



Effects of coated methionine and guanidinoacetic acid on antioxidant status and nutrient digestibility in Holstein calves

Seyed Mohammad Javidhoseini¹ | Alireza Noshary^{2✉} | Nima Eila³ |
Ali Assadi-Alamouti⁴ | Abdolreza Daneshvar Amoli⁵

1. Department of Animal Science, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran. E-mail: s.javidhoseini@iau.ir
2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran. E-mail: alireza.noshary@iau.ir
3. Department of Animal Science, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran. E-mail: nima.eila@iau.ir
4. Department of Animal and Poultry Science, College of Agricultural Technology (Aburaihan), University of Tehran, Pakdasht, Tehran, Iran. E-mail: a.alamouti@ut.ac.ir
5. Human and Animal Cell Bank, Iranian Biological Resource Center (IBRC), ACECR, Tehran, Iran. E-mail: daneshvar@acecr.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received 25 November 2026
Received in revised form
11 August 2026
Accepted 13 August 2026
Published online 22 September 2026

Keywords:

Antioxidant activity
coated methionine
guanidinoacetic acid
milk-fed calf
apparent digestibility

ABSTRACT

Objective: Growth and health indices in calves are critical factors for longevity, performance, health and economic efficiency of dairy herds. The aim of this study was to investigate the effects of coated methionine and guanidine acetic acid on liver enzyme levels, antioxidant enzymes, and nutrient digestibility in milk-fed Holstein calves.

Method: A completely randomized design was used with 48 Holstein calves (40.39±0.67 kg) and 4 experimental treatments: 1) basal diet without additives, 2) basal diet with 0.73% coated methionine (MET, based on dry matter intake), 3) basal diet with 1000 mg/d guanidine acetic acid (GAA), and 4) basal diet containing 0.73% MET and 1000 mg/d GAA, with 12 replicates per treatment. The experiment carried out from 5 to 84 days of age. Blood samples were taken at the start of the experiment, and on day 56, 70 (weaning), and 84 (trial end) for liver enzyme and antioxidant activity evaluation. The apparent nutrient digestibility was determined in 84 days of age using internal digestibility marker.

Results: The results of the study showed that coated methionine, GAA, and their combination had no significant effect on aspartate amino transferase concentrations on day 5, 56, and 70; however, on day 84, a significant increase in the level of this enzyme was observed in calves receiving MET, either alone or in combination with GAA. Alanine aminotransferase levels decreased on 5 days of age in calves fed GAA, MET and MET+ GAA ($P<0.05$), however, on day 84, a significant increase in level of this enzyme was observed in calves receiving GAA or GAA+MET compared to the control group. At weaning, total antioxidant capacity level was lower with MET and GAA than control group nonsignificantly but malondialdehyde level in calves fed this supplements decreased significantly at weaning age ($P<0.05$). No effect of the experimental treatments was found on digestibility of dry matter, organic matter and protein.

Conclusions: The results of this study demonstrated a decrease in the level of malondialdehyde enzyme and an increase in the level of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase indicating the effect of these compounds in reducing the oxidative stress during weaning time and increasing liver metabolic activity. Overall, the results of this study showed that GAA and its combination with MET can benefit some blood parameters such as aspartate aminotransferase and malondialdehyde in milk-fed calves, respectively, while not affecting the digestibility of nutrients. These results were consistent with the findings that the combined administration of MET and GAA may improve liver health indices and has positive effects on final body weight and daily weight gain in milk-fed calves.

Cite this article: Javidhoseini, S. M., Noshary, A., Eila, N., Assadi-Alamouti, A., & Daneshvar Amoli, A. (2026). Effects of coated methionine and guanidinoacetic acid on antioxidant status and nutrient digestibility in Holstein calves. *Journal of Animal Production*, 28 (3), 335-347. DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2026.407009.623883>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2026.407009.623883>

Publisher: University of Tehran Press.



اثرات متیونین پوششی دار و گوانیدینواستیک اسید بر وضعیت آنتی اکسیدانی و قابلیت هضم مواد مغذی در گوساله های شیر خوار هلشتاین

سیدمحمد جاویدحسینی^۱ | علیرضا نوشری^۲ | نیما ایلا^۳ | علی اسدی الموتی^۴ | عبدالرضا دانشور آملی^۵

۱. گروه علوم دامی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. رایانامه: s.javidohsseini@iau.ir
۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. رایانامه: alireza.noshary@kiau.ac.ir
۳. گروه علوم دامی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. رایانامه: nima.eila@iau.ir
۴. گروه علوم دام و طیور، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران. رایانامه: a.alamouti@ut.ac.ir
۵. بانک سلول های انسانی و جانوری، مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران، جهاد دانشگاهی، تهران، ایران. رایانامه: daneshvar@acecr.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

هدف: کنترل شاخص های رشد و سلامتی گوساله، یکی از اقدامات ضروری برای بهبود عملکرد گله های شیری از نظر طول عمر، عملکرد، وضعیت سلامتی و بازدهی اقتصادی است. هدف این مطالعه بررسی اثرات متیونین پوششی دار و گوانیدینواستیک اسید بر روی سطوح آنزیم های کبدی، آنزیم های آنتی اکسیدانی و قابلیت هضم مواد مغذی در گوساله های شیرخوار هلشتاین بود.

روش پژوهش: از تعداد ۴۸ رأس گوساله هلشتاین با وزن متوسط $40/39 \pm 0/67$ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و ۱۲ تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره پایه بدون افزودنی، ۲- جیره پایه با ۰/۷۳ درصد متیونین پوششی دار (MET) برحسب ماده خشک مصرفی، ۳- جیره پایه با ۱۰۰۰ میلی گرم گوانیدینواستیک اسید (GAA) روز و ۴- جیره پایه حاوی ۰/۷۳ درصد MET و ۱۰۰۰ میلی گرم GAA/ روز بود. تیمارها طی بازه زمانی پنج تا ۸۴ روزگی در اختیار گوساله ها قرار گرفت. سنجش نمونه های خون برای اندازه گیری آنزیم های کبدی و شاخص های آنتی اکسیدانی در شروع آزمایش و نیز در سنین ۵۶ روزگی، سن شیرگیری (۷۰ روزگی) و ۸۴ روزگی انجام شد. مصرف شیر در تمام گوساله ها یکسان بود و با جیره آغازین یکسان از نظر مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی تغذیه شدند. قابلیت هضم مواد مغذی ظاهری در روز ۸۴ با استفاده از نشانگر داخلی هضم اندازه گیری شد.

یافته ها: افزودن متیونین پوششی دار، GAA و ترکیب آن ها به جیره، اثری بر غلظت آسپارات آمینوترانسفراز در سنین پنج، ۵۶ روزگی و سن شیرگیری نداشت، اما در پایان دوره پرورش (۸۴ روزگی) غلظت آسپارات آمینوترانسفراز در خون گوساله های گروه متیونین پوششی دار و یا گروه مخلوط آن با GAA، بیش تر از گوساله های شاهد بود ($P < 0/05$). در پنج روزگی، غلظت آلانین آمینوترانسفراز خون در گوساله هایی که متیونین پوششی دار، GAA و ترکیب آن ها دریافت کردند، کاهش یافت ($P < 0/05$)، در حالی که در ۸۴ روزگی غلظت این آنزیم در خون گوساله هایی که GAA و یا ترکیب آن با متیونین را دریافت کردند از گروه شاهد بیش تر بود ($P < 0/05$). در زمان شیرگیری، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل با دریافت متیونین و GAA کم تر از گروه شاهد بود و اختلاف معنی داری با آن نشان نداد. اما غلظت مالون دی آلدید در گوساله های تغذیه شده با این مکمل ها در سن شیرگیری کاهش یافت ($P < 0/05$). قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و پروتئین تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

نتیجه گیری: براساس نتایج حاصل، مصرف همزمان Met و GAA در گوساله های شیرخوار هلشتاین با کاهش غلظت آنزیم مالون دی آلدید و افزایش غلظت آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز همراه بود که نشان دهنده اثرات این ترکیبات در کاهش تنش اکسیداتیو گوساله ها در سن شیرگیری و افزایش فعالیت متابولیکی کبد می باشد. نتایج کلی حاصل از این پژوهش نشان داد GAA و نیز ترکیب آن با MET می تواند به ترتیب تأثیر مثبتی بر برخی فراسنجه های خونی نظیر آسپارات آمینوترانسفراز و مالون دی آلدید گوساله های شیرخوار داشته باشد. با این حال، این افزودنی ها اثری بر قابلیت هضم مواد مغذی ایجاد نکردند. یافته های این پژوهش تأیید می نماید مصرف همزمان MET و GAA می تواند اثرات مثبتی بر روی شاخص های سلامتی کبد ایجاد نماید و اثرات مثبتی بر روی وزن نهایی بدن و افزایش وزن روزانه در گوساله های شیرخوار داشته باشد.

کلیدواژه ها:

فعالیت آنتی اکسیدانی
قابلیت هضم ظاهری
گوانیدینواستیک اسید
گوساله شیرخوار
متیونین پوششی دار

استناد: جاویدحسینی، سیدمحمد؛ نوشری، علیرضا؛ ایلا، نیما؛ اسدی الموتی، علی و دانشور آملی، عبدالرضا (۱۴۰۵). اثرات متیونین پوششی دار و گوانیدینواستیک اسید بر وضعیت آنتی اکسیدانی و قابلیت هضم مواد مغذی در گوساله های شیرخوار هلشتاین. *تشریه تولیدات دامی*، ۲۸ (۳)، ۳۲۵-۳۴۷.
DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2026.407009.623883>



۱. مقدمه

گوانیدینواستیک‌اسید (GAA) پیش‌ساز مستقیم کراتین است که در بازسازی آدنوزین‌تری فسفات در طول فعالیت‌های با شدت بالا اهمیت دارد (Ghoorchi et al., 2023). سنتز کراتین نیازمند سه اسید آمینه در یک فرایند دو مرحله‌ای است که با انتقال گروه آمیدین از آرژنین به گلیسین برای تولید گوانیدینواستیک‌اسید آغاز می‌شود. سپس گوانیدینواستیک‌اسید در گروه آمیدین به واسطه S-آدنوزیل-L-متیونین-N: گوانیدینو استات متیل ترانسفراز در کبد متیله شده و منجر به تولید کراتین می‌شود (Wyss et al., 2000). سپس کراتین از طریق جریان خون آزاد شده و از طریق انتقال‌دهنده کراتین به سلول‌های حاوی کراتین، بیش‌تر عضلات اسکلتی و قلب جذب می‌شود (Ghoorchi et al., 2023).

نشان داده شده است که مکمل گوانیدینواستیک‌اسید در جیره غذایی، عملکرد رشد گوساله نر آنگوس در دوره پایانی را افزایش می‌دهد (Li et al., 2020; Liu et al., 2020). همچنین، پژوهش‌های دیگری نشان داده است که مکمل گوانیدینواستیک‌اسید در جیره غذایی باعث افزایش قابلیت هضم جیره می‌شود که می‌تواند بخشی از فعالیت‌های افزایش‌دهنده رشد را توجیه کند. به‌طور مشابه، نشان داده شده است که گوانیدینواستیک‌اسید در جیره غذایی باعث افزایش رشد در بره‌ها می‌شود (Zhang et al., 2022). حیوانات جوان در حال رشد برای بهبود عملکرد رشد نیازمند کراتین هستند. استفاده از گوانیدینواستیک‌اسید در شیر خشک برای گوساله‌های شیرخوار باعث بهبود مصرف خوراک و عملکرد رشد شد (Hazlewood et al., 2024). با توجه به این‌که تغذیه مکمل گوانیدینواستیک‌اسید در نشخوارکنندگان می‌تواند رشد را افزایش دهد، اما نگرانی‌هایی در مورد کمبود متیل برای ساخت کراتین از این مولکول ایجاد کرده است (Speer et al., 2024; Yi et al., 2024). لذا استفاده از مکمل‌های دهنده متیل جهت تأثیرگذاری بیش‌تر گوانیدینواستیک‌اسید بر عملکرد رشد پیشنهاد شده است (Yi et al., 2024).

متیونین اولین اسید آمینه محدودکننده در گوساله‌های شیرخوار بوده و نقش مهمی در سنتز پروتئین ایفا می‌کند (McFadden et al., 2020). متیونین به S-آدنو زیل متیونین (SAM) تبدیل می‌شود و یک دهنده متیل ضروری برای متیلاسیون بوده و از طریق آنزیم متیونین آدنوزیل ترانسفراز A2 عمل می‌کند (Navik et al., 2019). متیونین برای حفظ وضعیت متیلاسیون حیاتی است. این نشان می‌دهد که غلظت متیونین در رژیم غذایی نقش مهمی در حفظ هموستاز ایفا می‌کند و هرگونه مکمل‌سازی یا محدودیت متیونین می‌تواند تأثیرات چشم‌گیری بر سلامت داشته باشد (Guedes et al., 2011; Navik et al., 2019). متیونین برای تولید پروتئین، رشد، نگهداری، بازسازی بافت و تولیدمثل مثل ضروری می‌باشد همچنین متیونین حاوی سولفور بوده که در بسیاری از مسیرها از جمله سوخت‌وساز فسفولیپیدها، کارنتین و پلی‌آمین‌ها درگیر است.

در این مطالعه، فرضیه اصلی بر این بود که گوانیدینواستیک‌اسید می‌تواند عملکرد رشد را بهبود بخشد. با این حال، از آنجاکه GAA به‌عنوان یک ترکیب کاهنده مخزن متیل شناخته می‌شود، این احتمال وجود دارد که کاهش غلظت متیلاسیون ناشی از گوانیدینواستیک‌اسید اثرات مثبت آن بر رشد را محدود کند. به همین دلیل، استفاده از متیونین به‌عنوان یک دهنده متیل می‌تواند از کاهش بیش از حد غلظت متیلاسیون جلوگیری کرده و در نتیجه، اثرات مثبت گوانیدینواستیک‌اسید بر عملکرد رشد حفظ گردد. Yi و همکاران (۲۰۲۵) اثرات هم‌زمان مصرف GAA و متیونین را بر عملکرد رشد و وضعیت متابولیکی گاوهای سیمنتال برای مدت ۱۴۰ روز موردبررسی قرار دادند و گزارش کردند مصرف هم‌زمان متیونین و GAA نسبت به مصرف تنها GAA باعث بهبود معنی‌دار عملکرد رشد، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و متابولیسم پروتئین و لیپید شد که احتمالاً دلیل حذف محدودیت متیلاسیون ناشی از تأمین کافی متیونین در جیره بوده است.

بررسی‌های نشان داده است تاکنون متیونین پوشش‌دار و گوانیدینواستیک‌اسید به‌صورت هم‌زمان در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین موردبررسی قرار نگرفته‌اند، لذا هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات متیونین پوشش‌دار و گوانیدینواستیک‌اسید بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بود.

۲. روش پژوهش

۱.۲. شرایط پرورش و گروه‌های آزمایشی

مطالعه حاضر در یک دامداری صنعتی شیری در منطقه حسن آباد تهران انجام شد. بدین منظور از ۴۸ رأس گوساله نر و ماده با میانگین وزن $40/39 \pm 0/67$ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و ۱۲ تکرار به مدت ۸۴ روز استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره پایه بدون افزودنی، ۲- جیره پایه با $0/73$ درصد MET (ماده خشک)، ۳- جیره پایه با میانگین ۱۰۰۰ میلی گرم GAA و ۴- جیره پایه با $0/73$ درصد MET + میانگین ۱۰۰۰ میلی گرم GAA (۰/۲ درصد ماده خشک خوراک آغازین) بود. متیونین پوشش‌دار و گوانیدینواسید محصول شرکت Evonik Nutrition & Care GmbH ساخت کشور آلمان بود و توصیه مقدار مصرف براساس نیازسنجی به منبع کراتین و متیونین به صورت درصدی از ماده خشک مصرفی خوراک آغازین گوساله‌ها محاسبه شد (Yi et al., 2025).

پس از تولد، گوساله‌ها بلافاصله از مادران خود جدا و وزن‌کشی شده و به جایگاه‌های انفرادی (ابعاد $1/40 \times 2/50$ متر) با بستر پوشال، منتقل شدند. گوساله‌های متولدشده پس از پنج روز و با تأیید سلامت گوساله (کاملاً سالم، حاصل زایمان طبیعی و وزن بالاتر از ۳۷ کیلوگرم) به باکس‌های انفرادی گوساله‌دانی انتقال داده شدند و از این سن مصرف جیره‌های آزمایشی مطابق گروه‌بندی‌های انجام‌شده آغاز شد. جایگاه‌ها از لحاظ تهویه، نور، و دما در شرایط کاملاً یکسانی قرار داشتند. گوساله‌ها در شش ساعت اول تولد سه لیتر آغوز (با حداقل ارزش بریکس ۲۴) و سپس دو لیتر دیگر تا ۱۲ ساعت اول زندگی دریافت کردند. کیفیت آغوز استفاده‌شده با استفاده از یک دستگاه رفاکتومتر دیجیتال بریکس (PAL-1, Atago CoLtd., Bellevue, WA) اندازه‌گیری شد. در صورتی که آغوز تولید شده توسط مادر از نظر کمیت و کیفیت نامناسب بود، برای تغذیه گوساله‌ها از آغوز منجمد گرم و پاستوریزه‌شده با کیفیت مناسب استفاده شد. بعد از آن، گوساله‌ها از روز سه تا ۱۴ روزگی چهار لیتر در روز، از روز ۱۵ تا ۶۵ روزگی شش لیتر در روز، از روز ۶۶ تا ۷۰ روزگی سه لیتر در روز شیر کامل پاستوریزه دریافت کردند و سپس از شیر گرفته شدند. نمونه‌ای از شیر کامل ارائه‌شده به گوساله‌ها هفتگی جمع‌آوری‌شده و به‌طور متوسط حاوی پروتئین (۳/۵۵ درصد) چربی (۳/۸۵ درصد)، لاکتوز (۴/۱۷ درصد) و مواد جامد غیرچربی (۹/۴۳ درصد) بودند. از روز بیستم پس از تولد، ۱۰ درصد یونجه خشک خردشده به طول ۱-۲ سانتی‌متر با جیره آغازین مخلوط و در اختیار گوساله‌ها گذاشته شد. پس از شیرگیری در سن ۷۰ روزگی، گوساله‌ها تا سن ۸۴ روزگی به منظور تکمیل بررسی‌ها، در جایگاه‌های انفرادی نگهداری شدند. جیره پایه و ترکیب شیمیایی آن در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب و شیمیایی جیره آغازین

درصد	ترکیب شیمیایی	درصد	اقلام خوراکی
۸۷/۰	ماده خشک (از وزن تر)	۴۲/۰۰	ذرت آسیاب‌شده
۱۹/۸	پروتئین	۱۶/۰۰	جوی آسیاب‌شده
۳/۳	عصاره اتری (چربی)	۲/۰۰	گندم
۱۲/۹	الیاف نامحلول در شوینده خنثی ^۳	۳۷/۰۰	کنجاله سویا
۵/۸	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ^۳	۱/۰۰	نمک
۶/۶	خاکستر	۱/۰۰	کربنات کلسیم
۰/۷۰	کلسیم ^۳	۰/۵۰	مکمل ویتامینه ^۱
۰/۵۶	فسفر ^۳	۰/۴۰	مکمل مواد معدنی ^۲
		۰/۱۰	ماده جاذب توکسین

۱. ترکیب مکمل ویتامینه: ویتامین A، ۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم؛ ویتامین E، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ ویتامین B_۱، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم.

۲. ترکیب مکمل معدنی: کلسیم ۱۹۵۰۰۰ میلی‌گرم؛ فسفر ۹۰۰۰۰ میلی‌گرم؛ منیزیم ۹۰۰۰۰ میلی‌گرم؛ سدیم ۵۵۰۰۰ میلی‌گرم؛ روی ۳۰۰۰ میلی‌گرم؛ آهن ۳۰۰ میلی‌گرم؛ منگنز ۲۰۰ میلی‌گرم؛ مس ۲۸۰ میلی‌گرم؛ کبالت ۱۰۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم ۱ میلی‌گرم؛ اتنی‌اکسیدانت ۴۰۰ میلی‌گرم.

۳. برآورده‌شده براساس NASEM (۲۰۲۱).

۲.۲. نمونه‌گیری و ثبت داده‌های آزمایشی

مقدار خوراک مصرفی هر گوساله به‌طور روزانه ثبت شد. بدین منظور مقدار خوراک توزیع‌شده در سطل هر گوساله ثبت شده و باقیمانده خوراک هر روز، صبح روز بعد جمع‌آوری و توزین شد و سپس خوراک تازه در سطل غذا ریخته شد. گوساله‌ها در روزهای ۱۴، ۲۸، ۵۶، ۷۰ و ۸۴ روزگی و به‌صورت انفرادی با ترازوی دیجیتالی توزین شدند. ضریب تبدیل خوراک به روش توصیه‌شده Ghoochi و همکاران (۲۰۲۳) و Hazlewood و همکاران (۲۰۲۴) با تقسیم ماده خشک مصرفی (آغازین + شیر) هر گوساله بر افزایش وزن روزانه گوساله‌ها محاسبه شد.

در سن پنج، ۵۶، ۷۰ و ۸۴ روزگی، چهار ساعت بعد از خوراک‌دهی وعده صبح از سیاهرگ گردنی خونگیری انجام شد. نمونه‌های خون پس از انتقال به آزمایشگاه، به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده (با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه) و پس از جداسازی سرم، نمونه‌های سرم تا زمان اندازه‌گیری، در دمای ۲۰- درجه‌سنتی‌گراد نگهداری شدند. آنزیم‌های کبدی (آسپارات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز) با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر (Alcyon300، آمریکا) و به روش فوتومتریک با کیت‌های اختصاصی شرکت پارس‌آزمون (تهران، ایران) اندازه‌گیری شد. مالون‌دی‌آلدهید در نمونه‌های سرم با استفاده از روش تیوباریتوریک اسید اندازه‌گیری شد (Zhu et al., 2025). میزان گلوکاتیون پراکسیداز (براساس روش کوپل‌شده با آنزیم) و سوپراکسیددیسموتاز (روش مبتنی بر مهار نیتروبلو تترازولیوم) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (براساس روش توانایی کاهش آهن فریک به فرو) در نمونه خون کامل اندازه‌گیری شدند (Zhu et al., 2025)، چون این آنزیم‌ها به‌عنوان شاخصی از فعالیت آنتی‌اکسیدانتی داخل سلولی عمل می‌کنند.

۲.۳. تعیین قابلیت هضم ظاهری براساس خاکستر نامحلول در اسید

برای اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در جیره‌های آزمایشی، از مدفوع هر گوساله در سه روز انتهایی دوره آزمایش (۸۲ تا ۸۴ تا روزگی) روزانه دو بار در ساعات ۰۹:۰۰ و ۱۵:۰۰ از طریق رکتوم، نمونه‌برداری شد. نمونه‌های هر گوساله با هم مخلوط و در دمای ۷۲ درجه به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شد. سپس مقادیر خاکستر نامحلول در اسید (به‌عنوان نشانگر داخلی) ماده آلی و پروتئین خام خوراک مصرفی و مدفوع اندازه‌گیری شد و قابلیت هضم ظاهری از تغییر نسبت ماده مغذی و نشانگر داخلی در خوراک و مدفوع محاسبه شد (Ghoorchi et al., 2023).

۲.۴. روش آماری

ابتدا نرمال‌بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov رویه Capability بررسی شد. سپس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴)، رویه خطی عمومی (GLM) براساس مدل مختلط و داده‌های تکرار‌شده در زمان با در نظر گرفتن اثر ثابت تیمار و اثر تصادفی گوساله و مدل (۱) تجزیه و میانگین‌ها با کمک آزمون دانکن مقایسه شدند.

$$Y_{ij} = \mu + A_j + T_j + b(X - \mu_x) + e_{ijk} \quad (\text{رابطه ۱})$$

که در این رابطه، Y ، متغیر وابسته؛ μ ، میانگین هر مشاهده؛ A_i ، اثر تصادفی حیوان؛ T_j ، اثر تیمار؛ X ، اثر متغیر کمکی وزن بدن در ابتدای تحقیق؛ b ، ضریب تابعیت هر متغیر وابسته براساس متغیر کمکی و e_{ij} ، اثر باقیمانده است. جنس گوساله و نیز مقادیر متابولیت‌های خونی در شروع آزمایش فاقد تأثیر معنی‌دار بر روی متغیرهای وابسته‌ی موردبررسی بوده و به‌دلیل قابلیت تخمین میانگین‌های حداقل مربعات در مدل آماری مختلط و گستردگی پارامترها، از مدل حذف شد.

۳. یافته‌های پژوهش

۳.۱. آنزیم‌های کبدی

اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت آنزیم‌های کبدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اکسیداسیون لیپیدها در گوساله‌های شیرخوار در جدول (۲) نشان داده شده است.

جدول ۲. اثرات تیمارهای آزمایشی بر غلظت آنزیم‌های کبدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سرم گوساله‌های شیرخوار

شاهد	متیونین	اسید گوانیدینونیک استیک	اسید گوانیدینونیک استیک + متیونین	SEM	P value اثر تیمارهای آزمایشی
آسپارات آمینوترانسفراز (U/L)					
۵ روزگی	۴۵/۳±۵/۰۴	۴۳/۴±۳/۷۵	۳۷/۲±۳/۷۲	۱/۵۸	۰/۴۴۰۰
۵۶ روزگی	۴۷/۹±۳/۹۵	۵۱/۸±۳/۵۹	۵۴/۲±۴/۰۷	۱/۸۱	۰/۲۸۲۶
۷۰ روزگی	۵۵/۰±۴/۴۹	۵۹/۸±۳/۶۶	۵۸/۷±۳/۶۶	۱/۹۳	۰/۳۶۸۱
۸۴ روزگی	۶۱/۳±۵/۷۱	۸۱/۶±۵/۷۳	۸۳/۳±۶/۴۵	۳/۱۷	۰/۰۴۳۹
P.Value اثر زمان	۰/۰۲۳۷	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱		۰/۱۴۸۵ ^۱
آلانی آمینوترانسفراز (U/L)					
۵ روزگی	۱۷/۷±۱/۳۵	۱۴/۹±۱/۹۵	۱۴/۳±۰/۹۲	۰/۴۴	۰/۰۳۴۳
۵۶ روزگی	۱۵/۱±۱/۴۲	۱۵/۲±۱/۰۱	۱۴/۷±۱/۰۱	۰/۴۳	۰/۵۵۵۷
۷۰ روزگی	۱۶/۰±۰/۹۷	۱۶/۲±۰/۷۹	۱۷/۲±۰/۷۹	۰/۴۰	۰/۶۹۹۸
۸۴ روزگی	۱۷/۷±۱/۵۲	۲۱/۱±۱/۴۶	۲۲/۵±۱/۶۰	۰/۷۵	۰/۰۳۳۴
P.Value اثر زمان	۰/۰۸۶۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۱		۰/۲۴۹۱ ^۱
آلکالین فسفاتاز (U/L)					
۵ روزگی	۱۱۲/۲±۱۰/۰۵	۱۰۳/۰±۱۰/۰۵	۱۱۸/۲±۱۱/۰۱	۵/۰۹	۰/۴۶۷۴
۵۶ روزگی	۱۵۸/۲±۱۹/۶۵	۱۵۱/۵±۱۴/۳۱	۱۲۸/۸±۱۵/۳۱	۷/۶۷	۰/۵۲۸۷
۷۰ روزگی	۱۲۱/۱±۱۵/۷۰	۱۴۱/۷±۱۲/۳۳	۱۴۰/۴±۱۳/۶۸	۷/۰۸	۰/۷۴۵۷
۸۴ روزگی	۱۱۵/۸±۱۳/۸۶	۱۳۶/۱±۱۳/۸۱	۱۱۹/۳±۱۵/۴۹	۷/۷۰	۰/۶۹۶۷
P.Value اثر زمان	۰/۶۰۳۳	۰/۲۵۵۸	۰/۳۱۳۳		۰/۹۹۸۸ ^۱
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (mmol/L)					
۵ روزگی	۰/۱۰±۰/۰۱	۰/۰۹±۰/۰۱	۰/۱۰±۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۹۹۹۲
۵۶ روزگی	۰/۰۸±۰/۰۳	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۱۴±۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۳۴۴۴
۷۰ روزگی	۰/۲۵±۰/۰۶	۰/۰۹±۰/۰۴	۰/۱۷±۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۳۰۲
۸۴ روزگی	۰/۲۴±۰/۰۳	۰/۲۳±۰/۰۳	۰/۲۸±۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۳۳۵۰
P.Value اثر زمان	۰/۴۱۵۱	۰/۰۷۶۳	۰/۰۱۷۳		۰/۲۸۳۶ ^۱
مالون‌دی‌آلدهید (μmol/L)					
۵ روزگی	۲/۸۷±۰/۴۷	۲/۶۳±۰/۴۷	۲/۵۲±۰/۵۲	۰/۲۲	۰/۹۵۸۳
۵۶ روزگی	۱/۵۱±۰/۲۴	۱/۶۱±۰/۲۲	۱/۶۱±۰/۲۲	۰/۱۱	۰/۴۲۲۱
۷۰ روزگی	۲/۴۰±۰/۳۴	۱/۶۳±۰/۱۹	۱/۴۷±۰/۱۹	۰/۱۲	۰/۰۳۹۷
۸۴ روزگی	۱/۹۶±۰/۱۶	۱/۸۴±۰/۱۶	۱/۵۲±۰/۱۸	۰/۰۸	۰/۲۹۱۸
P.Value اثر زمان	۰/۰۱۴۰	۰/۰۵۸۴	۰/۰۳۴۰		۰/۸۶۹۰ ^۱

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۱. P.Value مربوط به اثر متقابل تیمارهای آزمایشی × زمان سنجش پارامتر.

در زمان‌های پنج و ۵۶ روزگی و سن شیرگیری غلظت آسپارات‌آمینوترانسفراز نتوانست تحت تأثیر MET، GAA و مخلوط آن‌ها قرار بگیرد. در پایان دوره پرورشی غلظت آسپارات‌آمینوترانسفراز در گوساله‌های دریافت‌کننده MET و مخلوط MET و GAA افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت ($P < 0.05$). در پنج روزگی غلظت آلانین

آمینوترانسفراز در گوساله‌های دریافت‌کننده مکمل‌ها نسبت به گروه شاهد کم‌تر بود ($P < 0.05$)، اما نتیجه تجزیه کوواریانس نشان داد تأثیر این تغییرات بر غلظت این ترکیب در سایر سنین غیرمعنی‌دار است. غلظت آلانین آمینوترانسفراز در ۵۶ و ۷۰ روزگی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نداشت، اما در ۸۴ روزگی، گوساله‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی GAA و مخلوط GAA+Met، به‌طور معنی‌دار غلظت آلانین آمینوترانسفراز بالاتری نسبت به گروه شاهد داشتند. غلظت آلکالین فسفاتاز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در سن شیرگیری (۷۰ روزگی) در گوساله‌های دریافت‌کننده MET و GAA پایین‌تر از گروه شاهد بود ($P < 0.05$)، اما در سایر زمان‌ها اختلاف معنی‌داری از نظر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. غلظت مالون‌دی‌آلدید در گوساله‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی MET، GAA و مخلوط آن‌ها کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد در سن شیرگیری داشت، اما در سایر زمان‌ها تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نگردید.

مطابق جدول (۲) غلظت آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز در طول روند پژوهش دارای مقادیر افزایشی بود و اثر زمان در تمام تیمارهای آزمایشی معنی‌دار بود. غلظت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در گروه کنترل طی زمان، تغییرات معنی‌داری را نشان نداد، اما در سایر گروه‌های پژوهش طی زمان دارای روند افزایشی و تغییرات معنی‌دار بود ($P < 0.01$). غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز در طول پژوهش در هیچ‌کدام از گروه‌های آزمایشی دارای تغییرات معنی‌دار نبود. ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در گروه مخلوط MET و GAA در طول پژوهش دارای روند افزایشی بود و تغییرات آن در طول زمان معنی‌دار بود ($P < 0.05$) اما در سایر گروه‌های پژوهش، تغییرات این آنزیم در طول روزهای ارزیابی غیرمعنی‌دار بود. همچنین تغییرات مالون‌دی‌آلدید در طول روزهای ارزیابی تنها در گروه‌های کنترل و مخلوط MET و GAA معنی‌دار بود ($P < 0.05$). مطابق جدول (۲) اثر متقابل تیمارهای آزمایشی و زمان برای هیچ‌کدام از آنزیم‌های کبدی معنی‌دار نبود که نشان می‌دهد روند تغییرات سطوح آنزیمی در تمام گروه‌های آزمایشی طی زمان‌های ارزیابی از تغییرات یکنواختی برخوردار بود.

۳.۲. قابلیت هضم مواد مغذی

نتایج مربوط به تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و پروتئین در جدول (۳) نشان داده شده است. مطابق جدول فوق قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام تحت تأثیر MET، GAA و مخلوط آن‌ها قرار نگرفت.

جدول ۳. اثر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم مواد مغذی در گوساله شیرخوار

شاهد	متیونین	اسید گوانیدینونیک استیک	اسید گوانیدینونیک استیک + متیونین	SEM	P.value
قابلیت هضم ماده خشک (درصد)	۶۹/۳±۵/۹۴	۶۹/۱±۲/۸۱	۷۰/۲±۵/۱۲	۶۴/۳±۹/۲۹	۰/۹۵
قابلیت هضم ماده آلی (درصد)	۷۰/۲±۶/۳۴	۷۰/۱±۲/۷۵	۷۱/۱±۴/۹۴	۶۴/۶±۹/۸۴	۱/۰۱
قابلیت هضم پروتئین (درصد)	۶۲/۱±۷/۷۸	۶۲/۹±۵/۳۰	۶۷/۸±۸/۶۱	۶۵/۶±۹/۸۴	۱/۲۸

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۳.۳. عملکرد رشد

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد گوساله‌های شیرخوار در جدول (۴) نشان داده شده است. وزن نهایی بدن و افزایش وزن روزانه در گوساله‌های دریافت‌کننده GAA+MET نسبت به گروه دریافت‌کننده GAA بیش‌تر بود ($P < 0.05$)، اما نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. مصرف ماده خشک (شیر+خوراک آغازین) و ضریب تبدیل تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت (نمودار ۱).

جدول ۴. اثرات تیمارهای آزمایشی بر وزن بدن (کیلوگرم)، افزایش وزن روزانه (گرم در روز)، مصرف ماده خشک (گرم در روز) و ضریب تبدیل خوراک گوساله‌های شیرخوار

شاخص	شاهد	متیونین	اسید گوانیدینونیک استیک	اسید گوانیدینونیک استیک + متیونین	SEM	P value
وزن اولیه	۴۰/۶	۳۸/۷	۳۸/۹	۳۸/۹	۰/۴۱	۰/۶۰
وزن پایان دوره	۱۰۴/۳ ^{ab}	۱۰۳/۸ ^{ab}	۹۸/۷ ^b	۱۰۸/۰ ^a	۰/۳۶	۰/۰۴
افزایش وزن روزانه	۷۴۷ ^{ab}	۷۴۳ ^{ab}	۶۸۶ ^a	۷۹۵ ^a	۴/۱۷	۰/۰۴
مصرف ماده خشک روزانه	۲۱۲۳	۲۲۱۷	۲۰۸۷	۲۲۷۲	۱۰۸/۵	۰/۴۸
ضریب تبدیل	۲/۸۴	۲/۹۸	۳/۰۴	۲/۸۵	۰/۱۱	۰/۱۰

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است ($P < 0.05$). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۴. بحث

در مطالعه حاضر، غلظت آسپارات آمینوترانسفراز در ۸۴ روزگی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و مقدار آن در جیره‌های حاوی ترکیب MET (گروه MET و ترکیب MET+GAA) بیش‌تر از گروه کنترل بود. با این حال، سطوح این آنزیم (حداکثر ۸۳/۳ U/L) همچنان در دامنه مراجع گزارش شده برای گوساله‌های سالم قرار دارد که معمولاً بین ۶۰ تا ۱۲۰ U/L بوده و ناشی از آسیب یا اختلال کبدی نمی‌باشد (Fielder, 2024). متیونین به عنوان یک اسید آمینه گوگرددار می‌تواند مسیرهای متابولیک وابسته به کبد را تحریک کند و منجر به افزایش فعالیت آنزیمی در بافت کبد شود (Wu, 2014). در مورد گوانیدینواستیک اسید، برخی شواهد نشان می‌دهند که در صورت مصرف طولانی مدت یا دوز بالا، ممکن است باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی شود، هرچند این یافته‌ها بیش‌تر در مطالعات انسانی گزارش شده‌اند (Ghoorch et al., 2023). پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که اسید آمینه‌هایی مانند متیونین و مشتقات آن می‌توانند از طریق نقش در متیلاسیون، سنتز گلوکوتایون و کاهش استرس اکسیداتیو، به بهبود عملکرد کبدی کمک کنند (Wu, 2013; Li et al., 2020).

در سن ۵۶ روزگی و سن از شیرگیری، غلظت آلانین آمینوترانسفراز همچون آسپارات آمینوترانسفراز بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت. با این حال، در پایان دوره پرورشی (۸۴ روزگی)، غلظت آلانین آمینوترانسفراز در گوساله‌هایی که جیره‌های حاوی GAA یا ترکیب MET+GAA را دریافت کرده بودند، بیش‌تر از گروه کنترل بود که می‌تواند ناشی از اثرات مربوط به دوز تجمعی این دو ترکیب با یکدیگر در جیره‌های آزمایشی باشد. این افزایش می‌تواند بیانگر افزایش فعالیت متابولیکی کبد در پاسخ به مصرف مداوم گوانیدینواستیک اسید باشد. همچنین اثرات پاتولوژیک این آنزیم زمانی مطرح می‌شود که مقادیر آن بالاتر از دامنه مرجع در گوساله‌های سالم باشد و با توجه به سطوح نرمال این آنزیم در گوساله‌های سالم (۳۱-۵۸ U/L) اثراتی از آسیب سلول‌های کبدی در گوساله‌های پژوهش حاضر قابل تأیید نمی‌باشد (Fielder, 2024). گوانیدینواستیک اسید پیش‌ساز بیوشیمیایی کراتین است و متابولیسم آن بیش‌تر در کبد انجام می‌شود. بنابراین، مصرف بیش‌تر آن ممکن است موجب تحریک مسیرهای متابولیکی و افزایش سنتز کراتین گردد که می‌تواند به عنوان یک عامل افزایش‌دهنده آلانین آمینوترانسفراز عمل کند. با این حال، چنین افزایشی لزوماً نشانه‌ای از آسیب کبدی نیست بلکه ممکن است نشان‌دهنده فعالیت متابولیکی بیش‌تر در کبد در پاسخ به مصرف بیش‌تر خوراک باشد (Fielder, 2024). در گروه دریافت‌کننده MET ضمن افزایش غلظت آلانین آمینوترانسفراز در طول دوره پژوهش (پنج تا ۸۴ روزگی)، غلظت این آنزیم تفاوت معنی‌داری با سایر گروه‌های آزمایشی نداشت. این موضوع ممکن است تحت تأثیر نوع پوشش مکمل متیونین نیز قرار گیرد، چراکه در این صورت وضعیت آزادسازی آن نیز در دستگاه گوارش تحت تأثیر قرار خواهد گرفت. در یک پژوهش Jacometo و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی اثرات متیونین محافظت‌شده در گاوهای انتظار زایش نشان دادند که گوساله‌های متولدشده از گاوهایی که مکمل را دریافت کرده بودند در روز زایش و یک روز پس از زایش غلظت آلانین آمینوترانسفراز کم‌تری نسبت به گروه شاهد داشتند. در مطالعه دیگری

Abdolahi و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که استفاده از دو منبع محافظت‌شده متیونین پوشش‌دار در جیره گاوهای شیری غلظت آسپاراتات آمینوترانسفراز را تحت تأثیر قرار نداد. همچنین Zhu و همکاران (۲۰۲۵) در تحقیقات خود بر روی استفاده از منابع GAA و متیونین محافظت‌شده در بره‌های پرواری چهار ماهه طی یک دوره ۵۰ روزه، اثر مکمل‌های فوق را نسبت به گروه کنترل بر غلظت آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز غیرمعنی‌دار گزارش کردند، درحالی‌که غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز به‌صورت معنی‌داری در گروه‌های آزمایشی (به‌ترتیب ۲۲۳ و ۲۲۷ U/L) نسبت به گروه کنترل (۲۷۱ U/L) کاهش یافت.

در مطالعه حاضر آلکالین فسفاتاز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. آلکالین فسفاتاز آنزیمی است که در بافت‌های مختلفی از جمله استخوان، کبد، کلیه و روده بیان می‌شود، اما در حیوانات جوان، منبع اصلی آن اغلب بافت استخوانی است و غلظت بالای آن در خون معمولاً به‌عنوان شاخصی از فعالیت رشد و استخوان‌سازی در نظر گرفته می‌شود. به همین دلیل انتظار می‌رود تغییر در عوامل تغذیه‌ای که به‌طور مستقیم در متابولیسم استخوان یا فعالیت استئوبلاست‌ها نقش دارند، بر غلظت این آنزیم اثرگذار باشد (Shu, 2022). با این حال، مکمل‌هایی مانند متیونین به‌طور مستقیم در مسیرهای تنظیم رشد استخوان نقش ندارند (Wu, 2013). متیونین بیش‌تر در مسیرهای متیلاسیون، سنتز گلوکوتایون و مقابله با استرس اکسیداتیو عمل می‌کند، درحالی‌که گوانیدینواستیک‌اسید پیش‌ساز کراتین است و بیش‌تر در متابولیسم انرژی عضلات نقش دارد. بنابراین عدم تغییر معنی‌دار غلظت آلکالین فسفاتاز در پژوهش حاضر در پاسخ به این مکمل‌ها منطقی به‌نظر می‌رسد، زیرا انتظار نمی‌رود که این ترکیبات بتوانند محرک مستقیمی برای افزایش فعالیت استخوان‌سازی باشند.

متیونین به‌عنوان یک اسید آمینه حاوی گوگرد، پیش‌ساز گلوکوتایون است که یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های سلولی محسوب می‌شود و می‌تواند در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد مؤثر باشد (Wu et al., 2014). همچنین، گوانیدینواستیک‌اسید به‌صورت غیرمستقیم از طریق بهبود متابولیسم انرژی و کاهش مصرف فسفوکراتین در بافت‌ها ممکن است فشار اکسیداتیو را کاهش دهد (Majdeddin et al., 2023). Yi و همکاران (۲۰۲۵) در مطالعات خود بر روی استفاده هم‌زمان از GAA و MET در جیره گاوهای نر سیمنتال برای مدت ۱۴۰ روز نشان دادند استفاده ترکیبی از این مکمل‌ها، می‌تواند منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش مالون‌دی‌آلدهید گردد. مطالعات Zhang و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که متیونین به‌واسطه تأمین گروه‌های متیل و بهبود متابولیسم اسیدهای آمینه سبب کاهش مالون‌دی‌آلدهید و افزایش آنتی‌اکسیدانی خون می‌شود. مشابه این یافته، در پژوهش حاضر در سن شیرگیری (۷۰ روزگی) غلظت مالون‌دی‌آلدهید در گوساله‌های دریافت‌کننده GAA و Met در تمام گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. این کاهش در انتهای دوره پژوهش (۸۴ روزگی) نیز مشاهده شد و اگر چه در گروه ترکیب MET+GAA نسبت به کنترل، بیش‌ترین تفاوت وجود داشت، اما تفاوت‌ها از نظر آماری غیرمعنی‌دار بود. همچنین در مطالعات Zhu و همکاران (۲۰۲۵) غلظت آنزیم مالون‌دی‌آلدهید به‌صورت معنی‌داری در گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده GAA و MET (به‌ترتیب ۶/۶۵ و ۶/۱۸ U/L) نسبت به گروه کنترل (۷/۱۴ U/L) کاهش یافت. گوانیدینواستیک‌اسید به‌دلیل داشتن گروه‌های گوانیدینیوم، می‌تواند به‌عنوان یک دهنده الکترون عمل کرده و سبب تولید مقادیر بالایی از رادیکال‌های هیدروکسیل شود و از این طریق اثرات اکسیدانی قوی از خود جای بگذارد (Zugno et al., 2008). اعتقاد بر این است که غلظت زیاد گوانیدینواستیک‌اسید می‌تواند اثرات اکسیدانی داشته و سبب افزایش رادیکال‌های آزاد شود (Ostojica et al., 2015) و سطوح کم آن می‌تواند اثرات آنتی‌اکسیدانی داشته و سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شود (Wang et al., 2012; Ostojica et al., 2015). در تحقیق حاضر نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل اگرچه در سن شیرگیری، در گوساله‌های دریافت‌کننده GAA و MET نسبت به کنترل به‌صورت

معنی‌داری کاهش یافت، اما در انتهای دوره پژوهش، گروه‌های دریافت‌کننده GAA و MET تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان ندادند که به معنی عدم اثرات اکسیدانی تجمعی این ترکیب در گروه‌های آزمایشی می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن GAA و MET و مخلوط آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و پروتئین گوساله‌های شیرخوار نداشت. Ghoorchi و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که افزودن سه گرم متیونین به جیره گوساله‌های شیرخوار با وجود تأثیر معنی‌دار بر ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه، تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک نداشت. همسو با نتایج مطالعه حاضر، Rodríguez-Guerrero (۲۰۱۸) در پژوهش‌های خود در خصوص اثرات استفاده از متیونین پوشش‌دار بر قابلیت هضم ماده خشک در بره‌های شیرخوار نشان دادند قابلیت هضم ماده خشک تحت تأثیر این ترکیب قرار نگرفت.

در یک مطالعه، Araste و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که دریافت شش گرم متیونین محافظت‌شده در میش‌ها سبب بهبود قابلیت هضم ظاهری پروتئین گردید. همچنین Yi و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام با افزودن گوانیدینواسیتیک‌اسید در جیره گوساله‌های آنگوس طی دوره پرواربندی تا سن ۱۶ ماهگی افزایش یافت. این پژوهش‌گران بیان کردند که مکمل‌سازی با گوانیدینواسیتیک‌اسید به‌طور مثبت بر جذب و استفاده از مواد مغذی غذایی تأثیر می‌گذارد و ممکن است به بهبود تأمین کلی مواد مغذی برای حیوانات کمک کند. علاوه بر این، یک روند افزایشی قابل‌توجه در قابلیت هضم NDF نیز مشاهده شد. افزودن گوانیدینواسیتیک‌اسید قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، پروتئین خام، NDF و ADF را در گاوهای آنگوس افزایش می‌دهد که می‌تواند به‌خاطر شرایط سنی بیش‌تر گوساله‌های مورد مطالعه نسبت به گوساله‌های پژوهش حاضر باشد. همچنین در مطالعه دیگری، Liu و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی اثرات گوانیدینواسیتیک‌اسید در جیره گاوهای آنگوس بالغ نشان دادند که این افزودنی سبب بهبود قابلیت هضم ظاهری ماده خشک پروتئین خام می‌شود. یافته‌های فوق نشان می‌دهد اثرات متیونین محافظت‌شده بیش‌تر در دام‌های بالغ بر پارامترهای قابلیت هضم در دستگاه گوارش مؤثر بوده است و در گوساله‌های شیرخوار که به نوعی تک‌معدای محسوب می‌شوند، این اثرات قابل‌توجه نخواهند بود. در مطالعه حاضر ترکیب MET+GAA در شیر گوساله‌های شیرخوار باعث افزایش وزن بدن گردید، اما مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. در پژوهشی، گزارش گردید که افزودن متیونین محافظت‌شده در جیره گوساله‌های پرواری تأثیری بر افزایش وزن بدن نداشت (Torreter et al., 2017). همچنین Montaña و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که افزودن متیونین محافظت‌شده در جیره تأثیر معنی‌داری بر مصرف ماده خشک گوساله‌های پرواری نداشت اما باعث بهبود افزایش وزن روزانه و بازدهی خوراک شد. در مقابل مطالعات Molano و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که استفاده از مکمل متیونین پوشش‌دار به‌طور قابل‌توجهی عملکرد رشد در گوساله‌های شیرخوار را افزایش می‌دهد. همچنین Mazinani و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تغذیه گوساله‌ها با متیونین محافظت‌شده، وزن بدن را نسبت به گروه شاهد افزایش می‌دهد. Ghoorchi و همکاران (۲۰۲۳) با بررسی اثرات متیونین محافظت‌شده در گوساله‌های شیرخوار نشان دادند که افزودن سه گرم متیونین محافظت‌شده در جیره سبب بهبود افزایش وزن روزانه در گوساله‌های شیرخوار شد، اما ضریب تبدیل غذایی تحت تأثیر مکمل قرار نگرفت.

در پژوهش حاضر، استفاده هم‌زمان از GAA و Met در جیره غذایی توانست وزن نهایی بدن و افزایش وزن روزانه را به‌صورت معنی‌دار نسبت به گروه GAA افزایش دهد. در این گروه از گوساله‌ها مصرف ماده خشک نیز بیش‌تر بود، اما تفاوت‌های مصرف ماده خشک تحت تأثیر گروه‌های آزمایشی قرار نگرفت. متیونین یک ماده غذایی کلیدی در تغذیه گوساله‌ها، نه فقط برای ساخت پروتئین، بلکه برای گسترش فرایندهای متابولیکی است. گوانیدینواسیتیک‌اسید به‌عنوان پیش‌ساز کراتین ممکن است با بهبود متابولیسم انرژی در بافت عضلانی نیاز به انرژی را افزایش داده باشد که باعث افزایش مصرف خوراک

شده است. گزارش شده است افزودن گوانیدینواستیک/اسید در جیره تأثیر معنی داری بر مصرف خوراک نداشت (Liu et al., 2022; Speer et al., 2020) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. Hazlewood و همکاران (۲۰۲۴) در پژوهش‌های خود دو غلظت یک و دو گرم GAA را در تغذیه گوساله‌های شیرخوار هلشتاین-آنگوس به مدت ۴۲ روز مطالعه کردند و نتایج آن‌ها نشان داد با افزایش مصرف GAA میزان وزن بدن، افزایش وزن روزانه و ماده خشک مصرفی به صورت غیرمعنی دار افزایش یافت. Zhang و همکاران (۲۰۲۲) در پژوهش‌های خود اثر چهار غلظت صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ mg/Kg از GAA را در تغذیه بره‌های نر نژاد قفقازی سه ماهه مورد بررسی قرار دادند و پژوهش‌های آن‌ها نشان داد تا غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم، میزان افزایش وزن روزانه و افزایش وزن کلی به صورت غیرمعنی دار افزایش یافت. ضریب تبدیل خوراک تا غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم، به صورت غیرمعنی دار کاهش یافت و مصرف ماده خشک نیز تحت تأثیر معنی دار گروه‌های آزمایشی قرار نگرفت. با این حال Li و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که مصرف گوانیدینواستیک/اسید در گاوهای نر نژاد آنگوس باعث افزایش مصرف ماده خشک می‌شود و دلیل آن را بهبود رشد میکروبی و هضم الیاف بیان کردند. گزارش شده است متیونین به عنوان یک اسید آمینه ضروری و گوانیدینواستیک/اسید به عنوان ترکیب شبه آنابولیک، می‌تواند همزمان باعث بهبود رشد عضله و افزایش تقاضای انرژی شوند (Wu, 2014).

۵. نتیجه گیری کلی

این مطالعه نشان داد که مصرف همزمان متیونین پوشش دار و گوانیدینواستیک/اسید در گوساله‌های شیرخوار، موجب بهبود عملکرد رشد و افزایش وزن روزانه در مقایسه با مصرف گوانیدینواستیک/اسید به تنهایی شد. مصرف این ترکیب، باعث افزایش فعالیت متابولیکی کبد و در نتیجه فعالیت آنزیم‌های آن و در عین حال بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی آن‌ها و کاهش تنش اکسیداتیو شد. در پایان دوره پرورشی، این ترکیبات باعث افزایش معنی دار غلظت آسپاراتات آمینوترانسفراز و غلظت آلانین آمینوترانسفراز نسبت گروه شاهد گردید. غلظت مالون دی آلدید در گروه‌های تغذیه شده با مکمل‌ها نیز کاهش نشان داد، که می‌تواند حاکی از کاهش تنش اکسیداتیو گوساله‌ها در سن از شیرگیری باشد.

۶. ملاحظات اخلاقی

این پژوهش کد اخلاق را از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج دریافت کرده است. نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آن‌هاست.

۷. مشارکت نویسندگان

سید محمد جاوید حسینی: تهیه و آماده سازی نمونه‌ها، انجام آزمایش و گردآوری داده‌ها، انجام محاسبات، تحلیل و تفسیر اطلاعات و نتایج، تهیه پیش نویس مقاله؛

علیرضا نوشری: استاد راهنمای پایان نامه، طراحی پژوهش، نظارت بر مراحل انجام پژوهش، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، بررسی و کنترل نتایج، اصلاح، بازبینی و نهایی سازی مقاله؛

نیما ایلا: استاد راهنمای دوم پایان نامه، مشارکت در طراحی پژوهش، نظارت بر پژوهش، مطالعه و بازبینی مقاله؛

علی اسدی الموتی و عبدالرضا دانشور آملی: استاد مشاور پایان نامه، مشارکت در طراحی پژوهش، نظارت بر پژوهش، مطالعه و بازبینی مقاله.

۸. تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. حامی مالی

حامیت مالی این پژوهش توسط مجموعه کشاورزی و دامداری لبن در قالب رساله دکتری تخصصی نویسنده اول انجام شده است.

۱۰. تشکر و قدردانی

از همکاری مجموعه کشاورزی و دامداری لبن در اجرای پروژه تحقیقاتی فوق، تشکر و قدردانی می گردد.

۱۱. منابع

- Abdolahi, Y., Dehghan banadaki, M., Amanloo, H., & Mirzaei Alamouti, H. (2012). The Effect of two rumen-protected methionine sources on production performance and blood parameters of Holstein cows in mid-lactation. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 4(3), 233-239.
- Araste, R., Pirmohammadi, R., & Khalilvandi-Behroozyar, H. (2023). The effect of using protected methionine at different levels of metabolisable protein in pre-partum diet on the performance of transition Ghezel ewes and new born lambs. *Journal of Ruminant Research*, 11(2), 111-130.
- Fielder, S.E. (2024). Serum biochemical analysis reference ranges. MSD Veterinary Manual. URL: <https://www.msdsvetmanual.com>
- Ghoorch, T., Hossein Abadi, M., & Toghdory, A. H. (2023). Effect of unprotected methionine and choline on feed intake, growth, digestibility, fecal score, blood metabolites, and feeding behavior of suckling calves. *Animal Production Research*, 12(2), 31-41. doi: 10.22124/ar.2023.23543.1742
- Guedes, R. L. M., Prosdoci, F., Fernandes, G. R., Moura, L. K., Ribeiro, H. A. L., & Ortega, J. M. (2011). Amino acids biosynthesis and nitrogen assimilation pathways: a great genomic deletion during eukaryotes evolution. *BMC Genomics*, 12 (Suppl 4), S2. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-S4-S2>
- Hazlewood, K. J., Zumbaugh, C. A., Jones, C. K., Atkinson, E. M., Tingler, H. L. R., Inhuber, V. K., Brouk, M. J., Antony, R. M., & Titgemeyer, E. C. (2024). Effect of Guanidinoacetic Acid Supplementation on the Performance of Calves Fed Milk Replacer. *Animals*, 14(19), 2757. <https://doi.org/10.3390/ani14192757>
- Jacometo, C. B., Zhou, Z., Luchini, D., Trevisi, E., Corrêa, M. N., & Loo, J. J. (2016). Maternal rumen-protected methionine supplementation and its effect on blood and liver biomarkers of energy metabolism, inflammation, and oxidative stress in neonatal Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 99(9), 6753-6763. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11018>.
- Li, S. Y., Wang, C., Wu, Z. Z., Liu, Q., Guo, G., Huo, W. J., Zhang, J., Chen, L., Zhang, Y. L., Pei, C. X., & Zhang, S.L. (2020). Effects of Guanidinoacetic Acid Supplementation on Growth Performance, Nutrient Digestion, Rumen Fermentation, and Blood Metabolites in Angus Bulls. *Animal*, 14(12), 2535-2542. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001603>
- Liu, Y. J., Chen, J. Z., Wang, D. H., Wu, M. J., Zheng, C., Wu, Z. Z., Wang, C., Zhang, J., Guo, G., & Huo, W.J. (2020) Effects of GAA and Coated Folic Acid Supplementation on Growth Performance, Nutrient Digestion, and Hepatic Gene Expression in Angus Bulls. *British Journal of Nutrition* 126(4), 510-517. <https://doi.org/10.1017/S0007114520004341>.
- Majdeddin, M., Braun, U., Lemme, A., Golian, A., Kermanshahi, H., De Smet, S., & Michiels, J. (2023). Effects of feeding guanidinoacetic acid on oxidative status and creatine metabolism in broilers subjected to chronic cyclic heat stress in the finisher phase. *Poultry Science*, 102(6), 102653.
- Mazinani, M., Naserian, A. A., Rude, B. J., Tahmasbi, A. M., & Valizadeh, R. (2020). Effects of feeding rumen-protected amino acids on the performance of feedlot calves. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research* 7(2), 229-233. doi: 10.5455/javar. 2020.g414. eCollection 2020 Jun.

- McFadden, J. W., Girard, C. L., Tao, S., Zhou, Z., Bernard, J. K., Duplessis, M., & White, H. M. (2020). Symposium review: One-carbon metabolism and methyl donor nutrition in the dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 103(Supplement 1), 5668-5683.
- Molano, R. A., Saito, L., Luchini, D. N., Michael, E., & Amburgh, V. (2020). Effects of rumen-protected methionine or methionine analogs in starter on plasma metabolites, growth, and efficiency of Holstein calves from 14 to 91 days of age. *Journal of Dairy Science* 103, 10136-10151. DOI: 10.3168/jds.2020-18630
- Montaño, M.F., Chirino, J.O., Latack, B.C., Salinas-Chavira, J., & Zinn, R.A. (2019). Influence of supplementation of growing diets enriched with rumen-protected methionine and lysine on feedlot performance and characteristics of digestion in Holstein steer calves. *Applied Animal Science* 35(3), 318-324.
- NASEM. (2021). Nutrient requirement of dairy cattle. 8 edition.
- Navik, U., Sheth, V. G., Kabeer, S. W., & Tikoo, K. (2019). Dietary Supplementation of Methyl Donor L-Methionine Alters Epigenetic Modification in Type 2 Diabetes. *Molecular Nutrition & Food Research*, 1801401. doi:10.1002/mnfr.201801401
- Ostojica, S., Marko, M., Stojanovica, D., & Guillermo, O. (2015). Oxidant–Antioxidant capacity of dietary guanidinoacetic acid. *Annals Nutrition Metabolism*, 67(4), 243-6
- Rodríguez-Guerrero, V., Lizarazo, A. C., Ferraro, S., Suárez, N., Miranda, L. A., & Mendoza, G. D. (2018). Effect of herbal choline and rumen-protected methionine on lamb performance and blood metabolites. *South African Journal of Animal Science*, 48(3), 427-434. doi: 10.4314/sajas.v48i3.3
- Shu, J., Tan, A., Li, Y., Huang, H., & Yang, J. (2022). The correlation between serum total alkaline phosphatase and bone mineral density in young adults. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 23, 467.
- Speer H, Grant, M.S., Miesner, M.D., & Titgemeyer, E.C. (2022). Effect of guanidinoacetic acid supplementation on nitrogen retention and methionine methyl group flux in growing steers fed corn-based diets. *Journal of Animal Science*, 100 (10), Article skac283, 10.1093/jas/skac283
- Torrentera, N., Carrasco, R., Salinas-Chavira, J., Plascencia, A., & Zinn, R.A. (2017). Influence of methionine supplementation of growing diets enriched with lysine on feedlot performance and characteristics of digestion in Holstein steer calves. *Asian-Australasian journal of animal sciences* 30(1), 42.
- Wang, L.S., Shi, B.M., Shan, A.S., & Zhang, Y.Y. (2012). Effects of guanidinoacetic acid on growth performance, meat quality and antioxidation in growingfinishing pigs. *Journal of Animal Science and Veterinary Advanced*, 11(5), 631-636.
- Wu, G. (2013). Functional amino acids in nutrition and health. *Amino Acids*, 45(3), 407-411. doi: 10.1007/s00726-013-1500-6
- Wu, G. (2014). Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: A paradigm shift in protein nutrition. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 5(1), 34.
- Wyss, M., & Kaddurah-Daouk, R. (2000). Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev*, 80, 1107-213.
- Yi, S., Hu, S., Wang, J., Abudukelimu, A., Wang, Y., Li, X., Wu, H., Meng, Q., & Zhou, Z. (2024). Effect of guanidinoacetic acid supplementation on growth performance, rumen fermentation, blood indices, nutrient digestion, and nitrogen metabolism in Angus steers. *Animals* 14(3), 401. <https://doi.org/10.3390/ani14030401>.
- Yi, S., Wang, J., Ye, B., Yi, X., Abudukelimu, A., Wu, H., Meng, Q., & Zhou, Z. (2025). Guanidinoacetic Acid and Methionine Supplementation Improve the Growth Performance of Beef Cattle via Regulating the Antioxidant Levels and Protein and Lipid Metabolisms in Serum and Liver. *Antioxidants (Basel)*, 14(5), 559. doi: 10.3390/antiox14050559.
- Zhang, S., Zang, C., Pan, J., Ma, C., Wang, C., & Li, X. (2022). Effects of Dietary GAA on Growth Performance, GAA Absorption and Creatine Metabolism of Lambs. *PLoS ONE*, 17, e0264864.
- Zhu, W., Liu, J., Wang, Y., Mo, X., Zeng, W., Ye, Z., & Liu, M. (2025). Effects of guanidinoacetic acid supplementation on growth performance, serum biochemical parameters, immune function, and antioxidant capacity in Xinjiang Hu sheep. *Frontiers in Animal Science*, 6, 1639519.
- Zugno, A.I., Stefanello, F.M., Scherer, E.B., Mattos, C., Pederzoli, C.D., Andrade, V.M., Wannmacher, C.M., Wajner, M., Dutra-Filho, C.S., & Wyse, A.T. (2008). Guanidinoacetate decreases antioxidant defenses and total protein sulfhydryl content in striatum of rats. *Neurochemical Research*, 33(9), 1804-1810.