علوم دامی ایران
دورۀ ۴۷، شمارۀ ۱، بهار ۱۳۹۵ (ص ۱۰۲-۸۹) DOI: 10.22059/ijas.2016.58002

تأثیر کاهش پروتئین قابل سوخت‌وساز همراه با افزودن لیزین و متیونین محافظت‌شدۀ شکمبه‌ای بر عملکرد میش‌های آبستن افشاری

سید سعید موسوی[1*]، حمید امانلو[2]، علی نیکخواه[3]، علی مصطفی تهرانی[4] و حمیدرضا میرزایی الموتی[5]
۱، ۲ و ۵. دانشجوی دکتری، استاد و استادیار، گروه علوم دامی، دانشکدۀ کشاورزی دانشگاه زنجان
۳. استاد، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
٤. استادیار بخش تحقیقات تغذیه و فیزیولوژی مؤسسۀ تحقیقات علوم دامی کشور
(تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۷/۲٦ - تاریخ تصویب: ۱۳۹٤/۱۰/٦)

چکیده

هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر کاهش پروتئین قابل سوخت‌وساز (متابولیسم) همراه با افزایش لیزین و متیونین محافظت‌شدۀ شکمبه‌ای در پنج هفتۀ آخر آبستنی بر عملکرد و فراسنجه‌های خونی میش‌های افشاری و بره‌ها بود. ۲۵ رأس میش یک‌بار زایش در قالب طرح کامل تصادفی نامتعادل با جیره‌های غذایی محتوای پروتئین قابل سوخت‌وساز کم همراه با لیزین و متیونین محافظت‌شدۀ شکمبه‌ای (LMP+LMRP) و زیاد (HMP) به ترتیب ۲۰ درصد کمتر و معادل توصیۀ NRC (۲۰۰۷) تغذیه شدند. نتایج نشان داد که مادۀ خشک مصرفی، وزن بدن میش در پایان دورۀ آبستنی، تغییرات وزن بدن از آغاز آزمایش تا هنگام زایش، وزن بدن بیست روز پس از زایش تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). تغییر کاهشی وزن بدن در هنگام زایش در تیمار HMP نسبت به LMP+LMRP بیشتر و به معنی‌دار بودن نزدیک (P<۰/۱۰) و با مجموع وزن تولد همبستگی داشت. مقدار آغوز و ترکیبات شیر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما گرایش به افزایش تولید شیر در HMP در مقایسه با LMP+LMRP مشاهده شد. غلظت سوخت‌وسازگر (متابولیت)های خون تحت تأثیر کاهش پروتئین قابل سوخت‌وساز قرار نگرفت. درصد ائوزینوفیل و مونوسیت‌ها به ترتیب به‌طور معنی‌دار و نزدیک به معنی‌داری در HMP نسبت به LMP+LMRP بیشتر بود، تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار از نظر دیگر یاخته‌های خونی مشاهده نشد. به‌طورکلی کاهش پروتئین قابل سوخت‌وساز از سطح توصیۀ NRC (۲۰۰۷) و جایگزین کردن آن با لیزین و متیونین محافظت‌شدۀ شکمبه‌ای در پیش از زایش میش‌های نژاد افشاری، عملکرد میش را تحت تأثیر قرار نداد.

واژه‌های کلیدی: آبستنی، ایمنی، اسیدآمینه، پروتئین قابل سوخت‌وساز، گوسفند.

مقدمه

یکی از مهم‌ترین ناهنجاری سوخت‌وسازی (متابولیکی) اواخر دورۀ آبستنی میش‌هایی که بیش از یک جنین را آبستن هستند، کتوز یا مسمومیت آبستنی گفته می‌شود (Henze *et al*., 1998; Sargison, 2007). مسمومیت آبستنی در اغلب موارد در طول ۴ تا ۶ هفته آخر دورۀ آبستنی به وجود می‌آید. در طی این مدت در اثر مصرف گلوکز خون توسط جنین، افزایش

* تلفن: ۰۹۱۲۸۴۱۲۳۱۶ E-mail: ssmzanjani@yahoo.com; ssmousavi@znu.ac.ir

اجسام کتونی همراه با کمبود کلسیم رخ می‌دهد (Schlumbohm *et al*., 2003, 2006). در صورت بروز مسمومیت آبستنی غلظت‌های گلیسرول و اسیدهای چرب غیر استریفیهٔ خون (NEFA) [1] به‌طور معنی‌داری به ترتیب ۵۷ و ۶۷ درصد افزایش یافته و مشکلاتی برای میش و بره پیش و پس از زایش به وجود می‌آید (Schlumbohm *et al*., 2003).

مصرف پروتئین قابل سوخت‌وساز (متابولیسم) (MP) [2] در اواخر دورهٔ آبستنی با تحریک گلوکونئوژنز، تجزیهٔ بافت چربی را کاهش و حساسیت به انسولین را افزایش می‌دهد، در نتیجه بافت چربی کمتر تجزیه شده و تولید اجسام کتونی کاهش می‌یابد. این امر سبب کاهش مسمومیت آبستنی شده و سامانهٔ ایمنی و شیردهی را بهبود می‌بخشد و می‌تواند احتمال زنده‌مان و ایمنی بره‌ها را افزایش دهد. افزایش سطح پروتئین خام جیره پیش از زایش باعث افزایش وزن بدن میش‌ها، وزن تولد بره‌ها، وزن از شیرگیری، زنده‌مانی بره‌ها، مقدار آغوز و شیر شده و همچنین باعث کاهش درصد سخت‌زایی می‌شود (Christenson *et al*., 1976; Hatfield *et al*., 1995; O' Doherty *et al*., 1997).

یکی از عوارض جانبی کمبود پروتئین و اسیدهای آمینه، کاهش توان سامانهٔ ایمنی در دورهٔ انتقال است (Nathalie *et al*., 2004 ; Sejrsen *et al*., 2006) همچنین استفاده از یک جیرهٔ پرپروتئین نیز تأثیر منفی بر سلامتی، تولید، تولیدمثل، هدرروی انرژی بدن جهت دفع نیتروژن اضافی، افزایش هزینهٔ خوراک دام، افزایش بار سوخت‌وسازی یا نیاز نگهداری دام، افزایش سطح اورهٔ خون و کاهش کیفیت پروتئین شیر می‌شود (Broderick, 2006; Schwab *et al*., 2007) لذا اگر در تأمین پروتئین خام جیره به میزان پروتئین قابل‌تجزیه (RDP) و غیرقابل تجزیه در شکمبه (RUP) توجه نشود، ممکن است RDP بالا منجر به دفع نیتروژن همراه با مصرف انرژی به‌صورت اوره شود (Powell *et al*., 2008).

سطح پروتئین جیره بدون توجه به متعادل کردن سطح اسیدهای آمینه در پروتئین قابل سوخت‌وساز باعث کاهش کارایی پروتئین قابل سوخت‌وساز می‌شود (Schwab *et al*., 2007) و پروتئین و اسیدهای آمینهٔ اضافی در بدن متابولیزه شده و سبب افزایش سطح نیتروژن خون می‌شوند (Doepel *et al*., 2004; Broderick, 2006). با متوازن کردن اسیدهای آمینهٔ محدودکنندهٔ جیره، می‌توان پاسخ تولیدی به جیره‌های کم پروتئین را بدون افزایش دفع ادراری نیتروژن بهبود بخشید (Leonardi *et al*., 2003). یکی از راه‌های ممکن برای کاهش نیتروژن ادراری، کاهش مقدار پروتئین خام جیره است و هنگامی‌که رخنمای (پروفایل) مناسبی از اسیدهای آمینه برابر با نیاز در اختیار دام باشد بازدهٔ پروتئین در بدن و همچنین قابلیت هضم پروتئین افزایش یافته و نیاز دام به پروتئین کاهش می‌یابد (Schwab *et al*., 2004; Broderick *et al*., 2008).

لیزین و متیونین دو اسیدآمینهٔ محدودکننده در پروتئین قابل سوخت‌وساز و ساخت (سنتز) پروتئین شیر هستند (DePeters & Cant, 1992; Koenig *et al*., 2002) در تغذیهٔ نشخوارکنندگان اهمیت متیونین بیشتر است (Schwab *et al*., 1992) و در برخی تحقیقات نشان داده شده که افزودن متیونین به جیره به شکل مکمل‌های متیونین محافظت‌شده تأثیر بیشتری داشته است (Fenderson & Bergen, 1975; Richardson & Hatfield, 1978; Piepenbrink *et al*., 1996). متیونین نقش منحصربه‌فردی را به‌عنوان اسیدآمینه آغازگر در ساخت پروتئین دارد (Brosnan & Brosnan, 2006)، همچنین متیونین به‌عنوان گروه دهندهٔ متیل نقش مهمی در ساخت لیپوپروتئین‌ها بازی می‌کند (McMurray *et al*., 1984; Rulquin & Delaby, 1997; Bobe *et al*., 2004) ممکن است در نتیجهٔ تأمین متیونین حیوان، کمبود دیگر اسیدهای آمینه مانند لیزین رخ دهد (Graulet *et al*., 2005). Weekes *et al*. (2006) بیان کردند که متوازن کردن جیره ازلحاظ اسیدهای آمینه، روی مادهٔ خشک مصرفی گاوهای شیرده اثر مثبت دارد که مکمل‌سازی جیره با پروتئین با کیفیت بالا یا اسیدهای آمینهٔ محافظت‌شده، به‌ویژه لیزین و متیونین منجر به افزایش مادهٔ خشک مصرفی و قابلیت هضم در گاو و گوسفند می‌شود (Ali *et al*., 2009).

1. Non Estrified Fatty Acid (NEFA)
2. Metabolizable Protein (MP)

انتخاب منابع اسیدآمینه‌ای محافظت‌شدهٔ شکمبه‌ای توسط پرورش‌دهندگان دام باید بر پایهٔ مؤثر بودن محصول در مقاومت به تجزیهٔ شکمبه‌ای و همچنین توانایی آزادسازی مقادیر قابل‌قبول اسیدآمینه در روده باشد (Robinson, 1996)، لذا Schwab & Ordway (2003) و Girard *et al.* (2004) بیان کردند که اسیدهای آمینهٔ لیزین و متیونین محافظت‌شده، بیشتر به‌منظور تأمین اسیدهای آمینهٔ محدودکنندهٔ تولید شیر استفاده شده است. با توجه به اینکه میزان مواد مغذی ورودی با خروجی حیوان در اوایل دورهٔ شیردهی میش متوازن نبوده و میش توازن منفی به‌ویژه پروتئین را تجربه می‌کند، لذا به نظر می‌رسد اولین قدم در جهت رفع این نقیصه افزایش اسیدآمینه‌های جذب‌شده به‌ویژه لیزین و متیونین از رودهٔ میش‌ها باشد و همچنین بنا بر نتایج آزمایش Mousavi *et al.* (2012) که سطح پروتئین قابل سوخت‌وساز توصیه‌شده NRC (2007) برای میش آبستن افشاری بیان شده است لذا هدف این پژوهش کاهش سطح پروتئین قابل سوخت‌وساز و جایگزینی آن با مکمل‌های لیزین و متیونین محافظت‌شده در میش افشاری بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گوسفندداری دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه زنجان در پاییز سال ۱۳۹۱ انجام شد. همهٔ میش‌ها دو هفته پیش از قوچ‌اندازی به روش سیدرگذاری (CIDR; Eazi-Breed CIDR; Pharmacia and Upjohn Pty Limited, Rydalmere, Australia) و تزریق عضلانی ۴۰۰ واحد هورمون PMSG[1] (Intervet Inc., Millsboro, DE) هم‌زمان فحل و به‌صورت کنترل‌شده قوچ‌اندازی شدند. ۲۵ رأس میش در پنج هفتهٔ آخر آبستنی در قالب طرح کامل تصادفی نامتعادل به دو تیمار آزمایشی شامل پروتئین قابل سوخت‌وساز کم ولی همراه با لیزین و متیونین محافظت‌شدهٔ شکمبه‌ای (LMP+LMRP)[2] یعنی ۲۰ درصد کمتر از توصیهٔ NRC (2007) و پروتئین قابل سوخت‌وساز زیاد (HMP)[3] یعنی برابر با توصیهٔ NRC (2007) تقسیم شدند. جیره‌های آزمایشی توسط نرم‌افزار جیره‌نویسی دانشگاه کرنل (CNCPS[4]) برای میش‌های دوقلو آبستن فرموله شدند (Cannas *et al.*, 2004). با استفاده از جدول‌های استاندارد و روابط رگرسیونی انرژی قابل سوخت‌وساز جیره‌ها (۲/۳۹ مگا کالری در هر کیلوگرم خوراک) و پروتئین قابل‌تجزیه و غیر قابل‌تجزیهٔ شکمبه‌ای برابر و سطوح پروتئین قابل سوخت‌وساز محاسبه شدند (National Research Council, 2007) که در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. مواد خوراکی و مواد مغذی در تیمارهای آزمایشی

Table 1. Feeds and nutrients in treatments

Ingredient composition (% DM)	LMP+ LMRP[2]	HMP[1]
Alfalfa hay	13.00	27.58
Corn silage	29.10	30
Barley straw	22.82	12.51
Beet pulp	10	10
Soybean meal	0	2.27
Corn	22.16	16.64
Mineral mix [3]	0.46	0.50
Vitamin mix [4]	0.46	0.50
Lysine	0.81	0
Methionine	0.38	0
Nutrient composition (g/kg DM)		
Dry matter	70.92	69.92
Cost	8574	8396
Metabolizable energy (Mcal/kg DM)	2.39	2.39
Crude protein	8.90	9.94
Metabolizable protein	6.42	7.05

۱. HMP: پروتئین قابل سوخت‌وساز زیاد برابر با توصیهٔ NRC

۲. LMP+LMRP: پروتئین قابل سوخت‌وساز کم یعنی ۲۰ درصد کم‌تر از توصیهٔ NRC همراه با لیزین و متیونین محافظت‌شده

۳. مکمل کانی: کلسیم ۲۰۰ گرم در کیلوگرم، منیزیم ۹۰ گرم در کیلوگرم، کبالت ۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، مس ۳۵۰۰ در کیلوگرم، ید ۱۵۱ میلی‌گرم در کیلوگرم، آهن ۱۷۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، منگنز ۱۳۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، سلنیم ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و روی ۱۴۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم.

۴. مکمل ویتامینی: ویتامین A ۱۵۰۰۰۰۰واحد بین‌المللی در کیلوگرم، ویتامین D ۴۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم و ویتامین E ۶۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم.

1. HMP: High Metabolizable protein Recommended by NRC.
2. LMP+LMRP: Low Metabolizable Protein+Lysine and Methionine Rumen Protected
3. Mineral mix: 200 g/kg Ca, 90 g/kg Mg, 35 mg/kg Co, 3500 mg/kg Cu, 151 mg/kg I, 17500 mg/kg Fe, 13500 mg/kg Mn, 90 mg/kg Se, and 14300 mg/kg Zn as guaranteed by the supplier.
4. Vitamin mix: 1500000 IU/kg vitamin A, 400000 IU/kg vitamin D, and 6000 IU/kg vitamin E as guaranteed by the supplier.

1. Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin (PMSG)
2. Low Metabolizable Protein + Lysine and Methionine Rumen Protected (LMP +LMRP)
3. High Metabolizable Protein (HMP)
4. Cornell Net Chrabohydrate and Protein System (CNCPS)

جیره‌ها به‌صورت کاملاً مخلوط در دو وعده در ساعت‌های ۸ و ۱۶ به میش‌ها خورانده شد و هر روز بقایای خوراک پیش از عرضهٔ وعدهٔ صبح از آخور گردآوری و توزین شدند. میش‌ها در طول شبانه‌روز به آب دسترسی آزاد داشتند و خوراک در حد اشتها به آن‌ها عرضه شد. میش‌ها پیش از عرضهٔ خوراک صبحگاهی در آغاز آزمایش (۱۰۵ و ۱۰۶روزگی)، پایان آزمایش (۱۴۴ و ۱۴۵ روزگی)، در هنگام زایش و بیست روز پس از زایش و بره‌ها در هنگام تولد (به‌صورت دو قلو و تک قلو) توزین شدند و افزایش وزن روزانه اندازه‌گیری شد.

تولید آغوز با وزن کردن بره پیش و پس از خوردن آغوز (Ocak *et al*., 2005) در ۲۴ ساعت پس از زایش و تولید شیر به روش دوشش با تزریق عضلانی هورمون (Purroy & Jaime, 1995) اندازه‌گیری شد. بی‌درنگ پس از زایش از آغوز نمونه‌گیری شد و با میلکواسکن (78110; Foss, Hillerod, Denmark) برای تعیین درصد چربی، پروتئین، لاکتوز و مواد جامد عاری از چربی شیر تجزیه شد.

خون‌گیری از سیاهرگ وداج به‌صورت ناشتا در روزهای ده و یک روز مانده به زایش برای تعیین سوخت‌وسازهای خون، انجام شد (Schlumbohm & Harmayer, 2003; Schlumbohm *et al*., 1997). بی‌درنگ نمونه‌های خون به آزمایشگاه ارسال و نسبت به جداسازی پلاسما با دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ و به مدت پانزده دقیقه اقدام شد. پروتئین کل، آلبومین، نیتروژن اوره‌ای خون، کراتینین و آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)[1] و کلسترول توسط کیت‌های پارس آزمون آزمایشگاهی (Pars Azmun Laboratory, Tehran, Iran) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (PerkinElmer, Colemen Instruments Division, Oak Brook, IL, USA) تعیین شد. گلوکز خون در هنگام خون‌گیری از میش‌ها با دستگاه گلوکز سنج (Roche, Burgess Hill, UK) اندازه‌گیری شد. غلظت NEFA، بتا هیدروکسی بوتیرات (βHBA)[2] به‌ترتیب با کیت‌های [(NEFA-HR(2) assay kit, Wako (Chemicals GmbH, Neuss, Germany و(Abbott Diabetes Care Ltd. Rang Road. Witney, Oxin, OX29 OYL., UK)] و به روش آنزیمی اندازه‌گیری شد. غلظت انسولین به روش کیت گوسفندی (Mercodia Ovine Insulin ELISA, Mercodia AB; Uppsala, Sweden) و با استفاده از دستگاه الایزا تعیین شد. برای اندازه‌گیری مقاومت به انسولین از مدل هموستازیس مقاومت به انسولین (HOMA-IR)[3] و برای تعیین حساسیت به انسولین از شاخص‌های کمی بررسی حساسیت به انسولین (QUICKIs)[4] طبق روابط زیر استفاده شد (Muniyappa *et al*., 2008). که در آن فراسنجه‌های گلوکز، انسولین، اسیدهای چرب غیر استریفیه و بتا هیدروکسی بوتیریک لحاظ شده که شاخص مقاومت به انسولین با فراسنجه‌های گلوکز و انسولین رابطهٔ مستقیم ولی شاخص حساسیت به انسولین با چهار فراسنجهٔ یادشده رابطهٔ عکس دارد.

$$\text{HOMA-IR} = [\text{glucose (mmol/ml)} \times \text{insulin } (\mu\text{U/ml})]/22.5 \quad (۱)$$

$$\text{QUICKI} = 1/[\log \text{glucose (mg/dl)} + \log \text{insulin } (\mu\text{U/ml})] \quad (۲)$$

$$\text{RQUICKI} = 1/[\log \text{glucose (mg/dl)} + \log \text{insulin } (\mu\text{U/ml}) + \log \text{NEFA (mmol/l)}] \quad (۳)$$

$$\text{RQUICKIBHB} = 1/[\log \text{glucose (mg/dl)} + \log \text{insulin } (\mu\text{U/ml}) + \log \text{NEFA (mmol/l)} + \log \text{BHB (mmol/l)}] \quad (۴)$$

برای تجزیه‌وتحلیل اطلاعات از نرم‌افزار SAS و از رویهٔ MIXED (SAS, 2004) استفاده شد که در آن اثرگذاری‌های میش، قوچ، تیپ تولد (دو قلو و تک قلو بودن برهٔ متولدشده)، جنس تولد و اثرهای متقابل آن‌ها که منوط به نوع صفت مورد بررسی، اثرها در مدل قرار داده شده و تجزیه‌وتحلیل آماری صورت گرفت و مدل کلی طرح به‌صورت ساده به شرح زیر بود:

$$Y_{ij}=\mu + T_i + e_{ij}$$

Y_{ij}= jامین مشاهده مربوط به تیمار iام، μ= میانگین صفت، T_i= تأثیر تیمار (میزان پروتئین قابل سوخت‌وساز

1. Aspartate Amino Transferase (AST)
2. Beta-Hydroxy Butyric Acid (βHBA)
3. Homestasis Model of Insulin Resistance (HOMA-IR)
4. Quantitative Insulin Sensitivity Check Indexes (QUICKIs)

زیاد و کم اما همراه با لیزین و متیونین محافظت‌شده)، e_{ij}= اثر اشتباه آزمایشی.

نتایج و بحث

تأثیر سطوح پروتئین قابل سوخت‌وساز پیش از زایش بر مادهٔ خشک مصرفی روزانه معنی‌دار نبود (جدول ۲، P>۰/۰۵) که با نتایج دیگر محققان همخوانی داشت (Broderick *et al*., 2008; Bateman *et al*.,1999; Davidson *et al*., 2003) کاهش پروتئین همراه با افزایش متیونین محافظت‌شده تأثیری روی مادهٔ خشک مصرفی نداشت از این‌رو، افزودن متیونین محافظت‌شده ممکن است تغذیهٔ جیره‌هایی با سطوح پروتئین پایین‌تر و حفظ همان سطح از تولید را امکان‌پذیر سازد. درصورتی‌که در دیگر بررسی‌ها، افزودن لیزین و متیونین محافظت‌شده به جیره منجر به افزایش مادهٔ خشک مصرفی شده بود (Broderick *et al*., 2009)، که از علل آن می‌توان به تأمین اسیدهای آمینهٔ محدودکننده (Illg *et al*., 1987; Ali *et al*., 2009)، متوازن شدن جیره از لحاظ اسیدهای آمینه (Weekes *et al*., 2006)، طول مدت آزمایش (Benefield *et al*., 2006; Benefield *et al*., 2009) اشاره کرد که با افزایش طول دوره، تغییری در مادهٔ خشک مصرفی حاصل نشده بود. درصورتی‌که در پژوهش‌های Cho *et al*. (2007) افزودن لیزین و متیونین محافظت‌شده و Dawson *et al*. (1999) افزایش پروتئین غیرقابل تجزیهٔ قابل‌هضم[1] به جیرهٔ غذایی سبب کاهش مادهٔ خشک مصرفی شده بود که نتایج متفاوت می‌تواند ناشی از سطح و منبع پروتئین مصرفی در جیره‌ها باشد.

این بررسی نشان داد که پروتئین قابل سوخت‌وساز زیاد در طول اواخر آبستنی در میش‌ها، بر وزن بدن و تغییرات وزن بدن میش و همچنین بر وزن تولد تأثیر معنی‌دار نداشت (جدول۲، P>۰/۰۵) که با گزارش‌های دیگران همخوانی دارد (Amanlou *et al*., 2011; Dawson *et al*., 1999). در آزمایش‌های Broderick *et al*. (2008)، Davidson *et al*. (2003) و Holter *et al*. (1982) با کاهش پروتئین مصرفی و استفاده از اسیدآمینه‌ها بی‌تأثیر بودن جیره‌های آزمایشی بر تغییرات وزن بدن را مشاهده کردند که نشان‌دهندهٔ تشدید نشدن تعادل منفی انرژی با کاهش سطح پروتئین جیره تا ۱۴/۵ درصد است درصورتی‌که در بررسی‌های Abdelrahman & Hunaiti (2007) و Purchas *et al*. (1998) افزایش وزن مشاهده شده بود. در آزمایشی مشابه نشان داده شد که پروتئین قابل سوخت‌وساز بالاتر به‌صورت خطی تأثیر افزایشی در وزن بدن میش در هنگام زایش داشت که سطح پروتئین قابل سوخت‌وساز مورد استفاده در آزمایش به‌صورت ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد توصیه‌های NRC بود (Van Emon *et al*., 2014) به‌طوری‌که نتایج تا حدی قابل‌انتظار بود، ولی در رابطه با این آزمایش می‌توان چنین بیان کرد که اگر نیاز دام به پروتئین قابل سوخت‌وساز تأمین شده باشد افزایش آن نه تنها باعث افزایش رشد و وزن بدن نمی‌شود بلکه برای دفع نیتروژن اضافی بدن که یک مسیر انرژی‌خواه است، باعث مصرف انرژی بیشتر و کاهش وزن بدن نیز می‌شود.

در بررسی دیگر گزارش شد که تغذیهٔ میش آبستن با ۱۴۰ درصد نیاز پروتئین خام در طول شش هفتهٔ آخر آبستنی باعث افزایش وزن بدن میش در هنگام زایش و وزن تولد بره شد، که از لحاظ وزن تولد، تا حدی مغایر با مشاهده‌های ما بود (Ocak *et al*., 2005). در بررسی دیگری، افزایش سطح پروتئین خام جیرهٔ غذایی از ۷۹ به ۱۱۶ گرم در کیلوگرم مادهٔ خشک در میش دو قلوزا منجر به افزایش وزن تولد بره شد، درحالی‌که افزایش بالاتر از ۱۵۷ گرم تأثیر چندانی نداشت و با توجه به اینکه انتقال اسیدهای آمینه از مادر به بافت جنینی به‌شدت تنظیم می‌شود و جفت برای انتقال بیشتر آن به جنین توانایی کمی دارد (Mcneil *et al*., 1997) لذا بعید به نظر می‌رسد که افزایش پروتئین خام جیرهٔ غذایی بیشتر از سطح موردنیاز در اواخر آبستنی بتواند اثر مهمی بر وزن تولد بره‌ها داشته باشد (Overton, 1999) در بررسی Amanlou *et al*. (2011) هرچند که غلظت پروتئین خام بیشتر از این بررسی بود ولی افزایشی در وزن

1. Digestible Undegradable Protein (DUP)

تولد بره‌ها مشاهده نشده بود (بدون پاسخ مشابه در این بررسی ممکن است به دورهٔ کوتاه‌تر آزمایش مربوط باشد) و یا به نظر می‌رسد که تیمار غذایی LMP+LMRP در حد کافی نیاز میش آبستن را تأمین می‌کند. گزارش بحث‌برانگیز در مورد این موضوع به‌احتمال مربوط به سطح پروتئین خام در جیره‌های پایه است، که افزایش سطح پروتئین خام به‌ویژه افزایش بخش پروتئین قابل‌تجزیه، بدون اینکه انرژی افزایش یابد به تولید کمتر پروتئین میکروبی ارتباط داشته باشد که به نظر می‌رسد هم‌زمان با افزایش سطح پروتئین خام جیره لازم است سطح انرژی جیره نیز افزایش یابد.

جدول ۲. میانگین صفات زیست‌سنجی در تیمارهای آزمایشی

Table 2. The mean of biometric traits in experimental treatments

Traits	LMP +LMRP	HMP	SEM	p-value
Dry matter intake (kg/d)	1.85	1.90	0.12	0.77
Cost Dry Matter Intake	15862	15952		
BW of ewes (kg)				
at breeding season	72.37	72.72	1.74	0.88
at beginning of experiment (In the last 5 weeks of pregnancy)	89.83	93.84	2.97	0.36
at Pre lambing	98.33	100.66	2.38	0.51
Changes in body weight in the last 5 weeks of pregnancy	8.50	6.82	1.67	0.49
at post lambing	88.50	89.88	2.13	0.66
Changes in body weight at lambing	-9.83 [a]	-10.78 [b]	0.25	0.02
at 20 d after lambing	86.27	85.62	3.67	0.90
Changes in body weight at 20 days after lambing	-2.23	-4.26	1.83	0.45
BW of Lambs (kg)				
Total birth weight	7.16	9.07	0.75	0.10
at birth weight (kg)	4.97	5.23	0.40	0.65
Type of birth (The number of lambs born)	1.50	1.80	0.22	0.35
Lamb sex	1.83	1.70	0.11	0.43
Wool (g)	1758.3	1618.0	259.83	0.71

تفاوت تولید پشم در تیمار LMP+LMRP نسبت به تیمار HMP از لحاظ عددی بیشتر ولی غیر معنی‌دار بود که با نتایج Staples *et al.* (1992) همخوانی داشت که دی ال متیونین محافظت‌شدهٔ طول پشم (۲/۱ درصد) و وزن پشم (۷/۳ درصد) را به ترتیب ۲/۱ و ۷/۳ درصد در بره میش‌های مرینوس افزایش داده بود. درصورتی‌که مپران (۰، ۴ و ۸ گرم) بر رشد پشم میش‌های رامنی بی‌تأثیر بود (Purchas *et al*., 1998).

نتایج فراسنجه‌های خونی (جدول ۳) نشان می‌دهد که افزایش پروتئین قابل سوخت‌وساز در جیرهٔ غذایی در پیش از زایش تأثیر معنی‌دار بر غلظت ترکیبات خون از جمله گلوکز، پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، کراتینین، NEFA نداشت (جدول ۳، P>۰/۰۵) که با نتایج Socha *et al.* (2008)، Yang *et al.* (1986) همخوانی داشت درصورتی‌که در بعضی از آزمایش‌ها تنها غلظت گلوکز پلاسما افزایش یافته بود (KrÖber *et al*., 2000; Ammann, 1991; Pisulewski *et al.* (1996) و Bateman *et al.* (1999) بیان کردند که نقش متیونین در گلوکونئوژنز حاصل از اسیدهای آمینه کم است ولی این اسیدآمینه با افزایش خروج چربی از کبد و جلوگیری از تجمع چربی در کبد، نقش کبد را در گلوکونئوژنز از پروپیونات در نشخوارکنندگان بهبود می‌بخشد و از این راه موجب افزایش سطح گلوکز خون می‌شود

در یک بررسی دیگر با افزایش پروتئین خام جیره از ۷/۹ به ۱۵/۷درصد، تفاوتی در غلظت گلوکز مشاهده نشد (Mcneil *et al*., 1997) که برابر با این آزمایش بود. نبود هرگونه پاسخ در غلظت گلوکز بین دو تیمار، مخالف با بررسی پیشین بود (Amanlou *et al*., 2011) که احتمال دارد به علت سطح زیاد غلظت پروتئین غیرقابل تجزیه و پروتئین خام مورداستفاده در بررسی پیشین نسبت به این بررسی باشد. با توجه به اینکه گلوکز تنها منبع انرژی رحم و جنین است، فرض بر این است که انرژی بیشتر برای سم‌زدایی آمونیاک مازاد مصرف شود که گلوکز توانایی بالقوه در این زمینه را دارد اگرچه منابع دارای پروتئین قابل سوخت‌وساز بالا، سطح قند خون را افزایش می‌دهد (Milis *et al*., 2005) بنابراین برای مقایسهٔ بهتر،

غلظت پروتئین خام در جیرهٔ پایه بایستی در نظر گرفته شود.

غلظت پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین توسط تیمارها تحت تأثیر قرار نگرفت (جدول ۳، P>۰/۰۵) و این نتیجه با بررسی‌های پیشین هماهنگ بود (Amanlou *et al*, 2011; Annett *et al*., 2008; Dawson *et al*., 1999). بااین‌حال، نشان داده شده که جیرهٔ غذایی حاوی پروتئین قابل سوخت‌وساز زیاد (۱۳۰ در مقابل ۸۵ درصد از نیاز) در سه هفتهٔ آخر آبستنی باعث افزایش پروتئین کل و آلبومین شده و تأثیری بر گلوبولین نداشت (Houdijk *et al*., 2000). آلبومین در فعالیت‌های مختلف نگهداری مانند تنظیم فشار اسمزی خون و حمل مواد مغذی و آنزیم‌ها نقش دارد (Annett *et al*., 2008). غلظت کلسترول در جیرهٔ غذایی حاوی پروتئین قابل سوخت‌وساز بالا، افزایش غیر معنی‌دار یافت، در جیرهٔ غذایی حاوی پروتئین قابل سوخت‌وساز بالا، ممکن است برای خروج بیشتر لیپوپروتئین‌ها با چگالی پایین از کبد به‌صورت افزایش سطح کلسترول پلاسما کمک کند. این مشاهده‌ها مؤید این است که تحقیقات بیشتری به‌منظور بررسی تأثیر پروتئین قابل سوخت‌وساز برای دست‌کاری ذخیرهٔ چربی در کبد صورت گیرد. افزایش غلظت کلسترول در اواخر آبستنی به انسولین مرتبط است، که انسولین نقش مستقیمی در سوخت‌وساز بافت چربی بدن در دوران آبستنی دارد و به‌طور معنی‌دار در اواخر آبستنی میش کاهش می‌یابد (Schlumbohm *et al*., 1997) بااین‌حال غلظت انسولین تفاوت معنی‌داری نداشته ولی روند تغییرات کلسترول و انسولین با هم همخوانی داشت.

فراسنجه‌های خونی مربوط به تعادل انرژی از جمله NEFA و βHBA بین تیمارها متفاوت نبود (جدول ۳، P>۰/۰۵) (Socha *et al*., 2008; Overton *et al*., 1998; Overton *et al*., 1996)، ولی روند کاهشی سوخت‌وسازگرهای یادشده با استفاده از اسیدآمینه‌های محافظت‌شده مشاهده شد که با کاهش مسمومیت آبستنی مرتبط است (Schlumbohm *e t al*., 2006; Schlumbohm *et al*., 2003) که در پی آن احتمال کاهش بیماری‌های سوخت‌وسازی ناشی از کاهش سوخت‌وساز چربی نیز وجود دارد (Pisulewski *et al*., 1996). در این آزمایش غلظت‌های اسیدهای چرب غیر استریفیه پلاسما به‌طور خطی گرایش به کاهش نشان داد که نشان‌دهندهٔ کاهش در آزاد شدن چربی یا افزایش در برداشت اسیدهای چرب غیر استریفیه (NEFA) با کبد یا بافت‌های جانبی است (Drackley *et al*., 2001). غلظت‌های سوخت‌وسازگرهای مربوط به تعادل انرژی با عرضهٔ پروتئین قابل سوخت‌وساز تغییرنیافته است که همسو با یافته‌های دیگران بود (Annett *et al*., 2008; McNeill *et al*., 1999). در مقایسه با مقادیر گزارش‌شده از NEFA و βHBA توسط McNeill *et al.* (1999)، در این بررسی مقدار پایین داده‌ها نشان می‌دهد میش‌ها در تعادل کمتر انرژی بودند. این مشاهده‌ها با توجه به بررسی‌های پیشین نشان می‌دهد که به‌احتمال‌زیاد سطح پروتئین قابل سوخت‌وساز یک عامل بسیار مهم برای تغییر وضعیت انرژی میش‌های دو قلوزا نیست.

مکمل پروتئین قابل سوخت‌وساز تأثیری بر مقادیر انسولین و شاخص حساسیت به انسولین نداشت (جدول ۳، P>۰/۰۵). به‌جز مدل هموستازیس مقاومت به انسولین (HOMA-IR) که مقدار کم آن نشان‌دهندهٔ افزایش حساسیت به انسولین است. تأثیر پروتئین قابل سوخت‌وساز در اواخر دوران آبستنی گوسفند بر شاخص حساسیت به انسولین گزارش نشده است لیکن نشان داده شده که تغذیه در پاسخ به انسولین به‌صورت شاخص کمی بررسی حساسیت به انسولین (RQUICKI) تأثیری نداشت (Schoenberg *et al*., 2012) اگرچه در بررسی دیگری کاهش پاسخ انسولین در اواخر آبستنی مشاهده شد (Patterson *et al*., 1993)، این نتایج نشان داد که سطوح انتخاب‌شدهٔ پروتئین قابل سوخت‌وساز تأثیری در شاخص حساسیت به انسولین ندارد ولی ازلحاظ عددی مقدار شاخص حساسیت به انسولین در تیمار LMP+LMRP نسبت به تیمار HMP بیشتر بود (جدول ۳) نتایج این بررسی با نتایج Metges (2001) مغایر بود که در آن کاهش مصرف پروتئین توسط میش‌های ماده در دورهٔ پایانی آبستنی منجر به اختلال در تحمل گلوکز و همچنین مقاومت به انسولین در مراحل بعدی زندگی شده بود ولی کمبود پروتئین قابل سوخت‌وساز در این آزمایش با اسیدهای آمینهٔ محافظت‌شده جبران شده بود. در این آزمایش با توجه به داده‌های

سوخت‌وسازگرهای خون هرچند که معنی‌دار نبود ولی مصرف پروتئین قابل سوخت‌وساز متعادل‌شده برای اسیدآمینه‌های ضروری در اواخر دورهٔ آبستنی میش‌ها توانسته بود سبب افزایش فرآیند گلوکونئوژنز، کاهش تجزیهٔ بافت چربی، افزایش حساسیت به انسولین شده و تولید اجسام کتونی را کاهش دهد و این امر مسمومیت آبستنی را کاهش، سامانهٔ ایمنی و شیردهی را بهبود می‌بخشد و می‌تواند بر زنده‌مانی و ایمنی بره‌ها مؤثر باشد.

سطح آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) به عنوان شاخص سلامت کبد با تغییر جیره تحت تأثیر واقع نشد (جدول ۳، P>۰/۰۵) ولی کاهش عددی در فعالیت آنزیم کبدی AST مشاهده شد که می‌تواند ناشی از سوخت‌وساز مناسب‌تر کبد میش‌های تغذیه‌شده با اسیدآمینه‌های محافظت‌شده باشد و در هر دو تیمار میش‌ها در دامنهٔ سالم قرار داشتند (Tietze *et al*., 2001).

جدول ۳. میانگین فراسنجه‌های خونی در تیمارهای آزمایشی

Table 3. The mean blood parameters in experimental treatments

Traits	LMP +LMRP	HMP	SEM	p-value
Glucose (mg/dl)	70.09	69.37	4.16	0.90
Total protein (g/dl)	7.42	6.67	0.68	0.45
Globulin (g/dl)	2.12	1.80	0.76	0.77
Albumin (g/dl)	5.30	4.87	0.29	0.32
BUN (mg/dl)	29.89	29.09	1.34	0.68
Cratinin (mg/dl)	0.9325	0.9300	0.0503	0.97
Colesterol (mg/dl)	93.09	93.25	4.79	0.98
NEFA (mmol/l)	0.50	0.71	0.18	0.44
βHBA (mmol/l)	0.58	0.68	0.21	0.76
AST (U/L)	76.00	76.25	13.46	0.99
Insulin (µIU/ml)	1.04	2.54	0.91	0.29
HOMA-IR	3.24	7.83	1.75	0.27
QUICKI	0.54	0.45	0.22	0.87
RQUICKI	0.64	0.48	0.15	0.34
RQUICKIβHB	0.75	0.52	0.10	0.51

حروف غیرمشترک انگلیسی در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح (p<۰/۰۵) است.

Means with different letters are significantly different (p < 0.05)

تعداد یاخته‌های خون از جمله گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها توسط سطح پروتئین قابل سوخت‌وساز تحت تأثیر قرار نگرفت (P>۰/۰۵) ولی در تیمار LMP+LMRP درصد ائوزینوفیل به‌طور معنی‌دار (P<۰/۰۵) و درصد مونوسیت‌ها مایل به معنی‌دار (P<۰/۱۰) کاهش یافت (جدول۴) که با نتایج Metges (2001) مغایر بود که بیان شده بود که کاهش مصرف پروتئین توسط میش‌های ماده در دورهٔ پایانی آبستنی منجر به اختلال در سامانهٔ ایمنی می‌شود درصورتی‌که کمبود پروتئین قابل سوخت‌وساز در این آزمایش با اسیدهای آمینهٔ محافظت‌شده جبران شده بود و درصد ائوزینوفیل و مونوسیت بیشتر در تیمار HMP حاکی از التهاب و تنش در دام است. پاسخ یاخته‌های خونی به تأثیر سطح پروتئین قابل سوخت‌وساز به‌طور گسترده هنوز مشخص نشده است. گزارش شده که افزایش سطح پروتئین قابل سوخت‌وساز جیرهٔ غذایی (از ۸۵ به ۱۳۰درصد از نیازها) در اواخر آبستنی تأثیر سودمندی برای افزایش ایمنی در برابر انگل‌ها دارد (Houdijk *et al*., 2000). در یک بررسی با افزایش درصد پروتئین خام مکمل جایگزین شیر در گوساله‌های شیری، تفاوتی در تعداد کل گلبول‌های سفید خون، ترکیب جمعیتی مونوسیت‌ها و سطح ایمنوگلوبولین M (IgM) مشاهده نکردند (Nonnecke *et al*., 2003). در بررسی دیگری نیز اثری از مکمل سلنیومی بر تعداد لنفوسیت‌ها در میش‌های آبستن مشاهده نشده است (Pisek *et al*., 2008) و این نتیجه حاصل شده که اگر مصرف ویتامین‌ها و دیگر ریزمغذی‌های ضروری کافی باشد مصرف شکل‌های مختلف مکمل سلنیومی،غلظت فراسنجه‌های خونی گوسفندان آبستن را به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. بنابراین، نبود تفاوت در پروتئین قابل سوخت‌وساز بالاتر ممکن است این مفهوم را بیان کند اگر مکمل لیزین و متیونین

محافظت‌شده به جیره اضافه شود۲۰ درصد کمتر از توصیهٔ NRC (2007) برای پروتئین قابل سوخت‌وساز کافی بوده و سطح بیشتر پروتئین قابل سوخت‌وساز نمی‌تواند تأثیری بر فراسنجه‌های خون داشته باشد.

جدول ۴. میانگین شاخص‌های ایمنی ذاتی پلاسمای خون در تیمارهای آزمایشی

Table 4. The mean plasma Indexes of innate immunity in experimental treatments

Traits	LMP+LMRP	HMP	SEM	p-value
White blood cells (/µl)	8064	9438	874	0.28
Red blood cells (106/µl)	14.15	12.00	2.21	0.50
Neutrophil segmented (%)	42.45	48.12	3.71	0.30
Lymphocyte (%)	55.91	50.37	3.74	0.31
Monoocyte (%)	0.27	0.75	0.19	0.09
Eosinophil (%)	1.36 [b]	1.50 [a]	0.28	0.04
Hemoglobin (g/dl)	14.15	12.00	2.21	0.50
Hematocrit (%)	33.56	35.44	0.96	0.93
Platelets (105/µl)	4.20	3.83	0.24	0.29

حروف غیرمشترک انگلیسی در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح (p<۰/۰۵) است.

Means with different letters are significantly different (p<0.05)

نتایج تولید و ترکیبات شیر برای هر دو تیمار در جدول ۵ ارائه شده است. تولید آغوز در هر دو گروه تفاوت معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). الگوی همسانی برای ترکیبات و تولید شیر مشاهده شد (P>۰/۰۵). Nicols *et al.*, 1997; Bateman *et al.*, 1999;) (Leonardi *et al.*, 2003 در آزمایش‌های Pisulewski *et al.* (1996) و Bateman *et al.* (1999) افزودن متیونین محافظت‌شده اثر معنی‌داری بر تولید و ترکیبات شیر گاوها نداشت هرچند که افزایش عددی در تولید شیر داشتند پس در تغذیه پروتئین محافظت‌شده در جیره‌های با درصد پروتئین بالا در جیره به علت نبود محدودیت در اسیدهای آمینهٔ محدودکننده، تأثیر معنی‌داری روی تولید شیر نداشت، درصورتی‌که در دیگر آزمایش‌ها موجب افزایش تولید و یا ترکیبات شیر شده بود (Robinson *et al.*, 1998; Armentano *et al.*,1997; Lara *et al.*, 2006; Johnson *et al.*, 1999). مقدار آغوز تحت تأثیر تیمارها واقع نشد که برابر با پژوهش‌های دیگران که از سطوح مختلف پروتئین قابل سوخت‌وساز و مکمل پروتئینی غیرقابل تجزیهٔ قابل‌هضم استفاده شده بود، است (Annett *et al.*, 2008; Dawson *et al.*, 1999; Van Emon *et al.*, 2014). با این‌حال بررسی دیگری نشان داد که عرضهٔ جیرهٔ غذایی با پروتئین بالا در اواخر آبستنی میش، باعث کاهش تولید آغوز شد (Ocak *et al.*, 2005). بررسی پیشین (Amanlou *et al.*, 2011) گرایش برای تولید آغوز بالاتر را نشان داد که به‌احتمال به خاطر سطح بالاتر پروتئین غیرقابل تجزیهٔ قابل‌هضم (DUP)[1] و پروتئین خام در مقایسه با نتایج این بررسی بود. این اختلاف نشان می‌دهد که نوع منبع پروتئین مورداستفاده از لحاظ پروتئین غیرقابل تجزیهٔ شکمبه‌ای (RUP)[2] یا پروتئین قابل‌تجزیهٔ شکمبه‌ای (RDP)[3]، برای افزایش پروتئین خام در جیرهٔ پیش از زایش، تأثیر متفاوتی بر میش خواهد داشت. آغاز تولید آغوز و ترشح شیر توسط تعدادی از هورمون‌های حساس به مواد مغذی از جمله پروژسترون، پرولاکتین و گلوکوکورتیکوئیدها کنترل می‌شود (DeLouis *et al.*, 1980). در یک بررسی از پروتئین کنجالهٔ سویا در اواخر آبستنی به‌منظور کاهش پروژسترون سرم در روزهای ۱۴۲ آبستنی و یک ساعت پس از زایش استفاده شد که منجر به افزایش تولید آغوز شد (O'Doherty & Crosby 1996) که این موافق با نتایج این تحقیق است، اما از ارزش کمی برخوردار است زیرا تأثیر مکمل پروتئین در میش‌های دارای سوءتغذیه بررسی شده بود. گزارش شده که افزایش غلظت پروتئین خام جیره یا افزایش سطح DUP با سطح ثابت پروتئین خام جیره، تأثیری بر غلظت پروتئین خام آغوز ندارد (Annett *et al.*, 2005; Hatfield *et al.*, 1995). در این آزمایش ترکیب شیر و اجزای آن تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار

1. Digestible Undegradable Protein e (DUP)
2. Rumen Undegradable Protein e (RUP)
3. Rumen Degradable Protein e (RDP)

نگرفت که همسو با نتایج دیگران بود (Annett *et al*., 2008; Dawson *et al*., 1999) و به نظر می‌رسد که ترکیب شیر به سادگی با دست‌کاری پروتئین خام جیرهٔ غذایی هنگامی‌که پروتئین خام بین ۹تا ۱۲ درصد است تغییر نمی‌کند (Amanlou *et al*., 2011). در پژوهش Robinson (1985) افزایش اسیدآمینه‌ها در جیره، سبب افزایش تولید پروتئین شیر و چربی شیر شد. ولی در سطح مصرفی این بررسی چنین اثری مشاهده نشد.

جدول ۵. میانگین صفات تولید و ترکیبات آغوز و شیر تیمارهای آزمایشی

Table 5. Mean treats of colostrum and milk production and composition in Treatments

Traits	LMP+ LMRP	HMP	SEM	p-value
Colostrum yield (g/d)	446.00	602.80	90.01	0.27
Milk (Kg/d)	1.22	1.37	0.22	0.50
Composition milk (%)				
Protein	6.18	6.07	0.44	0.80
Fat	3.41	3.02	0.46	0.41
Solids non fat	11.70	10.79	1.03	0.39
Lactose	4.59	4.77	0.13	0.18

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد که استفاده از سطح کمتر پروتئین قابل سوخت‌وساز توصیهٔ NRC (2007) همراه با لیزین و متیونین محافظت‌شدهٔ شکمبه‌ای در جیرهٔ غذایی میش‌های آبستن، تأثیر نامطلوبی بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی، تولید آغوز و شیر و وضعیت سلامتی میش‌ها نداشته و از لحاظ اقتصادی به علت کاهش مادهٔ خشک مصرفی و قیمت جیرهٔ مصرفی روزانه قابل توصیه است.

سپاسگزاری

از مساعدت سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی وزارت جهاد کشاورزی در تأمین بخشی از هزینهٔ اجرای پروژهٔ تحقیقاتی، جناب آقای دکتر دهقان بنادکی در تهیه و تأمین اسیدآمینه‌های محافظت‌شده و همچنین از جناب آقای دکتر عظیمی ریاست محترم دانشکدهٔ کشاورزی و مسئول محترم مزرعهٔ آموزشی و تحقیقاتی پرورش گوسفند دانشگاه زنجان برای ایجاد بستر تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Abdelrahman, M. M. & Hunaiti, D. A. (2007). The effect of dietary yeast and protected methionine on performance and trace minerals status of growing Awassi lambs. *Journal of Livestock Science*, 115, 235-241.
2. Ali, C.S., Din, I., Sharif, M., Nisa, M., Javaid, A., Hashmi, N. & Sarwar, M. (2009). Supplementation of ruminally protected proteins and amino acids: feed consumption, digestion and performance of cattle and sheep. *Internatinal Journal of Agriculture Biology*, 11, 477-482.
3. Amanlou, H., Karimi, A., Mahjoubi, E. & Milis, C. (2011). Effects of supplementation with digestible undegradable protein in late pregnancy on ewe colostrum production and lamb output to weaning. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 95, 616-622.
4. Ammann, H. M. (1991). Influence of protected fat and protected protein given separately or together on physiology of digestion in the rumen, abomasum and feces of sheep. Institute Fur Tierernahrung, TierarzticheHochschule Hannover, Germany.
5. Annett, R. W., Carson, A. F. & Dawson, L. E. R. (2008). Effects of digestible undegradable protein (DUP) supply and fish oil supplementation of ewes during late pregnancy on colostrums production and lamb output. *Animal Feed Science and Technology*, 146, 270-288.
6. Annett, R.W., Carson, A.F. & Dawson, L. E. R. (2005). The effect of digestible undegradable protein (DUP) content of concentrates on colostrum production and lamb performance of triplet-bearing ewes on grass-based diets during late pregnancy. *Animal Science*, 80, 101-110.
7. Armentano, L.E., Bertics, S.J. & Ducharme, G. A. (1997). Response of lactating cows to methionine or methionine plus lysine added to high protein diets based on alfalfa and heated soybeans. *Journal of Dairy Science*, 80, 1194-1199.
8. Bateman, H.G., Spain, J.N., Kerly, M.S., Belyea, R.L. & Marshall, R.T. (1999). Evaluation of ruminally protected methionine and lysine or blood meal and fishmeal as protein sources for lactating Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 82, 2115–2120.
9. Benefield, B.C., Patton, R.A., Stevenson, M.J. & Overton, T.R. (2009). Evaluation of rumen protected methionine sources and period length on performance of lactating dairy cows within Latin squares. *Journal of Dairy Science*, 92, 4448-4455.

10. Benefield, B.C., Patton, R.A., Stevenson, M.J. & Overton, T.R. (2006). Evaluation of rumen-protected methionine (RP-Met) sources and period length on performance of lactating dairy cows within Latin squares. *Journal of Dairy Science*, 89 (Suppl. 1).
11. Bobe, G., Young, J. W. & Beitz, D. C. (2004). Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 3105-3124.
12. Broderick, G. A. & Reynal, S. M. (2009). Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 2822-2834.
13. Broderick, G.A., Stevenson, M.J., Patton, R.A., Lobos, N.E. & 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.
14. Broderick, G. A. (2006). Nutritional strategies to reduce crude protein in dairy diets, *21st Annual Southwest Nutrition & Management*, Conference February 23-24.
15. Brosnan, J. T. & Brosnan M. E. (2006). The Sulfur-Containing Amino Acids: An Overview. *The Journal of Nutrition*, 136, 1636S-1640S.
16. Cannas, A., Tedeschi, L. O., Fox, D. G., Pell, A.N. & Van Soest, P.J. (2004). A mechanistic model to predict nutrient requirements and feed biological values for sheep. *Journal of Animal Science*, 82, 149-169.
17. Cho, J., Overton, T. R., Schwab, C. G. & Tauer, L. W. (2007). Determining the amount of rumen-protected methionine supplement that corresponds to the optimal levels of methionine in metabolizable protein for maximizing milk protein production and profit on dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 90, 4908-4916.
18. Christenson, R. K. & Prior, R. L. (1976). Influence of dietary protein and energy on reproductive performance and nitrogen metabolism in Finn cross ewes. *Journal of Animal Science*, 43, 1104-1113.
19. Davidson, S., Hopkins, B.A., Odle, J., Brownie, C., Fellner, V. & Whitlow, L.W. (2008). Supplementing limited methionine diets with rumen-protected methionine, betaine, and choline in early lactation Holstein cows. *Journal of Dairy Science***,** 91, 1552-1559.
20. Davidson, S., Hopkins, B. A., Diaz, D. A., Bolt, S. M., Brwnie, C., Fellner, V. & Witlow, L. W. (2003). Effect of Amount and Degradability of Dietary Protein on Lactation, Nitrogen Utilization, and Excretionin Early Lactation Holstein Cows. . *Journal of Dairy Science***,** 86, 1681-1689.
21. Dawson, L. E. R., Carson, A. F. & Kilpatrick, D. J. (1999). The effect of digestible undegradable protein concentration of concentrates and protein source offered to ewes in late pregnancy on colostrum production and lamb performance. *Animal Feed Science and Technology*, 82, 21-36.
22. DeLouis, C., Djiane, J., Houdebine, L. M. & Terqui, M. (1980). Relation between hormones and mammary gland function. *Journal of Dairy Science***,** 63, 1492-1513.
23. DePeters, E. J. & Cant, J. P. (1992). Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: A review. *Journal of Dairy Science*, 75, 2043-2070.
24. Doepel, L., Pacheco, D., Kennelly, J. J., Hanigan, M. D., Lopez, I. F. & Lapierre, H. (2004). Milk protein synthesis as a function of amino acid supply. *Journal of Dairy Science*, 87, 1279-1297.
25. Drackley, J. K., Overton, T. R. & Douglas, N. (2001). Adaptations of glucose and long chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *Journal dairy science*, 84(E. Suppl.) E 100-E112.
26. Fenderson, C. L. & Bergen, W. G. (1975). An assessment of essential amino acid. *Journal of Animal Science*, pp: 12.
27. Girard, C. L., Lapierre, H., Matte, J. J. & Lobley, G. E. (2004). Effects of dietary supplements of folic acid and rumen-protected methionine on lactational performance and folate metabolism of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88, 660-670.
28. Graulet, B., Richard, C. & Robert, J. C. (2005). Methionine Availability in Plasma of Dairy Cows 230 Supplemented with Methionine Hydroxy Analog Isopropyl Ester. *Journal of Dairy Science*, 88, 3640-3649.
29. Holter, J. B., Byrne, J. A. & Schwab, C. G. (1982). Crude Protein for High Milk Production. *Journal of Dairy Science*, 65, 1175-1188.
30. Hatfield, P. G., Snowder, G. D., Head, J. W. A., Glimp, H. A., Stobart, R. H. & Besser, T. (1995). Production by ewes rearing single or twin lambs: effects of dietary crude protein percentage and supplemental zinc methionine. *Journal of Animal Science*, 73, 1227-1238.
31. Henze, P., Bickhardt, K., Fuhrmann, H. & Sallmann, H. P. (1998). Spontaneous pregnancy toxemia (ketosis) in sheep and the role of insulin. *Journal of Veterinary Medicine*, 45, 255-266.
32. Houdijk, J. G. M., Kyriazakis, I., Jackson, F., Huntley, J. F. & Coop, R. L. (2000). Can an increased intake of metabolizable protein affect the periparturient relaxation in immunity against Teladorsagia circumcincta in sheep? *Veterinary parasitology*, 91, 43-62.

33. Illg, D. J., Sommerfeldt, J. L. & Schingoethe, D. J. (1987). Lactational and systemic responses to the supplementation of protected methionine in soybean meal diets. *Journal of Dairy Science*, 70, 620-629.
34. Johnson, H. E., Whitehouse, N. L., Garthwaite, B. D., Piepenbrink, M. S. & Schwab, C. G. (1999). Supplementation of corn and barley-based diets of late gestation and early lactation cows with liquid methioninehydroxy analog. *Journal of Dairy Science*, 82(Suppl. 1), 65.
35. Koenig, K. M., Rode, L. M., Knight, C. D. & Vasquez-anon, M. (2002). Rumen degradation and availability of various amounts of liquid methionine hydroxyl analog in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 930-938.
36. KrÖber, T. F., Kreuzer, M., Senn, M., Langhans, W. & Sutter, F. (2000). Effect of rumen-protected methionine in a low protein ration on metabolic traits and performance of early lactating cows as opposed to rations with elevated crude protein content. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutriti*, 8, 148-164.
37. Lara, A., Mendoza, G., Landois, L., Barcena, R., Sánchez-Torres, M., Rojo, R., Ayala, J. & Vega, S. (2006). Milk production in Holstein cows supplemented with different levels of ruminally protected methionine. *Livestock Science*, 105, 105-108.
38. Leonardi, C., Stevenson, M. & Armentano, L. E. (2003). Effect of two levels of crude protein and methionine supplementation on performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 4033-4042.
39. McMurray, C. H., Blanchflower, W. J. & Rice, D. A. (1984). Automated kinetic method for D-hydroxybutyrate in plasma or serum. *Clinical chemistry*, 30, 421-425.
40. Mcneil, D. M., Sepetis, R., Ehrhardt, R. A., Smith, D. M. & Bell, A. W. (1997). Protein requirement of sheep in late pregnancy: partitioning of nitrogen between gravid uterus and maternal tissues. *Journal of Animal Science*, 75, 809-816.
41. McNeill, T. H., Mori, N. & Cheng, H. W. (1999). Differential regulation of the growth-associated proteins, GAP-43 and SCG-10, in response to unilateral cortical ablation in adult rats. *Neuroscience*, 90, 1349-1360.
42. Metges, C. C. (2001). Does dietary protein in early life affect the development of adiposity in mammals? *Journal Nutrtion*, 131, 2062-2066.
43. Milis, C. h., Liamadis, D., Roubies, N., Christodoulou, V. & Giouseljiannis, A. (2005). Comparison of corn gluten products and a soybean-bran mixture as sources of protein for lactating Chios ewes. *Small Ruminant Research*, 58, 237-244.
44. Mousavi, S. S., Amanlou, H., Nikkhah, A., Mirzaei Alamouti, H. R. & Tehrani, A. M. (2012). Effect of different levels balanced metabolizable protein for essential amino acids in late gestation on milk production and health status Afshari ewes. Report Research Project Agriculture Natural Resources Research and Education Center of Zanjan.
45. Muniyappa, R., Lee, S. & Chen, H. (2008). Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism*, 294(1), E15-26.
46. National Research Council. (2007). *Nutrient Requirement of sheep*. Sixth rev. ed. Nati. Acad. Sci. Washington DC.
47. Nathalie, L. F., Delphine, M. & Christiane, O. (2004). Modifications of protein and amino acid metabolism during inflammation and immune system activation. *Livestock Production Science*, 87, 37-45.
48. Nicols, J. R., Schingoethe, D. J., Moiga, H. A., Brouk, M. J. & Piepenbrink, M. S. (1997). Evaluation of corn distillers' grains and ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy caws. *Journal of Dairy Science*, 81, 482-491.
49. Nonnecke, B.J., Foote, M.R., Smith, J.M., Pesch, B.A. & Van Amburgh, M.E. (2003). Composition and functional capacity of blood mononuclear leukocyte populations from neonatal calves on standard and intensified milk replacer diets. *Journal of Dairy Science*, 86, 3592-3604.
50. Ocak, N., Cam, M.A. & Kuran, M. (2005). The effect of high dietary protein levels during late gestation on colostrum yield and lamb survival rate in singleton–bearing ewes. *Small Ruminant Research*, 56, 89-94.
51. O'Doherty, J.V. & Crosby, T.F. (1997). The Effect of diet in late pregnancy on colostrum production and immunoglobulin absorption in sheep. *Journal of Animal Science*, 64, 87.
52. .O'Doherty, J.V. & Crosby, T.F. (1996). The effect of diet in late pregnancy on progesterone concentration and colostrum yield in ewes. *Theriogenology*, 46, 233-241.
53. Overton, T.R. (1999). Energy nutrition of transition dairy cows. *Animal Science*, Mimeograph series. No. 201.
54. Overton, T. R., Emmert, L. S. & Clark, J. H. (1998). Effects of source of carbohydrate and protein and rumen-protected methionine on performance of cows. *Journal of Dairy Science*, 81, 221-228.

55. Overton, T. R., LaCount, D. W., Cicela, T. M. & Clark, J. H. (1996). Evaluation of a ruminally protected methionine product for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 79, 631-638.
56. Patterson, M. C., Di Bisceglie, A. M., Higgins, J. J., Abel, R. B., Schiffmann, R., Parker, C. C., Argoff, C. E., Grewal, R. P., Yu, K. & Pentchev, P. G. (1993). The effect of cholesterol-lowering agents on hepatic and plasma cholesterol in Niemann-Pick disease type C. *Neurology*, 43, 61-4.
57. Piepenbrink, M. S., Overton, T. R. & Clark, J. H. (1996). Response of cows fed a low crude protein diet to ruminally protected methionine and lysine. *Journal of Dairy Science*, 79, 1638-1646.
58. Pisek, L., Travnicek, J., Salat, J., Kroupova, V. & Soch, M. (2008). Changes in white blood cells in sheep blood during selenium supplementation. *Veterinarni Medicina***.** 53, 255–259.
59. Pisulewski, P. M., Rulquin, H., Peyraud, J. L. & Verite, R. (1996). Lactational and systemic responses of dairy cows to postruminal infusions of increasing amounts of methionine. *Journal of Dairy Science*, 79, 1781-1791.
60. Powell, J. M., Broderick, G. A. & Misselbrook, T. H. (2008). Seasonal diet affects ammonia emissions from tie-stall dairy barns. *Journal of Dairy Science*, 91, 857-869.
61. Purchas, B. J., Waghorn, G. C. & Wickham G. A. (1998). Effect of pasture supplemented with methionine on wool growth and selected growth parameters. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Volume 58, pp 189-191.
62. Purroy, A. & Jaime, C. (1995). The response of lactating and dry ewes to energy intake and protein source in the diet. *Small Ruminant Research*, 17, 17-24.
63. Richardson, C. R. & Hatfield, E. E. (1978). The limiting amino acids in growing cattle. *Journal of Dairy Science*, 46, 740-745.
64. Robinson, P.H. (1996). Rumen protected amino acids for dairy cattle: what is the future? In: Blair, R. (Ed.), Proceedings of the North American Nutrition Conferences III; *Animal Feed Science Technology*, 89, 51-56.
65. Robinson, J. J. (1985). Nutritional requirement of the pregnant and lactating ewe. In: land, R. B., Robinson, O. W. (Eds), *Genetics of Reproduction in sheep*, Butterworths, London. Pp, 361-371.
66. Robinson, P. H., Chalupa, W., Sniffen, C. J., Julien, W. E., Sato, H., Watanabe, K., Fujieda, T. & Suzuki, H. (1998). Ruminally protected lysine or lysine and methionine for lactating dairy cows fed a ration designed to meet requirements for microbial and postruminal protein. *Journal of Dairy Science*, 81, 1364-1373.
67. Rulquin, H. & Delaby, L. (1997). Effects of the energy balance of dairy cows on lactation responses to rumen-protected methionine. *Journal of Dairy Science*, 80, 2513-2522.
68. Sargison, N. D. (2007). Pregnancy toxemia. In: *Diseases of Sheep*. I. D. Aitken, ed. Blackwell Publishing, Oxford, UK. Pp, 359-362.
69. SAS. (2004). Users Guids version 9.1: statistics. SAS Institute, Cary, NC.
70. Schlumbohm, C. & Harmeyer, J. (2006). Pregnancy impairs ketone body disposal in late gestating ewes: Implications for onset of pregnancy toxaemia. *Research in veterinary Science***,** 81, 254-264.
71. Schlumbohm, C. & Harmayer, J. (2003). Hypocalcemia reduces endogenous glucose production in Hyperketonemic sheep. *Journal of Dairy Science*, 86, 1953-1962.
72. Schlumbohm, C., Sporleder, H. P., Gurtler, H. & Harmeyer, J. (1997). The influence of insulin on metabolism of glucose, free fatty acids and glycerol in normo- and hypocalcaemic ewes during different reproductive stages. *Deutsche Tierarztliche Wochenschrift*, 104, 359-365.
73. Schoenberg, K.M., Ehrhardt, R.M. & Overton, T.R. (2012). Effects of plane of nutrition and feed deprivation on insulin responses in dairy cattle during late gestation. *Journal of Dairy Science*, 95, 670-682.
74. Schwab, C. G. Boucher, S. E. & Sloan, B. K. (2007). Metabolizable protein and amino acid nutrition of the cow. *Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*, Pages 121-138.
75. Schwab, C. G., Ordway, R. S. & Whitehouse, N. L. (2004). Amino acid balancing in the context of MP and RUP requirements. *15th Annual Florida ruminant nutrition symposium*, pp. 10-25.
76. Schwab, C. G. & Ordway, R. S. (2003). Methionine supplementation options. Department of animal and nutritional science. University of New Hampshire.
77. Schwab, C. G., Bozak, C. K., Whitehouse, N. L. & Messbah, M. M. A. (1992). Amino acid limitation and Qow to duodenum at four stages of lactation. 1. Sequences of lysine and methionine limitation. *Journal of Dairy Science*, 75, 3486-3502.
78. Sejrsen, K., Hvelplund, T. & Nielson, M. O. (2006). *Ruminant physiology*.Wageningen Academic Publishing.
79. Socha, M. T., Schwab, C. G., Putnam, D. E., Whitehouse, N. L., Garthwaite, B. D. & Ducharme, G. A. (2008). Extent of methionine limitation in peak-, early-, and mid-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91, 1996-2010.

80. Staples, L. D., Mcphee, S. R., Williams, A. H. & Johnson, R. J. (1992). Rumen protected DL-methionine stimulates wool and body growth in grain supplemented Merino ewe lambs on summer pasture. Proc. Nutr. Soc. Aust 17.
81. Tietze, M., Gruszecki, T., Lipecka, C., Szymanowska, A., Markiewicz, J. & Bryl, M. (2001). Level of selected biochemical indices in blood serum and health state of mainmary glands in sheep under different environment Systems. *Arch. Tierz*., Dummerstorf 44, Special Issue, 219-223.
82. Van Emon, M.L., Schauer, C. S., Lekatz, L. A., Eckerman, S. R., Maddock, C. K. & Vonnahme, K. A. (2014). Supplementing metabolizable protein to ewes during late gestation: I. Effects on ewe performance and offspring performance from birth to weaning. *Journal of Animal Science*, 92, 339-348.
83. 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.
84. Yang, C. M. J., Schingoethe, D. J. & Casper, D. P. (1986). Protected Methionine and Heat-Treated Soybean Meal for High Producing Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 69, 2348-2357.

Iranian Journal of Animal Science, Vol. 47, No. 1, Spring 2016

Effect of reducing metabolizable protein with added rumen-protected lysine and methionine on the performance of the pregnant Afshari ewes

Seyyed Saeid Mousavi[1*], Hamid Amanlou[2], Ali Nikkhah[3], Ali Moustafa Tehrani[4] and Hamid Reza Mirzaei Alamouti[5]

1, 2, 5. Ph.D. Student, Professor and Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

3. Professor, Department of Animal Science, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

4. Assistant Professor, Department of Nutrition and Physiology, Animal Science Research Institute, Karaj, Iran

(Received: Oct. 18, 2015 - Accepted: Dec. 27, 2015)

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of reducing metabolizable protein with rumen-protected Lysine and Methionine in diet during the last 5 weeks of gestation on performance and blood parameters of Afshari ewes and lambs. Twenty five mature (once lambing) ewes in a Unbalanced complete randomized design fed with diets containing low metabolizable protein but containing rumen-protected lysine and methionine (LMP + LMRP) and high (HMP), respectively, 20 percent less than and equal to recommendations of NRC (2007), The results showed no difference between the treatments regarding dry matter intake, body weight of ewes at the end of gestation, body weight changes from start of the experiment until the birth, body weight after lambing and 20 days post lambing ($p>0.05$). Decline changes in Body weight at lambing was increased in the HMP group rather than LMP+LMRP group and the difference was tend to significant ($p<0.10$), Which was correlated with total birth weight. Colostrum and milk amount and milk composition were not affected by the treatments, but a tendency to milk yield increasing was observed at HMP comparing to LMP + LMRP. The blood metabolites were not affected by the decreaseing metabolizable protein. Eosinofil and Monocite of plasma were higher in HMP, but No significant difference was observed on the numbers of white blood cells, red blood cells and other blood cells between the treatments. In general, decreasing the level of MP less than NRC (2007) recommendation before lambing of Afshari ewes did not affect the performance of ewes.

Keywords: Amino acid, gestation, immune, metabolizable protein, sheep.

* Corresponding author E-mail: ssmzanjani@yahoo.com; ssmousavi@znu.ac.ir Tel: +98 912 8412316