

## بررسی تأثیر استفاده از سطوح مختلف ساکارز و نشاسته در جیره کاملاً مخلوط شده بر تخمیر، سوخت-ساز نیتروژن در شکمبه و عملکرد گاوهاي شيرده هلشتاين

امين خضرى<sup>۱\*</sup>، کامران رضا يزدي<sup>۲</sup>، محسن دانش مسگران<sup>۳</sup>  
محمد مرادي شهر بايک<sup>۴</sup> و محمد رضا محمد آبادى<sup>۵</sup>

۱، ۵، استادياران دانشكده کشاورزى دانشكاه شهيد باهنر كرمان، ۲، ۴، دانشيار و استاد پرديس کشاورزى و

منابع طبیعی دانشكاه تهران، ۳، استاد دانشكده کشاورزى دانشكاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: ۸۷/۰۵/۱۵ - تاریخ تصویب: ۸۷/۱۲/۱۳)

### چكیده

به منظور بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف ساکارز و نشاسته در جیره کاملاً مخلوط شده بر تخمیر، سوخت-ساز نیتروژن در شکمبه و عملکرد گاوهاي شيرده، از چهار راس گاو شيرده هلشتاين دارای فيستولاي شکمبه در قالب طرح مربيع لاتين  $4 \times 4$  با چهار دوره ۲۸ روزه استفاده شد. جيره های آزمایشي حاوي مقادير مختلف ساکارز و نشاسته خالص ذرت بوده که ساکارز خالص در سطوح صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ گرم در کيلوگرم ماده خشک، به ترتيب با ۷۵، ۵۰ و صفر گرم نشاسته ذرت خالص، در جيره کاملاً مخلوط شده جايگزين شدند. جيره ها با استفاده از نرمافزار سيستم کربوهيدرات و پروتئين خالص کرنل فرموله گردید. جايگزين کردن نشاسته ذرت با ساکارز در جيره، اثری بر pH مایع شکمبه نداشت. در اين پژوهش اضافه کردن ساکارز به جاي نشاسته ذرت به جيره کاملاً مخلوط شده، به طور معنى داری غلظت آمونياک در شکمبه را کاهش داد، اما اثر معنى دار بر غلظت نیتروژن پيتيدي نداشت. افزایش ساکارز در جيره بر کل غلظت اسيدهای چرب فرار در شکمبه و نسبت استات به پروپيونات اثر معنى دار نداشت، اما غلظت بوتيرات را در شکمبه افزایش داد ( $P < 0.05$ ). در اين آزمایش، جيره با ساکارز بيشتر تمایل به کاهش اسيدهای چرب زنجير شاخه دار در مقایسه با نشاسته ذرت داشت ( $P < 0.05$ ). افزایش ساکارز در جيره در مقایسه با نشاسته ذرت، ماده خشک مصرفی، تغیرات وزن بدنه، گوارش پذيری ظاهری مواد مغذي در کل دستگاه گوارش و تولید شير را تحت تأثير قرار نداد، اما درصد چربی شير و کل مواد جامد شير را به طور معنى دار افزایش داد ( $P < 0.05$ ). با بالا رفتن سطح ساکارز، درصد پروتئين شير تمایل به افزایش و نیتروژن اوره اي شير به طور معنى دار کاهش یافت ( $P < 0.05$ )، که بيانگر بهبود سوخت-ساز نیتروژن در شکمبه و در نتيجه استفاده موثرتر از بخش های سريع التخمیر نیتروژن جيره می باشد.

**واژه های کلیدی:** ساکارز، نشاسته، سوخت-ساز نیتروژن در شکمبه، تولید و ترکیب شير.

## مقدمه

میکروارگانیسم‌های تخمیرکننده نشاسته، سهم بزرگتری در سنتز پروتئین میکروبی دارند (Sniffen et al., 1992)

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که کربوهیدرات‌های غیرالیافی دارای اثرات متفاوت بر تولید شیر (O'Mara et al., 1997; Broderick et al., 2000) (Broderick, 2006; Nombekela & Murphy, 1995) می‌باشند. Broderick (2000) گزارش نمود که اضافه کردن ساکارز در جیره گاوهاش شیرده، باعث افزایش ماده خشک مصرفی، مقدار چربی شیر و تولید شیر تصحیح شده بر اساس چربی می‌شود. به هر حال مطالعات بسیار کمی در رابطه با استفاده از قندهای خالص بر سوخت - ساز نیتروژن در شکمبه، نیتروژن پیتیدی و عملکرد گاوهاش شیرده انجام گرفته است. هدف از انجام این آزمایش، مطالعه اثرات استفاده از سطوح مختلف ساکارز و نشاسته در جیره کاملاً مخلوط شده بر تخمیر، سوخت- ساز نیتروژن در شکمبه و عملکرد گاوهاش شیرده هلشتاین می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در این آزمایش از چهار راس گاو شیرده هلشتاین با بیش از یک شکم زایش، دارای فیستولای شکمبه و میانگین وزنی  $45 \pm 665$  کیلوگرم و روزهای شیرده‌ی ۲۲ $\pm 170$  در قالب طرح مربع لاتین  $4 \times 4$  با چهار دوره ۲۸ روزه استفاده شد. قبل از شروع آزمایش، ترکیب شیمیایی مواد خوراکی مورد استفاده در آزمایشگاه تعیین شده و جیره‌های غذایی با استفاده از نرم افزار CNCPS ویرایش ۵ فرموله گردید. جیره‌های آزمایشی حاوی مقادیر مختلف ساکارز و نشاسته خالص ذرت بوده و ساکارز خالص در سطوح صفر (جیره شاهد)، ۲۵ و ۵۰ و ۷۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک، به ترتیب با ۵۰، ۲۵ و صفر گرم نشاسته ذرت خالص، در جیره کاملاً مخلوط شده جایگزین شدند. جیره‌های آزمایشی دارای انرژی و ترکیبات شیمیایی مشابه (جدول ۱) بوده و به شکل کاملاً مخلوط شده در دو وعده (۸ و ۱۹) و در حد اشتها (۱۰) درصد باقی مانده در اختیار گاوها قرار داده شدند. در طول آزمایش، گاوها در جایگاه انفرادی دارای آبخوری اتوماتیک نگهداری شده و دسترسی آزاد به

بازده استفاده از نیتروژن جیره برای تولید پروتئین شیر در گاوهاش شیرده پرتوالید، پایین (۱۹ تا ۲۲ درصد) می‌باشد (Tamminga, 1992). این بازده پایین باعث استفاده از مقادیر زیاد پروتئین، افزایش هزینه خوارک و آلدگی‌های زیستمحیطی می‌شود (Broderick, 2006). مطالعات انجام گرفته در این مورد نشان می‌دهد که بخش عمدۀ ای از این بازده پایین به دلیل هدررفتن نیتروژن آمونیاکی در شکمبه می‌باشد & (Hristov & Jouany, 2005) غلظت آمونیاک شکمبه با قابلیت دسترسی میکروارگانیسم‌ها به انرژی قابل تخمیر در شکمبه رابطه عکس دارد و از آنجا که این میکروارگانیسم‌ها بخش عمدۀ ای از پروتئین خود را با استفاده از نیتروژن آمونیاکی تولید می‌کنند، بهبود تولید پروتئین میکروبی در شکمبه، باعث افزایش بازده انتقال نیتروژن آمونیاکی شکمبه به پروتئین‌های شیر می‌شود (Hristov & Jouany, 2005).

قندها، نشاسته و دیگر کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای، بخش اصلی کربوهیدرات‌های غیرالیافی جیره را تشکیل داده و منبع عمدۀ انرژی در جیره‌های غذایی گاوهاش شیرده پرتوالید (۳۰ تا ۴۰ درصد ماده خشک جیره) می‌باشد (Varga, 2003). منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیرالیافی از نظر خصوصیات هضمی با یکدیگر متفاوت بوده و زمانیکه این منابع کربوهیدراتی در شکمبه تخمیر می‌شوند، ترکیبات مختلفی از اسیدهای آلی را تولید (Hall & Herejk, 2001) و دارای اثرات متفاوت (Khalili & Huhtanen, 1991; Strobel pH شکمبه (Hall & Russell, 1986) & تولید پروتئین میکروبی & Herejk, 2001; Sannes et al., 2002) و هضم الیاف در (Heldt et al., 1999; Miron et al., 2002) شکمبه می‌باشند. اعتقاد بر این است که نرخ تخمیر سوبسترا همبستگی بالایی با نرخ رشد میکروارگانیسم‌ها داشته به گونه‌ای که تخمیر سریع سوبسترا باعث تولید توده میکروبی بیشتری می‌شود (Nocek et al., 1988). بر طبق سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل قندها و مواد نشاسته‌ای به ترتیب دارای نرخ تجزیه شدن سریع و متوسط در شکمبه بوده و میکروارگانیسم‌های تخمیرکننده قندهای محلول در مقایسه با

درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت، آسیاب شده و برای ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام (Van Soest et al., ADF و NDF و AOAC, 1999) (1991) اندازه‌گیری شدند.

نمونه‌گیری از مایع شکمبه در روز آخر هر دوره در ساعات صفر، ۱، ۲، ۴، ۶ و ۸ پس از خوراک‌دهی صبح انجام گرفت و پس از صاف کردن، pH نمونه‌ها بالاصله اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار، ۸ میلی‌لیتر مایع شکمبه با ۲ میلی‌لیتر اسید متافسفیریک ۲۵ درصد مخلوط شده و در دمای ۲۰-۲۰ منجمد گردید. همچنین برای اندازه‌گیری غلظت آمونیاک در شکمبه، ۲۰ میلی‌لیتر از مایع شکمبه با ۲۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط و در دمای ۲۰-۲۰ منجمد گردید. غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه

سنگ نمک داشتند. تغییرات وزن بدن گاوها در ابتداء و انتهای هر دوره اندازه‌گیری شده و خوراک مصرفی و باقی‌مانده خوراک به صورت روزانه تعیین شد. نمونه‌گیری از خوراک مصرفی و پس مانده خوراک به صورت هفتگی انجام گرفت. گوارش‌پذیری ظاهری مواد مغذی خوراک در کل دستگاه گوارش با استفاده از روش نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید<sup>۱</sup> (Van Keulen & Young, 1977) تعیین شد. برای این کار در هفته آخر هر دوره نمونه‌های مدفوع از راست روده هر گدام از گاوها بصورت روزانه جمع آوری شده و برای هر گاو و هر دوره با یکدیگر مخلوط شدند. نمونه‌های خوراک، پس مانده و مدفوع پس از خشک شدن در آون با دمای ۵۵

#### 1. Acid insoluble Ash (AIA)

جدول ۱- مواد خوراکی تشکیل‌دهنده، انرژی و ترکیبات شیمیایی جیره‌های غذایی

جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup>				مواد خوراکی تشکیل‌دهنده (گرم در کیلوگرم ماده خشک)
۴	۳	۲	۱	یونجه
۳۰۰/۰۰	۳۰۰/۰۰	۳۰۰/۰۰	۳۰۰/۰۰	ذرت سیلوشده
۱۰۰/۰۰	۱۰۰/۰۰	۱۰۰/۰۰	۱۰۰/۰۰	دانه جو
۲۵۰/۰۰	۲۵۰/۰۰	۲۵۰/۰۰	۲۵۰/۰۰	سبوس گندم
۶۵/۰۰	۶۵/۰۰	۶۵/۰۰	۶۵/۰۰	کنجاله سویا
۱۹۰/۰۰	۱۹۰/۰۰	۱۹۰/۰۰	۱۹۰/۰۰	بیکربنات سدیم
۶/۲۰	۶/۲۰	۶/۲۰	۶/۲۰	کربنات کلسیم
۳/۳۰	۳/۳۰	۳/۳۰	۳/۳۰	مکمل معدنی و ویتامینی
۸/۶	۸/۶	۸/۶	۸/۶	اکسید منیزیم
۱/۹۰	۱/۹۰	۱/۹۰	۱/۹۰	ساکارز
۷۵/۰۰	۵۰/۰۰	۲۵/۰۰	۰۰/۰۰	نشاسته ذرت
۰/۰۰	۲۵/۰۰	۵۰/۰۰	۷۵/۰۰	
ترکیبات شیمیایی و انرژی (بر اساس ۱۰۰ درصد ماده خشک)				
۷۰/۱۹	۷۰/۶۳	۷۰/۳۱	۷۰/۲۴	ماده خشک
۹۲/۴۷	۹۲/۸۸	۹۲/۷۵	۹۲/۱۳	ماده آلی
۱۷/۲۸	۱۷/۳۶	۱۷/۱۹	۱۷/۰۱	پروتئین خام
۶۸/۱۲	۶۸/۱۲	۶۸/۱۲	۶۸/۱۲	پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (درصد از پروتئین خام)
۳۱/۸۸	۳۱/۸۸	۳۱/۸۸	۳۱/۸۸	پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه (درصد از پروتئین خام)
۳۲/۴۶	۳۲/۲۸	۳۳/۰۶	۳۲/۹۲	NDF
۱۹/۷۵	۱۹/۸۲	۱۹/۶۷	۱۹/۲۴	ADF
۴۰/۵۶	۴۱/۲۳	۴۰/۳۲	۴۰/۰۵	کربوهیدرات‌های غیر یافایی <sup>۲</sup>
۱/۶۷	۱/۶۷	۱/۶۷	۱/۶۷	انرژی خالص شیردهی (مگاکالری در کیلوگرم)

۱- جیره‌های ۱ الی ۴ به ترتیب حاوی صفر گرم ساکارز و ۷۵ گرم نشاسته، ۲۵ گرم نشاسته، ۵۰ گرم ساکارز و ۲۵ گرم نشاسته، ۵۰ گرم نشاسته در کیلوگرم ماده خشک جیره کاملاً مخلوط شده

۲- کربوهیدرات‌های غیر یافایی = (دیواره سلولی (درصد) + پروتئین خام (درصد) + چربی خام (درصد)) - ۱۰۰

$C_k, P_j, T_i, Y_{ijklm}$ : مطابق با مدل بالا می‌باشند.  
 $Z_l$ : اثر زمان ( $l = 1, 2, 3, 4, 5$ )؛  $ZT_{li}$ : اثر متقابل زمان و تیمار ( $i = 1, 2, 3, 4, 5$ )؛  $e_{ijklm}$ : اثرات باقیمانده.

تجزیه واریانس داده با رویه PROC MIXED نرم‌افزار آماری SAS (2000) انجام گرفت و مقایسه میانگین‌های حداقل مربعات در سطح آماری ۵ درصد با دستور PDIFF در برنامه LSMEANS انجام شد.

### نتایج و بحث

#### pH مایع شکمبه، سوخت-ساز نیتروژن و غلظت اسیدهای چرب فرار

در این آزمایش جایگزین کردن ساکارز به جای ناشاسته خالص ذرت در جیره کاملاً مخلوط شده اثری بر pH مایع شکمبه نداشت. این یافته‌ها با نتایج بدست آمده توسط Broderick et al. (2000) و همچنین Sannes et al. (2002) همخوانی دارد. در آزمایش Sannes et al. (2002) اضافه کردن ۳۲ گرم ساکارز به جیره pH مایع شکمبه را تحت تأثیر قرار نداد. اما در مطالعات دیگر Khalili & Huhtanen 1991; Lee et al., 2003)، اضافه کردن ساکارز به جیره اثر معنی‌داری بر pH مایع شکمبه داشت. تفاوت بین نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر با نتایج آزمایش Lee et al. (2003) احتمالاً به این دلیل است که در آزمایش دوم، اضافه کردن ساکارز به جیره به طور خطی مقدار کل کربوهیدرات‌های غیرالیافی جیره را افزایش داد در حالیکه در مطالعه حاضر، جایگزین کردن ساکارز به جای ناشاسته خالص ذرت در جیره اثری بر مقدار کل کربوهیدرات‌های غیرالیافی جیره‌های آزمایشی نداشت (جدول ۱). اضافه کردن ساکارز به جیره کاملاً مخلوط شده به طور معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) غلظت نیتروژن آمونیاکی را کاهش داد (جدول ۲). Sannes et al. (2002) گزارش نمودند که اضافه کردن ۳۲ گرم ساکارز به جیره تمایل به کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی از ۴/۹۲ به ۳/۸۹ میلی مول در لیتر داشت. Chamberline et al. (1985) نشان دادند که مکمل نمودن جیره بر پایه علوفه گرامینه سیلو شده با ساکارز، باعث کاهش بیشتر

با روش Ottenstein & Batler (1971) و به وسیله دستگاه گاز کروماتوگرافی<sup>۱</sup> و غلظت آمونیاک شکمبه با روش تیتراسیون Crook & Simpson (1971) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری غلظت نیتروژن پیتیدی در مایع شکمبه با روش Chen et al. (1987) انجام گرفت. برای این کار ۳۰ میلی‌لیتر از نمونه مایع شکمبه گرفته شده، در دور ۱۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده تا ذرات خوارکی و پروتوزوا از نمونه جدا شوند. برای جدا شدن باکتری‌ها، نمونه سانتریفیوژ شده مجدداً در دور ۳۰۰۰ به مدت ۲۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و غلظت نیتروژن پیتیدی در این محلول با دستگاه کلداال اندازه‌گیری شد.

در هفته پایانی هر دوره، میزان شیرتولیدی گاوها در نوبت‌های صبح و بعد از ظهر، اندازه‌گیری شده و مجموع آنها به عنوان تولید روزانه در نظر گرفته شد. برای تعیین ترکیبات شیر، در هفته پایانی هر دوره و به صورت دو روز پی در پی نمونه‌های شیر هر گاو در هر نوبت جمع‌آوری گردید. این نمونه‌ها در آزمایشگاه برای تعیین ترکیبات شیر با استفاده از دستگاه میلکو-اسکن<sup>۲</sup> و همچنین نیتروژن اوره ای به روش رنگ‌سنگی<sup>۳</sup> و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شدند.

#### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این آزمایش، برای صفاتی که اندازه‌گیری آنها در طی زمان دارای تکرار نبودند از مدل آماری زیر استفاده شد:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + C_k + e_{ijk}$$

$Y_{ijk}$ : متغیر وابسته (صفت اندازه‌گیری شده)؛  $\mu$ : میانگین جامعه برای صفت مورد مطالعه؛  $T_i$ : اثر جیره ( $i = 1, 2, 3, 4$ )؛  $P_j$ : اثر دوره ( $j = 1, 2, 3, 4$ )؛  $C_k$ : اثر حیوان ( $k = 1, 2, 3, 4$ )؛  $e_{ijk}$ : اثرات باقیمانده برای صفاتی که اندازه‌گیری آنها در طی زمان دارای تکرار بود (شامل pH مایع شکمبه، نیتروژن آمونیاکی، نیتروژن پیتیدی و اسیدهای چرب فرار) از مدل آماری زیر استفاده شد:

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + P_j + C_k + Z_l + ZT_{li} + e_{ijklm}$$

1. Gas Chromatography Philips PU 4410

2. Milko-Scan 133 B Foss Electric Denmark

3. Colorimetric Method

نیتروژن دار محلول جیره در شکمبه، احتمال عبور آنها را از شکمبه افزایش می‌دهد. Wallace (1996) نشان داد که عدم دسترسی کافی میکروارگانیسم‌های شکمبه به انرژی و یا بالاتر بودن نرخ تجزیه پیتید نسبت به نرخ استفاده از اسیدهای آمینه برای تولید پروتئین میکروبی، منجر به تولید غلظت‌های بالایی از آمونیاک در شکمبه می‌شود. کاهش همزمان در غلظت آمونیاک و افزایش غلظت نیتروژن پیتیدی برای جیره‌های دارای ساکارز بیشتر در مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ساکارز در کنترل تولید آمونیاک در ساعت‌های اولیه پس از خوراکدهی و همچنین بهبود سوخت-ساز نیتروژن نسبت به نشاسته مؤثرتر عمل می‌نماید.

در مطالعه حاضر جایگزین نمودن ساکارز به جای نشاسته تأثیر معنی‌دار بر کل غلظت اسیدهای چرب فرار نداشت (جدول ۲). Sannes et al. (2002) گزارش کردند که اضافه کردن ساکارز به میزان ۳۲ گرم بر کیلوگرم ماده خشک جیره، اثری بر کل غلظت اسیدهای چرب فرار نداشت اما در مطالعه Lee et al. (2003) کل غلظت اسیدهای چرب فرار در اثر تزریق درون شکمبه ای ساکارز افزایش یافت. غلظت اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه نشان دهنده توازن بین تولید و استفاده از این اسیدهای چرب فرار است (Leng, 1970) افزایش ساکارز در جیره بر غلظت استات، پروپیونات و همچنین نسبت استات به پروپیونات اثر معنی‌دار نداشت، اما غلظت بوتیرات را در شکمبه افزایش داد ( $P \leq 0.05$ ). این نتایج با نتایج بدست آمده توسط Vallimont et al. (2004) که در آن ساکارز باعث افزایش غلظت بوتیرات Khalili & Huhtanen (1991) که در آن ساکارز باعث کاهش معنی‌داری در نسبت مولی استات شد، همخوانی ندارد. همچنین در آزمایش Lee et al. (2003) استفاده از ساکارز باعث کاهش غلظت پروپیونات و بوتیرات و افزایش غلظت استات در مایع شکمبه گردید.

در آزمایش حاضر، جیره با ساکارز بیشتر تمایل به کاهش اسیدهای چرب زنجیر شاخه‌دار در مقایسه با نشاسته ذرت داشت ( $P \geq 0.05$ ). در آزمایش Sannes et al. (2002) نیز جایگزین نمودن ساکارز به جای ذرت باعث کاهش معنی‌دار در غلظت اسیدهای چرب زنجیر

غلظت آمونیاک شکمبه در مقایسه با نشاسته می‌شود. اما در مطالعه Vallimont et al. (2004) اضافه کردن ساکارز به جیره در سیستم کشت پیوسته<sup>۱</sup> غلظت آمونیاک در شکمبه را تغییر نداد. در مطالعه حاضر میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی برای تمامی جیره‌ها در بالای سطح ۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، که برای حفظ رشد باکتری‌های شکمبه لازم است، (Satter et al., 1974) قرار داشت. تفاوت در نتایج حاصل از آزمایش‌های In Vivo و In Vitro احتمالاً به دلیل نقش Obara et al. (1991) نشان دادند که عوامل مختلفی نفوذ پذیری دیواره شکمبه به اوره را در زمان افزایش تخمیر کربوهیدرات در شکمبه بالا می‌برد. افزایش بوتیرات در شکمبه باعث تحریک رشد پرזה‌های شکمبه و تکثیر سلولی شده و قادر است از طریق افزایش نفوذپذیری دیواره شکمبه، امکان بازچرخه هرچه بیشتر اوره به درون شکمبه را فراهم آورد (Van Soest, 1994). کاهش در غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه برای جیره‌های با مقادیر بالاتر ساکارز، احتمالاً نشان‌دهنده استفاده مؤثرتر از بخش‌های سریع التخمیر نیتروژن جیره و همچنین افزایش در رشد و سوخت - ساز میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌باشد.

در مطالعه حاضر، جیره‌های آزمایشی اثری بر غلظت نیتروژن پیتیدی نداشتند، اگرچه غلظت آن برای جیره‌های دارای ساکارز بیشتر، بالاتر بود. پیتیدها متabolیت‌های واسطه در تبدیل پروتئین خورده شده به آمونیاک می‌باشند. این ترکیبات برای رشد میکروارگانیسم‌ها لازم بوده و تجمع آنها در شکمبه به طبیعت جیره مورد استفاده بستگی دارد (Mesgaran, & Parker, 1995)

Chen et al. (1987) نشان دادند که استفاده از کنجاله سویا در جیره گاو‌های شیرده باعث تجمع پیتید در شکمبه شده و گزارش نمودند که برداشت پیتید توسط میکروارگانیسم‌ها در مقایسه با نرخ شکسته شدن زنجیره پلی‌پیتیدی، مرحله محدود کننده‌تری در تجزیه پروتئین می‌باشد. در نتیجه، تجمع موقتی بخش‌های

1. Continuous culture system

یک پلی‌ساقارید ذخیره‌ای توسط میکروگانیسم‌ها می‌شود. اگرچه این پلی‌ساقارید ذخیره‌ای بخشی از توده سلول میکروبی است اما نشان می‌دهد که ساکارز توسط میکروگانیسم سوخت-ساز نشده است (Hall & Herejk, 2001).

مطالعات مختلفی کاهش نرخ و وسعت گوارش‌پذیری NDF را در زمان استفاده از ساکارز در جیره گزارش نموده‌اند (Heldt et al., 1999; Huhtanen & Khalili, 1991). این کاهش گوارش‌پذیری NDF احتمالاً به دلیل رقابت بین باکتری‌های تخمیرکننده کربوهیدرات‌های غیرالیافی با باکتری‌های هضم‌کننده الیاف برای استفاده از نیتروژن جیره می‌باشد و در صورتی که مقادیر کافی از پروتئین قابل تجزیه در شکمبه<sup>۱</sup> در جیره وجود داشته باشد، اضافه کردن ساکارز باعث کاهش گوارش‌پذیری NDF نمی‌شود (Jones et al., 1988; Lee et al., 2003) (Huhtanen & Khalili, 1991) به هر حال مطالعات دیگر (Afzali et al., 1991) افزایش در گوارش‌پذیری NDF را در زمان استفاده از ۱ کیلوگرم ساکارز در جیره را گزارش نمودند. ارزیابی جیره‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر با استفاده از سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل نشان داد که پروتئین قابل تجزیه در شکمبه در جیره‌های آزمایشی برای تأمین نیاز نیتروژنی باکتری‌های تخمیرکننده کربوهیدرات‌های غیرالیافی و باکتری‌های هضم‌کننده الیاف کافی بوده است.

داده‌های مربوط به ماده خشک مصرفی، تغییرات وزن بدن، تولید و ترکیب شیر در جدول ۴ آمده است. اضافه کردن ساکارز به جیره کاملاً مخلوط شده، تأثیر معنی‌داری بر ماده خشک مصرفی حیوانات آزمایشی نداشت، اگرچه آن را به طور عددی افزایش داد. همچنین افزایش گوارش‌پذیری NDF مشاهده شده در مطالعه حاضر (جدول ۳) برای جیره‌های دارای ساکارز بیشتر، احتمالاً دلیل افزایش عددی در ماده خشک Nombekela & Murphy (1995) گزارش نمودند که مکمل نمودن جیره گاوها شیرده با ۱/۵ درصد ساکارز، اثری بر ماده خشک مصرفی در مقایسه با جیره شاهد نداشت.

شاخصه‌دار گردید. اسیدهای چرب فرار شاخصه‌دار در اثر جدا شدن گروه آمین و کربوکسیل اسیدهای آمینه زنجیر شاخصه‌دار در مایع شکمبه تولید می‌شوند (Allison, 1970). اسیدهای آمینه زنجیر شاخصه‌دار در اثر تجزیه منابع پروتئینی خوراکی و میکروبی در شکمبه تولید شده و تفاوت در غلظت اسیدهای چرب زنجیر شاخصه‌دار نشان‌دهنده تفاوت در یک یا هر دوی این منابع پروتئینی است (Broderick et al., 2000) نشان دادند که در جیره‌های دارای ساکارز، غلظت کل اسیدهای آمینه آزاد در مایع شکمبه کاهش می‌یابد که احتمالاً کاهش غلظت اسیدهای چرب زنجیر شاخصه‌دار در اثر استفاده از ساکارز را توجیه می‌نماید.

**گوارش‌پذیری ظاهری مواد مغذی و عملکرد شیردهی گوارش‌پذیری** ظاهری مواد مغذی در کل دستگاه گوارش، در جدول ۳ نشان داده شده است. اضافه کردن ساکارز به جای نشاسته خالص ذرت در جیره، گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی را تحت تأثیر قرار نداد. همچنین گوارش‌پذیری پروتئین خام جیره‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی مورد استفاده در این مطالعه قرار نگرفت اما برای جیره دارای ۵۰ گرم ساکارز در مقایسه با دیگر جیره‌ها از نظر عددی بالاتر بود (Pate, 1983) نشان داد که گوارش‌پذیری نیتروژن و ماده خشک ممکن است در زمان استفاده از ملاس در جیره و بسته به سطح ملاس در جیره کاهش یابد و چنین نتیجه گیری نمود که اثرات منفی استفاده از ملاس بر گوارش‌پذیری مواد مغذی، به دلیل عدم وجود مقادیر کافی نیتروژن در جیره برای تأمین نیاز میکروگانیسم‌های شکمبه و حیوان می‌باشد. در مطالعه حاضر جیره‌های آزمایشی تأثیر معنی‌دار بر گوارش‌پذیری NDF نداشتند. بالاتر بودن عددی گوارش‌پذیری NDF برای جیره دارای ۵۰ گرم ساکارز در مقایسه با دیگر جیره‌ها، خصوصاً جیره بدون ساکارز، احتمالاً نشان‌دهنده تغییر در جمعیت میکروبی و یا رشد میکروگانیسم‌های موجود در شکمبه می‌باشد. در مطالعه حاضر، افزایش ساکارز در جیره از ۵۰ به ۷۵ گرم، باعث کاهش جزئی در گوارش‌پذیری مواد مغذی شده است. این امکان وجود دارد که اضافه نمودن سطوح بالای ساکارز در جیره باعث تبدیل بخشی از ساکارز به

1. Rumen degradable protein (RDP)

جدول ۲- میانگین‌های حداقل مربعتات فراسنجه‌های تخمیر شکمبهای گاوهاشی شیرده  
تغذیه شده با سطوح مختلف ساکارز و نشاسته

جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup>	جیره					pH
	۴	۳	۲	۱	جیره	
جیره	جیره	جیره	جیره	جیره	جیره	pH
۰/۰۴	۶/۳۱	۶/۳۸	۶/۴۹	۶/۴۶		نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی لیتر)
۰/۳۷	۱۴/۳۶ <sup>b</sup>	۱۳/۹۰ <sup>b</sup>	۱۶/۳۷ <sup>a</sup>	۱۷/۰۹ <sup>a</sup>		نیتروژن پپتیدی (میلی‌گرم در لیتر)
۱۷/۹۱	۱۸۴/۶۵	۱۹۵/۵۷	۱۶۰/۵۰	۱۴۹/۲۲		مجموع اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول در لیتر)
۳/۸۹	۱۱۱/۱۷	۱۱۳/۲۴	۱۱۲/۳۵	۱۰۵/۳۸		اسیدهای چرب فرار (درصد از کل)
۱/۴۱	۶۱/۲۸	۶۲/۱۱	۶۱/۱۵	۶۱/۰۱		اسید استیک
۰/۴۴	۲۱/۸۶	۲۲/۴۴	۲۳/۲۲	۲۳/۳۸		اسید پروپیونیک
۰/۳۱	۱۳/۵۷ <sup>a</sup>	۱۲/۳۵ <sup>ab</sup>	۱۱/۹۴ <sup>b</sup>	۱۱/۷۶ <sup>b</sup>		اسید بوتیریک
۰/۱۷	۳/۲۹	۳/۱۰	۳/۶۹	۳/۸۵		اسیدهای چرب زنجیر شاخه دار
۰/۰۷	۲/۸۳	۲/۷۹	۲/۶۵	۲/۶۲		نسبت استات به پروپیونات

۱- جیره‌های ۱ الی ۴ به ترتیب حاوی صفر گرم ساکارز و ۷۵ گرم نشاسته، ۵۰ گرم ساکارز و ۲۵ گرم نشاسته، ۷۵ گرم ساکارز و صفر گرم نشاسته در کیلوگرم ماده خشک جیره کاملاً مخلوط شده، ۲- خطای استاندارد میانگین‌های یک ردیف با حروف غیر مشابه، در سطح احتمال  $<0.05$  (P) a,b

جدول ۳- میانگین‌های حداقل مربعتات گوارش‌پذیری ظاهری مواد مغذی در کل دستگاه گوارش گاوهاشی شیرده تغذیه شده با سطوح مختلف ساکارز و نشاسته

جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup>	جیره					گوارش‌پذیری ظاهری مواد مغذی (درصد)
	۴	۳	۲	۱	جیره	
جیره	جیره	جیره	جیره	جیره	جیره	گوارش‌پذیری ظاهری مواد مغذی (درصد)
۱/۴۸	۶۲/۳۶	۶۶/۱۴	۶۴/۷۴	۶۳/۱۱		ماده خشک
۲/۵۳	۶۴/۷۶	۶۸/۵۳	۶۶/۱۳	۶۵/۴۹		ماده آلی
۲/۰۴	۶۷/۱۷	۶۷/۲۸	۶۶/۳۳	۶۵/۴۲		پروتئین خام
۳/۱۲	۴۷/۱۱	۴۸/۶۷	۴۴/۰۹	۴۳/۱۴		NDF

۱- جیره‌های ۱ الی ۴ به ترتیب حاوی صفر گرم ساکارز و ۷۵ گرم نشاسته، ۵۰ گرم ساکارز و ۲۵ گرم نشاسته، ۷۵ گرم ساکارز و صفر گرم ماده خشک جیره کاملاً مخلوط شده، ۲- خطای استاندارد

جدول ۴- میانگین‌های حداقل مربعتات ماده خشک مصرفي، تغییرات وزن بدن، تولید و ترکیب شیر و نیتروژن اورهای شیر گاوهاشی شیرده تغذیه شده با سطوح مختلف ساکارز و نشاسته

جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup>	جیره					نیتروژن اورهای شیر (میلی‌گرم در دسی لیتر)
	۴	۳	۲	۱	جیره	
جیره	جیره	جیره	جیره	جیره	جیره	نیتروژن اورهای شیر (میلی‌گرم در دسی لیتر)
۰/۵۳	۱۵/۱۲	۱۴/۷۳	۱۴/۵۰	۱۴/۱۱		ماده خشک مصرفي (کیلوگرم در روز)
۰/۷۳	۱۵/۹۶	۱۶/۶۸	۱۶/۴۵	۱۵/۸۶		تولید شیر (کیلوگرم در روز)
۰/۷۱	۱۵/۷۱	۱۶/۰۵	۱۵/۲۱	۱۴/۵۲		تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۴ درصد چربی (کیلوگرم در روز)
۰/۰۶	۳/۸۸ <sup>a</sup>	۳/۷۵ <sup>a</sup>	۳/۵۱ <sup>b</sup>	۳/۴۷ <sup>b</sup>		چربی شیر (درصد)
۰/۰۳	۰/۶۲	۰/۶۴	۰/۵۷	۰/۵۵		چربی شیر (کیلوگرم در روز)
۰/۰۵	۳/۱۷	۳/۲۸	۳/۱۱	۳/۰۵		پروتئین شیر (درصد)
۰/۰۳	۰/۶۲	۰/۶۴	۰/۵۰	۰/۴۸		پروتئین شیر (کیلوگرم در روز)
۰/۰۷	۴/۹۲	۵/۰۰	۵/۰۳	۴/۸۸		لاکتوز شیر (درصد)
۰/۰۳	۰/۷۸	۰/۸۳	۰/۸۱	۰/۷۷		لاکتوز شیر (کیلوگرم در روز)
۰/۱۲	۱۲/۶۷ <sup>a</sup>	۱۲/۵۲ <sup>ab</sup>	۱۲/۲۴ <sup>b</sup>	۱۲/۱۳ <sup>b</sup>		کل مواد جامد شیر (درصد)
۰/۰۸	۲/۰۱	۲/۰۸	۲/۰۳	۱/۹۲		کل مواد جامد شیر (کیلوگرم در روز)
۰/۰۹	۸/۴۲	۸/۵۳	۸/۴۷	۸/۲۰		مواد جامد بدون چربی شیر (درصد)
۰/۰۵	۱/۳۴	۱/۴۱	۱/۳۸	۱/۳۰		مواد جامد بدون چربی شیر (کیلوگرم در روز)
۰/۰۶	۱۳/۳۱ <sup>ab</sup>	۱۲/۷۵ <sup>b</sup>	۱۴/۴۲ <sup>a</sup>	۱۵/۴۸ <sup>a</sup>		نیتروژن اورهای شیر (میلی‌گرم در دسی لیتر)
۰/۰۶	۰/۵۰	۰/۴۴	۰/۴۷	۰/۵۷		تغییرات وزن بدن (کیلوگرم در روز)

۱- جیره‌های ۱ الی ۴ به ترتیب حاوی صفر گرم ساکارز و ۷۵ گرم نشاسته، ۵۰ گرم ساکارز و ۲۵ گرم نشاسته، ۷۵ گرم ساکارز و صفر گرم ماده خشک جیره کاملاً مخلوط شده، ۲- خطای استاندارد میانگین‌های یک ردیف با حروف غیر مشابه، در سطح احتمال  $<0.05$  (P) a,b

با نتایج بدست آمده در رابطه با کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی (جدول ۲) همخوانی داشته و نشان‌دهنده بهبود بازده استفاده از نیتروژن جیره می‌باشد.

#### نتیجه‌گیری کلی

اضافه کردن ساکارز به جای نشاسته خالص ذرت در جیره کاملاً مخلوط شده موجب تغییر در تخمیر شکمبه بصورت افزایش غلظت بوتیرات، کاهش اسیدهای چرب زنجیر شاخه‌دار مایع شکمبه گردید. افزایش ساکارز همچنین باعث افزایش معنی‌دار در درصد چربی و کل NDF مواد جامد گردید. افزایش عددی در گوارش‌پذیری و نسبت استات به پروپیونات در نتیجه افزایش ساکارز در جیره، نشان‌دهنده کافی بودن پروتئین قابل تجزیه در شکمبه در جیره‌های آزمایشی برای تأمین نیاز نیتروژنی باکتری‌های تخمیر‌کننده کربوهیدرات‌های غیرالیافی و باکتری‌های هضم‌کننده الیاف است. اضافه کردن ساکارز به جیره کاملاً مخلوط شده به میزان ۵۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره، به جای نشاسته خالص ذرت در مقایسه با دیگر سطوح اضافه شده ساکارز، باعث کاهش معنی‌دار غلظت نیتروژن آمونیاکی و نیتروژن اورهای شیر و افزایش عددی درصد پروتئین شیر تولیدی گاوها آزمایشی شد که نشان‌دهنده بهبود بازده استفاده از نیتروژن جیره می‌باشد.

این امکان وجود دارد که ساکارز از طریق افزایش خوش خوراکی جیره و یا نرخ عبور مواد از شکمبه باعث افزایش ماده خشک مصرفی در حیوان گردد (Huhtanen & Khalili, 1991). در مطالعه حاضر جیره‌های آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر تغییرات وزن بدن و تولید شیر نداشت، اما درصد چربی شیر و درصد کل مواد جامد را Ordway et al. (P $\leq 0.05$ ) (2002) گزارش کردند که جایگزین نمودن ساکارز به جای ذرت به میزان ۲/۷ درصد در جیره باعث افزایش عددی در درصد چربی شیر شد. Broderick et al. (2000) افزایش درصد و تولید چربی شیر را در اثر استفاده از ساکارز گزارش نمودند. اسید چرب بوتیریک که توسط میکروآگانیسم‌های شکمبه تولید می‌شود، سوبستراطی است که برای ساخت دویاره اسیدهای چرب مورد استفاده قرار می‌گیرد (Van Soest et al., 1991). افزایش معنی‌دار در غلظت بوتیرات مشاهده شده و همچنین افزایش عددی در نسبت استات به پروپیونات در مطالعه حاضر برای جیره دارای ۷۵ گرم ساکارز (جدول ۲)، احتمالاً دلیل افزایش درصد چربی و کل مواد جامد شیر می‌باشد. در آزمایش حاضر ساکارز تمایل به افزایش عددی درصد پروتئین داشت و نیتروژن اورهای شیر را به طور معنی‌دار کاهش داد (P $\leq 0.05$ ). این نتایج

## REFERENCES

- Allison, M. J. (1970). Nitrogen metabolism of ruminal microorganisms. Pp. 456. in: A. T. Phillipson (ed), *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*. Oriel Press, Newcastle upon Tyne, UK.
- AOAC. (1999). *Official Methods of Analysis*. 17<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.
- Broderick, G. A., Luchini, N. D., Smith, W. J., Reynal, S., Varga, G. A. & Ishler, V. A. (2000). Effect of replacing dietary starch with sucrose on milk production in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83 (Suppl. 1): 248. (Abstr.).
- Broderick, G. A. (2006). Improving nitrogen utilization in the rumen of lactating dairy cows. Proc., Florida Ruminat Nutr Symp, Best Western Gateway Grand, Gainesville FL.
- Chamberlain, D. G., Thomas, P. C., Wilson, W., Newbold, C. J. & MacDonald, J. C. (1985). The effects of carbohydrate supplements on ruminal concentrations of ammonia in animals given diets of grass silage. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 104, 331–340.
- Chen, G., Russell, J. B. & Sniffen, C. J. (1987). A procedure for measuring peptides in rumen fluid and evidence that peptide uptake can be a rate-limiting step in ruminal protein degradation. *J. Dairy Sci.* 70, 1211–1219.
- Crook, W. M. & Simpson, W. E. (1971). Determination of ammonium in Kjeldahl digest of crops by an automated procedure. *J. Sci. Food Agric.* 22, 9.
- Hall, M. B. & Herejk, C. (2001). Differences in yields of microbial crude protein from in vitro fermentation of carbohydrates. *J. Dairy Sci.* 84, 2486–2493.
- Heldt, J. S., Cochran, R. C., Mathis, C. P., Woods, B. C., Olson, K. C., Titgemeyer, E. C., Nagaraja, T. G., Vanzant, E. S. & Johnson, D. E. (1999). Effects of level and source of carbohydrate and level of degradable protein on intake and digestion of low-quality tallgrass-prairie hay by beef steers. *J. Anim. Sci.* 77, 2846–2854.

10. Hristov, A. N. & Jouany, J. P. (2005). Factors affecting the efficiency of nitrogen utilization in the rumen. Pp.117- 166. in: A. N. Hristov and E. Pfeffer (eds), Nitrogen and Phosphorus Nutrition of Cattle and Environment. CAB International, Wallingford, UK.
11. Huhtanen, P. & Khalili, H. (1991). Sucrose supplements in cattle given grass silage-based diet. 3. Rumen pool size and digestion kinetics. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 33, 275–287.
12. Jones, D. F., Hoover, W. H. & Miller-Webster, T. K. (1998). Effects of concentrations of peptides on microbial metabolism in continuous culture. *J. Anim. Sci.*, 76, 611–616.
13. Khalili, H. & Huhtanen, P. (1991). Sucrose supplements in cattle given grass silage-based diet. 2. Digestion of cell wall carbohydrates. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 33, 263–273.
14. Lee, M. R. F., Merry, R. J., Davies, D. R., Moorby, J. M., Humphreys, M. O., Theodorou, M. K., MacRae, J. C. & Scollan, N. D. (2003). Effect of increasing availability of water-soluble carbohydrates on in vitro rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 104, 59–70.
15. Leng, R. A. (1970). Formation and production of volatile fatty acids in the rumen. Pp. 406-421. in: A. T. Phillipson (ed), Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant. Oriel Press, Newcastle upon Tyne, UK.
16. Mesgaran, M. D. & Parker, D. S. (1995). The effect of dietary protein and energy sources on ruminal accumulation of low molecular weight peptides in sheep. *Animal Science*, 60, 535.
17. Miron, J., Yosef, E., Ben-Ghedalia, D., Chase, L. E., Bauman, D. E. & Solomon, R. (2002). Digestibility by dairy cows of monosaccharide constituents in total mixed ration containing citrus pulp. *J. Dairy Sci.*, 85, 89-94.
18. National Research Council. (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
19. Nocek, J. E. & Russell, J. B. (1988). Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.*, 71, 2070-2107.
20. Nombekela, S. W. & Murphy, M. R. (1995). Sucrose supplementation and feed intake of dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.*, 78, 880–885.
21. Obara, Y., Dellow, D. W. & Nolan, J. V. (1991). The influence of energy rich supplements on nitrogen kinetics in ruminants. Pp. 515 – 525. in: Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants. In: Proceedings 7<sup>th</sup> Int. Symp. Ruminant Physiology., Academic Press, Inc., New York, NY.
22. O'Mara, F. P., Stakelum, G. K., Dillon, P., Murphy, J. J. & Rath, M. (1997). Rumen fermentation and nutrient flows for cows fed grass and grass supplemented with molassed beet pulp pellets. *J. Dairy Sci.*, 80, 2466-2474.
23. Ordway, R. S., Ishler, V. A. & Varga, G. A. (2002). Effects of sucrose supplementation on dry matter intake, milk yield, and blood metabolites of periparturient Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 85, 879-888.
24. Ottenstein, D. M. & Batler, D. A. (1971). Improved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. *Anal. Chem.*, 43, 952-955.
25. Pate, F. (1983). Molasses in Beef Nutrition. Natl. Feed Ingredients Assoc. Des. Moines, IA.
26. Sannes, R. A., Messman, M. A. & Vagnoni, D. B. (2002). Form of rumen- degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 85, 900–908.
27. SAS Institute Inc. 2000. SAS/STAT User's Guide: Version 8.1th edn. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina
28. Satter, L. D. & Slyter, L. L. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Br. J. Nutr.*, 32, 199 - 208.
29. Sniffen, C. J., O'Connor, J. D., Van Soest, P. J., Fox, D. G. & Russell, J. B. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.*, 70, 3562-3577.
30. Strobel, H. J. & Russell, J. B. (1986). Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. *J. Dairy Sci.*, 69, 2941-2947.
31. Tamminga, S. (1992). Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. *J. Dairy Sci.*, 75, 345–357.
32. Vallimont, J. E., Bargo, F., Cassidy, T. W., Luchini, N. D., Broderick, G. A. & Varga, G. A. (2004). Effects of Replacing Dietary Starch with Sucrose on Ruminal Fermentation and Nitrogen Metabolism in Continuous Culture. *J. Dairy Sci.*, 87, 4221–4229
33. Van Keulen, J. & Young, B. A. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *J. Anim. Sci.*, 44, 282–287.
34. Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74, 3588–3597.
35. Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2<sup>nd</sup> Ed. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY.

36. Varga, G. A. (2003). Soluble carbohydrates for lactating dairy cows. Pp.59. In: Proceedings of *Tri State Dairy Nutrion*. Conference., Fort Wayne, IN.
37. Wallace, R. J. (1996). Ruminal microbial metabolism of peptides and amino acids. *J. Nutr*, 126, 1326S–1334S.

