اثر گلوتامین محافظت شده بر متابولیت‌های پلاسمایی و تغییرات وضعیت بدنی گاوهای تازه‌زا

مصطفی نعمتی[1*]، صدیقه منتیان[2]، شهرزاد جزءقاسمی[3]، رضا هوشمندفر[4]، محسن طاهری[5] و طیب سیفی[4]

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۲۶

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر استفاده از گلوتامین محافظت شده روی مصرف خوراک، متابولیت‌های پلاسمایی، تغییرات نمره وضعیت بدنی و عملکرد تولید مثلی گاوهای تازه‌زا انجام شد. چهل رأس گاو هلشتاین چند شکم‌زا (با میانگین وزن پیش از زایش ۷۹۶±۵۸ کیلوگرم و میانگین نمره وضعیت بدنی ۳/۲۵±۰/۳۵) در روز زایش (صفر) به چهار گروه (ده رأسی) تقسیم شدند. تیمارها شامل: گروه شاهد با جیره پایه به صورت TMR دارای ۴۹ درصد علوفه و ۵۱ درصد مخلوط کنسانتره بر پایه ماده‌ی خشک بود. سایر تیمارها شامل جیره پایه به اضافه ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ گرم گلوتامین محافظت شده به ازای هر رأس گاو در روز بود. مصرف ماده خشک تیمارهای آزمایشی در روز ۲۱ پس از زایش به ترتیب ۱۲/۰۹، ۱۴/۳۹، ۱۵/۴۰ و ۱۵/۹۷ کیلوگرم در روز بود. غلظت گلوکز پلاسمای تیمارهای فوق در روز ۲۱ پس از زایش به ترتیب ۴۸/۸، ۵۵/۰، ۵۹/۲ و ۶۰/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود. غلظت پروتئین تام جیره‌های آزمایشی در روز ۲۱ پس از زایش به ترتیب ۵/۰۲، ۵/۹۸، ۷/۱۰ و ۷/۲۰ گرم در دسی‌لیتر بود. غلظت آسپارتات آمینوترانسفراز تیمارهای آزمایشی در روز ۲۱ پس از زایش به ترتیب ۱۳۲/۵، ۸۲/۱، ۷۳/۳ و ۷۱/۳ واحد در لیتر بود. استفاده از گلوتامین در جیره اثر معنی‌داری روی نیتروژن اوره‌ی خون نداشت. گاوهای دریافت کننده گلوتامین تغییرات امتیاز وضعیت بدنی کم‌تری نسبت به تیمار شاهد داشتند. استفاده از گلوتامین اثری بر عملکرد تولیدمثلی نداشت و تعداد تلقیح منجر به آبستنی و همچنین فاصله‌ی زایش تا آبستنی بین تیمارها معنی‌دار نبود.

کلمات کلیدی: دوره انتقال، متابولیت‌های خونی، گلوتامین، گاو

مقدمه

بین تغییرات محسوس در فعالیت‌های متابولیکی و پاسخ‌های ایمنی با توسعه بسیاری از ناهنجاری‌های دوره‌ی انتقال همبستگی وجود دارد. برخی از ناهنجاری‌های متابولیکی از قبیل کتوز با بروز بیماری‌های عفونی مانند عفونت رحم (متریت) و ورم پستان همبستگی دارند (Sordillo et al. 2009, Correa et al. 1993). نژادهای پرشیر مانند گاوهای هلشتاین در زمان زایمان مستعد آلودگی باکتریایی رحم هستند. در حالت طبیعی آلودگی‌های باکتریایی در ۳ تا ۵ هفته پس از زایمان پاک می‌شوند اما بسیاری از گاوها علایم تضعیف عملکرد تولیدمثلی مانند کاهش فحلی (تأخیر در شروع سیکل‌های تخمدانی و کاهش درصد گاوهای تلقیح شده داخل ۲۸

[1*] استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام E-mail: m.nemati@ilam.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)

[2] استادیار گروه علوم دامی، دانشکده‌ی پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام

[3] دانش‌آموخته‌ی دکترای تغذیه‌ی دام، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه زنجان

[4] کارشناس گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام

[5] دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام

روز اول پس از زایش)، کاهش لانه گزینی و افزایش فاصله از زایش تا آبستنی مجدد را نشان می‌دهند (Bondurant 1999, Bromfield et al. 2015, LeBlanc et al. 2002). پاسخ ایمنی ذاتی در سرکوب عفونت‌ها، سرنوشت عملکرد تولیدمثلی را در این دوره تعیین می‌کند (Sheldon et al. 2009, Turner et al. 2014). توازن منفی انرژی و نیتروژن در نخستین ۴ هفته پس از زایش توجه بسیاری از محققین را به خود معطوف کرده است. توازن منفی بسیار زیاد انرژی و نیتروژن بین تقاضای گاو و مقادیر عرضه شده این مواد مغذی، ناشی از بالا بودن احتیاجات و کاهش مصرف ماده‌ی خشک حیوان در این دوره است و بیش از ۵۰ درصد گاوهای تازه‌زا را با چالش تنش اکسیداتیو مواجه می‌کند (Van Knegsel et al. 2007). بسیاری از پاسخ‌های سیستم ایمنی گاو طی این دوره‌ی بحرانی وابسته به در دسترس بودن پروتئین و اسیدهای آمینه است و با توجه به تغییرات متابولیکی ناشی از تنش اکسیداتیو، پروفایل اسیدهای آمینه مورد نیاز تغییر می‌کند (Nathali et al. 2004). گلوتامین یکی از اسیدهای آمینه‌ی غیرضروری است که در بافت‌های پستانداران ساخته می‌شود. گلوتامین و گلوتامات حدود ۲۰ درصد اسیدهای آمینه پروتئین شیر را تشکیل می‌دهند (Jensen 1995) و مسئول بیش از ۵۰ درصد CO_2 تولید شده در روده هستند (Reeds et al. 2000) که در مقایسه با گلوکز سهم قابل توجهی دارند (Van der Schoor et al. 2001). گلوتامین گلوکونئوژنز کبدی را افزایش می‌دهد (Doepel et al. 2007) و گلوتامین به طور عمده توسط سلول‌های سیستم ایمنی (لیمفوسیت، ماکروفاژ و نوتروفیل) استفاده می‌شود و در زمان مواجه شدن با چالش‌های ایمنی، فعالیت گلوتامیناز این سلول‌ها افزایش می‌یابد (Ardawi and Newsholme 2001, Curthoys and Watford 1995). در طول دوره‌ی شیردهی سطح گلوتامین پلاسما ۳۳-۲۵ درصد کاهش می‌یابد (Meijer et al. 1995) و برای جبران این کمبود، عضلات مهم‌ترین محل ذخیره‌ی گلوتامین با کاتابولیسم مواجه می‌شوند (Newsholm et al. 1986). هدف از این مطالعه تعیین اثر سطوح مختلف گلوتامین محافظت شده بر مصرف ماده‌ی خشک، تغییرات نمره‌ی وضعیت بدنی، غلظت متابولیت‌های خونی و عملکرد تولید مثلی گاوهای تازه‌زا بود.

مواد و روش کار

این تحقیق در مزرعه‌ای خصوصی در شهرستان سیروان واقع در استان ایلام به مدت ۲۸ روز انجام شد. تعداد ۴۰ رأس گاو هلشتاین سه شکم‌زا یا بالاتر (با میانگین شکم زایش هر تیمار ۳/۵ و میانگین وزن بدن یک هفته پیش از زایش ۵۸±۷۹۶، نمره وضعیت بدنی ۰/۳۵±۳/۲۵)، در روز زایش (روز صفر) در قالب طرح کاملاً تصادفی (۱۰ تکرار در هر تیمار) در جایگاه‌های انفرادی، یکی از چهار جیره‌ی آزمایشی را دریافت کردند.

تیمارها شامل: جیره‌ی ۱، جیره‌ی پایه بدون افزودن گلوتامین محافظت شده، جیره‌ی ۲ شامل جیره‌ی پایه به اضافه ۱۵۰ گرم گلوتامین محافظت شده، جیره‌ی ۳ شامل جیره‌ی پایه به اضافه‌ی ۲۵۰ گرم گلوتامین محافظت شده و جیره‌ی ۴ شامل جیره‌ی پایه به اضافه‌ی ۳۵۰ گرم گلوتامین محافظت شده به ازای هر رأس گاو بود (جدول ۱). گلوتامین محافظت شده به خوراک وعده‌ی صبح گاوها اضافه شد. جیره‌ها شامل ۴۹ درصد علوفه و ۵۱ درصد مخلوط کنسانتره‌ای بودند. اسید آمینه‌ی گلوتامین با اسپری کردن محلول فرمالدئید ۴ درصد (۱۰ میلی‌لیتر محلول فرمالدئید به ازای ۱۰۰ گرم ماده‌ی خشک اسیدآمینه) به مدت ۷۲ ساعت در کیسه‌های پلی‌اتیلن نگهداری و سپس برای تبخیر فرمالدئید اضافی به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد (Preston and Leng 1985, Hassan et al. 1990). جیره‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار جیره-نویسی شورای تحقیقات ملی (NRC, 2001) تنظیم گردید. گاوها در جایگاه‌های انفرادی با جیره‌های به طور کاملاً مخلوط و در دو نوبت (ساعت ۰۷:۰۰ و ۱۳:۰۰) به طور

آزاد به گونه‌ای که ۱۰ درصد به عنوان پس آخور در آخورها بماند تغذیه شدند و آب به صورت آزاد در دسترس گاوها قرار گرفت. گاوها دو بار در روز (ساعت ۰۵:۰۰ و ۱۶:۰۰) دوشیده شدند.

جدول ۱: اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌ی پایه (بر اساس درصد ماده خشک)

مواد خوراکی (٪)	جیره پایه
سیلاژ ذرت	۲۳
یونجه خشک	۱۷
علوفه سبز خشک شده	۴
دانه جو آسیاب شده	۲۵
ضایعات نانوایی	۱۱/۲
سبوس گندم	۵
کنجاله سویا	۶
خوراک گلوتن ذرت	۵
کربنات کلسیم	۱/۱
نمک	۰/۵
مکمل ویتامین و مواد معدنی[1]	۲/۲
ترکیب شیمیایی	
ماده خشک (درصد)	۶۳/۴
ماده آلی (درصد از ماده خشک)	۹۰/۳
پروتئین خام (درصد از ماده خشک)	۱۶/۳
دیواره سلولی[2] (درصد از ماده خشک)	۳۲
انرژی خالص شیردهی (مگاکالری در کیلوگرم)	۱/۶۸

۱- هر کیلوگرم از مکمل ویتامین و مواد معدنی دارای ۱۸۰ گرم کلسیم، ۷۰ گرم فسفر، ۳۵ گرم پتاسیم، ۳۰ گرم منیزیم، ۳۲ گرم گوگرد، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۵ گرم منگنز، ۳ گرم روی، ۱۰۰ میلی-گرم کبالت،۲۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۴۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 و ۲۴۵ واحد بین‌المللی ویتامین E

۲- NDF

هر روز نمونه‌های TMR و بقایای خوراک برای هر گاو به طور جداگانه از آخور جمع‌آوری و توزین شد و برای آنالیزهای بعدی و اندازه‌گیری ماده‌ی خشک مصرفی[1] (DMI) به صورت روزانه نمونه‌گیری شد. نمونه‌ها بلافاصله در آون تحت خلاء به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد خشک گردید. سپس با آسیاب ۱ میلی‌متری خرد شده و همه‌ی نمونه‌های گرفته شده در طول آزمایش برای هر گاو بر اساس وزن با هم مخلوط و در نهایت یک نمونه برای آنالیز استفاده گردید. ماده‌ی خشک نمونه‌های خوراک و پس آخور توسط قرار دادن نمونه در آون ۱۰۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت به دست آمد.

جهت تعیین متابولیت‌های خونی، نمونه‌گیری از خون در روزهای صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از زایش ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح، با استفاده از لوله‌های خلاءدار حاوی ماده‌ی ضد انعقاد ۱۰ میلی‌لیتری از ورید وداج به عمل آمد. جهت جدا کردن پلاسما، نمونه‌های خون به وسیله‌ی سانتریفوژ در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و پلاسمای حاصله برای تعیین متابولیت‌های خونی گلوکز، پروتئین تام و نیتروژن اوره‌ای خون در دمای ۲۰- درجه ذخیره شدند و با دستگاه اتوآنالایزر (EXIGO auto-analyzer, vet model) آنالیز شدند. غلظت آنزیم آسپارتات آمینوتراسفراز به وسیله‌ی کیت تجاری شرکت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin-Elmwr-35) اندازه‌گیری شد. گاوها در آغاز و پایان آزمایش جهت تعیین امتیاز وضعیت بدنی بر اساس مقیاس ۱ تا ۵ (Wildman et al. 1982) توسط سه نفر کارشناس مجرب امتیازدهی شدند و از میانگین‌های نمره وضعیت بدنی جهت تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد. تاریخ و زمان دقیق زایش همه‌ی گاوها ثبت شد. پس از مشاهده‌ی علایم فحلی در گاوها، تلقیح مصنوعی توسط کارشناس تلقیح انجام شد. آبستنی و فاصله‌ی زایش تا آبستنی گاوهای هر تیمار، از طریق عدم مشاهده‌ی فحلی مجدد و معاینه توسط دامپزشک تشخیص داده شد. فاصله‌ی زمانی زایش تا آخرین تلقیح منجر به آبستنی به عنوان روزهای باز در نظر گرفته شد.

1- Dry Matter Intake

داده‌های مربوط به مصرف ماده خشک توسط رویه MIXED با انجام اندازه‌های تکرار شده (Repeated Measure) و مدل زیر آنالیز گردید. داده‌های مربوط به غلظت متابولیت‌های پلاسمایی، تغییر امتیاز وضعیت بدنی، تعداد دفعات تلقیح منجر به آبستنی و فاصله‌ی زایش تا آبستنی با استفاده از مدل زیر بدون اعمال اثر زمان آنالیز گردید:

$$Yijk= \mu+ Ti+ Timej+ Ti(Timej)k+ eijk$$

که در این مدل Yijk متغیر وابسته است، μ میانگین کل، Ti اثر تیمار، Timej اثر زمان، Ti(Timej)k اثر متقابل تیمار در زمان، eijk خطای تصادفی باقی‌مانده است. پس از تجزیه‌ی واریانس، میانگین‌های مربوط به هر صفت با آزمون توکی مورد مقایسه قرار گرفت و مبنای مقایسه‌ها سطح احتمال ۵ درصد بود.

نتایج

ماده‌ی خشک مصرفی و تغییر امتیاز وضعیت بدنی

میانگین ماده‌ی خشک مصرفی از جیره‌ی ۱ تا ۴ به ترتیب ۱۲/۰۹، ۱۴/۳۹، ۱۵/۴۰ و ۱۵/۹۷ کیلوگرم در روز بود (P<۰/۰۵، جدول ۲). زمان اثر معنی‌داری روی مصرف ماده‌ی خشک داشت به طوری که با دور شدن از زمان زایش مصرف ماده‌ی خشک افزایش یافت و در پایان هفته‌ی سوم (۲۱ روز پس از زایش) همه‌ی تیمارها ماده‌ی خشک بیش‌تری نسبت به هفته‌های پیشین داشتند (P<۰/۰۱).

تفاوت آماری معنی‌داری در امتیاز وضعیت بدنی گاوها در شروع آزمایش وجود نداشت (P>۰/۰۵، جدول ۲). تغییرات امتیاز وضعیت بدنی گاوهایی که جیره‌ی ۱ تا ۴ را دریافت کردند، به ترتیب ۰/۸۱-، ۰/۶۲-، ۰/۶۰- و ۰/۴۹ بود (P<۰/۰۵، جدول ۲).

غلظت متابولیت‌های پلاسمایی

غلظت گلوکز پلاسمای تیمارهای آزمایشی در روز صفر تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵). غلظت گلوکز پلاسمای خون گاوهایی که جیره‌ی ۱ تا ۴ را دریافت کردند در روز ۷ پس از زایش به ترتیب ۴۷/۴، ۵۱/۳، ۵۳/۵ و ۵۴/۳، در روز ۱۴ پس از زایش ۴۸/۰، ۵۳/۵، ۵۵/۸ و ۵۶/۸ و در روز ۲۱ پس از زایش ۴۸/۸، ۵۵/۰، ۵۹/۲ و ۶۰/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود (P<۰/۰۵، جدول ۳).

غلظت پروتئین تام پلاسمای تیمارهای آزمایشی در روز صفر تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵). غلظت گلوکز پلاسمای خون گاوهایی که جیره‌های ۱ تا ۴ را دریافت کردند در روز ۷ پس از زایش به ترتیب ۵/۶۶، ۵/۷۷، ۵/۴۵ و ۵/۵۲، در روز ۱۴ پس از زایش ۵/۱۱، ۵/۸۴، ۶/۸۲ و ۶/۸۷ و در روز ۲۱ پس از زایش ۵/۰۲، ۵/۹۸، ۷/۱ و ۷/۲ گرم در دسی‌لیتر بود (P<۰/۰۵، جدول ۳).

تیمارهای آزمایشی در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از زایش، اثر معنی‌داری بر نیتروژن اوره‌ای خون نداشتند (P>۰/۰۵، جدول ۳).

اختلاف آماری معنی‌داری بین میانگین غلظت آسپارتات آمینوترانسفراز[1] پلاسمای تیمارهای آزمایشی در روز صفر آزمایش وجود نداشت (P>۰/۰۵). غلظت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز پلاسمای خون گاوهایی که جیره‌های ۱ تا ۴ را دریافت کردند در روز ۷ پس از زایش به ترتیب ۱۱۴/۲، ۹۸/۳، ۹۷/۵ و ۹۶/۴، در روز ۱۴ پس از زایش ۱۲۱/۷، ۸۹/۴، ۸۴/۱ و ۸۲/۸ و در روز ۲۱ پس از زایش ۱۳۲/۵، ۸۲/۱، ۷۳/۳ و ۷۱/۳ واحد در لیتر بود (P<۰/۰۵، جدول ۳).

نتایج تولیدمثلی

میزان آبستنی در اولین تلقیح بین تیمارهای آزمایشی از لحاظ آماری معنی‌دار نبود و برای هر کدام از تیمارهای آزمایشی ۱۰ درصد بود. میانگین تعداد تلقیح منجر به آبستنی برای تیمارها به ترتیب ۲/۹، ۲/۸، ۲/۵ و ۲/۳ دفعه بود و تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵، جدول ۴). فاصله از زایش تا آبستنی مجدد برای تیمارهای آزمایشی به ترتیب ۱۴۱/۲، ۱۳۸/۴، ۱۳۰/۰ و ۱۲۴/۴ روز بود و تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (P>۰/۰۵، جدول ۴).

جدول ۲: اثر سطوح مختلف گلوتامین محافظت شده بر میانگین ماده‌ی خشک مصرفی و تغییرات وضعیت بدنی گاوهای تازه‌زا

صفت	جیره‌های آزمایشی[1]				SEM[2]	P- Value		
	۱	۲	۳	۴		تیمار	زمان	تیمار*زمان
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز)	۱۲/۰۹^{b}	۱۴/۳۹^{ab}	۱۵/۴۰^{ab}	۱۵/۹۷^{a}	۰/۴۱	۰/۰۲	<۰/۰۱	۰/۳۱
امتیاز وضعیت بدنی در ابتدای آزمایش	۳/۳۱	۳/۱۸	۳/۲۷	۳/۲۴	۰/۲۴	۰/۷۳		
تغییر امتیاز وضعیت بدنی	−۰/۸۱^{a}	-۰/۶۲^{ab}	-۰/۶۰^{ab}	-۰/۴۹^{b}	۰/۰۸	۰/۰۳	–	–

۱- جیره ۱: جیره شاهد، ۲: جیره پایه به اضافه ۱۵۰ گرم گلوتامین محافظت شده ۳: جیره پایه به اضافه ۲۵۰ گرم گلوتامین محافظت شده و ۴: جیره پایه به اضافه ۳۵۰ گلوتامین محافظت شده.

۲- اشتباه معیار کل میانگین‌ها.

a,b,c, میانگین‌هایی که در یک ردیف دارای حرف مشترک نیستند، تفاوت آن‌ها در سطح ۵ درصد معنی‌دار است.

جدول ۳: اثر سطوح مختلف گلوتامین محافظت شده بر غلظت متابولیت‌های پلاسمای گاوهای تازه‌زا در روزهای صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از زایش

متابولیت	روز نسبت به زایش	جیره‌های آزمایشی[1]				SEM[2]	P- Value
		۱	۲	۳	۴		
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۰	۴۶/۵	۴۶/۰	۴۵/۶	۴۶/۲	۱/۰۲	۰/۶۳
	۷	۴۷/۴^{b}	۵۱/۳^{ab}	۵۳/۵^{a}	۵۴/۳^{a}	۱/۳۴	۰/۰۲
	۱۴	۴۸/۰^{b}	۵۳/۵^{a}	۵۵/۸^{a}	۵۶/۸^{a}	۱/۵۱	۰/۰۱
	۲۱	۴۸/۸^{c}	۵۵/۰^{b}	۵۹/۲^{ab}	۶۰/۵^{a}	۱/۶۸	<۰/۰۱
پروتئین تام (گرم در دسی‌لیتر)	۰	۵/۶۶	۵/۷۷	۵/۴۵	۵/۵۲	۰/۲۹	۰/۷۸
	۷	۵/۲۰^{b}	۵/۸۱^{ab}	۵/۹۳^{ab}	۶/۲۱^{a}	۰/۲۱	۰/۰۳
	۱۴	۵/۱۱^{c}	۵/۸۴^{b}	۶/۸۲^{a}	۶/۸۷^{a}	۰/۱۹	۰/۰۱
	۲۱	۵/۰۲^{c}	۵/۹۸^{b}	۷/۱۰^{a}	۷/۲۰^{a}	۰/۱۷	<۰/۰۱
نیتروژن اوره‌ای خون (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۰	۱۰/۲	۱۰/۷	۱۰/۵	۱۰/۱	۰/۴۲	۰/۴۹
	۷	۱۰/۳	۱۱/۴	۱۱/۸	۱۲/۲	۰/۶۸	۰/۲۴
	۱۴	۱۰/۶	۱۲/۱	۱۲/۷	۱۳/۴	۱/۰۲	۰/۱۸
	۲۱	۱۰/۹	۱۳/۰	۱۳/۹	۱۴/۷	۱/۳۱	۰/۱۲
آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد در لیتر)	۰	۱۱۰/۰	۱۰۷/۲	۱۱۴/۷	۱۱۳/۱	۱/۷۲	۰/۴۹
	۷	۱۱۴/۲^{a}	۹۸/۳^{b}	۹۷/۵^{b}	۹۶/۴^{b}	۳/۵۷	۰/۰۱
	۱۴	۱۲۱/۷^{a}	۸۹/۴^{b}	۸۴/۱^{b}	۸۲/۸^{b}	۴/۹۱	<۰/۰۱
	۲۱	۱۳۲/۵^{a}	۸۲/۱^{b}	۷۳/۳^{b}	۷۱/۳^{b}	۶/۳۲	<۰/۰۱

۱- جیره ۱: جیره شاهد، ۲: جیره پایه به اضافه ۱۵۰ گرم گلوتامین محافظت شده ۳: جیره پایه به اضافه ۲۵۰ گرم گلوتامین محافظت شده و ۴: جیره پایه به اضافه ۳۵۰ گلوتامین محافظت شده.

۲- اشتباه معیار کل میانگین‌ها.

a,b,c, میانگین‌هایی که در یک ردیف دارای حرف مشترک نیستند، تفاوت آن‌ها در سطح ۵ درصد معنی‌دار است.

جدول ۴: اثر سطوح مختلف گلوتامین محافظت شده بر شمار نوتروفیل‌های رحمی و غلظت استروژن گاوهای تازه‌زا

صفت	جیره‌های آزمایشی[1]				SEM[2]	P- Value
	۱	۲	۳	۴		تیمار
تعداد تلقیح منجر به آبستنی	۲/۹	۲/۸	۲/۵	۲/۳	۰/۲۷	۰/۴۰
فاصله زایش تا آبستنی (روز)	۱۴۱/۲	۱۳۸/۴	۱۳۰/۰	۱۲۴/۴	۷/۶۸	۰/۴۰

۱- جیره ۱: جیره شاهد، ۲: جیره پایه به اضافه ۱۵۰ گرم گلوتامین محافظت شده ۳: جیره پایه به اضافه ۲۵۰ گرم گلوتامین محافظت شده و ۴: جیره پایه به اضافه ۳۵۰ گلوتامین محافظت شده.

۲- اشتباه معیار کل میانگین‌ها.

a,b,c, میانگین‌هایی که در یک ردیف دارای حرف مشترک نیستند، تفاوت آن‌ها در سطح ۵ درصد معنی‌دار است.

بحث

Doepel و همکاران در سال ۲۰۰۷ دریافتند که استفاده از ۳۰۰ گرم گلوتامین به ازای هر رأس گاو در روز باعث تمایل به افزایش مصرف ماده‌ی خشک می‌گردد (P<۰/۱۰). در حالی که در مطالعه‌ی دیگری گزارش شده است که گلوتامین اثری بر مصرف ماده‌ی خشک گاوهای شیری نداشت (Plaizier et al. 2001). پایین بودن مصرف ماده‌ی خشک در گاوهای تیمار شاهد باعث توازن منفی انرژی و موبیلیزه شدن ذخایر بدنی شده و منجر به قرار گرفتن گاو در معرض خطر بیماری‌های متابولیکی کتوز و کبد چرب می‌شود. با توجه به معنی‌دار بودن اثر زمان روی مصرف ماده‌ی خشک در زمان‌های صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از زایش به ترتیب ۸/۳۷، ۱۲/۰۶، ۱۴/۶۰ و ۱۷/۰۶ کیلوگرم در روز، می‌توان به سازگاری فیزیولوژیکی طبیعی گاوها اشاره کرد که به تدریج مصرف ماده‌ی خشک افزایش می‌یابد. گاوها در پیرامون زایش به علت افزایش سطح استروژن خون با کاهش اشتها روبرو می‌شوند و پس از زایش به تدریج این اثر مهارکننده اشتها کاهش می‌یابد (Rabelo et al. 2005).

ماده‌ی خشک مصرفی به دلیل تأمین مواد مغذی برای حفظ سلامت و تولید از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، لذا افزایش مصرف ماده‌ی خشک با بالا بردن عرضه‌ی پروتئین و اسیدهای آمینه در افزایش توان سیستم ایمنی و کاهش بروز ناهنجاری‌های متابولیکی مانند کتوز، کبد چرب و جابه‌جایی شیردان مؤثر است (Nathalie et al. 2004). در تحقیقی مشخص شده است که استفاده از جیره‌های گلوکوژنیک در مقایسه با جیره‌های لیپوژنیک باعث افزایش ذخیره‌ی انرژی در بدن می‌شوند (Van Knegsel et al. 2007)، و با نتایج پژوهش حاضر مشابه است که با مصرف گلوتامین محافظت شده و افزایش ماده‌ی خشک مصرفی، میزان انرژی مصرفی افزایش می‌یابد و تغییرات نمره وضعیت بدنی به نفع حفظ ذخایر بدنی دام است.

بالاتر بودن غلظت گلوکز در تیمارهای دریافت کننده‌ی گلوتامین ممکن است به دلیل بیش‌تر بودن مصرف ماده‌ی خشک و قرار گرفتن گاو در وضعیت بهتری از انرژی باشد . گلوتامین می‌تواند به عنوان یک اسیدآمینه گلوکوژنیک عمل کند (Van Soest 1994)، بنابراین به عنوان سوبسترای انرژی در اوایل دوره‌ی شیردهی توسط گاو مورد استفاده قرار می‌گیرد. عرضه‌ی ناکافی گلوکز مخصوصاً در اوایل دوره‌ی شیردهی علاوه بر کاهش تولید شیر باعث ایجاد ناهنجاری‌هایی در متابولیسم لیپید و تضعیف سیستم ایمنی گاو می‌شود (Rabelo et al. 2005). به علت بالا بودن تقاضا برای گلوکز در اوایل دوره‌ی شیردهی فعالیت گلوکونئوژنز کبدی افزایش می‌یابد و اسکلت کربنی اسیدهای آمینه گلوکزساز (مانند گلوتامین) به عنوان سوبسترا وارد چرخه انرژی می‌شود. با افزایش

پروتئین خام جیره و اسیدهای آمینه وارد شده به روده غلظت گلوکز خون افزایش می‌یابد (Milis et al. 2005).

گلوتامین یک پیش‌ساز ضروری برای سنتز پروتئین‌ها است و می‌تواند با دآمیناسیون و ترانس‌آمیناسیون در سنتز پروتئین‌ها شرکت کند (Boza et al. 2001). گلوتامین در مواقعی مانند اوایل دوره‌ی شیردهی که تقاضا برای مواد مغذی افزایش می‌یابد تعادل نیتروژنی بدن را بهبود می‌دهد (Johnson et al. 2003). با توجه به افزایش پروتئین تام، می‌توان گفت که ممکن است گلوتامین سنتز پروتئین‌های پلاسمایی را میانجی‌گری کند. غلظت‌های پروتئین کل پلاسما نشان دهنده‌ی وضعیت پروتئین جیره‌ای دام است و پایین بودن آن باعث افزایش شانس تجربه کردن بیماری‌های عفونی از قبیل متریت، اندومتریت، جفت ماندگی، گندیدگی سم و ورم پستان می‌گردد (Le Blanc et al. 2005).

با توجه به مشابه بودن غلظت نیتروژن اوره‌ای خون در تیمارهای دریافت کننده‌ی گلوتامین با تیمار شاهد می‌توان ادعا کرد که روش محافظت کردن گلوتامین در برابر تجزیه‌ی میکروبی شکمبه روش مناسبی بوده است.

غلظت‌های AST و بعضی از سایر آنزیم‌های کبدی به عنوان شاخص‌های سلامت سلول‌های کبدی (هپاتوسیت‌ها) در نظر گرفته می‌شوند و غلظت آن‌ها در شرایطی مانند توازن شدید منفی انرژی، هپاتیت ویروسی و آسیب‌های عضلانی افزایش می‌یابد (Ospina et al. 2009, Bobe et al. 2004). در تحقیقی گزارش شده است که غلظت AST در روز ۱۰ پس از زایش افزایش می‌یابد و در روز ۳۰ پس از زایش به حداکثر می‌رسد (Maeda et al. 2012). با توجه به این که در شرایط توازن منفی انرژی به دلیل موبیلیزه شدن لیپیدهای بدن و تجمع تری آسیل گلیسرول در سلول‌های کبدی باعث آسیب به آن‌ها می‌شود، بنابراین اسیدآمینه گلوتامین با شرکت در تولید گلوکز در مسیر گلوکونئوژنز، میانجی‌گری تولید پروتئین‌های مهم پلاسمای خون و همچنین شرکت در ساختار گلوتاتیون پراکسیداز و افزایش توان سیستم ایمنی باعث کاهش التهاب و کاهش غلظت آنزیم‌های کبدی می‌شود (Bobe et al. 2004, Newsholm et al. 1986, Ospina et al. 2009).

میانگین تعداد تلقیح منجر به آبستنی و فاصله‌ی زایش تا آبستنی در تیمارهای آزمایشی نشان می‌دهد که استفاده از گلوتامین باعث کاهش معنی‌دار این دو پارامتر نسبت به تیمار شاهد نمی‌شود. مادامی که اندومتریت وجود داشته باشد باعث ناباروری می‌شود و حتی پس از برطرف شدن موفقیت‌آمیز این بیماری، کم باروری وجود دارد. در یک پژوهش، نرخ آبستنی در اولین تلقیح گاوهای دارای اندومتریت، پایین‌تر بوده است (۲۹/۸ درصد در مقابل ۳۷/۹ درصد) و متوسط فاصله‌ی زایش تا آبستنی نیز طولانی‌تر بوده است (۱۵۱ روز در مقابل ۱۱۹ روز) (LeBlance et al. 2002). از سرگیری فعالیت هورمون لوتئینیزه کننده[1] (LH) هیپوفیز معمولاً ۱۴-۱۰ روز پس از زایش کامل می‌شود. دلیل اساسی فراوانی پایین پالس‌های LH در گاوهای شیرده توازن منفی انرژی است. اگر چه ماده‌ی خشک مصرفی پس از زایش افزایش می‌یابد، اما تقاضای شیردهی برای انرژی بیش از مقدار انرژی مصرفی است. از این رو گاوها ذخایر لیپیدی و پروتئینی خود را برای تأمین این توازن منفی انرژی موبیلیزه می‌کنند. در گاوهای شیری فراوانی پالس‌های LH پایین بوده و تا زمانی که توازن منفی انرژی پس از زایش وجود داشته باشد، تخمک‌ریزی اولین فولیکول غالب کاهش می‌یابد (Beam and Butler 1999). اسید آمینه گلوتامین به لحاظ گلوکوژنیک بودن و افزایش مصرف ماده‌ی خشک، غلظت گلوکز پلاسمایی را افزایش داد، اما نتوانست تعداد تلقیح منجر به آبستنی و فاصله‌ی زایش تا آبستنی را نسبت به تیمار شاهد کاهش دهد (P>۰/۰۵). دلیل احتمالی عدم معنی‌داری آماری دو مورد اخیر را می‌توان به تعداد کم تکرارها در هر تیمار نسبت داد.

1- Luteinizing Hormone

پژوهش‌های معدودی در زمینه‌ی خورانیدن اسیدآمینه-ی گلوتامین به گاوهای تازه‌زا وجود دارد. از آن جا که گاوها در این دوره (۲۱ روز اول پس از زایش) با کاهش مصرف ماده‌ی خشک روبرو می‌شوند، با توجه به تغییر الگوی اسیدهای آمینه مورد نیاز در دوره‌های مختلف فیزیولوژیکی، استفاده از مکمل اسیدهای آمینه (گلوتامین) پیشنهاد می‌شود . با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر (افزایش مصرف ماده‌ی خشک، افزایش غلظت گلوکز و پروتئین تام پلاسما، کاهش آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز، کاهش افت نمره وضعیت بدنی گاوها) استفاده از ۲۵۰ گرم گلوتامین محافظت شده در روز پیشنهاد می‌شود.

منابع

Ardawi, M.S.M. and Newsholme, E.A. (2001). Glutamine metabolism in lymphocytes of the rat. Biochemistry Journal, 212(3): 835-842.

Beam, S.W. and Butler, W.R. (1999). Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. Journal of Reproduction and Fertility. (Suppllement): 54: 411-424.

Bondurant, R.H. (1999). Inflammation in the bovine reproductive tract. J. Dairy Science. 82(2): 101-110.

Boza, J.J.; Marco, T. and Denis, M. (2001). Effect of glutamine supplementation of the diet on tissue protein synthesis rate of glucocorticoid-treated rats. Nutrition, 17(1): 35-40.

Bromfield, J.J.; Santos, J.E.P.; Block, J.; Williams, R.S. and Sheldon I.M. (2015). Uterine infection: Linking infection and innate immunity with infertility in the high-producing dairy cow. Journal of Animal Science, 93(5): 2021-2033.

Correa, M.T.; Erb H. and Scarlett, J. (1993). Path analysis for seven postpartum disorders in Holstein cows. Journal of Dairy Science, 76(5): 1305-1312.

Curthoys, N.P. and Watford, M. (1995). Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. Annual Review of Nutrition, 15: 133-159.

Doepel, L.; Lobley, G.E.; Bernier, J.F.; Dubreuil, P. and Lapierre, H. (2007). Effect of glutamine supplementation on splanchnic metabolism in lactation dairy cows. Journal of Dairy Science, 90: 4325-4333.

Hassan, S.A.; AL-Ani, A.N.; AL-Jassim, R.A.M. and Abdullah, N.S. (1990). Effects of roughage to concentrate rations and rumen undegradable protein supplementation on growth of lambs. Small Ruminant Research, 3: 317-324.

Jensen, R.G. (1995). Handbook of Milk Composition. R. G. Jensen, ed. Academic Press, Toronto, Ontario, Canada. Pp: 25-63.

Johnson, A.T.; Kaufmann, Y.C.; Luo, S.; Todorova, V. and Klimberg, V.S. (2003). Effect of glutamine on glutathione, IGF-I, and TGF-beta 1. Journal of Surgical Research, 111(2): 222-228.

LeBlanc, S.J.; Duffield, T.F.; Leslie, K.E.; Bateman, K.G.; Keefe, G.P.; Walton, J.S. and Johnson, W.H. (2002). Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. Journal of Dairy Science, 85(9): 2223-2236

Meijer, G.A.L.; Van Der Meulen, J.; Bakker, J.G.M.; Van Der Koelen, C.J. and Van Vuuren, A.M. (1995). Free Amino Acids in Plasma and Muscle of High Yielding Dairy Cows in Early Lactation. Journal of Dairy Science, 78(5): 1131-1141.

Milis, C.h.; Liamadis, D.; Roubies, N.; Christodoulou, V. and Giouseljiannis, A. (2005). Comparison of corn gluten products and a soybean-bran mixture as sources of protein for lactating Chios ewes. Small Ruminant Research, 58(3): 237-244.

Nathali, Le Floc'h, N.; Melchior, D. and Obled, C. (2004). Modifications of Protein and Amino Acid Metabolism During Inflammation and Immune System Activation. Livestock Production Science, 87(1): 37-45.

Newsholme, P. (2001). Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, post-injury, surgery or infection? Journal of Nutrition, 131: 2515-2522.

Newsholme, P.; Curi, R.; Gordon, S. and Newsholme, E.A. (1986). Metabolism of glucose, glutamine, long-chain fatty acids and ketone bodies by murine macrophages. Biochemistry Journal, 239(1): 121-125.

Plaizier, J.C.; Walton, J.P. and Mcbride, B.W. (2001). Effect of post-ruminal infusion of glutamine on plasma aminoacids, milk yield and composition in lactating dairy cows. Canadian Journal of Animal Science, 81: 229-235.

Preston, T.R. and Leng, R.A. (1985). Assayfor bypass protein in a supplement. In:Matching livestock systems to available feed resources. ILCA. Addis Ababa. Pp: 196-197.

Rabelo, E.; Rezende, R.L.; Bertics, S.J. and Grummer, R.R. (2005). Effects of pre- and postfresh transition diets varying in dietary energy density on metabolic status of periparturient dairy cows. Journal of Dairy Science, 88(12): 4375-4383.

Reeds, P.J.; Burrin, D.G.; Stoll, B. and Jahoor, F. (2000). Intestinal glutamate metabolism. Journal of Nutrition, 130: 978-982.

Sheldon, I.M.; James Cronin, J.; Goetze, L.; Gaetano Donofrio, G. and Schuberth, H.J. (2009). Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle 1. Biology of Reproduction, 81(6): 1025-1032.

Sordillo, L.M.; Contreras, G.A. and Aitken, S.L. (2009). Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. Animal Health Research Review, 10(1): 53-63.

Turner, M.L.; Cronin, J.G.; Healey, G.D. and Sheldon, I.M. (2014). Epithelial and stromal cells of bovine endometrium have roles in innate immunity and initiate inflammatory responses to bacterial lipopeptides in vitro via Toll-like receptors TLR2, TLR1, and TLR6. Endocrinology, 155(4): 1453-1465.

Van der Schoor, S.R.D.; Van Goudoever, J.B.; Stoll, B.; Henry, J.F.; Rosenberger, J.R.; Burrin, D.G. and Reeds, P.J. (2001). The pattern of intestinal substrate oxidation is altered by protein restriction in pigs. Gastroenterology, 121(5): 1167-1175.

Van Knegsel, A.T.M.; Van den Brand, H.; Dijksstra, J.; Van Straalen, W.M.; Heetkamp, M.J.W.; Tamminga, S. and Kemp, B. (2007). Dietary energy source in dairy cows in early lactation: Energy partitioning and milk composition. Journal of Dairy Science, 90(3): 1467-1476.

Van Soest, P.J. (1994). Nitrogen metabolism. Pages 290–311 in Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press, Ithaca, NY. Pp: 119-170.

Wildman, E.E.; Jones, G.M.; Wagner, P.E.; Boman, R.L.; Troutt, H.F. and Lesch, T.N. (1982). A dairy cow body condition scoring system and its relationship to standard production characteristics. Journal of Dairy Science, 65(3): 495-501.

Effects of glutamine protected on body condition score changes and plasma metabolites of Holstein fresh cows

Nemati, M.[1]; Menatian, S.[2]; Joz.Ghasemi, Sh.[3]; Hoshmandfar, R.[4]; Taheri, M.[5] and Saifi, T.[4]

Received: 25.04.2017 Accepted: 17.12.2017

Abstract

This study was conducted to evaluate the effects of protected glutamine (Gln) supplementation in the diet of Holstein fresh cows after parturition on dry matter intake (DMI), plasma metabolites, body condition score (BCS) and reproductive performance. Forty Holstein dairy cows (796±58 kg of pre-parturition live weight; 3.25±0.35 BCS) at zero d of parturition were divided to four groups (n=10), including: basal diet (control group: a total mixed ration (TMR) consisting of 49% forage and 51% concentrate mixture on dry matter (DM) basis), basal diet supplemented with 150, 250 or 350 g of Gln protected with formaldehyde/cow per day. Dry matter intake of experimental treatments on 21 d after calving were 12.09, 14.39, 15.40 and 97.15 kg/d respectively. Plasma glucose concentrations of 1 to 4 treatments on 21 d after calving were 48.8, 55.0, 59.2 and 60.5 mg/dl respectively. total protein concentrations of 1 to 4 treatments on 21 d after calving were 5.02, 5.98, 7.10 and 7.20 g/dl respectively. AST concentrations of 1 to 4 treatments on 21 d after calving were 132.5, 82.1, 73.3 and 71.3 U/l respectively. Dietary supplementation with protected Gln had no effect on blood urinary nitrogen. The cows that received Gln changed the BCS less than the control treatment. Dietary supplementation of Gln had no effect on reproductive performance and the number of artificial insemination leading to pregnancy and also the interval between calving to pregnancy were not significant between treatments.

Keywords: Transition period, blood metabolites, Glutamine, Cow

1- Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Para Veterinary, Ilam University, Ilam, Iran
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Para Veterinary, Ilam University, Ilam, Iran
3- PhD Graduated of Animal Nutrition, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
4- Expert, Department of Microbiology, Faculty of Para Veterinary, Ilam University, Ilam, Iran
5- MSc Graduated of Microbiology, Faculty of Para Veterinary, Ilam University, Ilam, Iran
Corresponding Author: Nemati, M., E-mail: m.nemati@ilam.ac.ir