

## بررسی تأثیر جیره‌ای بتائین و تزریق ویتامین B<sub>12</sub> در دوره انتقال بر الگوی اسیدهای چرب شیر در گاوهای شیری هلستاین

علی گوهردوست<sup>۱</sup>، آرش آذرفر<sup>۲\*</sup>، علی کیانی<sup>۳</sup> و امیر فدایی<sup>۴</sup>

۱، ۲ و ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۰)

### چکیده

به منظور بررسی تأثیر افزودن جیره‌ای بتائین و تزریق ویتامین B<sub>12</sub> در دوره انتقال بر الگوی اسیدهای چرب شیر از ۳۲ رأس گاو شیری هلستاین استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد یا CC (بدون افزودنی)، تیمار دوم یا CB (افزودن ۵۰ گرم بتائین حفاظت نشده در هر روز به ازای هر رأس دام)، تیمار سوم یا BC (تزریق ده روز یکبار ۵ میلی‌گرم ویتامین B<sub>12</sub>) و تیمار چهارم یا BB (افزودن ۵۰ گرم بتائین حفاظت نشده و تزریق ده روز یکبار ۵ میلی‌گرم ویتامین B<sub>12</sub>) بودند. نتایج نشان داد، تیمار BC و BB در مقایسه با تیمار CC و تیمار CB سبب افزایش ساخت (ستتز) دنوی اسیدهای چرب در غده پستانی و درصد اسیدهای چرب اشباع شیر شد (P<۰/۰۵). تیمارهای آزمایشی بر مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه و درصد اسید چرب C14:1، C16:1، C18:1n9t و C20:1 تأثیری نداشتند (P>۰/۰۵). میزان اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه در گاوهای دریافت‌کننده تیمار CB بالاتر از گاوهای BC و BB (P<۰/۰۵)، اما همسان با گاوهای گروه CC بود. تیمارهای آزمایشی تأثیری بر درصد چربی شیر و غلظت گلوکز پلاسما نداشتند (P<۰/۰۵). بنابراین تزریق درون عضلانی ویتامین B<sub>12</sub> در دوره انتقال برای افزایش ساخت دنوی اسیدهای چرب شیر در گاوهای شیری توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: الگوی اسیدهای چرب شیر، بتائین، گاوهای دوره انتقال، ویتامین B<sub>12</sub>.

## Effect of dietary betaine supplementation and vitamin B<sub>12</sub> injection during the transition period on fatty acids profile of milk in Holstein dairy cows

Ali Gohardust<sup>1</sup>, Arash Azarfar<sup>2\*</sup>, Ali Kiani<sup>2</sup> and Amir Fadayifar<sup>3</sup>

1, 2, 3, 4. M.Sc. Student, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Iran

(Received: Oct. 23, 2017 - Accepted: Dec. 31, 2017)

### ABSTRACT

To investigate effects of dietary supplementation with betaine and injection of vitamin B<sub>12</sub> during the transition period on profile of milk fatty acids, 32 Holstein dairy cows were used. Experimental treatments included control (a basal diet without any supplementation; CC), CB (supplementing with 50 g of rumen unprotected betaine per day per head during the transition period), BC (injection of 0.5 mg vitamin B<sub>12</sub> in a 10-days interval) and CC (supplementing with 50 g of unprotected betaine per day per head plus injection of 0.5 mg vitamin B<sub>12</sub> in a 10-days interval). The CB and BB significantly increased *denovo* synthesis of fatty acids in mammary gland and milk fat concentration of saturated fatty acids (P<0.05). Experimental treatments had no effect on milk fat concentration of total mono-unsaturated fatty acids, C14: 1, C16: 1, C18: 1n9t, C18:1n9c and C20:1 (P> 0.05). Milk fat concentration of polyunsaturated fatty acids was higher in cows received CB than in BC and BB cows, but similar to CC cows. Experimental treatments had no effect on percentage of milk fat and plasma concentration of glucose (P>0.05). In conclusion, to increase *denovo* synthesis of fatty acids in mammary glands intramuscular injection of vitamin B<sub>12</sub> in transition cows is recommended.

**Keywords:** Betaine, milk fatty acid, transition dairy cow, vitamin B<sub>12</sub>.

\* Corresponding author E-mail: Arash.azarfar@gmail.com

### مقدمه

چربی، بخش مهم انرژی شیر بوده و مسئول بسیاری از ویژگی‌های فیزیکی، تولیدی و کیفیت شیر و فرآورده‌های آن است. ترکیب اسیدهای چرب شیر برآیندی از سوخت‌وساز (متابولیسم) شکمبه آبکافت (هیدرولیز، همپارسازی یا ایزومریزاسیون و زیست هیدروژنه شدن یا بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب) و سوخت‌وساز بافت‌های بدن (آزاد شدن اسیدهای چرب از بافت چربی) است (Dijkstra et al., 1993). در حدود ۵۰ درصد از کل اسیدهای چرب شیر از پیش سازهای دو کربنه (استات) و چهار کربنه (بتا هیدروکسی بوتیرات) و از ساخت (سنتز) دنوو در یاخته‌های غده پستان ساخته می‌شوند (Knapp et al., 1991). اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (۴ تا ۸ اتم کربن)، متوسط زنجیر (۱۰ تا ۱۴ اتم کربن) و نیمی از اسید پالمیتیک (۱۶:۰) از طریق ساخت دنوو در بافت پستان شکل می‌گیرند (Knapp et al., 1991). دیگر اسیدهای چرب شیر به‌طور مستقیم و بدون تغییر برای ساخت تری گلیسیریدهای شیر استفاده می‌شوند و از لیپوپروتئین‌ها و اسیدهای چرب غیر استریفیه خون منشأ می‌گیرند (Knapp et al., 1991). اسیدهای چرب جذب‌شده از دستگاه گوارش و اسیدهای چرب آزادشده از بافت‌های چربی به ترتیب حدود ۸۰ و ۲۰ درصد از کل اسیدهای چرب خون را تشکیل می‌دهند. در سال‌های گذشته تلاش‌های زیادی برای تغییر الگوی اسیدهای چرب شیر از طریق تغذیه انجام پذیرفته است. نتایج برخی بررسی‌ها نشان داده است، افزودن بتائین به جیره بز یا گاوهای شیری سبب تغییر در الگوی اسیدهای چرب شیر می‌شود. در آزمایشی گزارش شد که افزودن بتائین به جیره بزهای شیرده تأثیری بر درصد مجموع اسیدهای چرب اشباع و درصد مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه نداشت، ولی به‌طور معنی‌داری سبب افزایش درصد مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه شد (Fernandez et al., 2004). در آزمایش دیگری، با افزودن بتائین به جیره بزهای شیرده افزایش معنی‌داری در درصد مجموع اسیدهای چرب اشباع شیر گزارش کردند، اما تغییری در درصد

مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه و درصد مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه مشاهده نکردند (Fernandez et al., 2004). در نتایج آزمایشی دیگر مشاهده شد، افزودن بتائین به جیره بزهای شیرده تأثیری بر درصد مجموع اسیدهای چرب اشباع و درصد مجموع اسیدهای غیراشباع با چند پیوند دوگانه نداشت (Fernandez et al., 2009). در پژوهشی نشان داده شد، افزودن بتائین محافظت‌نشده شکمبه‌ای در سطوح (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم در روز) به جیره گاوهای شیری در اواسط شیردهی به‌طور معنی‌داری درصد مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه را کاهش داد، اما تأثیری بر درصد مجموع اسیدهای چرب اشباع، ساخت دنوو اسیدهای چرب و درصد مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه شیر نداشت (Peterson et al., 2012). درزمینه افزودن بتائین به جیره دوره انتقال و تأثیر آن بر الگوی اسید چرب شیر بررسی یافت نشد، اما در آزمایشی در رابطه با تأثیر افزودن بتائین به جیره گاوهای شیری در دوره انتقال نشان داده شد که گاوهای گروه دریافت‌کننده بتائین، تولید شیر و درصد چربی شیر بالاتری در مقایسه با گاوهای گروه شاهد داشتند (Monteiro et al., 2016). همچنین این محققان در نتایج بررسی‌های خود نشان دادند، بتائین تأثیر مثبتی بر آزادسازی اسیدهای چرب از بافت چربی داشت به‌طوری‌که در مقایسه با گروه شاهد، گاوهای دریافت‌کننده بتائین غلظت پلاسمایی بالاتری از اسیدهای چرب غیر استریفیه و بتا هیدروکسی بوتیرات در اوایل دوره شیردهی داشتند، که این موضوع درزمینه تقاضای بالای انرژی در این زمان مطلوب بوده و سبب افزایش انرژی قابل دسترس برای تولید شیر می‌شود (Monteiro et al., 2016). با توجه به تأثیر لیپوتروپیک بتائین به‌ویژه در اوایل شیردهی (Monteiro et al., 2016)، مکمل‌سازی جیره گاوهای شیری با این ماده در دوره انتقال ممکن است الگوی اسیدهای چرب شیر را تغییر دهد، که یکی از هدف‌های این پژوهش بررسی این موضوع است. هدف دیگر بررسی تزریق ویتامین B<sub>۱۲</sub> در دوره انتقال و اوایل شیردهی گاوهای شیری است و تأثیر

شهرکرد وابسته به بنیاد مستضعفان انجام گرفت. در این آزمایش، ۳۲ رأس گاو شیری هلشتاین چند شکم با میانگین وزن  $68 \pm 8.3$  کیلوگرم، میانگین امتیاز وضعیت بدنی  $3/9$ ، میانگین تولید شیر ۴۲ کیلوگرم بر پایه رکورد شیرواری پیشین (۲۱ تا ۶۰ روز پس از زایش) و میانگین شکم زایش چهار انتخاب شده و در چهار گروه هشت رأسی تقسیم شده و از روز ۲۱- پیش از زمان مورد انتظار گوساله‌زایی وارد آزمایش شدند. گاوها به‌طور تصادفی از روز ۲۱ پیش از زمان گوساله‌زایی مورد انتظار به چهار گروه آزمایشی شامل تیمار شاهد یا CC (بدون افزودنی)، تیمار دوم یا CB (افزودن ۵۰ گرم بتائین حفاظت‌نشده در هر روز به ازای هر رأس دام)، تیمار سوم یا BC (تزریق ده روز یک‌بار ۵ میلی‌گرم ویتامین B<sub>۱۲</sub>) و تیمار چهارم یا BB (افزودن ۵۰ گرم بتائین حفاظت‌نشده و تزریق ده روز یک‌بار ۵ میلی‌گرم ویتامین B<sub>۱۲</sub>) بود. گاوها در سالنی سرپوشیده و در چهار جایگاه با آخور و آب‌خوری مجزا تقسیم شدند. ویتامین B<sub>۱۲</sub> در روزهای ۲۱-، ۱۱-، ۱-، ۹-، ۱۹-، ۲۹-، ۳۹- پس از گوساله‌زایی به میزان ۱۰ میلی‌لیتر (حاوی ۵ میلی‌گرم ویتامین B<sub>۱۲</sub>) به‌صورت عضلانی تزریق شد. مکمل‌سازی جیره‌ها با بتائین به میزان ۵۰ گرم به ازای هر رأس دام از روز ۲۱- پیش از زمان مورد انتظار گوساله‌زایی تا ۲۱ روز پس از گوساله‌زایی به‌صورت سرک (Top-dressed) صورت گرفت (جدول ۱). در دوره پیش از زایش، جیره‌ها به‌صورت دو وعده در ساعات‌های هفت صبح و هفت عصر و پس از زایش به‌صورت سه وعده در ساعات‌های هشت صبح، چهار عصر و یازده شب برحسب نیازهای مرحله آبستنی و تازه‌زا با در نظر داشتن باقی‌مانده آخور حداکثر ۱۰ درصد خوراک عرضه‌شده اختصاص داده شد. همه جیره‌ها بر پایه نیازهای گاوهای شیری فرموله شدند (NRC, 2001). علوفه استفاده‌شده برای آزمایش به‌صورت یکسان در همه جیره‌ها، سیلاز ذرت و کاه یونجه بود. گاوها به آب دسترسی آزاد داشتند. خوراک‌دهی به گاوهای تازه‌زا پس از شیردوشی انجام شد. گاوها سه بار در روز در ساعات‌های هشت صبح، چهار عصر و یازده شب دوشیده شدند.

همکوشی آن با بتائین بر الگوی اسیدهای چرب شیر است که در این زمینه هم مقاله‌ای موجود نیست. ویتامین B<sub>۱۲</sub> یکی از ترکیب‌هایی که به‌صورت غیرمستقیم می‌تواند بر ساخت و سوخت‌وساز چربی تأثیرگذار باشد. ویتامین B<sub>۱۲</sub> جزئی از آنزیم متیل مالونیل کوآنزیم آ موتاز است که یک آنزیم کلیدی در سوخت‌وساز کبدی پروپیونات است. کمبود ویتامین B<sub>۱۲</sub> موجب تجمع حد واسط متیل مالونات در کبد شده که از راه گردش خون به غده پستانی انتقال یافته و از ساخت دنووی اسیدهای چرب دنوو در این غده جلوگیری می‌کند (Croom *et al.*, 1981). از سوی دیگر، نتایج برخی بررسی‌ها نشان داد، کبالت بر الگوی اسیدهای چرب شیر تأثیرگذار است. در رابطه با تأثیر کبالت به‌صورت خوراکی (۴، ۳۸۰ و ۵۳۰۰ میلی‌گرم در روز) در گاوهای شیری نشان داده شد، افزودن کبالت به‌طور معنی‌داری باعث افزایش درصد اسیدهای چرب اشباع شیر شد (Karlengen *et al.*, 2011). همچنین، افزودن مقادیر بالای کبالت به جیره گاوهای شیری در دیگر بررسی‌ها سبب کاهش نسبت اسیدهای چرب غیراشباع شیر شد (Shingfield *et al.*, 2008; Taugbøl *et al.*, 2008 & 2010). این احتمال وجود دارد که نقش کبالت به‌واسطه نیاز ریزجانداران (میکروارگانسیم‌های) شکمبه به آن برای ساخت ویتامین B<sub>۱۲</sub> باشد. با توجه به اینکه بتائین توسط ریزجانداران شکمبه به‌طور عمده به استات تبدیل‌شده که پیش‌ساز اسیدهای چرب کوتاه و متوسط چربی در غده پستانی است و با توجه به اینکه کمبود ویتامین B<sub>۱۲</sub> می‌تواند ساخت دنووی اسیدهای چرب را در این غده کاهش دهد، این احتمال وجود دارد که تأثیر همکوشی میان بتائین و ویتامین B<sub>۱۲</sub> در این راستا وجود داشته باشد. بنابراین هدف این پژوهش بررسی تأثیر افزودن بتائین محافظت‌نشده شکمبه‌ای به جیره دوره انتقال و تزریق ده روز یک‌بار ویتامین B<sub>۱۲</sub> در این دوره بر الگوی اسیدهای چرب شیر است.

## مواد و روش

این آزمایش از اول خردادماه تا ۱۰ شهریورماه در گاوداری زاگرس شهرکرد واقع در ۱۰ کیلومتری

جدول ۱. اجزاء و ترکیب شیمیایی خوراک جیره‌های آزمایشی

Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets

Ingredient (%DM)	Close up	fresh
Corn silage	41.6	25.34
Alfalfa hay	16	14.27
Wheat straw	2.7	1.84
Beet pulp	2.22	4.05
Corn grain	13.07	11.09
Barley grain	10.46	19.53
Cottonseed whole	1.093	0.66
Cottonseed meal	0.53	1.61
Canola meal	---	5.87
Soybean meal	5.29	9.05
Soybean-whole roast	1.622	0.98
Fish meal	1.09	1.66
Calcium chloride	0.35	---
Magnesium sulphate	0.46	---
limestone	0.59	0.59
Phosphate dicalcium	---	0.28
Magnesium oxide	---	0.21
Fat crystallite	---	0.71
Salt white	---	0.43
Sodium bicarbonate	---	0.85
Mineral and vitamin premix <sup>1</sup>	2.925	1.00
Yeast composition <sup>2</sup>	---	0.04
Calculated Chemical composition (% DM)		
OM	68.41	77.12
CP	13.52	16.73
Ether extract	3.15	3.65
NDF	36.6	33.9
ADF	21.5	20.4
NFC <sup>3</sup>	37.7	37.1
Ash	6.42	9.35
NEI <sup>4</sup> (Mcal/kg)	1.50	1.63
Ca (%DM)	0.89	0.81
P (%DM)	0.32	0.44

۱) هر کیلوگرم مکمل مواد ویتامینه-کافی دارای ۱۸۰ گرم کلسیم، ۷۰ گرم فسفر، ۳۵ گرم پتاسیم، ۵۰ گرم سدیم، ۵۸ گرم کلر، ۳۰ گرم منیزیم، ۲۲ گرم سولفور، ۵ گرم منگنز، ۴ گرم آهن، ۳ گرم روی، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۲۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D<sub>3</sub>، ۱۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E و ۳ گرم پاداکسند (۲) مخمر مربوطه Beta Agriculture Yüreğir/Adana بود. (۳) بتائین (anhydrous betaine with 0.97 purity; Shanxi Xinliyuan Biotechnology Co. Ltd, Taiyuan, China) مربوط به یک شرکت چینی است.

ویتامین B<sub>12</sub> به‌صورت کوپافوس شامل ۱۲۵ میلی‌گرم آلفا اکسی بنزیل فیسفینکوم به‌عنوان منبع فسفر و ۰/۵ میلی‌گرم ویتامین B<sub>12</sub> استفاده شد.

1) Each kg (DM basis) of mineral and vitamin premix contained 180 g of Ca; 70 g of P; 35 g of K; 50 g of Na; 58 g of Cl; 30 g of Mg; 32 g of S; 5 g of Mn; 4 g of Fe; 3 g of Zn; 300 mg of Cu; 100 mg of I; 100 mg of Co; 20 mg of Se; 500,000 IU of vitamin A; 100,000 IU of vitamin D<sub>3</sub>; 100 IU of vitamin E; and 3 g of antioxidant., <sup>2</sup>yeast: Beta Agriculture, Yüreğir/Adana, 3Non-fiber carbohydrates (NFC) = 100 - (CP + NDF +EE + ash)., 4Net energy for lactation (NEI) was calculated respectively in close up and fresh according to NRC (2001). Betaine (anhydrous betaine with 0.97 purity; Shanxi Xinliyuan Biotechnology Co. Ltd, Taiyuan, China). B12 (Cobaphos, each ml contain 125 mg α-oxy benzyl physphinicum as phosphorous source and 0.5 mg vitamin B<sub>12</sub>; DarouPakhsh Distribution vet. Co, Iran).

نمونه‌گیری برای تجزیه الگوی اسیدهای چرب شیر در پنج روز متوالی آخر دوره آزمایش از آغاز روز ۳۸ پس از گوساله‌زایی صورت گرفت. پس از پایان دوشش هر گاو،

مخزن شیر به مدت یک دقیقه هوادهی شد تا کل شیر تولیدی هر گاو به‌خوبی مخلوط شود. سپس یک نمونه از شیر تولیدی هر گاو به نسبت ثابت بر پایه میزان شیر دوشیده شده در هر وعده دوشش برداشته شد. نمونه مربوط به هر سه وعده دوشش در روز با هم مخلوط و تا اخذ نمونه شیر مربوط به روزهای بعدی در فریزر نگهداری شد. در نهایت نمونه‌های مربوط به پنج روز با هم مخلوط و یک نمونه برای تجزیه اسیدهای چرب شیر به آزمایشگاه ارسال شد. نمونه‌برداری از خون در روز ۴۲ پس از گوساله‌زایی از طریق سیاهرگ دمی گرفته شد. نمونه‌های خون پیش از تغذیه صبحگاهی به میزان ۱۰ میلی‌لیتر درون لوله‌های هیپارینه گردآوری شد. نمونه‌های خون گردآوری‌شده به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند و پلاسما آن‌ها جدا و در دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس تا زمان تجزیه مورد نظر ذخیره شد. پس از پایان آزمایش نمونه‌های پلاسما برای تعیین فراسنجه‌های خونی گلوکز توسط دستگاه طیف‌سنج (Pnerki-elmer 35) ساخت کشور آلمان و با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون در آزمایشگاه تجزیه شد. الگوی اسیدهای چرب شیر بر پایه روش Sukhija & Palmquist (1998) و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (model Varian3400, Walnut ) (Creek, CA, USA) اندازه‌گیری شد. اوج (پیک) اسیدهای چرب با مقایسه زمان ابقا آن‌ها با زمان ابقا استاندارد خالص استرهای اسیدهای چرب که با دما و شرایط همسان به دستگاه فام‌نگار گازی (گاز کروماتوگرافی) تزریق و شناسایی شدند. غلظت هر یک از اسیدهای چرب از تقسیم سطح زیر منحنی آن اسید چرب بر سطح زیر منحنی مجموع اسیدهای چرب محاسبه و به‌صورت گرم در هر ۱۰۰ گرم استر متیله اسید چرب بیان شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (SAS 2001) صورت گرفت. طرح آماری استفاده شده، طرح کامل تصادفی با چهار تیمار و هشت تکرار بود و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح احتمال خطای آلفا برابر ۰/۰۵ درصد انجام شد.

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

با تیمار CC درصد بالاتری نشان داد ( $P < 0.05$ ). درصد اسید چرب C18:0 در چربی شیر گاوهای تیمار BC نسبت به گاوهای دیگر تیمارها بالاتر بود ( $P < 0.05$ ) و میزان این اسید چرب در چربی شیر گاوهای تیمار BB نسبت به گاوهای تیمار CC بالاتر بود ( $P < 0.05$ )، اما با تیمار CC تفاوتی نداشت ( $P > 0.05$ ). تزریق ویتامین B<sub>12</sub> با و بدون مکمل سازی جیره با بتائین در مقایسه با تیمار CC و تیمار BC سبب افزایش معنی داری ساخت دنوو اسیدهای چرب در غده پستانی و درصد اسیدهای چرب اشباع شیر شد ( $P < 0.05$ ).

همان طور که نتایج بررسی ها نشان داد، نسبت اسیدهای چرب اشباع تحت تأثیر تزریق ویتامین B<sub>12</sub> افزایش یافت. درزمینه تأثیر تزریق ویتامین B<sub>12</sub> بر الگوی اسیدهای چرب شیر مقاله ای یافت نشد، اما یکی از راهکارهای تأمین این ویتامین افزودن کبالت به جیره و استفاده از توان و قابلیت میکروبی های شکمبه در ساخت این ویتامین است. ریزجانداران شکمبه برای ساخت ویتامین B<sub>12</sub> به کبالت نیاز دارند، به طوری که ۴/۴ درصد این ویتامین را کبالت تشکیل می دهد (McDowell, 2000).

$Y_{ij}$  = میزان مشاهده تیمار i ام در تکرار j ام؛  $\mu$  = تأثیر میانگین؛  $T_i$  = تأثیر تیمار i ام؛  $e_{ij}$  = اثر خطای آزمایش مربوط به تیمار i ام در تکرار j ام است.

## نتایج و بحث

### اسیدهای چرب اشباع شیر

تأثیر افزودن بتائین به جیره گاوهای شیری و تزریق ویتامین B<sub>12</sub> بر درصد اسیدهای چرب اشباع شیر در جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان داد، تیمار BB در مقایسه با تیمار CC و تیمار CB باعث افزایش معنی داری درصد اسیدهای چرب C6:0، C8:0 و C14:0 شیر شد ( $P < 0.05$ ). درزمینه اسید چرب C10:0 تنها تیمار CB نسبت به تیمار CC درصد بالاتری نشان داد ( $P < 0.05$ )، و بین دیگر تیمارها تفاوت آماری معنی داری در این زمینه مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی داری بر درصد اسیدهای چرب C12:0 و C15:0 چربی شیر نداشتند ( $P > 0.05$ ). درصد اسید چرب C16:0 در تیمارهای BC و BB نسبت به تیمار CC و تیمار CB به طور معنی داری بالاتر بود و تیمار CB نیز در مقایسه

جدول ۲. ترکیب اسیدهای چرب اشباع در شیر گاوهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی (درصدی از کل استرهای متیل اسیدهای چرب)

	Treatments <sup>1</sup>				SEM	P-value
	CC	CB	BC	BB		
6:0	2.00 <sup>b</sup>	2.09 <sup>b</sup>	2.67 <sup>a</sup>	2.68 <sup>a</sup>	0.095	0.001
8:0	0.93 <sup>b</sup>	0.95 <sup>b</sup>	1.21 <sup>a</sup>	1.23 <sup>a</sup>	0.032	0.001
10:0	2.32 <sup>b</sup>	2.89 <sup>a</sup>	2.61 <sup>ab</sup>	2.30 <sup>b</sup>	0.166	0.052
12:0	4.11	3.83	3.49	3.85	0.336	0.635
14:0	10.13 <sup>b</sup>	9.78 <sup>b</sup>	11.34 <sup>a</sup>	11.26 <sup>a</sup>	0.238	0.001
15:0	1.26	1.08	1.23	1.15	0.098	0.551
16:0	29.07 <sup>c</sup>	30.40 <sup>b</sup>	31.35 <sup>a</sup>	32.00 <sup>a</sup>	0.330	0.001
18:0	11.58 <sup>c</sup>	12.12 <sup>bc</sup>	13.47 <sup>a</sup>	12.53 <sup>b</sup>	0.299	0.001
SFA <sup>2</sup>	61.43 <sup>b</sup>	63.18 <sup>b</sup>	68.11 <sup>a</sup>	66.42 <sup>a</sup>	0.712	0.001
Denovo <sup>3</sup>	48.58 <sup>b</sup>	49.97 <sup>b</sup>	53.39 <sup>a</sup>	52.73 <sup>a</sup>	0.670	0.001

۱) تیمارها: CC، جیره شاهد بدون مکمل سازی با بتائین و تزریق ویتامین B<sub>12</sub>؛ CB، جیره شاهد مکمل سازی شده با ۵۰ گرم در هر روز بتائین به ازای هر رأس گاو به صورت سرک؛ BC، تزریق هر ده روز یکبار ویتامین B<sub>12</sub>؛ BB، مکمل سازی جیره شاهد با ۵۰ گرم در هر روز بتائین به ازای هر رأس گاو به صورت سرک و تزریق هر ده روز یکبار ویتامین B<sub>12</sub>.

۲) اسیدهای چرب اشباع

۳) ساخت دنوو اسیدهای چرب اشباع در غده پستانی (مجموع C6:0 تا C16:0).

در هر ردیف میانگین هایی که با حرف های غیر همسان نشان داده شده اند اختلاف معنی دار دارند ( $P < 0.05$ ).

1) Treatments: CC, control diet without betaine supplementation and vitamin B<sub>12</sub> injection; CB, supplementation of control diet with 50g/day/head with betaine as top-dressed; BC, injection of vitamin B<sub>12</sub> every 10 days; BB, supplementation of control diet with 50g/day/head with betaine as top-dressed and injection of vitamin B<sub>12</sub> every 10 days.

2) Saturated fatty acids

3) Synthesis of fatty acids in the mammary gland (total of C6:0 to C16).

Means with different superscript letters in rows are significantly different ( $P < 0.05$ ).

دخیل بوده و در حدود ۳۰ تا ۵۰ درصد نیاز NADPH در نتیجه فعالیت این دو آنزیم تأمین می‌شود (Nafikov & Beitz, 2007). در گاو این میزان افزایش یافته و به حدود ۵۰ تا ۱۰۰ درصد می‌رسد. بنابراین برای تولید NADPH در مسیر پنتوز فسفات، گلوکز مورد نیاز است، و از آنجایی که قسمت عمده گلوکز در نشخوارکنندگان از طریق فرآیند گلوکونئوز از پروپیونات ساخته می‌شود، اختلال در این مسیر می‌تواند در نهایت سبب کاهش کوآنزیم NADPH و کاهش ساخت دنووی اسیدهای چرب شود. بنابراین کمبود ویتامین B<sub>۱۲</sub> مسیر گلوکونئوز را در نقطه تبدیل متیل مالونیل کوآنزیم به سوکسینیل کوآنزیم، که در آن آدنوزیل کوبالامین به‌عنوان عامل کمکی (کوفاکتور) نیاز است، تحت تأثیر قرار داده و سبب کاهش ساخت گلوکز (Suttle *et al.*, 2010) و در نتیجه NADPH شود. نتایج این تحقیق نشان داد، تزریق ویتامین B<sub>۱۲</sub> ساخت دنووی اسیدهای چرب در غده پستانی را در اوایل دوره شیردهی افزایش داد. این مسئله از آنجایی اهمیت دارد که گاوهای شیری در اوایل دوره شیرواری به‌طور عمده با جیره‌های غنی از کنسانتره تغذیه شده که امکان افت pH شکمبه را افزایش داده و در نتیجه ممکن است باعث اختلال در ساخت شکمبه‌ای ویتامین B<sub>۱۲</sub> و در نتیجه کاهش فراهمی NADPH برای واکنش‌های زیست‌سازی (آنابولیک) همانند ساخت دنووی اسیدهای چرب در بافتهای بدن دام همانند غده پستانی شده و در نتیجه باعث کاهش ساخت دنووی اسیدهای چرب در این غده شود.

به‌طور همسان با نتایج این تحقیق، در پژوهشی دیگر با افزودن بتائین (در سطوح ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم در روز) به جیره گاوهای شیری در اواسط دوره شیردهی تأثیری معنی‌داری بر مجموع اسیدهای چرب اشباع شیر مشاهده نشد (Peterson *et al.*, 2012). همسان با این نتایج پژوهش، Fernandez *et al.* (2004) نیز با افزودن بتائین به جیره بزهای شیرده مشاهده کردند که مجموع اسیدهای چرب C4:0 تا C20:0 تحت تأثیر افزودن بتائین به جیره قرار نگرفت، اما موافق با نتایج این بررسی میزان C10:0 شیر افزایش یافت. همچنین درصد اسیدهای چرب C8:0،

به‌طور همسان با نتایج این تحقیق در رابطه با تأثیر کبالت به‌صورت خوراکی (۴، ۳۸۰ و ۵۳۰۰ میلی‌گرم در روز) در گاوهای شیری مشخص شد که کبالت به‌طور معنی‌داری سبب افزایش درصد اسیدهای چرب اشباع شد (Karlengen *et al.*, 2013). بنابراین ممکن است افزودن کبالت به جیره و ساخت ویتامین B<sub>۱۲</sub> بالاتر در شکمبه و یا مکمل‌سازی جیره با ویتامین B<sub>۱۲</sub> سبب افزایش اسیدهای چرب اشباع شیر شود. محققان در نتایج بررسی‌های خود نشان دادند، استفاده از کبالت چه به‌صورت تزریقی و چه خوراکی فعالیت دساجورازها را در غده پستانی کاهش می‌دهد که از این طریق باعث افزایش غلظت اسیدهای چرب اشباع شیر می‌شود (Shingfield *et al.*, 2008; Taugbøl *et al.*, 2008 & 2010). از سویی کبالت در بدن در مقادیر زیاد ذخیره نمی‌شود، میزان کمی نیز که ذخیره می‌شود نمی‌تواند به‌آسانی به درون شکمبه بازگشته و برای ساخت ویتامین B<sub>۱۲</sub> توسط میکروبی‌های شکمبه استفاده شد (Berg *et al.*, 2007). در این تحقیق فعالیت آنزیم دساجوراز اندازه‌گیری نشده است، ولی افزایش معنی‌داری در ساخت دنووی اسیدهای چرب شیر در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین B<sub>۱۲</sub> (BC و BB) مشاهده شد که ممکن است بازتابی از افزایش فعالیت این آنزیم در غده پستان باشد. ویتامین B<sub>۱۲</sub> از چندین طریق به‌طور غیرمستقیم می‌تواند بر ساخت دنووی اسیدهای چرب شیر تأثیرگذار باشد. متیل کوبالامین و آدنوزیل کوبالامین ایزومرهای ویتامین B<sub>۱۲</sub> هستند، که در سامانه‌های زیستی (بیولوژیکی) پستانداران اهمیت خاصی دارند (Suttle *et al.*, 2010). آدنوزیل کوبالامین در مسیر گلوکونئوز، برای تبدیل پروپیونات به گلوکز نقشی اساسی دارد. ساخت دنووی اسیدهای چرب نیازمند NADPH است و مهم‌ترین آنزیم‌هایی که در پاسخ به فعالیت آن‌ها در نشخوارکنندگان NADPH تولید می‌شود شامل گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز؛ ۶- فسفوگلوکونات دهیدروژناز؛ مالیک آنزیم سیتوپلاسمی و ایزوسیترات دهیدروژناز سیتوپلاسمی است (Nafikov & Beitz, 2007). دو آنزیم اول مهم‌ترین آنزیم‌هایی هستند که در تولید NADPH در مسیر پنتوز فسفات

شیر را تغییر داده و به‌ویژه ساخت دنووی اسیدهای چرب را افزایش دهد. اما در این بررسی چنین تأثیری مشاهده نشد. علت اختلاف در نتایج این تحقیق با نتایج دیگر محققان در زمینه ساخت دنووی اسیدهای چرب ممکن است مربوط به سطح استفاده بتائین در جیره باشد به طوری که در این تحقیق سطح بتائین در جیره بسیار کمتر از سطح بتائین در تحقیق ارائه شده توسط Mitchell *et al.* (1979) باشد. به طور همسان در نتایج تحقیقی دیگر افزودن بتائین در سطوح ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم در روز تأثیری معنی‌داری بر ساخت دنووی اسیدهای چرب شیر گاوهای شیری در اواسط دوره شیردهی نداشت (Peterson *et al.*, 2012).

**اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه شیر**  
میزان اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه در شیر گاوهای تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی در جدول ۴ آورده شده است. نتایج نشان داد، تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه و درصد اسید چرب C20:1، C14:1، C16:1، C18:1n9t، C18:1n9c و C20:1 نداشتند ( $P < 0.05$ ). درصد اسید چرب C17:1 در چربی شیر گاوهای تیمار BC و BB به طور معنی‌داری نسبت به گاوهای گروه شاهد کاهش یافت ( $P > 0.05$ )، اما با گاوهای تیمار BC تفاوت نداشت ( $P < 0.05$ ).

C10:0، C12:0 و C17:0 و مجموع اسیدهای چرب C6:0 تا C20:0 با افزودن بتائین به جیره بزهای شیری افزایش یافت که به‌استثنای C10:0 با نتایج این پژوهش مغایرت داشت (Fernandez *et al.*, 2004). همسان با نتایج این تحقیق، در نتایج پژوهشی دیگر نشان داده شد که مکمل‌سازی جیره بزهای شیرده با بتائین اگرچه تأثیری بر مجموع اسیدهای چرب اشباع شیر نداشت ولی میزان C12:0، C14:0 و C15:0 را افزایش و میزان C16:0 را به طور معنی‌داری کاهش یافت، که در مورد C10:0 موافق و در مورد C16:0 مغایر با نتیجه این تحقیق بود (Fernandez *et al.*, 2009). در توافق با نتایج این پژوهش، افزودن بتائین به جیره گاو شیری به طور معنی‌داری میزان اسیدهای چرب C10:0 و C16:0 شیر را افزایش داد (Christie, 1981). بتائین در شکمبه توسط میکروب‌ها به استات و بتاهدروکسی بوتیرات تبدیل شده (Mitchell *et al.*, 1979) که پیش ساز اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و بخشی از اسیدهای چرب متوسط زنجیر تا (C16:0) در غدد پستانی هستند (Bauman & Griinari, 2003). همچنین نشان داده شده است که بتائین با افزایش سرعت تخمیر میکروبی در شکمبه تولید اسیدهای چرب فرار را در شکمبه افزایش می‌دهد (Bonner *et al.*, 2008). بنابراین در این بررسی انتظار می‌رفت که افزودن بتائین بتواند الگوی اسیدهای چرب

جدول ۳. ترکیب اسیدهای چرب اشباع با یک پیوند دوگانه در شیر گاوهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی (درصد از کل استرهای متیل اسیدهای چرب)

Table 3. Monounsaturated fatty acids composition in the milk of cows fed the experimental diets (% of total FA methyl esters)

	Treatments <sup>1</sup>				SEM	P-value
	CC	CB	BC	BB		
14:1	1.16	0.95	1.02	1.20	0.139	0.5479
16:1	2.19	2.03	2.23	2.24	0.086	0.2893
17:1	0.90 <sup>a</sup>	0.72 <sup>b</sup>	0.84 <sup>ab</sup>	0.76 <sup>b</sup>	0.047	0.0478
C18:1n9t	2.10	2.00	1.95	1.96	0.225	0.5335
C18:1n9c	20.40	22.26	19.89	20.34	0.654	0.0713
20:1	0.40	0.23	0.43	0.40	0.020	0.4086
MUFA <sup>2</sup>	27.17	28.42	26.38	26.91	0.630	0.1524

۱) تیمارها: CC، جیره شاهد بدون مکمل‌سازی با بتائین و تزریق ویتامین B<sub>12</sub>؛ CB، جیره شاهد مکمل‌سازی شده با ۵۰ گرم در هر روز بتائین به ازای هر رأس گاو به صورت سرک؛ BC، تزریق هر ده روز یک‌بار ویتامین B<sub>12</sub>؛ BB، مکمل‌سازی جیره شاهد با ۵۰ گرم در هر روز بتائین به ازای هر رأس گاو به صورت سرک و تزریق هر ده روز یک‌بار ویتامین B<sub>12</sub>.

۲) اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه

در هر ردیف میانگین‌هایی که با حرف‌های غیر همسان نشان داده شده‌اند اختلاف معنی‌دار دارند ( $P < 0.05$ ).

1) Treatments: CC, control diet without betaine supplementation and vitamin B<sub>12</sub> injection; CB, supplementation of control diet with 50g/day/head with betaine as top-dressed; BC, injection of vitamin B<sub>12</sub> every 10 days; BB, supplementation of control diet with 50g/day/head with betaine as top-dressed and injection of vitamin B<sub>12</sub> every 10 days.

2) Mono-unsaturated fatty acids.

Means with different superscript letters within rows are significantly different ( $P < 0.05$ ).

چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه مرتبط با ساخت ویتامین B<sub>12</sub> در شکمبه نباشد. مکمل‌سازی جیره با بتائین با و بدون تزریق ویتامین B<sub>12</sub> تأثیری بر مجموع اسیدهای چرب غیراشباع شیر شامل C14:1، C16:1، C17:1، C18:1n9c، C18:1n9t و C20:1 نداشت و تنها درصد اسید چرب C17:1 با افزودن بتائین به جیره با و بدون تزریق ویتامین B<sub>12</sub> (تیمارهای CB و BB) نسبت به تیمار CC کاهش یافت. به‌طور همسان Fernandez *et al.* (2009) و Peterson *et al.* (2012) گزارش کردند که بتائین تأثیری بر مجموع اسیدهای چرب غیراشباع شیر نداشت و تنها اسید چرب C15:1 به‌طور معنی‌داری در آزمایش Peterson *et al.* (2012) با مکمل‌سازی جیره با بتائین کاهش پیدا کرد که مغایر با نتایج این آزمایش بود. در موافقت با نتایج این تحقیق Fernandez *et al.* (2004) تفاوتی در درصد C18:1 شیر، با افزودن بتائین به جیره بزهای شیری مشاهده نکردند ولی برخلاف نتایج این تحقیق گزارش دادند که میزان C10:1، C18:1 و مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه چربی شیر بز با افزودن بتائین به جیره افزایش یافت. اختلاف در نتایج تحقیقات در این راستا ممکن است مربوط به سطح به‌کارگیری بتائین در جیره، نوع حیوان، مرحله تولید و عامل‌های محیطی باشد.

آنزیم دلتا ۹ دساچوراز یکی از آنزیم‌هایی است که باعث ساخت اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه از اسیدهای چرب اشباع می‌شود (Nakamura & Nara, 2004; Paton & Ntambi, 2009). عامل‌های جیره‌ای همانند گلوکز، فرکتوز، ویتامین A، کلسترول، اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه، اسید چرب با پیوند مزدوج می‌توانند بیان ژن این آنزیم را تحت تأثیر قرار دهند (Nakamura & Nara, 2004). نتایج بررسی‌های اخیر نشان داد، افزودن مقادیر بالای کبالت به جیره گاوهای شیری سبب کاهش نسبت اسیدهای چرب غیراشباع شیر شد (Shingfield *et al.*, 2008; Taugbøl *et al.*, 2008 & 2010). به‌رحال در نتایج آزمایشی گزارش شده است، افزودن سطوح بالای کبالت به جیره تأثیری بر بیان ژن آنزیم دلتا ۹ دساچوراز نداشته و ممکن است کاهش در نسبت اسیدهای چرب غیراشباع شیر، در گاوهای شیری مربوط به کاهش فعالیت این آنزیم پس از بیان شدن باشد (Karlengen *et al.*, 2011). آنچه مشخص است تزریق ویتامین B<sub>12</sub> در این بررسی اثری بر نسبت اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه نداشت که این موضوع نشان می‌دهد که ممکن است تأثیر کبالت بر فعالیت آنزیم دساچوراز و نسبت اسیدهای

جدول ۴. ترکیب اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه در چربی شیر گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی (درصد از کل استرهای متیل اسیدهای چرب)

Table 4. Polyunsaturated fatty acids composition in the milk fat of cows fed the experimental diets (% of total FA methyl esters)

	Treatments <sup>1</sup>				SEM	P-value
	CC	CB	BC	BB		
C18:2n6t	0.49	0.43	0.40	0.41	0.044	0.4766
C18:2n6c	3.50 <sup>b</sup>	3.84 <sup>a</sup>	3.26 <sup>b</sup>	3.53 <sup>ab</sup>	0.112	0.0105
C18:3n3	0.28 <sup>a</sup>	0.26 <sup>ab</sup>	0.29 <sup>a</sup>	0.23 <sup>b</sup>	0.011	0.0032
PUFA <sup>2</sup>	4.28 <sup>ab</sup>	4.54 <sup>a</sup>	3.96 <sup>b</sup>	4.18 <sup>b</sup>	0.117	0.0120
Unsaturated fatty acids	31.46 <sup>ab</sup>	32.97 <sup>a</sup>	30.34 <sup>b</sup>	31.10 <sup>ab</sup>	0.630	0.0425
PUFA:SFA <sup>3</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.07 <sup>a</sup>	0.05 <sup>b</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.002	0.0001

(۱) تیمارها: CC، جیره شاهد بدون مکمل‌سازی با بتائین و تزریق ویتامین B<sub>12</sub>؛ CB، جیره شاهد مکمل‌سازی شده با ۵۰ گرم در هر روز بتائین به ازای هر رأس گاو به‌صورت سرک؛ BC، تزریق هر ده روز یک‌بار ویتامین B<sub>12</sub>؛ BB، مکمل‌سازی جیره شاهد با ۵۰ گرم در هر روز بتائین به ازای هر رأس گاو به‌صورت سرک و تزریق هر ده روز یک‌بار ویتامین B<sub>12</sub>.

(۲) اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه.

(۳) نسبت اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه به اسیدهای چرب اشباع.

1) Treatments: CC, control diet without betaine supplementation and vitamin B<sub>12</sub> injection; CB, supplementation of control diet with 50g/day/head with betaine as top-dressed; BC, injection of vitamin B<sub>12</sub> every 10 days; BB, supplementation of control diet with 50g/day/head with betaine as top-dressed and injection of vitamin B<sub>12</sub> every 10 days.

2) Mono-unsaturated fatty acids.

2) Polyunsaturated fatty acids.

3) Polyunsaturated fatty acids:Saturated fatty acids.

Means with different superscript letters within rows are significantly different (P<0.05).



## اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه

بافت چربی به سمت کبد بیشتر از هرزمانی است به جیره اضافه شد و ممکن است تأثیر افزودن بتائین در این دوره نسبت به اواسط دوره شیردهی که دام در توازن مثبت انرژی است متفاوت باشد. بخش عمده اسیدهای چرب بلند زنجیر شیر که به طور مستقیم و بدون تغییر برای ساخت تری گلیسیریدهای شیر استفاده می‌شوند از لیپوپروتئین‌ها و اسیدهای چرب غیر استریفیه خون منشأ می‌گیرند که منشأ آن‌ها اسیدهای چرب جذب شده از دستگاه گوارش و اسیدهای چرب آزاد شده از بافت‌های چربی بوده که به ترتیب ۸۰ و ۲۰ درصد از کل اسیدهای چرب خون را تشکیل می‌دهند (Knapp et al., 1991). بتائین با تبدیل شدن به کولین می‌تواند سبب افزایش ساخت VLDL در کبد شده و از این راه میزان بیشتری تری گلیسیرید به سوی بافت‌ها از جمله غده پستان حمل شود که می‌تواند باعث افزایش اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه شیر شود. البته تأثیر بتائین بر زیست هیدروژنه شدن شکمبه‌ای اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه هنوز مشخص نیست و ممکن است این فرآیند در حضور بتائین در شکمبه کاهش یافته و در نهایت به صورت درصد بالاتر اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه شیر بازتاب پیدا کند. به هر حال برای مشخص شدن این موضوع نیاز به آزمایش‌های تکمیلی است.

تزریق ویتامین B<sub>12</sub> با و یا بدون افزودن بتائین به جیره گاوهای دوره انتقال تأثیر معنی‌داری بر درصد اسید چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه شیر در مقایسه با تیمار شاهد نداشت، اما در مقایسه با گروه دریافت‌کننده بتائین باعث کاهش معنی‌دار درصد اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه شد. بنابراین هیچ‌گونه تأثیر همکوشی بین ویتامین B<sub>12</sub> و مکمل‌سازی جیره با بتائین در این زمینه مشاهده نشد.

تأثیر جیره‌های آزمایشی بر اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه در جدول ۵ آورده شده است. تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر درصد C18:2n6t چربی شیر نداشتند ( $P < 0.05$ ). درصد C18:2n6c در گاوهای CB نسبت به تیمار CC و تیمار BC به طور معنی‌داری بالاتر بود ( $P > 0.05$ ), اما با تیمار BB تفاوتی نداشت ( $P < 0.05$ ). مکمل‌سازی جیره با بتائین همراه با تزریق ویتامین B<sub>12</sub> به طور معنی‌داری درصد C18:3n3 چربی شیر را در مقایسه با تیمارهای CC و BC کاهش داد ( $P < 0.05$ ). مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه با تزریق ویتامین B<sub>12</sub> به تنهایی و یا همراه با مکمل‌سازی جیره با بتائین نسبت به گاوهای تیمار BC کمتر بود ( $P < 0.05$ ) اما نسبت به گاوهای تیمار CC تفاوت معنی‌دار نداشت ( $P > 0.05$ ).

برخلاف نتایج این تحقیق، دیگر محققان در نتایج بررسی‌های خود، تغییری در مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه شیر بز با افزودن بتائین به جیره مشاهده نکردند (Ferenandez et al., 2004 & Peterson et al., 2009). با افزودن بتائین در سطوح ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم در روز کاهش معنی‌داری در مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه شیر گاوهای شیری در اواسط دوره شیردهی مشاهده کردند، هرچند که تک‌تک اسیدهای چرب غیراشباع چربی با چند پیوند دوگانه تحت تأثیر افزودن بتائین قرار نگرفت. دلیل اختلاف نتایج این تحقیق در زمینه افزایش مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه، با تحقیقات پیشین می‌تواند مربوط به زمان افزودن بتائین به جیره باشد. در این آزمایش، بتائین در دوره انتقال و اوایل دوره شیردهی یعنی هنگامی که رها شدن چربی از

جدول ۵. درصد چربی شیر و غلظت گلوکز پلاسما (میلی‌گرم در دسی لیتر) در گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی  
Table 5. Milk fat percentage and plasam concentration of glucose (mg/dl) in cows fed the experimental diets

	Treatments <sup>1</sup>				SEM	P-value
	CC	CB	BC	BB		
Fat	2.86	2.99	3.02	2.92	0.046	0.0919
Glucose	37.76	38.50	48.62	41.62	3.232	0.0939

۱) تیمارها: CC، جیره شاهد بدون مکمل‌سازی با بتائین و تزریق ویتامین B<sub>12</sub>؛ CB، جیره شاهد مکمل‌سازی شده با ۵۰ گرم در هر روز بتائین به ازای هر رأس گاو به صورت سرک؛ BC، تزریق هر ده روز یک‌بار ویتامین B<sub>12</sub>؛ BB، مکمل‌سازی جیره شاهد با ۵۰ گرم در هر روز بتائین به ازای هر رأس گاو به صورت سرک و تزریق هر ده روز یک‌بار ویتامین B<sub>12</sub>.

۲) اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه.

۳) نسبت اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه به اسیدهای چرب اشباع.

1) Treatments: CC, control diet without betaine supplementation and vitamin B<sub>12</sub> injection; CB, supplementation of control diet with 50g/day/head with betaine as top-dressed; BC, injection of vitamin B<sub>12</sub> every 10 days; BB, supplementation of control diet with 50g/day/head with betaine as top-dressed and injection of vitamin B<sub>12</sub> every 10 days.

Means with different superscript letters within rows are significantly different ( $P < 0.05$ ).

افزودن ۵۰ گرم بتائین تأثیری بر درصد چربی شیر نداشت. درزمینه تأثیر تزریق ویتامین B<sub>۱۲</sub> بر درصد چربی شیر بررسی یافت نشد. به‌هرحال در این تحقیق درصد چربی شیر از لحاظ عددی در گاوهای دریافت‌کننده تزریق ویتامین B<sub>۱۲</sub> با تمایل به معنی‌داری بالاتر از گاوهای دیگر تیمارها بود.

موافق با نتایج بررسی‌های پیشین در گاوهای اواسط شیردهی (Peterson *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2010) غلظت گلوکز پلاسما در این بررسی تحت تأثیر مکمل‌سازی جیره با بتائین و یا تزریق ویتامین B<sub>۱۲</sub> در دوره انتقال قرار نگرفت. همچنین در بررسی Monteiro *et al.* (2006) نیز تغذیه گاوهای شیری با مکمل مایع حاوی بتائین در پیش و پس از گوساله‌زایی تأثیری بر غلظت گلوکز پلاسما نداشت. درزمینه تزریق ویتامین B<sub>۱۲</sub> بر غلظت گلوکز پلاسما بررسی یافت نشد. هرچند در این تحقیق غلظت گلوکز پلاسما از لحاظ عددی در گروه‌های دریافت‌کننده تزریق این ویتامین با گرایش به معنی‌داری بالاتر از دیگر تیمارها بود.

#### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد، مکمل‌سازی جیره گاوهای شیری با ۵۰ گرم بتائین محافظت نشده تأثیری بر ساخت دنووی اسیدهای چرب در غده پستانی و الگوی دیگر اسیدهای چرب در مقایسه با تیمار شاهد نداشت، اما تزریق ده روز یک‌بار ویتامین B<sub>۱۲</sub> افزون بر افزایش ساخت دنووی اسیدهای چرب سبب افزایش درصد اسیدهای چرب اشباع شیر شد. بنابراین، تزریق ویتامین B<sub>۱۲</sub> در دوره انتقال برای افزایش ساخت دنووی اسیدهای چرب شیر در گاوهای شیری توصیه می‌شود.

#### اثر جیره‌های آزمایشی بر غلظت گلوکز پلاسما و درصد چربی شیر

تأثیر جیره‌های آزمایشی بر غلظت گلوکز پلاسما و درصد چربی شیر در جدول ۵ آورده شده است. تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر درصد چربی شیر و غلظت گلوکز پلاسما نداشتند ( $P < 0.05$ ), هرچند که به‌طور عددی غلظت گلوکز پلاسما در گاوهای تیمار BB بالاتر از گاوهای دیگر تیمارها بود.

در این پژوهش، درصد چربی شیر تحت تأثیر افزودن بتائین قرار نگرفت. به‌طور همسان Davidson *et al.* (2008) با افزودن بتائین محافظت‌شده شکمبه‌ای به جیره گاوهای شیری در اوایل شیردهی و Fernandez *et al.* (2004) نیز با افزودن بتائین محافظت نشده به جیره بزهای شیرده تغییری در درصد چربی شیر مشاهده نکردند. همچنین Peterson *et al.* (2012) نیز با افزودن سطوح مختلف بتائین (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد) تفاوتی در درصد چربی شیر گاوهای شیری در اواسط دوره شیردهی مشاهده نکردند. در مقابل برخی بررسی‌ها با افزودن سطوح بالای بتائین افزایش درصد چربی شیر را گزارش کردند (Vang *et al.*, 2010). در این اواخر نیز گزارش شد که تغذیه گاوهای دوره گذار با مکمل مایع حاوی بتائین باعث افزایش درصد و میزان چربی شیر تولیدی شد (Monteiro *et al.*, 2006). در نتیجه تجزیه بتائین در شکمبه توسط ریزجانداران استات تولید می‌شود که به‌عنوان پیش‌ساز اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیر می‌تواند باعث افزایش درصد چربی شیر شود (Mitchell *et al.*, 1970). البته لازمه این امر افزودن درصد بالای بتائین به جیره است. در این تحقیق

#### REFERENCES

1. Berg, J. M., Tymoczko, J. L. & Stryer, L. (2007). *Biochemistry*. (6<sup>th</sup> ed.). Sara Tenney, New York, NY.
2. Bernal-Santos, G., Perfield, J. W. II, Barbano, D. M., Bauman, D. E. & Overton, T. R. (2003). Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. *Journal of Dairy Science*, 86, 3218-3228.
3. Bonner, S. L., Gaughan, J. B., Jassim, A. L. R. A. M. & Bryden, W. L. (2008). Dietary betaine and its effect on rumen VFA profiles in sheep. In: *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 27, 107.
4. Christie, W. W. (1970). Topics in Lipids Chemistry. In: Gunstone, F.D. (Ed.), vol.1. Logos Press, London, pp. 1-49
5. Croom, W. J., Bauman, D. E. & Davis, C. L. (1981). Methylmalonic acid in low-fat milk syndrome. *Journal of Dairy Science*, 64, 649-654.

6. Davidson, S., Hopkins, B., Odle, A. 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.
7. Dijkstra, J., Boer, H., Van Bruchem, J., Bruining, M. & Tamminga, S. (1993). Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH and rumen liquid volume. *British Journal of Nutrition*, 69, 385-96.
8. Fernandez, C., Mata, C., Piquer, O., Bacha, F. & de la Fuente, J. M. (2009). Influence of betaine on goat milk yield and blood metabolites. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 11, 209-213.
9. Fernandez, C., Sanchez-Seiquer, P., Sanchez, A., Contreras, A. & de la Fuente, J. M. (2004). Influence of betaine on milk yield and composition in primiparous lactating dairy goats. *Small Ruminant Research*, 52, 37-43.
10. Karlenge, I. J., Taugbøl, O., Salbu, B., Aastveit, A. H. & Harstad, O. M. (2013). Effect of different levels of supplied cobalt on the fatty acid composition of bovine milk. *British Journal of Nutrition*, 109, 834-843.
11. Karlengen, I. J. O. M., Harstad, O., Taugbøl, I., Berget, A., Aastveit, H. & Vage, D. I. (2011). The effect of excess cobalt on milk fatty acid profiles and transcriptional regulation of SCD, FASN, DGAT1 and DGAT2 in the mammary gland of lactating dairy cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96, 1065-1073.
12. Knapp, D. M., Grummer, R. R. & Dentine, M. R. (1991). The response of lactating dairy cows to increasing levels of whole roasted soybeans. *Journal of Dairy Science*, 74, 2563-2579.
13. McClymont, G.L. & Vallance, S. (1962). Depression of blood glycerides and milk-fat synthesis by glucose infusion. In *Proceedings of the Nutrition Society*. C/O Publishing Division, Wallingford OX10 8DE, Oxon, England: CAB International, 21, 41-42.
14. McDowell, L.R. (1989). *Vitamins in Animal Nutrition*. Academic Press, San Diego, CA.
15. Mitchell, A. D., Chappell, A. & Knox, K. L. (1979). Metabolism of betaine in the ruminant. *Journal of Animal Science*, 49, 764-774.
16. Monteiro, A. P. A., Bernard, J. K., Guo, J.-R., Weng, X.-S., Emanuele, S., Davis, R., Dahl, G. E. & Tao, S. (2016). Effects of feeding betaine-containing liquid supplement to transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100, 1063-1071.
17. Nafikov, R. A. & Beitz, D. C. (2007). Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. *The Journal of Nutrition*, 137, 702-5.
18. Nakamura, M. T. & Nara, T. Y. (2004). Structure, junction and dietary regulation of Delta 6, Delta 5, and Delta 9 desaturases. *Annual Review of Nutrition*, 24, 345-376.
19. Nelson, D. L. & Cox, M. M. (2005). *Lehninger principles of biochemistry (4th Ed.)*. W.H.Freeman & Co, New York.
20. NRC. (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. (7<sup>th</sup> rev. ed.) Natl. Academy Press, Washington D.C.
21. Paton, C. M. & Ntambi, J. M. (2009). Biochemical and physiological function of stearyl-CoA desaturase. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 297, E28-E37.
22. Peterson, S. E. & Rezamand, J. E. (2010). Effects of dietary betaine on milk yield and milk composition of mid-lactation Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95, 6557-6562.
23. Peterson, S. E., Rezamand, P., Williams, J. E., Price, W., Chahine, M. & McGuire, M. A. (2012). Effects of dietary betaine on milk yield and milk composition of mid-lactation Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95, 6557-6562.
24. SAS, (2004). *User's Guide: Statistics*, Version 9.2. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
25. Shingfield, K. J., Arola, A., Ahvenjarvi, S., Vanhatalo, A., Toivonen, V., Griinari, J. M., Huhtanen, P. (2008). Ruminant infusions of cobalt-EDTA reduce mammary Delta 9-desaturase index and alter milk fatty acid composition in lactating cows. *The Journal of Nutrition*, 138, 710-717.
26. Sukhija, P. H. & Palmquist, D. L. (1998). Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *Journal of Agriculture & Food Chemistry*, 36, 1202-1206.
27. Suttle, N.F. (2010). *Mineral nutrition of livestock*. (4<sup>th</sup> ed). CAB International, 368 Oxford, UK.
28. Taugbøl, O., Karlengen, I. J., Bolstad, T., Aastveit, A. H. & Harstad, O. M. (2008). Cobalt supplied per os reduces the mammary delta-9-desaturase index of bovine milk. *Journal of Animal Science*, 86, 3062-3068.
29. Taugbøl, O., Karlengen, I. J., Salbu, B., Aastveit, A. H. & Harstad, O. M. (2010). Intravenous injections of cobalt reduce fatty acid desaturation products in milk and blood of lactating cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94, 635-640.
30. Wang, C., Liu, Q., Yang, W., Wu, J., Zhang, W., Zhang, P., Dong, K. & Huang, Y. (2010). Effects of betaine supplementation on rumen fermentation, lactation performance, feed digestibilities and plasma characteristics in dairy cows. *Journal of Agricultural Science*, 148, 487-495.