



Effect Of Reducing Rumen Undegradable Protein And Protected Lysine And Methionine Supplementation on Dry Matter Intake, Milk Yield And Composition And Nutrient Digestibility of Holstein Cows in Early Lactation

Maryam Nowrozi¹ , Farshid Fatahnia² , Mehdi Bahrami Yekdangi³ ,
 Mohammad Shamsollahi⁴ ,* and Maryam Asanaashari⁵

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran. Email: m.nowrozi1999@gmail.com
2. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran. Email: f.fatahnia@ilam.ac.ir
3. Animal Sciences Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Karaj, Iran. Email: bahrami@asri.ir
4. Corresponding author, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran. Email: m.shamsollahi@ilam.ac.ir
5. Animal Sciences Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Karaj, Iran. Email: m.asnaashari@yahoo.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	The aim of this study was to investigate the effect of reducing level of rumen undegradable protein (RUP) and rumen-protected lysine and methionine supplementation on dry matter intake (DMI), milk yield and composition and total tract nutrients digestibility of dairy cows in early lactation. Twelve multiparous (parity = 2; average milk yield = 48 ± 1 ; days in milk = 80 ± 2) Holstein dairy cows were used in replicated 4×4 Latin square design (4 treatments in 4 periods). Each period lasted 21 d with 14 d of experimental diets adaptation and 7 d of data recording and sample collection. The experimental diets included 1- diet containing 17.32% crude protein (CP) without rumen-protected lysine (RPL) and methionine (RPM) supplementation (CP17.32-NoRPL-NoRPM), 2- diet containing 16.08% CP and 0.045% RPM (CP16.08-RPM0.045%), 3- diet containing 15.18% CP and 0.075% RPM (CP15.18-RPM0.075%), and 4- diet containing 14.2% CP, 0.105% RPM, and 0.037% RPL (CP14.2-RPM0.105%-RPL0.037%). Results showed that the lowest DMI was observed in cows fed CP14.2-RPM0.105%-RPL0.037% and CP15.18-RPM0.075% diets compared to others ($P < 0.05$). Milk yield, 4% fat corrected milk, energy corrected milk and milk component production were not affected by the experimental diets ($P < 0.05$). Experimental diets did not affect total tract apparent digestibility of dry matter (DM) and organic matter (OM) ($P < 0.05$). The highest total tract apparent digestibility of CP were observed in cows fed CP17.32-NoRPL-NoRPM ($P < 0.05$). Overall, feeding CP15.18-RPM0.075% diet improved productive performance of Holstein dairy cows in early lactation.
Article history: Received: 8 April 2025 Received in revised form: 18 May 2025 Accepted: 7 June 2025 Published online: Winter 2025	
Keywords: Crude protein, Protected lysine, Protected methionine, Holstein cattle, Performance.	

Cite this article: Nowrozi, M., Fatahnia, F., Bahrami Yekdagi, M., Shmsollahi, M., Asanaashari, M. (2025). Evaluation of aqueous and alcoholic extracts of Capparis Spinosa L. fruit on growth performance, blood biochemical indices and immune system of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science*, 56 (4), 857-871. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2025.392390.654070>



Extended Abstract

Introduction

Protein is one of the major challenges in the livestock industry, especially the dairy cattle industry. Less than 25% of crude protein (CP) consumed is retained in the body of dairy cows and the rest is excreted into the environment in various forms. The reason for this is the high requirement of high-producing dairy cows for protein sources, which are mainly supplied from plant sources. The amino acid (AA) profile of plant protein sources is not in line with the needs of dairy cows, so the efficiency of protein is low. In addition to reducing efficiency, this increases production costs and environmental pollution, and ultimately wastes the country's resources. If protein in the diet is properly balanced, utilization efficiency of dietary protein for milk synthesis reaches 30 to 33% and higher. That is, 30 to 33% of CP consumed is converted into milk protein. However, if the protein balance of the diet is not maintained, this efficiency decreases to 23%. Therefore, reducing nitrogen (N) losses and improving utilization efficiency of N in dairy cows is essential for biological, economic and environmental reasons. One strategy to increase N efficiency is to feed dairy cows diets with low CP content. However, this strategy is usually associated with lower productivity (milk production, milk protein production or both) and is economically undesirable. Therefore, adding essential AAs to low CP diets may be an effective way to maintain milk production and reduce environmental N excretion in dairy cows. Lysine and methionine are two limiting AAs for dairy cows. Adding rumen-protected lysine and methionine to low-protein diets is considered as an efficient method to meet AA requirements. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of diets containing different levels of CP and rumen-protected methionine and lysine on dry matter intake (DMI), milk yield and composition, and nutrient digestibility in Holstein dairy cows in early lactation.

Materials and Methods

Twelve multiparous (parity = 2; average milk yield = 48 ± 1 ; days in milk = 80 ± 2) Holstein dairy cows were used in replicated 4x4 Latin square design (4 treatments in 4 periods). Each period lasted 21 d with 14 d of experimental diets adaptation and 7 d of data recording and sample collection. The experimental diets included 1- diet containing 17.32% CP without rumen-protected lysine (RPL) and rumen-protected methionine (RPM) supplementation (CP17.32-NoRPL-NoRPM), 2- diet containing 16.08% CP and 0.045% RPM (CP16.08-RPM0.045%), 3- diet containing 15.18% CP and 0.075% RPM (CP15.18-RPM0.075%), and 4- diet containing 14.2% CP, 0.105% RPM, and 0.037% RPL (CP14.2-RPM0.105%-RPL0.037%). The DMI, milk yield and composition, and nutrient digestibility were measured at last 7-d of each experimental period. Data of this experiment were analyzed using SAS statistical software and PROC MIXED procedure. The mean of the treatments were compared using the Tukey test, and the effects of factors in the model were considered significant at a probability level of less than or equal to 0.05, and a tendency to significance was considered at a probability level of greater than 0.05 and less than or equal to 0.10.

Results

Results showed that the lowest DMI was observed in cows fed CP14.2-RPM0.105%-RPL0.037% and CP15.18-RPM0.075% diets compared to others ($P < 0.05$). Milk yield, 4% fat corrected milk, energy corrected milk and milk component production were not affected by the experimental diets ($P < 0.05$). Milk fat percentage tended to be higher in cows fed CP14.2-RPM0.105%-RPL0.037% and CP15.18-RPM0.075% diets compared to others ($P = 0.07$). Milk protein, lactose and solid not fat were not affected by dietary CP level and RPM and RPL supplement ($P < 0.05$). The highest total solid percentage and the lowest concentration of milk urea nitrogen (MUN) were observed in cows fed CP14.2-RPM0.105%-RPL0.037% and CP15.18-RPM0.075% diets compared to others ($P < 0.05$). Experimental diets did not affect total tract apparent digestibility of dry matter (DM) and organic matter (OM) ($P < 0.05$). The highest total tract apparent digestibility of CP were observed in cows fed CP17.32-NoRPL-NoRPM ($P < 0.05$).

Conclusion

The results of this study showed that the reduction of RUP level without providing essential AAs decreased production performance of dairy cows during early lactation. However, addition of protected lysine and methionine supplements compensated the negative effects of RUP reduction and improved milk yield and composition. These results indicate that diet modification based on the appropriate provision of essential AAs can help improve the production performance, milk quality and nutritional efficiency of dairy cows. This study emphasizes the importance of accurate nutrient supply in dairy cow diets, especially in the early lactation period. Furthermore, these findings can help producers for designing optimal nutritional strategies to improve the efficiency and productivity of their dairy cows.

Data Availability Statement

This article contains all the data that were created or evaluated during the research.

Acknowledgements

The authors would like to sincerely thank the members of the Faculty of Animal Sciences, University of Tehran Research Council for the approval and support of this research.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.



اثر کاهش پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه و مکمل لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر مصرف ماده خشک، تولید و ترکیب شیر و قابلیت هضم مواد مغذی در گاوهای شیرده در اوایل دوره شیردهی

مریم نوروزی^۱ | فرشید فتاح‌نیا^۲ | مهدی بهرامی یکدانگی^۳ | محمد شمس‌الهی^۴ | مریم اثنی‌عشری^۵

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، رایانامه: m.nourozi1999@gmail.com

۲. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، رایانامه: f.fatahnia@ilam.ac.ir

۳. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران، رایانامه: Ht.bahrami@gmail.com

۴. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، رایانامه: m.shamsolahi@ilam.ac.ir

۵. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران، رایانامه: m.asnaashari@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۲۰ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۷ تاریخ انتشار: زمستان ۱۴۰۴ کلیدواژه‌ها: پروتئین خام، لیزین محافظت‌شده، متیونین محافظت‌شده، گاو هلشتاین، عملکرد.	هدف این مطالعه بررسی اثر کاهش سطح پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه و مکمل اسیدهای آمینه لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه جیره بر مصرف ماده خشک، تولید و ترکیب شیر و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در کل دستگاه گوارش در گاوهای شیرده در اوایل دوره شیردهی بود. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره حاوی ۱۷/۳۲ درصد پروتئین خام بدون مکمل لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه، ۲- جیره حاوی ۱۶/۰۸ درصد پروتئین خام و ۰/۴۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه، ۳- جیره حاوی ۱۵/۱۸ درصد پروتئین خام و ۰/۷۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه و ۴- جیره حاوی ۱۴/۲ درصد پروتئین خام، ۱۰/۱۵ درصد متیونین و ۰/۳۷ درصد لیزین محافظت شده در شکمبه بودند. نتایج نشان دادند که کمترین مصرف ماده خشک در گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱۴/۲ درصد پروتئین خام، ۰/۱۰۵ درصد متیونین و ۰/۳۷ درصد لیزین محافظت شده در شکمبه و جیره حاوی ۱۵/۱۸ درصد پروتئین خام و ۰/۷۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه مشاهده شد ($P < 0.05$). تولید شیر خام، شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی، شیر تصحیح شده برای انرژی، تولید ترکیبات شیر، درصد پروتئین، لاکتوز و کل مواد جامد بدون چربی شیر و قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در کل دستگاه گوارش تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$). در کل، گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱۵/۱۸ درصد پروتئین خام و ۰/۷۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه در مقایسه با سایر گروه‌ها عملکرد بهتری داشتند.

استناد: نوروزی، مریم؛ فتاح‌نیا، فرشید؛ بهرامی یکدانگی، مهدی؛ شمس‌الهی، محمد و اثنی‌عشری، مریم (۱۴۰۴). اثر کاهش پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه و مکمل لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر مصرف ماده خشک، تولید و ترکیب شیر و قابلیت هضم مواد مغذی در گاوهای شیرده در اوایل دوره شیردهی. نشریه علوم دامی ایران، ۵۶ (۴)، ۸۵۷-۸۷۱. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2025.392390.654070>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2025.392390.654070>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

پروتئین یکی از مهم‌ترین مواد مغذی جیره گاوهای پر تولید است و اسیدهای آمینه به عنوان اجزاء سازنده پروتئین، در تأمین نیازهای نگهداری، رشد، تولیدمثل و تولید شیر نقش دارند. این اسیدهای آمینه از سه منبع شامل پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه‌ای، پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه و پروتئین با منشأ داخلی تأمین می‌شوند (NRC, 2021). تغییر ترکیب جیره می‌تواند الگوی اسیدهای آمینه جذب شده را تغییر دهد (Blouin *et al.*, 2002). بعد از مصرف خوراک و انرژی، پروتئین سومین عامل مهم تغذیه‌ای در گاوهای شیری است (Schwab and Broderick, 2017). افزایش سطح پروتئین خام جیره می‌تواند عرضه کافی پروتئین متابولیسمی را تضمین کند اما مصرف بیش از حد آن، دفع ترکیبات غیرمغذی و افزایش هزینه‌ها را به دنبال دارد (Schwab and Broderick, 2017). بازده تبدیل پروتئین خام به پروتئین شیر، عامل مؤثری بر تولید شیر است (Raggio *et al.*, 2004). با افزایش عملکرد دام، نیاز پروتئینی آن افزایش می‌یابد و به دلیل محدودیت شکمبه در تولید پروتئین میکروبی، پروتئین عبوری اهمیت ویژه‌ای دارد. پروتئین میکروبی ۵۵ تا ۶۰ درصد اسیدهای آمینه قابل جذب در روده را تأمین کرده و در گاوهای پر تولید، پروتئین عبوری تا ۵۰ درصد پروتئین متابولیسمی را تشکیل می‌دهد (Oldick *et al.*, 1999; NRC, 2001). افزایش یک واحد پروتئین غیرقابل تجزیه، تولید شیر را ۱/۸۵ کیلوگرم افزایش می‌دهد (NRC, 2001). اما در بیشتر مطالعات، افزایش پروتئین غیرقابل تجزیه باعث کاهش سنتز پروتئین میکروبی شده است (Santos *et al.*, 1998). تحقیقات نسبت مطلوب لیزین به متیونین را سه به یک گزارش کرده و توصیه شده است که این نسبت در پروتئین متابولیسمی رعایت شود (Schwab, 1994; NRC, 2001). منابع پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه معمولاً در یکی از اسیدهای آمینه فقیرند و الگوی مناسب اسیدهای آمینه می‌تواند عملکرد گاوهای شیرده را بهبود بخشد (Santos *et al.*, 1998; NRC, 2021). مکمل‌های پروتئین عبوری شامل دانه سویای فرآوری‌شده، پودر ماهی، پودر گوشت و کنجاله گلوتن ذرت هستند. برخی مطالعات نشان دادند که جایگزینی کنجاله سویا با منابع غنی از پروتئین عبوری، تولید شیر را افزایش می‌دهد (Santos *et al.*, 1998). شکمبه محیطی پیچیده است که در آن میکروارگانیسم‌های مختلف نیازهای تغذیه‌ای متفاوتی دارند. پروتئین میکروبی به دلیل ترکیب اسیدهای آمینه مشابه با پروتئین شیر ارزش بیولوژیکی بالایی دارد و ۵۰ تا ۸۰ درصد پروتئین متابولیسمی را تأمین می‌کند (NRC, 2001). برای سنتز پروتئین میکروبی، تأمین کربوهیدرات‌های غیرفیبری و سطح مطلوب پروتئین قابل تجزیه ضروری است (Bach *et al.*, 2005). باکتری‌های سلولولیتیک نیتروژن آمونیاکی را مصرف کرده، رشد کندتری دارند، در حالی که باکتری‌های آمیلولیتیک رشد سریع‌تری دارند و از آمونیاک، پپتیدها و اسیدهای آمینه استفاده می‌کنند (NRC, 2021). همزمانی فراهمی مواد مغذی برای میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی در سنتز پروتئین میکروبی دارد (Bach *et al.*, 2005). در گذشته برنامه‌های تغذیه‌ای بر کاهش شدت توازن منفی انرژی متمرکز بود، اما امروزه باید کلیه مباحث متابولیسمی را در نظر گرفت (Ji and Dann, 2013). تجزیه پروتئین بافتی در اوایل شیردهی به تأمین اسیدهای آمینه برای سنتز پروتئین شیر کمک می‌کند، اما تجزیه شدید ذخایر پروتئینی می‌تواند مشکلات متابولیکی ایجاد کند (Bell, 1995). Amanlou *et al.* (2017) نشان دادند که افزایش پروتئین خام جیره با استفاده از منابع پروتئین عبوری می‌تواند تولید و ترکیب شیر را بهبود بخشد اما بازده استفاده از نیتروژن کاهش می‌یابد. افزایش سطح پروتئین خام جیره، تولید شیر را تحریک می‌کند اما ممکن است بر باروری تأثیر منفی بگذارد. مصرف بیش از حد پروتئین قابل تجزیه شده در شکمبه و پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه موجب افزایش نیتروژن اوره‌ای پلازما شده و می‌تواند سبب کاهش نرخ آبستنی و افزایش تحلیل جنین شود (Butler, 1998). اسیدهای آمینه نه تنها در سنتز پروتئین‌ها نقش دارند بلکه بر فرایندهای فیزیولوژیک و ایمنی نیز تأثیر می‌گذارند (Schwab, 2010). در نشخوارکنندگان، اسیدهای آمینه جذب‌شده از طریق پروتئین میکروبی، پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه و پروتئین داخلی تأمین شده و به عنوان اجزای ساختمانی برای سنتز پروتئین‌های بافت و شیر ضروری هستند (NRC, 2001). تاکنون مطالعه‌ای در مورد تأثیر لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه تولید شده در داخل کشور انجام نشده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر کاهش سطح پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر مصرف ماده‌خشک، تولید و ترکیب شیر و قابلیت هضم مواد مغذی در گاوهای شیرده در اوایل دوره شیردهی طراحی و اجرا شد.

پیشینه پژوهش

گاوه‌های شیردهه پر تولید طی دوره شیردهی برای حمایت از تولید بالای شیر به اسیدهای آمینه ضروری نیاز دارند. به دلیل عدم آگاهی از نیازهای تک تک اسیدهای آمینه ضروری، نیاز نیتروژن در گاوه‌های شیرده براساس پروتئین قابل متابولیسم (مجموع پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه و پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه) می‌باشد (NRC, 2001). Zou et al. (2023) اثر جیره‌های حاوی پروتئین پایین و لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر عملکرد رشد، تخمیر شکمبه، پارامترهای بیوشیمیایی خون، متابولیسم نیتروژن و بیان ژن‌های مرتبط با متابولیسم نیتروژن در گاوه‌های نر هلشتاین را بررسی کردند. جیره‌های آزمایشی شامل ۱) جیره حاوی ۱۳ درصد پروتئین خام، ۲) جیره حاوی ۱۱ درصد پروتئین خام و ۳۴ گرم در روز لیزین و ۲ گرم در روز متیونین محافظت شده در شکمبه و ۳) جیره حاوی ۱۱ درصد پروتئین خام و ۵۵ گرم در روز لیزین و ۹ گرم در روز متیونین محافظت شده بودند. نتایج نشان داد که میانگین افزایش وزن روزانه گاوه‌های تغذیه شده با جیره سوم بیشتر از گروه اول بود. در مقایسه با گروه اول، بازده استفاده از نیتروژن و غلظت فاکتور رشد شبه انسولین-۱ سرم در گروه‌های ۲ و ۳ بالاتر بود. با این حال، غلظت نیتروژن اوره‌ای سرم در گروه‌های ۲ و ۳ در مقایسه با گروه اول به طور قابل توجهی کمتر بود. محتوای اسید استیک در مایع شکمبه گاوه‌های گروه سوم به طور قابل توجهی بیشتر از گروه اول بود. به طور کلی، نتایج نشان داد که سطح پایین پروتئین خام جیره (۱۱ درصد) همراه با ۵۵ گرم در روز لیزین و ۹ گرم در روز متیونین محافظت شده می‌تواند با کاهش دفع و افزایش بازده استفاده از نیتروژن عملکرد رشد گاوه‌های نر هلشتاین را بهبود بخشد. Malacco et al. (2022) به بررسی اثر سطوح مختلف لیزین محافظت شده در شکمبه بر غلظت آمینواسیدهای پلازما و عملکرد شیردهی گاوه‌های شیری پرداختند. جیره‌های آزمایشی شامل ۱) جیره بدون مکمل لیزین محافظت شده در شکمبه، ۲) جیره حاوی ۰/۳ درصد لیزین محافظت شده در شکمبه و ۳) جیره حاوی ۰/۶ درصد لیزین محافظت شده در شکمبه بودند. نتایج نشان داد که تولید ترکیب شیر و مصرف ماده خشک تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. غلظت هیستیدین پلازما با افزایش غلظت لیزین جیره کاهش یافت. بازده استفاده از لیزین با افزایش لیزین محافظت شده در شکمبه کاهش یافت. Stevens et al. (2021) اثر تغذیه مکمل مخلوط پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه و اسیدهای آمینه محافظت شده در شکمبه در جیره‌هایی حاوی پروتئین خام پایین یا بالا بر تولید شیر و شاخص‌های استفاده از نیتروژن را بررسی کردند. جیره‌های آزمایشی اصلی شامل ۱) جیره حاوی ۱۴/۶ درصد پروتئین خام و ۲) جیره حاوی ۱۶/۶ درصد پروتئین خام بودند که بدون یا با ۰/۱۱ و ۰/۴۵ کیلوگرم در روز مخلوط پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه و اسیدهای آمینه محافظت شده در شکمبه مکمل شدند. نتایج نشان داد که مصرف مواد مغذی، تولید و ترکیب شیر و بازده استفاده از نیتروژن تحت تاثیر سطح پروتئین خام جیره قرار نگرفت. قابلیت هضم پروتئین خام در کل دستگاه گوارش و دفع نیتروژن در گاوه‌های تغذیه شده با جیره حاوی پروتئین خام پایین در مقایسه با گروه دیگر کمتر بود. مصرف مواد مغذی و قابلیت هضم مواد مغذی در کل دستگاه گوارش و تولید و ترکیب شیر تحت تاثیر مقدار مکمل مخلوط پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه و اسیدهای آمینه محافظت شده در شکمبه قرار نگرفت. کاهش غلظت پروتئین خام منجر به کاهش غلظت نیتروژن اوره‌ای خون و شیر شد که نشان دهنده بهبود بازده استفاده از نیتروژن است.

روش‌شناسی پژوهش

این تحقیق جزو مصوبات هلدینگ صنایع عمومی تامین شرکت سرمایه گذاری تامین اجتماعی بوده و در شرکت کشت و دامداری فکا واقع در استان اصفهان از اوایل اردیبهشت ۱۴۰۳ تا اواخر شهریور ۱۴۰۳ انجام شد. از ۱۲ راس گاو هلشتاین (زایش دوم، میانگین تولید شیر = 48 ± 1 و روزهای شیردهی 2 ± 80) در قالب طرح مربع لاتین 4×4 (۴ تیمار در ۴ دوره آزمایشی) با ۳ تکرار (مربع) استفاده شد. گاوها به صورت تصادفی به جیره‌های آزمایشی اختصاص داده شدند. طول هر دوره آزمایشی ۲۱ روز بود و ۱۴ روز اول به عنوان دوره عادت‌پذیری و ۷ روز پایانی هر دوره به عنوان دوره نمونه‌گیری در نظر گرفته شد. هر کدام از گاوها در جایگاه‌های انفرادی ۳ در ۴ مترمربعی نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند. گاوها روزانه ۳ بار در ساعات ۸:۰۰، ۱۶:۰۰ و ۲۴:۰۰ شیردوشی و دو بار در روز در ساعت ۸:۰۰ و ۲۰:۰۰ خوراک‌دهی شدند به طوری که روزانه ۵ درصد مازاد بر نیاز دام در اختیار آن‌ها قرار داشت.

جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره حاوی ۱۷/۳۲ درصد پروتئین خام بدون مکمل لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه، ۲- جیره حاوی ۱۶/۰۸ درصد پروتئین خام و ۰/۰۴۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه، ۳- جیره حاوی ۱۵/۱۸ درصد پروتئین خام و ۰/۰۷۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه و ۴- جیره حاوی ۱۴/۲ درصد پروتئین خام، ۰/۱۰۵ درصد متیونین و ۰/۰۳۷ درصد لیزین محافظت شده در شکمبه بودند. سطح پروتئین قابل تجزیه در شکمبه برای کلیه جیره‌ها ثابت و سطح پروتئین عبوری (به میزان کاهش درصد پروتئین خام جیره برای هر تیمار) به تدریج کاهش پیدا کرد. جیره‌ها با استفاده از نرم افزار CPM Dairy و Amino Cow تنظیم و به شکل کاملاً مخلوط (TMR) در اختیار گاوها قرار گرفتند. لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه از شرکت دانش بنیان مهرگان مکمل البرز (البرز، ایران) تهیه شد. مقادیر بیان شده برای غلظت متیونین و لیزین محافظت شده در شکمبه به صورت خالص و پس از در نظر گرفتن خلوص آن‌ها در مکمل اصلی محاسبه شده است. مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی به ترتیب در جدول ۱ و ۲ گزارش شده است.

جدول ۱. مواد خوراکی تشکیل دهنده جیره‌های آزمایشی (بر حسب درصد از ماده خشک)

سطح پروتئین خام جیره آزمایشی				ماده خوراکی
۱۴/۲۰	۱۵/۱۸	۱۶/۰۸	۱۷/۳۲	
۵/۷۳	۵/۷۳	۵/۷۳	۵/۷۵	دانه جو
۳۰/۳۴	۳۰/۳۳	۳۰/۳۶	۳۰/۴۴	دانه ذرت
۱۲/۱۴	۱۲/۱۳	۱۲/۱۴	۱۲/۱۸	کنجاله سویا
۳/۰۳	۳/۰۳	۳/۰۴	۳/۰۴	کنجاله کلزا
۰/۳۷	۳/۳۷	۶/۰۷	۹/۸۱	دانه کامل سویا (اکسترو شده)
۰/۳۷	۰/۶۷	۱/۰۱	۱/۶۹	پودر گوشت
۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۴	اوره
۳/۴۵	۲/۸۷	۲/۳۹	۱/۶۷	پودر چربی خالص
۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۸۲	کربنات کلسیم
۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۲۱	دی کلسیم فسفات
۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۲۸	اکسید منیزیم
۰/۵۴	۰/۵۴	۰/۵۴	۰/۵۴	نمک
۱/۵۳	۱/۵۳	۱/۵۳	۱/۵۶	جوش شیرین
۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	مکمل ویتامینی
۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۱	مکمل معدنی
۰/۵۱	۰/۵۱	۰/۵۱	۰/۵۱	بنتونیت
۰/۱۰۵	۰/۰۷۵	۰/۰۴۵	-	متیونین پارس
۰/۰۳۷	-	-	-	لیزین
۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	مونوسین
۱/۶۹	۱/۶۸	۱/۶۹	۱/۶۹	کاه گندم
۱۰/۲۸	۱۰/۲۸	۱۰/۲۹	۱۰/۳۲	علوفه خشک یونجه
۲۸/۲۸	۲۶/۶۵	۲۳/۰۵	۱۹/۲۶	سیلاژ ذرت

به منظور اندازه‌گیری ماده خشک مصرفی، مقدار خوراک ریخته شده در آخور و میزان پسمانده در صبح روز بعد از روز ۱۵ تا ۲۱ هر دوره توزین و ثبت گردید و همزمان نمونه‌ای از آن‌ها جهت تعیین ماده خشک جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ماده خشک نمونه‌های جیره و پسمانده پس از یخ‌گشایی و قرار دادن مقدار مشخصی از آن‌ها در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴۸ ساعت انجام شد. نمونه جیره‌های آزمایشی و پسمانده آن‌ها پس از خشک شدن در آون با استفاده از توری یک میلی‌متری

آسیاب شدند. ترکیب شیمیایی نمونه‌ها شامل پروتئین خام، الیاف غیرقابل حل در شوینده خنثی، الیاف غیرقابل حل در شوینده اسیدی، چربی خام و خاکستر در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد (AOAC, 2000).

جدول ۲. ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

سطح پروتئین خام جیره آزمایشی			
۱۴/۲	۱۵/۱۸	۱۶/۰۸	۱۷/۳۲
۱/۶۹	۱/۷۰	۱/۷۱	۱/۷۲
انرژی خالص شیردهی (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک)			
۱۴/۲۰	۱۵/۱۸	۱۶/۱۰	۱۷/۳۲
پروتئین خام (درصد)			
۶۶/۶۹	۶۵/۱۸	۶۳/۹۶	۶۲/۱۱
پروتئین قابل تجزیه (درصد از پروتئین خام)			
۳۳/۳۱	۳۴/۸۲	۳۶/۰۴	۳۷/۸۹
درصد پروتئین عبوری (درصد از پروتئین خام)			
۳۲/۶۱	۳۱/۴۸	۳۰/۳۱	۲۸/۸۲
الیاف شوینده خنثی (درصد)			
۳۷/۷۷	۳۷/۹۳	۳۸/۱۶	۳۸/۳۵
کربوهیدرات غیر الیافی (درصد)			
۶/۳۱	۶/۳۱	۶/۳۳	۶/۳۲
چربی خام (درصد)			
۲/۴۰	۲/۳۰	۲/۱۹	۲/۰۵
متیونین (درصد)			
۷/۴۴	۷/۴۱	۷/۳۲	۷/۲۹
لیزین (درصد)			
۳/۱۰	۳/۲۲	۳/۳۴	۳/۵۵
نسبت لیزین به متیونین			

مقدار کربوهیدرات‌های غیرالیافی با توجه به مقدار پروتئین خام، چربی خام، خاکستر و الیاف غیرقابل حل در شوینده خنثی و با فرمول پیشنهادی محاسبه شد (NRC, 2021). خاکستر با قرار دادن نمونه‌ها در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷ ساعت اندازه‌گیری شد. الیاف شوینده خنثی و الیاف شوینده اسیدی نمونه جیره‌های آزمایشی براساس روش پیشنهادی (Van Soest, 1991) و با استفاده از دستگاه فایبرتک اندازه‌گیری شد. سایر ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی با نرم افزار جیره نویسی محاسبه شدند. تولید شیر گاوها به طور روزانه در ۳ نوبت (صبح، عصر و شب) در روزهای ۱۵ تا ۲۱ هر دوره اندازه‌گیری و ثبت شد. مجموع شیر تولید شده در ۳ نوبت به عنوان تولید ۲۴ ساعت در نظر گرفته شد. نمونه شیر گاوها در هر نوبت شیردوشی جمع‌آوری (نگهداری در دمای ۳ تا ۵ درجه سانتی‌گراد) و پس از مخلوط کردن نمونه‌های هر گاو جهت تعیین ترکیبات شیر شامل چربی، پروتئین و لاکتوز، مواد جامد بدون چربی، کل مواد جامد و غلظت نیتروژن اوره‌ای به آزمایشگاه ارسال شدند. ترکیبات شیر با دستگاه میکرواسکن اندازه‌گیری شد. مقدار تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۴ درصد چربی و مقدار تولید شیر تصحیح شده بر اساس انرژی برای هر گاو در هر دوره آزمایشی محاسبه شد (Jenkins et al., 1998; Neiderfer et al., 2020). تولید ترکیبات شیر با توجه به مقدار تولید شیر هر گاو در هر دوره آزمایشی و درصد ترکیبات آن محاسبه شد. بازده استفاده از خوراک برای تولید شیر با تقسیم مقدار شیر خام، شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی و شیر تصحیح شده بر ای انرژی بر مقدار ماده خشک مصرف شده محاسبه شد. برای تعیین گوارش پذیری مواد مغذی در کل دستگاه گوارش از خاکستر نامحلول در اسید به عنوان معرف داخلی استفاده شد (Van Keulen and Young, 1977). برای این منظور حدود سه ساعت پس از خوراک‌دهی صبح از رکتوم گاوها در روزهای ۱۶ تا ۲۱ نمونه مدفوع گرفته شد و پس از مخلوط کردن نمونه‌های هر گاو در هر دوره، یک نمونه (حدود ۵۰۰ گرم) از هر دام در سردخانه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از یخ‌گشایی مقدار ماده آلی، ماده خشک، پروتئین خام و خاکستر غیرقابل حل در اسید نمونه‌های مدفوع و جیره‌های آزمایشی اندازه‌گیری و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی محاسبه شد. داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SAS و رویه MIXED آنالیز شدند. مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + P_{j(i)} + C_{k(i)} + T_l + \varepsilon_{ijkl}$$

Y_{ijkl} = صفت اندازه‌گیری شده، μ = میانگین صفت، S_i = اثر ثابت مربع i از $P_{j(i)}$ = اثر ثابت دوره j در مربع i از $C_{k(i)}$ = اثر تصادفی گاو k در مربع i از T_l = اثر تصادفی تیمار l و ε_{ijkl} = اثر تصادفی خطا (اثرات باقیمانده) می‌باشد. میانگین تیمارها با استفاده از آزمون

توکی مورد مقایسه قرار گرفته و اثرات عوامل مذکور در مدل در سطح احتمال کمتر یا مساوی ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد و تمایل به معنی‌داری در سطح احتمال بیشتر از ۰/۰۵ و کمتر یا مساوی ۰/۱۰ در نظر گرفته شد.

یافته‌های پژوهش

مصرف ماده خشک

اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروتئین خام و لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر مصرف ماده خشک گاوهای شیرده هلستاین در جدول ۳ آمده است. کمترین مقدار مصرف ماده خشک در گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱۵/۱۸ درصد پروتئین خام و ۰/۰۷۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه و جیره حاوی ۱۴/۲ درصد پروتئین خام، ۰/۱۰۵ درصد متیونین و ۰/۰۳۷ درصد لیزین محافظت شده در شکمبه مشاهده شد ($p < 0.05$). در واقع کاهش سطح پروتئین خام جیره از ۱۷/۳۲ تا ۱۶/۰۸ درصد و افزودن متیونین محافظت شده در شکمبه بر مصرف ماده خشک تاثیر منفی نداشت. مطالعاتی که اثر سطوح متفاوت پروتئین خام را طی اوایل دوره شیردهی بر مصرف ماده خشک بررسی کردند، نتایج متناقضی را گزارش کرده‌اند. در یک پژوهش (Amanlou et al., 2017) مشاهده شد که گاوهای تازه‌زایی که جیره حاوی ۱۹ یا ۲۱ درصد پروتئین خام را دریافت کردند به ترتیب ۱/۵ و ۱/۳ کیلوگرم در روز مصرف ماده خشک بالاتری در مقایسه با گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱۶ درصد پروتئین خام داشتند. در پژوهش دیگر که از سه سطح پروتئین خام (۱۱/۴، ۱۴/۴ و ۱۷/۳ درصد از ماده خشک) از زمان زایش تا ۱۵۰ روز پس از آن استفاده کردند، افزایش پروتئین خام جیره از ۱۱/۴ به ۱۴/۴ و ۱۷/۳ درصد افزایش چشم‌گیری در مصرف ماده خشک داشت اما تفاوتی در مصرف ماده خشک بین گاوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱۴/۴ و ۱۷/۳ درصد پروتئین خام مشاهده نشد (Law et al., 2009). جیره‌های با درصد پروتئین خام و پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه پایین فعالیت باکتری‌های تجزیه کننده الیاف و سرعت هضم الیاف حاصل از شوینده خنثی را کاهش می‌دهند که به نوبه خود منجر به کاهش مصرف خوراک می‌شود (Allen, 2000). عدم پاسخ مصرف ماده خشک به کاهش پروتئین عبوری از ۱۷/۳۲ به ۱۶/۰۸ درصد ممکن است در نتیجه سطح مناسب اسیدهای آمینه لیزین و متیونین باشد. نتایج در رابطه با اثر افزودن متیونین و لیزین محافظت شده در شکمبه طی اوایل دوره شیردهی بر مصرف ماده خشک در گاوهای شیرده متناقض است. در یک پژوهش گزارش شد که تغذیه جیره حاوی متیونین محافظت شده در شکمبه به گاوهای تازه‌زا (جیره حاوی ۱۷/۵ درصد پروتئین خام) منجر به افزایش ۲ کیلوگرمی در مصرف ماده خشک در مقایسه با گروه کنترل شد (Osorio et al., 2013). به همین ترتیب دیگر پژوهشگران دریافتند که گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی متیونین محافظت شده در شکمبه ۱/۶ کیلوگرم مصرف ماده خشک بالاتری در مقایسه با گروه کنترل (جیره حاوی ۱۷/۴ تا ۱۷/۷ درصد پروتئین خام) طی ۶۰ روز اول دوره شیردهی داشتند (Batistel et al., 2017). برخلاف آن برخی پژوهشگران گزارش کردند که صرف نظر از سطح پروتئین خام جیره در دوره پس از زایش، مصرف ماده خشک در گاوهای دریافت کننده متیونین محافظت شده در شکمبه در مقایسه با گروه کنترل (جیره‌ها حاوی ۱۶ تا ۱۸ درصد پروتئین خام) کاهش یافت. در حالی که مصرف ماده خشک در گاوهای تغذیه شده با لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه از نظر عددی افزایش یافت (Socha et al., 2005). مطابق با یک متآنالیز، خوراندن لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه مصرف ماده خشک را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد (Kalscheur et al., 1999). در حالی که در متآنالیز دیگر، متیونین محافظت شده در شکمبه به تنهایی مصرف ماده خشک در گاوهای اوایل و اواسط دوره شیردهی را کاهش داد (Patton, 2010). Broderick et al. (2009) نشان دادند که افزودن متیونین محافظت شده در شکمبه به جیره‌های با سطوح مختلف پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه موجب افزایش مصرف ماده خشک شد. Benefield et al. (2006) گزارش کردند که اثر مثبت افزودن متیونین محافظت شده در شکمبه بر مصرف ماده خشک و پارامترهای تولیدی به طول مدت آزمایش بستگی دارد و با افزایش طول دوره این اثر کاهش می‌یابد. گزارش شده که تأمین اسیدهای آمینه محدودکننده می‌تواند سبب تحریک مصرف ماده خشک شود (Weekes et al., 2006). همچنین گزارش شده که با متوازن کردن جیره از نظر اسیدهای آمینه مصرف ماده خشک افزایش می‌یابد (Weekes et al., 2006). از طرفی محققان با کاهش

سطح پروتئین خام جیره همراه با افزایش فراهمی آمینو اسیدهای ضروری در پروتئین قابل متابولیسم شاهد افزایش مصرف ماده خشک و شیر تولیدی بوده‌اند (Ipharraguerre and Clark, 2005).

جدول ۳. اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروتئین خام و لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر مصرف ماده خشک و تولید شیر گاوهای شیرده هلشتاین

P-value	SEM	سطح پروتئین خام جیره				صفت اندازه‌گیری شده
		۱۷/۳۲	۱۶/۰۸	۱۵/۱۸	۱۴/۲۰	
۰/۰۱	۰/۶۶	۲۹/۲۲ ^a	۲۹/۷۳ ^a	۲۶/۹۸ ^b	۲۷/۲۱ ^b	مصرف ماده خشک (کیلوگرم در روز)
						تولید شیر (کیلوگرم در روز)
۰/۲۷	۱/۷۷	۵۱/۷۸	۵۱/۵۸	۴۹/۳۷	۴۸/۳۵	شیر خام
۰/۹۳	۱/۵۸	۴۴/۳۷	۴۴/۳۳	۴۳/۵۲	۴۳/۳۵	شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی
۰/۹۸	۱/۵۳	۴۱/۳۶	۴۱/۳۳	۴۰/۸۲	۴۰/۸۸	شیر تصحیح شده برای انرژی

* میانگین‌هایی که در هر ردیف دارای حرف متفاوت هستند در سطح آماری ۰/۰۵ با هم اختلاف معنی‌دار دارند.

تولید شیر

اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروتئین خام و لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر تولید شیر گاوهای شیرده هلشتاین در جدول ۳ آمده است. تولید شیر خام و شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی و شیر تصحیح شده برای انرژی تحت تاثیر سطح پروتئین خام جیره و افزودن مکمل متیونین و لیزین محافظت شده در شکمبه قرار نگرفت ($P > 0.05$). این نتایج با سایر کارآزمایی‌ها مطابقت دارند که نشان می‌دهند عملکرد تولید شیر در زمان متعادل کردن اسیدهای آمینه جیره مشابه است و تفاوت در پروتئین خام جیره بر آن بی‌تاثیر بود (Bahrami-Yekdangi et al., 2014; Nursoy et al., 2018). علاوه بر این، چندین مطالعه نشان داده‌اند که مکمل اسیدهای آمینه محافظت شده باعث افزایش تولید شیر می‌شود (Patton, 2010). گزارش شده است که تولید شیر در زمانی تغذیه گاوها با جیره حاوی ۱۱ درصد پروتئین خام در مقایسه با جیره‌های حاوی ۱۳، ۱۵ و ۱۷ درصد به طور قابل توجهی کاهش یافت (Nursoy et al., 2018). گزارش‌ها نشان می‌دهند که با تأمین آمینواسیدهای محدود کننده در پروتئین قابل متابولیسم و افزایش کارایی پروتئین قابل متابولیسم، کاهش سطح پروتئین خام عاملی محدود کننده در تولید شیر نخواهد بود (Schwab et al., 2005). Ipharraguerre et al. (2005) نشان دادند که گاوهای پر تولید در اوایل شیردهی به ۶۰۰ تا ۶۵۰ گرم نیتروژن در روز نیاز دارند (حدود ۱۶ تا ۱۶/۵ درصد پروتئین خام) البته آن‌ها این مقدار از پروتئین خام جیره را در صورت توازن مناسب کربوهیدرات‌ها و آمینواسیدهای جیره، مطلوب ارزیابی کردند.

ترکیبات شیر

اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروتئین خام و لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر ترکیب و درصد و غلظت نیتروژن اورهای شیر گاوهای شیرده هلشتاین در جدول ۴ آمده است. تولید چربی، پروتئین، لاکتوز، مواد جامد بدون چربی و کل مواد جامد شیر تحت تاثیر کاهش سطح پروتئین خام جیره‌های آزمایشی و مکمل متیونین و لیزین محافظت شده در شکمبه قرار نگرفت ($p > 0.05$). درصد چربی شیر در گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱۵/۱۸ درصد پروتئین خام و ۰/۰۷۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه و جیره حاوی ۱۴/۲ درصد پروتئین خام، ۰/۱۰۵ درصد متیونین و ۰/۰۳۷ درصد لیزین محافظت شده در شکمبه در مقایسه با سایر گاوها تمایل به افزایش داشت ($p = 0.07$). درصد پروتئین، لاکتوز و کل مواد جامد بدون چربی تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ($p > 0.05$). بیشترین مقدار کل مواد جامد و کمترین مقدار نیتروژن اورهای شیر در گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱۵/۱۸ درصد پروتئین خام و ۰/۰۷۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه و جیره حاوی ۱۴/۲ درصد پروتئین خام، ۰/۱۰۵ درصد متیونین و ۰/۰۳۷ درصد لیزین محافظت شده در شکمبه مشاهده شد ($p < 0.05$). کمترین مقدار نیتروژن اورهای در شیر گاوهای تغذیه شده با جیره‌های

حاوی ۱۵/۱۸ و ۱۴/۲ درصد پروتئین خام مشاهده شد ($p < 0.05$). گزارش شده است که ترکیب شیر از جمله چربی، لاکتوز و نیتروژن اورهای شیر در زمان تغذیه گاوهای شیرده با جیره حاوی ۱۱ درصد پروتئین خام در مقابل جیره‌های حاوی ۱۳، ۱۵ و ۱۷ درصد پروتئین خام به طور قابل توجهی کاهش یافت (Nursoy et al., 2018).

جدول ۴. اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروتئین خام و لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر ترکیب و غلظت نیتروژن اورهای شیر گاوهای شیرده هلشتاین

P-value	SEM	سطح پروتئین خام جیره				صفت اندازه‌گیری شده
		۱۷/۳۲	۱۶/۰۸	۱۵/۱۸	۱۴/۲۰	
						تولید ترکیب شیر (کیلوگرم در روز)
						چربی
۰/۸۸	۰/۰۶	۱/۳۸	۱/۳۸	۱/۴۱	۱/۴۴	
						پروتئین
۰/۲۵	۰/۰۴	۱/۳۳	۱/۳۳	۱/۲۷	۱/۲۴	
						لاکتوز
۰/۱۸	۰/۰۹	۲/۵۶	۲/۵۶	۲/۴۴	۲/۳۸	
						کل مواد جامد
۰/۶۶	۰/۲۰	۵/۶۸	۵/۶۸	۵/۵۰	۵/۴۴	
						کل مواد جامد بدون چربی
۰/۲۱	۰/۱۴	۴/۱۰	۴/۱۰	۳/۹۰	۳/۸۰	
						محتوی ترکیب شیر (درصد)
						چربی
۰/۰۷	۰/۰۸	۲/۶۴	۲/۶۵	۲/۸۷	۲/۹۸	
						پروتئین
۰/۸۸	۰/۰۲	۲/۵۷	۲/۵۸	۲/۵۸	۲/۵۷	
						لاکتوز
۰/۱۸	۰/۰۲	۴/۹۴	۴/۹۶	۴/۹۳	۴/۹۱	
						کل مواد جامد
۰/۰۳	۰/۰۹	۱۰/۹۴ ^b	۱۰/۹۸ ^b	۱۱/۱۶ ^{ab}	۱۱/۲۵ ^a	
						کل مواد جامد بدون چربی
۰/۳۸	۰/۰۴	۷/۹۰	۷/۹۳	۷/۹۰	۷/۹۰	
						نیتروژن اورهای (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۰۵	۰/۰۴	۱۸/۵۰ ^a	۱۷/۱۰ ^b	۱۵/۱۰ ^c	۱۴/۹۳ ^c	

* میانگین‌هایی که در هر ردیف دارای حرف متفاوت هستند در سطح آماری ۰/۰۵ با هم اختلاف معنی‌دار دارند.

در پژوهشی مشخص شد که افزودن متیونین محافظت شده در شکمبه به جیره‌های حاوی ۱۷/۵ درصد پروتئین خام طی ۳۰ روز اول دوره شیردهی تولید چربی و پروتئین شیر و درصد چربی شیر را افزایش داد (Osorio et al., 2013). همچنین در مطالعه دیگر گزارش شد که تولید شیر، پروتئین و چربی شیر گاوهایی که طی ۶۰ روز اول دوره شیردهی، متیونین محافظت شده در شکمبه در جیره‌های حاوی ۱۷/۴ تا ۱۷/۷ درصد پروتئین خام دریافت کردند در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود (Batistel et al., 2017). در آزمایش حاضر، تامین اسیدهای آمینه محدودکننده احتمالا سبب افزایش کارایی پروتئین قابل متابولیسم شده است در نتیجه کاهش سطح پروتئین عبوری عامل محدودکننده‌ای برای تولید ترکیبات شیر نبود. عدم پاسخ کاهش سهم پروتئین عبوری جیره بر ترکیبات شیر با نتایج سایر محققین مطابقت دارد (Davidson et al., 2003; Mulligan et al., 2004). اگرچه کاهش سطح پروتئین عبوری ممکن است بر تولید شیر تأثیر نگذارد، مطالعات متعددی حساسیت بالای نیتروژن اورهای شیر به محتوای پروتئین جیره را برجسته کرده‌اند. تغذیه گاوهای شیرده با جیره‌های حاوی ۱۷/۳ درصد یا ۱۶/۱ درصد پروتئین خام نشان داد که کاهش پروتئین خام جیره ممکن است به طور قابل توجهی تولید نیتروژن اورهای شیر را کاهش دهد که یک عامل کلیدی موثر بر ارزش شیر است (Broderick et al., 2008). با این حال، در مطالعه حاضر، جیره‌ها از نظر تغذیه با در نظر گرفتن تولید شیر طبیعی و مصرف ماده خشک متعادل بودند. تأثیر اسیدهای آمینه ضروری بر نیتروژن اورهای شیر به طور گسترده مورد بحث قرار گرفته است. نیتروژن اورهای شیر یک شاخص کلیدی است که می‌تواند تخمین بزند که یک جیره غذایی، پروتئین بیش از حد دارد (Johnson and Young, 2003). در یک مطالعه، کاهش پروتئین خام جیره و افزودن مکمل آمینو اسیدهای ضروری محافظت شده در شکمبه به جیره غلظت نیتروژن اورهای شیر گاوهای شیرده را کاهش داد. (Arriola Apelo et al., 2014). در پژوهشی دیگر مقادیر نیتروژن اورهای شیر در گاوهای شیرده تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱۶/۴ یا ۱۵/۶ درصد پروتئین خام و مکمل متیونین محافظت شده در شکمبه در مقایسه با تغذیه با جیره حاوی ۱۸ درصد پروتئین خام کاهش یافت (Bahrami-Yekdangi et al., 2014). در مطالعه حاضر اثر جیره‌های آزمایشی

بر نیتروژن اوردهای شیر در واقع بازتابی از غلظت پروتئین جیره است. نیتروژن اوردهای شیر یک شاخص مفید برای ارزیابی دفع و مورد استفاده قرار گرفتن نیتروژن جیره است (Jonker et al., 1998).

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی

اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروتئین خام و لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر قابلیت هضم مواد مغذی در کل دستگاه گوارش گاوهای شیرده هلشتاین در جدول ۵ آمده است. قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در کل دستگاه گوارش تحت تاثیر سطح پروتئین خام جیره و مکمل اسیدهای آمینه لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه قرار نگرفت ($p > 0.05$). اما کمترین قابلیت هضم پروتئین خام در دستگاه گوارش گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱۴/۲ درصد پروتئین خام، ۰/۱۰۵ درصد متیونین و ۰/۰۳۷ درصد لیزین محافظت شده در شکمبه مشاهده شد ($p < 0.05$). میزان پروتئین مصرفی با کاهش سطح پروتئین خام جیره به طور معنی‌دار کاهش یافت. به گونه‌ای که کمترین مقدار مصرف پروتئین خام در گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱۴/۲ درصد پروتئین خام، ۰/۱۰۵ درصد متیونین و ۰/۰۳۷ درصد لیزین محافظت شده در شکمبه مشاهده شد ($p < 0.05$). تولید پروتئین شیر و بازده استفاده از پروتئین خام جیره برای سنتز پروتئین شیر تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ($p > 0.05$). قابلیت هضم ماده خشک جیره با محتوای پروتئین خام جیره مرتبط است (Broderick et al., 2008). گزارش شده است که غلظت پایین پروتئین خام (کمتر از ۱۵ درصد) و پروتئین عبوری بالا می‌توانند قابلیت هضم الیاف شوینده خنثی را کاهش دهند (Broderick et al., 2008; Lee et al., 2015). مطالعات قبلی نشان دادند که جیره با پروتئین عبوری پایین قابلیت هضم ماده آلی را کاهش می‌دهد (Stokes et al., 1991). پروتئین عبوری ناکافی می‌تواند تاثیر منفی بر استفاده از نیتروژن آمونیاکی داشته باشد، سپس غلظت پایین نیتروژن آمونیاکی می‌تواند هضم الیاف و رشد میکروبی را کاهش دهد (Allen et al., 2000). با این حال، جیره‌های مورد استفاده در تحقیق ما ممکن است با استفاده از متعادل کردن اسیدهای آمینه، مقدار اسیدهای آمینه یکسانی در روده ارائه کرده باشند و در نتیجه هیچ تاثیری بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی نداشته باشند. در یک مطالعه قبلی، قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی، الیاف شوینده خنثی، پروتئین خام و نشاسته تحت تاثیر سطح پروتئین عبوری جیره و استفاده از متیونین محافظت شده در شکمبه قرار نگرفت (Lee et al., 2015). بیان شده است که اگرچه بخش زیادی از متیونین محافظت شده در شکمبه از تجزیه در شکمبه فرار می‌کند، بخش کوچکی از متیونین هنوز در شکمبه در دسترس میکروارگانیسم‌ها قرار می‌گیرد (Li et al., 2022). Salsbury et al. (1971) مشاهده کردند که مکمل متیونین محافظت نشده سرعت رشد باکتری‌های شکمبه را در شرایط آزمایشگاهی افزایش می‌دهد. بنابراین، مکمل متیونین محافظت شده در شکمبه ممکن است ترکیب اجتماعی میکروبیوتای شکمبه و متابولیسم آن‌ها را تغییر دهد و انتظار می‌رود قابلیت هضم خوراک با افزایش فعالیت باکتری‌های شکمبه افزایش یابد. با این حال، نتایج حاضر تفاوتی در قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در اثر استفاده از لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه نشان نداد. یکی از دلایل عدم تاثیر این است که محققین نشان دادند که بخش کوچکی از متیونین آزاد شده از مکمل محافظت شده در شکمبه ممکن است بر رشد گونه‌های باکتریایی اصلی در شکمبه تاثیر نداشته باشد (Abdelmegeid et al., 2018).

جدول ۵. اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروتئین خام و لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر قابلیت هضم مواد مغذی در کل دستگاه گوارش در گاوهای

شیرده هلشتاین

P-value	SEM	سطح پروتئین خام جیره				
		۱۷/۳۲	۱۶/۰۸	۱۵/۱۸	۱۴/۲۰	
قابلیت هضم ماده مغذی (درصد)						
۰/۴۵	۲/۸۵	۶۸/۲۶	۶۹/۶۴	۷۱/۲۲	۷۲/۸۹	ماده خشک
۰/۵۴	۲/۴۱	۷۱/۸۹	۷۴/۸۹	۷۵/۲۸	۷۵/۵۲	ماده آلی
۰/۰۵	۲/۷۱	۷۶/۸۹ ^a	۷۳/۴۱ ^{ab}	۷۰/۲۹ ^{ab}	۶۹/۱۱ ^b	پروتئین خام

* میانگین‌هایی که در هر ردیف دارای حرف متفاوت هستند در سطح آماری ۰/۰۵ با هم اختلاف معنی‌دار دارند.

محاسبات اقتصادی (هزینه و درآمد)

اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروتئین خام و لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر هزینه و درآمد هر راس گاو شیرده هلشتاین در جدول ۶ گزارش شده است. هزینه هر کیلوگرم ماده خشک جیره حاوی ۱۴/۲ درصد پروتئین خام، ۰/۱۰۵ درصد متیونین و ۰/۰۳۷ درصد لیزین محافظت شده در شکمبه در مقایسه با سایر جیره‌های آزمایشی تا حدودی بالاتر بود. اما با توجه به مصرف ماده خشک کمتر، هزینه خوراک هر راس گاو تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱۵/۱۸ درصد پروتئین خام و ۰/۰۷۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه و جیره حاوی ۱۴/۲ درصد پروتئین خام، ۰/۱۰۵ درصد متیونین و ۰/۰۳۷ درصد لیزین محافظت شده در شکمبه در مقایسه با سایر گاوها کمتر بود. علیرغم این که با کاهش درصد پروتئین خام جیره تولید شیر خام گاوها کاهش یافت اما به علت روند متفاوت درصد چربی شیر در نهایت قیمت هر لیتر شیر با کاهش درصد پروتئین خام جیره و افزودن لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه افزایش یافت. اما در کل، مهم‌ترین پارامتر جدول درآمد منهای هزینه خوراک است. بالاترین درآمد منهای هزینه به ازاء هر راس گاو به جیره حاوی ۱۵/۱۸ درصد پروتئین خام و ۰/۰۷۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه مربوط بود. این نتایج نشان داد که کاهش غلظت پروتئین خام و پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه و افزودن اسیدهای آمینه لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه می‌تواند درآمد خالص پرورش گاوهای شیرده را افزایش دهد.

جدول ۶. اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروتئین خام و لیزین و متیونین محافظت شده در شکمبه بر هزینه و درآمد هر راس گاو شیرده هلشتاین

سطح پروتئین خام جیره				
۱۴/۲۰	۱۵/۱۸	۱۶/۰۸	۱۷/۳۲	
۱۷۴۷۸/۴	۱۷۳۴۳/۴	۱۷۳۴۶/۵	۱۷۳۱۲/۶	هزینه هر کیلوگرم ماده خشک (تومان)
۲۷/۲۱	۲۶/۹۸	۲۹/۷۲	۲۹/۲۲	ماده خشک مصرفی هر گاو (کیلوگرم در روز)
۴۷۵۵۸۷	۴۶۷۹۲۶	۵۱۵۵۳۸	۵۰۵۸۷۵	هزینه خوراک هر راس گاو (تومان در روز)
۴۸/۳۵	۴۹/۳۷	۵۱/۵۸	۵۱/۷۸	تولید شیر خام (کیلوگرم در روز)
۲/۹۸	۲/۸۷	۲/۶۵	۲/۶۳	درصد چربی شیر (درصد)
۱۸۰۰۰	۱۸۰۰۰	۱۸۰۰۰	۱۸۰۰۰	قیمت مصوب پایه فروش شیر (تومان در هر کیلوگرم)
۳/۲۰	۳/۲۰	۳/۲۰	۳/۲۰	چربی شیر (درصد پایه)
-۰/۲۲	-۰/۳۴	-۰/۵۵	-۰/۵۷	تفاوت چربی شیر نسبت به پایه
۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	قیمت مصوب هر یک درصد چربی شیر (تومان)
۱۷۳۴۰	۱۶۹۸۰	۱۶۳۵۰	۱۶۲۹۰	قیمت تصحیح شده نهایی فروش شیر (تومان در هر کیلوگرم)
۸۳۸۳۸۹	۸۳۸۳۰۳	۸۴۳۳۳۳	۸۴۳۴۹۶	درآمد فروش شیر هر راس گاو (تومان در روز)
۳۶۲۸۰۲	۳۷۰۳۷۷	۳۳۷۷۹۵	۳۳۷۶۲۰	درآمد منهای هزینه خوراک برای هر راس (IOFC) (تومان در روز)
۷۶/۲۸	۷۹/۱۵	۶۳/۵۸	۶۶/۷۴	درآمد منهای هزینه خوراک برای هر راس (IOFC) (درصد)

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق، کاهش میزان پروتئین خام جیره از ۱۷/۳۲ درصد به ۱۵/۱۸ درصد علاوه بر کاهش عددی تولید شیر خام بر تولید شیر تصحیح شده برای چربی و تولید شیر تصحیح شده برای تولید انرژی تأثیر منفی نداشت و در عین حال باعث افزایش درآمد منهای هزینه خوراک برای هر راس گاو شد، بنابراین می‌توان تغذیه جیره حاوی ۱۵/۱۸ درصد پروتئین خام و ۰/۰۷۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه برای گاوهای شیرده هلشتاین در اوایل دوره شیردهی توصیه کرد.

پیشنهادهای

با توجه به نتایج، تغذیه جیره حاوی ۱۵/۱۸ درصد پروتئین خام و ۰/۰۷۵ درصد متیونین محافظت شده در شکمبه برای گاوهای شیرده هلشتاین در اوایل دوره شیردهی پیشنهاد می شود.

REFERENCES

- Abdelmegeid, M. K., Elolimy, A. A., Zhou, Z., Lopreiato, V., McCann, J., & Loor, J. J. (2018). Rumen-protected methionine during the periparturient period in dairy cows and its effects on abundance of major species of ruminal bacteria. *Journal of Animal Science Biotechnology*, 9, 17-24.
- Allen, M. S. (2000). Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 83, 1598-1624.
- Amanlou, H., Farahani, T. A., & Farsuni, N. E. (2017). Effects of rumen undegradable protein supplementation on productive performance and indicators of protein and energy metabolism in Holstein fresh cows. *Journal of Dairy Science*, 100(5), 3628-3640.
- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Arriola Apelo, S. I., Bell, A. L., Estes, K., Ropelewski, J., de Veth, M. J., Amanlou, H., Farahani, T. A., & Farsuni, N. E. (2017). Effects of rumen undegradable protein supplementation on productive performance and indicators of protein and energy metabolism in Holstein fresh cows. *Journal of Dairy Science*,
- Bach, A., Calsamiglia, S., & Stern, M. (2005). Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 88, 9-21.
- Bahrami-Yekdangi, H., Khorvash, M., Ghorbani, G. R., Alikhani, M., Jahanian, R., & Kamalian, E. (2014). Effects of decreasing metabolizable protein and rumen undegradable protein on milk production and composition and blood metabolites of Holstein dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 97, 3707- 3714.
- Batistel, F., Arroyo, J. M., Bellingeri, A., Wang, L., Saremi, B., Parys, C., Trevisi, E., Cardoso, F. C., & Loor, J. J. (2017). Ethyl-cellulose rumen protected methionine enhances performance during the periparturient period and early lactation in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100, 7455-7467.
- Bell, A. W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*, 73, 2804-2819.
- Benefield, B., Patton, R., Stevenson, M., & Overton, T. (2006). Evaluation of rumen-protected methionine (RP-Met) sources and period length on performance of lactating dairy cows within latin squares. *Journal of Animal Science*, 84, 76-86.
- Blouin, J., Bernier, J., Reynolds, C., Lobley, G., Dubreuil, P., & Lapierre, H. (2002). Effect of supply of metabolizable protein on splanchnic fluxes of nutrients and hormones in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 2618-2630.
- Broderick, G. A., Stevenson, M. J., & Patton, R. A. (2009). Effect of dietary protein concentration and degradability on response to rumen-protected methionine in lactating Dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 2719-2728.
- Broderick, G. A., Stevenson, M. J., Patton, R. A., Lobos, N., & Olmos Colmenero, J. J. (2008). Effect of supplementing rumen-protected methionine on production and nitrogen excretion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91, 1092-1102.
- Butler, W. R. (1998). Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 81, 2533-2539.
- Davidson, S., Hopkins, B. A., Diaz, D. E., Bolt, S. M., Brownie C., Fellner, V., & Whitlow, L. W. (2003). Effects of amounts and degradability of dietary protein on lactation, nitrogen utilization, and excretion in early lactation Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 1681-1689.
- Ipharraguerre, I. R., & Clark, J. H. (2005). Varying protein and starch in the diet of dairy cows. II. Effects on performance and nitrogen utilization for milk production. *Journal of Dairy Science*, 88, 2556-2570.

- Jenkins, T. C., Bertrand, J. A., & Bridges, Jr W. C. (1998). Interactions of tallow and hay particle size on yield and composition of milk from lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 81, 1396-1402.
- Ji, P., & Dann, H. M. (2013). Negative protein balance: implications for transition cows. Proc. Cornell Nutrition Conference, Cornell University, NY, Syracuse, NY, pp: 101-112.
- Johnson, R. G., & Young, A. G. (2003). The association between milk urea nitrogen and DHI production variables in western commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 86, 3008-3015.
- Jonker, J. S., Kohn, R., & Erdman, R. (1998). Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81, 2681-2692.
- Kalscheur, K. F., Vandersall, J. H., Erdman, R. A., Kohn, R. A., & Russek-Cohen, E. (1999). Effects of dietary crude protein concentration and degradability on milk production responses of early, mid, and late lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82, 545-554.
- Law, R. A., Young, F., Patterson, D., Kilpatrick, D., Wylie, A., & Mayne, C. (2009). Effect of dietary protein content on animal production and blood metabolites of dairy cows during lactation. *Journal of Dairy Science*, 92, 1001-1012.
- Lee, C., Giallongo, F., Hristov, A. N., Lapierre, H., Cassidy, T., Heyler, K. S., Varga, G. A. & Parys C. (2015). Effect of dietary protein level and rumen-protected amino acid supplementation on amino acid utilization for milk protein in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98, 1885-902.
- Li, Y., Wei, J., Dou, M., Liu, S., Yan, B., Li, C., Khan, M. Z., Zhang, Y. & Xiao, J. (2022). Effects of rumen-protected methionine supplementation on production performance, apparent digestibility, blood parameters, and ruminal fermentation of lactating Holstein dairy cows. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 981757-981764.
- Malacco, V. M. R., Beckett, L., Hilger, S., Doane, P., Reis, R. B., & Donkin S. S. (2022). Effects of increased doses of lysine in a rumen-protected form on plasma amino acid concentration and lactational performance of dairy cows fed a lysine-deficient diet. *Journal of Dairy Science*, 105, 3064-3077.
- Mulligan, F. J., Dillon, P., Callan, J. J., Rath, M., & Mara, F. P. O. (2004). Supplementary concentrate type affects nitrogen excretion of grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 3451-3460.
- National Research Council (NRC). (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Revised Edition, National Academy Science., Washington, DC.
- National Research Council (NRC). (2021). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 8th Revised Edition, National Academy Science., Washington, DC.
- Neiderfer, K. P., Mechor, G. D., Gandra, J., Barlett, K. S., Lee, C. J., & Kronfeld, D. S. (2020). Effects of calcium carbonate, magnesium oxide and encapsulated sodium bicarbonate on measures of post-ruminal fermentation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104, 802-811.
- Nursoy, H., Ronquillo, M. G., Faciola, A. P., & Broderick, G. (2018). Lactation response to soybean meal and rumen-protected methionine supplementation of corn silage based diets. *Journal of Dairy Science*, 101, 2084-2095.
- Oldick, B., Firkins, J., & St-Pierre, N. (1999). Estimation of microbial nitrogen flow to the duodenum of cattle based on dry matter intake and diet composition. *Journal of Dairy Science*, 82, 1497-1511.
- Osorio, J. S., Ji, P., Drackley, J. K., Luchini, D., & Loor, J. J. (2013). Supplemental Smart amine M or Meta Smart during the transition period benefits post partal cow performance and blood neutrophil function. *Journal of Dairy Science*, 96, 6248-6263.
- Patton, R. A. (2010). Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 93, 2105-2118.
- Raggio, G., Pacheco, D., Berthiaume, R., Lobley, G., Pellerin, D., Allard, G., Dubreuil, P., & Lapierre, H. (2004). Effect of level of metabolizable protein on splanchnic flux of amino acids in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 3461-3472.
- Salsbury, R. L., Marvil, D. K., Woodmansee, C. W., & Haenlein, G. (1971). Utilization of methionine and methionine hydroxy analog by rumen microorganisms *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, 54, 390-396.
- Santos, F., Santos, J., Theurer, C., & Huber, J. (1998). Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow

- performance: A 12-Year literature review. *Journal of Dairy Science*, 81, 3182-3213.
- Schwab, C. (1994). Optimizing amino acid nutrition for optimum yields of milk and milk protein. *Southwest Nutrition Management Conference*, 1, 114-129.
- Schwab, C. G. (2010). Balancing diets for amino acids: Nutritional, environmental and financial implications. *Tri-State Dairy Nutrition Conference*, 1, 1-13.
- Schwab, C. G., & Broderick, G. A. (2017). A 100-Year Review: Protein and amino acid nutrition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100, 10094-10112.
- Schwab, C. G., Bozak, C. K., Whitehouse, N. L., & Mesbah, M. M. A. (2005). Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation. 1. Sequence of lysine and methionine limitation1, 2. *Journal of Dairy Science*, 75, 3486-3502.
- Socha, M. T., Putnam, D. E., Garthwaite, B. D., Whitehouse, N. L., Kierstead, N. A. Schwab, C. G., Ducharme, G. A., & Robert, J. C. (2005). Improving intestinal amino acid supply of preand postpartum dairy cows with rumenprotected methionine and lysine. *Journal of Dairy Science*, 88, 1113-1126.
- Stevens, A. V., Karges, K., Rezamand, P., Laarman, A. H., & Chibisa, G. E. (2021). Production performance and nitrogen metabolism in dairy cows fed supplemental blends of rumen undegradable protein and rumen-protected amino acids in low- compared with high-protein diets containing corn distiller's grains. *Journal of Dairy Science*, 104, 4134-4145.
- Stokes, S. R., Hoover, W. H., Miller, T. K., & Blauweikel, R. (1991). Ruminant digestion and microbial utilization of diets varying in type of carbohydrate and protein. *Journal of Dairy Science*, 74, 871-81.
- Van Keulen, J., & Young, B. A. (1977). Acid insoluble ash as a natural marker for digestibility studies. *Journal of Dairy Science*, 44: 282-287.
- Van Soest, P.J, Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
- Weekes, T. L., Luimes, P. H., & Cant, J. P. (2006). Responses to amino acid imbalances and deficiencies in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 2177-2187.
- Zou, S., Ji, S., Xu, H., Wang, M., Li, B., Shen, Y., Li, Y., Gao, Y., Li, J. Cao, Y., & Li, Q. (2023). Rumen-protected lysine and methionine supplementation reduced protein requirement of Holstein bulls by altering nitrogen metabolism in liver. *Animals*, 13, 843-856.