علوم دامی ایران
دورهٔ ۴۷، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۳۹۵ (ص ۲۶۰-۲۴۵)

تأثیر افزودن مونسین و متافیکس به جیره بر تولید و ترکیب شیر، فراسنجه‌های شکمبه و متابولیت‌های سرم خون در گاوهای شیردهٔ هلشتاین

آرش آذرفر[1*]، یونس ستاری کرکزلو[2]، علی کیانی[3]، حشمت ا... خسروی نیا[4] و مجید خالداری[5]
۱، ۲، ۳، ۴ و ۵. دانشیار، دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار، استاد و استادیار، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه لرستان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۹- تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۱/۲۳)

چکیده

به‌منظور بررسی و ارزیابی تأثیر افزودن مونسین و متافیکس (ترکیبی از اسیدهای دی‌کربوکسیلیک آلی مالات و فومارات) به جیره بر تولید و ترکیب شیر، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و غلظت متابولیت‌های خون از چهار رأس گاو شیردهٔ هلشتاین چند شکم‌زا با میانگین وزنی ۱۲±۶۵۷ کیلوگرم و روزهای شیردهی ۴۱±۱۳۳ روز استفاده شد. گاوها به‌طور تصادفی به جیره‌های آزمایشی شامل: ۱) جیرهٔ پایه به‌عنوان شاهد (بدون افزودنی)، ۲) جیرهٔ حاوی ۲۴ میلی‌گرم مونسین در هر کیلوگرم مادهٔ خشک، ۳) جیرهٔ حاوی ۵ گرم متافیکس در هر کیلوگرم مادهٔ خشک و ۴) جیرهٔ حاوی ۲۴ میلی‌گرم در کیلوگرم مونسین و ۵ گرم در کیلوگرم مادهٔ خشک متافیکس اختصاص داده شدند. افزودن مونسین با و یا بدون متافیکس به‌طور معنی‌داری مادهٔ خشک مصرفی را کاهش و تولید و بازدهٔ شیر را افزایش داد (P<۰/۰۵). افزودن مونسین به‌تنهایی به جیره‌ها باعث گرایش به افزایش غلظت پروپیونات و کاهش معنی‌دار غلظت استات، بوتیرات و نسبت استات به پروپیونات در شکمبه شد (P<۰/۰۵). افزودن مونسین به جیرهٔ گاوهای شیرده در اواسط دورهٔ شیردهی باعث افزایش معنی‌دار غلظت تری‌گلیسریدهای سرم در مقایسه با گاوهای گروه شاهد و گروه دریافت‌کنندهٔ متافیکس شد (P<۰/۰۵). افزودن متافیکس به‌تنهایی به جیره باعث افزایش معنی‌دار پروتئین کل در سرم خون شد (P<۰/۰۵). غلظت انسولین سرم درنتیجه افزودن مونسین و متافیکس به‌تنهایی در مقایسه با دیگر تیمارها کاهش یافت (P<۰/۰۵). افزودن همزمان مونسین و متافیکس ولی غلظت تری‌گلیسیریدها و پروتئین کل در خون گاوهای شیرده را افزایش داد (P<۰/۰۵).

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب فرار، گاو شیری، متابولیت‌های سرم، مونسین، متافیکس.

مقدمه

استفاده از افزودنی ناقل یون (یونوفر)ها در تغذیهٔ گاوهای شیرده برای افزایش تولید شیر و بهبود پاسخ ایمنی حیوان در سال‌های اخیر گسترش یافته است (Ipharraguerro & Jimmy Clark 2003; Phipps *et al.*, 2000). ناقل‌های یونی افزون بر اثرگذاری‌های سودمند بر تولید شیر و توان ایمنی بدن، بر وضعیت سلامتی دام و توان تولیدمثلی گاوهای شیری نیز مؤثر هستند (Ipharraguerro & Jimmy Clark, 2003). مونسین از مهم‌ترین ترکیب‌های ناقل یونی و نتیجهٔ

* تلفن: ۰۹۱۶۶۶۲۷۸۴۵
E-mail: arash.azarfar@gmail.com

تخمیر قارچ استرپتومایسیس سیناموننسین[1] است (McGuffey *et al*., 2001). محرک‌های ناقل یونی از جمله موننسین و لازالوسید ، قادر به تغییر در وضعیت جابجایی یون‌ها در دو طرف غشاهای بافت زنده (بیولوژیک) بوده و از این راه باعث تولید بیشتر پروپیونات و کاهش تولید استات و متان در محیط شکمبه می‌شوند. به‌طورمعمول از این مواد در جیرهٔ گاوهای شیری برای تغییر تخمیر شکمبه و افزایش عملکرد تولید استفاده می‌شود (McGuffey *et al*., 2001). موننسین سبب کاهش رشد استرپتوکوکوس بویس و دیگر ریزجانداران (میکروارگانیسم‌های) مولد لاکتات در شکمبه می‌شود که این عمل در کاهش رخداد اسیدوز بسیار مهم است. افزایش در تولید پروپیونات و کاهش در تولید استات و ثابت ماندن کل اسیدهای چرب فرار شکمبه در اثر افزودن موننسین به جیره مورد تأیید محققان چندی قرارگرفته است (Duffield & Bagg, 2000). موننسین با کنترل باکتری‌های تجزیه‌کنندهٔ پروتئین باعث کاهش آمین‌زدایی (دآمیناسیون) و کاهش تولید آمونیاک در شکمبه می‌شود (Bergen & Bates, 1984). نتیجهٔ این تغییرپذیری‌ها در الگوی تخمیر، افزایش بازدهٔ خوراک و افزایش ابقاء انرژی و پروتئین و در کل افزایش عملکرد دام است (Duffield & Bagg , 2000). به‌رغم برتری‌های پرشمار استفاده از ناقل‌های یونی در تغذیهٔ نشخوارکنندگان، استفاده از پادزی (آنتی‌بیوتیک)های ناقل یونی چالش‌هایی همچون ایجاد گونه‌های میکروبی مقاوم در برابر ناقل‌های یونی و باقی ماندن بقایای آن‌ها در تولیدات دامی را برای دامداران به وجود آورده است (Herandez, 2004).

افزون بر پادزی‌های ناقل یونی، استفاده از اسیدهای آلی دی کربوکسیلیک همانند اسید فوماریک و اسید مالیک در کاهش میزان تولید متان و در نتیجه بهبود بازدهٔ استفاده از انرژی، حذف پروتون از محیط شکمبه و در نتیجه جلوگیری از بروز اسیدوز و کتوز در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی مؤثر است (Foley *et al*., 2009). با این وجود، نتایج گزارش‌شده با یکدیگر همخوانی کامل ندارند (Foley *et al*., 2009). بهبود قابلیت هضم مواد مغذی، افزایش پروتئین میکروبی در رودهٔ کوچک، افزایش غلظت پروپیونات از راه تأثیر بر مسیر سوکسینات-پروپیونات، افزایش pH شکمبه، کاهش تولید متان و کاهش غلظت لاکتات به‌عنوان تأثیر مثبت اسیدهای آلی در تغذیهٔ گاوهای شیری گزارش شده است (Martin *et al*., 1994; Carro & Ranilla, 2003). با توجه به سازوکار متفاوت تأثیرگذاری ناقل‌های یونی پادزی و اسیدهای آلی دی کربوکسیلیک بر میزان متابولیت‌های خون در گاوهای شیری، تحقیقات اندکی تأثیر استفادهٔ همزمان از این دو نوع مکمل در جیرهٔ گاوهای شیرده را بررسی کرده‌اند. لذا هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی تأثیر استفاده از مکمل موننسین و متافیکس (حاوی اسید مالیک و فوماریک) به‌تنهایی و یا به‌صورت مخلوط بر تولید و ترکیب شیر، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و غلظت متابولیت‌های خون در گاوهای شیرده بود.

مواد و روش‌ها

چهار رأس گاو شیری هلشتاین چند شکم‌زا با میانگین وزنی ۱۲±۶۵۷ (کیلوگرم)، امتیاز وضعیت بدنی ۰/۳۲±۳/۱۳ و با روزهای شیردهی ۴۱±۱۳۳ روز انتخاب شدند. گاوها به‌طور تصادفی به چهار جیرهٔ آزمایشی شامل: ۱) جیرهٔ پایه به‌عنوان شاهد، ۲) جیرهٔ حاوی ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل موننسین، ۳) جیره با ۵ گرم در کیلوگرم مکمل متافیکس و ۴) جیره با ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم موننسین و ۵ گرم در کیلوگرم متافیکس، در قالب طرح مربع لاتین (۴×۴) با چهار تکرار اختصاص داده شدند. گاوهای مورد آزمایش در سالن سرپوشیده در جایگاه‌های انفرادی توسط یک زنجیر به آخور مربوطه بسته شدند. طول هر دورهٔ آزمایش ۲۱ روز بود که چهارده روز اول برای سازگار شدن گاوها به جیره‌های آزمایشی و هفت روز آخر برای گردآوری داده‌ها در نظر گرفته شد. جیره‌های آزمایشی (جدول ۱) به‌صورت کامل مخلوط شده بودند و دو بار در روز در ساعت‌های ۸:۰۰ صبح و ۱۴:۰۰ عصر در اختیار گاوها قرار گرفتند به‌گونه‌ای‌که باقیماندهٔ خوراک آن‌ها بیش از ۱۰ درصد خوراک

1. *Streptomyces sinamonensin*

عرضه شده بود. نسبت علوفه به کنسانتره در هر چهار جیره ۴۳ به ۵۷ درصد بود. مونسین بر پایهٔ بیشینه میزان توصیه‌شده (۲۴ میلی‌گرم در هر کیلوگرم مادهٔ خشک) برای استفاده در جیرهٔ گاوهای شیری استفاده شد (Canadian Food Inspection Agency, 2011). مکمل متافیکس بر پایهٔ توصیهٔ کارخانهٔ سازنده (تهران دانه، تهران، ایران) به جیره‌ها افزوده شد. همهٔ جیره‌ها بر پایهٔ توصیه‌های نیازهای غذایی گاوهای شیری مخلوط (فرموله) شدند (جدول ۱؛NRC, 2001). علوفهٔ مورداستفاده در آزمایش به‌صورت یکسان در همهٔ جیره‌ها ذرت سیلوشده و یونجه بود. گاوها به آب دسترسی آزاد داشتند.

جدول ۱. اجزاء تشکیل‌دهندهٔ جیره‌های آزمایشی و محتوای مواد مغذی آن‌ها (درصد از مادهٔ خشک)

Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets (DM basis)

	Diet [a]			
	C	M	ME	MM
Ingredient, %				
Alfalfa hay	27.0	27.0	27.0	27.0
Ground barley	16.0	16.0	16.0	16.0
Ground corn	7.0	7.0	7.0	7.0
Cotton seed	13.0	13.0	13.0	13.0
Cotton seed meal	9.0	9.0	9.0	9.0
Soybean meal	9.5	9.5	9.5	9.5
Beet pulp	6.6	6.3	5.8	5.7
Wheat bran	7.0	7.0	7.0	7.0
Salt	0.5	0.5	0.1	0.1
Limestone	1.0	1.0	1.0	1.0
Di-calcium phosphate	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium bicarbonate	0.7	0,7	0,7	0,7
Mineral and vitamin premix [b]	1.5	1.5	1.5	1.5
Monensin (mg/kg DM) [c]	-	24	-	24
Methafix [d]	-	-	0.5	0.5
Chemical composition, % of DM				
Crude protein	16.87	16.95	16.95	16.95
Crude fat	.82	6.92	6.82	6.82
NDF	31.2	31.6	31.2	31.2
NFC [e]	36.61	35.53	36.67	36.61
Ash	8.5	9.0	8.5	8.5
NEL[f], MJ/kg	6.57	6.57	6.57	6.57

۱. هر کیلوگرم مکمل مواد ویتامینی- کانی دارای ۱۸۰ گرم کلسیم،۷۰ گرم فسفر، ۳۵ گرم پتاسیم، ۵۰ گرم سدیم، ۵۸ گرم کلر، ۳۰ گرم منیزیم، ۳۲ گرم سولفور، ۵ گرم منگنز، ۴ گرم آهن،۳ گرم روی، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت،۲۰ میلی‌گرم سلنیوم،۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E و۳ گرم پاداکسنده است.

۲. هر کیلوگرم مکمل مونسین ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم مونسین دارد.

۳ . مکمل متافیکس شامل ترکیبی از اسیدهای دی کربوکسیلیک آلی همچون مالیک اسید، فوماریک اسید بود.

۴. (۰/۰۳۹۵ × محتوی لاکتوز شیر) + (۰/۰۵۴۷ × محتوی پروتئین شیر) + (۰/۰۹۲۹ × محتوی چربی شیر) = انرژی خالص شیر (مگاژول به ازای هر کیلوگرم)

a. Diets = C: diet containing without monensin and Methafix; M: diet supplemented with 24 mg of monensin/kg DM; ME: diet supplemented with 4 g of Methafix/kg DM; ME: diet supplemented with 24 mg of monensin/kg DM and 4 g of Methafix/kg DM.

b. Each kg (DM basis) of mineral and vitamin permix 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 D3; 100 IU of vitamin E; and 3 g of antioxidant.

c. Contained 10,0000 mg of rumensin/kg.

d. Contained a mixture of maleic and fumaric acid.

e. Non-fiber carbohydrates (NFC) = 100 – (CP + NDF +EE + ash)

f. Net energy for lactation = (milk fat content × 0.0929) + (milk protein content × 0.0547) + (milk lactose content × 0.0395)

نمونهٔ خوراک و باقیماندهٔ خوراک هر یک از گاوها در طول دورهٔ گردآوری داده‌ها به‌صورت روزانه گردآوری شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجهٔ سلسیوس در آون خشک شد. نمونه‌های خشک شده با استفاده از آسیاب دارای الک ۱ میلی‌متری آسیاب شدند. نمونه‌های هر گاو در هر دوره باهم مخلوط شدند.

مادهٔ خشک مصرفی روزانه در طول دو هفتهٔ اول یک روز در میان و هفتهٔ سوم به‌طور روزانه اندازه‌گیری و داده‌های هفتهٔ سوم تجزیه‌وتحلیل آماری شدند. نمونه‌های خوراک و باقیماندهٔ خوراک برای مادهٔ خشک، خاکستر، پروتئین خام، چربی خام (AOAC, 2000) و الیاف نامحلول در شویندهٔ خنثی (NDF، بدون آلفا-آمیلاز و سولفیت سدیم) (Van Soest *et al.*, 1991) تجزیهٔ آماری شدند. کربوهیدرات‌های

غیرالیافی (NFC) با کسر کردن مجموع خاکستر، چربی، پروتئین و الیاف نامحلول در شویندهٔ خنثی از صد محاسبه شد (NRC, 2001).

ثبت تولید شیر در دو هفتهٔ اول به‌صورت یک روز در میان و در هفتهٔ آخر هر روز انجام شد. در روزهای ۱۶ و ۱۷ هر دورهٔ آزمایشی نمونه‌های شیر از چهار شیردوشی متوالی گرفته شد و برای هر دوره و هر گاو با هم مخلوط شد تا یک نمونه برای هر گاو در هر دوره به دست آید. نمونه‌های شیر با افزودن ۲-برومو-۲-نیتروپروپن-۱-۲ دیول در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس تا هنگام تجزیه‌های بعدی ذخیره شد. میزان چربی، پروتئین، لاکتوز، نیتروژن اوره‌ای و شمارش یاخته‌های بدنی شیر با استفاده از دستگاه میلکواسکن (133B, Foss Electric, Hillerod, Denmark) انجام شد. میزان شیر تولیدی تصحیح‌شده بر پایهٔ ۴ درصد چربی، بر پایهٔ ترکیب ارائه‌شده توسط نیازهای غذایی گاوهای شیری (NRC, 2001) محاسبه شد. شیر تصحیح‌شده برای انرژی بر پایهٔ ترکیب ارائه‌شده توسط Tyrrel & Reid (1965) محاسبه شد. انرژی ویژهٔ شیر بر پایهٔ فرمول ارئه‌شده برای تعیین نیازهای غذایی گاوهای شیری توسط انجمن تحقیقات ملی آمریکا (NRC, 2001) و به‌صورت زیر محاسبه شد:

= انرژی خالص شیر (مگاژول به ازای هر کیلوگرم)
(۰/۰۳۹۵ × محتوای لاکتوز شیر) + (۰/۰۵۴۷×محتوای پروتئین شیر) + (۰/۰۹۲۹×محتوای چربی شیر)

محتوای پروتئین خام شیر از ضرب محتوای نیتروژن بر ۶/۳۸ محاسبه شد. میزان مصرف انرژی ویژهٔ شیرواری و نیتروژن هر یک از جیره‌ها از حاصل‌ضرب محتوای انرژی ویژه و نیتروژن آن‌ها در میزان مادهٔ خشک مصرفی به دست آمد (NRC, 2001). بازدهی استفاده از نیتروژن و انرژی ویژهٔ شیرواری برای تولید شیر با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شد (Abdi *et al*., 2013):

= بازدهٔ استفاده از نیتروژن

$$\frac{\text{نیتروژن شیر (کیلوگرم در روز)}}{\text{نیتروژن مصرفی (کیلوگرم/ در روز)}} \times ۱۰۰$$

= بازدهٔ استفاده از انرژی خالص ویژهٔ تولید شیر

$$\frac{\text{انرژی خالص شیر (مگا کالری)}}{\text{انرژی خالص مصرفی (مگا کالری)}} \times ۱۰۰$$

نمرهٔ وضعیت بدنی در روز شانزدهم هر دورهٔ آزمایشی توسط یک فرد با استفاده از یک معیار ۵ نمره‌ای (۱= لاغر تا ۵= چاق) تعیین شد (Edmonson *et al*., 1989). نمونه‌برداری از خون در روز نوزدهم هر دورهٔ آزمایشی از راه سیاهرگ دم انجام شد. نمونه‌های خون پیش از تغذیهٔ صبحگاهی به میزان ۱۰ میلی‌لیتر درون لوله‌های بدون مادهٔ ضد انعقاد گردآوری شد و بی‌درنگ به مدت نیم ساعت در هوای آزاد قرارداده شد تا سرم آن جدا شود. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه انتقال داده و سانتریفوژ شد. سرم نمونه‌های خون با سانتریفوژ کردن نمونه‌ها با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس به مدت پانزده دقیقه جدا شد و در دمای ۲۱- درجهٔ سلسیوس تا زمان تجزیه برای متابولیت‌های خونی نگهداری شد. نمونه‌های سرم به‌منظور اندازه‌گیری میزان گلوکز، تری گلیسریدها، کلسترول، اوره، پروتئین کل، بتا هیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب آزاد غیر استریفه استفاده شدند (کیت‌های دامپزشکی پارس طب، ایران). غلظت انسولین سرم با استفاده از شیوهٔ DELIFA (Sandwich-type time-resolved fluoroimmunoassay) اندازه‌گیری شد.

در آخرین روز آزمایش نمونه‌گیری از مایع شکمبه در چهار ساعت پس از خوراک‌دهی صبح انجام شد. برای این منظور از شلنگ مری به طول ۲/۵ متر و قطر ۱۵میلی‌متر، ارلن خلأ و پمپ مکنده استفاده شد. برای جلوگیری از تأثیر بزاق بر pH مایع شکمبهٔ گرفته‌شده، نخستین نمونهٔ گرفته‌شده دور ریخته و از دومین نمونه استفاده شد. پس از پالایش مایع شکمبه توسط چهار لایه پارچهٔ متقالی حدود ۸ میلی‌لیتر از مایع شکمبه برای تجزیهٔ اسیدهای چرب فرار برداشته و به نمونه‌ها ۲میلی‌لیتر اسید متافسفریک (۲۵درصد) برای متوقف شدن فعالیت باکتری‌ها و پروتئین‌زدایی و حفظ نمونه‌ها تا هنگام تجزیه اضافه شد. نمونه‌ها تا هنگام تجزیه در دمای ۲۱- درجهٔ سلسیوس ذخیره شد.

اسیدهای چرب فرار با استفاده از دستگاه فام‌نگار (کروماتوگرافی) گازی (Fisons Instruments, HRGC mega 2, Milan, Italy) اندازه‌گیری شد. برنامهٔ دمایی و دیگر ویژگی‌های دستگاه به‌صورت زیر بود:

دمای تزریق‌کننده[1] و تشخیص‌دهندهٔ[2] دستگاه به ترتیب ۱۱۰ و ۲۰۰ درجهٔ سلسیوس بود. گاز ناقل در این دستگاه هلیوم و تشخیص‌دهندهٔ آن از نوع FID[3] بود. دمای ستون دستگاه در آغاز ۱۱۰ درجهٔ سلسیوس بود که به مدت دو دقیقه در این دما نگه داشته شد و سپس در طول پنج دقیقه به ۲۰۰ درجهٔ سلسیوس رسانده شد و برای یک دقیقه در این دما باقی ماند. ستون مورداستفاده از نوع مویینه به طول ۳۰ متر بود (Alltech Capillary Column, EC^{TM} 1000, length 30 meters, inside diameter 0.53 mm, film thickness 1 micron). ایزوکاپروئیک اسید به‌عنوان استاندارد داخلی استفاده شد. غلظت هر یک از اسیدهای چرب فرار از تقسیم سطح زیر اوج (پیک) آن اسید چرب بر سطح زیر پیک مجموع اسیدهای چرب محاسبه و به درصدی از مجموع اسیدهای چرب فرار بیان شد.

نسبت اسیدهای چرب غیر گلوکوژنیک به گلوکوژنیک (NGR) با استفاده از رابطهٔ زیر محاسبه شد (Ørskov, 1975):

$$NGR = \frac{HAc + 2 \times HBu + Hval}{HPr + Hval}$$

که در آن NGR نسبت اسیدهای چرب غیرگلوکوژنیک به گلوکوژنیک، HAc غلظت استات، HBu غلظت بوتیرات، Hval غلظت ایزووالرات و HPr غلظت پروپیونات است.

با فرض اینکه ایزوبوتیرات و ایزووالرات از تجزیهٔ پروتئین‌های جیره‌ای منشأ می‌گیرند، نسبت این اسیدهای چرب به مجموع اسیدهای چرب فرار محاسبه شد و به‌عنوان معیاری از میزان تجزیهٔ پروتئین در شکمبه به‌عنوان نسبت اسیدهای چرب شاخه‌دار نامیده شد.

داده‌های آزمایش با استفاده از رویهٔ MIXED نرم‌افزار SAS (2003) با استفاده از مدل زیر تجزیه‌وتحلیل شدند:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + C_j + P_k + e_{ijkl}$$

که در آن Y_{ijkl} مقدار مربوط به هر مشاهده برای متغیر وابسته، μ میانگین جامعه (کل)، T_i اثر ثابت تیمار، C_j اثر تصادفی حیوان، P_k اثر ثابت دوره و e_{ijkl} اثر تصادفی خطای باقی‌مانده بود. به دلیل نبود تأثیر معنی‌دار، اثر باقی‌مانده از دورهٔ پیش آزمایشی (carry over effect) از مدل حذف شد. مقایسهٔ میانگین کمینهٔ مربعات با استفاده از آزمون کمینه تفاوت معنی‌دار محافظت‌شدهٔ فیشر انجام شد. برای همهٔ مقایسه‌های معنی‌داری در سطح P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. گرایش به معنی‌داری در سطح P<۰/۱ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

مصرف مواد مغذی،تولید شیر و ترکیب‌های شیر

اثر افزودن مونسین و متافیکس بر میزان مادهٔ خشک، مادهٔ آلی و پروتئین خام مصرفی در جدول ۲ نشان داده شده است. افزودن مونسین و متافیکس به جیره به‌طور معنی‌داری میانگین مادهٔ خشک و مادهٔ آلی مصرفی را نسبت به گروه شاهد کاهش داد (P<۰/۰۱). تأثیر مونسین در کاهش خوراک مصرفی می‌تواند به دلیل بهبود بازدهٔ تخمیر در شکمبه، افزایش تولید پروپیونات، افزایش بازدهٔ انرژی و بازدهٔ هضمی و کاهش میزان عبور مواد هضمی از شکمبه باشد (Nagaraja, 1995). برخلاف نتایج این تحقیق برخی از بررسی‌ها گزارش کرده‌اند که افزودن مکمل مونسین تأثیر معنی‌داری بر مادهٔ خشک مصرفی نداشت (Martinez *et al*., 2009; Ghorbani *et al*., 2010). دلیل تناقض در نتایج بررسی‌ها با سطوح مختلف مونسین را به عامل‌هایی همانند نوع جایگاه نگهداری، مرحلهٔ شیردهی، شمار شکم زایش، نژاد دام‌ها و طول دورهٔ آزمایش نسبت داده‌اند (Mullins *et al*., 2012). به‌طورکلی نشان داده شده است که افزودن ناقل‌های یونی به جیرهٔ غذایی مادهٔ خشک مصرفی را تا ۶ درصد کاهش و انرژی خالص نگهداری را تا ۱۲ درصد افزایش می‌دهد (NRC, 1996). به نظر می‌رسد بیشترین اثر مونسین ناشی از کاهش مصرف خوراک و در نتیجه افزایش بازدهٔ خوراکی باشد (Lana *et al*., 1997). Foley *et al*. (2009) گزارش کردند

1. Injector
2. Detector
3. Flame Ionized Detector

افزودن مالات به جیرهٔ گاوهای شیری به‌طور معنی‌داری مادهٔ خشک مصرفی را کاهش داد. گزارش شده که اسیدهای دی کربوکسیلیک آلی می‌توانند تخمیر شکمبه‌ای و قابلیت هضم الیاف را کاهش داده و بنابراین موجب انباشتگی مواد فیبری در شکمبه شده و با کاهش سرعت عبور مواد از شکمبه، مادهٔ خشک مصرفی را کاهش می‌دهد (Yu *et al*., 2010). میزان مصرف روزانهٔ پروتئین خام در گاوهایی که با جیره‌های حاوی مونسین و متافیکس به‌تنهایی و یا به‌صورت مخلوط تغذیه شدند با گاوهای تغذیه‌شده با جیرهٔ شاهد یکسان بود (جدول ۲). به‌هرحال میانگین مصرف روزانهٔ پروتئین در گاوهایی تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی متافیکس به دلیل مصرف پایین‌تر مادهٔ خشک (به لحاظ عددی) به‌طور معنی‌داری کمتر از جیرهٔ حاوی مونسین و متافیکس بود (جدول ۲). افزودن مونسین و متافیکس به‌تنهایی و یا به‌صورت مخلوط به جیرهٔ غذایی تأثیری بر میانگین مصرف روزانهٔ NDF، NFC و عصارهٔ اتری نداشت (جدول ۲).

جدول۲. تأثیر جیره‌های آزمایشی بر میانگین مصرف مواد مغذی

Table 2. Nutrient intake of experimental diets

	Diet [a]				SEM	Diet effect [c]
	C	M	ME	MM		
Intake						
DM (kg/d)	19.23[a]	18.85[b]	18.94[b]	19.01[b]	0.28	0.02
OM (kg/d)	17.06[a]	16.73[b]	16.74[b]	16.86[b]	0.27	0.02
CP (kg/d)	3.25[ab]	3.19[ab]	3.17[b]	3.27[a]	0.05	0.07
EE (kg/d)	1.24	1.23	1.23	1.24	0.01	0.44
NDF (kg/d)	5.61	5.35	5.62	5.52	0.19	0.88
NFC (Kg/d)	7.0	6.81	6.86	6.91	0.15	0.39

۱. جیرهٔ شاهد بدون افزودن مکمل مونسین یا متافیکس؛ ۲. جیره با ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل مونسین؛ ۳. جیره با ۵ گرم در کیلوگرم مکمل متافیکس؛ ۴. جیره با ۲۴۰ میلی‌گرم مونسین و ۵ گرم در کیلوگرم متافیکس؛ ۵. سطح معنی‌داری.

* در هر ردیف میانگین دست‌کم مربعاتی که با حروف ناهمسان نشان داده شده‌اند اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

a. Diets = C: diet containing without monensin and Methafix; M: diet supplemented with 24 mg of monensin/kg DM; ME: diet supplemented with 4 g of Methafix/kg DM; ME: diet supplemented with 24 mg of monensin/kg DM and 4 g of Methafix/kg DM.

c. Probability for F-test of diet effect.

a,b. Mean within a row with different superscripts differ (P<0.05).

نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن مونسین و متافیکس به‌تنهایی یا به‌صورت مخلوط میانگین تولید روزانه را به‌طور معنی‌داری در گاوهای شیری افزایش داد (P<۰/۰۵؛ جدول ۳). در رابطه با تأثیر مونسین بر تولید شیر نتایج متناقضی گزارش شده است. در برخی از پژوهش‌ها استفاده از مونسین در جیرهٔ گاوهای شیرده (Abdi *et al*., 2013; Fatahnia *et al*., 2010) تولید شیر را افزایش داد، در دیگر بررسی‌ها تأثیری بر آن نداشت (Grainger *et al*., 2008; Odongo *et al*., 2007). در این آزمایش اگرچه مادهٔ خشک مصرفی به‌طور معنی‌داری درنتیجهٔ استفاده از مونسین و متافیکس به‌تنهایی یا به‌صورت همراه کاهش یافت، اما استفاده از این افزودنی‌های خوراکی در جیره بازدهٔ تولید شیر را به‌طور معنی‌داری نسبت به جیرهٔ شاهد افزایش داد (جدول ۳) که می‌تواند توجیهی بر افزایش تولید شیر مشاهده‌شده درنتیجهٔ مصرف این افزودنی‌ها در این پژوهش باشد.

افزودن مونسین به جیرهٔ غذایی با کاهش تولید متان و افزایش نسبت مولار پروپیونات به استات در شکمبه می‌تواند بازدهٔ استفاده از انرژی را در دام‌های نشخوارکننده بهبود بخشیده و از این راه سبب افزایش تولیدات دام شود (McGuffey *et al*., 2001). Sniffen *et al*. (2006) مشاهده کردند که تولید شیر با افزودن ۵۰ گرم مکمل اسید مالیک جیرهٔ گاوهای شیرده افزایش یافت. O'Mara *et al*. (2008) نشان دادند که افزایش در عملکرد حیوان به هنگام افزودن اسیدهای آلی دی کربوکسیلیک به جیره به‌طور عمده ناشی از کاهش تولید متان به ازای هر کیلوگرم فرآوردهٔ تولیدی است.

در این پژوهش، افزودن مونسین و متافیکس

به‌تنهایی و یا به‌صورت مخلوط تأثیر معنی‌داری بر ترکیب‌ها و تولید ترکیب‌های شیر، بازدهی استفاده از انرژی ویژه و پروتئین خام جیره نداشت ولی بازدهی استفاده از مادهٔ خشک را برای تولید شیر به‌طور معنی‌داری افزایش داد که می‌تواند ناشی از کاهش مصرف مادهٔ خشک در نتیجه افزودن این افزودنی‌ها به جیره باشد (جدول ۳).

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

افزودن مونسین به‌تنهایی به جیره به‌طور معنی‌داری غلظت استات و بوتیرات شکمبه را نسبت به گروه شاهد کاهش داد (جدول ۴؛ P<۰/۰۵). همچنین افزودن مونسین به جیره با گرایش به معنی‌داری میزان پروپیونات را افزایش داد (P<۰/۱). ولی افزودن مکمل متافیکس به‌تنهایی و مکمل متافیکس به همراه مونسین تأثیر معنی‌داری بر غلظت استات، بوتیرات و پروپیونات شکمبه نداشت (P>۰/۰۵). مونسین به دلیل مهار انتخابی باکتری‌های گرم مثبت شکمبه می‌تواند رخ‌نمای (پروفیل) اسیدهای چرب فرار در شکمبه را تغییر دهد به‌گونه‌ای‌که سهم پروپیونات افزایش و سهم استات و بوتیرات کاهش یابد (Duffiel *et al*., 2008). برخلاف نتایج این تحقیق در برخی بررسی‌ها افزودن مونسین تأثیر معنی‌داری بر غلظت استات و کل اسیدهای چرب فرار نداشت (Abd *et al*., 2013; Oelker *et al*., 2009). مشخص شده است که پادزی‌های ناقل یونی به‌ویژه مونسین، می‌تواند تغییر در وضعیت جابجایی یون‌ها در دو طرف غشاهای بافت زندهٔ ریزجانداران ایجاد کرده و از این راه باعث افزایش تولید پروپیونات و کاهش تولید استات و متان در شکمبه می‌شوند (Surber & Bowman, 1998). Sniffen *et al*. (2006) گزارش کردند افزودن مقادیر ۰، ۵۰ و ۱۰۰ گرم در روز مالات به جیرهٔ گاوهای شیری در اواسط دورهٔ شیردهی تأثیر معنی‌داری بر تولید استات نداشت. برخلاف این گزارش‌ها، در یک بررسی روی گاوهای شیری نشان داده شد که افزودن ۰، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ گرم در روز مالات، غلظت استات و بوتیرات را افزایش داد (Kung *et al*., 1982).

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش گویای نبود تأثیر جیره‌های آزمایشی بر غلظت پروپیونات شکمبه بود (جدول ۴). به‌هرحال افزودن مونسین به جیره با گرایش به معنی‌داری میزان پروپیونات را افزایش داد (P<۰/۱). هماهنگ با نتایج این تحقیق، در اغلب بررسی‌های انجام‌شده افزایش پروپیونات شکمبه را با افزودن مونسین به جیره‌های گاوهای شیری و پرواری گزارش کرده‌اند (Grainger *et al*., 2008; McGinn *et al*., 2004). به‌عنوان‌مثال، اضافه کردن ۲۴۰ میلی‌گرم مونسین در روز به جیرهٔ گاوهای شیری غلظت پروپیونات شکمبه را به میزان ۱۷ درصد افزایش داد (Sauer *et al*., 1989). مونسین با مهار انتخابی رشد و افزایش باکتری‌های گرم مثبت شکمبه، رخ‌نمای اسیدهای چرب فرار را تغییر می‌دهد که درنتیجهٔ آن سهم پروپیونات افزایش و سهم استات و بوتیرات کاهش می‌یابد (Duffield *et al*., 2008).

همچنین مشخص شده است که افزودن ناقل‌های یونی به‌ویژه مونسین باعث می‌شود تا تولید پروپیونات از لاکتات از مسیر اکریلات افزایش یابد و در نتیجه مجموع پروپیونات تولیدی نیز بیشتر شود (Bergen & Bates, 1984). در رابطه با تأثیر اسیدهای آلی بر غلظت پروپیونات شکمبه اگرچه در این بررسی تأثیر معنی‌داری مشاهده نشد، ولی اغلب بررسی‌ها نشان داده‌اند که افزودن اسیدهای آلی به جیره موجب افزایش غلظت پروپیونات در شکمبه می‌شود. در این زمینه با افزودن مقادیر ۰، ۴، ۸ و ۱۲ میلی‌مول از اسیدهای آلی دی ال-مالات، فومارات و ال-آسپارتات به‌تنهایی، به‌صورت مخلوط باهم و یا با افزودن ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم مونسین گزارش شد که استفاده از مکمل ال-آسپارتات همراه با مونسین باعث افزایش غلظت پروپیونات در شکمبه شد (Callaway & Martin, 1996). در رابطه با دلیل افزایش پروپیونات شکمبه با افزودن اسیدهای آلی چنین اذعان شده است که اسیدهای آلی دی کربوکسلیک همانند مالیک اسید و فوماریک اسید به‌عنوان حد واسط در چرخهٔ اسیدسیتریک و مسیر سوکسینات-پروپیونات باکتری‌های شکمبه همچون *Selenomonas ruminantium* شرکت می‌کنند و در نتیجه تولید سوکسینات و پروپیونات را در شکمبه افزایش می‌دهند (Castilo *et al*., 2004).

جدول ۳. تولید و ترکیب شیر گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی

Table 3. Milk production and composition in lactating dairy cows fed experimental diets

	Diet [a]				SEM	Diet effect [b]
	C	M	ME	MM		
Milk production (kg/d)	22.63[c]	23.43[b]	24.84[a]	23.82[b]	1.02	<0.0001
4% FCM[c] (kg/d)	21.75	21.09	23.24	20.76	1.07	0.03
ECM[d] (kg/d)	22.75	22.21	24.43	21.77	1.16	0.29
Milk composition (%)						
Fat	3.75	3.35	3.87	3.15	0.30	0.30
Protein	2.68	2.64	2.73	2.48	0.10	0.64
Lactose	4.34	4.33	4.27	3.88	0.22	0.45
Milk urea nitrogen	0.09	0.12	0.11	0.07	0.01	0.21
Solid not fat	8.19	8.13	8.18	7.53	0.37	0.54
Total solid	11.89	11.64	11.27	10.68	0.61	0.55
Somatic cell counts (× 1000/ml)	1098	887	782	265	251	0.13
Milk composition (kg/day)						
Fat	0.85	0.78	0.88	0.75	0.05	0.34
Protein	0.60	0.61	0.67	0.59	0.04	0.46
Lactose	0.98	1.01	1.05	0.93	0.06	0.47
Body condition score	3.32	3.33	3.28	3.36	0.15	0.86
Net energy of milk (MJ/kg)	2.79	2.62	2.71	2.43	0.13	0.33
Produced net energy for lactation (MJ/day)	63.14	61.16	67.15	58.13	3.78	0.34
Milk production/DMI	1.18[c]	1.24[b]	1.31[a]	1.25[b]	0.037	0.001
NE_L milk/NE_L intake	0.50	0.49	0.53	0.46	0.52	0.33
Milk N/N intake	18.73	19.31	20.86	18.47	1.17	0.42

۱. ((کیلوگرم)تولیدچربی ×۱۵)+((کیلوگرم)×تولید شیر × ۰/۴) = (کیلوگرم) FCM

۲. ((کیلوگرم)تولید پروتئین × ۷/۲)+ ((کیلوگرم) تولید چربی × ۱۲/۹۵) + ((کیلوگرم) تولید شیر × ۰/۳) = ECM

۳. شمارش یاخته‌های بدنی، ۴. نمرهٔ وضعیت بدنی، ۵. سطح معنی‌داری.

* در هر ردیف میانگین دست‌کم مربعاتی که با حروف ناهمسان نشان داده شده‌اند اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

a. Diets = C: diet containing without monensin and Methafix; M: diet supplemented with 24 mg of monensin/kg DM; ME: diet supplemented with 4 g of Methafix/kg DM; ME: diet supplemented with 24 mg of monensin/kg DM and 4 g of Methafix/kg DM.
b. Probability for F-test of diet effect.
c. FCM (kg) = (0.4 × milk production (kg)) + (15 × fat production (kg))
d. ECM = (0.3 × milk production (kg)) + (12.95 × fat production (kg)) + (7.2 × protein production (kg))
a,b,c. Mean within a row with different superscripts differ (P<0.05).

همسو با نتایج این تحقیق، با افزودن مونسین به جیرهٔ گاوهای شیرده کاهش در غلظت بوتیرات در شکمبه مشاهده شده است (Dye *et al*., 1988; Van der werf *et al*., 1998). برخلاف این نتایج، در گزارشی افزودن مونسین بر غلظت بوتیرات شکمبه بی‌تأثیر بود ولی غلظت ایزوبوتیرات را کاهش داد (Gehman *et al*., 2008). باکتری‌های گرم مثبت، عمده باکتری‌های درگیر در فرآیندهای تخمیری شکمبه‌ای هستند که فرآورده‌های نهایی آن‌ها در شکمبه به‌طور عمده استات، بوتیرات، فرمات، هیدروژن و آمونیاک است. ازآنجایی‌که مونسین بر فعالیت باکتری‌های گرم مثبت شکمبه اثر می‌گذارد و باعث کاهش جمعیت آن‌ها می‌شود، افزودن آن به جیره می‌تواند منجر به کاهش تولید بوتیرات در شکمبه شود (Russell, 1996; Russell & Strobel, 1989). در آزمایشی مشاهده شد که افزودن مقادیر ۰، ۵۰ و ۱۰۰ گرم در روز اسید مالیک به جیره‌های گاوهای شیری در اواسط دورهٔ شیردهی تأثیری بر غلظت بوتیرات و ایزوبوتیرات شکمبه نداشت (Sniffen *et al*., 2006). مالات در فرآیند تخمیر به‌عنوان پیش‌ساز ساخت (سنتز) استات و پروپیونات شرکت دارد ولی در ساخت بوتیرات استفاده نمی‌شود، بنابراین افزودن آن به جیره ممکن است تأثیری بر غلظت بوتیرات شکمبه نداشته باشد (Carro *et al*., 2003). در این بررسی افزودن مونسین، متافیکس و متافیکس همراه با مونسین تأثیری بر غلظت والرات و ایزووالرات شکمبه نداشت (P>۰/۰۵). گزارش شده است که اسیدهای آلی با سازوکاری متفاوت از ترکیب‌های ناقل یونی بر فرآیند تخمیر بر شکمبه تأثیرگذار هستند. پادزی‌های ناقل یونی با مهار فعالیت برخی از باکتری‌ها (باکتری‌های گرم مثبت) در شکمبه فرآیند تخمیر را تحت تأثیر قرار می‌دهند. درحالی‌که اسیدهای آلی با تحریک

فعالیت برخی از باکتری‌ها همانند *Selenomonas ruminantium* بر فرآیند تخمیر در شکمبه مؤثر هستند (Castilo *et al*., 2004). گزارش شده است که افزودن مالات به جیرهٔ گاوهای شیری باعث تغییر در فرآیند هضم میکروبی شده، تغییر pH شکمبه درنهایت تغییر در مقدار و غلظت اسیدهای چرب فرار و گاز متان تولیدی در شکمبه می‌شود. این اثرگذاری‌ها با تأثیر ناقل‌های یونی در محیط شکمبه قابل‌مقایسه هستند (Callaway & Martin, 1996; Martin & Streeter, 1995).

همسو با نتایج این تحقیق، با افزودن مونسین به جیرهٔ گاوهای شیرده کاهش در غلظت بوتیرات در شکمبه مشاهده شده است (Dye *et al*., 1988; Van der werf *et al*., 1998). برخلاف این نتایج، در گزارشی افزودن مونسین بر غلظت بوتیرات شکمبه بی‌تأثیر بود ولی غلظت ایزوبوتیرات را کاهش داد (Gehman *et al*., 2008). باکتری‌های گرم مثبت، عمده باکتری‌های درگیر در فرآیندهای تخمیری شکمبه‌ای هستند که فرآورده‌های نهایی آن‌ها در شکمبه به‌طور عمده استات، بوتیرات، فرمات، هیدروژن و آمونیاک است. ازآنجایی‌که مونسین بر فعالیت باکتری‌های گرم مثبت شکمبه اثر می‌گذارد و باعث کاهش جمعیت آن‌ها می‌شود، افزودن آن به جیره می‌تواند منجر به کاهش تولید بوتیرات در شکمبه شود (Russell, 1996; Russell & Strobel, 1989). در آزمایشی مشاهده شد که افزودن مقادیر ۰، ۵۰ و ۱۰۰ گرم در روز اسید مالیک به جیره‌های گاوهای شیری در اواسط دورهٔ شیردهی تأثیری بر غلظت بوتیرات و ایزوبوتیرات شکمبه نداشت (Sniffen *et al*., 2006). مالات در فرآیند تخمیر به‌عنوان پیش‌ساز ساخت استات و پروپیونات شرکت دارد ولی در ساخت بوتیرات استفاده نمی‌شود، بنابراین افزودن آن به جیره ممکن است تأثیری بر غلظت بوتیرات شکمبه نداشته باشد (Carro *et al*., 2003). در این بررسی افزودن مونسین، متافیکس و متافیکس همراه با مونسین تأثیری بر غلظت والرات و ایزووالرات شکمبه نداشت (P>۰/۰۵). گزارش شده است که اسیدهای آلی با سازوکاری متفاوت از ترکیب‌های ناقل یونی بر فرآیند تخمیر بر شکمبه تأثیرگذار هستند. پادزی‌های ناقل یونی با مهار فعالیت برخی از باکتری‌ها (باکتری‌های گرم مثبت) در شکمبه فرآیند تخمیر را تحت تأثیر قرار می‌دهند. درحالی‌که اسیدهای آلی با تحریک فعالیت برخی از باکتری‌ها همانند *Selenomonas ruminantium* بر فرآیند تخمیر در شکمبه مؤثر هستند (Castilo *et al*., 2004). گزارش شده است که افزودن مالات به جیرهٔ گاوهای شیری باعث تغییر در فرآیند هضم میکروبی شده، تغییر pH شکمبه درنهایت تغییر در مقدار و غلظت اسیدهای چرب فرار و گاز متان تولیدی در شکمبه می‌شود. این اثرگذاری‌ها با تأثیر ناقل‌های یون در محیط شکمبه قابل‌مقایسه هستند (Callaway & Martin, 1996; Martin & Streeter, 1995).

در رابطه با دیگر فراسنجه‌های شکمبه‌ای، افزودن مونسین باعث کاهش معنی‌دار در نسبت استات به پروپیونات شد (P<۰/۰۵)، ولی این تأثیر با افزودن مکمل متافیکس به‌تنهایی و یا همراه با مونسین به جیره مشاهده نشد (P>۰/۰۵). همچنین افزودن مونسین به جیره NGR را نسبت به جیرهٔ شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵). درحالی‌که افزودن مکمل متافیکس به‌تنهایی و مکمل مونسین به همراه متافیکس تأثیری بر این فراسنجه نداشت (P>۰/۰۵). نسبت اسیدهای چرب فرار شاخه‌دار به‌کل اسیدهای چرب فرار به‌عنوان شاخصی از میزان تجزیه‌پذیری پروتئین جیره‌ای در شکمبه تحت تأثیر افزودن مکمل مونسین و متافیکس قرار نگرفت (P >۰/۰۵). کاهش نسبت استات به پروپیونات در نتیجه افزودن مونسین به جیره را می‌توان این‌گونه توجیه کرد که مونسین با مهار انتخابی باکتری‌های گرم مثبت شکمبه، رخ‌نمای اسیدهای چرب فرار را تغییر می‌دهد و در نتیجه سهم پروپیونات افزایش و سهم استات و بوتیرات کاهش می‌یابد. در نتیجه نسبت استات به پروپیونات کاهش پیدا می‌کند (Duffield *et al*., 2008). در اغلب بررسی‌های انجام‌شده با افزودن اسیدهای آلی گزارش شده است که افزودن اسیدهای آلی تأثیری بر غلظت استات شکمبه نداشت ولی غلظت پروپیونات را افزایش داد (Gomez *et al*.,

2005; Mohammed *et al*., 2004; Carro *et al*., 1999; Callaway & Martin, 1996) که با نتایج این پژوهش همخوانی نداشت. رخ‌نمای اسیدهای چرب فرار شکمبه به‌ویژه نسبت اسیدهای چرب فرار غیرگلوکوژنیک به اسیدهای چرب فرار گلوکوژنیک به‌عنوان عامل مؤثری در ترکیب نهایی فرآورده‌ها و بالانس انرژی حیوان مطرح شده‌اند (van Knegsel *et al*., 2007; Thomas & Martin, 1988). در این آزمایش، کاهش معنی‌دار NGR با افزودن مونسین نشان می‌دهد که استفاده از این ترکیب تخمیر در شکمبه را با کاهش میزان استات و افزایش پروپیونات تولیدی به سمت تولید ترکیب‌های گلوکوژنیک سوق می‌دهد. به‌هرحال با افزودن متافیکس به‌تنهایی و یا همراه با مونسین چنین اثری مشاهده نشد

جدول ۴. تأثیر افزودن مونسین و متافیکس به جیره بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای

Table 4. Effects of dietary supplementation with monensin and Methafix on rumen fermentation parameters

	Diet [a]				SEM	Diet effect [b]
	C	M	ME	MM		
pH	6.44	6.56	6.63	6.52	0.08	0.14
VFA (mol/100 mol total VFA)						
Acetate	68.26[a]	44.15[b]	71.37[a]	65.54[a]	5.89	0.05
Propionate	17.14	43.94	16.02	18.03	7.34	0.09
Iso- butyrate	0.72	1.08	0.99	1.37	0.16	0.11
Butyrate	12.06[a]	7.93[b]	8.68[ab]	11.71[a]	1.13	0.05
Valerate	0.77	0.66	0.88	0.96	0.08	0.11
Isovalerate	1.05	2.24	1.84	2.39	0.38	0.13
NGR[c]	5.2[a]	2,48[b]	5.24[a]	4.75[a]	0.60	0.04
BCR[d]	0.02	0.035	0.030	0.037	0.005	0.15
A:P[e]	3.98[a]	1.91[b]	4.40[a]	3.64[a]	0.46	0.03

۱. جیرهٔ شاهد بدون افزودن مکمل مونسین یا متافیکس؛ ۲. جیره با ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل مونسین؛ ۳. جیره با ۵ گرم در کیلوگرم مکمل متافیکس؛ ۴. جیره با ۲۴۰ میلی‌گرم مونسین و ۵ گرم در کیلوگرم متافیکس؛ ۵. سطح معنی‌داری؛ ۶. میلی‌مول در صد میلی‌مول اسیدهای چرب فرار؛ ۷. نسبت اسیدهای چرب غیرگلوکوژنیک به اسیدهای چرب گلوکوژنیک؛ ۸. نسبت اسیدهای چرب فرار منشعب به مجموع اسیدهای چرب فرار.

* در هر ردیف میانگین دست‌کم مربعاتی که با حروف ناهمسان نشان داده شده‌اند اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

a. Diets = C: diet containing without monensin and Methafix; M: diet supplemented with 24 mg of monensin/kg DM; ME: diet supplemented with 4 g of Methafix/kg DM; ME: diet supplemented with 24 mg of monensin/kg DM and 4 g of Methafix/kg DM.
b. Probability for F-test of diet effect.
c. Non-glucogenic ratio
d. Branched chain ratio
e. Acetate to propionate ratio
a,b. Mean within a row with different superscripts differ (P<0.05).

فراسنجه‌های خون

افزودن مونسین و متافیکس به‌تنهایی و یا به‌صورت مخلوط تأثیری بر غلظت گلوکز سرم گاوهای شیری نداشت. همچنین به‌طور شگفت‌آوری سطح انسولین سرم درنتیجه مصرف مونسین کاهش یافت (جدول۵). در آنالیز انجام‌شده به‌وسیلهٔ Duffield *et al*. (2008) داده‌های به‌دست‌آمده از پنج گزارش گویای تأثیر نداشتن مونسین بر غلظت انسولین خون گاوهای شیری بود. در گزارش بالا و بر پایهٔ یافته‌های Mullins *et al*. (2012) نتیجه‌گیری شد که تغییر در غلظت انسولین در پاسخ به افزودن مونسین به جیره سازوکار اصلی تغییر در سوخت‌وساز (متابولیسم) گلوکز در گاوهای شیری نیست. در توافق با نتایج این بررسی Abdi *et al*. (2013) نیز تأثیر معنی‌داری از اضافه کردن مونسین به جیرهٔ گاوهای شیری بر غلظت گلوکز پلاسما مشاهده نکردند. نتایج برخی بررسی‌ها برخلاف یافته‌های این گزارش نشان داده است که افزودن مونسین به جیره‌های گاوهای شیری باعث افزایش غلظت انسولین و گلوکز پلاسما می‌شود، که علت احتمالی آن را به تأثیر مونسین بر باکتری‌های گرم مثبت شکمبه و کاهش فعالیت آن‌ها ارتباط داده‌اند (Melendez *et al*., 2005; Ipharraguerre & Jimmy Clark, 2003). افزون بر این نشان داده شده است که افزودن مونسین به جیره با تغییر در هضم و سوخت‌وساز نیتروژن، باعث افزایش اسیدهای آمینهٔ عرضه‌شده برای جذب در رودهٔ کوچک (Haimoud *et al*., 1995) می‌شود و به‌این‌ترتیب باعث افزایش غلظت اورهٔ پلاسما می‌شود (Ruiz *et al*., 2001; Duffield *et*

al., 1998; Johnson *et al*., 1988). این امر باعث بهبود بالانس نیتروژن و افزایش ساخت گلوکز از اسیدآمینه‌های گلوکوژنیک در کبد می‌شود که نتیجهٔ نهایی آن افزایش ساخت کبدی گلوکز با استفاده از این اسیدهای آمینه است (Plaizier *et al*., 2001). در رابطه با تأثیر اسیدهای آلی بر غلظت گلوکز خون، اغلب پژوهش‌ها افزایش گلوکز خون با افزودن اسیدهای آلی را گزارش کرده‌اند. در این زمینه گزارش شده که با افزودن فومارات به جیره‌های گوساله‌هایی که تنها از جیرهٔ علوفه‌ای تغذیه می‌کردند میزان گلوکز خون افزایش پیدا کرد (Bayaru *et al*., 2001). در این زمینه پیشنهاد شده که افزودن اسیدهای آلی دی‌کربوکسیلیک به جیره‌های گاوهای شیری سبب افزایش تولید پروپیونات در شکمبه می‌شود. ازآنجاکه پروپیونات اصلی‌ترین پیش‌ساز برای ساخت گلوکز در حیوانات نشخوارکننده است، افزودن استفاده از اسیدهای آلی در جیرهٔ نشخوارکنندگان باعث تحریک مسیر گلوکونئوژنز در کبد و کلیه‌ها شده و به دنبال آن غلظت گلوکز خون افزایش می‌یابد (Wiltrout & Satter, 1972). در این بررسی برخلاف نتایج گزارش‌شده افزودن مکمل متافیکس که ترکیبی از اسیدهای آلی دی‌کربوکسیلیک است تأثیری بر غلظت پروپیونات و گلوکز خون نداشت.

غلظت پروتئین کل سرم تحت تأثیر افزودن مونسین به جیرهٔ گاوهای شیری تغییر نکرد، ولی با افزودن متافیکس به‌تنهایی و یا همراه با مونسین نسبت به گاوهای دریافت‌کنندهٔ جیرهٔ شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۵). در توافق با نتایج این بررسی Ali *et al*. (2013) با افزودن مقادیر ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌لیتر از اسیدهای آلی به‌صورت محلول در هر لیتر آب آشامیدنی گوساله‌ها در شرایط استرس گرمایی گزارش کردند که غلظت هموگلوبین خون با افزایش مقدار اسیدهای آلی افزایش نشان داد. در این رابطه آنان اذعان داشتند که اسیدهای آمینهٔ گلوکوژنیک پیش‌ساز ساخت گلوکز در کبد و کلیه‌ها در مسیر گلوکونئوژنز هستند. درصورتی‌که با استفاده از ناقل‌های یونی یا اسیدهای آلی دی کربوکسیلیک غلظت پروپیونات و به دنبال آن گلوکز خون افزایش یابد، اسیدهای آمینهٔ گلوکوژنیک صرف ساخت گلوکز نشده و غلظت آن‌ها در خون افزایش پیدا می‌کند (Yu *et al*., 2010). افزودن اسیدهای آلی به‌ویژه فومارات به جیره باعث می‌شود که فومارات در شکمبه متابولیزه شده و به‌عنوان منبع ATP برای رشد میکروب‌ها استفاده شود (Asanuma *et al*., 1999). همچنین فومارات می‌تواند اسکلت کربنی لازم برای ساخت اسیدهای آمینه در شکمبه را تأمین کند (Linehan *et al*., 1978) و با استفاده از نیتروژن آمونیاکی شکمبه به‌عنوان منبع نیتروژن در ساخت اسیدهای آمینه توسط ریزجانداران شکمبه شرکت کرده (Bryant, 1973) و باعث افزایش تولید پروتئین میکروبی و افزایش غلظت پروتئین‌های پلاسما شود (Bayaru *et al*., 2001). پروتئین میکروبی ساخته‌شده در شکمبه، بخش اصلی اسیدهای آمینهٔ جذب‌شده از رودهٔ کوچک گاو را تشکیل می‌دهد (NRC, 2001). ازآنجایی‌که آلبومین خون از اسیدهای آمینهٔ پلاسما در کبد ساخت می‌شود، غلظت آن در خون تابعی از غلظت اسیدهای آمینهٔ پلاسما است (Russell & Roussel, 2007). بنابراین درصورتی‌که افزودن مونسین و اسیدهای آلی (مکمل متافیکس) باعث افزایش میزان اسیدهای آمینهٔ جذب‌شده از راه افزایش پروتئین میکروبی ورودی به رودهٔ کوچک و کاهش تجزیهٔ اسیدهای آمینهٔ خون از راه افزایش تولید پروپیونات در شکمبه شود، میزان آلبومین و پروتئین‌های خون افزایش پیدا می‌کند.

در این بررسی غلظت اورهٔ خون تحت تأثیر افزودن مونسین و متافیکس به‌تنهایی و یا به‌صورت همراه باهم قرار نگرفت (جدول۳). برخلاف نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، یافته‌های برخی بررسی‌ها نشان داده است که افزودن مونسین به جیرهٔ گاوهای شیری باعث افزایش غلظت اورهٔ خون می‌شود (Plaizier *et al*., 2005; Duffield *et al*., 1998; Hayez *et al*., 1996). احتمال دارد افزودن مونسین به جیره باعث افزایش جریان پروتئین به رودهٔ کوچک از راه کاهش آمین‌زدایی اسیدهای آمینه در شکمبه و افزایش تولید پرتئین میکروبی شود (Duffield *et al*., 2008). موافق با نتایج این بررسی، در پژوهشی افزودن مقادیر ۰، ۴ و ۸ گرم مالات به هر کیلوگرم از جیرهٔ بره‌های پرواری تأثیری بر غلظت اوره نداشت (Carro *et al*., 2003).

نتایج این بررسی نشان داد که اگرچه غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات سرم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول۳)، ولی افزودن مونسین به‌تنهایی جیره موجب کاهش ۱۷درصدی غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات سرم گاوها شد که می‌توان آن را ناشی از کاهش معنی‌دار میزان بوتیرات شکمبه درنتیجهٔ افزودن مونسین به جیره دانست (جدول ۳). موافق با نتایج این بررسی، مشاهده شد که خوراندن مونسین کپسوله‌شده به گاوهایی که با علوفهٔ مرتعی با محتوای بالای پروتئین تغذیه شدند تأثیری بر میزان بتاهیدروکسی بوتیرات خون نداشت (Hayes *et al*., 1996). در تقابل با این بررسی و نتایج این تحقیق نشان داده شد که افزودن مکمل مونسین به دلیل کاهش در میزان بوتیرات تولیدی در شکمبه باعث کاهش غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات سرم شد. زیرا بوتیرات بسترهٔ (سوبسترای) اصلی برای ساخت بتاهیدروکسی بوتیرات در دیوارهٔ شکمبه است (Petersson-Wolfe *et al*., 2007). در این بررسی، گاوها در اواسط دورهٔ شیردهی خود بوده و نسبت به گاوهای در اوج شیردهی تولید پایین‌تری داشتند، بنابراین در توازن منفی انرژی قرار نداشتند. به همین دلیل میزان گلوکز، بتاهیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب آزاد غیر استریفه سرم خون در آن‌ها تحت افزودن مونسین و متافیکس و یا مخلوط آن‌ها قرار نگرفت.

غلظت تری گلیسریدهای خون درنتیجهٔ مصرف جیره‌های حاوی مونسین و مونسین همراه با متافیکس نسبت به دیگر تیمارها افزایش یافت (جدول۵). افزودن مونسین و متافیکس به‌تنهایی و یا به‌صورت مخلوط تأثیری بر غلظت کلسترول کل سرم خون گاوهای شیرده نداشت (جدول ۵). گزارش شده است که افزودن مونسین به جیرهٔ گاوهای شیری باعث بهبود توازن انرژی در گاوهای شیری می‌شود (Duffield *et al*., 2008; Green *et al*., 1999; Stephenson *et al*., 1997). مونسین فعالیت باکتری‌های گرم منفی را در شکمبه افزایش می‌دهد و در نتیجه باعث افزایش تولید پروپیونات در شکمبه می‌شود و از این راه انرژی بیشتری در اختیار حیوان قرار می‌گیرد (Duffield, 2001). با بهبود وضعیت انرژی گاوهای شیری، عملکرد کبد بهبود یافته و انتقال تری‌گلیسریدها از کبد افزایش می‌یابد (Mohebbi-Fani *et al*., 2006). در موافقت با این پژوهش، Mohebbi-Fani *et al*. (2006) نشان دادند که افزودن مونسین به جیرهٔ گاوهای شیری در اوج تولید شیر، غلظت تری‌گلیسرید خون را افزایش داد که نشان‌دهندهٔ بهبود توازن انرژی در آن‌ها بود. افزون بر این محققان نشان دادند که استفاده از مونسین توانایی کبد را در صادر کردن تری‌گلیسریدها و لیپوپروتیین‌های با چگالی بسیار پایین به بافت‌های فراکبدی افزایش دادند. در این پژوهش افزودن مونسین به جیرهٔ گاوها باعث کاهش معنی‌دار نسبت اسیدهای چرب فرار غیر گلوکوژنیک به گلوکوژنیک در شکمبه، فراهم آوردن بسترهٔ گلوکوژنیک بیشتر برای گاوها و در نتیجه بهبود وضعیت انرژی در آن‌ها شد (جدول ۵) که بازتاب آن به‌صورت افزایش غلظت تری‌گلیسریدهای سرم نمایان شد (جدول ۵).

جدول ۵. تأثیر جیره‌های آزمایشی بر غلظت متابولیت‌های پلاسما

Table 5. Effect of experimental diets on plasma metabolites concentration

	Diet [a]				SEM	Diet effect [b]
	C	M	ME	MM		
Glucose (mg/dl)	53.5	52.5	48.0	53.8	1.76	0.13
Insulin (µIU/ml)	3.54[a]	0.15[b]	1.19[b]	4.95[a]	0.53	0.007
Total cholesterol (mg/dl)	219.75	253.50	214.25	220.50	11.23	0.13
Triglycerides (mg/dl)	7.75[b]	9.50[a]	7.75[b]	10.25[a]	0.63	0.006
Total protein (g/dl)	7.17[b]	7.47[ab]	7.70[a]	7.75[a]	0.13	0.05
Blood urea nitrogen (mg/dl)	30.04	28.13	24.77	28.74	2.04	0.29
β-hydroxybutyrate (mg/dl)	0.53	0.44	0.55	0.38	0.05	0.13
Non-esterified fatty acids (mmol/l)	0.28	0.27	0,18	0.23	0.05	0.40

۱. جیرهٔ شاهد بدون افزودن مکمل مونسین یا متافیکس؛ ۲. جیره با ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مکمل مونسین؛ ۳. جیره با ۵ گرم در کیلوگرم مکمل متافیکس؛ ۴. جیره با ۲۴۰ میلی‌گرم مونسین و ۵ گرم در کیلوگرم متافیکس؛ ۵ سطح معنی‌داری.

* در هر ردیف میانگین دست‌کم مربعاتی که با حروف ناهمسان نشان داده شده‌اند اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

a. Diets = C: diet containing without monensin and Methafix; M: diet supplemented with 24 mg of monensin/kg DM; ME: diet supplemented with 4 g of Methafix/kg DM; ME: diet supplemented with 24 mg of monensin/kg DM and 4 g of Methafix/kg DM.

b. Probability for F-test of diet effect.

a,b. Mean within a row with different superscripts differ (P<0.05).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق نشان داد که افزودن مکمل مونسین و متافیکس به جیره‌های گاوهای شیری در اواسط دورهٔ شیردهی باعث افزایش تولید شیر شد ولی تأثیر معنی‌داری بر ترکیب شیر و تولید ترکیب‌های شیر نداشت. افزودن مکمل مونسین به جیره‌های گاوهای شیری در اواسط شیردهی باعث کاهش تولید استات و بوتیرات، نسبت استات به بوتیرات و نسبت اسیدهای چرب غیرگلوکوژنیک به گلوکوژنیک شد و در نتیجه تخمیر در شکمبه را به سمت تخمیری گلوکوژنیک سوق داد. افزودن مونسین به جیرهٔ چنین گاوهایی اگرچه تأثیری بر برخی از فراسنجه‌های خون همانند گلوکز، پروتئین کل، اوره، بتاهیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب آزاد غیر استریفه نداشت، ولی میزان تری گلیسریدهای سرم را افزایش داد که نشان‌دهندهٔ بهبود وضعیت انرژی در آن‌ها بود. افزودن مکمل متافیکس و مکمل متافیکس همراه با مونسین تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های تخمیر شکمبه و فراسنجه‌های خون نداشت. تأثیر افزودن مکمل متافیکس و مونسین بر فراسنجه‌های شکمبه و فراسنجه‌های خون گاوهای شیردهٔ هلشتاین در اواسط شیردهی همسان نبود. استفاده از مکمل جیره‌ای متافیکس تأثیر مثبتی بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و وضعیت انرژی حیوان نداشت.

REFERENCES

1. Abdi, E., Fatahnia, F., Dehghan Banadaki, M., Azarfar, A. & Khatibjo, A. (2013). Effect of soybeans roasting and monensin on milk production and composition and milk fatty acids profile of lactating dairy cows. *Livestock Science*, 153, 73-80.
2. Ali, A., Sarzamin, K., Muhammad, M., Muhammad, I., Iftikhar, A., Khan, A. N., Mubarak, A. & Hamayun, K. (2013). Effect of different levels of organic acids supplementation on feed intake, milk yield and milk composition of dairy cows during thermal stress. *Journal of Agricultural Sciences*, 3, 762-768.
3. Asanuma, N., Iwamoto, M. & Hino, T. (1999). Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms in vitro. *Journal of Dairy Science*, 82, 780-787.
4. Association of Official Analytical Chemists. (2000) *Official Methods of Analysis*. (17th ed.). AOAC International, Arlington, VA.
5. Bayaru, E., Kanda,S., T. Kamada, H. Itabashi, S. Andoh, T. Nishida, M. Ishida, T. Itoh, K. Nagara, & Isobe, Y. 2001. Effect of fumaric acid on methane production, rumen fermentation, and digestibility of cattle fed roughage alone. *Animal Science Journal*, 72, 139-146.
6. Bergen, W.G. & Bates, D.B. (1984). Ionophores: their effects on production efficiency mode of action. *Journal of Animal Science*, 58, 1465-1483.
7. Bryant, M. P. (1973). Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. *Federation Proceedings*, 32, 1809-1813.
8. Callaway, T.R. & Martin, S.A. (1996). Effects of organic acid and monensin treatment on *in vitro* mixed ruminal microorganism fermentation of cracked corn. *Journal of Animal Science*, 74, 1982-1989.
9. Canadian Food Inspection Agency. (2011). *Compendium of medicating ingredient brochures.* Retrieved January 24, 2013, from:http://www.inspection.gc. ca/animals/feeds/medicating-ingredients/mib/mib-57/eng/ 1331053867503/1331053926592S.
10. Carro, M. D. & Ranilla, M. J. (2003). Effect of the addition of malate on in vitro rumen fermentation of cereal grains. *British Journal of Nutrition*, 89, 181-188.
11. Carro, M. D., Lopez, S., Valdes, C. & Overjero, F. J. (1999). Effect of dl-malate on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (RUSITEC). *Animal Feed Science and Technology*, 79, 279-288.
12. Castillo, C., Beneditio, J. L., Me´ndez, J., Pereira, V., Lo´ pez-Alonso M., Miranda, M. & Herna´dez. J. (2004). Organic acids as a substitute for monensin in diets for beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 115, 101-116.
13. Duffield, T.F. & Bagg, R.N. (2000). Use of ionophores in lactating dairy cattle: A review. *Canadian Veterinary Journal*, 41, 388-394.
14. Duffield, T. F., Rabiee, A. R. & Lean, I. J. (2008). A Meta-Analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. *Journal of Dairy Science*, 91: 1334-1346.
15. Duffield, T. (2001). Impact of Romensin on the health of the transition dairy cow. In: *Advances in Dairy Technology*. In: Proceedings of *Western Canadian Dairy Seminars*, 13, 41-50.
16. Duffield, T. F.,Sandals, D., Leslie, K. E., Lissemore, K., McBride, B. W., Lumsden, J. H., Dick, P. & Bagg, R. (1998). Effect of prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on postpartum energy indicators in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81, 2354-2361.

17. Dye, B.E., Amos, H.E. & Froetschel, M.A. (1988). Influence of lasalocid on rumen metabolites, milk production, milk composition and digestibility in lactating cows. *Nutrition Reports International*, 38, 101-115.
18. Edmonson, A.J., Lean, I.J., Weaver, L.D., Farver, T. & Webster. G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 72, 68-78.
19. Fatahnia, F., Rowghani, E., Hosseini, A.R., Darmani Kohi, H. & zamiri, M.J. (2010). Effect of different level of monensin in diets containing whole cottonsed on milk production and composition of lactating dairy cows. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 11, 206-213.
20. Foley, P.A., Kenny, D.A., Lovett, D.K., Callan, J.J., Boland, T.M. & O'Mara, F.P. (2009). Effect of nigericin, monensin, and tetronasin on biohydrogenation in continuous flow-through ruminal fermenters. *Journal of Dairy Science*, 92, 3258-3264.
21. Grainger, C., Auldist, M. J., Clarke, T., Beauchemin, K. A., McGinn, S. M. & Hannah, M. C. (2008). Use of Monensin Controlled-Release Capsules to Reduce Methane Emissions and Improve Milk Production of Dairy Cows Offered Pasture Supplemented with Grain. *Journal of Dairy Science*, 91, 1159-1165.
22. Gehman, A.M., Kononoff, P.J., Mullins, C.R. & Janicek, B.N. (2008). Evaluation of nitrogen utilization and the effects of monensin in dairy cows fed brown midrib corn silage. *Journal of Dairy Science*, 91, 288-300.
23. Ghorbani, B., Ghoorch, T., Amanlou, H. & Zerehdaran, S. (2011). Effects of using monensin and different levels of crude protein on milk production, blood metabolites and digestion of dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 24, 65-72.
24. Gomez, J.A., Tejido, M.L. & Carro, M.D. (2005). Influence of disodium malate on microbial growth and fermentation in Rusitec fermenters receiving medium- and high-concentrate diets. *British Journal of Nutrition*, 93, 479-484.
25. Grainger, C., Auldist, M. J., Clarke, T., Beauchemin, K.A., McGinn, S.M. & Hannah, M.C. (2008). Use of Monensin Controlled-Release Capsules to Reduce Methane Emissions and Improve Milk Production of Dairy Cows Offered Pasture Supplemented with Grain. *Journal of Dairy Science*, 91, 1159-1165.
26. Green, B.L., McBride, B.W., Sandals, D., Leslie, K.E., Bagg, R. & Dick, P. (1999). The impact of a monensin controlled-release capsule on subclinical ketosis in the transition dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 82, 333-342.
27. Haimoud, D.A., Vernay, M., Bayourthe, C. & Monocoulon, R. (1995). Avoparcin and monensin effects on the digestion of nutrients in dairy cows fed a mixed diet. *Canadian Journal of Animal Science*, 75, 379-385.
28. Hayes, D.P., Pfeiffer, D.U. & Williamson, N.B. (1996). Effect of intraruminal monensin capsule on reproductive performance and milk production of dairy cows fed pasture. *Journal of Dairy Science*, 79, 1000-1006.
29. Herandez, F., Madrir, J. & Garcia, V. (2004). Influence of two plant extracts on broiler performance, digestibility and digestive organ size. *Poultry Science*, 83, 169-174.
30. Ipharraguerre, I. & Jimmy Clark, H. (2003). Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 106, 39-57.
31. Johnson, K. A. & Johnson. D. E. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73, 2483-2492.
32. Kung, L. Jr., Huber, J.T., Krummrey, J.D., Allison, L. & Cook, R.M. (1982). Influence of adding malic acid to dairy cattle rations on milk production, rumen volatile acids, digestibility, and nitrogen utilization. *Journal of Dairy Science*, 65, 1170-1174.
33. Lana, P. R., Fox, D. G. Russell, J. B. & Perry, T. C. (1997). Influence of monensin on Holstein steers fed high-concentrate diets containing soybean meal or urea. *Journal of Animal Science*, 75, 2571-2579.
34. Linehan, B., Scheifinger, C.C. & Wolin, M.J. (1978). Nutritional requirements of *Selenomonas ruminantium* for growth on lactate, glycerol, or glucose. *Applied Environmental Microbiology*, 35, 317-322.
35. Martin, S.A., Streeter, M.N., Nisbet, D.J., Hill, G. M. & Williams, S.E. (1999). Effects of DL-malate on ruminal metabolism and performance of cattle fed a high-concentrate diet. *Journal of Animal Science*, 77, 1008-1015.
36. Martinez, C.M., Chung, Y.H., Ishler, V.A., Bailey, K.M. & Varga, G.A. (2009). Effects of dietary forage level and monensin on lactation performance, digestibility and fecal excretion of nutrients, and efficiency of feed nitrogen utilization of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 3211-3221.
37. McGinn, S. M, Beauchemin, K A, Coates, T. & Colombatto, D. (2004). Methan emission from beef cattle: effect of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. *Journal of Animal Science*, 82, 3346-3356.

38. McGuffey, R.K., Richardson, L.F. & Wilkinson, J.D. (2001). Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. *Journal of Dairy Science*, 84, E194-E203.
39. Melendez, M., Goff, J.P., Risco, C.A., Archbald, L.F., Littell, R. & Donovan, G.A. (2005). Incidence of subclinical ketosis in cows supplemented with a monensin controlled-release capsule in Holstein cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, 73, 33-42.
40. Mohammed, N., Lila, Z.N., Ajisaka, N., Hara, K., Mikuni, K., Hara, K., Kanda, S. & Itabashi, H. (2004). Inhibition of ruminal microbial methane production by cyclodextrin iodopropane, malate and their combination *in vitro*. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 88, 188-195.
41. Mohebbi-Fani, M., Nazifi, S., Shekarforoush, S. S. & Rahimi, M. (2006). Effect of monensin on serum lipoproteins, triglycerides, cholesterol, and total lipids of preparturient dairy cows. *Veterinary Research Communications*, 30, 7-17.
42. Mullins, C.R., Mamedova, L.K., Brouk, M.J., Moore, C.E., Green, H.B., Perfield, K.L., Smith, J.F., Harner, J.P. & Bradford, B.J. (2012). Effects of monensin on metabolic parameters, feeding behavior, and productivity of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95, 1323-1336.
43. Nagaraja, T.G., (1995) Ionophores and antibiotics in ruminants. In R.J. Wallace., A. Chesson (Eds.), Biotechnology in animal feeding. A. VCH Publishers, New York. pp: 173-204.
44. National Research Council. (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. (7th ed.). Washington, DC: National Academy Press.
45. National Research Council. (1996). *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. (7th ed.). Washington, DC: National Academy Press.
46. Odongo, N.E., Or-Rashid, M.M., Bagg, R., Vessie, G., Dick, P., Kebreab, E., France, J. & McBride, B.W. (2007). Long-term effect of feeding monensin on milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 5126-5133.
47. Oelker, E.R., Reveneau, C. & Firkins, J.L. (2009). Interaction of molasses and monensin in alfalfa hay or corn silage-based diets on rumen fermentation, total tract digestibility, and milk production by Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 270-285.
48. O'Mara, F.P., Beauchemin, K.A., Kreuzer, M. & McAllister, T.A. (2008). Reduction of greenhouse gas emissions of ruminants through nutritional strategies. In: Proceedings of British Society of Animal Science, International Conference, Livestock and Global Climate Change. pp 40-43.
49. Phipps, R. H., Wilkinson, J. I. D., Jonker, L. J., Tarrant, M., Jones, A. K. & Hodge, A. (2000). Effect of monensin on milk production of Holstein-Friesian dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 83, 2789-2794.
50. Petersson-Wolfe, C. S., Leslie, K. E., Osborne, T., McBride, B. W., Bagg, R., Vessie, G., Dick, P. & Duffield, T. F. (2007). Effect of delivery method of monensin on dry matter intake, body condition score, and metabolic parameters in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 1870-1879.
51. Plaizier, J.C., Krause, D.O. Gozho, G.N. & McBride, B.W. (2009). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. *Veterinary Journal*, 176, 21-31.
52. Ørskov, E.R. (1975). Manipulation of rumen fermentation for maximum food utilization. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 22,152-182.
53. Russell, J. B. (1996). Mechanisms of ionophore action in ruminal bacteria. In: *Scientific Update on Rumensin/Tylan/Micotil for the Professional Feedlot Consultant*. *Lilly Corporate Center, pp.* E1-E18.
54. Russell, J. B., & Strobel, H. J. (1989). Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 1-6.
55. Russell, K. E. & Roussel, A. J. (2007). Evaluation of the ruminant serum chemistry profile.
56. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal* Practice, 23, 403-426.
57. Ruiz, R., Albrecht, G. L., Tedeschi, L. O., Jarvis, G., Russell, J. B. & Fox, D. G. (2001). Effect of monensin on the performance and nitrogen utilization of lactating dairy cows consuming fresh forage. *Journal of Dairy Science*, 84, 1717-1727.
58. SAS. (2003). *User's Guide: Statistics*. Version 9.2. Edition. SAS Inst., Inc., Cary, North Carolina.
59. Sniffen, C.J., Ballard, C. S., Carter, M.P., Cotanch, K.W., Dann, H.M., Grant, R.J., Mandebvu, P., Suekawa, M. & Martin, S.A. (2006). Effects of malic acid on microbial efficiency and metabolism in continuous culture of rumen contents and on performance of mid-lactation dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 127, 13-31.
60. Sniffen, C.J., Ballard, C.S., Carter, M.P., Cotanch, K.W., Dann, H.M., Grant, R.J., Mandebvu, P., Suekawa, M. & Martin, S.A. (2006). Effects of malic acid on microbial efficiency and metabolism in continuous culture of rumen contents and on performance of mid-lactation dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 127, 13-31.
61. Stephenson, K.A., Lean, I.J., Hyde, M.L., Curtis, M.A., Garvin, J.K. & Lowe, L.B. (1997). Effects of monensin on the metabolism of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80, 830-837.
62. Surber, L.M. & Bowman, J.G. (1998). Monensin effects digestion of corn or barley high-concentrate diets. *Journal of Animal Science*, 76, 1945-1954.

63. Sauer, F.D., Kramer, J.K.G. & Cantwell, W.J. (1989). Anti-ketogenic effects of monensin in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 72, 436-442.
64. Thomas, P.C. & Martin, P.A. (1988). The influence of nutrient balance on milk yield and composition. In: P.C. Garnsworthy (Ed.), *Nutrition and Lactation in the Dairy Cow*. Butterworths, London, UK.
65. Van der werf, J. H. J., Jonker, L., Jonker, J. & Oldenbroek, J. K. (1998). Effect of monensin on milk production by Holsten and Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, 81, 427- 438.
66. Van Knegsel, A.T.M., Van Den Brand, H., Dijkstra, J., Van Straalen, W.M., Jorritsma, R., Tamminga, S. & Kemp, B. (2007). Effect of glucogenic vs. lipogenic diets on energy balance, blood metabolites, and reproduction in primiparous and multiparous dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 90, 3397-3409.
67. Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
68. Wiltrout, D.W. & Satter, L.D. (1972). Contribution of propionate to glucose synthesis in lactating and non-lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 55, 307-317.
69. Yu, C.W., Chen, Y.S., Cheng, Y.H., Cheng, Y.S., Yang, C.M.J. & Chang, C.T. (2010). Effects of fumarate on ruminal ammonia accumulation and fiber digestion in vitro and nutrient utilization in dairy does. *Journal of Dairy Science*, 93, 701-710.

Iranian Journal of Animal Science, Vol. 47, No. 2, Summer 2016

Effects of monensin supplementation alone or in combination with Methafix on milk production and composition, ruminal parameters and serum metabolites of lactating dairy cows

Arash Azarfar[1*], Younes Satari Karkazlou[2], Ali Kiani[3], Heshmatollah Khosarvinia[4] and Majid Khaldari[5]

1, 2, 3, 4, 5. Associate Professor, M. Sc. Student, Associate Professor, Professor and Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Lorestan University, Iran

(Received: Jan. 29, 2015 - Accepted: Apr. 11, 2016)

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effects of inclusion of monensin alone or in combination with Methafix (a commercial product containing malate and fumarate) in the diets of lactating dairy cows on ruminal parameters and serum metabolites. Four multiparous Holstein lactating dairy cows (657± 12 kg of live weight; 133 ± 41days in milk) were assigned to one of the four dietary treatments. The first treatment was the control diet(C), second was control diet supplemented with 24 mg of monensin/kg of DM (M), the third was control diet supplemented with 5 g of Methafix/kg DM (ME) and the fourth treatment was C diet supplemented with 24 mg of monensin in combination with 5 g of Methafix/kg DM (MM). Dietary supplementation with Monensin alone or in combination with Metafix significantly decreased dry matter intake ($P<0.05$), while the intake of crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF) and non-fiber carbohydrates (NFC) were not affected. Utilization efficiency of dry matter for milk production was higher in monensin and Methafix-supplemented cows than in control cows ($P<0.05$). Dietary supplementation with monensin decreased rumen concentrations of acetate and the ratio of acetate to propionate (A:P; $P<0.05$). Serum concentration of triglycerides (TGs) was higher in M-fed cows compared to the C and ME-fed cows ($P<0.05$). Serum concentration of total proteins (TP) was higher in ME-fed cows than in the C-fed cows ($P<0.05$). Feeding dairy cows with a combination of monensin and Methafix increased serum concentration of TGs and TP compared to the control animals ($P<0.05$).

Keywords: Dairy cows, methafix, monensin, rumen fermentation, serum metabolites.

* Corresponding author E-mail: arash.azarfar@gmail.com Tel: +98 916 6627845