



## تولیات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۴

صفحه‌های ۳۴۷-۳۵۸

# تأثیرپذیری هضم الیاف، رفتار تغذیه‌ای و الگوی تغییرات اسیدهای چرب فرار شکمبه از دفعات تغذیه منابع گوناگون پروتئین

مصطفی حاجی‌لو<sup>\*</sup>، حمیدرضا میرزایی الموتی<sup>آ</sup>، مهدی گنج‌خانلو<sup>آ</sup>، حمید امانلو<sup>آ</sup>

۱. دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

۲. استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

۳. استادیار گروه مهندسی علوم دام، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۴. استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۳/۰۹

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۱۹

### چکیده

در تحقیق حاضر، از چهار رأس گاو هلشتاین دارای فیستوله شکمبه در طرح مربع لاتین با چهار دوره ۲۱ روزه (شامل دو هفته دوره عادت‌پذیری به جیره‌ها و یک هفته جمع‌آوری داده‌ها) استفاده شد. تیمارها شامل ۱. تغذیه با جیره کاملاً مخلوط یک‌بار در وعده صبح، ۲. تغذیه با بخشی از سویا در وعده عصر، ۳. تغذیه با بخشی از اوره در وعده عصر، و ۴. تغذیه با بخشی از پودر ماهی در وعده عصر بود. گاوها در سطح نگهداری تغذیه شدند. تغذیه منابع پروتئینی در وعده عصر فعالیت نشخوار را افزایش داد ( $P < 0.05$ ). قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و ماده آلی در گاوهای تغذیه‌شده با اوره در وعده عصر در مقایسه با گاوهایی که یک‌بار تغذیه شدند، بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). تغذیه همه منابع پروتئین در وعده عصر باعث افزایش قابلیت هضم ظاهری الیاف نامحلول در شوینده خنثی شد ( $P < 0.05$ ). میانگین تولید کل اسیدهای چرب فرار و نسبت مولی هیچ‌کدام از اسیدهای چرب فرار تحت تأثیر نحوه تغذیه منابع گوناگون پروتئین قرار نگرفتند. اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین اسیدیته شکمبه و نیتروژن آمونیاکی شکمبه معنی‌دار نبود. براساس نتایج تحقیق حاضر، افزایش دفعات تغذیه منابع پروتئین قابل تجزیه در شکمبه باعث بهبود هضم الیاف و فعالیت جویدن در گاوهای فیستوله هلشتاین غیرشیرده می‌شود.

**کلیدواژه‌ها:** اوره، پودر ماهی، ذرت سیلوشده، سویا، گاو هلشتاین.

## مقدمه

افزایش پتانسیل ژنتیکی گاوهای شیری برای تولید شیر در طول سال‌های اخیر به استفاده از جیره‌های با نشاسته بالا برای حداکثر تولید شیر منجر شده است. در مقابل، این جیره‌ها می‌توانند منجر به کاهش اسیدیتة شکمبه و در نتیجه اسیدوز تحت حاد شکمبه‌ای، کاهش هضم مؤثر الیاف و بسیاری از اختلالات متابولیکی دیگر شوند (۲۰). چالش اصلی در تغذیه گاوهای پر تولید فراهم کردن جیره‌های با انرژی بالا بدون تأثیر زیان‌بار بر اکوسیستم شکمبه، آسایش حیوان، تولید و عملکرد تولیدمثلی است. گاوهای شیری نیازمند جیره علوفه‌ای با اندازه مناسب ذرات برای بهبود فعالیت جویدن، خنثی‌سازی اسید شکمبه و تجزیه الیاف و در نتیجه پیش‌گیری از اختلالات هضمی همانند اسیدوز تحت حاد شکمبه‌ای هستند (۱۸). از طرف دیگر، سطوح ناکافی الیاف به‌طور منفی هضم شکمبه‌ای را تحت تأثیر قرار می‌دهد و ممکن است مقدار انرژی را که جیره فراهم می‌کند، کاهش دهد. عرضه ماده مغذی تابعی از خوراک مصرفی، غلظت ماده مغذی و قابلیت هضم آن است. قابلیت هضم علاوه بر تأثیر مستقیم بر مصرف انرژی قابل هضم، به‌دلیل ارتباط مستقیم با ماده خشک مصرفی، غیرمستقیم عرضه مواد مغذی را در جیره‌های بر پایه علوفه تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۷). در گاوهای شیری تغذیه‌شده با جیره‌های بر پایه سیلاژ گراس، بهبود در قابلیت هضم سیلاژ ارتباط مستقیمی با افزایش ماده خشک مصرفی و عملکرد حیوان دارد. برآورد دقیق قابلیت هضم علوفه و عوامل مؤثر بر آن (عوامل حیوانی، جیره‌ای و غیره) پیش‌نیاز تنظیم‌کردن جیره، ارزیابی اقتصادی علوفه، پیش‌بینی پاسخ حیوان و در نهایت تصمیم‌گیری بهینه است (۱۳). بنابراین بهبود قابلیت هضم و دسترسی انرژی مواد علوفه‌ای اهمیت ویژه‌ای دارد. میکروب‌های شکمبه برای سنتز پروتئین میکروبی

نیازمند سه منبع نیتروژنی شامل منابع نیتروژن آمونیاکی، نیتروژن اسیدآمین‌ه‌ای و نیتروژن پپتیدی هستند (۱۲ و ۲۴). سرعت و مقدار تخمیر کربوهیدرات‌های ساختمانی در شکمبه، تحت تأثیر فراهمی مقدار نیتروژن جیره‌ای، سرعت و مقدار تجزیه نیتروژن جیره‌ای عرضه‌شده در شکمبه قرار می‌گیرد. آمونیاک احتمالاً منبع بسیار مهم نیتروژن برای رشد باکتری‌های شکمبه است، اما نرخ آزادشدن آن متناسب با نرخ تجزیه کربوهیدرات‌ها به‌ویژه کربوهیدرات‌های ساختمانی نیست و عدم هم‌زمانی این دو با افزایش فواصل زمانی وعده‌های خوراکی بیشتر می‌شود (۲۷). تغذیه یک‌بار در روز می‌تواند آمونیاک اضافی را بیشتر از نیاز جمعیت میکروبی شکمبه در آن لحظه، فراهم کند. آمونیاک اضافی تولیدی به کبد منتقل و تبدیل به نیتروژن اوره‌ای می‌شود که به‌صورت اوره از ادرار دفع و یا به شکمبه باز می‌گردد (۲۴). یک روش برای کاهش تجزیه سریع مقدار زیاد پروتئین در شکمبه افزایش تعداد دفعات تغذیه منابع پروتئین در طول روز است. هرچند افزایش تعداد دفعات تغذیه پروتئین را تغییر نمی‌دهد، اما زمانی از روز را که پروتئین برای میکروارگانیسم‌های شکمبه فراهم می‌شود افزایش می‌دهد. تغذیه شبانه وعده غذایی غنی از پروتئین، تخمیر شکمبه‌ای را به‌ویژه در طول شب تحریک کرد و موجب افزایش هضم شکمبه‌ای شد (۲۱ و ۲۲). تغذیه مکمل منابع نیتروژن غیرپروتئینی هر دو ساعت یک‌بار در مقابل یک‌بار در روز غلظت آمونیاک شکمبه‌ای را کاهش و قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و ترکیبات الیاف را افزایش داد (۱).

در مدل‌های علمی تغذیه‌ای، نرخ تجزیه پروتئین متصل به دیواره سلول متناسب با بخش الیافی در نظر گرفته شده است (۱۱)، اما از آنجا که هضم الیاف وابسته به منبع نیتروژنی قابل تجزیه در شکمبه است و بخش عمده‌ای از نیتروژن خوراک در ساعت‌های اولیه پس از مصرف

## تولیدات دامی

تأثیرپذیری هضم الیاف، رفتار تغذیه‌ای و الگوی تغییرات اسیدهای چرب فرار شکمبه از دفعات تغذیه منابع گوناگون پروتئین

### مواد و روش‌ها

در این آزمایش، از چهار رأس گاو هلستاین دارای فیستوله شکمبه در طرح مربع لاتین با چهار دوره ۲۱ روزه (شامل دو هفته دوره عادت‌پذیری به جیره‌ها و یک هفته جمع‌آوری داده‌ها) استفاده شد. گاوها در جایگاه انفرادی با امکان دسترسی آزاد به آب و در سطح نگهداری تغذیه شدند. جیره پایه حاوی ۵۰ درصد علوفه (۳۵ درصد ذرت سیلو شده، ۱۵ درصد یونجه خشک) بود که با نرم‌افزار CMP-Dairy تنظیم شد (جدول ۱).

خوراک تجزیه می‌شود و تجزیه بخش الیافی با تأخیر زمانی زیادی در مقایسه با منبع نیتروژنی لازم اتفاق می‌افتد. بنابراین بخش‌های بالقوه قابل تجزیه الیاف (کند و سریع) طی زمان ممکن است تحت تأثیر حضور منابع گوناگون نیتروژنی در شکمبه قرار گیرد. بنابراین، در این پژوهش فرض شده است که اضافه کردن منبع نیتروژنی متفاوت، در زمان متفاوتی از شبانه‌روز ممکن است کمبود نیتروژن لازم برای هضم الیاف را رفع کند و منجر به بهبود هضم الیاف و بازدهی نیتروژن خوراک شود.

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر عرضه منابع گوناگون نیتروژن در زمان‌های متفاوت شبانه‌روز بر قابلیت هضم الیاف و الگوی تغییرات اسیدهای چرب فرار شکمبه، رفتارهای تغذیه‌ای و متابولیت‌های خون است.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه

درصد در ماده خشک	انرژی و مواد مغذی	درصد در ماده خشک	مواد خوراکی
۴۹/۶۷	ماده خشک (درصد) <sup>۱</sup>	۱۵/۰۰	یونجه خشک
۱/۶۲	انرژی خالص شیردهی (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک) <sup>۲</sup>	۳۵/۰۰	ذرت سیلو شده
۱۶/۲۶	پروتئین خام <sup>۱</sup>	۱۰/۸۴	دانه ذرت
۱۰/۵۷	پروتئین قابل تجزیه در شکمبه <sup>۲</sup>	۷/۹۲	دانه جو
۳۳/۱۴	دیواره سلولی <sup>۱</sup>	۵/۴۲	تغاله چغندر
۲۰/۲۵	دیواره سلولی بدون همی سلولز <sup>۱</sup>	۸/۳۴	کنجاله سویا
۳۷/۳۸	کربوهیدرات‌های غیرالیافی <sup>۱</sup>	۲/۰۰	پودر ماهی
۴/۷۱	چربی خام <sup>۱</sup>	۲/۰۸	کنجاله گلوتن ذرت
۰/۸۴	کلسیم <sup>۲</sup>	۳/۳۳	تخم پنبه
۰/۴۶	فسفر <sup>۲</sup>	۶/۶۷	سبوس گندم
		۰/۳۳	نمک
		۰/۶۳	بی‌کربنات سدیم
		۰/۶۳	مکمل معدنی ویتامینی
		۰/۶۳	کربنات کلسیم
		۰/۳۵	اوره
		۰/۸۳	پودر چربی محافظت شده

۱. براساس داده‌های حاصل از آنالیز آزمایشگاهی

۲. براساس داده‌های نرم‌افزار CMP-Dairy

### تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۴

یکبار توسط مشاهده عینی ثبت شد (۲۸). استاندارد به زمان‌هایی اطلاق شد که گاو بدون نشخوارکردن به حالت سرپا قرار داشت. مدت خوابیدن هم به صورت کل زمان خوابیدن بدون نشخوارکردن در نظر گرفته شد. مجموع زمان خوردن و نشخوارکردن به عنوان فعالیت جویدن منظور شد. در روز سوم نمونه‌گیری، نمونه خون با لوله‌های خلاء از ورید دمی، ۶ ساعت بعد از تغذیه صبح و ۶ ساعت بعد از تغذیه منابع گوناگون نیتروژن نمونه‌گیری شدند. ترکیبات خون شامل نیتروژن اوره‌ای، پروتئین، آلبومین و گلوکز با دستگاه اتوآنالایزر (سلکترا E، هلند) و با کیت‌های شرکت پارس‌آزمون تعیین شد. گلوبولین به روش تفاوت (پروتئین منهای آلبومین) محاسبه شد. بعد از یک روز عدم نمونه‌گیری و آرامش گاوها، نمونه‌های مایع شکمبه در روز پنجم در زمان‌های صفر، ۱، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ ساعت بعد از تغذیه صبح از طریق فیستوله تهیه شد. مایع شکمبه توسط صافی دولایه صاف و اسیدیته آن‌ها بلافاصله با pH متر مدل (متروم ۸۲۷ سوئیس) اندازه‌گیری شد. دو نمونه ۱۵ میلی‌لیتری از نمونه مایع شکمبه صاف شده در زمان‌های مذکور تهیه و به هر کدام ۰/۳ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۵۰ درصد اضافه و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای تعیین نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار فریز شد. بعد از یخ‌گشایی، نیتروژن آمونیاکی با روش مرسوم اندازه‌گیری شد (۳). برای تعیین اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه، نمونه‌ها پس از یخ‌گشایی به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. اسیدهای چرب فرار با دستگاه گازکروماتوگرافیمدل (ورین ۳۴۰۰، ایالات متحده آمریکا) دارای ستون حاوی (-SP 10% 1200/1% H3PO4 on 80/100 Chromosorb W AW) و با مشخصات (6' × 2mm) طراحی شده برای همین منظور تعیین شد. دمای ستون ۱۴۰، اینجکتور ۲۰۰ و دکتور ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز حامل موردنظر نیتروژن با سرعت ۴۰ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

منابع اصلی پروتئین قابل تجزیه در شکمبه کنجالة سویا و اوره و منبع پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه پودر ماهی بود. تیمارها شامل ۱. تغذیه جیره کاملاً مخلوط یکبار در ساعت هشت صبح (TMR1×)، ۲. تغذیه بخشی از سویا (معادل یک درصد پروتئین خام جیره) در ساعت هفت شب (SBM2×)، ۳. تغذیه بخشی از اوره (معادل یک درصد پروتئین خام جیره) در ساعت هفت شب (UREA2×)، و ۴. تغذیه بخشی از پودر ماهی (معادل یک درصد پروتئین خام جیره) در ساعت هفت شب (FISHM2×) بود. منابع پروتئینی با یک کیلو خوراک مخلوط به گاوها عرضه شد، به گاوهای تیمار یک نیز یک کیلو خوراک بدون افزودن منابع پروتئینی داده شد.

از خوراک در سه روز متوالی در هر دوره، نمونه‌گیری شد. پس از تعیین ماده خشک (۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت)، نمونه‌ها با آسیاب مجهز به توری یک میلی‌متر آسیاب و برای تعیین ترکیبات شیمیایی نگهداری شدند. در روز دوم، نمونه‌های مدفوع هر چهار ساعت یکبار (شش بار در روز) از طریق رکتوم جمع‌آوری و پس از خشک و آسیاب کردن، مانند نمونه‌های خوراک برای تعیین ترکیبات شیمیایی نگهداری شدند. ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی و مدفوع با روش‌های متداول تعیین شد (۲). مقادیر لیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و لیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) با تکنولوژی انکوم (مدل FA-200) اندازه‌گیری شدند (۲۷). در تعیین لیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) از آلفا‌میلاز مقاوم به حرارت (سیگما آلدریج، ECN 3.2.1.1) و سولفیت سدیم استفاده شد. قابلیت هضم ظاهری خوراک با نشانگر خاکستر نامحلول در اسید اندازه‌گیری شد (۲۶).

در روز اول نمونه‌گیری، رفتارهای خوراک‌خوردن شامل مدت زمان خوردن، نشخوارکردن، استراحت کردن، ایستادن و نوشیدن آب در مدت ۲۴ ساعت هر ۵ دقیقه

## تولیدات دامی

تأثیرپذیری هضم الیاف، رفتار تغذیه‌ای و الگوی تغییرات اسیدهای چرب فرار شکمبه از دفعات تغذیه منابع گوناگون پروتئین

گاوهای تغذیه‌شده با اوره و سویا در وعده عصر به صورت عددی بیشتر بود، اما این فعالیت تحت تأثیر سایر منابع پروتئین قرار نگرفت. مدت زمان رفتار خوردن، استراحت کردن و ایستادن تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت (جدول ۲). رفتارهای تغذیه‌ای توجه زیادی را در تحقیقات تغذیه نشخوارکنندگان به خود جلب کرده است. استراتژی رفتارهای تغذیه‌ای متفاوت ممکن است الگوی تخمیر را تعیین و به پیش‌گیری از اسیدوز کمک کند. اغلب فرض می‌شود که زمان سپری‌شده برای فعالیت جویدن شاخص خوبی از سلامت شکمبه است، زیرا جویدن ترشح بزاق را تحریک می‌کند. بزاق تقریباً نصف بی‌کربنات ورودی به شکمبه را تشکیل می‌دهد که به بافری کردن اسیدهای تولیدشده در طول تخمیر شکمبه کمک می‌کند (۱۶). افزایش دفعات تغذیه باعث افزایش مدت زمان خوردن بدون تغییر در مدت زمان استراحت شد (۸). در مقابل، هیچ تأثیری از دفعات تغذیه بر رفتار تغذیه‌ای تلیسه‌های فیستوله‌گذاری‌شده مشاهده نشد (۲۳). کل زمان تغذیه، نشخوارکردن خوابیده، پرخاشگری و خوابیدن تحت تأثیر دفعات تغذیه قرار نمی‌گیرد اما نشخوار ایستاده و ایستادن مکرر، با افزایش دفعات تغذیه کاهش می‌یابد (۱۹).

داده‌های حاصل از آزمایش در قالب طرح مربع لاتین چرخشی با نرم‌افزار آماری SAS و رویه MIXED برای مدل ۱ (داده‌هایی که تکرار در زمان نداشتند) و مدل ۲ (داده‌هایی تکرار شده در زمان) تجزیه و میانگین‌ها با آزمون توکی مقایسه شدند (۲۳).

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + C_k + e_{ijk} \quad (1)$$

در این رابطه:  $Y_{ijk}$  متغیر وابسته،  $\mu$  میانگین کل،  $T_i$  اثر تیمار  $i$ ،  $P_j$  اثر دوره،  $C_k$  اثر تصادفی گاو  $k$ ، و  $e_{ijk}$  اثر اشتباه آزمایشی است.

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + P_j + C_k + Time_l + (T \times Time)_{il} + e_{ijkl} \quad (2)$$

در این رابطه:  $Y_{ijkl}$  متغیر وابسته،  $\mu$  میانگین کل،  $T_i$  اثر تیمار  $i$ ،  $P_j$  اثر دوره  $j$ ،  $C_k$  اثر تصادفی گاو  $k$ ،  $Time_l$  اثر زمان  $l$ ،  $(T \times Time)_{il}$  اثر متقابل تیمار  $i$  در زمان  $l$ ، و  $e_{ijkl}$  اثر اشتباه آزمایشی است.

## نتایج و بحث

تغذیه منابع پروتئینی در وعده عصر به صورت معنی‌داری باعث افزایش فعالیت نشخوارکردن شد ( $P < 0.05$ ). این افزایش در گاوهای تغذیه‌شده با اوره در وعده عصر بیشتر از سایر گاوها بود. فعالیت جویدن و آب‌خوردن نیز در

جدول ۲. رفتار خوراک خوردن (دقیقه در روز) گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی

P-value	SEM	تیمارهای آزمایشی <sup>†</sup>				صفات مطالعه‌شده
		FISHM2×	UREA2×	SBM2×	TMR1×	
۰/۹۲	۱۸/۷	۱۳۷	۱۳۴	۱۳۴	۱۳۹	خوردن
۰/۰۴	۴۴/۱	۳۸۱ <sup>a</sup>	۳۹۵ <sup>a</sup>	۳۸۶ <sup>a</sup>	۳۴۰ <sup>b</sup>	نشخوارکردن
۰/۱۶	۳۸/۷	۵۱۹	۵۲۹	۵۲۰	۴۷۹	جویدن
۰/۱۲	۲/۸	۲۴	۲۹	۲۷	۲۰	نوشیدن آب
۰/۵۶	۴۴/۱	۴۵۶	۵۲۷	۴۶۵	۵۲۰	استراحت‌کردن
۰/۴۰	۶۰/۴	۴۴۱	۳۵۵	۴۲۷	۴۲۱	ایستادن

a-b: تفاوت ارقام در هر ردیف با حروف متفاوت معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ). SEM: اشتباه استاندارد میانگین‌ها  
<sup>†</sup> TMR1×: تغذیه تمام جیره کاملاً مخلوط یک‌بار ساعت ۸ صبح، SBM2×: تغذیه بخشی از سویا ساعت ۷ شب، UREA2×: تغذیه بخشی از اوره (معادل یک درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب، و FISHM2×: تغذیه بخشی از پودر ماهی (معادل یک درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب.

## تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۴

قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و ماده آلی در گاوهای تغذیه شده با اوره در وعده عصر در مقایسه با گاوهای یکبار تغذیه شده بیشتر بود ( $P < 0/05$ ) (جدول ۳). تغذیه سایر منابع پروتئین در وعده عصر تأثیری بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و ماده آلی نداشت. قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت، هرچند قابلیت هضم این فراسنجه‌ها به سبب تغذیه منابع پروتئینی در وعده عصر تمایل به افزایش داشت. تغذیه همه منابع پروتئین در وعده عصر باعث افزایش قابلیت هضم ظاهری الیاف نامحلول در شوینده خنثی شد ( $P < 0/05$ ). هم‌سو با نتایج این مطالعه، در آزمایشی تغذیه گاوهای پرواری با مکمل منابع نیتروژن غیرپروتئینی هر دو ساعت یکبار در مقابل یکبار در روز، باعث کاهش دفع ماده خشک، NDF و ADF در مدفوع و بنابراین افزایش قابلیت هضم ظاهری ماده خشک ۶/۱ درصد و قابلیت هضم ظاهری NDF ۹ درصد شد، درحالی‌که قابلیت هضم پروتئین خام تحت تأثیر قرار نگرفت. با افزایش دفعات تغذیه منابع نیتروژن غیرپروتئینی، قابلیت هضم ظاهری ماده خشک (۹/۱ درصد)، قابلیت

هضم ظاهری NDF (۱۲/۲ درصد) و قابلیت هضم ظاهری پروتئین خام (۵/۵ درصد) افزایش یافت (۱). بنابراین آزادسازی پایدار و تدریجی نیتروژن در شکمبه، تأثیر مثبت بر الگوی غلظت آمونیاک شکمبه و قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و الیاف دارد (۱). فراهمی اوره با منشأ خارجی (و به دنبال آن افزایش آمونیاک شکمبه) باعث افزایش قابلیت هضم ماده آلی در گوساله‌های تغذیه شده با پوسته نیشکر (۱۹) و گوسفندان تغذیه شده با علف برموگراس شد (۸). مکمل کردن جیره‌های حاوی دانه ذرت غلتک‌زده خشک با اوره باعث بهبود تخمیر شکمبه و قابلیت هضم خوراک و در نتیجه بهبود عملکرد گاوهای شیری شد (۵). تغذیه منابع پروتئین در شب تأثیری بر قابلیت هضم کل دستگاه گوارش ماده خشک، ماده آلی، NDF و پروتئین خام نداشت، اما باعث افزایش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک و ماده آلی در گاوهای شیری شد (۲۲). افزایش قابلیت هضم NDF ممکن است ناشی از افزایش فراهمی مواد مغذی همراه با افزایش فعالیت باکتری‌های سلولولیتیک یا افزایش هضم بعد از شکمبه‌ای NDF مربوط به تغییر در ترکیبات NDF جیره‌ای باشد (۱۰).

جدول ۳. قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی (درصد) گاوهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

P-value	SEM	تیمارهای آزمایشی <sup>†</sup>				صفات مطالعه شده
		FISHM2×	UREA2×	SBM2×	TMR1×	
۰/۰۸	۰/۷۵	۶۵/۸۲ <sup>ab</sup>	۶۷/۸۰ <sup>a</sup>	۶۶/۱۱ <sup>ab</sup>	۶۴/۳۱ <sup>b</sup>	ماده خشک
۰/۰۹	۰/۷۶	۶۹/۱۴ <sup>ab</sup>	۷۰/۹۲ <sup>a</sup>	۶۹/۱۵ <sup>ab</sup>	۶۷/۴۶ <sup>b</sup>	ماده آلی
۰/۴۲	۰/۸۱	۷۴/۲۶	۷۵/۸۶	۷۴/۵۶	۷۳/۹۵	پروتئین خام
۰/۰۱	۱/۰۰	۴۹/۱۱ <sup>bc</sup>	۵۳/۲۰ <sup>a</sup>	۵۰/۷۵ <sup>ab</sup>	۴۶/۴۰ <sup>c</sup>	الیاف نامحلول در شوینده خنثی

a-b-c: تفاوت ارقام در هر ردیف با حروف متفاوت معنی دار است ( $P < 0/05$ ). SEM: اشتباه استاندارد میانگین‌ها  
<sup>†</sup> TMR1×: تغذیه تمام جیره کاملاً مخلوط یکبار ساعت ۸ صبح، SBM2×: تغذیه بخشی از سویا ساعت ۷ شب، UREA2×: تغذیه بخشی از اوره (معادل یک درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب، و FISHM2×: تغذیه بخشی از پودر ماهی (معادل یک درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب.

## تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۴

تأثیرپذیری هضم الیاف، رفتار تغذیه‌ای و الگوی تغییرات اسیدهای چرب فرار شکمبه از دفعات تغذیه منابع گوناگون پروتئین

جدول ۴. فراسنجه‌های مایع شکمبه گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی

P-value	تیمارهای آزمایشی <sup>†</sup>				صفات مطالعه‌شده			
	SEM	FISHM2×	UREA2×	SBM2×		TMR1×		
تیمار × زمان	تیمار	زمان	تیمار × زمان	تیمار	زمان	تیمار × زمان		
	اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول در لیتر)							
۰/۹۹	<۰/۰۱	۰/۸۵	۳/۵۲	۵۴/۰۲	۵۱/۷۵	۵۶/۰۲	۵۳/۸۲	استات
۰/۹۹	<۰/۰۱	۰/۷۷	۱/۳۷	۱۶/۲۰	۱۴/۴۰	۱۵/۰۷	۱۴/۳۸	پروپیونات
۰/۹۹	<۰/۰۱	۰/۶۶	۰/۶۸	۸/۶۵	۸/۷۰	۹/۶۸	۸/۶۸	بوتیرات
۰/۴۴	۰/۷۹	۰/۷۷	۰/۱۹	۱/۰۴	۱/۱۵	۰/۸۷	۰/۹۸	ایزو بوتیرات
۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۷۵	۰/۱۳	۱/۳۸	۱/۵۳	۱/۴۶	۱/۵۸	والرات
۰/۱۵	۰/۰۵	۰/۵۰	۰/۱۱	۱/۱۷	۱/۲۵	۱/۳۸	۱/۳۹	ایزووالرات
۰/۹۹	<۰/۰۱	۰/۸۹	۵/۵۰	۸۲/۲۸	۷۸/۷۳	۸۴/۴۱	۸۰/۸۰	جمع کل
۰/۶۴	<۰/۰۱	۰/۷۶	۰/۲۰	۳/۴۷	۳/۷۱	۳/۶۹	۳/۷۶	نسبت استات به پروپیونات
۰/۱۰	<۰/۰۱	۰/۳۸	۰/۴۴	۱۲/۵۹	۱۱/۶۸	۱۲/۱۲	۱۲/۶۵	نیترژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
۰/۸۷	<۰/۰۱	۰/۵۱	۰/۳۸	۶/۴۶	۶/۵۱	۶/۴۳	۶/۴۸	pH شکمبه

SEM: اشتباه استاندارد میانگین‌ها

<sup>†</sup> TMR1×: تغذیه تمام جیره کاملاً مخلوط یک‌بار ساعت ۸ صبح، SBM2×: تغذیه بخشی از سویا ساعت ۷ شب، UREA2×: تغذیه بخشی از اوره (معادل یک‌درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب، و FISHM2×: تغذیه بخشی از پودر ماهی (معادل یک‌درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب.

است افزایش فعالیت نشخوار توسط گاوهای تغذیه‌شده با منابع پروتئینی در وعده عصر باشد.

میانگین تولید کل اسیدهای چرب فرار و نسبت مولی آن‌ها تحت تأثیر نحوه تغذیه منابع گوناگون پروتئین قرار نگرفتند. با وجود عدم تفاوت معنی‌دار در تولید اسیدهای چرب فرار، تولید اسیدهای چرب فرار در طول روز از یک الگوی خاصی تبعیت کرد، به‌طوری‌که تولید اسیدهای چرب فرار بعد از تغذیه صبح، روند افزایشی داشت و چهار ساعت بعد از تغذیه صبح، روند کاهشی داشت (به دلیل اینکه گاوها در سطح نگهداری تغذیه شدند و بعد از مدتی خوراک تمام می‌شد). این روند کاهشی با تغذیه منابع پروتئین در وعده عصر کمی متعادل شد و افزایش اندکی (غیرمعنی‌دار) در تولید اسیدهای چرب مشاهده شد.

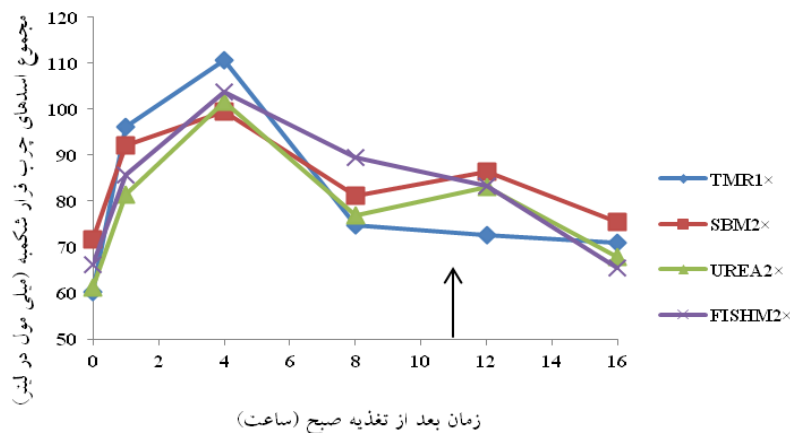
بهبود متوازن کردن جیره‌ها برای تأمین نیاز میکروبی‌ها به پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (RDP) در مقادیر توصیه‌شده باعث بهینه‌شدن رشد میکروبی، کاهش دفع نیترژن و بهبود استفاده از نیترژن توسط گاو می‌شود (۱۴). تغذیه RDP بیشتر، دامیناسیون اسیدهای آمینه در شکمبه و فراهمی اسیدهای چرب فرار شاخه‌دار را افزایش می‌دهد که ممکن است باعث بهبود هضم الیاف شود (۲۴). همچنین تغذیه RDP کمتر از نیازهای حداکثر رشد میکروبی‌های شکمبه، می‌تواند تولید پروتئین میکروبی، هضم شکمبه‌ای و فراهمی انرژی و پروتئین را برای گاو مختل کند (۶). در تحقیق حاضر، افزایش قابلیت هضم مواد مغذی ممکن است به دلیل فراهمی پایدار نیترژن در طول روز برای باکتری‌های شکمبه باشد. دلیل دیگر ممکن

## تولیدات دامی

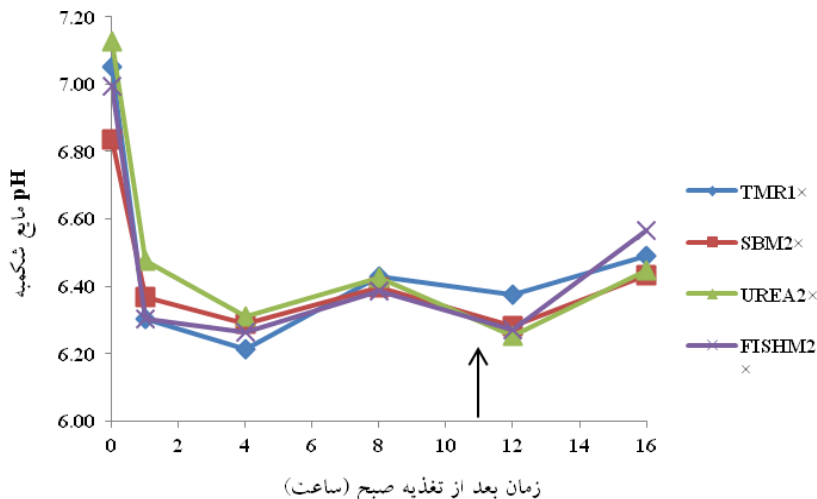
دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۴

جهت عکس، تبعیت کرد (شکل ۲). روند تغییرات نیتروژن آمونیاکی شکمبه به گونه‌ای بود که یک ساعت بعد از تغذیه به اوج رسید و بعد از تغذیهٔ اوره در وعدهٔ عصر در این تیمار در مقایسه با سایر تیمارها اندکی افزایش نشان داد (شکل ۳).

و دوباره با یک کاهش تدریجی در طول شب به غلظت مقادیر صبح برگشت (شکل ۱). میانگین اسیدیتهٔ شکمبه و نیتروژن آمونیاکی شکمبه نیز در طول روز تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. الگوی تغییرات اسیدیتهٔ شکمبه از الگوی تغییرات تولید اسیدهای چرب مایع شکمبه، اما در



شکل ۱. روند تغییرات غلظت مجموع اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه در طول روز (پیکان سیاه نشان‌دهندهٔ زمان تغذیهٔ منابع پروتئین است). TMR1x: تغذیهٔ تمام جیرهٔ کاملاً مخلوط یک‌بار ساعت ۸ صبح، SBM2x: تغذیهٔ بخشی از سویا ساعت ۷ شب، UREA2x: تغذیهٔ بخشی از اوره (معادل یک‌درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب، و FISHM2x: تغذیهٔ بخشی از پودر ماهی (معادل یک‌درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب.



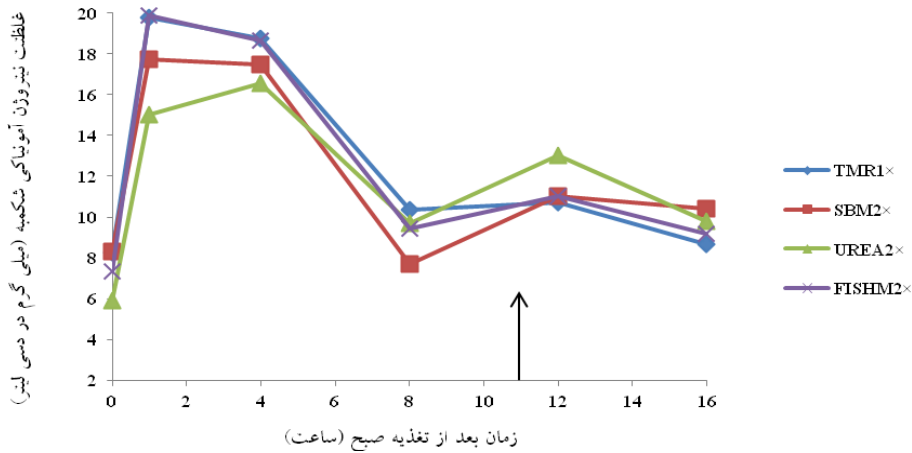
شکل ۲. روند تغییرات pH مایع شکمبه در طول روز (پیکان سیاه نشان‌دهندهٔ زمان تغذیهٔ منابع پروتئین است). TMR1x: تغذیهٔ تمام جیرهٔ کاملاً مخلوط یک‌بار ساعت ۸ صبح، SBM2x: تغذیهٔ بخشی از سویا ساعت ۷ شب، UREA2x: تغذیهٔ بخشی از اوره (معادل یک‌درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب، و FISHM2x: تغذیهٔ بخشی از پودر ماهی (معادل یک‌درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب.

## تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۴



تأثیرپذیری هضم الیاف، رفتار تغذیه‌ای و الگوی تغییرات اسیدهای چرب فرار شکمبه از دفعات تغذیه منابع گوناگون پروتئین



شکل ۳. روند تغییرات غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در طول روز (پیکان سیاه نشان‌دهنده زمان تغذیه منابع پروتئین است).  
 TMR1x: تغذیه تمام جیره کاملاً مخلوط یک‌بار ساعت ۸ صبح، SBM2x: تغذیه بخشی از سویا ساعت ۷ شب، UREA2x: تغذیه بخشی از اویره (معادل یک‌درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب، و FISHM2x: تغذیه بخشی از پودر ماهی (معادل یک‌درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب.

مقابل یک‌بار در روز غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه و نیتروژن اویره‌ای پلاسما را در بین وعده‌ها افزایش داد، اما میانگین غلظت روزانه را کاهش داد و افزایش ناگهانی غلظت آن‌ها بلافاصله بعد از تغذیه را برطرف کرد (۱). در بره‌ها، اسیدیتته شکمبه تحت تأثیر منبع نیتروژن و دفعات تغذیه آن قرار نگرفت. غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه تحت تأثیر دفعات تغذیه قرار نگرفت، اما وقتی که اویره منبع نیتروژن بود در مقایسه با کازئینات به‌عنوان منبع پروتئین حقیقی قابل تجزیه در شکمبه، غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه افزایش یافت. بنابراین اگر پروتئین حقیقی به‌جای منبع نیتروژن غیرپروتئینی استفاده شود و مکمل پروتئینی دو بار در روز عرضه شود، عرضه مواد مغذی ممکن است بهبود یابد (۱۵). در مطالعه‌ای که مکمل منابع نیتروژن غیرپروتئینی (اویره و بیورت) به‌صورت روزانه و یک روز در میان عرضه می‌شد، نیتروژن آمونیاکی شکمبه سه ساعت بعد از تغذیه در روزی که هر دو گروه تغذیه می‌شدند، در گروه یک روز در میان، بالاتر بود و در روز دیگر پایین‌تر بود، ولی در گروه روزانه روند متعادل‌تر بود (۷).  
 نیتروژن اویره‌ای پلاسما در زمان شش ساعت بعد از تغذیه

تغذیه گاوهای شیری با مکمل‌های پروتئینی گوناگون در شب در مقایسه با تغذیه آن‌ها در روز، غلظت تمام اسیدهای چرب به‌جز ایزوبوتیرات را افزایش داد (۲۲). میانگین اسیدیتته شکمبه و نیتروژن آمونیاکی تغییر نکرد، اما الگوی تغییرات روزانه اسیدیتته شکمبه متفاوت بود. الگوی تغییرات روزانه نیتروژن آمونیاکی تمایل به متفاوت بودن داشت. تغذیه مکمل پروتئین در شب نوسانات روزانه اسیدیتته شکمبه را کاهش داد و مقادیر آن در اواسط عصر مقایسه با صبح بیشتر و در شب در مقایسه با صبح کمتر بود (۲۲). بنابراین تغذیه مکمل پروتئینی در شب باعث تحریک تخمیر شکمبه‌ای می‌شود. همچنین زمان تغذیه متفاوت مکمل پروتئین الگوی تخمیر شکمبه‌ای را تغییر می‌دهد. در کل تغذیه پروتئین در طول شب غلظت‌های کل اسیدهای چرب فرار شکمبه و نیتروژن آمونیاکی را متعادل می‌کند (۲۲).

تغذیه اویره هر دو ساعت یک‌بار (۱۲ بار در روز) در مقابل یک‌بار در روز باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی شکمبه به نصف شد اما تأثیری بر اسیدیتته شکمبه و تولید کل اسیدهای چرب فرار شکمبه در گوساله‌های پرواری نداشت (۱). تغذیه مکمل اویره هر دو ساعت یک بار در

## تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۴

مقایسه با سایر تیمارها افزایش یافت ولی با افزایش دفعات تغذیه منابع پروتئین قابل تجزیه، نیتروژن اوره‌ای پلاسما روند متعادل‌تری به خود گرفت که این می‌تواند مزیتی مهم برای افزایش دفعات تغذیه منابع پروتئین قابل تجزیه باشد. حال اگر این دفعات بیشتر هم باشد، این روند متعادل‌تر خواهد شد. در مطالعه‌ای با ۱۲ بار تغذیه در روز، تغذیه مکمل اوره هر دو ساعت یک بار در مقابل یک بار در روز غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه و نیتروژن اوره‌ای پلاسما را در بین وعده‌ها افزایش داد، اما افزایش ناگهانی غلظت آن‌ها بعد از تغذیه را برطرف کرد (۱). سایر متابولیت‌های خون تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند (جدول ۵).

صبح به صورت عددی در گاوهایی که تمام منابع پروتئین در وعده صبح تغذیه می‌شد، بیشتر بود ( $P < 0/08$ ). هیچ‌یک از ترکیبات خون تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت (جدول ۵). نیتروژن اوره‌ای پلاسما و نیتروژن اوره‌ای شیر بازتابی از میزان پروتئین جیره، تجزیه‌پذیری پروتئین جیره و کیفیت آن است. نیتروژن اوره‌ای پلاسما با افزایش پروتئین جیره و تجزیه‌پذیری آن افزایش می‌یابد (۴). طبق نتایج موجود، بعد از تغذیه منابع پروتئین قابل تجزیه در شکمبه، نیتروژن اوره‌ای پلاسما افزایش یافت. هنگامی که تمام منابع پروتئین قابل تجزیه در شکمبه در وعده صبح تغذیه شد، نیتروژن اوره‌ای پلاسما شش ساعت بعد از خوراک‌دهی در

جدول ۵. متابولیت‌های خونی گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی

P-value	SEM	تیمارهای آزمایشی <sup>†</sup>				صفات مطالعه‌شده
		FISHM2×	UREA2×	SBM2×	TMR1×	
۶ ساعت بعد از تغذیه صبح						
۰/۳۷	۲/۶۸	۵۹/۳۶	۵۸/۰۰	۶۳/۰۰	۶۲/۰۰	گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
۰/۰۸	۱/۰۱	۱۶/۴۸	۱۳/۱۰	۱۵/۶۵	۱۶/۳۷	نیتروژن اوره‌ای پلاسما (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
۰/۲۱	۰/۴۴	۴۱/۷۱	۷/۸۱	۸/۶۹	۷/۸۸	پروتئین (گرم در دسی‌لیتر)
۰/۲۹	۰/۲۳	۴/۶۱	۴/۷۰	۴/۵۵	۵/۱۷	آلبومین (گرم در دسی‌لیتر)
۰/۱۳	۰/۴۰	۳/۸۹	۳/۱۱	۴/۱۴	۲/۷۰	گلوبولین (گرم در دسی‌لیتر)
۶ ساعت بعد از تغذیه منابع پروتئین						
۰/۶۴	۴/۴۰	۶۳/۷۵	۷۰/۲۵	۶۹/۵۰	۷۰/۵۲	گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
۰/۲۷	۰/۷۱	۱۳/۸۰	۱۵/۴۵	۱۳/۵۰	۱۳/۵۷	نیتروژن اوره‌ای پلاسما (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
۰/۴۴	۰/۳۸	۸/۰۷	۷/۸۷	۷/۷۱	۸/۶۸	پروتئین (گرم در دسی‌لیتر)
۰/۸۰	۰/۳۶	۴/۴۵	۴/۷۷	۴/۶۲	۴/۹۳	آلبومین (گرم در دسی‌لیتر)
۰/۸۳	۰/۶۱	۳/۶۲	۳/۰۹	۳/۰۸	۳/۷۰	گلوبولین (گرم در دسی‌لیتر)

SEM: اشتباه استاندارد میانگین‌ها

<sup>†</sup> TMR1×: تغذیه تمام جیره کاملاً مخلوط یک‌بار ساعت ۸ صبح، SBM2×: تغذیه بخشی از سویا ساعت ۷ شب، UREA2×: تغذیه بخشی از اوره (معادل یک‌درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب، و FISHM2×: تغذیه بخشی از پودر ماهی (معادل یک‌درصد پروتئین خام جیره) ساعت ۷ شب.

## تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۴

6. Clark JH, Klusmeyer TH and Cameron MR (1992) Symposium: Nitrogen metabolism and amino acid nutrition in dairy cattle: Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 75: 2304-2323.
7. Currier TA, Bohnert DW, Falck SJ, Schauer CS and Bartle SJ (2004) Daily and alternate-day supplementation of urea or biuret to ruminants consuming low-quality forage: III. Effects on ruminal fermentation characteristics in steers. *Journal of Animal Science*. 82: 1528-1535.
8. DeVries TJ, Keyserlingk MAG and Beauchemin KA (2005) Frequency of feed delivery affects the behavior of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 88: 3553-3562.
9. Ferrell CL, Kreikemeier KK and Freetly HC (1999) The effect of supplemental energy, nitrogen, protein on feed intake, digestibility, nitrogen flux across the gut and liver in sheep fed low-quality forage. *Journal of Animal Science*. 77: 3353-3364.
10. Flis SA and Wattiaux MA (2005) Effects of Parity and Supply of Rumen-Degraded and Undegraded Protein on Production and Nitrogen Balance in Holsteins cows. *Journal of Dairy Science*. 88: 2096-2106.
11. Fox DG, Tedeschi LO, Tylutki TP, Russell JB, Van Amburgh ME, Chase LE, Pell AN and Overton TR (2004) The cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Animal Feed Science and Technology*. 112: 29-78.
12. Griswold KE, Apgar GA, Bouton J and Firkins JL (2003) Effects of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility, and fermentation in continuous culture. *Journal of Animal Science*. 81: 329-336.

باتوجه به افزایش قابلیت هضم الیاف، بهبود فعالیت نشخوارکردن و متعادل‌تر شدن الگوی تغییرات اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی شکمبه، تغذیه منابع پروتئین در وعده عصر ممکن است برای گاوهای شیری سودمند باشد. آزمایش‌های بیشتری با گاوهای شیری شیرده برای تأثیر دفعات تغذیه منابع پروتئین بر عملکرد تولیدی، توصیه می‌شود.

### منابع

1. Alvarez Almora EG, Huntington GB and Burns JC (2012) Effects of supplemental urea sources and feeding frequency on ruminal fermentation, fiber digestion, and nitrogen balance in beef steers. *Animal Feed Science and Technology*. 171: 136-145.
2. Association of Official Analytical Chemists (2000) Official methods of analysis. 17<sup>th</sup> ed. AOAC, Arlington, VA.
3. Broderick GA and Kang JH (1980) Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science*. 63: 64-75.
4. Broderick GA and Reynal SM (2009) Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 92: 2822-2834.
5. Ceconi I, Ruiz-Moreno MJ, DiLorenzo N, DiCostanzo A and Crawford GI (2015) Effect of urea inclusion in diets containing corn dried distillers grains on feedlot cattle performance, carcass characteristics, ruminal fermentation, total tract digestibility, and purine derivatives-to-creatinine index. *Journal of Animal Science*. 93: 357-369.

### تولیدات دامی

13. Huhtanen P, Nousiainen J and Rinne M (2006) Recent developments in forage evaluation with special reference to practical applications. *Agriculture Food Science*. 15: 293-323.
14. Korhonen M, Vanhatalo A and Huhtanen P (2002) Effect of Protein Source on Amino Acid Supply, Milk Production, and Metabolism of Plasma Nutrients in Dairy Cows Fed Grass Silage. *Journal of Dairy Science*. 85: 3336-3351.
15. Kozloski GV, Cadorn RL, Harter CJ, Oliveira L, Alves TP, Mesquita FR and Castagnino DS (2009) Effect of supplemental nitrogen source and feeding frequency on nutrient supply to lambs fed a kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*) hay-based diet. *Small Ruminant Research*. 81: 112-118.
16. Maekawa M, Beauchemin KA and Christensen DA (2002) Effect of concentrate level and feeding management on chewing activities, saliva production, and ruminal pH of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 85: 1165-1175.
17. Mertens DR (1994) Regulation of forage intake. In: *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*. Fahey GC, Colins Jr M, Mertens DR and Moser LE. Pp. 450-493.
18. National Research Council. NRC (2001) *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7<sup>th</sup> rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
19. Phillips CJC and Rind MI (2001) The effects of frequency of feeding a total mixed ration on the production and behavior of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 84: 1979-1987.
20. Plaizier JC, Krause DO, Gozho GN and McBride BW (2008) Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *Veterinary*. 176: 21-31.
21. Robinson PH and McQueen RE (1994) Influence of supplemental protein source and feeding frequency on rumen fermentation and performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 77: 1340-1353.
22. Robinson PH, Gill M and Kennelly JJ (1996) Influence of Time of Feeding a Protein Meal on Ruminal Fermentation and Forestomach Digestion in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 80: 1366-1373.
23. Robles VL, González A, Ferret A, Manteca X and Calsamiglia S (2007) Effects of feeding frequency on intake, ruminal fermentation, and feeding behavior in heifers fed high-concentrate diets. *Journal of Animal Science*. 85: 2538-2547.
24. Russell B and Hespell RB (1981) Microbial rumen fermentation. *Journal of Dairy Science*. 64: 1153-1162.
25. SAS Institute (2004) *User's Guide*. Version 9.1: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.
26. Van Keulen J and Young BA (1977) Acid insoluble ash as a natural marker for digestibility studies. *Journal of Dairy Science*. 44: 282-287.
27. Van Soest PJ (1994) *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2nd ed. Cornell University Press, Comstock Publications, New York, NY, USA, 476 Pp.
28. Yang WZ, Beauchemin KA and Rode LM (2000) Effects of barley grain processing on extent of digestion and milk production of lactating cows. *Journal of Dairy Science*. 83: 554-568.