مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال اول، شماره دوم، پاییز ۱۳۹۱ (۶۵-۵۷)

اثرات گلوتامین بر پارامترهای تنش اکسیداتیو، متابولیسم نیتروژن و تولید شیر گاوهای هلشتاین تازه‌زا

تیمور تنها[۱]*، حمید امانلو[۲]، مختار فتحی[۳]
۱. عضو هیئت علمی گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور
۲. عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۳. عضو هیئت علمی گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۱۰، تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۹/۱۰)

چکیده
هدف از این پژوهش بررسی اثر مصرف خوراکی گلوتامین حفاظت شده با فرم‌آلدئید بر پارامترهای تنش اکسیداتیو، متابولیسم نیتروژن و عملکرد تولید شیر در دوره انتقال بوده است. ۴۵ روز پیش از زایش تعداد ۳۶ راس گاو شیری یک شکم و چند شکم بر اساس وضعیت بدنی، روز مورد انتظار زایش و تعداد شکم به دو گروه مساوی تقسیم‌بندی شدند. گروه گلوتامین از ۲۱ روز پیش از زایش روزانه ۱۰۰ گرم گلوتامین محافظت شده با فرم آلدئید به همراه جیره پایه به ازای هر رأس دریافت کرد و گروه A (کنترل) فقط جیره پایه را دریافت کرد. پس از زایش گروه گلوتامین به دو گروه مساوی تقسیم شد بطوری که یک گروه تا ۲۱ روز پس از زایش به خوردن گلوتامین ادامه داده و گلوتامین-گلوتامین نامیده شده ولی گروه دیگر پس از زایش گلوتامین دریافت نکرده و گلوتامین- A نامیده شد.گروه A نیز پس از زایش به همین ترتیب به دو گروه A- گلوتامین و A- بدون‌گلوتامین تقسیم شد. در روزهای زایش، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از زایش مقدار ماده خشک مصرفی، تغیرات وضعیت بدنی، کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمایی، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمائی و نیتروژن اوره خون، شیر تولیدی و ترکیبات آن اندازه‌گیری و مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر ماده خشک مصرفی در ۲۱ روز پس از زایش بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار بوده و بیشترین مقدار مربوطه به تیمار گلوتامین- گلوتامین (۱۹/۳ کیلوگرم در روز) بود ($p<۰/۰۵$). مقادیر مربوط به کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی پلاسما در روزهای ۷،۱۴و۲۱ روز پس از زایش بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار بوده و بیشترین مقادیر مربوط به تیمارهای گلوتامین- گلوتامین و A- گلوتامین بود ($p<۰/۰۵$). مقادیر مربوط به ظرفیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمایی در روزهای زایش، ۷ و ۲۱ پس از زایش دارای اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف بوده و مصرف خوراکی گلوتامین منجر به افزایش آن شد ($p<۰/۰۵$). از لحاظ مقادیر مربوط به نیتروژن اوره خون تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف دیده نشد. نتایج این پژوهش نشان داد که بهترین سطح فرم‌آلدهید برای محافظت گلوتامین سطح ۱ درصد بوده و احتمالاً افزایش مصرف گلوتامین می‌تواند منجر به افزایش کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمایی و افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمایی در دوره پس از زایش شود.

واژه‌های کلیدی: گاو هلشتاین، گلوتامین، فعالیت گلوتیون پراکسیداز، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی.

Effcts of Glutamine on Oxidative Stress, Nitrogen Metabolism and Performance of Holestin Dairy Cows in Transition Period

T. Tanha[1]*, H. Amanlo[2], M. Fathi[3]
1, Assistant Professor, Payam-e-Noor University, Tehran
2, Associate Professor, Agriculture Faculty, Zanjan University, 3, Assistant Professor, Payam-e-Noor University
(Received: Oct. 1, 2013; Accepted: Dec. 1, 2013)

Abstract
The objectives of this study was to investigate whether consuming of protected glutamine (PG) before parturition in close up period would affect dry matter intake ($DMI_{kg/d}$), blood urea nitrogen ($BUN_{mg/dl}$), body condition score (BCS) and biomarkers of oxidative stress, glutathione peroxidase activity ($GPX_{\ units/ml\ PCV}$) and Total Antioxidant Status ($TAS_{mmol/L}$). Thirty six pregnant Holstein dairy cows were assigned into two treatment groups based on their BCS and expected. Calving date in *student* examination. Treatment groups consisted of 1) glutamine supplementation 100 g/d per cow from 21d before calving until parturition (F), 2) glutamine unsupplementation from 21d before calving until parturition (N). There weren't any significant differences among treatments in DMI and BCS on d -21,-14 ,-7 and calving day before parturition. There weren't significant differences in the total antioxidant status (TAS) but plasma glutathione Peroxidase activity (GPX) was significant difference between two group and was greater for (F) group at -7d before calving (57.44 vs 47.94 and $p\leq0.05$ respectively) and -14 (45.87 vs 41.72 and $p\leq0.04$ respectively) before parturition. It seems that supplementation diets with glutamine on the close up period can enhance plasma glutathione Peroxides activity (GPX) and the best level of formaldehyde for protection of glutamine is 1%.

Keywords: Holstein Cow, Glutamine, Glutathione Peroxides Activity, Total Antioxidant Status.

* نویسنده مسئول: تیمور تنها Email: tanha1351@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

دوره انتقالی به دوره زمانی ۲۱ روز پیش از زایش تا ۲۱ روز پس از زایش گفته می‌شود و به وسیله محققان و دانشمندان بسیاری مورد تأیید قرار گرفته است (Drackley *et al*., 1999). این دوره حساس‌ترین دوره زمانی زندگی گاوی شیری می‌باشد و بیشترین ناهنجاری‌های متابولیکی و تولیدمثلی از قبیل کتوز، کبد چرب، تب شیر، جابجایی شیردان، متریت و ... در این دوره اتفاق افتاده و بنا بر برخی گزارشات بیش از نیمی از هزینه‌های مربوط به درمان در صنعت گاو شیری مربوط به این دوره زمانی می‌باشد (Grummer *et al*., 1993). افزایش تقاضای انرژی و پروتئین برای تولید شیر منجر به قرار گرفتن حیوان در شرایط کاتابولیکی می‌شود (Bell *et al*., 1995). افزایش کاتابولیسم در بدن حیوان می‌تواند تولید متابولیت‌های پیش فعال شده اکسیژن‌دار[1] را افزایش دهد (BernAbucci *et al*., 2005). اگر مقادیر تولید متابولیت‌های پیش‌فعال شده اکسیژن‌دار بیش از ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی بدن باشد موجب ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود (Lorraine *et al*., 2009). تنش اکسیداتیو منجر به پراکسیداسیون چربی‌ها و سایر ماکرومولکول‌ها خصوصاً مولکوهای موجود در غشاء سلولی و سایر اجزاء سلول شده و به این طریق می‌تواند در وظایف مهم فیزیولوژیکی و متابولیکی آنها اختلال ایجاد کرده و با اثر بر مسیر ساخت استروئیدها (استروئیدوژنز) بر تولیدمثل تأثیر بگذارد (Miller *et al*., 1993).

تغییرات متابولیکی مرتبط با تنش اکسیداتیو، التهاب و عفونت می‌تواند موجب تغییر در متابولیسم اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها شده و به این وسیله الگوی نیاز به آنها را تغییر دهد (Nathali *et al*., 2004). مطالعات نشان داده است در چنین شرایطی گلوتامین یکی از مهم‌ترین اسیدهای آمینه می‌باشد (Burrin *et al*., 2000). مطالعات دیگری نشان داده‌اند که تکثیر و تمایز لنفوسیت‌های رت، موش و انسان در پاسخ به میتوژن‌ها بستگی به دسترسی به گلوتامین دارد (Chang *et al*., 1999).

بطور کلی می‌توان خاطر نشان کرد که بر اساس دلایل زیر گلوتامین در گاوهای شیری، به ویژه در دوره پس از زایش، دارای اهمیت فراوان است:

۱. گلوتامین و گلوتامات به ترتیب ۱۲/۵ – ۶/۵ درصد و۱۰– ۷/۲ درصد از اسیدهای آمینه تشکیل‌دهنده کازئین شیر را شامل می‌شوند (Eigel *et al*., 1984).

۲. به دلیل اینکه غلظت‌های بسیاری از اسیدهای آمینه غیرضروری در شیر بیش از غلظت آنها در خون می‌باشد به نظر می‌رسد که مقداری از آنها از گلوتامین ساخته می‌شود (Meijer *et al*., 1995).

۳. گلوتامین در ساختار گلوتاتیون پراکسیداز که یکی از عناصر مهم سازنده سیستم آنتی‌اکسیدانتی است نقش اساسی دارد. بنا بر آنچه پیش از این گفته شد فرضیه مورد آزمون در این پژوهش آن است که آیا محافظت گلوتامین به وسیله فرم‌آلدهید می‌تواند از تجزیه آن به وسیله فلور میکروبی شکمبه جلوگیری به‌عمل آورده و با شرکت در ساختار گلوتاتیون و یا شرکت در گلوکونئوژنز بر فراسنجه‌های تنش اکسیداتیو و شاخص‌های عملکرد تولیدی تأثیر بگذارد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و خوراک‌دهی

این آزمایش در یک گله بزرگ گاو شیری در استان تهران انجام گردید. تعداد ۳۶ رأس گاوهلشتاین آبستن (۱۰ رأس تلیسه آبستن،۱۰ رأس گاو شکم دوم و ۱۶ رأس گاو شکم سوم بافاصله ۳±۲۵ روز مانده تا آبستنی) براساس تعداد شکم، نمره وضعیت بدنی[2] و زمان مورد انتظار تا زایش به دو گروه ۱۸ رأسی تقسیم شدند. ۲۵ روز پیش از روز زایش مورد انتظار، هر کدام از دو گروه (۱۸ راس) به یک جیره اختصاص داده شدند. گروه گلوتامین از جیره ای که به ان یک صد گرم گلوتامین افزوده شده بود استفاده کرده و گروه گلوتامین نامیده شد و گروه دیگر فقط از جیره پایه استفاده نموده و گروه بدون گلوتامین نامیده شد. پس از زایش گروه گلوتامین به دو گروه مساوی ۹ رأسی تقسیم گردید گروه اول همچنان تا ۲۱ روز پس از زایش از گلوتامین استفاده کرده و گلوتامین– گلوتامین نامیده شده گروه دیگر پس از زایش از گلوتامین استفاده نکرده و گلوتامین– بدون‌گلوتامین نامیده شد. گروه بدون گلوتامین نیز به مانند گروه گلوتامین به دو گروه ۹ رأسی تقسیم‌بندی شد به صورتی که یک گروه پس از زایش از گلوتامین استفاده نموده که بدون گلوتامین–گلوتامین نامیده شده و گروه دیگر پس از زایش هم از اسید آمینه استفاده نکرده و بدون گلوتامین – بدون گلوتامین نامیده شد. دریافت یا عدم دریافت گلوتامین در پیش و پس از زایش موجب گردید که در این پژوهش از آزمایش فاکتوریل ۲×۲ در قالب طرح بلوک‌های تصادفی چند مشاهده‌ای استفاده گردد. پس از زایش جیره مصرفی براساس

[1] Reactive Oxygen Metabolites (ROM)

[2] Body Condition Score

Archive of SID

www.SID.ir

NRC سال ۲۰۰۱ جهت تولید ۳۳ کیلوگرم شیر در روز با ۳/۶ در صد چربی و ۳/۳ در صد پروتئین طراحی گردید. جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ نشان داده شده‌اند. جیره‌های غذایی در پیش از زایش در ساعت ۸:۳۰ صبح و در پس از زایش ۸:۳۰ صبح و ۱۶:۳۰ پس از ظهر خورانیده شد. ماده خشک اجزاء خوراک‌ها به صورت هفتگی با خشک کردن آنها در یک آون در $^{\circ c}$۱۰۵ به مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. گاوها سه بار در شبانه‌روز در ساعت‌های ۸ و ۱۶ و ۲۴ شیردوشی شدند.

جدول ۱. اجزای خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (بر اساس ۱۰۰ درصد ماده خشک)

	جیره‌های آزمایشی[1]	
	پیش از زایش	پس از زایش
اجزا		
یونجه	۳۶/۸۲	۲۷/۵۰
سیلاژ ذرت	۱۰/۱	۱۵/۱
تفاله چغندر	۴/۱۴	۵/۳۰
کاه گندم	۴/۲۳	۰
دانه جوآسیاب شده	۴/۲۳	۷/۵۰
دانه ذرت آسیاب شده	۱۳/۸	۱۷/۴
تخم پنبه کامل	۲/۲	۷/۸
کنجاله تخم پنبه	۱/۰۸	۱/۳۰
کنجاله کانولا	۱/۳۶	۱
کنجاله سویا	۶/۲۳	۷
سبوس گندم	۱۱	۰
پودر چربی[2]	۰	۱/۴
گلوتن ذرت	۰	۲
سدیم بی کربنات	۰	۱/۴
نمک	۰	۰/۳
اکسید منیزیم	۰	۰/۰۵
نمک های آنیونیک[3]	۲/۵	۰
دی کلسیم فسفات	۰/۱۵	۰/۲
مکمل معدنی[4]	۰/۲۵	۰/۳
مکمل ویتامینه[5]	۰/۹	۱/۰۵
ترکیبات شیمیایی بر اساس ماده خشک		
انرژی‌خالص شیردهی (مگاکالری در کیلوگرم)	۱/۶۲	۱/۷۷
پروتیین (گرم بر کیلوگرم)	۱۴۲	۱۸۰
کربوهیدرات غیر الیافی (گرم بر کیلوگرم)	۳۸۸	۳۸۶
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (گرم بر کیلوگرم)	۲۴۰	۲۱۰
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (گرم بر کیلوگرم)	۳۸۰	۳۴۰
خاکستر (گرم بر کیلوگرم)	۷۸/۹	۸۴
چربی خام (گرم بر کیلوگرم)	۳۱/۱	۵۹

۱. تفاوت جیره‌های آزمایشی در پیش از زایش اضافه نمودن مقدار یکصد گرم اسید آمینه گلوتامین محافظت شده با فرم‌آلدهید به جیره گروه B و در پس از زایش اضافه نمودن یکصد گرم اسید آمینه گلوتامین محافظت شده با فرم‌آلدهید به جیره تیمارهایBFAN و BFAF و BNAFمی‌باشد.

۲. Calcium palm fatty acids.

۳. شامل کربنات کلسیم (۱۵) درصد، سولفات منیزیم (۲۴/۲) درصد، کلراید آمونیوم (۱۰/۸) درصد وکلراید کلسیم (۱۸/۸) درصد.

۴. دارای حداقل ۲ درصد آهن (به شکل فروس سولفات)، ۰/۶ درصد مس (سولفات مس)، ۴/۴۶ درصد منیزیم (اکسید منیزیم)، ۲/۵ درصد روی (اکسید روی)، ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم (سلنیت سدیم) و ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم کبالت (سولفات کبالت).

۵. دارای حداقل ۲۵۰۰ کیلو واحد بین‌المللی ویتامین A بر کیلوگرم،۱۲۵۰ کیلو واحد بین‌المللی ویتامین D بر کیلوگرم،۱۷۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E بر کیلوگرم، ۲۸۸ میلی گرم بر کیلوگرم بیوتین و ۲۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیاسین

نمونه‌گیری و اندازه‌گیری

مقدار ماده خشک جیره‌ها در پیش و پس از زایش با استفاده از یک آون در دمای $^{\circ c}$۱۰۵ تا رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شد. از نمونه‌های اجزاء خوراک و کل جیره مقادیر مربوط به پروتئین خام (CP)، عصاره‌اتری (ether extract) و خاکستر بر اساس AOAC سال ۲۰۰۲ و ADF و NDF بر اساس روش ون سوست و همکاران ۱۹۹۱ اندازه‌گیری شد. وضعیت بدنی براساس مقیاس ۵ درجه‌ای (۱ برای گاو کاملاً لاغرو ۵ برای گاو کاملاً چاق) در روزهای ۲۱–، ۱۰–، روز زایش،۱۰+ و۲۱+ پس از زایش ارزیابی شد. از نمونه‌های شیر به صورت هفتگی در وعده‌های صبح و پس از ظهر و شب جهت اندازه‌گیری پروتئین و چربی شیر با استفاده از دستگاه Milk – O – Scan (78110: Foss, Denmark Minor) استفاده گردید.

نمونه‌های خون با استفاده از لوله‌های خلاءدار از سیاهرگ دمی در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ گرفته شده و برای ارزیابی نیتروژن اوره خون استفاده شد. مقدار فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمایی با استفاده از یک کیت آزمایشی تجاری (رنسل متعلق به شرکت رندوکس) ارزیابی شد. کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی با استفاده از یک کیت تجاری مربوط به شرکت رندوکس ارزیابی گردید.

محافظت اسید آمینه و خورانیدن آن

برای ارزیابی بهترین سطح استفاده از فرم آلدئید جهت محافظت آن در برابر فلور میکروبی شکمبه آزمایشی طراحی شد که در آن از مایع تازه شکمبه گاو استفاده گردید. ابتدا محیط کشت‌هایی تهیه شد که تنها منبع نیتروژن‌دار محیط جهت استفاده میکروب‌ها، اسید آمینه گلوتامین معمولی و یا محافظت شده با سطوح مختلف عمل آوری با فرم‌آلدئید (۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد) بود. سپس میزان رشد میکروبی با استفاده از دستگاه اسیکتروفتومتر (Varion, Cary, 50 Scan) انجام گرفت.

آنالیز آماری

در این پژوهش از آزمایش فاکتوریل ۲×۲ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی چند مشاهده استفاده شده و داده‌های اندازه‌گیری شده (ماده خشک مصرفی، شیر و ...) با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه واریانس گشته و جهت مقایسه و اندازه‌گیری اثرات عوامل مؤثر در آزمایش از مقایسه میانگین دانکن استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج و بحث

بهترین سطح عمل‌آوری با فرم‌آلدئید

با استفاده از آزمون استیودنت (T– Test) مشخص گردید که بهترین سطح عمل‌آوری، عمل‌آوری با ۱٪ فرم‌آلدئید بوده اختلاف معنی‌داری بین ۱٪ و سطوح بیشتر از آن مشاهده نشده ولی عمل‌آوری با ۱ ٪ فرم‌آلدئید بهتر از ۵٪ می‌باشد.

ماده خشک مصرفی، وضعیت بدنی و شیر و ترکیبات آن

نتایج مربوط به مقادیر ماده خشک مصرفی و تغییرات وضعیت بدنی در جدول ۲ نشان داده شده است. از لحاظ ماده خشک مصرفی در روزهای ۰، ۷ و ۱۴ از بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و این نتایج مشابه با نتایج پژوهش Plaizier *et al.* (2001) می‌باشد. اما ماده خشک مصرفی در ۲۱ روز پس از زایش دارای اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود ($p<۰/۰۵$) و بیشترین مقدار مربوطه به (گلوتامین– گلوتامین) و کمترین مقدارمربوط به گلوتامین– بدون گلوتامین بود. نتایج نشان داده است که اثر متقابلی بین زمان مربوط به خورانیدن گلوتامین در پیش و پس از زایش وجود نداشته، اما خورانیدن گلوتامین پس از زایش دارای اثر معنی‌دار بر مقدار مقدار ماده خشک مصرفی در ۲۱ روز پس از زایش بود ($p<۰/۰۵$). دانشمندان نشان داده‌اند که گلوتامین به طور وسیع توسط بافت‌های دستگاه گوارش مورد استفاده قرار گرفته و برخی نشان داده‌اند که در پس از زایش وزن تر روده حدود ۱۲ درصد افزایش می‌یابد (Gibb *et al.*, 1992). در یک تحقیق Burrin *et al.* (1991) نشان دادند که مکمل‌سازی جیره خوک‌ها با گلوتامین منجر به افزایش طول پرزهای روده و افزایش سطح ناحیه ژژنوم می‌گردد. از طرف دیگر Reeds *et al.* (2000) نشان دادند که سلول‌های موکوزال دستگاه گوارش به مانند سایر سلول‌هایی که دارای تکثیر و تمایز سریع هستند (سیستم ایمنی) به نیتروژن حاصل از گلوتامین جهت ساخت بازهای پیریمیدین (کربامیل فسفاتاز II پلاسمایی) و پورین‌ها و نهایتاً DNA و RNA نیاز دارند. می‌توان اینطور استنباط کرد که افزایش ماده خشک مصرفی در ۲۱ روز پس از زایش در گروه‌های گلوتامین– گلوتامین و بدون گلوتامین– گلوتامین احتمالاً مربوط به افزایش حجم دستگاه گوارش و شکمبه در نتیجه دسترسی بیشتر به انرژی و پروتئین حاصل از گلوتامین افزوده شده است که اثر خود را از طریق تامین نیتروژن برای رشد بیشتر سلول‌های دستگاه گوارش و حجم آن اعمال کرده است. برای بررسی اثرات گلوتامین بر روی تغییرات وضعیت بدنی، تغییرات وضعیت بدنی در روزهای ۰، ۱۰ و ۲۱ روز پس از زایش مورد بررسی قرار گرفت ولی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید. شاید علت عدم تأثیر گلوتامین بر تغییرات وضعیت بدنی مربوط به مقادیر ناچیز انرژی و پروتئین حاصله از آن و یا مصرف گلوتامین در بافت‌هایی باشد که ارتباط خاصی با بافت‌های ذخیره بدن ندارند.

جدول ۲. اثرات گلوتامین بر ماده خشک مصرفی و تغییرات وضعیت بدنی در تیمارهای آزمایشی در بعد از زایش

آیتم		گ–گ	گ–ب	ب–گ	ب–ب	SE	P-Value		
							B	A	A×B
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز)	0	8.94	8.88	8.76	9.03	1.04	0.86	0.35	0.15
روز نسبت به زایش	+7	14.98	14.91	14.85	14.89	0.47	0.98	0.83	0.87
	+14	17.49	17.75	17.64	18.03	0.59	0.11	0.29	0.75
	+21	19.36^{a}	19.2^{a}	18.36^{b}	19.09^{a}	0.18	0.36	0.01	0.06
تغییرات وضعیت بدنی (BCS)	0	3.66	3.58	3.66	3.61	0.18	0.27	0.82	0.82
روز نسبت به زایش	+10	3.41	3.33	3.41	3.36	0.28	0.27	0.82	0.82
	+21	3.19	3.08	3.05	3.19	0.14	0.81	0.81	0.54
نیتروژن اوره ای خون	+10	14.65	14.79	13.76	13.98	2.42	0.14	0.75	0.93
(میلی گرم در دسی لیتر)	+21	15.61	15.72	15.16	15.1	1.37	0.56	0.31	0.21

اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگر می‌باشند ($p\leq۰/۰۵$).

ب، ب= (بدون گلوتامین– بدون گلوتامین)

ب، گ= (بدون گلوتامین–گلوتامین)

گ، ب= (گلوتامین– بدون گلوتامین)

گ، گ= (گلوتامین – گلوتامین)

A = اثر زمان خورانیدن گلوتامین

B = اثر سطوح گلوتامین

A×B = اثر متقابل بین زمان و سطح خورانیدن گلوتامین

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج مربوط به مقادیر شیر مقدار کل شیر تولیدی و ترکیبات آن در جدول ۳ نشان داده شده است. در روز زایش دارای تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف بود. اثرات متقابل بین خورانیدن پیش و پس از زایش فاقد اختلاف معنی‌دار بود. خورانیدن اسید آمینه در پیش از زایش ($p<۰/۰۱$) و پس از زایش ($p<۰/۰۵$) دارای اثر معنی‌دار بر مقدار شیر تولیدی در روز زایش بوده است. بیشترین مقدار شیر تولیدی در روز زایش مربوط به گروه بدون گلوتامین – گلوتامین و کمترین مقدار مربوط به گروه گلوتامین– بدون گلوتامین بود. به دلیل اینکه عمل آوری با فرم‌آلدئید می‌تواند اثر کاهنده بر ساخت پروتئین میکروبی داشته و در پیش از زایش پروتئین میکروبی مهمترین بخش پروتئین مصرفی حیوان را تشکیل می‌دهد، کاهش ساخت پروتئین میکروبی می‌تواند اثرات منفی بر تولید شیر در روز زایش داشته باشد. مقدار تولید شیر در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از زایش فاقد اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف بوده و این یافته در توافق با یافته‌های Doepel *et al*. (2006) می‌باشد که نشان دادند تزریق داخل شیر دانی گلوتامین دارای اثر معنی‌دار بر تولید شیر نبود. در برخی از پژوهش‌ها نشان داده شده است که در گاوهایی که با جیره‌های بر اساس سیلاژ ذرت تغذیه می‌شوند اسید آمینه متیونین خصوصاً در اوایل زایش می‌تواند محدودکننده تولید شیر باشد (Drackley *et al*., 2001). نشان داده شده است که گلوتامین با آمیناسیون مجدد کتو اسید متیونین می‌تواند از اکسیداسیون جلوگیری به عمل آورد (Blarzino *et al*., 1994) و از این طریق با حفظ مقداری از متیونین از اکسیداسیون به حفظ متیونین در بدن به عنوان یک اسید آمینه محدود کمک کند. اگرچه مطالعات نشان دادند که حداکثر ۵ درصد گروه آمینی متیونین کبد نشات گرفته از گلوتامین است اما همین مقدار کم می‌تواند در اوایل شیردهی که گاوهای شیرده در بالانس منفی متیونین قرار دارند تعیین‌کننده باشد. تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف از لحاظ چربی و پروتئین شیر مشاهده نشد و این یافته در توافق یافته‌های Plaizier *et al*. (2001) می‌باشد که نشان دادند تزریق داخل شیر دانی گلوتامین فاقد اثر معنی‌داری بر چربی و پروتئین شیر بود.

کل وضعیت آنتی‌اکسیدانتی، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمایی و ازت اوره ای خون

فراسنجه‌های مربوط به تنش اکسیداتیو در جدول ۴ نشان داده شده‌اند. مقادیر کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمایی در روز زایش در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نبوده است. بعضی از محققین نشان داده‌اند که کنترل و عملکرد کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تحت کنترل هموستاتیک قرار دارد. Miller *et al*. (1993) نشان دادند که ممکن است کاهش تنش اکسیداتیو در پیش از زایمان مربوط به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در حول و حوش زایمان می‌باشد. این بدان معنی است که زمانی که تنش اکسیداتیو زیاد می‌شود ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی اندوژنوسی نیز با افزایش توان آنتی‌اکسیدانتی خود به خود زیاد می‌شود. خورانیدن گلوتامین پس از زایمان دارای اثر معنی‌دار بر وضعیت کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمایی در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از زایمان بوده است ($p<۰/۰۵$). به نظر می‌رسد که خورانیدن اسید آمینه پس از زایمان دارای اثرات افزایشی بر وضعیت کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمایی می‌باشد و بیشترین مقادیر مربوط به تیمارهای گلوتامین – گلوتامین و بدون گلوتامین– گلوتامین می‌باشد. بسیاری اعتقاد دارند (Lucy *et al*., 2001)، که کارایی عملکرد تولیدمثل به داشتن یک دوره انتقال عاری از بیماری بستگی دارد. نشان داده شده است که گروه‌های سولفیدریل (SH) ناشی از اسیدآمینه سیتئین پروتئین‌هایی که در کبد ساخته میشود به ویژه آلبومین، L سیستئین و هموسیستئین دارای نقش بسیار بزرگی در دفاع آنتی‌اکسیدانتی بدن می‌باشند (Uleand *et al*., 1996). به عبارت دیگر در فاز حاد پاسخ کبدی که در پس از زایمان در مواجهه با عفونت و التهاب و استرس اتفاق می‌افتد ممکن است که گلوتامین با حفظ بعضی از اسیدهای آمینه مانند فنیل‌آلانین و متیونین از اکسیداسیون که در ساخت پروتئین‌های فاز کبدی حاد مشارکت عمده دارند و می‌توانند پاسخ کبدی را محدود کنند نقش ارزشمندی داشته باشد (Reeds *et al*., 1994). ما مدارکی دال بر اثر گلو تامین بر ساخت آلبومین نیافتیم اما مطالعاتی وجود دارد که نشان می‌دهد کمبود پروتئین می‌تواند ساخت آلبومین را کاهش دهد (Jahoor *et al*., 1999). مطالعات بسیاری نشان دادند که افزایش مصرف سیستئین می‌تواند منجر به افزایش عملکرد سیستم ایمنی، افزایش سطح آلبومین پلاسمایی و کاهش سطح سایتوکاین‌های التهابی شود (Grimble *et al*., 2001). به نظر می‌رسد که افزایش دسترسی به گلوتامین در روده پس از زایش جلوگیری از تخمیر آن در شکمبه با استفاده می‌تواند اثر محافظتی بر اکسداسیون متیونین، فینل‌آلانین با آمیناسیون مجدد اکواسیدهای آنها در کبد داشته باشد. واضح است که افزایش دسترسی متیونین می‌تواند سطوح فیزیولوژیکی سیستئین را افزایش داده و سطح گروه‌های سولفیدریل یا SH را در پلاسما بالا ببرد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳. اثرات گلوتامین بر شیر تولیدی، چربی شیر و پروتیین شیردر تیمارهای آزمایشی در بعد از زایش

آیتم		گ–گ	گ–ب	ب–گ	ب–ب	SE	P-Value		
							B	A	A×B
شیر تولیدی (کیلوگرم در روز)	0	13.66[a]	9.89[c]	14.68[a]	11.28[b]		1.11	0.19	0.05	0.84
روز نسبت به زایش	+7	22.21	21.55	21.14	21.25		0.47	0.86	0.67	0.81
	+14	30.87	29.15	27.62	27.72		0.59	0.66	0.21	0.62
	+21	35.38	34.18	34.32	32.24		0.18	0.36	0.4	0.8
چربی شیر (g/kg)	+10	33.3	34.2	33.8	33.8		0.28	0.35	0.33	0.52
روز نسبت به زایش	+21	34.3	34.7	35.0	34.4		0.14	0.29	0.28	0.11
پروتیین شیر (g/kg)	+10	31.5	30.7	31.2	31.0		0.43	0.39	0.34	0.29
روز نسبت به زایش	+21	31.4	30.8	31.0	31.2		0.13	0.36	0.26	0.53

اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگر می‌باشند (p≤۰/۰۵).

ب، ب= (بدون گلوتامین– بدون گلوتامین) اثر زمان خورانیدن گلوتامین =A

ب، گ= (بدون گلوتامین–گلوتامین) اثر سطوح گلوتامین =B

گ، ب= (گلوتامین– بدون گلوتامین) اثر متقابل بین زمان و سطح خورانیدن گلوتامین =A×B

گ، گ= (گلوتامین – گلوتامین)

نتایج نشان می‌دهد که بین تیمارها از لحاظ وضعیت فعالیت گلوتاتیون پلاسمایی در روز زایمان بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت (p<۰/۰۵). نتایج نشان می‌دهد که خورانیدن اسید آمینه پس از زایش می‌تواند اثرات افزایشی بر میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمایی داشته باشد. وضعیت فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمایی در ۷ روز پس از زایمان نیز دربین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بوده است و علاوه بر آن اثر متقابل بین زمان خورانیدن گلوتامین و سطح گلوتامین بر وضعیت فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمایی در ۷ روز پس از زایمان معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). در ۱۴ روز پس از زایمان بین تیمارهای مختلف از لحاظ فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمایی اختلاف معنی‌داری وجود نداشته، اما در ۲۱ روز پس از زایمان زمان خورانیدن گلوتامین و سطح گلوتامین دارای اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمایی بوده ولی اثر متقابل زمان خورانیدن گلوتامین و سطح گلوتامین معنی‌دار نمی‌باشد. به نظر می‌رسد خورانیدن اسید آمینه در پیش و پس از زایمان دارای اثرات افزایشی بر میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمایی باشد در گاوهای شیری پر تولید خصوصاً در اوایل زایش با افزایش تولید شیر روزانه بیش از ۱ کیلوگرم پروتئین از طریق شیر ترشح شده و از بدن خارج می‌گردد، که این بیش از ۳۰ ٪ کل پروتئین موجود در پلاسما می‌باشد (Reeds *et al*., 2000). گلوتامین بیشترین اسید آمینه در پلاسما و شیر بوده و گزارش گردیده است که در اوایل زایش ۲۵ الی ۳۰ درصد کاهش در پلاسما (Miejer *et al*., 1993) و ۷۵ درصد کاهش در عضلات مشاهده گردیده است (Reeds *et al*., 2000).

گلوتاتیون به طور عمده به صورت *de novo* در کبد از گلوتامات، گلیسین و سیستئین ساخته می‌شود و کاهش عملکرد کبد که معمولاً در اوایل زایش اتفاق می‌افتد می‌تواند اثرات مخرب بر ساخت گلوتاتیون داشته باشد (Doepel *et al*., 2006). کبد دارای توان منحصر به فرد در تبدیل میتونین به سیستئین بوده و کاهش عملکرد آن می‌تواند ساخت گلوتاتیون را مختل کند (Kaplowitz *et al*., 1985). ساخت گلوتاتیون به میزان بسیار زیادی بستگی به دسترسی پیش سازهای آن داشته و با ساخت آلبومین برسر میزان سیستئین قابل دسترس رقابت می‌کند (Droge *et al*., 1994). دانستن این نکته بسیار مهم است که km آنزیم‌های تحریک‌کننده اسیدهای آمینه برای ساخت پروتئین ۰/۰۰۳ میلی‌مول در لیتر بوده در حالی‌که برای گاما گلوتامیل سیستئین سنتاز ۰/۰۳۵ میلی‌مول در لیتر می‌باشد و این بدان معنی است که چرخه‌های بیو سنتز پروتئین در غلظت ۱۱۶ برابر کمتر سیستئین نسبت به ساخت گاما گلوتامیل سیستئین با بیشترین کارایی ساخت پروتئین را انجام داده و طبیعی است که در این حالت ساخت گلوتاتیون به علت کاهش دسترسی

Archive of SID

www.SID.ir

سیستئین کاهش پیدا کرده و یا ممکن است حتی به صفر برسد (Grimble *et al*., 2001). گلوتامین دارای اثرات زیادی بر دسترسی گلوتامات و با جلوگیری کردن از اکسیداسیون متیونین می‌تواند اثرات مثبتی بر افزایش سیستئین داشته باشد (Blarzino *et al*., 1994). در یک مطالعه خورانیدن گلوتامین به رت‌ها موجب افزایش گلوتاتیون دربافت روده شد (Cao *et al*., 1998). نتیجه کلی از اظهارات فوق می‌تواند این باشد که افزایش دسترسی گلوتامین برای حیوان می‌تواند از جنبه‌های مختلف بر ساخت گلوتاتیون داشته و ساخت گلوتاتیون را افزایش دهد.

جهت بررسی اثرات خورانیدن گلوتامین محافظت شده بر مقدار نیتروژن اوره‌ای خون، مقدار نیتروژن اوره خون در ۱۰ و ۲۱ روز پس از زایش اندازه‌گیری شد هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در روزهای فوق مشاهده نشد. این نتایج قابل پیش‌بینی بود، زیرا محافظت اسیدآمینه به وسیله فرم‌آلدئید می‌تواند از دی‌آمیناسیون گلوتامین در شکمبه جلوگیری به عمل آورده و موجب افزایش آمونیاک و اوره خون نشود. این یافته در هماهنگ با یافته‌های Plaizier *et al*. (2001) می‌باشد که نشان دادند تزریق داخل شیر دانی گلوتامین اثری بر نیتروژن اوره خون نداشت. به عبارت دیگر می‌توان گفت که محافظت گلوتامین با ۱ درصد فرم آلدئید می‌تواند مصرف آن را در کبد و کل دستگاه گوراش افزایش دهد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش به نظر می‌رسد که بهترین سطح فرم‌آلدهید جهت عمل‌آوری اسیدآمینه گلوتامین، عمل‌آوری با ۱ درصد فرم‌آلدهید بوده و افزایش دسترسی گلوتامین در دستگاه گوارش گاوهای شیری در دوره انتقال می‌تواند اثر افزایشی بر رشد دستگاه گوارش و افزایش مقدار ماده خشک مصرفی داشته باشد. از سوی دیگر با توجه به نقش گلوتامین در ساخت گلوتاتیون، افزایش مصرف آن می‌تواند موجب افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمایی و افزایش کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی پلاسما و کاهش تنش اکسیداتیو به دلیل افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانتی پلاسما در گاوهای تازه‌زا شود.

جدول ۴. اثرات گلوتامین بر تغییرات کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی و ظرفیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمایی در تیمارهای آزمایشی در بعد از زایش

P-Value			SE					آیتم
A×B	A	B		ب-ب	ب-گ	گ-ب	گ-گ	
0.33	0.96	0.49	1.11	0.34	0.36	0.35	0.33	0	کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی پلاسما (میلی مول بر لیتر)
0.79	0.01	0.53	0.47	0.3^{b}	0.35^{a}	0.29^{b}	0.34^{a}	+7	روز نسبت به زایش
0.16	0.01	0.62	0.59	0.26^{b}	0.31^{a}	0.24^{b}	0.32^{a}	+14	
0.63	0.01	0.87	0.18	0.21^{b}	0.26^{a}	0.21^{b}	0.26^{a}	+21	
0.17	0.04	0.7	5.12	49.34^{b}	56.9^{a}	54.8^{a}	57.7^{a}	0	گلوتاتیون پراکسیداز
0.08	0.01	0.01	3.72	42.37^{c}	52.51^{a}	48.17^{b}	52.95^{a}	+7	(units/ml PCV)
0.58	0.01	0.08	1.5	38.84^{b}	48.51^{a}	42.2^{b}	50.27^{a}	+14	روز نسبت به زایش
0.13	0.01	0.01	2.6	36.02^{c}	45.38^{a}	40.3^{b}	46.60^{a}	+21	

ب، ب= (بدون گلوتامین– بدون گلوتامین)
ب، گ= (بدون گلوتامین–گلوتامین)
گ، ب= (گلوتامین– بدون گلوتامین)
گ، گ= (گلوتامین – گلوتامین)

اثر زمان خورانیدن گلوتامین =A
اثر سطوح گلوتامین =B
اثر متقابل بین زمان و سطح خورانیدن گلوتامین =A×B

REFERENCES

AOAC (2000) Official Methods of Analysis. 17 th ed. Rev. 1. Assoc. Off. AnAl. Chem., Arlington, VA

Bell AW (1995) Regulation of Organic Nutrient Metabolism During Transition From Late Pregnancy To Early Lactation. J. Anim. Sci, 73: 2804–2819.

BernAbucci U, Ronchi B, LaceterA N, Nardone A (2005) Influence of body condition score on the relAtionship between metAbolic stAtus and oxidAtive stress in peripArturient dAiry cows. J. DAiry Sci, 88: 2017–2026.

Blarzino C, Coccia R, Pensa B, Cini C, De Marco C (1994) Selenomethionine As

Archive of SID

www.SID.ir

Substrate For Glutamine Transaminase. Biochem. Mol. Biol. Int, 32: 79–86.

Bruins MJ, Soeters PB, Deutz NE (2000) EndotoxemiA Affects orgAn protein metAbolism differently during prolonged feeding in pigs. J. Nutr, 130: 3003– 3013.

Burrin DG, Shulman RJ, Storm MC, Reeds PJ (1991) GlutAmine or glutAmic Acid effects on intestinAl growth and disAcchAridAse Activity in infAnt piglets receiving totAl pArenterAl nutrition. J. PArenter EnterAl Nutr, 15: 262–266.

Cao Y, Feng Z, Hoos A, Klimberg VS (1998) Glutamine Enhances Gut Glutathione Production J. Parenter Enteral Nutr, 22: 224–227.

Chang WK, Yang KD, Shaio MF (1999) Lymphocyte Proliferation Modulated By Glutamine, Involved in the Redox Reaction. Clin. Exp. Immunol, 117: 482–488.

Doepel L, Lessard M, Gagnon N, Lobley GE, Bernier JF, Dubreuil P, Lapierre H (2006) Effect of Postruminal Glutamine Supplementation on Immune Response and Milk Production in Dairy Cows J. Dairy Sci, 89: 3107–3121

Drackley JK (1999) Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier? J. Dairy Sci, 82: 2259–2273.

Drackley JK, Overton TR, Douglas GN (2001) Adaptations of Glucose and Long-Chain Fatty Acid Metabolism in Liver of Dairy Cows During the Periparturient Period. J. Dairy Sci, 84 (E Suppl.), E100–E112.

Droge W, Schulzeosthoff K, Mihm S, GAlter D, Schenk H, Eck HP, Roth S, Gmunder H (1994) Functions of glutAthione and glutAthione disulfide immunology and immunopAthology. FASEB J, 8: 1131–1138.

Eigel WN, Butler JE, Ernstrom CA, Farrell HM, Harwalkar VR, Jenness R, Whitney R (1984) Nomenclature of Proteins of Cow's Milk: Fifth Revision. J. Dairy Sci, 67: 1599–1631.

Gibb MJ, Ivings WE, Dhanoa MS, Sutton JD (1992) Changes in Body Components of Autumn-Calving Holstein-Friesian Cows Over the First 29 Weeks of Lactation. Anim. Prod, 55: 339–360.

Grimble RF (2001) Stress proteins in Disease: metAbolism on A knife edge. Clin Nutr, 20: 469-76.

Grummer RR (1993) Etiology of lipid-relAted metAbolic disorders in peripArturient dAiry cows. J. DAiry Sci, 76: 3882–3896.

Jahoor F, Wykes L, Del Rosario MP, Frazer ME, Reeds PJ (1999) Chronic Protein Under Nutrition and an Acute Inflammatory Stimulus Elicit Different Protein Kinetic Responses in Plasma But Not in Muscle of Piglets. J. Nutr, 129: 693–699.

Kaplowitz N, AW, TY, Okhtens M (1985) the Regulation of Hepatic Glutathione. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol, 25: 715-44.

Lorraine M, Sordillo S, Aitken L (2009) Impact of Oxidative Stress on the Health and Immune Function of Dairy Cattle. Vet. Immunol. Immunopathol, 128: 104–109.

Lucy MC, Jiang H, Kobayashi Y (2001) Changes in the Somatotropin Axis Associated With the Initiation of Lactation. J. Dairy Sci, 84 (E Suppl.), E113–E119.

Meijer GA, De Visser L, Van Der Meulen J, Van Der Koelen CJ, Klop A (1995) Effect of Glutamine or Propionate Infused Into the Abomasum on Milk Yield, Milk Composition, Nitrogen Retention and Net Flux of Amino Acids Across the Udder of High Yielding Dairy Cows: Protein Metabolism and Nutrition. Proceedings of the Seventh International Symposium (Nunes, A. F.Portugal. A.V.Costa.J. P. and Ribeiro.J. R.Eds.), Pp. 157–160. Estacoa Zootechnica National. Anterem, Portugal.

Miller JK, Brezezinska-Slebodzinska E (1993) Oxidative Stress, Antioxidants and Animal Function. J. Dairy Sci, 76: 2812–2823.

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

NRC (2001) Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Rev. Ed. Natl. Acad. Sci., Washington, Dc.

Plaizier JC, Walton JP, Mcbride BW (2001) Effect of Postruminal Infusion of Glutamine on Plasma Amino Acids, Milk

Archive of SID

www.SID.ir

Yield and Composition in Lactating Dairy Cows. Can. J. Anim. Sci, 81: 229–235.

Reeds PJ, Burrin DG, Stoll B, Jahoor F (2000) Intestinal Glutamate Metabolism. J. Nutr, 130: 978S–982S.

Reeds PJ, Fjeld CR, Jahoor F (1994) Do the differences between the Amino Acid compositions of Acute-phAse and muscle proteins hAve A beAring on nitrogen loss in trAumAtic stAtes? J. Nutr, 124: 906–910.

Uleand PM, Mansoor MA, Guttormsen AB, Muller F, Aukrust P, Refsum H, Svardal AM (1996) Reduced, Oxidized and Protein-Bound Forms of Homocysteine and Other Aminothiols in Plasma Comprise the Redox Thiol Status-A Possible Element of the Extracellular Antioxidant Defense System. J. Nutr, 126: 1281S–1284S.

Archive of SID

www.SID.ir