## چکیده

برای تعیین میزان تأثیر منابع مختلف بافری بر پارامترهای تولیدی گاو های شیری هلشتاین و ارزیابی عملکرد بافرها بر تخمیر شکمبه و pH شکمبه دو آزمایش صورت گرفت. در آزمایش اول، شش رأس گاو شیری هلشتاین در قالب یک طرح مربع لاتین تکرار شده اوایل دوره شیردهی با جیره کاملاً مخلوط همراه با مصرف آزاد، تغذیه شدند، قرار داده شدند که جیره بر پایه 65٪ کنسانتره و 35٪ علوفه (20٪ سیلوی ذرت و 15٪ یونجه خشک) بود. **تیمارهای آزمایش شامل: 1- تیمار بدون بافر (کنترل)، 2- بی کربنات سدیم 1٪ ماده خشک جیره و 3- بافر تجاری 2٪ ماده خشک جیره بودند. ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم ظاهری برای همه تیمارها یکسان بود. تولید شیر برای 3 تیمار بدون جوش 38/9، باجوش 39/37 و با بافر تجاری 40/5 بود. چربی شیر تیمار بافر تجاری نیز به صورت معنی داری افزایش یافته بود**. تولید پروتئین شیر تحت تأثیر جیره ها قرار نگرفته بود. قابلیت هضم فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) و فیبر نا محلول در شوینده خنثی نیز مشابه هم بودند. pH خون تحت تأثیر جیره ها در طول زمان آزمایش قرار نگرفت.آزمایش دوم به منظور بررسی تأثیرات منابع مختلف بافری بر پارامترهای تخمیری شکمبه و قابلیت هضم مواد دفعی با 3 رأس گاو فیستولا گذاری شده در قالب یک طرح مربع لاتین تکرار شده انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل کنترل، جیره حاوی 1٪ جوش شیرین، جیره حاوی 2٪ بافر تجاری بر اساس ماده خشک بودند. قابلیت هضم ظاهری ماده خشک در آن تحت تأثیر جیره‌ها قرار گرفت و به ترتیب 86/8، 80/2 و 81/76 بودند، اما قابلیت هضم NDF برای همه تیمارها مشابه بود. pH خون نیز تحت تأثیر هیچ یک از تیمارها در طول آزمایش قرار نگرفت **و کاهش افت pH شکمبه نیز برای بافر تجاری کمتر از سایر تیمارها بود.**

## مقدمه

استفاده از بافرها در جیره نشخوارکنندگان، فکر جدیدی نیست و Forbs (1909) احتمالاً اولین کسی بود که اهمیت بالقوه استفاده از بافرها را در تغذیه گوسفندان و گاوها تشخیص داد. با این وجود این تفکر به فراموشی سپرده شد تا اینکه در دهه 1950 دوباره این موضوع به صورت یک نظریه مجدداً مورد توجه قرار گرفت که ممکن است استفاده از بافرها در تغذیه دام نتایج اقتصادی داشته باشد. نشخوار کنندگان از مواد با تراکم کم و علوفه زیاد استفاده می‌کنند. اما فشارهای اقتصادی دو دهه 1930 و 1940 سبب یک افزایش نیاز به تولید سریع و بالا در دام‌ها شد که برای تحقق بخشیدن به این امر تاکید متخصصین تغذیه بر استفاده از منابع دانه‌ای و مخصوصاً غلات، به میزان زیاد بود. پس از آن تعدادی ناهنجاری متابولیکی مانند کبد چرب مشاهده شد که همه آن‌ها در ابتدا با اسیدی شدن شکمبه و نگاری ارتباط داشت که در نتیجه استفاده از منابع دانه‌ای فراوان بود. به علاوه افزایش تولیدی مورد انتظار از تغذیه مواد پر انرژی نیز مشاهده نگردید و حتی کاهش قابلیت هضم و کاهش ماده خشک مصرفی را در پی داشت. پس از آن با مشاهده نتایج جالب توجه استفاده از بافرها در این‌گونه جیره‌ها که شامل افزایش تولید و بهبود شرایط شکمبه بود استفاده از آن‌ها گسترش یافت.

تولید شیر گاوهای شیری طی 50 سال گذشته 4 برابر شده است و این امر باعث افزایش نیاز روزانه آن‌ها به مواد مغذی گوناگون مانند، انرژی، پروتئین، مواد معدنی و ویتامین‌ها شده تا آن‌ها بتوانند فعالیت فیزیولوژی خود را بخوبی انجام دهند. از بین این مواد مغذی، انرژی اصلی‌ترین عامل در تولید شیر گاوهای شیری می‌باشد که انرژی مورد نیاز برای تولید شیر 3 برابر انرژی نگهداری حیوان است. تولید شیر عمده‌ترین استرسی است که به حیوان وارد می‌شود بنابراین باید به طور شایسته‌ای این میزان انرژی تأمین گردد.

در بین تحقیقات صورت گرفته بر روی تأثیر منابع مختلف بـافری بـر روی دام‌هـای نشـخوارکننده اتفـاق نظـر کمـی وجود دارد. در حالی که تعدادی از مطالعات تأثیر اقتصادی بافرها را نشان داده‌انـد، بعضـی دیگـر نتـایج قابـل قبـولی نیافته و حتی در بعضی موارد کاهش عملکرد دام‌ها را نیز گزارش کرده‌اند. بنـابراین هـدف از ایـن آزمـایش بررسـی تأثیر منابع مختلف بافری جهت خنثی سازی محیط شکمبه در گاو و مقایسه تأثیرات آن‌ها بر عملکرد دام بود.

# 1- بررسی منابع

## 1-1- اسیدهای چرب فرار (VFA) در شکمبه:

در شکمبه گاوهای شیری اسیدهای چرب فرار به وسیله تخمیر کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها توسط میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند (Dijkstra,1992). اسید استیک، پروپیونیک و اسید بوتیریک ، اسیدهای چرب فرار غالب شکمبه اند. غلظت و خاصیت این اسیدهای چرب فرار به میزان مصرف خوراک (Sutton,1985) و ترکیب خوراک (Murphy et al. 1982) بستگی دارد.

در شکمبه ، اسیدهای چرب فرار منبع اصلی انرژی دام می‌باشند و حداقل 50٪ از کل انرژی قابل هضم را تأمین می کنند (Sutton,1985). میزان تولید اسیدهای چرب و نوع ترکیب آن‌ها، میزان انرژی در دسترس دام و بنابراین میزان و ترکیب شیر را مشخص می کند (Thomas and Martin, 1988).

طول زنجیر، pH شکمبه و اسمزیته مایع شکمبه در میزان جذب اسیدهای چرب فعال موثر است ( Bugaut, 1987 و Bergman, 1990). البته در نتایج این آزمایشات ممکن است تفاوت‌هایی دیده شود که می‌تواند مربوط به نوع آزمایش باشد. در آزمایشات آزمایشگاهی کمیت اسیدهای چرب فعال، از کیفیت آن‌ها مهم‌تر بود و این نتایج ممکن است که قابل انتقال به شکمبه نباشد (Bergman, 1990).

سرعت جذب اسیدهای چرب در شکمبه از بالا به پایین بـه ترتیـب شـامل بـوتیرات، پروپیونـات و در نهایـت اسـتات است. با افزایش غلظت این مواد در شکمبه که همراه با کاهش pH است افزایش جذب نیز مشاهده مـی‌شـود کـه بـه عنوان یکی از مکانیسم‌های جلوگیری از کاهش pH شکمبه شناخته شده است.

میزان ورود و خروج آب به داخل و خارج از شکمبه باعث تغییر در فشار اسمزی مایع شکمبه می‌گردد کـه تغییـر در شرایط اسمزی شکمبه سبب تغییر در نرخ جذب اسیدهای چرب خواهد شد.

## 1-2- اسیدوز

اسیدوز اختلالی متابولیکی در شکمبه است که به دلیل کاهش pH شکمبه رخ می‌دهد و به 2 نوع حاد و تحـت حـاد (SARA)[1] تقسیم می‌شود که به دلیل مشکل بودن شناسایی آن تخمین زده شده اسـت کـه سـالیانه فقـط در آمریکـا 500 میلیون تا 1 میلیارد دلار هزینه بر می‌دارد و در آزمایشی که در ایـران (سـال 2008) و خراسـان رضـوی انجـام گرفت حدود 27/6٪ گاوها در تمام گله ها دچار اسیدوز تحت حـاد و حـدود 24٪ در pH بسـیار نزدیـک بـه ایـن اختلال متابولیکی بودند که نه تنها در گروه گاوهای تازه زا که در اوایل دوره شیردهی هستند مشـاهده شـدند، بلکـه گاوهای در اواسط دوره شیردهی هم دچار این اختلال متابولیکی بودند البته اصولاً گاوهای تازه زا بیشتر در معـرض ابتلا به اختلال متابولیکی هستند (Tajik, 2009).

اسیدوز تحت حاد اختلالی متابولیکی است کـه در آن pH شـکمبه بـین دو حالـت مـزمن و حـاد کـاهش (5/5-5) می‌یابد (Garret et al., 1999; Nordlund et al., 1995) که این امر ناشی از تولید اسیدهای حاصـل از تخمیـر بیشتر از حد توانایی حیوان برای حذف و خنثی سازی اثر آن‌هاست (Allen, 1997) وایـن کـاهش pH شـکمبه بـه زیر 5/6 برای 3-5 ساعت در طول روز ادامه می‌یابد (AlZahal et al., 2007).

[1] Subacute Rumen Acidosis

در شرایط اسیدوز تحت حاد معمولاً غلظت کم اسیدلاکتیک مشاهده می‌شود و دلیل اصلی کاهش pH در شکمبه را افزایش غلظت کلی اسیدهای چرب فعال[2] (VFA) و نه اسید لاکتیک به تنهایی می‌دانند (Oetzel et al., 1999 Krause and Oetzel, 2006).

تأمین انرژی و تعادل مناسب در دام‌ها بین نسبت انرژی و فیبر کار دشواری است و برای گاوهای تازه زا این کار دشوارتر می‌شود زیرا، نیاز بالاتری به انرژی دارند که از طریق مصرف بیشتر کنسانتره (مواد دانه ای) تأمین می‌شود و این امر سبب بالا رفتن میزان نشاسته و دیگر مواد با نرخ تخمیر بالا در شکمبه می‌شود. بالا رفتن نرخ تخمیر منجر به ایجاد مقدار زیادی اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌شود که میزان آن بیش از حد توان جذب و خنثی سازی در شکمبه است که سبب انباشته شدن بیشتر این اسیدها شده و pH شکمبه را کاهش می‌دهد. کاهش pH به نوبه خود سبب افزایش فشار اسمزی محتویات شکمبه شده و کاهش مصرف خوراک را به همراه دارد ( Carter and Grovum, 1990). در گاوهای گوشتی (پرواری) افت pH به زیر 5/6 سبب کاهش مصرف خوراک می-شود(Fulton et al,1979) اما در گاوهای شیری یک pH دقیق برای کاهش و یا تغییر در مصرف خوراک شناخته نشده است. pH شکمبه در شرایط تغذیه ای گاوهای شیری بین 7-5/5 نگه داشته می‌شود و کاهش pH به زیر این میزان، اسیدوز تحت حاد را گسترش می‌دهد. از عوامل تغذیه ای که کاهش pH شکمبه را بر عهده دارند می‌توان محرومیت غذایی و بالا بودن نسبت کنسانتره به علوفه را نام برد.

pH شکمبه تابع تولید اسیدهای چرب فرار توسط باکتری‌های شکمبه (ترکیب و میزان) ، میزان جذب VFA ها توسط شکمبه، جریان آب در دیواره‌های شکمبه و جریان بزاق و مواد سازنده بافرهای داخل شکمبه، اسیدیته خوراک و در نهایت میزان عبور آب از هزارلا به قسمت‌های پایین‌تر است (Murphy et al., 1982،

[2] Volatile Fatty Acids

Sutton,1985، Baldwin et al., 1987). از دیگر عوامل مهم میزان فیبر نا محلول در شوینده اسیدی[3] (ADF) است که هر درصد کاهش آن، موجب 0/564 واحد کاهش در pH شکمبه می‌شود و این کاهش pH اگر به زیر 6/3 در گاوهای شیری برسد باعث کاهش هضم ADF به میزان 3/6٪ می گردد (Erdman,1988).

از مشکلات اسیدوز تحت حاد که شناسایی آن مشکل است می‌توان به کاهش چربی شیر[4](MFD)( Kleen *et al.* 2003.) ، کاهش مصرف و کاهش قابلیت هضم فیبر (Kleen *et al.*, 2003) اشاره کرد. اگرچه، این مشکلات نسبی بوده و در خیلی از مواقع هیچ نشانه‌ای غیر از تغییرات دما در رکتوم را نشان نمی‌دهد.

در آزمایشاتOetzel, 2005, ، Kleen, 2004 هیچ تغییری در میزان تولید شیر ویا درصد چربی شیر دیده نشده بود، اما به علت اسیدوز تحت حاد سبب کاهش عمر اقتصادی دام و افزایش بیماری شد.

## 1-3- جذب اسیدهای چرب فرار و نقش آن در اسیدوز شکمبه‌ای

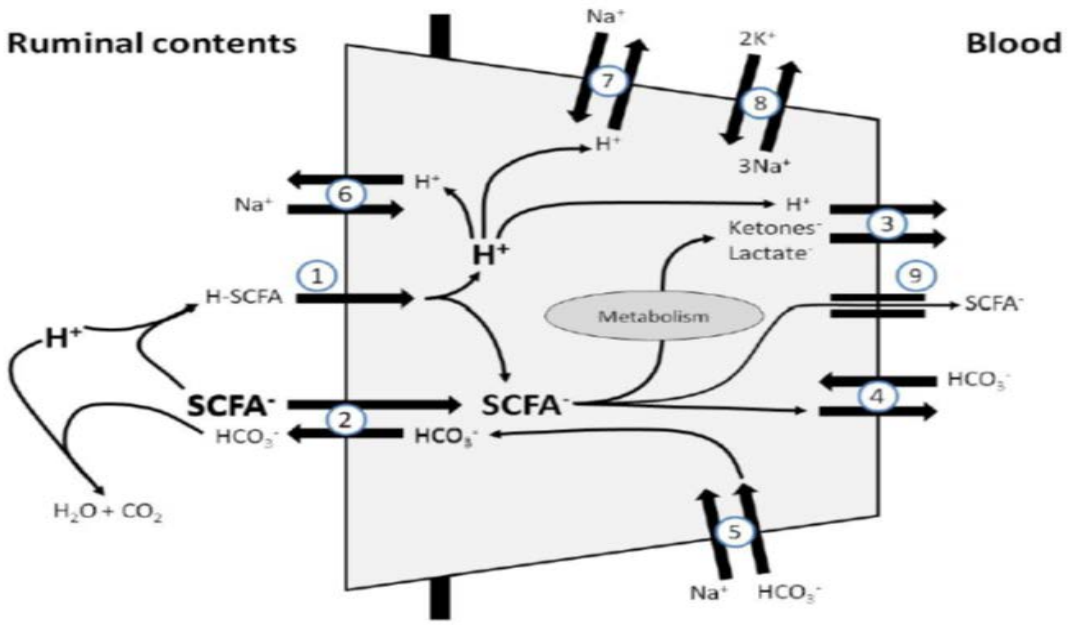
حیوانات نشخوارکننده احتیاجات خود را از طریق تخمیر در شکمبه و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر[5](SCFA) به منظور تأمین انرژی مورد نیاز و سنتز میکروبی به منظور تأمین اسیدهای آمینه مورد نیاز خود، بدست می‌آورند. برای تمایز انواع اسیدوز، pH شکمبه بر اساس قوانین ریاضی به 2 صورت حاد و تحت حاد با pH کمتر از 5/2 برای حاد و کمتر از 5/8 برای تحت حاد نشان داده می‌شود (Penner et al. 2007)، هر چند، در حقیقت این دو به هم پیوسته‌اند و ادامه اسیدوز تحت حاد به اسیدوز حاد می‌انجامد. کاهش pH شکمبه به زیر میزان مناسب، بر ترکیب باکتری‌های شکمبه تأثیر منفی گذاشته و فعالیت این سلول‌ها به سلول‌های اپیتلیال دیواره شکمبه آسیب می-رساند (Penner et al., 2010) و ممکن است سبب کاهش هضم فیبر نیز گردد.

[3] Acid Detergent Fibers
[4] Milk Fat Depression
[5] short-chain fatty acids

در دیدگاه‌های گذشته نسبت به تخفیف اسیدوز سعی بر افزایش عمل جویدن برای تولید میزان بزاق بیشتر بود تا بدین وسیله اسیدهای شکمبه خنثی گردند در حالیکه تخمین زده شده است که منبع بافری بزاق فقط 30 ٪ ظرفیت بافری کل شکمبه را دارد (Allen, 1997). بنابراین روشن است که نیاز به استراتژی‌های دیگری برای افزایش ظرفیت بافری شکمبه، حفظ سلامت حیوان، تخمیر شکمبه و تولید حیوان می‌باشد.

یکی از این استراتژی‌ها احتمالاً جذب SCFA از دیواره شکمبه باشد. در حقیقت بر اساس تخمین بالا، جذب SCFA از شکمبه نقش اساسی در حذف این اسیدها و متعاقب آن حذف 53٪ پروتون کل را از شکمبه دارد (Allen, 1997و Penner et al., 2009a و Aschenbach et al., 2010 ). آزمایشاتی که ابتدا بر روی گوسفند صورت گرفت نشان داد که SCFA از طریق دیواره شکمبه جذب می‌شود (Danielli et al., 1945) و با اینکه مطالعات همان زمان نیز وجود بی کربنات‌ها و گاز دی‌اکسید کربن را در محتوای شکمبه به اثبات رسانده و افزایش سریع pH شکمبه را در جذب SCFA می‌دانستند (Dijkstra et al., 1993) بازهم تصور می‌شد که جذب این اسیدها بر اساس جذب غیر فعال است (Graham et al., 2007). پیشنهاد این مکانیسم بیشتر بر پایه یافته‌هایی بود که نشان می‌داد اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، قابلیت عبور از دیواره‌های لیپیدی مانند اپیتلیال شکمبه را دارند (Walter and Gutknecht, 1986 و Gäbelan and Aschenbach, 2002 ). اما تعداد زیادی محدودیت برای این مدل پیشنهاد شد، برای مثال $pK_a$ و مقدار pH بالا برای SCFA ها سبب می‌شود که 90٪ آن‌ها به حالت تفکیک شده در آیند و بنابراین سرعت جذب آن‌ها بسیار کند می‌شود. البته این بینش با فرضیه ای که بیان می‌داشت در کنار سلول‌های اپیتلیال، لومینال‌ها[6] هستند و سبب تغییر pH در نواحی کنار دیواره و سلول‌های اپیتلیال به صورت مقطعی می‌شوند جواب داده شد (Graham and Simmons, 2005). مدل نیمه تمامی وجود دارد که نشان دهنده نحوه جذب SCFA و پایدار نگاه داشتن pH شکمبه است ( شکل 1-2 ).

[6] luminal




شکل 1-2 چگونگی جذب اسیدهای کوتاه زنجیر در شکمبه (Aschenbach et al. 2010)

هنگام جذب SCFA از طریق انتشار ساده، یک پروتون از محیط شکمبه برداشت می‌شود، اما پس از مشاهده در سیتوزول، SCFA به سرعت تفکیک می‌شود و پروتون برای حفظ pH داخل سلول و سلامتی بافت‌ها به خارج سلول منتقل می‌شود. ناقل‌ها موجود در تنظیم کننده های pH داخل سلولی شامل مبادله کننده های یون سدیم-هیدروژن هستند (NHE) که می‌توانند پروتون‌ها را به مجرا[7] یا فضای خارج سلولی انتقال دهند. علاوه بر NHE، انتقال دهندگان مونو کربوکسیلات (MCT) نشان داده شده که به صورت موضعی روی غشاء basolateral وجود دارند (Graham et al., 2007) و می‌توانند حذف پروتون ناشی از تولید نهایی متابولیسم (سوخت و ساز) SCFA را از قبیل اجسام کتونی و لاکتات، تسهیل کنند (Kirat et al., 2006). بنابراین، انتقال پروتون از طریق انتشار ساده نمی‌تواند یکی از راه های اصلی متعادل کردن pH شکمبه باشد. برای مثال، اگر پروتونی که از سلول برای حفظ

[7] Lumen

pH سلولی داخلی به خارج انتقال پیدا کرده دوباره به محیط شکمبه باز گردد، در حقیقت هیچ پروتون خالصی از شکمبه حذف نشده است. بر اساس این حقیقت، نشان داده شد که انتشار ساده سهم مستقیمی در متعادل کردن pH شکمبه ندارد. به طور قابل توجهی، فعالیت NHE در سلول‌های اپیتلیال شکمبه در هنگام مصرف جیره های با قابلیت تخمیر بالا افزایش می‌یابد (Etschmann et al., 2009; Yang et al., 2009).

ناقلین افزایش دهنده جذب SCFA شامل انواع مختلفی از مبادله گرهای آنیونی هستند (Bilk et al., 2005 و Aschenbach et al., 2009; Penner et al., 2009a). با مبادله آنیون، SCFAهای تفکیک شده با بی کربنات ها در یک پروسه انتقال بار خنثی مبادله می‌شوند. این مکانیسم یک منبع بی کربنات را برای محیط شکمبه تهیه می‌کند و باعث خنثی سازی پروتون از طریق واکنش کربنیک آنهیدراز، آب و دی اکسید کربن تولید می‌شود. نیروی انتقال بی کربنات به غلظت SCFA در شکمبه و pH شکمبه وابسته است.

این موضوع که جذب اسیدهای چرب کوتاه زنجیر باعث متعادل شدن pH می‌گردد برداشت جدیدی نیست. در آزمایشات اولیه ای که بر روی این فرآیند انجام شد، می‌دانستند که جمع شدن بی کربنات در شکمبه می‌تواند سبب افزایش pH به دلیل خاصیت بافری آن و با کمک جذب SCFA شود. برای مثال Dijkstra et al (1993) گزارش دادند که افزایش pH شکمبه به ترتیب از pH اولیه 4/5، 5/4، 6/3 و7/2 به 7/1، 8 ، 8/2 و 8/2 ، هنگام استفاده از بافرهای مصنوعی در شکمبه مشاهده شد.

در گاوهای شیری، Resende Júnior و همکاران (2006) گزارش دادند که pH شکمبه یک رابطه مثبت ( $r^2$ = 0/43) با کسری از نرخ محو شدن SCFA از شکمبه دارد. آن‌ها بیان داشتند که این می‌تواند مربوط به عبور SCFAها از شکمبه به هزارلا و یا جذب آن‌ها از دیواره شکمبه باشد. Penner و همکاران نیز یک وابستگی منفی

بین تظاهر تعداد ژن‌های دارای ژن متابولیسم SCFAها و شدت اسیدوز شکمبه در گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی 64٪ کنسانتره گزارش کرد.

## 1-4- نظریه های کاهش چربی شیر و اسیدوز

به طور کلی تئوری‌های کاهش چربی شیر را می‌توان به 2 قسمت تقسیم کرد،1- محدودیت سوبسترای سنتز چربی شیر در غدد پستانی که سبب کاهش چربی شیر می‌گردد (Bauman and Griinari, 2001 ). این تئوری‌ها (کمبود استات و بتا-هیدروکسی بوتیرات (BHBA) و تئوری گلوکوژنیک-انسولین) در رابطه با کاهش چربی شیر (MFD) است. تقریباً 50٪ اسیدهای چرب شیر از استات و BHBA تولید شده در شکمبه در غدد پستانی تولید می‌شوند. این پیش سازها در تولید اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیر و تقریباً نیمی از اسیدهای چرب 16 کربنه بکار می‌روند (Bauman and Griinari, 2001). اگرچه تئوری فراهم کردن سوبستراها جذاب است و هنوز در صنعت گاو شیری به آن‌ها رجوع می‌شود اما بعید است که بتواند MFD را توضیح دهد.این دلیل در جدول 1-1 آمده است.

جدول 1-1:تئوری‌های کمبود استات و بوتیرات و کاهش چربی شیر

| Item | Normal diet | High grain, low forage diet |
|---|---|---|
| Milk yield | No change | |
| Milk fat, g/d | 683 | 363 |
| Ruminal VFA, molar percentage | | |
| Acetate | 67 | 46 |
| Propionate | 21 | 46 |
| Butyrate | 11 | 9 |
| Acetate/propionate | 3.2 | 1.0 |
| Ruminal VFA production, moles/d | | |
| Acetate | 29.4 | 28.1 |
| Propionate | 13.3 | 31.0 |
| Whole-body entry of butyrate (moles/d) | 7.0 | 9.1 |

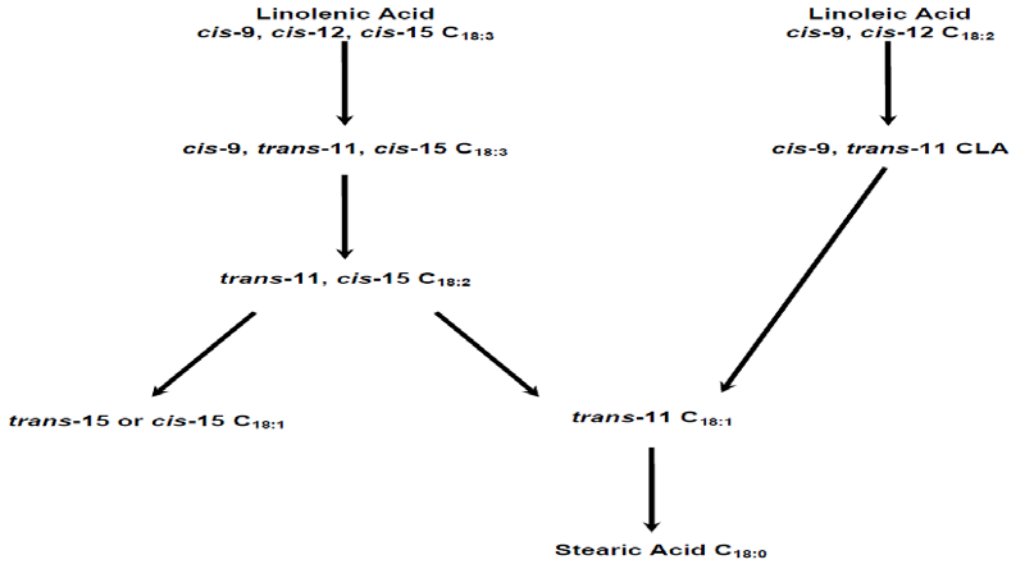
همانطوری که جدول 1-1 نشان می‌دهد (Bauman and Griinari, 2001) همزمان با کاهش در چربی شیر هنگام مصرف جیره با کنسانتره بالا و علوفه کم کاهش در درصد استات تولیدی و کاهش ناچیزی در تولید بوتیرات مشاهده شد و در این شرایط پروپیونات هم به سرعت افزایش یافت. به علاوه کاهش نسبت بوتیرات به پروپیونات رخ داد. این رویکرد معمولاً توسط محققین و افرادی مورد اشاره قرار می‌گیرد که یک تغییر در درصد اسیدهای چرب فرار را همراه با تغییرات در تولید مشاهده می‌کنند. با این وجود اطلاعاتی در جدول آمده است که نشان می‌دهد از طریق جیره، وقتی میزان پروپیونات تولیدی افزایش یابد بدون تأثیر بر غلظت استات و بوتیرات، باز هم کاهش چربی شیر مشاهده می‌شود.

این مسئله مارا به سمت تئوری دیگری هدایت می‌کند که به آن تئوری دوم یا گلوکوژنیک-انسولین گفته می‌شود. این تئوری پیشنهاد می‌کند که تولید زیاد پروپیونات سبب تولید زیاد گلوکز در کبد می‌شود که به نوبه خود افزایش غلظت انسولین بسیاری را در خون به همراه دارد. در رابطه با نحوه کار انسولین نیز فرض می‌شود که سلول‌های غدد پستانی به مقدار نا معلومی در مقایسه با سایر بافت‌ها (بافت چربی و ماهیچه) به انسولین غیر حساس‌اند که این مسئله سبب کاهش سنتز چربی شیر در حین رقابت سلول‌های غدد پستانی با سایر بافت‌ها می‌شود. اما با افزایش انسولین خون به صورت هایپرانسولینمیک اگلیسمیک[8] برای زمانی طولانی کاهش چربی شیر ایجاد و مشاهده نشد (McGuire et al., 1995).

دومین دسته از تئوری‌ها برای MFD مربوط می‌شود به تولید اسیدهای چرب خاصی در شکمبه، در موقعیتی که غذا های ایجاد کننده MFD مستقیماً سنتز چربی شیر را در غدد پستانی مهار می‌کنند.Davis and Brown (1970) مشاهده کردند که MFD معمولاً با افزایش غلظت اسیدهای چرب ترانس[9] در شیر همراه است. اسیدهای

[8] Hyperinsulinemiceuglycemic
[9] Trans-fatty acids

چرب ترانس در شکمبه در وسط واکنش‌های بیوهیدروژناسیون اسیدهای لینولئیک و لینولنیک به اسید استئاریک تولید می‌شوند (شکل 1-3). این دو اسید چرب به میزان زیادی در بیشتر علوفه ها و دیگر قسمت‌های غذایی گیاهان یافت می‌شوند که مورد مصرف گاوهای شیری قرار می‌گیرند (دانه حبوبات و دانه‌های روغنی و...). بیوهیدروژناسیون این اسیدهای چرب به وسیله باکتری‌های شکمبه در شکمبه به صورت گسترده رخ می‌دهد و بیشتر اسیدهای لینولئیک و لینولنیک که توسط گاو مصرف می‌شوند قبل از ترک شکمبه، به اسید استئاریک بیوهیدروژنه می‌شوند.




شکل 1-3: مسیر واکنش‌های بیوهیدروژناسیون اسیدهای لینولئیک و لینولنیک در شکمبه

تکنیک‌های پیشرفته اندازه گیری اسیدهای چرب به تشخیص این مسئله که مقادیر مختلف و تعداد زیادی از مونومرهای trans-C18:1 و اسید لینولئیک کونژوگیه[10] از شکمبه به قسمت‌های پایین‌تر رفته و جذب می‌گردند

[10] Conjugated Linoleic Acids

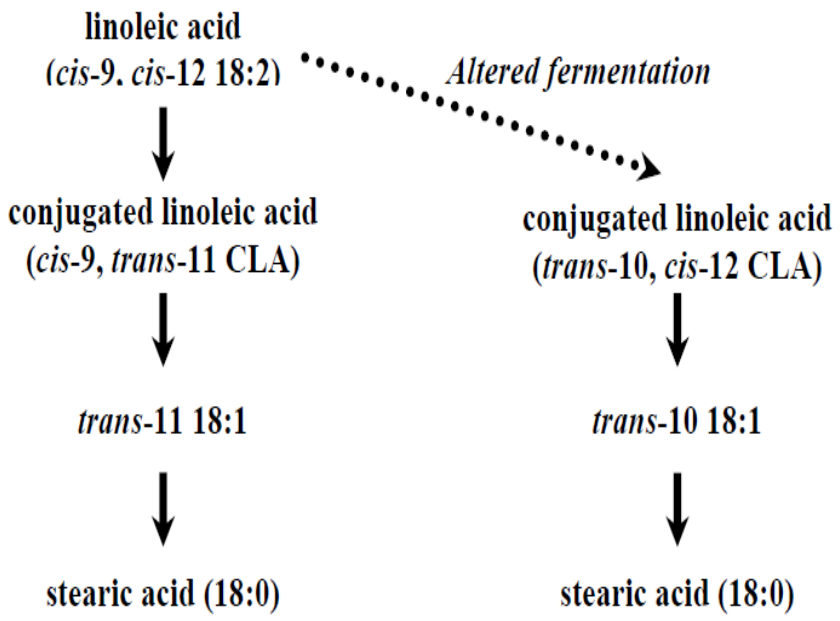
کمک کرد ( Bauman and Lock,2006، جدول 1-2) این یافته ها وقتی با دانسته‌هایی که فقط برخی از اسیدهای چرب ترانس و ایزومرهای اسید لینولئیک کونژوگه در ارتباط اند با MFD در کنار هم گذاشته شد، Bauman and Griinari (2001) را به سمت استنتاج تئوری ترانس برای MFD به تئوری بیوهیروژناسیون راهنمایی کرد. آن‌ها پیشنهاد کردند که تحت برخی شرایط، جیره‌ها مسیرهای بیوهیدروژناسیون شکمبه را به سمت تولید اسیدهای چرب منحصر به فردی که قدرت مهارکنندگی سنتز چربی شیر را دارند عوض می‌کند، که این واکنش‌ها و مسیرها معمولاً در pH پایین رخ می‌دهند.

جدول 1-2: دامنه و میزان خروج از شکمبه ایزومرهای ترانس 18:1 و CLA

| *Trans*-C18:1 | | | Conjugated Linoleic Acids | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Ruminal Outflow | | | Ruminal Outflow | |
| Isomer | Min | Max | Isomer | Min | Max |
| *Trans*-4 | 0.4 | 2.0 | *trans*-7, *cis*-9 | <0.01 | 0.01 |
| *Trans*-5 | 0.4 | 3.4 | *trans*-7, *trans*-9 | <0.01 | 0.02 |
| *Trans*-6-8 | 0.4 | 16.2 | *trans*-8, *cis*-10 | <0.01 | 0.3 |
| *Trans*-9 | 1.4 | 13.1 | *trans*-8, *trans*-10 | <0.01 | 0.10 |
| *Trans*-10 | 1.5 | 114.0 | *cis*-9, *trans*-11 | 0.31 | 2.86 |
| *Trans*-11 | 17.0 | 148.0 | *trans*-9, *trans*-11 | 0.14 | 0.29 |
| *Trans*-12 | 1.9 | 20.8 | *trans*-10, *cis*-12 | 0.02 | 1.84 |
| *Trans*-13 + 14 | 4.2 | 60.3 | *trans*-10, *trans*-12 | 0.05 | 0.23 |
| *Trans*-15 | 2.0 | 29.0 | *cis*-10, *trans*-12 | 0.08 | 0.29 |
| *Trans*-16 | 2.3 | 18.2 | *cis*-11, *trans*-13 | 0.01 | 0.33 |
| | | | *trans*-11, *cis*-13 | <0.01 | 0.46 |
| | | | *trans*-11, *trans*-13 | 0.09 | 2.02 |
| | | | *cis*-12, *trans*-14 | 0.12 | 0.85 |
| | | | *trans*-12, *trans*-14 | 0.07 | 0.19 |

تغییر مسیر بیوهیدروژناسیون شکمبه از اسید لینولئیک در شکل 1-4 نشان داده شده، در مسیری که باعث کاهش چربی شیر می‌شود، اسید لینولئیک (C18:2) ابتدا به ایزومر trans-10, cis-12 conjugated تبدیل می‌شود و سپس قبل از تولید اسید استئاریک (C18:0) به trans-10 C18:1 تغییر می‌کند.

Baumgard و همکاران (2000) نشان دادند که trans-10, cis-12 CLA بـر خـلاف cis-9, trans-11 CLA دارای قدرت مهار کندگی تولید شیر است. در آزمـایش .de Veth et al (2004) نشـان داده شـد کـه چربـی شـیر تحت تأثیر trans-10, cis-12 CLA بوده و عبور کمتر از 1/5–2 گـرم در روز از ایزومرهـای اسـید چـرب بـرای کاهش چری شیر به اندازه 10–15٪ کافی است. اما این انتهای کار نبود و پس از آن آزمایشـات بـرای یـافتن سـایر اسیدهای چرب برای MFD شروع شد. Sæbø et al., (2005) به ترتیـب ایزومرهـای trans-9, cis-11 CLA و cis-10, trans-12 CLA را نشان دادند که سبب MFD می‌شوند.




شکل 1–4 مسیرهای بیوهیدروژناسیون اسید لینولئیک در شکمبه

فاکتورهایی که می‌توانند چربی شیر را کاهش دهند:

1. فاکتورهایی که سوبستراها و قابلیت دسترس آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند، مانند غلظت اسید لینولئیک و شاید لینولنیک.
2. فاکتورهایی که سبب تغییر محیط شکمبه می‌شوند مانند نوع کربوهیدرات‌ها و نرخ تجزیه آن‌ها، میزان کنسانتره به علوفه و میزان بافرها در جیره (Shaver, 2005).
3. فاکتورهای تحت تأثیر قرار دهنده نرخ بیوهیدروژناسیون هستند، مانند مونسین که سبب افزایش باکتری‌های گرم مثبت و تغییر کانال یونی می‌شوند ( Duffield and Bagg, 2000 & 2003).
4. فاکتورهای تغییر دهنده نرخ عبور مانند اوره و بافرها و نمک (بافر بی کربنات سدیم).

## 1-5- بافرها

ادامه کار واکنش‌های بیولوژیکی نیازمند کنترل pH است، زیرا تعداد زیادی از این واکنش‌ها در محدوده خاصی از غلظت یون هیدروژن قادر به فعالیت هستند. با استفاده از منابع دانه‌ای حاوی نشاسته و کربوهیدرات‌های با سرعت تخمیر بالا در شکمبه، که برای تأمین انرژی گاوها در اوایل دوره شیردهی استفاده هستند باعث کاهش در pH شکمبه می‌گردند.

مصرف پایین علوفه در گاوهای شیری و بخصوص در اوایل دوره شیردهی به دلیل بالا بودن نیاز به انرژی برای تولید شیر و کاهش تعادل منفی انرژی است، که امکان در اختیار گذاشتن میزان زیادی علوفه امکان پذیر نیست و باید برای جلوگیری از کتوزیس و کاهش شرایط بدنی گاو، جیره‌ای با مواد دانه‌ای بالا و علوفه کم در اختیارش قرار داد. تعداد زیادی از مطالعات همبستگی بین کاهش چربی شیر و pH شکمبه را در جیره‌هایی که از 15-5٪ علوفه استفاده کرده بودند نشان داده‌اند (Emery,1965 and 1961 ، Thomas,1984 and1969 ، Garrett et al., 1999، Kleen et al., 2003).

بافرها ترکیباتی هستند که از کاهش pH جلوگیری می‌کنند و کاربرد آن در آزمایشات متعدد باعث افزایش جذب مواد مغذی و تولید شیر و چربی شیر در گاوهای اوایل دوره شیردهی شده است.

pH شکمبه به طور مستقیم به غلظت VFA وابسته است و با آن رابطه عکس دارد. نیاز حیوان به عوامل بافری در جیره وابسته به عملکرد ترشح بافر توسط غدد بزاقی، خاصیت بافری خوراک و اسیدیته خوراک است که بر اساس این سه عامل نوع و میزان استفاده از بافرها مشخص می‌شود. منابع بافری شکمبه نیز از طریق بافرهای طبیعی موجود در بزاق، ظرفیت بافری خود خوراک و بافر اضافه شده به جیره مشخص می‌شود. بافرهای مورد استفاده در شکمبه باید محلول در آب بوده، اسید ضعیف به همراه نمک آن باشند و با $pK_a$ نزدیک به pH فیزیولوژیک شکمبه قادر

به خنثی سازی اسیدهای شکمبه باشند (Erdman,1988). تعداد زیادی از موادی که اکنون ما به عنوان بافر استفاده می کنیم مانند اکسید منیزیم (MgO)، که نسبتا محلول در آب و بسیار کارآمد است در اصل بافر نبوده و از طریق مصرف و خنثی سازی اسید ها سبب بالا رفتن pH شکمبه و افزایش درصد چربی شیر می‌شوند. بافر فسفات نیز مثالی از بافرهاست و با اینکه $pK_a$ بسیار نزدیکی به pH شکمبه دارد اما در آزمایشات توان پایینی برای خنثی سازی اسیدها از خود نشان داده است. سنگ آهک هم دارای قدرت بالایی در خنثی سازی اسید است اما متاسفانه به دلیل محلولیت کم آن در pH شکمبه، کارآمد نیست (Rogers et al.,1985).

بیشترین تأثیر بافرها در ساعات اولیه پس از مصرف غذاست که pH شکمبه بیشترین افت را دارد و از طریق کاهش تغییرات pH شکمبه (Kaufman,1976) شبیه به افزایش تعداد دفعات خوراک دادن عمل کرده و سبب کاهش تغییرات pH و محیط شکمبه شده (2005،Shaver, 2005) و افزایش چربی شیر را در پی دارد (Gibson,1984،Kaufman,1976 ).

## 1-6- بزاق

دو بافر اصلی بزاق بی کربنات سدیم و فسفات است که بی کربنات سدیم بافر درون زادی مهم برای حفظ pH شکمبه است (Erdman,1988). pH بزاق گاو 8/4 گزارش شده است که تفاوت زیادی با بزاق گوسفند ندارد (Baileyand Balch. 1961و Kay and Holsen. 1963).

بافر فسفات با سه $pK_a$ ( 2/1،7/2 و 12/4) به عنوان یک بافر مهم در ترکیبات بزاقی معرفی شده و با اینکه $pK_a$ خوب و نزدیکی به pH شکمبه دارد اما در آزمایشات قدرت پایین بافری را از خود نشان داده.

بزاق تولیدی روزانه به خصوصیات فیزیکی خوراک مصرفی روزانه حیوان و شرایط محیطی (Baily,1961) بستگی دارد تا میزان کاهش pH شکمبه ( ). تخمین زده شده است که هر گاو شیری و پرواری 108 تا 308 لیتر در روز

بزاق معادل 115 تا 390 گرم در روز دی سدیم فسفات و 1134 تا 3234 گرم در روز بی کربنات سدیم تولید می‌کند اما این ترشحات کافی نبوده و اضافه کردن بافر به خوراک را تحت برخی شرایط توجیه می‌کند ( Poutianen, 1968و Meyer et al., 1964 و Cassida and Stokes. 1986 و Bailey,1961). Kaufman (1976) در یک بررسی مروری پیشنهاد کرد که کل مایع بافری تولیدی برای هر کیلو علوفه خشک بین 14-12 لیتر و برای دانه‌ها 12-10 لیتر در روز است.

ترکیبات بزاق ثابت و با میزان غذای مصرفی و یا ویژگی‌های آن تغییر زیادی نمی‌کند (Erdman,1988) اگرچه قدرت بافری آن در شرایط استرس گرمایی تغییر می‌کند که آن هم به می‌تواند ناشی از، از دست رفتن $CO_2$ به خاطر نفس نفس زدن بیشتر دام باشد که نتیجه آن کاهش ادغام بیکربنات در دسترس برای خنثی کردن اسیدها در شکمبه به وسیله ترشح بزاق است (Schneider et al., 1984).

فاکتورهای مهم تعیین کننده میزان بزاق تولیدی شامل:

میزان ماده خشک (Bartley, 1976 وBalch, 1958) و علوفه مصرفی (Balch, 1958 ، Putnam, et al., 1966و Bartley, 1976 ) ، اندازه علوفه (Balch, 1958 و Bartley, 1976) و حالت فیزیولوژیک حیوان، که توسط Cassida and Stokes (1986) مشخص شد که جریان بزاق در حالت استراحت از 130 به 170 میلی لیتر در دقیقه افزایش می‌یابد و به علاوه پس از زایمان تولید بزاق افزایش می‌یابد به علاوه نشان داده شده است که میزان تولید شیر نیز بر روی تولید بزاق تأثیر گذار است.

## 1-7- بی کربنات ها

بی کربنات ها مرسوم ترین و مهمترین بافر شکمبه شامل دو یون $HCO_3^-$ و $CO_3^{2-}$ هستند. $HCO_3^-$ بافر مهم خون به دلیل از دست دادن یون $H^+$ از $H_2CO_3$ و ایجاد تعادل و برقرار نگهداشتن آن با $CO_2$ و $H_2O$ است.

$$CO_2 + H^2 \leftrightarrow H_2CO_3 \leftrightarrow HCO_3 + H^+$$

$CO_2$ از طریق تنفس یا ادرار دفع می‌شود و یک یون پروتون ($H^+$) از معادله دفع می‌کند. pH شکمبه از pH خون پایپایین‌ترت که سبب می‌شود که مبادله بین مایع شکمبه و هوای خارج درست مثل تنفس نباشد.

Kohn and Dunlap (1998) وضعیت بافری بی کربنات را در مایع شکمبه بررسی کردند، در این مطالعه $HCO_3^-$ به شکمبه از طریق بزاق و خوراک اضافه شد که باعث جذب پروتون ($H^+$) محیط شکمبه و تولید $CO_2$ و ورود به فاز گاز شد که این گاز از طریق آروغ زدن دفع شد و نتیجه گرفتند که وقتی اسید بیشتری از تخمیر تولید می می‌شودافرها هم برای حفظ pH محیط مصرف می شوند.

## 1-8- بی کربنات سدیم ($NaHCO_3^-$)

بیکربنات سدیم مهمترین و اولین ماده موثر بر ظرفیت بافری شکمبه است که ظرفیت بافری بیکربنات سدیم به تعادل بین $CO_2$, $H_2CO_3$, $H^+$, $HCO_3^-$و$H_2O$ مربوط می شومی‌شودمطالعه ای (Turner and Hodgetts, 1955) با خروج بیکربنات سدیم از مایع شکمبه ظرفیت بافری شکمبه 62٪ کاهش یافت. در pH 6/43 شکمبه، VFA ها هم در ظرفیت بافری شکمبه موثر هستند و در این pH با خارج کردن بیکربنات سدیم از شکمبه سعی در نگهداری pH خنثی کردند اما به سرعت pH کاهش یافت و به 5/5 رسید که این امر نشان دهنده اهمیت بافری بالای بیکربنات سدیم در شکمبه می‌باشد. با اضافه کردن دوباره بیکربنات سدیم ظرفیت بافری مایع شکمبه افزایش یافت و این

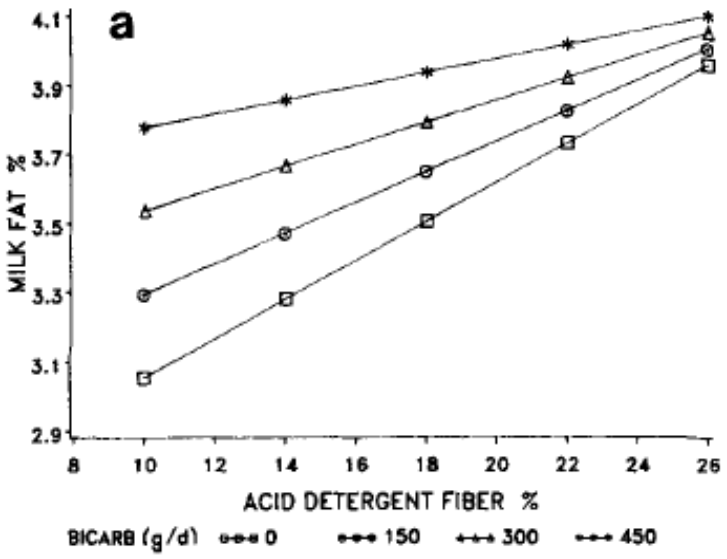
افزایش سبب افزایش PH شکمبه و چربی شیر گردید. آزمایشات آزمایشگاهی (Kilmer, 1981) نیز نشان داد که بی کربنات سدیم باعث افزایش ظرفیت بافری شکمبه می‌شود.

در دهه 1950 در طی آزمایشاتی که بر روی گوسفند صورت گرفت مشخص شد که مصرف کنسانتره با استفاده از سدیم بی کربنات افزایش یافت (Matrone,1959) و نتیجه گرفتند که کاهش ترشح بزاق ناشی از مصرف کنسانتره بدلیل نشخوار کمتر باعث کاهش ظرفیت بافری مایع شکمبه شده و این کاهش می‌تواند اثر بیکربنات سدیم را خنثی کند، اما در ادامه با سایر آزمایشات نشان داده شد که اضافه کردن بیکربنات سدیم برای افزایش pH شکمبه مهم است (Bunn and Matrone,1968). در آزمایشاتی (Emery and Brown,1961) که بر روی گاوهای شیری صورت گرفت مشخص شد که مصرف بالای کنسانتره سبب کاهش ظرفیت بافری شکمبه شده و در نهایت pH شکمبه کاهش یافت و تولید اسید پروپیونیک را افزایش داد که این امر سبب کاهش چربی شیر شد. این مطالعه نشان داد که اضافه کردن جوش شیرین در حد مطلوب می‌تواند وضعیت شکمبه را به حالت طبیعی در آورد و از کاهش چربی شیر جلوگیری کند. هرچند در آزمایشات مختلف مشاهدات متفاوتی گزارش شده است، به عنوان مثال تعدادی از آزمایشات با افزودن بیکربنات سدیم، افزایش معنی داری در درصد چربی شیر پیدا نکردند. Hu and Murphy (2005) در 27 مطالعه که بر روی بی کربنات سدیم در گاوهای تازه زا و اواسط دوره شیردهی انجام شده بود، مورد ارزیابی قرار دادند، و نتیجه گیری کردند که استفاده از بی کربنات سدیم در جیره فاقد سیلوی ذرت بر روی تولید شیر و مصرف ماده خشک اقتصادی نیست، اما در جیره های با سیلوی ذرت، گاوهای بدون بی کربنات سدیم 1/24 کیلوگرم در روز ماده خشک کمتری مصرف کردندو این افزایش مصرف همراه با استفاده از بی کربنات سدیم بر روی تولید بی تأثیر بود اما سبب افزایش تولید چربی شیر شد. و نسبت استات به پروپیونات و pH آن نیز افزایش یافته بود.

در مطالعاتی دیگر (Erdman, 1988 و Staples, 1989) متوجه شدند که بی کربنات سدیم بر روی جیره های فاقد سیلوی ذرت بی‌تاثیر است که این به دلیل تأثیر یونجه خشک در تحریک نشخوار، ظرفیت ذاتی بافری یونجه و pH بالاتر سیلوی یونجه و سایر علوفه ها در مقایسه با سیلوی ذرت است. اما در مطالعات Hu and Murphy (2005) محتوای فیبر نا محلول در شوینده اسیدی (ADF) علوفه ها نیز مورد بررسی قرار گرفت و تفاوت در پاسخ به بافرها در آن مشاهده شد و در جیره‌هایی که در آن‌ها حداکثر 14-13٪ ADF استفاده شده بود، تأثیر بی کربنات سدیم مشهود تر بود.

به نظر می‌رسد که شرایط اضافه کردن بی کربنات سدیم نیز بر میزان عملکرد این بافر بسیار اهمیت داشته باشد. اضافه کردن بی کربنات سدیم به جیره گاوهایی که تحت تنش گرمایی بودند سبب افزایش مصرف و تولید شیر شد (Escobosa and Coppock,1984 و Schneider,1984و Schneider,1986). در شرایط استرس گرمایی با اضافه کردن بی کربنات سدیم به جیره بر پایه فقط سیلوی ذرت، یک افزایش 5 کیلوگرمی در مصرف و 1/1 کیلوگرم در شیر تصحیح شده بر اساس 4٪ چربی (FCM) مشاهده شد. ولی در آزمایشاتی دیگر ( Edwards and Poole, 1983و Stokes and Bull, 1986) که منابع علوفه جیره فقط سیلوی یونجه و یونجه بود، تغییری در عملکرد گاوها نسبت به استفاده از بی کربنات سدیم مشاهده نشد و در آزمایشاتی حتی کاهش در میزان مصرف و FCM مشاهده شده است (Donker and Marx. 1980 &1985 و Boisclair,1986) که در این آزمایشات از مخلوطی از سیلوی ذرت و علوفه یونجه استفاده شده بود. در آزمایشاتی که میزان علوفه جیره 30٪ یا بیشتر از آن بود میزان افزایش چربی شیر بسیار کمتر از گاوهای تغذیه شده با علوفه کم بود. Depeter و همکاران (1984) از یونجه خشک به عنوان تنها منبع علوفه استفاده کرد و تاثیری از بی کربنات سدیم با غلظت 1/25٪ کل جیره مشاهده نکرد. شکل 1-5 رابطه بین بافر، میزان ADF و چربی شیر را نشان می‌دهد.

تأثیر بی کربنات سدیم بر روی قابلیت هضم ADF نیز جالب بود و در آزمایشات (1982) Erdman و Rogers (1985) بی کربنات سدیم با سطح 0/5 درصد ماده خشک جیره بی تأثیر بود اما در آزمایشات Rogers (1892) و Snyder (1983) بی کربنات سدیم سبب افزایش قابلیت هضم ADF شد که به دلیل استفاده بیشتر در حدود 280 گرم بی کربنات سدیم بیشتر می‌تواند باشد (1.2٪ برای Snyder و 1.5٪ برای Rogers).




شکل1-5:اثر بی‌کربنات سدیم بروی قابلیت هضم ADF و چربی شیر

## 1-9- ویتامین های گروه B-کمپلکس

ویتامین های گروه B همگی در آب محلولند و اکثرا اجزاء کوآنزیم ها هستند و بر خلاف ویتامین های محلول در چربی در بافت‌ها نمی توانند به میزان زیاد و قابل ملاحظه ای ذخیره شوند و باید به طور مداوم وارد بدن شوند. در نشخوار کنندگان همه ویتامین هایی که در گروه B کمپلکس قرار می گیرند می‌توانند از طریق فعالیت میکروبی میکروب های شکمبه سنتز گردند. اما قدرت جذب در شکمبه برای آن‌ها وجود ندارد و از شکمبه عبور می‌کنند

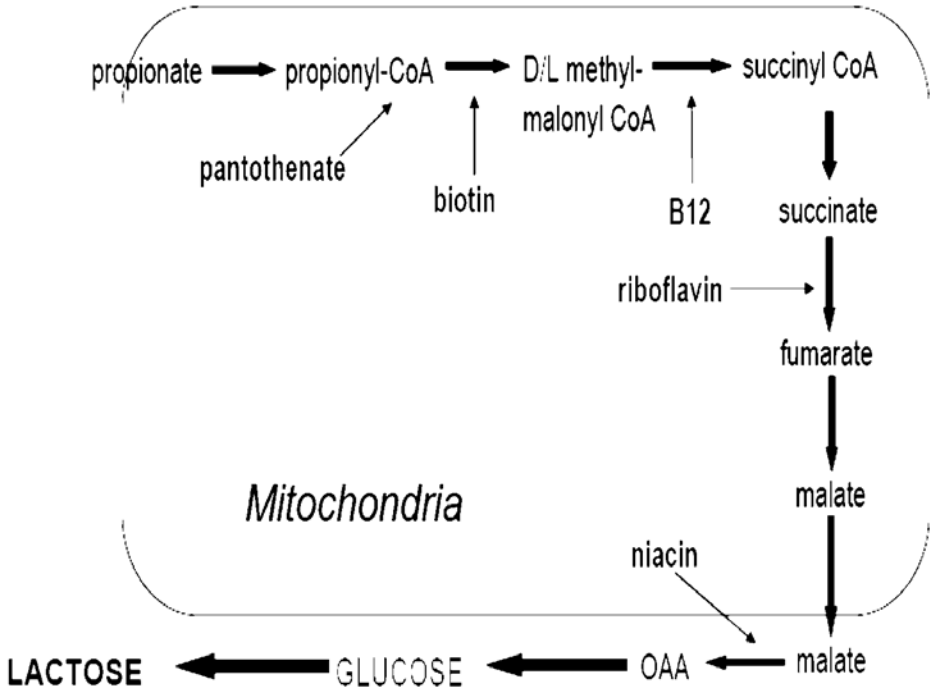
(شسته می‌شوند) (Girard, 2001). مکمل های ویتامین های گروه B کمپلکس در توانایی عبور و فرار از تجزیه در شکمبه تفاوت دارند (جدول1-3) و به نظر می رسد که به دلیل کمی تحقیقات بر روی میزان نیاز گاوهای شیری به ویتامین های گروه B برای دوره آبستنی، سلامتی و تولید شیر در NRC (2001) میزان مورد نیاز گاوها یه خوبی مشخص نشده است (Majee at el., 2003) و در آزمایشات جدید اضافه کردن ویتامین B به جیره نشان داد که می‌تواند سبب بهبود تولید شیر و ترکیب شیر گردد.

جدول1-3:میزان تجزیه ویتامین ها در شکمبه

| B-Vitamin | Degradation (%) |
|---|---|
| Thiamin | 48 - 68 |
| Riboflavin | 99 & 99 |
| Niacin | 94 - 99 |
| $B_6$ | 0 - 41 |
| Biotin | 0 - 45 |
| Folic acid | 97 & 97 |
| $B_{12}$ | 63 - 90 |

روش محاسبه NRC(2001) برای تخمین میزان نیاز ویتامین های این گروه به برآورد نیاز برای ساخت و رشد بافت‌ها در خوک جوان ماده به علاوه میزان ویتامین های دفع شده از طریق تولید شیر تکیه می‌کند و نیازهای میکروارگانیسم های شکمبه را در نظر نگرفته است.

محل تأثیر هر کدام از ویتامین های این گروه در کبد نشخوار کنندگان در شکل 1-6 نشان داده شده است.




شکل 1-6: محل تأثیر ویتامین‌های B کمپلکس در کبد نشخوارکنندگان

## 1-10- بیوتین (Biotin)

بیوتین جزء گروه ویتامین های B و محلول در آب بوده و به عنوان گروه پروستتیک چندین آنزیم که انتقال دی اکسید کربن را از یک سوبسترا به سوبسترای دیگری کاتالیز می‌کند، عمل می نماید. در آنزیم های پیرووات کربوکسیلاز ، استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز و پروپیونیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز و B-متیل کوروتونیل کوآ نقش دارد. بیوتین با یک پیوند کوالانسی با هرکدام از این آنزیم ها پیوند ایجاد می‌کند و یک واحد کربنی را از سوبسترا به محصول انتقال می‌دهد. بیوتن به عنوان یک بخش مهم کوفاکتور در واکنش ترانس کربوکسیلاسیون که نقش مهمی در کلیه مراحل تخمیر در شکمبه دارد و مخصوصاً به عنوان ترانس کربوکسیلاسیون در تولید سوکسینات و

پروپیونات در تعداد زیادی از گونه های باکتری‌های سلولوتیک نقش دارد (Abel,2006). بیوتین برای رشد باکتری ها و خود گاو و کوفاکتور آنزیم متابولیسم آمینو اسیدها، تنفس سلولی و سنتز گلوکز و اسیدهای چرب ضروری است. بیوتین در شکمبه برای تبدیل کربوهیدرات‌ها به اسید پروپیونیک و در کبد برای تبدیل اسید پروپیونیک به گلوکز و در تولید ساختار پروتئین های سم (کراتین) بسیار نقش دارد (Suksombat,2011 ). بیوتین همچنین در مسیر آکریلات برای تولید پروپیونات هنگام استفاده از منابع نشاسته ای و کربوهیدرات های محلول نیز مورد استفاده است. در مورد بیوتین می‌توان گفت که میکروارگانیسم های شکمبه و مخصوصاً پروتوزوآها برای یک تخمیر کارا به آن نیازمندند (Abel1,2006). معمولاً فرض می‌شود که ویتامین های گروه B از سنتز میکروارگانیسم‌ها ساخته می‌شود (Wolin & Miller, 1988) و کاملاً درست است اما کمبود آن در گوساله های ماده (Frigg at el.,1993) و همینطور در گوساله های نر اخته و در گوساله های کانولا گذاری شده در دوازده نیز مشاهده شد (Zinn et al. 1987). اما Rosendo (2003) بیان کرد که تولید بیوتن به pH شکمبه، گونه علوفه، کاهش pH و در کل به سلول‌های سلولوتیک که تولیدکنندگان اصلی آن در شکمبه هستند وابسته است. Abel (2001) با اندازه گیری کمی بیوتن در دئودنوم گاوهای شیری نشان داد که به نظر می رسد ساخت و مصرف بیوتین در شکمبه مشابه است و با استفاده از علوفه خشک و جو مشاهده کرد که بیوتن خروجی با افزایش میزان جو در جیره کاهش یافت.

می‌توان این مسئله را به این صورت بیان کرد که بیوتین توسط باکتری‌های سلولتیک ساخته می‌شود و با کاهش pH شکمبه تعداد این باکتری ها کاهش و بر تعداد پروتوزوآ ها که مصرف کنندگان اصلی بیوتین‌اند افزوده می‌شود، این مسئله سبب کاهش تولید بیوتین و افزایش نیاز و مصرف آن در شکمبه شده و سبب کمبود آن می‌شود. این نظریه در شکمبه ای مصنوعی، با جایگزینی مواد دانه ای به جای علوفه خشک مورد آزمایش قرار گرفت و مشاهده

شد که با جایگزینی مواد دانه ای به جای مـواد علوفـه ای میـزان بیـوتن پـس از بررسـی بیـوتین ورودی و خروجـی، کاهش یافت (Abel,2006).

آزمایشاتی که بر روی بیوتن انجام شده است دارای نتایج متفاوتی برای پیدا کردن سطح مناسب تغذیـه اسـت. بـرای این منظور در آزمایشی 3 سطح صـفر، 10 و 20 میلـی گـرم از بیـوتین در جیـره گاوهـای 14 تـا 100 روز پـس از آبستنی مورد آزمایش قرار گرفت و نشان داده شد که تولید شیر به صورتی خطی با افـزایش بیـوتین افـزایش یافـت، هرچند میزان ماده خشک مصرفی در بین تیمارها تغییری نکرد (Zimmerly and Weiss, 2001).

Majee و همکاران (2003) نیز با استفاده از جیره شاهد ( تیمار1) و جیره های شـاهد همـراه بـا بیـوتین (تیمـار2)، جیره شاهد و مکمل بیوتین و ویتامین‌های گروه B کمپلکس ( تیمار3) و در آخر جیره شاهد به همراه 2 برابر بیـوتن و 2 برابر ویتامین های گروه B کمپلکس ( تیمار4) نشان دادند که جیـره حـاوی بیـوتن از جیـره شـاهد حـدود 1/7 کیلوگرم در روز شیر بیشتری تولید کرد و تیمار 3 شبیه بیوتین بود. در مورد جیره 4 هم می‌تـوان گفـت کـه احتمـالاً به دلیل بالا بودن میزان بیوتین و سایر ویتامین های گروه B که سبب مسمومیت ویا بالا بردن انرژی مـورد نیـاز بـرای دفع ویتامین ها شد، این تیمار زیاد تاثیرگذار نبود.

البته در رابطه با میزان ماده خشک مصرفی نتـایج در آزمایشـات مقـداری متفـاوت اسـت و در آزمایشـی کـه توسـط Margerison و همکاران (2002) انجام شد، افزایش 2 کیلوگرمی تولید شیر همراه و درصد لاکتوز آن با کـاهش ماده خشک مصرفی مشاهده شد، که می‌تواند به دلیل نوع علوفه مصرفی و نوع روش آزمایش باشد.

در قابلیت هضم ماده خشک، ADF و NDF در هیچ آزمایشـی بـین تیمارهـا اخـتلاف معنـی داری مشـاهده نشـد و پیشنهاد Zimmerly and Weiss (2001) را که افزایش تولید شیر به دلیل افزایش هضم فیبـر اسـت رد شـد. پـس

ممکن است که این تولید بیشتر ناشی از مصرف بیوتین به صورت مستقیم در ارتباط با افزایش مصرف ماده خشک و به صورت غیرمستقیم با افزایش سلامتی حیوان در ارتباط باشد (Midla et al., 1998).

بیوتین، کوفاکتور مورد نیاز آنزیم برای مصرف پروپیونات و گلوکونئوژنزسیس است (McDowell, 2000). و ممکن است که بیوتن محدودیت افزایش فعالیت آنزیم برای سنتز لاکتوز را کم کند.

## 1-11- اسید فولیک (Folic Acid)

نام شیمیایی اسید فولیک پترویل مونوگلوتامیک اسید است و از سه قسمت پ-آمینوبنزوئیک اسید، گلوتامیک اسید و هسته پتریدین تشکیل شده است. این ویتامین به راحتی توسط رطوبت و مخصوصاً حرارت تجزیه می‌شود.

اسید فولیک شبیه اسید پانتوتنیک (کوآنزیم-A) عمل می‌کند، با این تفاوت که اسید فولیک انتقال ریشه یک کربنه نظیر فرمیل و متیل و فعال نمودن آن‌ها را بعهده دارد (کوآنزیم-A ریشه دو کربنه استات را انتقال می‌دهد). پس اسید فولیک در تعداد بی شماری از واکنش‌ها دخالت دارد. اسید فولیک در متابولیسم اسیدهای آمینه مانند کاتابولیسم گلایسین و هیستیدین، تبدیل گلایسین به سرین و ساخت متیونین شرکت دارد. همچنین در متابولیسم پروتئین و تهیه یک واحد کربنی برای سنتز فرمیل متیونین که وجود فرمیل متیونین روی t-RNA برای سنتز پروتئین ها ضروری است. اسید فولیک همچنین برای سنتز پورین ها و پیریمیدین ها که لازم هستند برای ساخت DNAو RNA ها ضروری است.

با وجود اهمیت فراوان اسید فولیک تعداد بسیار کمی آزمایش بر روی آن صورت گرفته است. در یکی از این آزمایشات با تزریق ماهیچه ای هفتگی به گاوهای 45 روز پس آبستنی تا 6 هفته پس از زایش افزایش انتقال فولاتات (فرم آنیونی اسید فولیک در خون) از طریق جفت وآغوز (colostral) را به گوساله به ترتیب به میزان 24٪ و 54٪ نشان داد (Girard et al., 1995). در دوره قبل از زایش یعنی از 45 روزگی بعد از آبستنی تا خشکی

میزان اسید فولیک در شیر افزایش یافت و بر روی محتوای پروتئین آن نیز اثر گذاشته و سبب افزایش پروتئین شیر نیز گردید و افزایش 1/5 کیلویی در تولید شیر روزانه را نشان داد. البته بعد از زایش اسید فولیک دیگر سبب افزایش تولید نشد و تنها محتوی پروتئین شیر تولیدی را از 3/2٪ به 3/5٪ افزایش داد. اما این مکمل بر روی همه گاوها به یک صورت تأثیر نگذاشت و درگاوهای شکم اول بر تولید و میزان درصد شیر تولیدی بی تأثیر بود (Girard et al., 1995).

در آزمایشی دیگر(Girard and Matte, 1998) اسید فولیک از طریق جیره و بدون محافظت از 4 هفته مانده به زمان زایش تا 306 روز پس از زایش قرار در اختیار دام گرفت که نتیجه آن افزایش اسید فولیک در سرم خون و شیر بود. ترکیب شیر تغییری نکرد به غیر از میزان ازت غیر آمونیاکی (NPN) آن که در گاوهای چند شکم در 100 روز اول کاهش یافت، اگرچه در این بین تولید شیر به صورت خطی افزایش پیدا کرد. با مصرف اسید فولیک کازئین شیر گاوهای چند شکم نیز افزایش یافته بود و این افزایش در تولید شیر هم منعکس شده بود و گاوهای چند شکم زایش، شیر بیشتری تولید کردند اما در گاوهای شکم اول، کاهش تولید مشاهده شد.

در گاوهای چند شکم زایش، با افزایش میزان مصرف اسید فولیک، تولید شیر به صورت خطی افزایش نشان داد به طوری که گاوهای با صفر، 2 و 4 میلی گرم اسید فولیک مصرفی در میزان تولید شیر به ترتیب 8300 و 8600 و 9000 کیلو در طول دوره 305 روزه خود تولید کردند که این میزان برابر است با 2/2 کیلوگرم در روز افزایش تولید نسبت به گاوهای کنترل در گاوهایی که 4 میلی گرم در روز اسید فولیک مصرف کرده و این افزایش تولید با افزایش مصرف ماده خشک مصرفی همراه بود (Girard and Matte, 1998). این تأثیر اسید فولیک بر روی مصرف ، NPN شیر و تولید گاوهای چند شکم زایش می‌تواند دلیلی بر بهبود کارایی مصرف نیتروژن باشد (Petitclerc et al.,2000).

## 1-12- نیاسین (Niacin)

نیاسین که شکل فعال این ویتامین، نیکوتین آمید است به 2 صورت نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید ($NAD^+$) و نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات ($NADP^+$) در بدن، در مکانیسم انتقال هیدروژن در سلول های زنده فعال است و ویتامینی بسیار پایدار بوده و در مجاورت حرارت، اسید، قلیا و یا اکسیداسیون به سادگی از بین نمی رود. فرم کوآنزیم این ویتامین در تعداد بسیار زیادی از واکنش‌ها شرکت دارد: مانند اکسیداسیون هوازی و بی هوازی گلوکز، چرخه کربس، ساخت و تجزیه گلیسرول، اکسیداسیون و ساخت اسیدهای چرب، تجزیه و ساخت اسیدهای آمینه، اکسیداسیون زنجیره های کربنی از طریق چرخه کربس. از لحاظ دارویی مکمل نیاسین سبب کاهش غلظت اسیدهای چرب غیر استریفیه[11] (NEFA) و اجسام کتون در هنگام ابتلا به کتوزیس حاد و یا تحت حاد می شود.

نیاسین لیپولایز (تجزیه چربی ها) را در کبد کاهش می‌دهد و سبب کاهش متابولیسم چربی می‌گردد. خوراندن 6 گرم نیاسین در روز در گاوهای شکم اول و در اوایل شیر دهی سبب افزایش تولید شیر می‌گردد. همینطور، Cervantes و همکاران (1996) افزایش تولید شیر را برای گاوهای پس از اوج تولید نشان دادند. در بیشتر آزمایشات نیاسین بر روی ترکیب شیر بی تأثیر بود.

در آزمایشی برون تنی Bartley و همکاران در آزمایشی درون تنی (Arambel et al.,1984)، نشان دادند که استفاده از مکمل نیاسین تولید پروتئین میکروبی را افزایش می‌دهد و تأثیر آن بر روی اوره از کنجاله سویا موثرتر است. استفاده از مکمل نیاسین به میزان 5-6 گرم نیاسین در هر روز به ازای هر گاو افزایش تولید شیر را در گاوهای تازه زا به همراه داشت اما در گاوهای در اواسط دوره شیر دهی یا گاوهایی که از کنجاله سویا استفاده کرده اند موثر نبود، اما در گاوهایی که از اوره استفاده کرده‌اند بسیار موثر بود و اعتقاد بر این است که استفاده از کنجاله سویا

[11] NonEsterified Fatty Acids

حرارت ندیده سبب کاهش توان مصرف نیاسین توسط پروتوزوآها می‌شود. مصرف مکمل نیاسین سبب افزایش گلوکز خون و کاهش اجسام کتونی و در نتیجه کاهش کتوزیس می‌شود.

باکتری‌های شکمبه می‌توانند نیاسین را از تریپتوفان سنتز کنند, اما پروتوزوآها دارای این توانایی. بنابراین نیاسین مورد نیاز شکمبه باید توسط جیره و سنتز میکروارگانیسم ها تهیه شود. Inka-Donata Niehoff و همکاران (2009) بیان کردند که این افزایش پروتوزوآها سبب افزایش بیشتر باکتری‌های مفید شکمبه به دلیل مصرف نشاسته توسط پروتوزوآها می‌گردد.

در تولید گاوهای شیری Piva و همکاران (1976) با اضافه کردن نیاسین به اندازه 265 ppm به جیره حاوی اوره، افزایش در شیر تولیدی مشاهده کرد. Riddell و همکاران (1981) افزایش شیر و پروتئین تولیدی را مشاهده کرند. به طور کلی، NRC (1989) تصدیق کرد که تأثیر افزایش اضافه کردن نیاسین برای گاوهای تازه زا اقتصادی است بویژه برای گاوهایی که از امتیاز بدنی بالا برخوردار هستند.

## 1-13- تیامین (Thiamin)

یک باز ازته پیچیده با دو حلقه پیریمیدین و تیازول متصل به یکدیگر است. شکل فعال تیامین در بدن تیامین پیرو فسفات (TPP) است که در برابر اسیدهای ملایم نسبتا پایدار و به محلول های خنثی حساس است و به سهولت متلاشی می‌شود. این ویتامین برای ساخت اسید آمینه والین در فرم کوآنزیمی خود، در سنتز اسید آمینه والین در مخمرها و باکتری ها شرکت می‌کند.TPP کوآنزیم آنزیمی بنام دکربوکسیلاز است که باعث دکربوکسیله شدن کتواسیدها می‌گردد و به همین مناسبت این کوآنزیم به کوکربوکسیلاز نیز معروف است. تیامین پیروفسفات، فعال کننده آنزیم پیرووات دکربوکسیلاز است که در تبدیل پیرووات به استیل کوآنزیم A دخالت می نماید. تیامین پیروفسفات در چرخه کربس طی تبدیل آلفا-کتوگلوتارات به سوکسنیل-CoA فعال کننده آنزیم آلفا-

کتوگلوتارات دکربوکسیلاز می باشد. تیامین پیروفسفات، فعال کننده آنزیم ترانس کتولاز است که بخشی از مسیر پنتوز فسفات در سوخت و ساز گلوکز می باشد و از سایر نقش های می‌توان، نقش در سنتز استیل کولین جهت انتقال جریان عصبی در محل سیناپس، نقش در بیوسنتز انسولین، انتقال غیر فعال سدیم به داخل سلولها، نقش در سنتز اسیدهای چرب طی تولید NADPH در مسیر پنتوز فسفات را می‌توان نام برد. از طرفی چون استیل کوآنزیم A ترکیب حد واسط مهمی در سنتز اسیدهای چرب است، در اثر کمبود تیامین سنتز چربی کاهش می‌یابد. در شکمبه تیامین از آنزیم تیامیناز 1 که توسط باکتریها تولید می‌شود، ساخته می‌شود ( Brent and Bartley , 1984).

در زمینه تیامین در گاوهای شیری فقط یک آزمایش صورت است که در طی آن، Shaver and Bal (2000)، نشان دادند که استفاده از تیامین به میزان 300 میلی گرم برای هر گاو در جیره با NDF پایین و NFC بالا می‌تواند سبب افزایش تولید شیر، چربی و پروتئین شیر گردد.

## 1-14- ریبوفلاوین

ریبوفلاوین از یک هسته دی متیل ایزوآلوکسازین که با رایبیتول ترکیب شده ساخته شده است. ریبوفلاوین در آب به مقدار کم محلول بوده و در برابر محلول های اسیدی و خنثی و حرارت مقاوم و دربرابر قلیاها از بین می رود. این ویتامین در ساختمان دو کوآنزیم FMN و FAD شرکت می نماید وFMN و FAD کوآنزیم چندین آنزیم مهم هستند که به فلاوپروتئین ها معروف می باشند .این دو کوآنزیم عمل انتقال هیدروژن را در سلول انجام داده و در واکنش‌های اکسیداسیون و احیای تنفس سلولی شرکت می نمایند، بنابراین ریبوفلاوین در متابولیسم انرژی نقش مهمی دارد و به عنوان یکی از چند عامل رشد شناخته شده است.

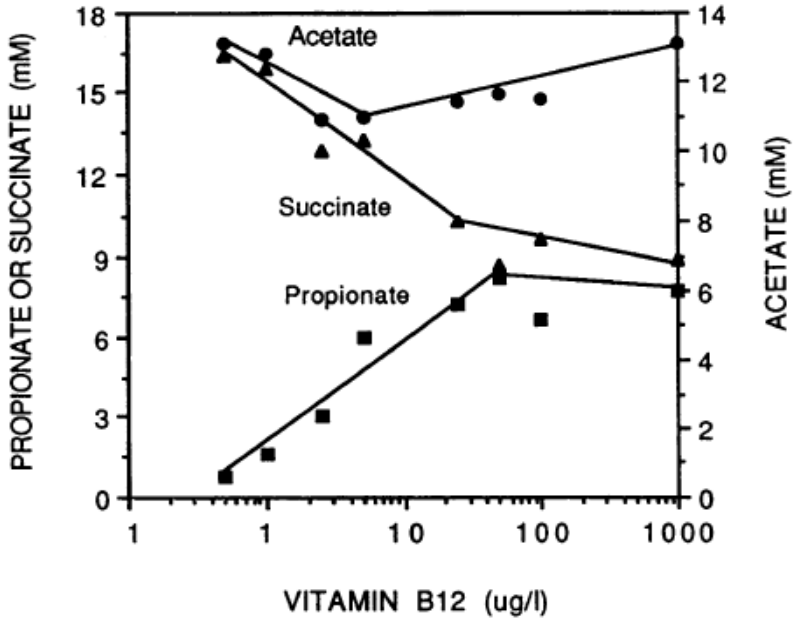
Hunt و همکاران (1941) نشان داد که ریبوفلاوین در شکمبه گاوها نر اخته ساخته می‌شود. به نظر می‌رسد که در زمینه مکمل کردن ریبوفلاوین در جیره گاوهای شیرده هنوز کاری انجام نشده است و از تأثیر آن بی اطلاع هستیم.

## 1-15- سیانوکوبالامین

در شکمبه $B_{12}$ به عنوان کوآنزیم فقط در 2 فعالیت متابولیکی شرکت می‌کند. اولین مسیر سنتز متیونین که ضروری است برای انتقال واحد یک کربنی کربنی متیل از اسید فولیک به هوموسیستئین برای ایجاد متیونین. عدم وجود ویتامین $B_{12}$ سبب کاهش متیونین در دسترس برای حیوان و جلوگیری از مصرف اسید فولیک توسط بافت‌ها می‌شود. دومین مسیر، ویتامین $B_{12}$ در ارتباط با آنزیم متیل مالونیل کوآ موتاز است که این آنزیم از حالت غیرفعال تغییر شکل می‌دهد و بعد از اینکه وارد سیکل کربس شد باعث تغییر به شکل سوکسینیل کوآ می‌شود که سبب ساخت تعداد اسید آمینه (والین، ایزولوسین، متیونین و ترئونین) و پروپیونات می‌شود (Wang Run-lian et al. 2007) و در بدن در ساختن پورین و پریمیدین، انتقال بنیان متیل، ساختن پروتئین و سوخت و ساز کربوهیدرات و چربی نقش دارد. در گاوهای شیرده، بالای 50٪ گلوکز مورد نیاز به وسیله متابولیسم پروپیونات و لاکتات تهیه می‌شود (Huntington,1997). بنابراین کاهش فعالیت متیل مالونیل کوآ سبب کاهش تولید شیر می‌گردد.

در نشخوار کنندگان، ویتامین $B_{12}$ اساسا از طریق میکروارگانیسم های شکمبه در صورت فراهم بودن کبالت سنتز می‌شوند. اگرچه با افزایش غلظت، وبا فرآهم کردن کبالت برای سنتز، باید شکل غیر فعال آن به شکل فعال در آید که همراه با صرف انرژی است وبا افزایش پروپیونات در جیره های متراکم نیاز به $B_{12}$ افزایش می‌یابد. بیشتر تحقیقات برای اثر $B_{12}$ بر عملکرد گاوهای شیری بر پایه سندرم چربی شیر پایین (Low Milk Fat Syndrom) در گاوهای با کنسانتره زیاد است. بر اساس این تئوری، اسید مالونیک ممکن است بر اثر افزایش پروپیونات تولیدی و کاهش $B_{12}$ در شکمبه انباشته شود (Frobish and Davis, 1977) که در این شرایط اسید متیل مالونیک ممکن است از تولید

اسیدهای چرب ممانعت کند، اگرچه آزمایشات بعدی با نشان دادن افزایش تولید شیر این تئوری را رد کردند (Frobish and Davis, 1977و Elliot et al., 1979 ).




Elliot و همکاران (1977) نشان داد که استفاده از ویتامین B12 به میزان 10 میلی گرم برای 2بار در هفته، تولید شیر را 3/4 کیلو در روز بالا برد. در آزمایشاتی دیگر نیز افزایش تولید شیر تایید شد ( Girard and Matte, 2005). Herbert (1992) نیز اثبات کرد که تولید پروپیونات وابسته به سیانوکوبالامین است و با افزایش این ویتامین تولید سوکسینات کم می‌شود و با اضافه کردن این ویتامین ممکن است مقداری از انرژی را در شکمبه حفظ نمود. وی نشان داد که با کاهش ویتامین B12 افزایش تولید استات و سوکسینات و کاهش پروپیونات را به دنبال دارد. آزمایشات دیگری نشان داد که اضافه کردن کبالت کلراید ویا بیوتین نمی توانند کمبود ویتامین B12 را جبران کنند (Dehority,1966).

## 1-16- کولین(Choline)(B11)

کولین به عنوان یکی از ویتامین های گروه B بر خلاف سایر ویتامین های این گروه در متابولیسم دخالتی نداشته اما یکی از اجزاء ضروری ترکیب ساختمانی بافت های بدن می باشد. این ترکیب در ساختمان لستین مشارکت دارد که نقش حیاتی در ساختمان و عمل سلول‌ها بازی می‌کند. کولین به صورت بخشی از یک فسفولیپید در ساختمان لسیتین و نیز اسفنگومیلین ها نقش دارد که برای ساختن و حفظ ساختار سلول‌ها لازم است. کولین نقشی ضروری در سوخت و ساز چربی کبد دارد و باعث پیشگیری از تجمع غیرطبیعی چربی و یا افزایش کاتابولیسم اسیدهای چرب در کبد می‌شود و کولین برای ساختن استیل کولین ضروری است، استیل کولین برای انتقال پیام های عصبی لازم است و کولین منبع بنیان های متیل است که در تشکیل متیونین از هموسیستئین و نیز تشکیل کرآتین از گوانیدواستیک اسید نقش دارد، کولین به عنوان دهنده گروه متیلی در متابولیسم بدن نقش دارد. در گاوهای شیرده مقدار کولینی که از طریق خوراک تأمین می‌شود بسیار پایین است و از طرف دیگر مقدار زیادی از گروه های متیل با تولید شیر از بدن خارج می‌شوند که سبب محدودیت منابع گروه متیل در اوایل شیردهی می‌شود (Pinotti at el.,2002). اما آزمایشات نشان داده‌اند که به دلیل تجزیه شدن کولین در شکمبه (Sharma and Erdman,1988) و تأثیر مثبتش بر تولید و چربی شیر، استفاده از مکمل محافظت شده آن در شکمبه اقتصادی است (Erdman, 1994). البته مکانیسمی برای این افزایش تولید و چربی شیر هنوز ارائه نشده است اما برای چربی شیر، چند مطالعه بالا رفتن میزان آزاد سازی چربی از کبد را نشان داده است (Cooke et al., 2004). کولین می‌تواند تولید و متابولیسم کبد را نیز بهبود بخشد، همچنین استفاده از کولین سبب افزایش تولید شیر و چربی آن شد (Zahra et al.,2006).

کولین محافظت شده شکمبه ای محصولی است که در سال های اخیر برای افزایش تولید و چربی شیر، پیشگیری از کبد چرب و کتوز در گاوهای اوایل دوره شیردهی به کار می رود. در آزمایش Erdman و Sharma (1991) با

استفاده از کولین محافظت شده به میزان 3-1/5 گرم به صورت روزانه در ماده خشک، دریافتند که با مقدار کم آن بر ماده خشک مصرفی بی تأثیر ولی سبب افزایش تولید می‌شود (2/2 کیلوگرم در روز) و در آزمایشات دیگر نشان داده شد که استفاده از مقادیر بالاتر کولین (45، 60 و 70 گرم در روز) بر تولید و چربی شیر، ماده خشک مصرفی، وزن بدن و تری گلیسرید پلاسمای خون بی تأثیر است. Sharma and Erdman (1988) با استفاده از مقادیر بالای کولین (326 گرم در روز) به این نتیجه رسیدند که شاید به دلیل مسمومیت کاهش ماده خشک مصرفی و شیر تولیدی را در پی خواهد داشت.

به طور کلی بنظر میرسد که با افزایش تولید شیر در گاوهای شیری نیازهای ویتامینی و از جمله ویتامینهای محلول درآب تغییر نموده است زیرا مکمل نمودن این گروه از ویتامین‌ها در خیلی از اوقات باعث ایجاد واکنش در جهت بهبود در تولید و سلامتی حیوان شده است.

# 2–مواد و روش ها

## 2-1- محل اجرای طرح

اجرای این طرح در محل گاوداری دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد (طول جغرافیایی 59 درجه و 37 دقیقه و عرض جغرافیایی 36 درجه و 16 دقیقه) درزمستان 1389 آغاز شد. آنالیزهای آزمایشگاهی، شامل تجزیه شیمیایی نمونه‌ها ی خوراک و مدفوع، اندازه گیری قابلیت هضم و برخی فاکتورهای خونی در آزمایشگاه تغذیه دام دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، و آنالیز ترکیبات شیر در آزمایشگاه جهاد کشاورزی مشهد، انجام شد.

## 2-2- مراحل اجرای طرح

این طرح در قالب چند آزمایش صورت گرفت :

آزمایش اول: بررسی قابلیت هضم و عملکرد گاوهای شیری در تیمارهای مختلف.

آزمایش دوم : بررسی تغییرات pH شکمبه در گاوهای نر اخته فیستوله برای تشخیص نحوه عملکرد بافرها بر روی pH و تخمیر میکرو ارگانیسم های شکمبه.

## 2-3- انتخاب دام‌های آزمایشی

6 راس گاو اصیل هلشتاین چند شکم در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. قبل از آغاز آزمایش، گاوها از نظر سلامتی به خصوص وضعیت پاها، سم ها، پستان، بیماری های تولید مثلی، ورم پستان و سایر بیماری های عفونی و متابولیکی معاینه شدند. برای هر دوره در هر تیمار 2 رأس گاو در نظر گرفته شد (جدول3-1).

## 3-4- تیمارهای آزمایشی

سه جیره غذایی در قالب یک طرح مربع لاتین 3×3 تکرار شده در زمان مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از:

تیمار شاهد (بدون ماده بافری)

تیمار شاهد + 1٪ ماده خشک جیره بی کربنات سدیم

تیمار شاهد + 2٪ بافر تجاری

جیره های آزمایشی با نسبت 65٪ کنسانتره و 35٪ علوفه ( متشکل از سیلوی ذرت 20٪ ماده خشک و علوفه یونجه 15٪ ماده خشک) بود که بر اساس جداول احتیاجات غذایی NRC (2001) تنظیم شد. جدول 3-2 و 3-3 ترکیب جیره و ترکیب مواد مغذی موجود در جیره های آزمایشی را نشان می‌دهد.

جدول3-1- خصوصیات گاوهای مورد استفاده در آزمایش

| شماره گاو | شکم زایش | تولید شیر در شروع طرح(kg/d) | روزهای شیرواری |
|---|---|---|---|
| 836 | 2 | 44 | 97 |
| 821 | 2 | 45 | 78 |
| 842 | 2 | 37 | 113 |
| 833 | 2 | 40 | 81 |
| 839 | 2 | 35 | 99 |
| 772 | 3 | 36 | 87 |

جدول 3-2- ترکیب جیره

| اجزاء جیره | تیمار1 | تیمار 2 | تیمار 3 |
|---|---|---|---|
| یونجه | 15 | 15 | 15 |
| سیلاژ ذرت | 20 | 20 | 20 |
| تخم پنبه دانه | 8 | 8 | 8 |
| ذرت | 7 | 7 | 7 |
| جو | 19 | 19 | 19 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| کنجاله سویا | 15 | 15 | 15 |
| کنجاله کانولا | 5 | 6 | 6/5 |
| سبوس | 7/5 | 5/5 | 4 |
| مکمل چربی | 1/5 | 1/5 | 1/5 |
| کربنات کلسیم | 0/8 | 0/8 | 0/8 |
| مکمل مواد معدنی و ویتامینی | 1 | 1 | 1 |
| نمک | 0/2 | 0/2 | 0/2 |
| بیکربنات سدیم | - | 1 | - |
| بافر تجاری | - | - | 2 |

جدول 3-3- ترکیب مواد مغذی در جیره

| | تیمار1 | تیمار 2 | تیمار 3 |
|---|---|---|---|
| انرژی خالص شیردهی (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک) | 1/61 | 1/61 | 1/61 |
| پروتئین خام (٪) | 17/5 | 17/5 | 17/5 |
| چربی خام (٪) | 4/5 | 4/5 | 4/5 |
| NFC (٪) | 39/7 | 39/4 | 39 |
| NDF (٪) | 33/1 | 33/6 | 32/1 |
| ADF (٪) | 20/3 | 20/2 | 20/1 |
| کلسیم (٪) | 0/9 | 0/9 | 0/9 |
| فسفر (٪) | 0/6 | 0/6 | 0/6 |
| DCAD | 166 | 279 | 159 |

## 2-5- مدت اجرای طرح و نحوه اعمال تیمارها

آزمایش در3 دوره 21 روزه (جمعاً 63 روز) انجام شد. هر دوره آزمایشی شامل 14 روز عادت پذیری به جیره‌های غذایی و 7 روز دوره جمع آوری، نمونه گیری و رکورد برداری بود. چرخش تیمارها در انتهای هر دوره مطابق جدول 3-4 انجام می‌شد.

جدول 3-4- نحوه چرخش تیمارهای آزمایشی در دوره

| | شماره گاوها | | |
|---|---|---|---|
| دوره های آزمایشی | 821-836 | 833-842 | 772-839 |
| دوره 1 | 1 | 2 | 3 |
| دوره دوم | 2 | 3 | 1 |
| دوره سوم | 3 | 1 | 2 |

اعداد 1، 2، 3 تیمارهای آزمایشی مورد استفاده هستند

## 2-6- تهیه جیره های آزمایشی

در آغاز طرح به منظور عادت پذیری گاوها به شرایط سالن تحقیقاتی، به مدت سه روز حیوانات با جیره گاوداری تغذیه شدند. جیره ها به صورت کاملاً مخلوط[12] (TMR) مورد تغذیه قرار گرفتند. بدین منظور یونجه های بسته بندی شده موجود به وسیله خرمن کوب به قطعاتی حدوداً 5 سانتی متری خرد شدند. ابتدا بخش علوفه و کنسانتره جیره به طور جداگانه وزن شده و به پای آخور هر گاو منتقل می گردید و سپس توسط چهار شاخ دستی کاملاً مخلوط می-گردید. پس از آماده سازی، جیره به سه بخش تقسیم شده و در سه وعده بعد از هر وعده شیردوشی در اختیار حیوان قرار می‌گرفت. هر روز باقیمانده خوراک روز قبل توزین می‌شد. گاوها در طول دوره عادت پذیری روزانه پس از شیردوشی وعده صبح، از اصطبل خارج شده و به منظور پیشگیری از اختلالات اندامهای حرکتی 2 ساعت در فضای باز به طور آزاد نگهداری می‌شدند.

## 2-7- کنترل اعمال مدیریتی

مصرف خوراک و تولید شیر روزانه در هر وعده کنترل گردید.

آبخوریهای اتوماتیک هر روز کنترل شد.

[12] -Total Mixed Ration

در زمان انتقال دامها به بیرون اصطبل، سلامتی عمومی و علایم فحلی مورد بررسی قرار گرفت.

در طول مدت رکورد برداری هیچگونه تزریق یا درمانی انجام نشد.

کلیه بررسی های انجام شده و رخدادهای احتمالی برای هر حیوان در دفترچه مطالب روزانه ثبت می‌شد.

قبل از آغاز آزمایش کف سالن کاملاً تمیز و ضد عفونی گردید.

در طول مدت آزمایش به منظور پیشگیری از آلودگی احتمالی یکبار سمپاشی کل سالن انجام شد.

شیردوشی همه روزه در ساعت 5 صبح، 1 ظهر و 9 شب انجام می‌شد و تولید شیر روزانه در هر وعده ثبت و کنترل می‌گردید.

## 2-8- نمونه برداری و ثبت نتایج

خوراک و باقیمانده آن: در هفته نمونه گیری به مدت 7 روز، بعد از آماده سازی جیره ها (ساعت 9 صبح) از خوراک هر گاو به میزان مساوی نمونه گیری می‌شد که پس از ریختن در کیسه نایلونی و بستن درب آن به فریزر با درجه برودت 20- درجه سانتی گراد منتقل می‌شد. در طول مدت 7 روز نمونه گیری این عمل تکرار شده و در پایان هر دوره، نمونه های جمع آوری شده (جمعاً 7 نمونه) از هر گاو مخلوط و یک نمونه جهت تجزیه شیمیایی خوراک و باقیمانده آن برداشته و نمونه نهایی مجدداً به فریزر انتقال داده می‌شد.

جمع آوری مدفوع: برای اندازه گیری قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی، از 2 روش مستقیم و از مارکر داخلی خاکستر نامحلول در اسید (AIA) به روش ون کوئلن و یانگ (1977)، استفاده شد. در طی 7 روز از دوره نمونه گیری، مدفوع روزانه از رکتوم نمونه گیری می‌شد. در طول این مدت هر روز پس از مخلوط نمودن مدفوع جمع آوری شده، نمونه ای حدود 300 گرمی برداشته و در کیسه های پلاستیکی در فریزر با برودت 20- درجه سانتی گراد نگهداری

می‌شد. نمونه‌های خوراک و باقیمانده آن پس از پایان هر دوره آزمایشی مخلوط شده و نمونه نهایی برداشته می‌شد. قبل از آنالیز، نمونه‌ها در آون با دمای 60 0C به مدت 48 ساعت خشک می‌گردید.

برای اندازه گیری مستقیم قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی، وزن کل مدفوع روزانه لازم است. برای فراهم شدن امکان اندازه گیری این فاکتور، در هفته نمونه برداری نرده های کف سالن توسط کیسه پوشانیده شد. در طی 7 روز از دوره نمونه گیری، روزانه جمع آوری مدفوع و توزین آن صورت گرفت. در طول این مدت هر روز پس از مخلوط نمودن کل مدفوع جمع آوری شده، نمونه ای حدود 300 گرمی برداشته و در کیسه های پلاستیکی در فریزر با برودت 20- درجه سانتی گراد نگهداری شد. نمونه های مدفوع نیز همانند نمونه های خوراک و باقیمانده آن پس از پایان هر دوره آزمایشی مخلوط شده و نمونه نهایی برداشته شد. به دلیل محتوای قابل توجه آب موجود در مدفوع، افزایش دمای نمونه‌ها جهت خروج از انجماد و مخلوط کردن، به صورت تدریجی صورت گرفت.

مایع شکمبه: در آخرین روز از هر دوره (روز 21) 2 ساعت پس از وعده غذایی صبح (ساعت 11) نمونه برداری از شیرابه شکمبه توسط لوله مری انجام شده و pH آن بلافاصله توسط pH متر دیجیتال (مدل 691، شرکت Metrohm) ثبت می‌گردید. در مرحله بعد شیرابه توسط پارچه متقال صاف و 10 میلی لیتر از آن گرفته شده و معادل هم حجم آن اسید کلریدریک 0/2 نرمال جهت تعیین نیتروژن آمونیاکی به آن اضافه شد و در فریزر با دمای 20- درجه سانتی گراد نگهداری شد. در آزمایشگاه نیتروژن آمونیاکی با استفاده از روش کلدال (دستگاه Kjeltec 1030 Auto) اندازه گیری شد.

خون: در روز آخر هر دوره آزمایشی قبل از نمونه گیری از شیرابه شکمبه، با سرنگ از سیاهرگ وداج گردن حیوان 15 میلی لیتر خون گرفته شده و به مدت 30 دقیقه در یخچال نگهداری شد. سپس نمونه ها در 3000 دور به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ می‌شد تا سرم آن جدا شود. سرم هر نمونه به وسیله سرنگ به میکرو تیوب پلاستیکی مخصوص

انتقال داده شده و در 20- درجه سانتی گراد نگهداری می‌شد که این برای بررسی فاکتورهای خونی بود و به مقدار 2سی سی نیز سریع برای اندازه گیری گازهای خون به آزمایشگاه امام رضا مشهد منتقل می‌شد.

شیر: ثبت و کنترل تولید شیر در کل دوره آزمایش به طور روزانه انجام می‌شد. رکوردهای مورد نیاز جهت بررسی تأثیر تیمارهای آزمایشی بر تولید شیر روزانه، از اطلاعات ثبت شده در هفته نمونه گیری (7 روز آخر هر دوره 21 روزه) هر دوره به دست آمد. در روزششم هفته نمونه گیری، نمونه گیری از شیر جهت تعیین چربی، پروتئین و لاکتوز به عمل آمد.

ترکیبات شیر:

پروتئین، لاکتوز و چربی با استفاده از دستگاه میلکواسکلن (Foss Electric, Conveyor 4000) در آزمایشگاه جهاد کشاورزی مشهد تعیین شد.

تولید شیرتصحیح شده برای 4 درصد چربی:

0/4 (تولید شیرروزانه) + 15(تولید چربی شیر روزانه) (NRC, 2001)

ماده آلی خوراک و مدفوع : مقدار 5 گرم از ماده خشک خوراک و مدفوع را پس از توزین در کوزه چینی ریخته و به مدت 3 ساعت با دمای 600 درجه سانتیگراد در کوره الکتریکی (مدلHot Spot Gallen Kamp کشور انگلستان) قرار داده شد. نمونه‌ها پس از این مدت به دسیکاتور منتقل شده تا پس از سرد شدن توزین شوند. سپس محاسبات لازم برای تعیین مادهٔ آلی و خاکستر(Ash) خوراک و مدفوع صورت گرفت (AOAC،2002).

WAsh= وزن خاکستر

W1= وزن خشک نمونه اولیه

$$\frac{W_{Ash}}{W_1} \times 100 = \%Ash$$

٪ ماده آلی = 100 - %Ash

دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز( NDF, ADF ):

برای تعیین دیواره سلولی مخلوطی حاوی سدیم لوریل سولفات، EDTA، دی سدیم هیدروژن فسفات بدون آب، 2 اتوکسی اتانول و بوراکس را با مقادیر مشخص (طبق روش پیشنهادی بخش خدمات وزارت کشاورزی ایالات متحده آمریکا) مخلوط کرده و به حجم رسانده و یک گرم نمونه (خوراک یا مدفوع) و 0/5 گرم سولفات سدیم همراه 100 میلی لیتر از این محلول را به مدت یک ساعت جوشانده و بعد از صاف کردن با آب جوش و استن، مواد باقیمانده روی صافی راجمع آوری کرده و با آب شستشو داده و داخل کوره منتقل می نمایم و برای خشک شدن آب نمونه ها آن‌ها را به داخل آون منتقل می نماییم. پس از وزن کردن و کوره گذاری و وزن کردن مجدد اختلاف وزن مشخص کننده دیواره سلولی است.

برای تعیین دیواره سلولی بدون همی سلولز مخلوطی از 20 گرم ستابلن و اسید سولفوریک 1 نرمال را به حجم یک لیتر رسانده و 100 میلی لیتر از محلول فوق را با یک گرم نمونه (مدفوع یا خوراک) به مدت یک ساعت می جوشانیم (طبق روش پیشنهادی بخش خدمات کشاورزی ایالات متحده آمریکا). سایر مراحل صاف کردن و کوره گذاری همانند روش تعیین دیواره سلولی است.

قابلیت هضم مواد مغذی و ماده خشک با استفاده از روش مارکر داخلی نامحلول در اسید(AIA) محاسبه گردید.غلظت مواد مغذی و مارکر در نمونه های خوراک و مدفوع تعیین شد.

## 2-9- تجزیه و تحلیل آماری

داده های آزمایش در قالب طرح مربع لاتین 3×3 تکرار شده، آنالیز واریانس شدند. در این طرح، سه تیمار در سه دوره با دو تکرار مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمایش با مدل Mixed برنامه آماری SAS ویرایش 9/1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مدل آماری طرح به این صورت بود:

$$Yijk=\mu + Ti + Pj + CK + Ti \times Pj + \varepsilon\ ijK$$

Yijk = مقدار مشاهده مورد نظر

μ= میانگین کل متغیر وابسته

Ti = اثر تیمار آزمایش

Pj = اثر دوره آزمایش

CK = اثر گاو

Ti × Pj = اثر متقابل دوره وتیمار

ε ijk = خطای آزمایشی

برای مقایسه میانگین تیمارها، در صورت معنی‌دار شدن اثر تیمار در سطح 0/05 خطا، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

## 2-10- آزمایش دوم

در این آزمایش نیز از 3 گاو نر اخته شده چند ساله در طرح مربع لاتین تکرار شده 3×3 استفاده شد. در این آزمایش هدف بررسی عملکرد تیمارهای مختلف بر تخمیر شکمبه بود. جدول 3-5 و 3-6 ترکیب جیره و ترکیب مواد مغذی

موجود در جیره های آزمایشی را نشان می‌دهد. خوراک دام‌ها به صورت کاملاً مخلوط در دو وعـده در اختیـار دام‌هـا قرار داده می‌شد. طول هر دوره 21 روز بود و مراحل آزمایش شبیه دوره قبل انجام می‌گرفت.

## 2-11- نمونه برداری و ثبت نتایج

مایع شکمبه: گاوها 2ساعت بعد از خوراک به ترتیب به داخل گردن گیر منتقل شده و نمونه برداری از شیرابه شـکمبه توسط لوله مری انجام شده و pH آن بلافاصله توسط pH متـر دیجیتـال (مـدل 691، شـرکت Metrohm) ثبـت مـی گردید. در مرحله بعد شیرابه توسط پارچه متقال صاف و 10 میلی لیتر از آن گرفته شده و معـادل هـم حجـم آن اسـید کلریدریک 0/2 نرمال به آن افزوده و جهت اندازه گیری نیتروژن آمونیاکی در فریزر با دمای 20- درجه سانتی گراد نگهداری شد. و در آزمایشگاه نیتروژن آمونیاکی با استفاده از روش کلدال (دسـتگاه Kjeltec Auto 1030) انـدازه گیری شد.

خون: در روز آخر هر دوره آزمایشی قبل از نمونه گیری از شیرابه شکمبه، با سرنگ از سـیاهرگ وداج گـردن حیـوان 15 میلی لیتر خون گرفته شده و به مدت 30 در یخچال نگهداری شـد. سـپس نمونـه هـا در 3000 دور بـه مـدت 15 دقیقه سانتریفوژ شد تا سرم آن جدا شود. سرم هر نمونه به وسیله سرنگ به میکرو تیـوب پلاسـتیکی مخصـوص انتقـال داده شده و در 20- درجه سانتی گراد نگهداری می‌شد که این برای بررسی فاکتورهای خونی بـود و 2 سـی سـی نیـز سریعا برای اندازه گیری گازهای خون به آزمایشگاه امام رضا مشهد منتقل شد.

جدول 3-5- ترکیب جیره

| اجزاء جیره | تیمار1 | تیمار 2 | تیمار 3 |
|---|---|---|---|
| یونجه | 10 | 10 | 10 |
| سیلاژ ذرت | 25 | 25 | 25 |
| جو | 29 | 30 | 33 |
| کلزا | 10 | 10 | 11/5 |
| سبوس | 24 | 22 | 16/5 |
| کربنات کلسیم | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| مکمل مواد معدنی و ویتامینی | 1 | 1 | 1 |
| نمک | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| بیکربنات سدیم | - | 1 | - |
| بافر تجاری | - | - | 2 |

جدول 4-5-ترکیب مواد مغذی جیره

| | تیمار1 | تیمار 2 | تیمار 3 |
|---|---|---|---|
| انرژی قابل متابولیسم | 2/55 | 2/54 | 2/53 |
| پروتئین خام (٪) | 13/4 | 13/3 | 13/4 |
| NDF (٪) | 36/5 | 36/4 | 35/1 |
| FNDF | 17/8 | 17/8 | 17/8 |
| ADF (٪) | 19/7 | 19/5 | 19/5 |

دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز( NDF, ADF ):

برای تعیین دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون سلولز مطابق بند 3-8-7 عمل گردید. و از طریق روش مستقیم قابلیت هضم آن مشخص شد.

## 2-12- تجزیه و تحلیل آماری

داده های آزمایش در قالب طرح مربع لاتین 3×3 تکرار شده، آنالیز واریانس شدند. در این طرح، سه تیمار در قالب سه جیره غذایی در چهار دوره با دو تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج حاصل از آزمایش با مدل Mixed برنامه آماری SAS ویرایش 9/1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مدل آماری طرح مانند آزمایش اول بود.

# 3– نتایج و بحث

## 3-1- ماده خشک مصرفی

در این آزمایش، استفاده از منابع مختلف بافری تاثیری معنی دار بر ماده خشک مصرفی نشان نداد (جدول 4-1) که در تناقض با آزمایشاتی است که توسط Escobosa and Coppock (1984) و Schneider(1984) و Schneider(1986) انجام گرفت. این محققین نشان دادند که استفاده از بافر بی کربنات سدیم سبب افزایش ماده خشک مصرفی می‌گردد. به نظر می‌رسد که تأثیر استفاده از منابع بافری به ADF خوراک ، میزان علوفه جیره و گونه منابع علوفه ای مصرفی و حالت فیزیولوژیک دام بستگی دارد.

در مطالعاتی دیگر (Erdman, 1988و Staples, 1989) مشاهده شد که بی کربنات سدیم بر روی جیره های فاقد سیلوی ذرت بی تأثیر است. Hu and Murphy (2005) بی کربنات سدیم را در گاوهای تازه زا و اواسط دوره شیردهی در 27 مطالعه، مورد ارزیابی قرار دادند، و نتیجه گیری کردند که استفاده از بی کربنات سدیم در جیره فاقد سیلوی ذرت بر روی ماده خشک مصرفی بی تأثیر است. توسط همین محققین محتوای فیبر نا محلول در شوینده اسیدی (ADF) علوفه ها نیز مورد بررسی قرار گرفت و تفاوت در پاسخ به بافرها در آن مشاهده شد، در جیره‌هایی تأثیر بی کربنات سدیم مشهود تر بود که در آن‌ها حداکثر 13-14٪ ADF گنجانده شده بود.

در تمام آزمایشاتی که میزان مصرف ماده خشک به صورت معنی دار بیشتر از سایر جیره ها بود محتوای ADF آن‌ها پایین بوده و منبع علوفه آن‌ها برپایه سیلوی ذرت بود، برای مثال محتوی منبع علوفه در آزمایش Escobosa and Coppock (1984) تنها بر پایه 33٪ سیلوی ذرت بود و یا Schneider (1984) فقط حاوی 16 درصد ADF بود. در آزمایش Schneider (1986) نیز منبع علوفه بر پایه 37/9٪ سیلوی ذرت و 15٪، ADF بود. اما محتوای علوفه جیره این آزمایش که برابر 35٪ کل جیره بود شامل مخلوطی از علوفه یونجه خشک و سیلوی ذرت با میزان 20/3٪، ADF بود. نتایج این آزمایش با آزمایشات Erdman (1982) وRogers (1985) مشابه بود و از سوی دیگر با آزمایشاتی که منابع علوفه جیره تنها سیلوی یونجه و یونجه خشک بود، گاوها به بی کربنات سدیم (Edwards and Poole. 1983وStokes and Bull. 1986) افزوده شده به جیره، واکنشی نشان ندادند.

دلیل بی تأثیر بودن این منابع بافری می‌تواند به دلیل استفاده از علوفه یونجه خشک و محتوی ADF جیره باشد، زیرا یونجه خشک دارای خاصیت بافری ذاتی و تحریک به نشخوار و زمان جویدن بیشتر سبب افزایش pH شکمبه می‌گردد . از سویی دیگر مشخص شده است که میزان ADF جیره با pH شکمبه رابطه دارد و هر یک واحد درصد کاهش ADF موجب 0/564 واحد کاهش در pH شکمبه می‌شود (Erdman,1988) و با بالا نگه داشتن ADF جیره می‌توان از افت زیاد pH شکمبه جلوگیری کرد.

البته وضعیت فیزیولوژیک و راحتی دام نیز بر ماده خشک مصرفی بسیار موثر است، به طوری که مشخص شده است که گاوهای تحت تأثیر تنش حرارتی ماده خشک کمتری مصرف می‌کنند (Schneider,1986) و اضافه کردن بی کربنات سدیم در شرایط استرس گرمایی سبب افزایش مصرف خوراک از طریق بالا بردن سدیم جیره و جایگزینی سدیم از دست رفته از طریق عرق کردن می‌گردد ( Escobosa and Coppock, 1984 و Schneider, 1984وSchneider,1986).

در برخی آزمایشات ( Donker and Marx. 1980 &1985 و Boisclair,1986) کاهش مصرف برای جیره‌هایی که منبع علوفه آن‌ها مخلوطی از علوفه یونجه خشک و سیلوی ذرت بوده گزارش شده است. اسیدوز نیمه حاد نیز میتواند در برخی شرایط سبب کاهش مصرف خوراک گردد. Fulton و همکاران (1979) بیان داشتند که کاهش pH به زیر 5/6 سبب کاهش مصرف در گاوهای پرواری می‌شود اما در زمینه گاوهای شیری هنوز pH دقیقی مشخص نشده است.

جدول 4-1- مقایسه تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان ماده خشک مصرفی

| مورد | تیمار1 | تیمار2 | تیمار3 | SEM |
|---|---|---|---|---|
| مصرف ماده خشک (کیلوگرم در روز) | 27/45 | 25/97 | 27/6 | 0/20 |

تیمار 1: شاهد، تیمار2:شاهد+1٪ بیکربنات سدیم، ، تیمار3:شاهد+2٪بافر تجاری

## 3-2- قابلیت هضم مواد مغذی

استفاده از منابع مختلف بافری بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک خوراک، NDF،ADF تاثیری معنی داری را در گاوهای شیری نشان نداد (جدول 4-2). در سایر آزمایشات با سطح ADF بالاتر از 20٪، بافر تأثیر غیر معنی داری بر قابلیت هضم داشت وقتی که منبع علوفه آن بر پایه سیلوی ذرت و یونجه بود (Jacques,1986). این نتایج برای گاوهایی که با بافر تجاری و جوش شیرین تغذیه شده بودند و نیز برای گاوهای بدون بافر صادق بود.

در مطالعه ای که توسط Tajik در سال 2009 صورت گرفت نشان داده شد که گاوهای دچار اسیدوزیس تحت حاد بدون علائم کلینیکی فاقد کاهش چربی شیر و قابلیت هضم بودند و تنها دمای مقعد در آن‌ها به دلیل فعالیت بیشتر شکمبه و تخمیر بیشتر در روده بزرگ بالاتر بود (Kleen, 2004،Oetzel, 2005 وTajik, 2009 ) که همسو با نتایج این آزمایش است. برای تحت تأثیر قرار نگرفتن قابلیت هضم در این آزمایش می‌توان بیان داشت که

کاهش pH شکمبه به زیر 6/3 سبب یک کاهش 3/6٪ در قابلیت هضم ADF می‌شود اما در آزمایشات بر روی بافر و تاثیرش بر pH، هیچگاه نتوانسته اند pH شکمبه گاوهای درحال شیردهی را بالای 6/3 نگاه دارند و بنابراین تغییر واقعی در هضم ADF و ماده خشک مصرفی مشاهده نشده است (Coppock,1982 وFisher,1983 وSnyder,1983 و Rogers et al.,1985 وEickelberger,1985 و Stokes,1986 a and b).

و در مورد قابلیت هضم، تیمار حاوی بی کربنات سدیم، Rogers (1892) و Snyder (1983)، افزایش قابلیت هضم ADF را گزارش کردند که در هر دو آزمایش میزان بی کربنات سدیم بالاتر از این آزمایش و به ترتیب 1/2 و 1/5 درصد بود که تقریباً 150 گرم در روز بیشتر از میزان مصرفی این مطالعه بود. در آزمایشاتی که کاهش در قابلیت هضم مشاهده شده است میزان ADF جیره بالاتر از 20٪ و نسبت بین سیلوی ذرت و یونجه برابر و حدود 40-50 درصد جیره ویا بالاتر را بود (English at el.,1983 و Fisher,1983).

جدول 4-2- مقایسه تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان قابلیت هضم ماده خشک، ADF وNDF ٪

| مورد | تیمار1 | تیمار2 | تیمار3 | SEM |
|---|---|---|---|---|
| ماده خشک | 68/92 | 67/08 | 68/72 | 0/28 |
| ADF | 43/32 | 44/12 | 44/32 | 0/76 |
| NDF | 55/5 | 25/12 | 53/75 | 0/59 |

تیمار 1: شاهد، تیمار2:شاهد+1٪ بیکربنات سدیم، تیمار3:شاهد+2٪بافر تجاری

آزمایش2

در گاوهای نر فیستوله شده تفاوت در قابلیت هضم ظاهری معنی دار بود (جدول 4-3). اما در قابلیت هضم NDF تفاوت معنی داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد که نتیجه آن با آزمایش اول یکسان بود.

جدول 4-3- تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان قابلیت هضم ماده خشک، ADF و NDF٪

| مورد | تیمار1 | تیمار2 | تیمار3 | SEM |
|---|---|---|---|---|
| ماده خشک | 86/8[a] | 80/2[ab] | 81/76[ab] | 0/97 |
| NDF | 77/68 | 70/27 | 71/37 | 2/47 |

تیمار 1: شاهد، تیمار2:شاهد+1٪ بیکربنات سدیم، تیمار3:شاهد+2٪بافر تجاری

در هر ردیف بین میانگین های با حروف متفاوت، اختلاف معنی دار وجود دارد

## 3-3- گاز و pH خون

استفاده از منابع مختلف بافری در این آزمایش تأثیر معنی داری را بر روی غلظت $HCO_3^-$ و pH و $pCO_2$ خون نشان نداد (جدول 4-3) و در تناقض با برخی از آزمایشات (Escobosa and Coppock, 1984 و Schneider,1984 و Schneider,1986) بود.

این آزمایش در فصل زمستان و در حالتی که تنش حرارتی بر دام وارد نمی شد صورت گرفت و به نظر می رسد که این امر بر آن موثر بوده است، زیرا بیکربنات ها مهمترین بافرها برای حفظ pH خون به دلیل از دست دادن یون $H^+$ از $H_2CO_3$ برای ایجاد تعادل و برقرار نگهداشتن آن با $CO_2$ و $H_2O$ هستند (رابطه 4-1).

$$CO_2 + H_2O \leftrightarrow H_2CO_3 \leftrightarrow HCO_3^- + H^+$$

بیشترین تغییرات در pH خون، $HCO_3^-$ و $pCO_2$ در گاوهای شیری بستگی به تغییرات دمایی محیط دارد (Erfle, 1982 ، Schneider,1984 ، Escobosa and Coppock, 1984 و Schneider,1986). این تغییرات به دلیل اختلالات تغذیه ای نیستند بلکه نتیجه خالص میزان تنفس هستند که آن نیز مربوط به تنظیم کردن دمای بدن است.

Schneider (1986) نشان داد که با تقسیم کردن گاوها در دمای بالا به گاوهای تحت تنش حرارتی یا بدون آن، گاوهای تحت تنش حرارتی pH خون بالاتری از گاوهای بدون تنش داشتند که به سمت آلکالوز تنفسی می‌رفت و نشان داده شد که pH خون، بیشتر از اینکه تحت تأثیر جیره مصرفی باشد، تحت تأثیر دمای محیط است.

به دلیل اینکه این آزمایش در زمستان و در سرما انجام گرفت به دلیل نرخ تنفسی کمتر فشار $CO_2$ در خون بالا رفته و در نتیجه pH خون کمی کاهش یافت که البته این تغییر در بین تیمار ها معنی دار نبود ($P>0/05$).

جدول 4-5- تأثیر تیمارهای مختلف بر گاز و pH خون

| مورد | تیمار1 | تیمار2 | تیمار3 | SEM |
|---|---|---|---|---|
| pH خون | 7/427 | 7/429 | 7/43 | 0/0075 |
| $pCO_2$ (میلیلیتر جیره) | 37/113 | 43/32 | 44/23 | 0/85 |
| $HCO_3^-$ (میلی مول برلیتر) | 25/4 | 29/4 | 29/7 | 0/86 |

تیمار 1: شاهد، تیمار2:شاهد+1٪ بیکربنات سدیم، تیمار3:شاهد+2٪بافر تجاری

## 3-4- عملکرد

تولید شیر در این آزمایش تفاوتی معنی داری ($P<0/05$)را بین تیمارها نشان داد (جدول 4-7). بر اساس آن، **تولید شیر برای تیمارهای شاهد، بی کربنات سدیم و بافر تجاری به ترتیب دارای 38/9، 39/37، 40/5 بود**.Hu and Murphy (2005) نشان دادند که بی کربنات سدیم در جیره های فاقد سیلوی ذرت سبب افزایش تولید نگردیده و در جیره های دارای سیلوی ذرت نیز باعث افزایش مصرف می‌شود و این افزایش ماده خشک مصرفی در افزایش چربی شیر نمایان می‌شود. البته افزایش تولید شیر با سطوح کمتر علوفه جیره بر پایه ذرت گزارش شده است (James et al., 1993) که می‌تواند به دلیل سطح پایین و 25 درصدی علوفه جیره باشد.

ترکیبات شیر تحت تأثیر تیمارهای مختلف قرار نگرفته و تفاوت معنی داری نشان ندادند ($P$>0/05) بـه جـز چربـی شیر که تیمار حاوی **بافر تجاری بیشترین چربی شیر را نشان داد. بافر تجاری بیشترین میـزان افـزایش تولید شیر و چربی شیر را نشان داد** که احتمالاً می‌تواند به دلیل بـالا بـودن غلظـت ویتـامین هـای گـروه B در شکمبه و همینطور کاهش تغییرات در pH شکمبه باشد.

جدول 4-7- تأثیر تیمارهای مختلف بر تولید و ترکیب شیر

| مورد | تیمار1 | تیمار2 | تیمار3 | SEM |
|---|---|---|---|---|
| تولید شیر(کیلوگرم/روز) | 38/98 b | 39/37 b | 40/52 a | 0/26 |
| لاکتوز٪ | 4/82 | 4/84 | 4/92 | 0/023 |
| چربی٪ | 3/36 b | 3/39 b | 3/75 a | 0/058 |
| پروتئین٪ | 3/24 | 3/24 | 3/2 | 0/017 |

تیمار 1: شاهد، تیمار2:شاهد+1٪ بیکربنات سدیم، تیمار3:شاهد+2٪بافر تجاری

در هر ردیف بین میانگین های با حروف متفاوت، اختلاف معنی دار وجود دارد

جدول 4-8- تأثیر تیمارهای مختلف بر شیر تصحیح شده(4٪ چربی) و تولید ترکیبات مختلف

| مورد | تیمار1 | تیمار2 | تیمار3 | SEM |
|---|---|---|---|---|
| FCM (کیلوگرم/روز) | 35/23b | 35/76b | 39a | 0/29 |
| تولیدی لاکتوز(کیلوگرم/روز) | 1/88 b | 1/82 b | 1/99a | 0/018 |
| چربی تولیدی(کیلوگرم/روز) | 1/31 b | 1/38 b | 1/51a | 0/016 |
| پروتئین تولیدی(کیلوگرم/روز) | 1/ 26 b | 1/22 ab | 1/29a | 0/011 |

تیمار 1: شاهد، تیمار2:شاهد+1٪ بیکربنات سدیم، تیمار3:شاهد+2٪بافر تجاری

در هر ردیف بین میانگین های با حروف متفاوت، اختلاف معنی دار وجود دارد

## 3-5- فاکتورهای تخمیری شکمبه

در گاوهای شیرده تفاوت در میزان غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه معنی دار نبود. گزارش شده است که استفاده از بی کربنات سدیم بر روی میزان نیتروزن آمونیاکی شکمبه بی تأثیر است (Mees et al.,1986) هر چند نظریه ایی وجود دارد که بیان می‌کند بی کربنات سدیم مانند نمک عمل کرده و سبب افزایش نرخ رقت در شکمبه می‌شود (Russell,1992). هرچند مشخص شده است هر 100 گرم بی کربنات سدیم فقط 0/2 درصد نرخ رقت را بالا می برد و برای افزایش یک درصدی نرخ رقت در گاو های شیری، 20 کیلوگرم ماده خشک مصرفی با حداقل 2/5 درصد بی کربنات سدیم لازم است (Erdman, 1988).

جدول 4-9- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه گاوهای شیری

| مورد | تیمار1 | تیمار2 | تیمار3 | SEM |
|---|---|---|---|---|
| نیتروژن آمونیاکیmg/dl | 21/65 | 18/97 | 20/31 | 0/72 |

تیمار 1: شاهد، تیمار2:شاهد+1٪ بیکربنات سدیم، تیمار3:شاهد+2٪بافر تجاری

## آزمایش 2

در این آزمایش میزان تغییرات بافرها به فاصله 2 ساعت بعد خوراک برای بررسی نحوه عمل و میزان افت pH بررسی شد (جدول4-10).

افت pH شکمبه برای مدت زمان 2 ساعت پس از مصرف خوراک در جدول 4-10 آمده است. همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین افت مربوط به جیره شاهد و کمترین میزان افت مربوط به جیره بافر تجاری است.

جدول 4-10- تأثیر تیمارهای مختلف بر تغییرات pH در 2 ساعت بعد از غذا

| مورد | تیمار1 | تیمار2 | تیمار3 | SEM |
|---|---|---|---|---|
| pH2-pH0 | -0/65[b] | -0/55[b] | -0/33[a] | 0/025 |

تیمار 1: شاهد، تیمار2:شاهد+1٪ بیکربنات سدیم، تیمار3:شاهد+2٪بافر تجاری

در هر ردیف بین میانگین های با حروف متفاوت، اختلاف معنی دار وجود دارد

تغیرات آمونیاکی مایع شکمبه نیز مورد بررسی قرار گرفت (جدول4-11) و مشاهده شد که در زمان 2 ساعت پس ازتغذیه غلظت نیتروژن آمونیاکی در مایع شکمبه افزایش و در ساعت‌های بعد از آن کاهش یافت.

جدول 4-11- تأثیر تیمارهای مختلف بر تغییرات غلظت نیتروژن آمونیاکی در زمان های مختلف

| زمان/ نیتروژن آمونیاکیmg/dl | تیمار1 | تیمار2 | تیمار3 | SEM |
|---|---|---|---|---|
| صفر | 11/74[a] | 13/70[a] | 12/17[a] | 0/72 |
| 2 | 17/75[b] | 18/22[b] | 24/15[a] | 0/74 |
| 4 | 16/17[b] | 16/83[b] | 20/57[a] | 0/81 |

تیمار 1: شاهد، تیمار2:شاهد+1٪ بیکربنات سدیم، تیمار3:شاهد+2٪بافر تجاری

در هر ردیف بین میانگین‌های با حروف متفاوت، اختلاف معنی دار وجود دارد.

## نتیجه گیری

اسیدوز تحت حاد (SARSA) به دلیل افزایش مصرف کربوهیدرات‌ها یا کاهش مصرف علوفه و یا هر دو با هم رخ می‌دهد و در نهایت کاهش چربی شیر و افزایش بیمارها در گله و کاهش عمر اقتصادی دام را به همراه دارد. با توجه به پایین بودن کیفیت علوفه‌ها در ایران، استفاده بیشتر از منابع انرژی (دانه‌های غلات) در جیره دام‌ها امری غیر قابل اجتناب است که افزایش اسیدوز را منجر می‌شود. **با توجه به بررسی‌هایی که صورت گرفته این مشکل را تأیید می‌کند که در ایران اختلال متابولیکی اسیدوز بیشتر از کشورهای توسعه یافته است. از این رو استفاده از منابع بافری امری ضروری به نظر می‌آید.** با توجه به نتایج این آزمایش استفاده از بافرها سبب کاهش افت pH شکمبه شده و از تغییرات بیش از حد pH شکمبه جلوگیری به عمل آورده و محیطی با ثبات تر برای رشد میکرو ارگانیسم‌ها در شکمبه فراهم می‌کنند. در این آزمایش به اثبات رسید که تأثیر بافرها بر عملکرد دام به طور مستقیم رابطه منفی با میزان علوفه جیره داشته و با کاهش علوفه جیره افزایش در عملکرد و قابلیت هضم بیشتر مشاهده می‌شود که به دلیل جلوگیری از افت سریع pH شکمبه است. در این بین، **استفاده از بافر تجاری** حاوی مخلوطی از ویتامین‌های گروه B کمپلکس احتمالاً سبب افزایش غلظت ویتامین-های این گروه در مایع شکمبه شده و **باعث افزایش تولید، کاهش بیماری‌ها و ناهنجاری‌های متابولیکی می‌گردد**.

# 4- منابع


1. Abel HJ, Immig I, Da Costa Gomez C & Steinberg W (2001) Effect of increasing dietary concentrate levels on microbial biotin metabolismin the artificial rumen simulation system (RUSITEC). Arch Anim Nutr 55, 371–376.
2. Abel, Schro, Lebzien and Flachowsky, 2006. Effects of defaunation on fermentation characteristics and biotin balance in an artificial rumen-simulation system (RUSITEC) receiving diets with different amounts and types of cereal. British Journal of Nutrition (2006), 95, 99–104
3. Allen, M. S. 1997. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. J. Dairy Sci. 80:1447-1462.
4. Aschenbach, J.R., G. B. Penner, F. Stumpff, and G. Gäbel. 2010. Invited review: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. J. Anim. Sci. (DOI:10.2527/jas.2010-3301).
5. Bailey, C. B. 1961. Saliva secretion and its relation to feeding in cattle 3. The rate of secretion of mixed saliva in the cow during eating with an estimate of the magnitude of total daily secretion of mixed saliva. Br. J. Nutr. 15:443.
6. Bailey, C. B., and C. C. Balch. 1961. Saliva secretion and its relation to feeding in cattle. 2. The composition and rate of secretion of mixed saliva in the cow during rest. Br. J. Nutr. 15:383.
7. Balch, C. C. 1958. Observations on the act of eating in cattle. Br. J. Nutr. 12:330.
8. Baldwin, R. L. 1979. Modeling analysis of ruminant digestive function. Page 10 in Regulation of acid-base balance. W. H. Hale and P. Meinhardt, ed. Church and Dwight Inc.,Piscataway, NY.
9. Baldwin, R. L., J.H.M. Thornley, and D. E.Beever. 1987. Metabolism of the lactating cow.II. Digestive elements Res. 54:706. of a mechanistic model. J. Dairy Res. 54:706.
10. Bartley, E. E. 1976. Bovine saliva: production and function. Buffers in ruminant physiology. M. S. Weinburg and A. L. Sheffner, ed. Church and Dwight, Inc., New York, NY.
11. Bauman, D. E., and A. L. Lock. 2006. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows.Proceedings, Tri-State Nutr. Conf., Ft. Wayne, IN. (in press).
12. Bauman, D. E., and J. M. Griinari. 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. Livestock Production Science. Volume 70:1-2
13. Baumgard, L. H., B. A. Corl, D. A. Dwyer, A. Saebo, and D. E. Bauman. 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. Am. J. Physiol. 278:R179-R184
14. Bergman, E. N. (1990). Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. Physiological Reviews 70, 567-590.
15. Bilk, S., K. Huhn, K. U. Honscha, H. Pfannkuche, and G. Gabel. 2005. Bicarbonate exporting transporters in the ovine ruminal epithelium. J. Comp. Physiol. B175:365–374.
16. Boisclair, Y., D. G. Grieve, J. B. Stone, O. B. Allen, and G. K. Macleod. 1986. Effect of prepartum energy, body condition, and sodium bicarbonate on production of cows in early lactation. J. Dairy Sci. 69:2636.
17. Brent and Bartley , 1984. THIAMIN AND NIACIN IN THE RUMEN . J ANIM SCI 1984, 59:813-822.

18. Bugaut, M. (1987). Occurrence, absorption and metabolism of short chain Fatty acids in the digestive tract of mammals. Comparative Biochemistry and Ph.vsiology 86B, 439472.
19. Bunn, C. R.. and G. Matrone. 1968. Dietary factors affecting utilization of urea nitrogen by sheep in puri fied diets. 1. Nutr. 95:122.
20. Carter,R. R. and W. L. Grovum. 1990. A review of the physiological significance of hypertonic body fluids on feed intake and ruminal function: Salivation, motility and microbes. J. Anim. Sci. 68:2811-2832.
21. Cassida, K. A., and M. R. Stokes. 1986. Eating and resting salivation in early lactation dairy cows. J. Dairy Sci. 69:1282.
22. Cooke, R. R., R. R. Grummer, S. J. Bertics, D. Z. Caraviello, M. H. Ramos, and N. Silvia del Rio. 2004. upplemental choline for prevention and alleviation of fatty liver. J. Dairy Sci. 87(Suppl.1):343.
23. Coppock, C. E., P. A. Grant, S. J. Portzer, D. A. Charles, and A. Escoboza. 1982. Effect of varying dietary ratio of sodium and chloride on the response of dairy cows in hot weather. J.Dairy Sci. 65:552.
24. Danielli, J. F., M.W.S. Hitchcock, R. A. Marshall, and A. T. Phillipson. 1945. The mechanism of absorption from the rumen as exemplified by the behavior of acetic, propionic, and butyric acids. J. Exp. Biol. 22:75-84.
25. Davis, C. L., and R. E. Brown. 1970. Low-fat milk syndrome. In A.T. Phillipson (Ed.) Physiology of
26. de Veth, M. J., J. M. Griinari, A. M. Pfeiffer, and D. E. Bauman. 2004. Effect of CLA on milk fat synthesis: de Veth, M. J., J. M. Griinari, A. M. Pfeiffer, and D. E. Bauman. 2004. Effect of CLA on milk fat synthesis: comparison of inhibition by methyl esters and free fatty acids, and relationships among studies. Lipids.39:365-372.
27. Dehority, B. A. 1966. Characterization of several bovine rumen bacteria isolated with a xylan medium. J. Bacteriol. 91:1724-1729.
28. DePeters, E. J., A. H. Fredeen, D. L. Bath, and N. E. Smith. 1984. Effect of sodium bicarbonate addition to alfalfa hay-based diets on digestibility of dietary fractions and rumen characteristics. J. Dairy Sci. 67:2384.
29. Digestion and Metabolism in the Ruminant. pp. 545-565. Oriel Press Limited, Newcastle upon Tyne, UK.
30. DIJKSTRA, HUUG BOER, BRUCHEM, BRUINING' AND TAMMINGA, 1992. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH and rumen liquid volume. British Journal of Nurvition (1 993), 69, 385-396
31. Dijkstra, J., H. Boer, J. van Bruchem, M. Bruining, and S. Tamminga. 1993. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH, and rumen liquid volume. Br. J. Nutr.69:385–396
32. Donker, J. D., and G. D. Marx. 1980. Sodium bicarbonate in diets for milking Holstein cows. J. Dairy Sci. 63:931.
33. Donker, J. D., and G. D. Marx. 1985. Dietary sodium bicarbonate for high-producing Holstein cows over complete lactations. J. Dairy Sci. 68:140.

34. Duffield, T. F., and R. Bagg. 2000. Use of ionophores in lactating dairy cattle: A review. Can Vet. J.41:388–394.

35. Duffield, T., R. Bagg, D. Kelton, P. Dick, and J. Wilson. 2003. A field study of dietary interactions with monensin on milk fat percentage in lactating dairy cattle. Journal of Dairy Science. Volume 86:12

36. Edwards, S. A., and D. A. Poole. 1983. Effects of sodium bicarbonate in the diet of dairy cows. Anim. Prod. 37:183.

37. Eickelberger, R. C., L. D. Muller, T. F. Sweeney, and S. M. Abrams. 1985. Addition of buffers to high quality alfalfa hay-based diets for dairy cows in early lactation. J. Dairy Sci. 68:1722.

38. Emery, R. S., and L. D. Brown. 1%1. Effect of feeding sodium and potassium bicaIbonate on milk fat, rumen pH, and volatile fatty acid production. J.Dairy Sci. 44:1899.

39. Emery, R. S., and L. D. Brown. 1961. Effect of feeding sodium and potassium bicarbonate on milk fat, rumen pH, and volatile fatty acid production. J. Dairy Sci. 44:1899.

40. Emery, R. S., L. D. Brown, and J. W. Bell. 1965. Correlation of milk fat with dietary and metabolic factors in cows fed restricted-roughage rations supplements with magnesium oxide or sodium bicarbonate. J. Dairy Sci. 48:3657:1647.

41. English, J. E., T. J. Fronk, D. G. Braund, and J. E. Nocek. 1983. Influence of buffering early lactation rations with sodium bicarbonate and magnesium oxide and subsequent withdrawal or addition effects. J. Dairy Sci. 66:505.

42. Erdman, R. A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: A review. J. Dairy Sci. 71:3246-3266.

43. Erdman, R. A. 1994. Production responses in field study herds fed rumen protected choline. J. Dairy Sci. 77:(Suppl. 1)186(Abstr.).

44. Erdman, R. A., L. S. Bull, and R. W. Hemken.1981. Dietary fermented ammoniated condensed whey and postprandial effects on blood and urine acid-base metabolites in the lactating cow.J. Dairy Sci. 65:712.

45. Erdman, R. A., R. W., Hemken, and L. S. Bull. 1982. Dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide for early postpartum lactating dairy cows: effects on production, acid-base metabolism, and digestion. J. Dairy Sci. 65:712.

46. Erdman, R.A., and Sharma, B.K. 1991. Effect of dietary rumen-protected choline in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 74:1641-1647.

47. Erfle, J. D., R. J. Boila, R. M. Teather, S. Mahadevan, and F. D. Sauer. 1982. Effect of pH on fermentation characteristics and protein degradation by rumen microorganisms in vitro. J. Dairy Sci. 65:1457.

48. Escobosa, A., and C. E. Coppock. 1984. Effects of dietary sodium bicarbonate and calcium chloride on physiological responses of lactating dairy cows in hot weather. J. Dairy Sci. 67:574.

49. Etschmann, B., A. Suplie, and H. Martens. 2009. Change of ruminal sodium transport in sheep during dietary adaptation. Arch. Anim. Nutr. 63:26–38.

50. Fisher, L. J., and V. G. MacKay. 1983a. The investigation of sodium bicarbonate or bentonite as supplements in silages fed to lactating dairy cows. Can. J. Anita. Sci. 63:939.

51. Fisher, L. J., and V. J. MacKay. 1983b. The effect os sodium bicarbonate, sodium bicarbonate plus magnesium oxide or bentonite on the intake of corn silage by lactating cows. Can. J. Anita. Sci. 63:141.
52. Frigg M, Straub OC & Hartmann D (1993) The bioavailability of supplemental biotin in cattle. Int J Vitam Nutr Res 63, 122–128.
53. Frobish, and Davis. 1977. Theory involving propionate and vitamin BI2 in the low-milk fat syndrome. J. Dairy Sci.
54. Fulton, W. R., T. J. Klopfenstein, and R. A. Britton. 1979. Adaptation to high concentrate diets by beef cattle. I. Adaptation to corn and wheat diets. J. Anim. Sci. 49:775-784.
55. Gäbel, G., and J. R. Aschenbach. 2002. Influence of food deprivation on the transport of 3-O-methyl-alpha-d-glucose across the isolated ruminal epithelium of sheep. J.Anim. Sci. 80:2740–2746.
56. Garrett, E.F., M.N. Pereira, K.V. Nordlund, L.E. Armentano, W.J. Goodger, and G.R. Oetzel. Diagnostic Methods for Detecting Subacute Ruminal Acidosis in Dairy Cattle. J. Dairy Sci. 1999 .Volume 82:6.
57. Garrett, EF; Nordlund, KV; Goodger, WJ and Oetzel, GR (1997). A cross-sectional field study investigating the effect of periparturient dietary management on ruminal pH in early lactation dairy cows. J. Dairy Sci., (Suppl. 1), 80: 169.
58. Gibson, J. P. 1984. The effect of frequency of feeding on milk production of dairy cattle. An analysis of published results. Anim. Prod. 38:181.
59. Girard, C. L., and J. J. Matte. 1998. Dietary supplements of folic acid during lactation: Effects on performance of dairy cows. J. Dairy Sci. 81:1412-1419.
60. Girard, C. L., H. Lapierre, J. J. Matte, and G. E. Lobley. 1998. Effects of dietary supplements of rumen-protected methionine and folic acid on lactational performance of dairy cows. J. Dairy Sci. 81(Suppl. 1):295 (Abstr.).
61. Girard, C. L., J. J. Matte, and G. F. Tremhlay. 1995. Gestation and lactation of dairy cows: A role for folic acid? J. Dairy Sci. 78:404-411.
62. Graham, C., and N. L. Simmons. 2005. Functional organization of the bovine rumen epithelium. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 288:R173–R181.
63. Graham, C., I. Gatherar, I. Haslam, M. Glanville, and N. L. Simmons. 2007. Expression and localization of monocarboxylate transporters and sodium/proton exchangers in bovine rumen epithelium. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.292:R997–R1007.
64. Herbert, 1992. Vitamin B12-Dependent Propionate Production by the Ruminal Bacterium Prevotella ruminicola 23t. American Society for Microbiology Vol. 58, No. 7
65. Hu, W., and M. R. Murphy. 2005. Statistical evaluation of early- and mid-lactation dairy cow responses to dietary sodium bicarbonate addition. Anim. Feed Sci. Tech. 119:43-54.
66. Huntington, G. B. 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. J. Anim. Sci. 752352-867.

67. Inka-Donata Niehoff, Liane Hu¨ther and Lebzien,2009. Niacin for dairy cattle: a review. British Journal of Nutrition (2009), 101, 5–19
68. Jacques, Axe, Harris, Harmon, Bolsen and Johnson, 1986 Effect of sodium bicarbonate and sodium bentonite on digestion, solid and liquid flow, and ruminal fermentation characteristics of forage sorghum silage-based diets fed to steers. J. Anim. Sci. 1986.63:923-932
69. Kaufman, W. 1976. Influence of the composition of the ration and the feeding frequency on pH regulation in the rumen and on feed intake in ruminants. Livest. Prod. Sci. 3:103.
70. Kay, R.N.B., and P. N. Holsen. 1963. Reviews of dairy science. Part I. The physiology of the rumen. J. Dairy Res. 30:261.
71. Kilmer, L. H., L. D. Muller, and T. J. Snyder.1981. Addition of sodium bicarbonate to rations of postpartum dairy cows: physiological and metabolic effects. J. Dairy Sci. 64:2357.
72. Kirat, D., J. Masuoka, H. Hayashi, H. Iwano, H. Yokota, H. Taniyama, and S. Kato. 2006. Monocarboxylate transporter 1 (MCT1) plays a direct role in short-chain fatty acids absorption in caprine rumen. J. Physiol. 576:635-647.
73. Kleen, JL (2004). Prevalence of subacute ruminal acidosis in Deutch dairy herds – A field study, PhD Thesis, chool of Veterinary Medicine Hanover. PP: 93-104.
74. Kleen, JL; Hooijer, GA; Rehage, J and Noordhuizen, JPT (2003). Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. J. Vet. Med. Series A, 50: 406-414.
75. Kleen, JL; Hooijer, GA; Rehage, J and Noordhuizen, JPT (2003). Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. J. Vet. Med. Series A, 50: 406-414.
76. Kohn, R. A., and T. F. Dunlap. 1998. Calculation of the buffering capacity of bicarbonate in the rumen and in vitro. J. Anim. Sci. 76:1702-1709.
77. Krause, K. M., and G. R. Oetzel. 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. Anim. Feed Sci Tech. 126:215-236.
78. Krause, K. M., D. V. Dhuyvetter, and G. R. Oetzel. 2008. Effect of a low-moisture buffer block on ruminal pH in lactating dairy cattle induced with subacute ruminal acidosis.Submitted to J. Dairy Sci.
79. Lock, A. L., K. J. Harvatine, I. R. Ipharraguerre, M. E. Van Amburgh, J. K. Drackley, and D. E. Bauman.2005. The dynamics of fat digestion in lactating dairy cows: what does the literature tell us? Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf., Cornell Univ., Ithaca, NY. pp. 83-94.
80. Majee, Schwab,Bertics, Seymour, and Shaver. 2003. Lactation performance by dairy cows fed supplemental biotin and a B-Vitamin blend. Dairy Sci. 86:2106–2112
81. Margerison, J. K., B. Winkler, and B. Penny. 2002. The effect of supplementary biotin on milk production in Holstein cows. Page 219 in Proc. XXII World Buiatrics Congress. Hannover, Germany.
82. Matrone, G., H. A. Ramsey. and G. H. Wise. 1959. Effect of volatile fatty acids. sodium and potassium bicarlx>nate in purified diets for ruminants. Proc. Soc.Exp. BioI. Med. 100:8.
83. McDowell L. R. 2000. Vitamins in animal and human nutrition. 2nd Ed. Iowa State Univ. Press, Ames.
84. McGuire, M. A., J. M, Griinari, D. A. Dwyer, and D. E. Bauman. 1995. Role of Insulin in the Regulation of Mammary Synthesis of Fat and Protein. Journal of Dairy Science. Volume 78:4

85. Mees, Merchen and Mitchel, 1985. Effects of sodium bicarbonate on nitrogen balance, bacterial protein synthesis and sites of nutrient digestion in Sheep. Journal OF ANIMAL SCIENCE, Vol. 61, No. 4, 1985.

86. Meyer, R. M., E. E. Bartley, J. L. Morrill, and W. E. Stewart. 1964. Salivation in cattle. I. Feed and animal factors affecting salivation and its relation to bloat. J. Dairy Sci. 47:1339.

87. Midla, L. T., K. H. Hoblet, W. P. Weiss, and M. L. Moeschberger. 1998. Supplemental dietary biotin for prevention of lesions associated with aseptic subclinical laminitis (pododermatitis aseptica diffusa) in primiparous cows. Am. J. Vet. Res. 59:733–738.

88. Mould, F. L., and E. R. Orskov. 1984a. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. Anita. Feed Sci. Technol. 10:1.

89. Mould, F. L., E. R. Orskov, and S. A. Gauld. 1984b. Associative effects of mixed feeds. II. The effect of dietary addition of bicarbonate salts on the voluntary intake and digestibility of diets containing various proportions of hayand barley. Anim. Feed Sci. Technol. 10: 31.

90. Mould, F. L., E. R. Orskov, and S. O. Mann.1984c. Associative effects of mixed feeds. I.Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. Anim. Feed Sci. Technol. 10:15.

91. Müller, F., K. Huber, H. Pfannkuche, J. R. Aschenbach, G. Breves, and G. Gäbel. 2002. Transport of ketone bodies and lactate in the sheep ruminal epithelium by monocarboxylate transporter 1. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.283:G1139- G1146.

92. Murphy, M. R., Baldwin, R. L. & Koong, L. J. (1982). Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. Journal qf Animal Science 55, 41 1-421.

93. Murphy, M. R., R. L. Baldwin, and L. J. Koong.1982. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. J. Anita. Sci. 55:411.

94. Nordlund, K. V., E. F. Garrett, and G. R. Oetzel 1995. Herd-based rumenocentesis: aclinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. Compend. Contin. Educ.Pract. Vet. 17:S48-S56.

95. O. AlZahal, E. Kebreab, J. France, M. Froetschel, and B. W. McBride ,2008. Ruminal Temperature May Aid in the Detection of Subacute Ruminal Acidosis J Dairy Sci 82: 1170-1198.

96. Oetzel 1999. Diagnostic methods for the detection of subacute ruminal acidosis in Lactating dairy cows. Journal of dairy science.Volume 82:6

97. Oetzel, GR (2003). Subacute ruminal acidosis in dairy cattle. Adv. Dairy Sci. Tech., 15: 307-317.

98. Oetzel, GR (2005). Applied aspects of ruminal acidosis induction and prevention. J. Dairy Sci., (Suppl. 1), 88: 377.

99. Oetzel, GR; Nordlund, KV and Garret, EF(1999). Effect of ruminal pH and stage of lactation on ruminal lactate concentration in dairy cows. J. Dairy Sci., (Supple. 1), 82: 38.

100. Overton, LockPerfield II, and Dale Bauman2006 Proc. Anim. Nutr TROUBLESHOOTING MILK FAT HALLENGES ON COMMERCIAL DAIRY FARMS. Assoc. of Canada-Eastern Nutr. Conf. pp. 127-137

101. Penner, G. B., and K. A. Beauchemin. 2010. Variation among cows in their susceptibility to acidosis: Challenge or Opportunity? Adv. Dairy Tech. 22:173-187.
102. Penner, G. B., J. R. Aschenbach, G. Gabel, R. Rackwitz, and M. Oba. 2009a. Epithelial capacity for apical uptake of short chain fatty acids is a key determinant for intraruminal pH and the susceptibility to subacute ruminal acidosis in sheep. J.Nutr. 139:1714–1720.
103. Penner, G. B., K. A. Beauchemin, and T. Mutsvangwa. 2007. Severity of ruminal acidosis in primiparous Holstein cows during the periparturient period. J. Dairy Sci. 90:365–375.
104. Petitclerc, Lacasse, Girard, Boettcher and Block, 2000. Genetic, nutritional, and endocrine support of milk synthesis in dairy cows. J ANIM SCI 2000, 78:59-77.
105. Pinotti, L., Baldi, A., and Dell'Orto, V. 2002. Comparative mammalian choline metabolism with emphasis on the high-yielding dairy cow. Nutr. Res. Rev. 15:315-331.
106. Pinotti, L., Baldi, A., Politis, I., Rebucci, R., Sangalli, L., and Dell'Orto, V. 2003. Rumen-protected choline administration to transition cows: effects on milk production and vitamin E ststus. J. Vet.Med. A 50: 18-21.
107. Poutianen, E. 1968. Factors influencing the flow of fluid, saliva and some cations through the reticulaomassal orifice of the cow. Ann. Agric.Fenn. 3 : 1.
108. Putnam, P. A., D. A. Yarns, and R. E. Davis. 1966. Effect of pelleting rations and hay: grain
109. Putnam, P. A., R. Lehmann, and R. E. Davis.1966. Feed intake and salivary secretion by steers. J. Anim. Sci. 25:817.
110. ratio on salivary secretion and ruminai characteristics of steers. J. Anita. Sci. 25 : 1176.
111. Resende Júnior, J. C., M. N. Pereira, H. Bôer, and S. Tamminga. 2006. Comparison of techniques to determine the clearance of ruminal volatile fatty acids. J. Dairy Sci.89:3096-3106.
112. Rogers, J. A., C. L. Davis, and J. H. Clark. 1982. Alteration of tureen fermentation, milk fat synthesis, and nutrient utilization with mineral salts in dairy cows. J. Dairy Sci. 65:577.
113. Rogers, J. A., L. D. Muller, C. L. Davis, W. Chalupa, D. S. Kronfield, L. F. Krocher, and K. R. Cummings. 1985. Response of dairy cows to sodium bicarbonate and limestone in early lactation. J. Dairy Sci. 68:646.
114. Rogers, J. A., L. D. Muller, C. L. Davis, W. Chalupa, D. S. Kronfeld, L. F. Karcher, and K. R. Cummings. 1985. Response of dairy cows to sodium bicarbonate and limestone in early lactation. J. Dairy Sci. 68:646.
115. Rosendo O, Bates DB, McDowell LR, Staples CR, McMahon R & Wilkinson NS (2003a) Availability and ability of biotin for promoting forage fiber in vitro ruminal digestibility. J Anim Vet Adv 2, 350–357.
116. Sæbø, A., P. C. Sæbø, J. M. Griinari, and K. J. Shingfield. 2005. Effect of abomasal infusions of
117. Schneider, P. L., D. K. Beede, and C. J. Wilcox. 1986. Responses of lactating cows to dietary sodium source and quantity and potassium quantity during heat stress. J. Dairy Sci. 69:99.
118. Schneider, P. L., D. K. Beede, C. J. Wilcox, and R. J. Collier. 1984. Influence of dietary sodium and potassium bicarbonate and total potassium on heat-stressed lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 67:2546.
119. Schneider, P. L., D. K. Beede, C. J. Wilcox, and R. J. Collier. 1984. Influence of dietary sodium and potassium bicarbonate and total potassium on heat-stressed

120. Sharma, B. K., and R. A. Erdman. 1988. Effects of high amounts of dietary choline supplementation on duodenal choline flow and production responses of dairy cows. J. Dairy Sci. 71:2670–2676.
121. Shaver, R. D. 2005. Feeding to minimize acidosis and laminitis in dairy cattle. Proc. Cornell Nutr. Conf.Feed Manuf., Cornell Univ., Ithaca, NY. pp. 49-60.
122. Shaver, R. D. and M. A. Bal. 2000. Effect of dietary thiamin supplementation on milk production by dairy cows. J. Dairy Sci.83:2335–2340.
123. Snyder, T. J., J. A. Rogers, and L. D. Muller. 1983. Effects of 1.2% sodium bicarbonate with two ratios of corn silage: grain on milk production, rumen fermentation and nutrient digestion by lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 66:1290.
124. Snyder, T. J., J. A. Rogers, and L. D. Muller. 1983. Effects of 1.2% sodium bicarbonate with two ratios of corn silage:grain on milk production, rumen fermentation, and nutrient digestion by lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 66:1290.
125. Staples, C. R. and D. S. Lough. 1989. Efficacy of supplemental dietary neutralizing agents for lactating dairy cows. A review. Anim. Feed Sci. Tech. 23:277-303.
126. Stokes, M. R., and L. S. Bull. 1986. Effects of sodium bicarbonate with three ratios of hay crop silage to concentrate for dairy cows. J. Dairy Sci. 69:2671.
127. Stokes, M. R., and L. S. Bull. 1986a. Effects of sodium bicarbonate with three ratios of hay crop silage to concentrate for dairy cows. J. Dairy Sci. 69:2671.
128. Stokes, M. R., L. L. Vandemark, and L. S. Bull. 1986b. Effects of sodium bicarbonate, magnesium oxide, and a commercial buffer mixture in early lactation cows fed hay crop silage. J. Dairy Sci. 69:1595.
129. Stokes, M. R., L. L. Vandemark, and L. S.Bull. 1986. Effects of sodium bicarbonate, magnesium oxide, and a commercial buffer mixture in early lactation cows fed hay crop silage. J. Dairy Sci. 69:1595.
130. Suksombat, Lounglawan and Paengsai, 2011. Effects of biotin supplementation on milk production, milk composition, milk fatty acids, ruminal pH, amoonia nitrogen and volatile fatty acids in lactating dairy cows.Journal of animal and veterinary advances 10(16):2186-2192,2011.
131. Sutton, J. D. (1985). Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. Journal qfDairy Science68. 3376-3393.
132. Sutton, J. D. 1985. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. J. Dairy Sci. 68:3376.
133. Sutton, J. D., M. S. Dhanoa, S. V. Morant, J. France, D. J. Napper, and E. Schuller. 2003. Rates of production of acetate, propionate, and butyrate in the rumen of lactating dairy cows given normal and low-roughage diets. J. Dairy Sci. 86:3620–3633.
134. The composition and rate of secretion ofmixed saliva in the cow during rest. Br. J. Nutr.15:383.
135. Thomas, J. W., and R. S. Emery. 1969. Effects of sodium bicarbonate, magnesium oxide and calcium hydroxide on milk fat secretion. J. Dairy Sci. 52:60.
136. Thomas, J. W., R. S. Emery, J. K. Breaux, and J. S. Liesman. 1984. Response of milking cows fed a high concentrate, low roughage diet plus sodium bicarbonate, magnesium oxide or magnesium hydroxide. J. Dairy Sci. 67:2532.

137. Thomas, P. C. & Martin, P. A. (1988). The influence of nutrient balance on milk yield and composition. In Nutrition and Lactation in the Dairj. Cow, pp. 97-1 18 [P. C. Garnsworthy, editor]. London: Butterworths.
138. Turner, A. W., and V. E. Hodgetts. 1955. Buffer systems in the rumen of the sheep. II. Buffering properties in relationship to composition. Aus!. 1.Agric. Res. 6:125.
139. Turner, A. W., and V. E. Hodgetts. 1955. Buffering systems in the rumen of the sheep. 2. Buffering properties in relationship to composition. Aust. J. Agric. Res. 6:125.
140. Walter, A., and J. Gutknecht, 1986. Permeability of small nonelectrolytes through lipid bilayer membranes. J. Membr. Biol. 90:207-217.
141. WANG Run-lian, W ZHANG, Y ZHANG. 2007. Influence of dietary cobalt on vitamin B12, rumen fermentationand heme-depending blood parameters in lambs. Chinese Journal of Animal Nutrition 2007, 19(5).
142. Wolin MJ & Miller TL (1988) Microbe–microbe interactions. In The Rumen Microbial Ecosystem, pp. 343–359 [PN Hobson, editor].London: Elsevier Applied Science.
143. Yang, W., H. Martens, and Z. Shen. 2009. Effects of energy intake and ruminal SCFA on mRNA expression of Na+/H+ exchangers in rumen epithelium of goats. Proc. 11th Int. Symp. of Rumin. Physiol., Clermont-Ferrand, France. 412–413.
144. Zahra,Duffield, Leslie, Overton, D. Putnam and S. J. LeBlanc.2006. Effects of Rumen-Protected Choline and Monensin on Milk Production and Metabolism of Periparturient Dairy Cows. J. Dairy Sci. 89:4808–4818
145. Zimmerly C. A. and W. P. Weiss. 2001. Effects of supplemental dietary biotin on performance of Holstein cows during early lactation. J.Dairy Sci. 84:498–506.
146. Zinn RA, Owens FN, Stuart RL, Dunbar JR & Norman BB (1987) B-vitamin supplementation of diets for feedlot calves. J Anim Sci 65, 267–277.