده است.

نتایج و بحث

تولید شیر و ترکیبات آن

با افزایش درصد MP تولید شیر خام افزایش یافت (p<۰/۰۵). اما به دلیل تفاوت در درصد چربی شیر، میانگین تولید FCM به طور خطی با افزایش پروتئین قابل متابولیسم تا ۱۱/۵۴ درصد در ماده خشک افزایش یافت و بعد از آن با افزایش سطح MPتولید شیر تحصیح شده کاهش یافت. Wang et al., (2007) گاوهای شیری در اواسط شیردهی را با چهار سطح MPتغذیه کردند، در مطالعه آن ها نیز افزایش درصد MP تولید FCM را غیر خطی افزایش داد. یکی از دلایل احتمالی عدم افزایش خطی تولید شیر در این مطالعه کمبود سایر مواد مغذی می باشد، یا به عبارت دیگر ممکن بود سطح MP می توانست تولید بیشتر را حمایت کند ولی کمبود سایر مواد مغذی تولید شیر بیشتر را محدود کرد(Rius et al., 2010). انرژی یکی از مواد مغذی مهم می باشد، زیرا برای سنتز پروتیئن شیر و دفع نیتروژن اضافی در سطح بالاتر MP نیاز به انرژی بیشتری است(NRC, 2001). از مواد مغذی دیگری که می توانند تولید شیر را محدود کند، می توان به مواد معدنی و ویتامین ها اشاره کرد، زیرا اکثر این مواد مغذی در ترکیب شیر وجود دارند و همچنین در متابولیسم بدن از جمله متابولیسم انرژی نیز نقش مهمی دارند. در یک مطالعه سطوح مختلف انرژی وMP روی گاوهای شیرده بررسی گردید، نتایج آن ها نشان داد زمانی که بین انرژی و پروتئین قابل متابولیسم تناسب وجود داشته باشد(هردو پایین یا هردو بالا باشد) تولید شیر حداکثر می باشد(Rius et al., 2010). Raggio et al., (2007) سطوح مختلف MP را به گاوهای کاتتر گذاری شده تغذیه کردند و نتایج نشان داد پاسخ تولید شیر به سطح MP جیره خطی است که با نتایج این مطالعه متفاوت است. از دلایل آن می توان به تعداد گاو کمتر(۶ راس گاو کاتترگذاری شده) و همچنین تغذیه تنها یک سطح بیشتر از نیاز گاوها اشاره کرد. در مطالعه حاضر نیز افزایش سطح MP یک سطح بیشتر از نیاز گاوها باعث افزایش تولید شیر شد اما افزایش دو سطح بیشتر از نیاز تولید شیر را کاهش داد. همانند مطالعه حاضر محققین دیگر که روی گاوهای اواسط زایش مطالعه کردند نیز گزارش کردند که سطح تغذیه MP ۵ درصد بیشتر از توصیه کنونی NRC(۲۰۰۱) برای گاوهای شیری موجب افزایش تولید شیر گردید ولی بعد از آن تولید شیر با افزایش سطح MP جیره افزایش نیافت(Weiss et al., 2009b).

جدول۳ـ میانگین حداقل مربعات تولید و ترکیب شیر گاوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی

صفت اندازه گیری شده	جیره ها[1] ۱	۲	۳	۴	[2]SEM	P-value
تولید شیر(کیلوگرم در روز)	۳۴/۷۸^{b}	۳۵/۰۰^{b}	۳۶/۰۱^{a}	۳۶/۴۴^{a}	۰/۶۰	<۰/۰۱
تولید شیر بر اساس ۳/۵ درصد چربی	۳۲/۱۳^{b}	۳۲/۶۳^{ab}	۳۴/۷۵^{a}	۳۳/۸۰^{ab}	۰/۷۲	<۰/۰۱
FCM (کیلوگرم در روز)	۲۹/۸۱^{b}	۳۰/۲۸^{ab}	۳۲/۲۰^{a}	۳۱/۳۵^{ab}	۰/۶۴	<۰/۰۱
درصد چربی شیر	۳/۰۶	۳/۱۰	۳/۲۹	۳/۱۳	۰/۱۱	۰/۵۵
تولید چربی شیر(کیلوگرم در روز)	۱/۰۶	۱/۰۸	۱/۱۸	۱/۱۴	۰/۰۴	۰/۶۰
درصد پروتئین شیر	۲/۵۶^{b}	۲/۷۹^{a}	۲/۷۷^{ab}	۲/۶۰^{ab}	۰/۰۷	۰/۰۳
تولید پروتئین شیر(کیلو گرم در روز)	۰/۸۹^{b}	۰/۹۷^{a}	۱/۰۰^{a}	۰/۹۵^{ab}	۰/۰۲	۰/۰۴
درصد لاکتوز شیر	۴/۷۲^{b}	۴/۷۴^{ab}	۴/۹۴^{a}	۴/۷۱^{b}	۰/۰۴	<۰/۰۱
تولید لاکتوز شیر(کیلوگرم در روز)	۱/۶۴^{c}	۱/۶۶^{bc}	۱/۷۸^{a}	۱/۷۲^{b}	۰/۰۲	<۰/۰۱
درصد کل مواد جامد شیر	۱۱/۰۹	۱۱/۳۰	۱۱/۵۴	۱۱/۰۲	۰/۱۸	۰/۵۸
تولید کل مواد جامد شیر(کیلوگرم در روز)	۳/۸۵^{b}	۳/۹۵^{b}	۴/۱۵^{a}	۴/۰۲^{ab}	۰/۰۶	<۰/۰۱
درصد مواد جامد بدون چربی شیر	۸/۱۸^{a}	۸/۳۷^{b}	۸/۴۰^{ab}	۸/۱۴^{a}	۰/۰۷	<۰/۰۱
تولید مواد جامد بدون چربی شیر	۲/۸۲^{b}	۲/۹۲^{a}	۳/۰۳^{c}	۲/۹۵^{a}	۰/۰۲	<۰/۰۱
نیتروژن اوره ای شیر(میلی گرم در دسی لیتر)	۱۵/۰۰^{b}	۱۶/۸۹^{c}	۱۸/۵۴^{a}	۱۹/۱۶^{a}	۱/۰۴	۰/۰۴

*میانگین های یک ردیف با حروف انگلیسی غیر مشابه، دارای اختلاف معنی داری هستند(p<۰/۰۵)

[1]جیره های یک الی جهار به ترتیب حاوی ۱۰/۶۰، ۱۱/۰۷، ۱۱/۵۴ و ۱۲/۰۰ درصد MPدر کیلوگرم ماده خشک.

[2]میانگینخطایاستاندارد.

همانند FCM تولید پروتئین شیر نیز در سطح ۱۱/۵۴ درصد MP حداکثر بود. نتایج مشابهی نیز در مطالعات سایر محققین گزارش گردید(Raggio et al., 2004; Wang et al., 2007). Raggio et al., (2004)

گزارش کردند که تولید پروتئین شیر در سطح بالاتر MP جیره نسبت به سطوح پایین و متوسط کاهش یافت. اگر کمبود سایر مواد مغذیی برای سنتز شیر مانند انرژی و عدم تعادل اسیدهای آمینه وجود داشته باشد، اسیدهای آمینه از غدد پستانی به کبد و بافت احشایی برگشته و در انجا اکسید می شود. حتی بیان شده است که کبد عامل موثر در تعیین ورود اسیدهای آمینه به غدد پستانی است و اگر مقادیر اسیدهای آمینه وارده به کبد بیشتر از ظرفیت غدد پستانی برای سنتز پروتئین شیر باشد توسط خود کبد برداشت و متابولیزه می شوند (Bell et al., 1995).

در برخی از مطالعات که اسیدهای آمینه به داخل شیردان یا رگ مزنتریک تزریق شد، میزان برداشت اسیدهای آمینه توسط کبد برابر با میزان تزریق بود به طوری که اسیدهای آمینه حتی به غدد پستانی نرسیدند (Bruckental et al., 1997;Guerino et al., 1991; Wray-Cahen et al., 1997).در یک مطالعه که از اسیدهای آمینه رادیو اکتیو استفاده کردند، مشاهده شد که سوزاندنفنیل آلانین نشان دار توسط کبد در سطح پایینMP کمتر بود(Raggio et al., 2007). نتیجه گیری می شود احتمالا کمبود سایر مواد مغذی از جمله انرژی و برداشت و سوزاندن اسیدهای آمینه بیشتر توسط کبد در سطوح بالای MP از افزایش تولید شیر و پروتئین شیر بیشتر ممانعت کرد. یکی از دلایل احتمالی پاسخ مثبت گاوها به سطح بیشتر MP، برآورد بیش از واقعی تولید پروتئین میکروبی توسط سیستم پروتئین و کربوهیدرات خالص کرنل باشد(Lanzaset et al., 2007).این سیستم برای تعیین تجزیه پذیری پروتئین از داده های بدست آمده با کیسه های نایلونی استفاده می کند، در این روش بخش سریع تجزیه شونده به عنوان بخشی در نظر گرفته می شود که به سنتز پروتئین میکروبی کمک می کند در حالی ممکن است این بخش مستقیما وارد روده باریک گردد(NRC, 2001). همچنین در فراکشنینگ کربوهیدرات و پروتئین و سرعت تجزیه پذیری آن ها نیاز به مطالعات بیشتر می باشد(Lanzaset et al., 2007). میانگین تولید چربی شیر بین تیمارها تفاوت معنی داری نداشت. یکی از دلایل آن عدم معنی داری بودن غلظت اسیدهای چرب فرار، نسبت استات و بوتیرات مایع شکمبه باشد(جدول ۶). زیرا این دو اسید چرب منابع مهم سنتز چربی شیر در گاوهای شیری هستند(NRC, 2001). تولید و درصد لاکتوز تحت تاثیر سطوح مختلف MPقرار گرفت(p<۰/۰۵). با توجه به اینکه غلظت گلوکز خون بین تیمارها نیز معنی دار نبود(جدول ۵) و با توجه به اینکه گلوکز خون منبع مهم سنتز لاکتوز است(Bell et al., 1995)، دلیل معنی دار شدن اثر تیمارهای آزمایشی بر لاکتوز شیر هنوز مشخص نیست. یکی از دلایل احتمالی بحث صرفه جویی مصرف گلوکز توسط بافت پستانی می باشد، زیرا برخی از اسیدهای آمینه در فرایند گلوکونئوژنز در بافت پستانی تبدیل به گلوکز می شوند. همچنین با توجه به اینکه بافت پستانی حدود ۵۰ درصد از گلوکز ورودی به بافت را مصرف می کند بنابراین بافت پستان نقش مهمی در متابولیسم گلوکز و سنتز لاکتوز شیر دارد و به همین دلیل ممکن است غلظت لاکتوز شیر با غلظت گلوکز خون همخوانی نداشته باشد(Bell et al., 1995). در مطالعه Wang et al., (2007) و Weiss et al., (2009) نیز با وجود عدم تفاوت معنی دار در غلظت گلوکز خون درصد و تولید لاکتوز شیر معنی دار بود. غلظت MUN با افزایش سطح MPبه طور خطی افزایش یافت(p<۰/۰۵). اسیدهای آمینه ای که بیش از نیاز گاو باشند در کبد سوزانده می شوند و اسکلت کربنی آنها در چرخه گلوکونئوژنز تبدیل به گلوکز می شود و گروه آمینی در کید به اوره تبدیل شده و وارد مخزن اوره بدن می گردد(NRC, 2001). بخشی از اوره خون به دستگاه گوارش بر می گردد(از طریق بزاق و دیواره شکمبه) و بخشی نیز از ادرار و در گاوهای شیرده از طریق شیر بدن را ترک می کند(Raggioet al., 2007). ارتباط مثبتی بین غلظت BUN و MUN وجود دارد(Broderick &Clayton, 1997). در سایر مطالعات نیز وقتی سطح MP افزایش یافت غلظت MUN نیز روند افزایشی داشت(Wang et al., 2007; Weiss et al., 2009 (Blouin et al., 2002;.

مصرف ماده خشک، بازده خوراک، تغییرات وزن و امتیاز بدنی و بازده نیتروژن

اثر پروتئین بر میزان ماده خشک مصرفی پیچیده می باشد (Faverdin et al., 2003). میانگین ماده خشک

مصرفی تحت تاثیر سطوح مختلف MP قرار نگرفت. مکانیسم پیشنهادی برای اثر پروتئین روی ماده خشک مصرفی از طریق افزایش قابلیت هضم فیبر جیره توسط افـزایـش پروتئین قـابل تجزیـه در شکمبـه (RDP) می باشد. همچنین حداقل غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه برای رشد میکروارگانیسم های شکمبه ۵ میلی گرم در دسی لیتر است (Satter and Slyter, 1974). در این مطالعه غلظت نیتروژن آمونیاکی در همه تیمارها بالاتر از ۵ میلی گرم در دسی لیتر بود(جدول ۵). بنابراین نیتروژن آمونیاکی رشد میکروب ها را محدود نکرده است. در سایر مطالعاتی که اثر سطوح مختلف MPبررسی شده بود، اثر معنی داری روی ماده خشک مصرفی گزارش نکردند(Blouin et al., 2002; Wang et al., 2007;Weiss etal., 2009a). بازده استفاده از نیتروژن با افزایش سطح MPبه طور خطی کاهش یافت(p<۰/۰۵). به طوری که بازده استفاده از نیتروژن در سطح ۱۰/۶۰ درصد پروتئین قابل متابولیسم ۲۸ درصد و در تیمار ۴ با ۱۲/۰۰ درصد پروتئین قابل متابولیسم به ۲۴ درصد کاهش یافت. افزایش سطح نیتروژن آمونیاکی شکمبه و MUN و BUN نشان دهنده کاهش بازده استفاده ازنیتروژن توسط گاوهای شیری می باشد(Spear et al., 2002). در اکثر مطالعات افزایش سطح پروتئین جیره به طور خطی بازده استفاده از نیتروژن را کاهش داده است(Blouin et al., 2002; Lapierre et al., 2002; Raggio et al., 2004). در توصیه های جدید تغذیه گاوهای شیری بازده استفاده از پروتئین نیز مهم می باشد (NRC, 2001, ; Raggio etal.,2007).

گاوهای شیری با سطحی از پروتئین تغذیه شود که هم تولید شیر را افزایش دهد و هم بازده استفاده از نیتروژن نیز بهینه نماید. با توجه به عدم اختلاف معنی دار در ماده خشک مصرفی بازده استفاده از خوراک بین تیمارها معنی دار نبود. گاوهای مورد استفاده در این مطالعه در اوایل شیردهی قرار داشتند(میانگین روزهای شیردهی ۳۰/۶۷) و با توجه به تولید بالا و ماده خشک مصرفی پایین انتظار می رود که در تعادل منفی انرژی بوده و وزن از دست بدهند(NRC, 2001). اما تغییرات وزن بدن، امتیاز وضعیت بدنی تحت تاثیر سطوح مختلف MPقرار نگرفت(جدول ۴). نتایج مشابهی توسط سایر محققین گزارش شده است(Law et al., 2009; Weiss et al., 2009a;Weiss &Wyatt., 2006).

جدول ۴- میانگین حداقل مربعات مصرف ماده خشک، بازده تولید، بازدهی استفاده از نیتروژن، تغییرات وزن زنده و امتیاز بدنی گاوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی

صفت اندازه گیری شده	جیره ها[1]					
	۱	۲	۳	۴	SEM[2]	P-value
ماده خشک مصرفی	۲۲/۴۳	۲۲/۷۵	۲۳/۳۱	۲۲/۶۴	۰/۳۰	۰/۶۰
بازده تولید شیر(۳/۵ درصد چربی)	۱/۴۳	۱/۴۳	۱/۴۹	۱/۴۹	۰/۰۶	۰/۵۸
بازدهی نیتروژن[3]	۰/۲۸[a]	۰/۲۷[a]	۰/۲۶[a]	۰/۲۴[b]	۰/۰۰۱	۰/۰۴
تغییرات وزن زنده(کیلوگرم در روز)	-۰/۴۳	-۰/۴۵	-۰/۲۳	۰/۵۰-	۰/۱۲	۰/۲۹
تغییرات امتیاز بدنی	-۰/۳۹	-۰/۴۱	-۰/۲۱	-۰/۴۶	۰/۱۵	۰/۲۳

*میانگین های یک ردیف با حروف انگلیسی غیر مشابه، دارای اختلاف معنی داری هستند(p<۰/۰۵)

[1]جیره های یک الی جهار به ترتیب حاوی ۱۰/۶۰، ۱۱/۰۷، ۱۱/۵۴ و ۱۲/۰۰ درصد MPدر کیلوگرم ماده خشک.

[2]میانگینخطایاستاندارد.

[3]نسبت نیتروژن کل شیر به مقدار کل نیتروژن مصرفی(اقتباس از ونگ و همکاران، ۲۰۰۷).

متابولیت های خونی

غلظت اسیدهای چرب غیر استریفه خون بین تیمار ها تفاوت معنی داری نداشت. Castilo et al., (2001) همبستگی بالای بین غلظت اسیدهای چرب غیر استریفه خون و بسیج چربی های بدنی گزارش کردند. با توجه به اینکه ماده خشک مصرفی و تغییرات وزن بدن و امتیاز وضعیت بدنی بین تیمارها تفاوت معنی داری نداشت(جدول۳)، بنابراین احتمالا بسیج چربی

های بدنی تحت تاثیر سطوح مختلف MP قرار نگرفت. در مطالعه ای گاوهای شیری در اوایل زایش با چهار سطح مختلف پروتئین خام تغذیه شد، سطح پروتئین خام جیره اثر معنی داری روی غلظت اسیدهای چرب غیراستریفه نداشت (Law et al., 2009).

آنالیز آماری نشان داد که اثر سطوح مختلف پروتئین قابل متابولیسم اثر معنی داری روی غلظت گلوکز خون نداشت(جدول ۵). گلوکز خون گاوها از منابع مختلفی همانند پروپیونات(۵۰ تا ۶۰ درصد)، اسید لاکتیک (۱۵ تا ۲۰ درصد)، اسیدهای آمینه(۲۰ تا ۳۰ درصد) و گلیسرول(۲ تا ۴ درصد) که حاصل از تجزیه چربی بدنی می باشد (Reynolds et al., 2003). غلظت پروپیونات شکمبه بین تیمارها معنی دار نبود(جدول۵) که یکی از دلایل احتمالی عدم معنی دار شدن غلظت گلوکز خون می باشد.,Blouin et al. (2002) با تغذیه یک سطح پایین تر و یک سطح بالاتر از نیاز MPبه گاوها اختلاف معنی داری برای غلظت گلوکز خون گزارش نکردند.

غلظت کلسترول و تری گلیسرید خون تحت تاثیر سطوح مختلف پروتئین قابل متابولیسم قرار نگرفت. یکی از منابع مهم برای تولید کلسترول در بافت احشایی، کبد و بافت چربی، گلوکز خون می باشد (Bell et al., 1995). در این مطالعه غلظت گلوکز خون گاوهای تحت تاثیر سطوح مختلف MP قرار نگرفت که می تواند یکی از دلایل احتمالی عدم اختلاف معنی دار غلظت کلسترول خون باشد.

میانگین غلظت پروتئین کل خون همانند تولید شیر تحصیح شده و پروتئین شیر، افزایش سطح MP تا ۱۱/۵۴ درصد در ماده خشک باعث افزایش غلظت پروتئین کل خون شد، اما با افزایش بیشتر سطحMP غلظت پروتئین کل خون کاهش یافت. در آزمایشی دیگر تغذیه سه سطح پایین، متوسط و بالای MP جیره به گاوها، غلظت کل پروتئین خون را تحت تاثیر قرار نداد (Raggio et al., 2004). پروتئین های خون نقش مهمی در کنترل فشار خون و تعادل اسمزی دارند (Raggio et al., 2007). غلظت BUNبا افزایش سطح MP جیره ای افزایش یافت(جدول ۵). کبد بخشی از اسیدهای آمینه خون را برای سنتز پروتئین ها خون برداشت می کند ولی اگر غلظت اسیدهای آمینه خون بیش از ظرفیت برای تولید پروتئین شیر و اندام ها بدن باشد سوزانده و گروه آمینی آن در کبد تبدیل به اوره می گردد(NRC,2001) وبخشی از اوره خون از طریق بزاق و دیواره شکمبه به دستگاه گوارش بازچرخ می شود و بخشی نیز از طریق ادرار و شیر دفع می گردد. همبستگی مثبتی بین سطح BUN و MUN وجود دارد(Spears et al., 2002).

جدول ۵- میانگین حداقل مربعات فراسنجه های خون در گاوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی

صفت اندازه گیری شده	جیره ها[1]					
	۱	۲	۳	۴	SEM[2]	P-value
اسیدهای چرب غیر استریفه (میلی مول در لیتر)	۰/۲۷	۰/۲۳	۰/۱۶	۰/۱۸	۰/۰۶	۰/۶۸
تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)	۲۲/۰۲	۲۲/۵۲	۲۲/۶۹	۲۱/۶۹	۱/۷۲	۰/۴۲
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۶۰/۲۶	۱۵۱/۲۰	۱۵۰/۵۲	۱۶۸/۸۴	۱۱/۶۰	۰/۴۰
کل پروتئین (گرم در دسی لیتر)	۷/۵۸[b]	۸/۲۴[ab]	۸/۶۷[a]	۸/۰۰[ab]	۰/۲۶	۰/۰۳
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	۵۳/۵۱	۵۳/۶۵	۵۴/۷۹	۵۳/۱۲	۱/۹۴	۰/۰۲
نیتروژن اوره ای خون (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۶/۳۵[c]	۱۶/۶۳[c]	۱۷/۷۲[b]	۱۹/۰۵[a]	۱/۰۲	۰/۰۳

*میانگین های یک ردیف با حروف انگلیسی غیر مشابه، دارای اختلاف معنی داری هستند($p<0/05$)

[1]جیره های یک الی جهار به ترتیب حاوی ۱۰/۶۰، ۱۱/۰۷، ۱۱/۵۴ و ۱۲/۰۰ درصد MPدر کیلوگرم ماده خشک.

[2]میانگینخطایاستاندارد.

متابولیت های شکمبه ای

میانگین مقدارpH مایع شکمبه تحت تاثیر سطوح مختلف MP قرار نگرفت. در مطالعات دیگران نیز تغذیه سطوح مختلف پروتئین خام و MP اثر معنـی داری روی pH شکمبه نداشت (Weiss &Wyatt,2006; Olmas Colmenero &Broderick, 2006a). یکی از دلایل

احتمالی عدم تاثیرگذاری سطوح مختلف MP روی pH شکمبه می تواندناشی از یکسان بودن سطح علوفه به کنسانتره و غلات بین تیمارها اشاره کرد. همچنین غلظت اسیدهای چرب فرار ارتباط مستقیمی با pH مایع شکمبه دارد، که در این مطالعه تحت تاثیر سطوح مختلف MP قرار نگرفت. اثر سطوح مختلف MP روی نیتروژن آمونیاکی معنی دار نبود(جدول ۶). Olmas Colmenero &Broderick, (2006) گزارش کردند که غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه تحت تاثیر سطح RDP و فعالیت میکروبی قرار دارد. در این مطالعه از گلوتن ذرت به عنوان بخش پروتئین RUP استفاده گردید به طوری که میزان گلوتن ذرت برای جیره ۱ تا ۴ به ترتیب ۰/۰۹، ۰/۷۷، ۱/۳۲ و ۱/۸۴ درصد در ماده خشک بود. بیش از ۷۰ درصد پروتئین کنجاله گلوتن ذرت به شکل غیر RUP می باشد(NRC, 2001). براساس نتایج این مطالعه سطح MPجیره اثر معنی داری روی غلظت کل اسیدهای چرب فرار، غلظت استات، پروپیونات، نسبت استات به پروپیونات، والرات و ایزووالرات نداشت. در مطالعات دیگران که سطوح مختلف پروتئین خام و MP بررسی شده است، غلظت کل اسیدهای چرب فرار و نسبت های آن ها تحت تاثیر قرار نگرفت (Weiss&Wyatt, 2006; Olmas Colmenero &Broderick, 2006a). Faverdin et al., (2003) با تزریق پروتئین به داخل شکمبه از طریق فیستولای شکمبه اثر معنی داری روی غلظت کل اسیدهای چرب فرار و نسبت تک تک آن ها مشاهده نکردند.

جدول ۶- میانگین حداقل مربعات فراسنجه های مایع شکمبه در گاوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی

صفات اندازه گیری شده	جیره ها[1]					
	۱	۲	۳	۴	SEM[2]	P-value
کل اسیدهای چرب(میلی مولار در لیتر)	۹۷/۲۰	۹۲/۶۷	۹۸/۲۳	۹۱/۴۵	۲/۵۰	۰/۲۲
اسید استیک(میلی مولار در لیتر)	۷۱/۱۳	۶۶/۵۴	۷۲/۵۵	۶۵/۵۸	۱/۶۰	۰/۶۱
اسید پروپیونیک(میلی مولار در لیتر)	۱۴/۱۵	۱۷/۳۰	۱۶/۶۱	۱۶/۱۴	۰/۸۷	۰/۳۰
بوتیرات(میلی مولار در لیتر)	۷/۰۹	۶/۵۰	۷/۰۰	۶/۴۳	۰/۴۳	۰/۲۴
ایزووالرات(میلی مولار در لیتر)	۱/۳۷	۱/۵۸	۱/۴۴	۱/۹۸	۰/۰۷	۰/۱۵
والریک(میلی مولار در لیتر)	۰/۵۵	۰/۴۹	۰/۵۴	۰/۶۹	۰/۰۵	۰/۷۰
ازت آمونیاکی(میلی گرم در دسی لیتر)	۷/۶۰	۸/۱۹	۸/۲۸	۹/۹۴	۰/۸۷	۰/۴۵
PH مایع شکمبه	۶/۵۴	۶/۵۶	۶/۲۸	۶/۶۲	۰/۱۱	۰/۶۶

*میانگین های یک ردیف با حروف انگلیسی غیر مشابه، دارای اختلاف معنی داری هستند($p<0/05$)

[1]جیره های یک الی جهار به ترتیب حاوی ۱۰/۶۰، ۱۱/۰۷، ۱۱/۵۴ و ۱۲/۰۰ درصد پروتئین قابل متابولیسم در کیلوگرم ماده خشک.

[2]میانگینخطایاستاندارد.

نتیجه گیری کلی

نتیجه این مطالعه نشان می دهد که افزایش سطح MPتا ۱۱/۵۴درصد در ماده خشک در اوایل زایش اثر مثبتی روی تولید شیر و ترکیبات شیر دارد. به عبارت دیگر تغذیه پروتئین MPبیشتر از ۵ درصد از توصیه های کنونی برای گاوهای شیرده اوایل زایش باعث افزایشFCM و تولید پروتئین شیرشد. همچنین غلظت MUN که یکی از شاخص های دفع ازت از بدن است افزایش یافت. بازده استفاده از نیتروژن با افزایش سطح پروتئین قابل متابولیسم کاهش یافت.

سپاسگزاری

از زحمات کارکنان مزرعه تحقیقاتی و آزمایشگاه تغذیه دام گروه علوم دامی دانشگاه تهران برای همکاری در این مطالعه کمال تشکر و قدردانی را دارد.

REFERENCES

1. AOAC. (1990). *Official methods of analysis*. (15th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
2. Bell, A. W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*, 73, 2804–2819.

3. Blouin, J. P., Bernier, J. F., Reynolds, C. K., Lobley, G. E., Dubreuil, P. & Lapierre, H. (2002). Effect of Supply of Metabolizable Protein on Splanchnic Fluxes of Nutrients and Hormones in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 2618-2630.
4. Broderick, G. A. (2003). Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 1370-1381.
5. Broderick, G. A. & Clayton, M. K. (1997). A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science*, 80, 2964-2971.
6. Bruckental, I., Huntington,G. B., Baer, C. K. & Erdman, R. A. (1997). The effect of abomasal infusion of casein and recombinant somatotropin hormone injection on nitrogen balance and amino acid fluxes in portal-drained viscera and net hepatic and total splanchnic blood in Holstein steers. *Journal of Animal Science*, 75, 1119-1129.
7. Castillo, A. R., Kebreab, E., Beever, D. E., Barbi, J. H., Sutton, J. D., Kirby, H. C. & J. France. (2001). The effect of energy supplementation on nitrogen utilization in lactating dairy cows fed grass silage diets. *Journal of Animal Science*, 79, 240–246.
8. Doepel, L., Pacheco, D., Kennelly, J. J., Hanigan, M. D., López, I. F. & Lapierre, H. (2004). Milk Protein Synthesis as a Function of Amino Acid Supply. *Journal of Dairy Science*, 87, 1279-1297.
9. Faverdin, P., M'hamed, D. & Verite, R. (2003). Effects of metabolizable protein on intake and milk production of dairy cows independent of effects on ruminal digestion. *British Journal of Nutrition*, 76, 137-146.
10. Guerino, F., Huntington, G. B. & Erdman, R. A. (1991). The net portal and hepatic flux of metabolites and oxygen consumption in growing beef steers given postruminal casein. *Journal of Animal Science*, 69, 387-395.
11. Hanigan, M. D. (2005). Quantitative aspects of ruminant splanchnic metabolism as related to predicting animal performance. *Journal of Animal Science*, 80, 23–32.
12. Jonker, J. S., Kohn, R. A. & High, J. (2002). Dairy herd management practices that impact nitrogen utilization efficiency. *Journal of Dairy Science*, 85, 1218-1226.
13. Lanzas, C., Sniffen, C.J., Seo, S., Tedeschi, L.O. & Fox, D.G. (2007). A revised CNCPS feed carbohydrate fractionation scheme for formulating rations for ruminants. *Livestock Science*, 136, 167–190.
14. Lapierre, H., Blouin, J. P., Bernier, J. F., Reynolds, C. K., Dubreuil, P. & Lobley, G. E. (2002). Effect of Supply of Metabolizable Protein on Whole Body and Splanchnic Leucine Metabolism in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 2631-2641.
15. Law, R. A., Young, F. J., Patterson, D. C., Kilpatrick, D. J., Wylie, A. R. & Mayne, C. S. (2009). Effect of dietary protein content on animal production and blood metabolites of dairy cows during lactation. *Journal of Dairy Science*, 92, 1001-1012.
16. National Research Council. (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 6th rev. ed. Nati. Acad. Sci.,Washington, DC.
17. Olmos Colmenero, J. J. & Broderick, G. A. (2006a). Effect of dietary crude protein concentration on ruminal nitrogen metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 1694–1703.
18. Olmos Colmenero, J. J. & Broderick, G. A. (2006b). Effect of Dietary Crude Protein Concentration on Milk Production and Nitrogen Utilization in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 1704–1712.
19. Ottenstein, D.M. & Bartley, D.A. (1971). Improved gas chromatography separation of free acids C2-C3 in dilute solution. *Analysis of Chemical*, 43, 952-955.
20. Raggio, G., Lobley, G. E., Berthiaume, R., Pellerin, D., Allard, G., Dubreuil, P. & Lapierre, H. (2007). Effect of protein supply on hepatic synthesis of plasma and constitutive proteins in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 352-359.
21. Raggio, G., D. Pacheco, R., Berthiaume, G. E., Lobley, D., Pellerin, G., Allard, P., Dubreuil. & Lapierre, H. (2004). Effect of level of metabolizable protein on splanchnic flux of amino acids in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 3461-3472.
22. Rius, A. G., McGilliard, M. L., Umberger, C. A. & Hanigan, M. D. (2010). Interactions of energy and predicted metabolizable protein in determining nitrogen efficiency in the lactating dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 93, 2034-2043.
23. SAS Institute. (2004). *User,s Guids Version 9. 1: Statistics*. SAS Institute, Cary, NC.
24. Satter, L.D. & L. L., Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British journal of Nutrition*, 2, 199-208.
25. Spears, R. A., Kohn., R. A. & Young, A. J. (2003). Whole-farm nitrogen balance on western dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 86, 4178-4186.

26. Wang, C., Liu, J. X., Yuan, Z. P., Wu, Y. M., Zhai, S. W. & Ye, H. W. (2007). Effect of level of metabolizable protein on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 2960-2965.
27. Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583–3597.
28. Weiss, W. P., St-Pierre, N. R. & Willett, L. B. (2009a). Varying type of forage, concentration of metabolizable protein, and source of carbohydrate affects nutrient digestibility and production by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 5595-5606.
29. Weiss, W. P., Willett, L. B., St-Pierre, N. R., Borger, D. C., McKelvey, T. R. & Wyatt, D. J. (2009b). Varying forage type, metabolizable protein concentration, and carbohydrate source affects manure excretion, manure ammonia, and nitrogen metabolism of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 5607-5619.
30. Weiss, W. P. & Wyatt, D. J. (2006). Effect of corn silage hybrid and metabolizable protein supply on nitrogen metabolism of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 1644-1653.
31. Wildman, E. E., Jones, G. M., Wagner, P. E., Boman, R. L., Troutt., H. F. & Lesch, T. N. (1982). A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of Dairy Science*, 65, 495–501.
32. Wray-Cahen, D., Metcalf, J. A., Backwell, F. R., Bequette, B. J., Brown, D. S., Sutton, J. D. & Lobley, G. E. (1997). Hepatic response to increased exogenous supply of plasma amino acids by infusion into the mesenteric vein of Holstein-Friesian cows in late gestation. *British Journal of Nutrition*, 78, 913-930.