

اثر کاهش سطح پروتئین جیره غذایی بر بازدهی باروری گاوهای شیرده هلشتاین در تنش گرمایی

وحید غلامی^{۱*} - حمید امانلو^۲ - محمدحسین شهیر^۳ - حمیدرضا میرزایی الموتی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۱۵

چکیده

هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر کاهش سطح پروتئین جیره غذایی بر بازدهی باروری گاوهای شیرده هلشتاین در تنش گرمایی بود. در این پژوهش ۶۳ راس گاو یک و چند بار زایش کرده با روزهای شیردهی $71 \pm 16/5$ پس از گذراندن دوره انتظار اختیاری و تایید سلامت تولید مثلی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی استفاده شد. گاوها براساس تولید شیر، تعداد زایش و روزهای شیردهی متوازن شده و به یکی از سه تیمار آزمایشی که دارای ۱۸/۵، ۱۷/۵ و ۱۶/۵ درصد پروتئین خام بودند اختصاص داده شدند. تمام گاوها تحت پروتکل همزمانی هیت سینک (Heat-synch) قرار گرفته و تلقیح شدند. اندازه و تعداد فولیکول‌ها در تخمدان‌های چپ و راست در دو نوبت طی پروتکل توسط دستگاه سونوگرافی تعیین شد. فولیکول‌ها براساس قطر به سه دسته کوچک (کوچک تر از ۵ میلی‌متر)، متوسط (۵ تا ۹/۹ میلی‌متر) و بزرگ (بیش تر از ۱۰ میلی‌متر) تقسیم بندی شدند. نرخ گیرایی جمعی در اولین و دومین تلقیح تمایل به معنی داری را در بین تیمارها نشان داد و برای تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب برابر با ۴۷/۷، ۵۲/۴ و ۷۶/۲ درصد بود. تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی در تیمار ۱ تا ۳ به ترتیب ۲/۰۷، ۲/۰۳ و ۱/۵۳ بود. روزهای باز در تیمار ۱ تا ۳ به ترتیب ۱۳۲/۷، ۱۳۲/۵ و ۱۲۱/۱۶ روز بود. با توجه به نتایج این پژوهش افزایش در سطح پروتئین خام جیره غذایی بیشتر از توصیه شورای تحقیقات ملی (NRC, 2001) به علت افزایش غلظت ازت اوره ای خون و اثرات مضر آن بر سلامت رحم و کاهش باروری در زمان تنش گرمایی توصیه نمی شود.

واژه‌های کلیدی: تنش گرمایی، پروتئین خام، باروری، فولیکول، نرخ آبستنی

مقدمه

کاهش رشد و نمو رویان و کاهش باروری نمونه‌هایی از آثار زیان آور تنش گرمایی بر تولید مثل می‌باشد (۳۶). تنش گرمایی با اثر بر تخمک، رویان و نامساعد کردن محیط داخل رحم برای رشد رویان، منجر به از دست رفتن آبستنی می‌شود. در تنش گرمایی، خوراک مصرفی، تولید شیر و فعالیت فیزیکی کاهش می‌یابد. کاهش ماده خشک مصرفی دام را در توازن منفی ازت قرار می‌دهد (۳۱). از جمله اقدامات تغذیه‌ای در این شرایط افزایش غلظت انرژی و پروتئین جیره غذایی می‌باشد (۱۵ و ۳۱). ویلاک و همکاران (۳۲) گزارش کردند که ازت اوره ای خون (BUN) در گاوهای تحت تنش گرمایی در مقایسه با گاوهای تغذیه شده در شرایط بهینه حرارتی تمایل به افزایش داشته است. سال‌ها است که نقش زیان آور پروتئین خام بیش از حد نیاز بر کاهش باروری به اثبات رسیده است (۶ و ۸). این اثر منفی بیش تر به دلیل افزایش ازت اوره ای خون در مقادیر بیش تر از ۱۹ یا ۲۰ میلی گرم در دسی لیتر و اثر آن بر کاهش pH محیط رحمی رخ می‌دهد. ملننز و همکاران (۱۹) با بررسی ارتباط ازت اوره ای شیر با نا باروری در گله‌های شیری فلوریدا بیان نمودند که غلظت‌های زیاد

تنش گرمایی برای صنعت گاو شیری از لحاظ اقتصادی زیان آور است (۲۲). پژوهش‌های انجام شده در سال‌های اخیر نشان می‌دهد که تنش گرمایی یکی از مهم ترین علل کاهش باروری در گله‌های گاو شیری می‌باشد. تنش گرمایی با ارزیابی شاخص رطوبتی-حرارتی^۵ محاسبه می‌شود. اگر چه بیشتر پژوهش‌های انجام شده عدد بالاتر از ۷۲ را آغاز محدوده تنش گرمایی گزارش کرده اند (۱ و ۳۷). اما در پژوهش برنابوسی و همکاران (۳) بالاتر از عدد ۶۸ برای گاوهای پر تولید امروزی گزارش شده است. تضعیف علایم فحلی، کاهش دامنه ترشح غلیانی LH پیش از تخمک ریزی، کاهش ترشح پروژسترون از بافت جسم زرد، اختلال در مراحل رشد و نمو فولیکول،

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیاران گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
* - نویسنده مسئول: (Email: Vahid.gholami@znu.ac.ir)

تولید شیر و گوشت فروردین واقع در استان تهران انجام شد. در این پژوهش ۶۳ راس گاو شیرده نژاد هلشتاین (۱۵ راس در زایش اول و ۴۸ راس زایش دوم و بیشتر) با روزهای شیردهی $16/5 \pm 71$ پس از گذراندن دوره انتظار اختیاری (۶۵ روز پس از زایش) و تایید سلامت تولید مثلی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی استفاده شد. گاوها براساس تولید شیر، تعداد زایش و روزهای شیردهی متوازن شده و به یکی از سه تیمار آزمایشی که دارای ۱۸/۵، ۱۷/۵ و ۱۶/۵ درصد پروتئین خام بودند اختصاص داده شدند. جیره های آزمایشی با استفاده از نرم افزار NRC (2001) تنظیم گردید. ترکیب شیمیایی مواد خوراکی (پروتئین خام و ماده خشک) به صورت هفتگی در آزمایشگاه تعیین گردید. جیره‌های مورد استفاده و ترکیب مواد مغذی آن‌ها در جدول ۱ و ۲ آورده شده است. تمام گاوها با توجه به وضعیت تولید مثلی تحت پروتکل همزمانی هیت سینک (Heat-synch) قرار گرفته و تلقیح شدند. برای بررسی اثرات تیمارها بر فعالیت تخمدانی از دستگاه سونوگرافی (Honda HS-1500; Japan) مجهز به پروب راست روده ای با فرکانس ۷/۵ مگاهرتز استفاده شد. اندازه و تعداد فولیکول‌ها در تخمدان‌های چپ و راست در دو نوبت طی پروتکل (روزهای دوم و چهارم پروتکل همزمان سازی) تعیین شد. میانگین تعداد، اندازه فولیکول‌ها بر اساس تقسیم بندی سه گانه و میانگین بزرگترین فولیکول‌های مشاهده شده در طی آزمایش در آنالیز آماری استفاده گردید. فولیکول‌ها براساس قطر به سه دسته کوچک (کم تر از ۵ میلی متر)، متوسط (۵ تا ۹/۹ میلی متر) و بزرگ (بیش تر از ۱۰ میلی متر) تقسیم بندی شده و هر کدام به صورت جداگانه مورد آنالیز قرار گرفت (۱۳). تشخیص آستی در روزهای ۳۵ تا ۴۲ پس از تلقیح انجام گرفت. نمونه خون در روز ۸ تا ۹ پس از تلقیح و ۴ تا ۶ ساعت پس از خوراک دهی صبح برای اندازه گیری غلظت پروژسترون و ازت اوره ای خون از سیاهرگ دمی اخذ شد. نمونه‌های خون در آزمایشگاه با استفاده از دستگاه سانتیفریوژ (Sigma-101-Germany) با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتیفریوژ شدند و پلاسما به دست آمده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد فریز شدند. ازت اوره ای خون با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin-Elmer-35) در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان تعیین شد. برای اندازه گیری ازت اوره ای شیر در روز خون گیری از سه نوبت شیر دوشی در همان روز نمونه برداری انجام گرفت. تعداد تلقیح به ازای آستی و اطلاعات مربوط به گاوهای برگشت به فحلی به طور دقیق ثبت شد. میانگین روزانه شاخص رطوبتی - حرارتی در ماه‌های تیر، مرداد و شهریور به ترتیب برابر ۸۱، ۸۱/۳ و ۸۰ برآورد شده که بر اساس دسته بندی شاخص رطوبتی حرارتی، کم تر از ۷۲ عدم وجود تنش، ۷۲ تا ۷۹ تنش گرمایی خفیف، ۸۰ تا ۸۹ تنش گرمایی متوسط و ۹۹ تا ۹۰ تنش گرمایی شدید (۱)، شاخص رطوبتی حرارتی به دست آمده در محدوده تنش گرمایی متوسط قرار می‌گیرد.

ازت اوره ای شیر (MUN) ممکن است دارای اثرات هم کوشی (سینرژیست) با اثرات منفی تنش گرمایی باشد که این امر به طور مستقیم اثرات منفی را بر عملکرد تولید مثلی به همراه داشته است. گزارش شده که غلظت‌های زیاد ازت اوره ای پلاسما ممکن است تکامل فولیکول‌ها و رشد اووسیت‌ها را دچار آسیب نماید (۱۰). در تعدادی از پژوهش‌های انجام شده (۱۰ و ۲۵) در رابطه با اثرات مقادیر زیاد و کم پروتئین مصرفی بر رشد و نمو فولیکول‌های با اندازه کوچک و متوسط در گاوهای تغذیه شده، اختلاف معنی داری گزارش نشده است. در یک پژوهش (۱۴) انسانی، غلظت اوره مایع فولیکولی برابر مقدار پلاسمایی آن گزارش شده است که نشان دهنده انتقال اوره به روش انتشار تسهیل شده می‌باشد. غلظت‌های کم پروژسترون در هفته اول پس از جفت گیری با رشد غیر طبیعی جنین در ارتباط بوده است (۶). گزارش‌های منتشر شده در مورد غلظت پروژسترون در گاوهای تحت تنش گرمایی دارای نتایج متناقضی بوده است. برخی از پژوهش‌ها (۷ و ۳۴) افزایش در مقدار پروژسترون و برخی پژوهش‌ها (۲۳ و ۳۵) کاهش در مقدار غلظت پروژسترون را گزارش کرده‌اند. ولفنسان و همکاران (۳۷) گزارش کردند که تنش گرمایی طولانی مدت غلظت پروژسترون را کاهش می‌دهد اگر چه غلظت پروژسترون ممکن است پس از تنش گرمایی شدید افزایش یابد. در رابطه با اثر متقابل ازت اوره ای شیر (MUN) و غلظت پروژسترون لارسون و همکاران (۱۶) گزارش دادند گاوهای غیرآستنی که دارای غلظت‌های کمی از پروژسترون (کم تر از ۲ نانوگرم در میلی لیتر) در ۲۱ روز بعد از تلقیح بودند، MUN بیشتری را نسبت به گاوهای غیر آستن ولی دارای غلظت پروژسترون بیشتر (بیش تر از ۲ نانوگرم در میلی لیتر) از خود نشان دادند. در پژوهشی (۴) گزارش شده است که با کاهش پروتئین جیره و افزودن متیونین محافظت شده، MUN کاهش می‌یابد و شاید چنین مکانیسمی به طور غیر مستقیم در بهبود فراسنجه‌های تولید مثلی نقش داشته باشد. با توجه به کاهش طبیعی نرخ آستی در گاوهای تحت تنش گرمایی و هم چنین اثرات مضر پروتئین مصرفی بیش از نیاز بر توان تولید مثلی، کاهش مقدار پروتئین خام و توجه به آمینو اسیدهای ضروری و تامین نسبت بهینه آمینواسیدهای ضروری شاید بتواند به بهبود باروری در گاوهای تحت تنش گرمایی کمک نماید. هم چنین پژوهشی در زمینه اثرات نسبت بهینه آمینو اسیدهای لیزین به متیونین بر باروری در گاوهای هلشتاین ایرانی تحت تنش انجام نگرفته است. لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر کاهش پروتئین جیره و رعایت نسبت بهینه لیزین به متیونین (۳ به ۱) در شرایط طبیعی تنش گرمایی بر باروری بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در فاصله زمانی تیر تا شهریور سال ۱۳۹۰ در شرکت

جدول ۱- مواد خوراکی تشکیل‌دهنده جیره‌های آزمایشی (بر اساس درصد ماده خشک)

مواد خوراکی	جیره		
	۱	۲	۳
ذرت سیلو شده	۲۰	۲۰	۲۰
یونجه خشک	۱۸	۱۸	۱۸
کاه گندم	۰/۷	۰/۷	۰/۷
دانه ذرت آسیاب شده	۱۳	۱۳	۱۳
دانه جو آسیاب شده	۱۶/۲	۱۹/۱۵	۲۰/۲
کنجاله سویا	۱۲	۸	۵
کنجاله کلزا	۲/۵	۲/۵	۲/۵
کنجاله تخم پنه	۴	۴	۴
سبوس گندم	۱	۲	۴
پودر ماهی	۲/۶	۲/۶	۲/۶
گلوتن ذرت	۳/۶	۳/۶	۳/۶
پودر چربی ^۱	۲	۲	۲
بی کربنات سدیم	۱/۲	۱/۲	۱/۲
کربنات کلسیم	۰/۸	۰/۸	۰/۸
نمک	۰/۳	۰/۳	۰/۳
دی کلسیم فسفات	۰/۲	۰/۲	۰/۲
اکسید منیزیم	۰/۳	۰/۳	۰/۳
گلایکولاین	۰/۴	۰/۴	۰/۴
مکمل معدنی ویتامینی ^۲	۱/۲	۱/۲	۱/۲
متیونین محافظت شده	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵

۱- پودر چربی انرژی زا حاوی ۹۹ درصد چربی (W/S)

۲- مکمل مینرال و ویتامینه: در هر کیلو گرم شامل ۱۹۶ گرم کلسیم، ۵۰۰۰۰ IU ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ IU ویتامین D3، ۱۰۰ میلی گرم ویتامین E، ۹۶ گرم فسفر، ۱۹ گرم منیزیم، ۴۶ گرم سدیم، ۳۰۰۰ میلی گرم مس، ۲۰۰۰ میلی گرم منگنز، ۱۰۰ میلی گرم کبالت، ۳۰۰۰ میلی گرم روی، ۱۰۰ میلی گرم ید، ۱ میلی گرم سلنیوم، ۴۰۰ میلی گرم آنتی اکسیدان، مونسنین سدیم ۲۲۰۰ میلی گرم

نشان داده شده است. میانگین نرخ گیرایی کل گاوهای مورد بررسی در اولین سرویس تلقیح ۳۴/۹ درصد بود. نرخ گیرایی در اولین تلقیح در تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۲۸/۶، ۲۸/۶ و ۴۷/۷ درصد بود (جدول ۳). اگرچه این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود ولیکن نرخ گیرایی در تیمار ۳ بیشترین مقدار بود. لو و همکاران (۱۷)، نیز با کاهش سطح پروتئین در گاوهای شیرده تفاوت معنی داری را در مقدار درصد گیرایی در اولین تلقیح مشاهده نکردند که موافق با نتایج پژوهش حاضر است. در آن پژوهش نیز بیشترین درصد نرخ گیرایی مربوط به سطح پروتئین کم تر در جیره بود. گزارش‌ها (۵ و ۸) نشان داد که غلظت ازت اوره ای پلازما در بیشتر از ۱۹ میلی گرم در دسی لیتر باعث کاهش نرخ آبستنی در گاوهای شیرده می‌شود. در پژوهش حاضر تیمار ۲ و ۳ با مقدار درصد پروتئین خام کم تر، غلظت BUN کمتری را نشان دادند و این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار بود (جدول ۳).

دمای محیط و رطوبت نسبی از نزدیک ترین ایستگاه هواشناسی منطقه به صورت روزانه دریافت شد. داده‌ها مربوط به ازت اوره ای خون و شیر و هم چنین تعداد و اندازه فولیکول‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ با رویه Mixed تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون توکی انجام گرفت. برای آنالیز نرخ گیرایی در اولین و دومین تلقیح و نرخ گیرایی تجمعی در روز ۲۰۰ پس از زایش بین تیمارها از مدل رگرسیون لجستیک^۱ استفاده شد. سطح معنی داری با $P < 0.05$ و تمایل به معنی داری $0.05 < P < 0.15$ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به نرخ گیرایی در تلقیح‌های مختلف در جدول ۳

1- Logistic regression model

جدول ۲- ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی (بر اساس درصد ماده خشک)

جیره			مواد مغذی
۳	۲	۱	
۵۶/۵	۵۶/۵	۵۶/۵	ماده خشک ^۱
۱۶/۵	۱۷/۵	۱۸/۵	پروتئین خام (درصد از ماده خشک) ^۱
۳۹	۳۹	۳۹	پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه (درصد از پروتئین خام) ^۱
۶۱	۶۱	۶۱	پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (درصد از پروتئین خام) ^۱
۱/۶۷	۱/۶۷	۱/۶۷	انرژی خالص شیردهی (مگا کالری در کیلو گرم) ^۱
۴/۶	۴/۷	۴/۶	عصاره اتری (درصد از ماده خشک) ^۱
۲۹	۲۸/۵	۲۸/۵	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد از ماده خشک) ^۱
۴۲/۸	۴۲/۷	۴۲	کربوهیدرات غیر الیافی (درصد از ماده خشک) ^۱
۲/۱۵	۲/۱۵	۲/۱۴	متیونین (درصد از پروتئین قابل متابولیسم) ^۱
۶/۳۵	۶/۴۵	۶/۵	لیزین (درصد از پروتئین قابل متابولیسم) ^۱
۲/۹۵	۳	۳	نسبت لیزین به متیونین ^۱
۰/۸	۰/۸	۰/۸	کلسیم (درصد از ماده خشک) ^۱
۰/۵	۰/۵	۰/۵	فسفر (درصد از ماده خشک) ^۱
۳۰۰	۳۰۰	۲۹۵	تعادل کاتیون-آنیون جیره (میلی اکی والان در کیلوگرم ماده خشک) ^۲

مقادیر برآورد شده توسط NRC (2001)

$$(Na + K) - (S + Cl) = DCAD$$

۲۰۰ روز پس از زایش در تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۹۰/۵، ۹۰/۵ و ۹۰/۵ و ۹۵/۳ درصد بود (جدول ۳). آنالیز آماری این صفت نشان داد که تفاوت معنی داری در بین تیمارها وجود ندارد. میانگین تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی در تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۲/۰۷، ۲/۰۳ و ۱/۵۳ بود (جدول ۳) که از نظر آماری اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد، ولی از نظر عددی در تیمارهای با پروتئین زیادتر نسبت به تیمار ۳ که دارای پروتئین خام کم تری بود بیشتر بود. نتایج این پژوهش با نتایج برخی از پژوهش‌گران (۱۷ و ۱۹) موافق بود. میانگین روزهای باز در تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۱۳۱/۷۲، ۱۳۲/۴۸ و ۱۲۱/۱۶ روز بود (جدول ۳).

میانگین تعداد و اندازه فولیکول‌های روی تخمدان راست، چپ و مجموع هر دو تخمدان در گاوهای موجود در تیمارها در جدول ۴ گزارش شده است. تنش گرمایی در بسیاری از پژوهش‌ها باعث افزایش تعداد فولیکول‌ها کوچک و متوسط شده است. افزایش تعداد فولیکول‌های کوچک و متوسط در میانه چرخه فحلی و هم چنین افزایش در غلظت پروژسترون در گاوهای تحت تنش گرمایی گزارش شده است (۲ و ۱۳).

در پژوهشی (۱۹) برای بررسی ارتباط MUN با درصد گیرایی در اولین سرویس تلقیح در فصل تابستان، گاوهای دارای MUN بیشتر از ۱۶ میلی گرم در دسی لیتر دارای نرخ گیرایی کمتری در اولین تلقیح نسبت به گاوهای دارای مقادیر کمتر MUN (کم تر یا برابر ۱۶ میلی گرم در دسی لیتر) بودند که با نتایج پژوهش حاضر موافق بود. افزایش غلظت ازت اوره ای خون باعث کاهش pH محیط رحم می‌شود. کاهش pH محیط رحمی باعث تغییر در مایع رحمی و ایجاد شرایط نامساعد برای لانه‌گزینی و ادامه بقای رویان می‌شود (۶). غلظت زیاد MUN در زمان جفت‌گیری ممکن است باعث عدم موفقیت لقاح یا از دست رفتن زود هنگام رویان پیش از شناسایی آن توسط مادر شود (۱۶). مجموع نرخ گیرایی در اولین و دومین تلقیح در تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۴۷/۷، ۵۲/۴ و ۷۶/۲ درصد بود و تمایل به معنی داری را در بین تیمارها نشان داد (جدول ۳). تیمار ۳ بیشترین درصد نرخ گیرایی را در بین تیمارها نشان داد. یکی از دلایل اصلی این اختلاف کاهش معنی دار مقدار BUN در تیمار ۳ می‌باشد. نتایج این پژوهش با نتایج برخی از پژوهش‌گران موافق (۵، ۸ و ۱۹) و با نتایج برخی از پژوهش‌گران (۱۲) موافق نبود. نرخ گیرایی تجمعی تا

جدول ۳- اثرات سطوح مختلف پروتئین روی شاخص‌های تولید مثلی

P-value	SEM	درصد پروتئین			
		۱۶/۵	۱۷/۵	۱۸/۵	
۰/۳۳	۰/۴۵	۴۶/۷ (۱۰ از ۲۱)	۲۸/۶ (۶ از ۲۱)	۲۸/۶ (۶ از ۲۱)	نرخ گیرایی در اولین تلقیح (درصد)
۰/۱۲	۰/۵۷	۷۶/۲ (۱۶ از ۲۱)	۵۲/۴ (۱۱ از ۲۱)	۴۷/۷ (۱۰ از ۲۱)	نرخ گیرایی در اولین و دومین تلقیح (درصد)
۰/۳۰	۰/۲۷۴	۱/۵۳	۲/۰۳	۲/۰۷	تعداد تلقیح به ازای آبستنی
۰/۷۹	۰/۱۸۵	۹۵/۳ (۱۹ از ۲۱)	۹۰/۵ (۱۹ از ۲۱)	۹۰/۵ (۱۹ از ۲۱)	نرخ تجمعی گیرایی تا ۲۰۰ روز پس از زایش (درصد)
۰/۰۲	۰/۷۴	^b ۱۵/۸۴	^b ۱۷/۵۰	^a ۱۸/۸۴	نیترژن اوره ای خون (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۶	۹	۱۲۱/۲	۱۳۲/۵	۱۳۱/۷	روزهای باز

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P < 0.05$)

SEM = خطای استاندارد میانگین‌ها

است (۶). هم چنین برخی از پژوهشگران نیز گزارش کردند که تفاوتی از لحاظ غلظت پروتئین در ارتباط با وضعیت آبستنی در روزهای ۱۰ و ۱۳ پس از جفت گیری وجود ندارد (۱۸). غلظت زیاد پروتئین مصرفی باعث کاهش غلظت پروتئین پلاسما در فاز لوتئال (روزهای ۱۲ و ۱۴ از دوره فحلی) می‌شود (۲۶). افزایش خوراک مصرفی، افزایش در جریان خون کبدی را به دنبال دارد که باعث افزایش پالایش کبدی پروتئین و استرادیول می‌شود. حدود ۹۰ درصد از پروتئین در کبد متابولیزه می‌شود (۲۴ و ۲۹). واتس و همکاران (۳۱) گزارش کردند تاخیر در افزایش پروتئین در اوایل فاز لوتئال (غلظت پروتئین در روزهای ۴ و ۵) در گاوهای پرتولید باعث کاهش قابلیت آبستن شدن می‌شود. در این موارد مادر، حضور جنین را تشخیص می‌دهد اما به دلیل تاخیر در بلوغ جنین (به دلیل کاهش غلظت پروتئین در اولین ۷ روز پس از تلقیح) جنین قادر به ادامه آبستنی نیست. در پژوهش لو و همکاران (۱۷) همبستگی مثبتی بین غلظت پروتئین در ۷ روز اول پس از تلقیح و گیرایی مشاهده شد که این فرضیه را تقویت می‌کند. استاربوک و همکاران (۲۷) گزارش کردند که حیوانات با غلظت پروتئین کمتر از ۱ نانوگرم در میلی لیتر در روز ۵ پس از جفت گیری، دارای نرخ آبستنی کم تر از ۱۰ درصد بودند که با نتایج پژوهش حاضر موافق می‌باشد. مقدار استرادیول ترشح شده در فاز فولیکولار با مدت زمان لازم برای افزایش غلظت پروتئین در پس از تخمک ریزی در ارتباط بوده است به طوری که ترشح مقادیر کم استرادیول باعث طولانی شدن فاصله زمانی برای افزایش در مقدار پروتئین شده است (۲۸). در پژوهش حاضر بررسی گاوهایی که تظاهرات فحلی خوبی را نشان داده بودند نشان داد که این گاوها از لحاظ مقدار پروتئین و آبستنی در وضعیت بهتری نسبت به گاوهای با تظاهر فحلی ضعیف بودند که موافق پژوهش استاربوک و همکاران (۲۷) بود. لارسون و همکاران

برخی از پژوهش ها نشان داد اندازه فولیکول ها و هم چنین وظایف فولیکول‌های غالب در گاوهای تحت تنش به میزان چشم‌گیری کاهش می‌یابد. البته تفاوت‌های فردی در برخی از گاوها به علت تفاوت در سطح تولید و مقدار خوراک مصرفی گزارش شده است (۲ و ۳۳ و ۳۶). میانگین تعداد فولیکول‌های کوچک (کوچک تر از ۵ میلی متر) روی تخمدان‌های چپ و راست گاوهای مربوط به تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۴/۷۳، ۴/۸۵ و ۵/۵۵ بود. تجزیه واریانس این داده ها تمایل به معنی داری را در بین تیمارها نشان داد و می‌تواند به عنوان یکی از علل افزایش نرخ گیرایی در تیمار ۳ مورد توجه قرار گیرد. میانگین تعداد فولیکول متوسط (بین ۵ تا ۹ میلی متر) روی تخمدان راست و چپ گاوهای مربوط به تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۱/۵۸، ۱/۶۴ و ۱/۳۲ بود. میانگین تعداد فولیکول‌های بزرگ (بزرگ تر از ۱۰ میلی متر) روی تخمدان‌های راست و چپ گاوهای مربوط به تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۱/۸۹، ۲/۰۳ و ۱/۸۱ بود. میانگین اندازه بزرگ ترین فولیکول روی مجموع تخمدان‌های راست و چپ گاوهای مربوط به تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۱۷/۶۷، ۱۸/۴۳ و ۱۶/۹۰ میلی متر بود. تجزیه واریانس این صفت از نظر آماری معنی دار نبود. موسی و همکاران (۲۰) با بررسی تعداد فولیکول‌های بزرگ تر از ۳ میلی متر در اولین رشد موج فولیکولی پس از فحلی گزارش کردند که گاوهای دارای تعداد بیش تر فولیکول (بیش تر از ۱۵ عدد) در مقایسه با گاوهای با تعداد کم تر فولیکول (کم تر از ۱۵ عدد) توان تولید مثلی بیشتری داشتند. میانگین غلظت پروتئین پلاسما در تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۲/۹۵، ۳/۰۵ و ۲/۰۵ نانوگرم در میلی لیتر بود. تجزیه واریانس این داده ها در بین تیمارها معنی دار نبود. نقش پروتئین در آبستنی مسلم و انکار ناپذیر است. تعدادی از پژوهش ها نشان داده است غلظت پروتئین خون محیطی در اوایل دوره آبستنی و روزهای ۴ و ۶ پس از جفت گیری در گاوهای آبستن، بیشتر از گاوهای غیر آبستن می‌باشد. غلظت‌های کم پروتئین در هفته اول پس از جفت گیری با رشد غیر طبیعی جنین در ارتباط بوده

نشان داد که احتمال آبستنی در گاوهای تغذیه شده با جیره دارای ۱۶/۵ درصد پروتئین (تیمار ۳) برابر ۳/۵ (Odds ratio=۳/۵۲) گاوهای تغذیه شده با جیره دارای ۱۸/۵ درصد پروتئین (تیمار ۱) و ۳ برابر (Odds ratio=۲/۹) گاوهای تغذیه شده با جیره دارای ۱۷/۵ درصد پروتئین (تیمار ۲) بود (جدول ۵). هم چنین احتمال آبستنی در تیمار دارای ۱۷/۵ درصد پروتئین (تیمار ۲) برابر ۱/۲ (Odds ratio= ۱/۲) تیمار دارای ۱۸/۵ درصد پروتئین (تیمار ۱) بود. در بحث تولید مثل در گاو شیرده عوامل بسیاری مانند سن، انرژی مصرفی، مصرف پروتئین قابل تجزیه، مقدار شیر تولیدی و سلامتی رحم بر تولید مثل موثر هستند (۹) و امکان تفکیک اثر این عوامل بر تولید مثل در عمل به راحتی مقدور نمی باشد.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که کاهش در سطح پروتئین خام جیره غذایی نسبت به توصیه‌های شورای تحقیقات ملی (۲۱) به همراه تامین نسبت بهینه آمینواسیدهای محدود کننده (لیزین به تیونین) به علت کاهش در مقدار ازت اوره ای خون و شیر و تخفیف اثرات زیان‌آور ناشناخته بر باروری در گاوهای تحت تنش گرمایی می‌تواند باعث بهبود باروری شود.

(۱۶) گزارش دادند گاوهای غیرآبستنی که دارای غلظت‌های کمتری از پروژسترون (کم تر از ۲ نانوگرم در میلی لیتر) در ۲۱ روز پس از تلقیح بودند بالاتر نسبت به گاوهای غیر آبستن دادند اما غلظت پروژسترون در آنها (بیش تر از ۲ نانوگرم در میلی لیتر) از خود نشان دادند. در همین آزمایش گاوهای غیر آبستن با مقدار پروژسترون بیشتر دارای تاخیر معنی داری در شروع فاز لوتئال بودند. افزایش مقدار پروژسترون در این دام ها می‌تواند ناشی از جسم زرد مقاوم به علت عفونت‌های تحت بالینی (اندومتريت مزمن) باشد. هم چنین غلظت پروژسترون کمتری حدود ۵ روز پس از تلقیح در این گاوها مشاهده شد. گاوهای دارای MUN بیش تر از ۲۱ میلی گرم در دسی لیتر احتمال برگشت به فعلی بیشتری در ۲۱ روز پس از تلقیح داشتند (۱۶). طولانی شدن عملکرد لوتئال در گاوهای غیر آبستن (دارای غلظت بیشتر از ۲ نانوگرم در دسی لیتر در ۲۱ روز پس از تلقیح) ممکن است به علت رخدادهای طبیعی رحم و غیر همزمانی رویان، به دلیل تاخیر در شروع فاز لوتئال باشد (۱۶). در پژوهش حاضر نیز کاهش مقدار پروتئین خام، باعث کاهش معنی داری در غلظت ازت اوره ای خون و هم چنین کاهش در تعداد گاوهای برگشت به فعلی و کاهش گاوهای با چرخه‌های نامنظم فعلی در بازه زمانی ۱۸ تا ۲۴ روز پس از تلقیح شد. آنالیز آماری مجموع گاوهای آبستن شده در تلقیح اول و دوم

جدول ۴- میانگین تعداد و اندازه فولیکول ها در تیمارها.

P-value	SEM	درصد پروتئین			صفت اندازه گیری شده
		۱۶/۵	۱۷/۵	۱۸/۵	
۰/۱۲	۰/۳۹	۵/۵۵	۴/۸۵	۴/۷۳	تعداد فولیکول‌های کوچک(هر دو تخمدان) ^۱
۰/۵۱	۰/۲	۱/۳۲	۱/۶۴	۱/۵۸	تعداد فولیکول‌های متوسط(هر دو تخمدان) ^۲
۰/۴۹	۰/۱۲	۱/۸۱	۲/۰۳	۱/۸۹	تعداد فولیکول‌های بزرگ(هر دو تخمدان) ^۳
۰/۵۶	۰/۵۲	۸/۷۲	۸/۵۱	۷/۹۶	تعداد کل فولیکول ها
۰/۲۶	۰/۶۳	۱۶/۹	۱۸/۴۳	۱۷/۶۷	اندازه بزرگترین فولیکول(میلی متر)
۰/۵۵	۰/۶۹	۲/۰۵	۳/۰۵	۲/۹۵	پروژسترون (نانوگرم در میلی لیتر)

۱- تعداد فولیکول‌های با قطر کوچک‌تر از ۵ میلی متر

۲- تعداد فولیکول‌های با قطر بین ۵ تا ۹/۹ میلی متر

۳- تعداد فولیکول‌های با قطر بزرگتر از ۱۰ میلی متر

SEM= خطای استاندارد میانگین ها

جدول ۵ - نتایج آنالیز متقابل بین تیمارها در مجموع اولین و دومین سرویس تلقیح

P-value	Odds ratio	انحراف معیار	گروه مقابل مرجع	گروه مرجع
۰/۷۵	۱/۲	۰/۳۰۹	جیره ۱۷/۵	جیره ۱۸/۵ درصد
۰/۰۶	۳/۵۲	۰/۳۳۶	جیره ۱۶/۵	جیره ۱۸/۵ درصد
۰/۱۱	۲/۹	۰/۳۳۶	جیره ۱۶/۵	جیره ۱۷/۵ درصد

- 1- Armstrong, D. V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77: 2044-2050.
- 2- Badinga, L., W. W. Thatcher, T. Diaz, M. Drost, and D. Wolfenson. 1993. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. *Theriogenology*. 39: 797-810.
- 3- Bernabucci, U., N. Lacetera, L. H. Baumgard, R. P. Rhoads, B. Ronchi, A. Nardone. 2010. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domestic ruminants. *Animal*. 4:1167-1183.
- 4- Broderick, G. A., M. J. Stevenson, R. A. Patton, N. E. Lobos, and J. J. Olmos Colmenero. 2008. Effect of supplementing rumen-protected methionine on production and nitrogen excretion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:1092-1102.
- 5- Bruckental, I., M. Dorsi, Y. Kaim, and Y. F. Olman. 1989. Effects of source and level of protein milk yield and reproductive performance of high producing primiparous and multiparous dairy cows. *Anim. prod.* 48:319-329.
- 6- Butler, W. R. 1998. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81:2533-2539.
- 7- Collier, R. J., S. G. Doelger, H. H. Head, W. W. Thatcher, and C. J. Wilcox. 1982. Effects of heat stress on maternal hormone concentrations, calf birth weight, and postpartum milk yield of Holstein cows. *J Anim. Sci.* 54, 309-319.
- 8- Ferguson, J. D., and W. Chalupa. 1989. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. *J. Dairy sci.* 72:746-766.
- 9- Ferguson, J. D., D. T. Galligan, T. Blanchard, and M. Reeves. 1993. Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. *J. Dairy Sci.* 76: 3742.
- 10- Garnsworthy, P. C., J. G. Gong, D. G. Armstrong, J. R. Newbold, M. Marsden, S. E. Richards, G. E. Mann, K. D. Sinclair, and R. Webb. 2008. Nutrition, metabolism, and fertility in dairy cows: 3. Amino acids and ovarian function. *J. Dairy Sci.* 91: 4190-4197.
- 11- Hammon, D. S., G. R. Holyoak, and T. R. Dhiman. 2005. Association between blood plasma urea nitrogen levels and reproductive fluid urea nitrogen and ammonia concentrations in early lactation dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 86: 195-204.
- 12- Howard, H. J., E. P. Aalseth, G. D. Adams, L. J. Bush, R. W. McNew, and L. J. Dawson. 1987. Influence of dietary protein on reproductive Performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*70:1563-1571.
- 13- Jennifer, P., L. Trout, R. McDowell, and J. Peter, Hansen. 1998. Characteristics of the Estrous Cycle and Antioxidant Status of Lactating Holstein Cows Exposed to Heat Stress. *J. Dairy Sci.* 81:1244-1250.
- 14- Jozwik, M., C. Teng, and F. C. Battaglia. 2006. Amino acid, ammonia and urea concentrations in human pre-ovulatory ovarian follicular fluid. *Hum. Reprod.* 21: 2776-2782.
- 15- Kadzere, C. T., M. R. Murphy, N. Silanikove and E. Maltz. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Prod. Sci.* 77: 59-91.
- 16- Larson, S. F., W. R. Butler, and W. B. Currie. 1997. Reduced Fertility Associated with Low Progesterone Postbreeding and Increased Milk Urea Nitrogen in Lactating Cows. *J. Dairy Sci.* 80:1288-1295.
- 17- Law, R. A., F. J. Young, D. C., Patterson, D. J. Kilpatrick, A. R. G. Wylie, and C. S. Mayne. 2009. Effect of dietary protein content on the fertility of dairy cows during early and mild lactation. *J. Dairy Sci.* 92: 2737-2746.
- 18- Lukaszewska, J., and W. Hansel. 1980. Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. *J. Reprod. Fertil.* 59: 485.
- 19- Melendez, P., A. Donovan, and J. Hernandez. 2000. Milk Urea Nitrogen and Infertility in Florida Holstein Cows. *J Dairy Sci.* 83: 459-463.
- 20- Mossa, F. S., W. Walsh, S. T. Butler, D. P. Berry, F. Carter, P. Lonergan, G. W. Smith, J. J. Ireland, and A. C. O. Evans. 2012. Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter associated with low fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95: 2355-2361.
- 21- National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th rev. ed. Nat. Acad. Press, Washington, DC.
- 22- Ravangolo, O., and I. Misztal. 2002. Effects of heat stress on nonreturn rate in Holsteins: genetic analyses. *J. Dairy Sci.* 85:3092-3100.
- 23- Roy, K.S, and B.S. Prakash. 2007. Seasonal variation and circadian rhythmicity of the prolactin profile during the summer months in repeat-breeding Murrah buffalo heifers. *Reprod. Fertil. and Dev.* 19, 569-575.
- 24- Sangsritavong, S., D. K. Combos, R. Sartori, L.E. Armentano, and M.C. Wiltbank. 2002. High feed intake increase liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 b in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85:2831-2842.
- 25- Sinclair, K. D., M. Kuran, F. E. Gebbie, R. Webb, and T. G. McEvoy. 2000. Nitrogen metabolism and fertility in

- cattle: II. Development of oocytes recovered from heifers offered diets differing in their rate of nitrogen release in the rumen. *J. Anim. Sci.* 78:2670-2680.
- 26- Sonderman, J. P., and L. L. Larson. 1989. Effect of dietary protein and exogenous gonadotropin-releasing hormone on circulating progesterone concentrations and performance of Holstein cows. *J Dairy Sci.* 72: 2179-2183.
 - 27- Starbuck, G. R., A. O. Darwash, G. E. Mann, and G. E. Lamming. 2001. The detection and treatment of post insemination progesterone inefficiency in dairy cows. Pages 447-450 in *Fertility in the High- Producing Dairy Cow*. M. G. Diskin, ed. Occasional Publications No. 26, Br. Soc. Anim. Sci., Edinburgh, UK.
 - 28- Starbuck, G. R., C. G. Gutierrez, and G. E. Mann. 2000. Relationships between pre- and post-ovulatory steroidogenic function in vivo in cattle. *J. Reprod. Fert. Abs. Ser.* 25:Abstract 55.
 - 29- Vasconcelos, J. L. M., R. W. Silcox, G. J. M. Rosa, J. R. Pursley, and M. C. Wiltbank. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and conception rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology.* 52:1067-1078.
 - 30- Wathes, D. C., V. J. Taylor, Z. Cheng, and G. E. Mann. 2003. Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reprod. Suppl.* 62:219-237.
 - 31- West, J.W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131-2144.
 - 32- Wheelock, J.B., R.P. Rhoads, M.J. Vanbaale, S.R. Sanders, and L.H. Baumgard. 2010. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 93:644-655.
 - 33- Wilson, S. J., R. S. Marion, J. N. Spain, D. E. Spiers, D. H. Keisler, and M. C. Lucy. 1998. Effects of a controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81:2124-2131.
 - 34- Wise, M. E., D. V. Armstrong, J. T. Huber, R. Hunter, and F. Wiersma. 1988. Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress. *J. Dairy Sci.* 71:2480-2485.
 - 35- Wolfenson, D., I. Flamenbaum, and A. Berman. 1988b. Hyperthermia and body energy store effects on estrous behavior, conception rate, and corpus luteum function in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71:3497-3504.
 - 36- Wolfenson, D., W. W. Thatcher, L. Bading, J.D. Savio, R. Meidan, and B. J. Lew. 1995. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biol. Reprod.* 52:1106-1113.
 - 37- Wolfenson, D., Z. Roth, and R. Meidan. 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspect. *Anim. Reprod. Sci.* 61:535-547.