

اثر کاهش پروتئین جیره غذایی بر عملکرد تولیدی و فراسنجه‌های خونی گاوها در شیرده هلشتاین در تنفس گرمایی

وحید غلامی^۱ و حمید امانلو^{*}

۱ و ۲، کارشناس ارشد و دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه زنجان، زنجان

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۲۱ - تاریخ تصویب: ۹۲/۱۰/۱۰)

چکیده

هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر کاهش پروتئین جیره غذایی بر عملکرد تولیدی و فراسنجه‌های خونی گاوها در شیرده هلشتاین در تنفس گرمایی بود. در این پژوهش از ۶۳ رأس گاو شیرده هلشتاین با میانگین روزهای شیردهی $16/5 \pm 71$ در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با ۳ جیره و به مدت ۶۵ روز در ماههای تابستان استفاده گردید. گاوها به طور تصادفی به یکی از ۳ جیره آزمایشی (حاوی ۱۸/۵، ۱۷/۵، ۱۶/۵ درصد پروتئین خام) اختصاص داده شدند. نسبت پروتئین تجزیه‌ناپذیر در شکمبه به پروتئین تجزیه‌پذیر در شکمبه در کلیه تیمارها برابر با ۳۹ به ۶۱ درصد و نسبت بهینه آمینواسیدهای ضروری (لیزین به متیونین) در هر سه تیمار با استفاده از متیونین محافظت شده، در حدود ۳ به ۱ بود. نتایج نشان داد که ماده خشک مصرفی شیر تصحیح شده براساس ۳/۵ درصد چربی، ترکیبات شیر، و میزان شیر تولیدی به‌ازای هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی (بازده تولید)، تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نمی‌گیرد. این تحقیق نشان داد که کاهش سطح پروتئین خام در مقایسه با مقدار توسعه شده شورای تحقیقات ملی (NRC, 2001) و تأمین نسبت بهینه در آمینواسیدهای محدود کننده در شرایط تنفس گرمایی می‌تواند در حفظ تولید، بهبود بازده نیتروژن، کاهش هزینه‌های تولیدی، و کاهش خطرات زیستمحیطی ناشی از دفع نیتروژن اضافی به محیط در گاوها تحت تنفس گرمایی، سودمند باشد.

واژه‌های کلیدی: بازده نیتروژن، پروتئین خام، تنفس گرمایی، نیتروژن اورهای شیر.

مصرفی، تولید شیر، و فعالیت فیزیکی حیوان کاهش می‌یابد (Kadzere *et al.*, 2002). در این شرایط برای حفظ تولید، اقدامات تغذیه‌ای و مدیریتی متفاوتی انجام می‌گیرد. از میان اقدامات تغذیه‌ای در این شرایط افزایش غلظت انرژی و پروتئین در جیره است (West, 2003). افزایش میزان پروتئین جیره غذایی در شرایط تنفس گرمایی همواره به عنوان چالشی در تغذیه گاو شیری مطرح بوده است (Nayeri *et al.*, 2011). در هنگام تغذیه گاوها در شرایط تنفس گرمایی، هم مقدار و هم شکل پروتئین جیره نیازمند توجه است. خوراندن پروتئین در سطوح بالاتر و پایین‌تر از مقدار نیاز باعث افزایش تولید حرارت خواهد شد (Nayeri *et al.*, 2011). کمبود پروتئین خام در جیره باعث کاهش هضم‌پذیری جیره

مقدمه

گاوها در شیرده به دلیل ماده خشک مصرفی بالا، تولید حرارت همراه با تولید شیر، و حرارت افزایشی زیاد به تنفس گرمایی در تابستان حساس هستند (Kadzere *et al.*, 2002; Wheelock *et al.*, 2002). تنفس گرمایی با ارزیابی شاخص حرارتی رطوبتی (THI)^۱ محاسبه می‌شود و بالاتر از عدد ۷۲ محدوده تنفس گرمایی شمرده می‌شود. بر این اساس THI کمتر از ۷۲ وجود نداشتن تنفس ۷۹ تا ۷۲ تنفس گرمایی خفیف، ۸۰ تا ۸۹ تنفس گرمایی متوسط، و ۹۰ تا ۹۶ تنفس گرمایی شدید به شمار می‌آید (Armstrong, 1994). در تنفس گرمایی، خوارک

1. Temperature Humidity Index

با کاهش سطح پروتئین خام در گاوها تحت تنش گرمایی انجام نگرفته است. ازین‌رو هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر کاهش پروتئین جیره و رعایت نسبت بهینه لیزین به متیونین (۳ به ۱) در شرایط طبیعی تنش گرمایی بر عملکرد و توان تولیدی گاوها هلشتاین بود.

مواد و روش‌ها

گاوها و تیمارها

در این پژوهش ۶۳ رأس گاو هلشتاین (۱۵ رأس یک بار زایش کرده و ۱۰ رأس دو بار زایش کرده و ۳۸ رأس سه بار زایش کرده یا بالاتر بودند) با میانگین روزهای شیردهی $71 \pm 16/5$ با میانگین وزن زنده $590 \pm 35/5$ و تولید شیر $33 \pm 3/34$ کیلوگرم در روز در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تیمار و سه بلوک براساس شکم زایش (زایش اول، زایش دوم، و زایش دو به بالا) استفاده گردید. این پژوهش در فاصله زمانی تیر تا شهریور سال ۱۳۹۰ در مجتمع تولید شیر و گوشت فروردین واقع در استان تهران انجام شد. گاوها با داربست‌های فلزی به صورت انفرادی در جایگاه مسقف که هر کدام دارای آخور و آبخور بودند، تغذیه شدند. جیره‌های آزمایشی با نرمافزار جیره‌نویسی شورای تحقیقات ملی (NRC, 2001) تنظیم گردیدند. هر سه جیره ایزووارنژتیک ولی از نظر سطح پروتئین خام متفاوت بودند. گاوها به صورت تصادفی به یکی از سه ضروری لیزین به متیونین با استفاده از متیونین Evonik Degussa GmbH, Germany محفوظ شده (Mepron®) در حدود ۳ به ۱ تنظیم شد. اجزای تشکیل‌دهنده جیره‌های آزمایشی و ترکیب مواد مغذی آن‌ها به ترتیب در جدول ۱ و ۲ آورده شده است. میانگین روزانه THI در ماه‌های تیر، مرداد، و شهریور به ترتیب برابر $7/80$ ، $81/81$ و $81/80$ برآورد گردید (جدول ۳). میانگین THI با فرمول $THI = 0.72(W+D) + 40.8$

خواهد شد، در حالی که تغذیه بیش از حد پروتئین خام انرژی لازم را برای سنتز و دفع اوره از بدن افزایش می‌دهد (Higginbotham *et al.*, 1989; West, 2003) در این زمینه تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه نیز مهم است (West, 2003). با درنظر گرفتن نسبت مناسبی از پروتئین تجزیه‌ناپذیر در شکمبه به پروتئین تجزیه‌پذیر و منابع کربوهیدراتی مناسب، گاوها شیرده پرتویید به بیش از ۶۰۰ تا ۶۵۰ گرم نیتروژن در روز (نژدیک به ۱۶ تا ۱۶/۵ درصد پروتئین خام در ماده خشک جیره غذایی) نیاز ندارند (Huhtanen & Hristov, 2009; Ipharrague & Clark, 2004) برای گاوها شیرده تحت تنش گرمایی با تولید شیر حدود ۳۵ کیلوگرم در روز، جیره‌های حاوی $15/3$ درصد پروتئین برای حفظ تولید شیر کافی دانسته شده است. متیونین همراه با لیزین به عنوان دو آمینواسید محدود کننده در تغذیه گاو شیری شناخته شده‌اند (NRC, 2001). محدودیت آن‌ها به دلیل پایین‌بودن میزان این آمینواسیدها در مواد خوراکی در مقایسه با غلظت آن‌ها در شیر و سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه است. کاهش پروتئین جیره با متیونین محافظت شده از $18/3$ درصد به $17/3$ و $16/1$ درصد موجب افزایش تولید شیر و پروتئین شیر گردید. اما کاهش پروتئین خام به $14/8$ درصد چنین نتیجه‌ای در پی نداشته است (Broderick *et al.*, 2009) کاهش سطح پروتئین همراه با تغذیه متیونین محافظت شده نتایج خوبی را به دنبال داشته است. ازین‌رو، افروزن متیونین محافظت شده ممکن است تغذیه جیره‌هایی با سطوح پایین‌تر پروتئین و حفظ همان سطح از تولید را امکان‌پذیر سازد. با توجه به حجم گستردگی پژوهش‌های انجام‌شده در زمینه تنش گرمایی و تغذیه پروتئین در تنش گرمایی تعدادی از پژوهشگران (Baumgard & Rhoads., 2007) بیان کرده‌اند که پروتئین لازم گاوها شیرده در تنش حرارتی نیاز به مطالعات بیشتری دارد. در بیشتر تحقیقات انجام‌شده در دام‌های تحت تنش گرمایی، شرایط تنش به صورت مصنوعی برای دام‌ها ایجاد شده است. همچنین پژوهشی در زمینه اثر نسبت بهینه آمینواسیدهای لیزین به متیونین همراه

THI، منطقه پژوهش در محدوده تنفس گرمایی متوسط قرار گرفت.

(NRC، محاسبه شد. در این فرمول W درصد رطوبت و درجه حرارت است که براساس دسته‌بندی شاخص

جدول ۱. مواد خوراکی تشکیل‌دهنده جیره‌های آزمایشی (براساس درصد ماده خشک)

مواد خوراکی	سطح پروتئین جیره‌های آزمایشی	سطح پروتئین جیره‌های آزمایشی	سطح پروتئین جیره‌های آزمایشی
ذرت سیلوشده	۲۰	۲۰	۲۰
پونچه خشک	۱۸	۱۸	۱۸
کاه گندم	۰/۷۰	۰/۷۰	۰/۷۰
دانه ذرت آسیاب شده	۱۳	۱۳	۱۳
دانه جو آسیاب شده	۲۰/۲۰	۱۹/۱۵	۱۶/۲
کنجاله سویا	۵	۸	۱۲
کنجاله کلرا	۲/۵۰	۲/۵۰	۲/۵۰
کنجاله تخم پنه	۴	۴	۴
سبوس گندم	۴	۲	۱
پودر ماهی	۲/۶۰	۲/۶۰	۲/۶۰
گلوتون ذرت	۳/۶۰	۳/۶۰	۳/۶۰
پودر چربی	۲	۲	۲
بی کربنات سدیم	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۲۰
کربنات کلسیم	۰/۸۰	۰/۸۰	۰/۸۰
نمک	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳
دی کلسیم فسفات	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۰
اکسید متیزیم	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰
گلایکولاین	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰
مکمل معدنی ویتامینی ۲	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۲
متیونین محافظت شده (میران)	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵

۱. پودر چربی ارجایز حاوی ۹۹ درصد چربی (W/S)

۲. مکمل مینرال و ویتامین: در هر کیلوگرم شامل ۱۹۶ گرم کلسیم، ۵۰۰۰۰ IU ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ IU ویتامین D3، ۱۰۰ میلی گرم ویتامین E، ۹۶ گرم فسفر، ۱۹ گرم متیزیم، ۴۶ میلی گرم مس، ۲۰۰۰ میلی گرم منگنز، ۱۰۰ میلی گرم کیالت، ۳۰۰۰ میلی گرم روی، ۱۰۰ میلی گرم سلنیوم، ۴۰۰ میلی گرم آنتی اکسیدان، مونتیونین سدیم ۲۲۰۰ میلی گرم

جدول ۲. ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی (براساس درصد ماده خشک)

مواد مغذی	جیره	جیره	جیره
ماده خشک ^۱	۵۶/۵۰	۵۶/۵۰	۵۶/۵۰
پروتئین خام (درصد از ماده خشک) ^۱	۱۷/۵۰	۱۸/۵۰	۱۸/۵۰
پروتئین تجزیه ناپذیر در شکمیه (درصد از ماده خشک) ^۱	۳۹	۳۹	۳۹
پروتئین تجزیه پذیر در شکمیه (درصد از پروتئین خام) ^۱	۶۱	۶۱	۶۱
انرژی خالص شیردهی (مگاکالری در کیلوگرم) ^۱	۱/۶۷	۱/۶۷	۱/۶۷
عصاره اتری (درصد از ماده خشک) ^۱	۴/۰	۴/۷۰	۴/۶۰
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد از ماده خشک) ^۱	۲۹	۲۸/۵۰	۲۸/۵۰
کربوهیدرات غیر الیافی (درصد از ماده خشک) ^۱	۴۲/۸۰	۴۲/۷۰	۴۲
متیونین (درصد از پروتئین متاپولیسم پذیر) ^۱	۲/۱۵	۲/۱۵	۲/۱۴
لیزین (درصد از پروتئین متاپولیسم پذیر) ^۱	۶/۳۵	۶/۴۵	۶/۵۰
نسبت لیزین به متیونین ^۱	۲/۹۵	۳	۳
کلسیم (درصد از ماده خشک) ^۱	۰/۸۰	۰/۸۰	۰/۸۰
فسفر (درصد از ماده خشک) ^۱	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵
تعادل کاتیون-آئیون جیره (میلی اکی والان در کیلوگرم ماده خشک) ^۱	۳۰۰	۳۰۰	۲۹۵

۱. مقادیر برآورده شده با NRC (2001)

۲. $(\text{Na}+\text{K})-(\text{S}+\text{Cl})=\text{DCAD}$

جدول ۳. دما و رطوبت محیطی در زمان پژوهش

شهریور	مهر	تیر	ماه	درجة حرارت (درجة سانتی گراد)
۱۸	۲۴/۴۰	۲۳		کمینه
۳۵	۳۹/۱۰	۳۹		بیشینه
۵۴	۱۰۰	۱۰۰		روزهای با دمای بیشینه بالاتر از ۳۲ درجه سانتی گراد (درصد)
۳۳	۱۰۰	۹۵		روزهای با دمای بیشینه بالاتر از ۳۵ درجه سانتی گراد (درصد)
				روطوبت (درصد)
۱۱/۳۰	۹	۱۰		کمینه
۴۸	۴۰	۳۹/۵۰		بیشینه
				شاخص رطوبتی حرارت ^۱ (THI)
۶۱/۵۰	۶۴/۸۰	۶۴/۵۰		کمینه
۱۰۰	۹۷/۳۰	۹۶/۹۰		بیشینه
۸۱	۸۱	۸۰/۷۰		میانگین

$$THI^1 = 0.72(W+D)+40.8$$

جمع آوری نمونه‌ها و رکوردگیری

جیره‌ها به صورت کاملاً محلول (TMR)^۱ و سه بار در روز پس از شیردوشی در اختیار گاوها قرار گرفت و باقی‌مانده خوراک به صورت روزانه از آخر جمع آوری و توزین شد و تفاوت میزان ماده خشک ریخته شده با باقی‌مانده به عنوان ماده خشک مصرفي روزانه ثبت گردید. نمونه‌گیری از خوراک به منظور آنالیز بعدی به صورت هفتگی انجام گرفت. گاوها روزانه سه بار در ساعت‌های ۶، ۱۴، و ۲۲ شیردوشی شدند و شیر تولیدی ثبت گردید. مجموع شیر تولیدی سه نوبت به عنوان شیر روزانه ثبت گردید. نمونه‌گیری از شیر برای تعیین ترکیبات شیر به صورت هفتگی انجام گرفت. ترکیبات شیر با دستگاه میلکواسکن (مدل ۷۸۱۱۰ minor) ساخت شرکت Foss (دانمارک) تعیین شد. بازده نیتروژن برای تولید شیر (با فرض ذخیره‌نشدن و موبليزاسيون نیتروژن بدنی) با تقسیم میانگین نیتروژن شیر تولیدی بر مقدار ۳۰۲۹۶۲۰۰ یم انگین نیتروژن مصرفي برای هر گاو محاسبه گردید.

انرژی با کاهش سطح پروتئین جیره تا ۱۶/۵ درصد باشد. در تحقیق Broderick *et al.* (2003) جایگزینی کنجاله سویا با ذرت و افزایش در مقدار پروتئین خام جیره‌ها، افزایش در ماده خشک مصرفی را در پی داشته است اما در پژوهش حاضر چنین نتیجه‌ای به دست نیامد. برخی محققان (Baumgard & Rhoads, 2007) گزارش کردند که تجزیه‌پذیری پروتئین در شرایط تش گرمایی تأثیری بر خوارک مصرفی ندارد، که با نتایج این مطالعه سازگار است. نتایج این تحقیق با گزارش‌های Arieli *et al.*, 2004 Belibasakis *et al.*, 1995; Cunningham *et al.*, 1996; *et al.*, 2009 (al., 2000; Broderick *et al.*, 2009; Law Chen *et al.*, 1993; Butler, 1998; Bruckental مطابقت نداشت.

تولید و ترکیبات شیر
میانگین تولید شیر خام در گاوهايی که جيره‌های ۱ تا ۳ را دریافت کرده بودند به ترتیب برابر ۳۴/۲۲، ۳۲/۸۰، ۳۲/۲۱ کیلوگرم در روز بود (جدول ۳). گاوهاي تغذیه شده با جيره‌های حاوي ۱۷/۵ و ۱۶/۵ درصد پروتئین در مقایسه با جيره حاوي ۱۸/۵ درصد پروتئین خام تمایل به کاهش در شیر خام تولیدی را نشان دادند (P<۰/۰۷)، اما میانگین تولید شیر تصحیح شده برای ۳/۵ درصد چربی در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد و در گاوهاي تغذیه شده با جيره‌های آزمایشي ۱ تا ۳ به ترتیب ۳۲/۵۸، ۳۱/۷۲، ۳۰/۹۵ کیلوگرم در روز بود (P<۰/۱۷۹). احتمال می‌رود کاهش میزان پروتئین و میزان RUP، کاسته شدن میزان جریان آمینواسیدها به روده کوچک، و پایین‌آمدن میزان پروتئین متابولیسم‌پذیر، باعث کاهش در تولید شیر شده باشد (Cunningham *et al.*, 1996). در تنش گرمایی به علت تلاش برای دفع حرارت از طریق پوست، خون به سطح بدن جریان بیشتری پیدا می‌کند و ورود جریان خون به دستگاه گوارش کم می‌شود که این امر می‌تواند به کاهش حرکات دستگاه گوارش و درنتیجه کم شدن سرعت عبور، افزایش تجزیه بخش عبوری پروتئین، کاهش میزان پروتئین عبوری، و در پایان کاهش میزان پروتئین متابولیسم‌پذیر بیانجامد (Silanikove, 2000)

$$B_k = \text{اثر بلوک} (\text{تعداد زایش})$$

$$A_i = \text{اثر حیوان} (\text{عامل تصادفی})$$

$$(T_i \times P_j) = \text{اثر متقابل تیمار و دوره}$$

$$(T_i \times B_k) = \text{اثر متقابل تیمار و بلوک}$$

$$(B_k \times P_j) = \text{اثر متقابل دوره و بلوک}$$

$$C_f = \text{اثر کوواریت}$$

$$e_{ijkl} = \text{تأثیرات باقی‌مانده}$$

داده‌ها با نرمافزار SAS نسخه ۹/۱ با رویه Mixed تجزیه و تحلیل شدند. برای اندازه‌گیری‌های مکرر از رویه اندازه‌گیری‌های تکرارشده (Repeated measure) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی انجام شد و سطح معنی‌داری $P < 0.05$ و تمایل به معنی‌داری با $P < 0.10$ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

ماده خشک مصرفی

میانگین ماده خشک مصرفی در گاوهايی که با جيره‌های ۱ تا ۳ (به ترتیب حاوي ۱۸/۵، ۱۷/۵، ۱۶/۵ درصد پروتئین خام) تغذیه شدند به ترتیب ۲۰/۶۵، ۲۰/۳۵، ۲۰/۱۵ کیلوگرم در روز بود (جدول ۳) و تجزیه آماری آن معنی‌دار نبود ($P = 0.22$). ماده خشک مصرفی به منظور تأمین نیازهای حیوان برای حفظ سلامت و تولید شیر (بهویژه در اوایل دوره شیردهی) اهمیت زیادی دارد. شورای تحقیقات ملی (NRC, 1981) کاهش ۷ تا ۸ درصدی در مصرف ماده خشک در گاوهاي تحت تنش حرارتی در مقایسه با گاوهاي نگهداری شده در شرایط طبیعی حرارتی را گزارش کرده است. با بررسی ماده خشک مصرفی گاوهاي این پژوهش با مقادیر توصیه شده و برآورده شده شورای تحقیقات ملی (NRC, 2001) برای دامهاي تغذیه شده در شرایط بهینه محیطی، کاهش ۹ درصدی در ماده خشک مصرفی مشاهده گردید. پژوهش‌های اخیر (Rhoads *et al.*, 2009; Shwartz *et al.*, 2009) نشان داد که کاهش ماده خشک مصرفی فقط ۳۵ تا ۵۰ درصد کاهش تولید در هنگام تنش گرمایی را توجیه می‌کند و تنش گرمایی به طور غیر مستقیم با مکانیسم‌های ناشناخته‌ای سبب کاهش تولید می‌شود. تأثیر نداشتن جیره‌های این پژوهش بر ماده خشک مصرفی می‌تواند ناشی از زیان‌شدن تعادل منفی

لازم در حد مناسبی بوده‌اند که این موضوع می‌تواند از دلایل تفاوت نداشتن در میزان و درصد چربی مشاهده شده باشد. شورای تحقیقات ملی (NRC, 2001) عنوان کرد که با افزایش اسیدآمینه‌های رسیده به روده، میزان آرژینین نیز بالا می‌رود. آرژینین پیش‌ساز پرولین شناخته شده است.

پرولین پیش‌ساز برخی از اسیدهای چرب شیر است، این امر می‌تواند از دلایل احتمالی افزایش جزئی در مقدار چربی شیر در تیمار شاهد باشد. در پژوهش حاضر از همان آغاز به‌علت تنفس گرمایی محیط، چربی شیر پایین‌تر از حد طبیعی بوده است. نتایج این تحقیق با نتایج برخی از پژوهشگران (Arieli *et al.*, 2004) مطابقت و با برخی از مطالعات (Olmos *et al.*, 2006) مطالعات نداشت. میانگین چربی شیر (جدول ۳) بر حسب کیلوگرم در روز در گاوها تغذیه شده با جیره‌های ۱ تا ۳ به ترتیب ۱/۱، ۱/۰۸، و ۱/۰۴ کیلوگرم در روز بود ($P=0.31$).

Beede & Collier, 1986؛ Schwab *et al.*, ۱۰/۴ تا ۱۰/۸ درصد از ماده خشک برای بهینه کردن تخمیرات شکمبهای و سنتز پروتئین میکروبی در زمان استفاده از مدل شورای تحقیقات ملی (NRC, 2001) کافی است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. نتایج این مطالعه با گزارشات برخی از محققان (Wu, Z & Satter, 2000; Cunningham *et al.*, 1996; Dinn *et al.*, 1998; Kalscheur *et al.*, 1990 *et al.*, 2003; Olmos *et al.*, 2006) مطابقت نداشت. میانگین درصد چربی شیر گاوها تغذیه شده (جدول ۳) با تیمارهای آزمایشی ۱ تا ۳ به ترتیب ۳/۲۱، ۳/۲۵، ۳/۳۰ درصد بود ($P=0.168$). (Cunningham *et al.*, 1996) با افزایش درصد پروتئین جیره، افزایش در چربی را مشاهده کردند و دلیل آن را افزایش جریان آمینواسیدهای ضروری و غیر ضروری به روده کوچک گزارش کردند که با نتایج این پژوهش مطابقت نبود. جیره‌های این پژوهش از نظر آمینواسیدهای

جدول ۴. نتایج و مقایسه میانگین صفات تولیدی در گاوها تغذیه شده با سطوح گوناگون پروتئین

P-value	SEM	درصد پروتئین			صفت
		۱۶/۵	۱۷/۵	۱۸/۵	
.۰۲۲	.۰/۱۵	۲۰/۱۵	۲۰/۳۵	۲۰/۶۵	ماده خشک مصرفی (کیلوگرم)
.۰۰۷	.۰/۶۱	۳۲/۲۱	۳۲/۸۰	۳۴/۲۲	تولید شیر خام روزانه (کیلوگرم)
.۰۱۷	.۰/۶	۳۰/۹۵	۳۱/۷۲	۳۲/۵۸	تولید شیر تصحیح شده براساس ۳/۵ چربی (کیلوگرم)
.۰۲۲	.۰/۲	۱/۵۳	۱/۵۵	۱/۵۷	بازده غذایی ^۱
.۰۱۶۸	.۰/۵	۳/۲۵	۳/۳	۳/۲۱	چربی شیر (درصد)
.۰۳۱	.۰/۰۳	۱/۰۴	۱/۰۸	۱/۱	چربی شیر (کیلوگرم)
.۰۶۸	.۰/۰۲۲	۳/۰۱	۳/۰۳	۳	پروتئین شیر (درصد)
.۰۱۹	.۰/۰۳	۰/۹۷	۰/۹۹	۱/۰۳	پروتئین شیر (کیلوگرم)
.۰۵۶	.۰/۰۹	۴/۷۶	۴/۷۱	۴/۶۳	لакتوز (درصد)
.۰۰۰۵	.۰/۷	^b ۱۶/۵۱	^b ۱۷/۹۴	^a ۱۹/۹۷	نیتروژن اورمای شیر (میلی گرم در دسی لیتر)
.۰۰۰۸	.۰/۴۵	^a ۲۸/۹۰	^b ۲۷/۸۰	^c ۲۶/۹۸	بازده نیتروژن برای تولید شیر (درصد)

۱. تولید شیر تصحیح شده براساس ۳/۵ درصد چربی به‌ازای یک کیلوگرم ماده خشک مصرفی

۲. a, b, c. حروف غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است ($P<0.05$).

۳. SEM = خطای استاندارد میانگین‌ها

بتوانند بهترین پروفیل آمینواسیدی را در روده فراهم کنند، بهترین پاسخ را از نظر پروتئین شیر خواهد داد. در عین حال جدا کردن تأثیرات پروتئین و انرژی مشکل است زیرا پروتئین ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم را بالا می‌برد (Broderick *et al.*, 2003). Collier, 1985) بهبود در تولید چربی و پروتئین را با افزایش میزان پروتئین خام از ۱۵/۱ به ۱۶/۷ درصد گزارش کردند. اما این افزایش در جیره حاوی ۱۸/۵ درصد پروتئین خام

میانگین درصد پروتئین شیر در تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۳، ۳/۰۳، و ۳/۰۱ درصد بود (جدول ۳). اثر کاهش پروتئین جیره بر میانگین درصد پروتئین شیر از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P=0.68$). ولی در کل میزان پروتئین شیر از میانگین درصد پروتئین شیر گاوها هلشتاین پایین‌تر بود که می‌تواند به تأثیرات فصل ربط داشته باشد (West, 1999). منابع پروتئین تجزیه‌ناپذیر در شکمبه که تکمیل‌کننده پروتئین میکروبی باشند و

شکمبه باعث افزایش در غلظت اوره در پلاسمما یا شیر و دفع اضافی آن از طریق ادرار و شیر می‌شود. این وضعیت نشانگر دفع نیتروژن و استفاده نامؤثر از پروتئین مصرف شده است. اوره معرف متابولیکی از تلفشدن نیتروژن است و غلظت‌های نیتروژن اوره‌ای خون و شیر متابولیسم پروتئین را در گاو نشان می‌دهند. غلظت‌های بالای اوره در مایعات بدن گاوهای شیرده، بازده متابولیک تولید شیر را کم می‌کند و تأثیرات منفی بر (Baker *et al.*, 1995) تولیدمثل، سلامت دام، و محیط زیست دارد. منبع اوره در بدن دام از دو محل است. قسمتی از آمونیاک تولیدشده در شکمبه، که میکروارگانیسم‌های شکمبه آن را مصرف نکرده‌اند و از طریق انتشار از شکمبه وارد خون بابی می‌شود. کبد، آمونیاک واردشده به خون را با تبدیل کردن به اوره سمزدایی می‌کند. مقدار آمونیاک تولیدشده در شکمبه و مقداری که جذب خون شده است و سمزدایی می‌گردد، به طور مستقیم، وجود پروتئین تجزیه‌پذیر در جیره و کربوهیدرات‌های تخمیرشدنی برای پشتیبانی از رشد میکروبی و سنتز پروتئین میکروبی را نشان می‌دهند (Butler, 1998). منبع دوم اوره که بهوسیله کبد تولید می‌شود حاصل آمینه‌نشدن و متابولیسم آمینواسیدها است. آمینواسیدهایی مثل گلوتامین و آرژینین، انتقال‌دهندهای مهم بین ارگانی نیتروژن آمونیاکی به‌شكل غیر سمی آن هستند. این آمینواسیدها و دیگر آمینواسیدهایی که برای سنتز پروتئین شیر یا ذخیره‌شدن در جای دیگر بدن استفاده نمی‌شوند، بهوسیله کبد برای تولید پیش‌سازهای انرژی و اوره، بدون آمینه می‌شوند. در پژوهش (Olmos *et al.*, 2006) زمانی که پروتئین جیره از ۱۳/۵ درصد تا ۱۹/۴ درصد تغییر یافت میزان BUN و MUN از مقدار ۱۰/۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر تا ۲۴ میلی‌گرم در دسی‌لیتر برای MUN نوسان نشان داد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در تحقیق حاضر مقدار نیتروژن اوره‌ای به‌طور معنی‌داری با کاهش میزان پروتئین خام کاهش یافت.

در شرایط تنش گرمایی به‌علت کاهش حرکات دستگاه گوارش و سرعت عبور، میکروارگانیسم‌های

مشاهده نگردید، که با نتایج این پژوهش هم‌سو بود. میانگین مقدار پروتئین شیر (جدول ۴) بر حسب کیلوگرم در روز در گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های ۱ تا ۳ به‌ترتیب برابر با ۱/۰۳، ۰/۹۹، و ۰/۹۷ کیلوگرم در روز بود ($P=0/19$).

فراسنجه‌های پلاسمما

میانگین غلظت پلاسمایی گلوکز در تیمارهای ۱ تا ۳ به‌ترتیب ۵/۹۷، ۵/۷/۱۳، و ۵/۴/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود ($P=0/72$). مهم‌ترین پیش‌ماده برای سنتز گلوکز در مسیر گلوکونوئنز در نشخوارکنندگان، پروپیونات Dinn *et al.* (1998) با افزایش سطح پروتئین خام جیره از میزان گلوکز خون کاسته شد که با نتایج تحقیق ما هم‌سو بود. در پژوهش Arieli *et al.* (2004) نیز افزایش در میزان پروتئین در شرایط تنش گرمایی اثری بر گلوکز خون نداشته است. به‌طورکلی، غلظت گلوکز معمولاً به مقدار زیادی تحت تأثیر تغییرات جیره قرار نمی‌گیرد (NRC, 2001). میانگین غلظت پروتئین کل پلاسمای گاوهای تیمارهای ۱ تا ۳ به‌ترتیب ۷/۴۲، ۷/۹۸، و ۷/۹۹ گرم در دسی‌لیتر بود (جدول ۴). میانگین غلظت آلبومین پلاسمایی تیمارهای ۱ تا ۳ به‌ترتیب ۴/۵۶، ۴/۰۴، و ۴/۹ گرم در دسی‌لیتر بود (جدول ۴) ($P=0/31$). آلبومین پلاسمما مهم‌ترین منبع تأمین کننده آمینواسیدهای در زمان محدودیت ایجادشده با جیره غذایی است (Moorby *et al.*, 2002). نوسانات درصد پروتئین شیر تحت تأثیر دو عامل (پروتئین کل و آلبومین) و بهویژه پروتئین کل است. نیتروژن اوره‌ای شیر (MUN) در بین تیمارهای ۱ تا ۳ به‌ترتیب برابر با ۱۷/۹۴، ۱۹/۹۷، و ۱۶/۵۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود (جدول ۳) ($P=0/005$). غلظت نیتروژن اوره‌ای خون (BUN) و شیر تابعی از درصد پروتئین خام، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین خام مصرفی، انرژی مصرفی، و زمان نمونه‌گیری در مقایسه با زمان خوارکدهی است (NRC, 2001). غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر با غلظت نیتروژن اوره‌ای پلاسمما همبستگی بالایی دارد و اوره قسمت بزرگی از نیتروژن غیر پروتئینی را در شیر تشکیل می‌دهد (Baker *et al.*, 1995). افزایش نیتروژن عرضه‌شده به شکمبه یا به بافت‌های پس از

است. میانگین غلظت اسیدهای چرب غیر استریفیه خون (NEFA) در تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۰/۶۱۰، ۰/۵۰۹ و ۰/۵۲۸ میلیمول در لیتر بود (جدول ۵). غلظت اسیدهای چرب غیر استریفیه پلاسمای بیانگر سرعت آزادشدن آنها از بافت چربی است (Shwartz *et al.*, 2009; Pullen *et al.*, 1989). گزارش کردند که پروفیل خونی حیوانات تحت تنفس گرمایی با حیواناتی که زیر حد استاندارد تغذیه می‌شوند، بهشت متفاوت است و سطح NEFA خون آنها با سطح پیش از تنفس گرمایی تفاوتی ندارد، در حالی که ماده خشک مصرفی آنها کاهش یافته است. به تازگی ثابت شده است حتی با وجود کاهش ماده خشک مصرفی در گاوها تحت تنفس گرمایی و توازن منفی انرژی، سطوح NEFA خون افزایش نمی‌یابد (Wheelock *et al.*, 2010; Rhoads *et al.*, 2009;

شکمبهای سهم بیشتری از پروتئین جیره را تجزیه می‌کنند. در این مطالعه با کاهش پروتئین خام از سهم RDP و RUP نیز کاسته شد. نتایج نشان می‌دهد که در جیره‌های با پروتئین بالاتر، افزایش میزان RDP به طور معنی‌داری باعث افزایش BUN شده است. در برخی از (Davidson *et al.*, 2003; Broderick *et al.*, 2005) پژوهش‌ها ۲۰۰۸ گزارش شده است که نیتروژن اورهای شیر شاخص خوبی از وضعیت استفاده از پروتئین در تغذیه گاو شیری است. نیتروژن ترشح شده در شیر از شاخص‌های بازده استفاده از نیتروژن مصرفی است (Schwab *et al.*, 2005).

در مطالعه Abdi Benmar *et al.* (2011) نیز کاهش سطح پروتئین از ۱۷/۵ به ۱۶/۵ درصد و اضافه کردن متیونین محافظت شده، کاهش نیتروژن اورهای شیر، و بهبود بازده نیتروژن برای تولید شیر را به دنبال داشته

جدول ۵. مقایسه میانگین فرانسجه‌های خونی، تغییرات وزن، و امتیاز بدنی با سطوح گوناگون پروتئین

P-value	SEM	درصد پروتئین			صفت
		۱۶/۵	۱۷/۵	۱۸/۵	
۰/۷۲	۲/۳	۵۴/۵	۵۷/۱۳	۵۹/۹۷	گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۴۸	۰/۳	۷/۹۹	۷/۹۸	۷/۴۲	پروتئین کل (گرم در دسی لیتر)
۰/۳۱	۰/۲۲	۴/۹	۵/۰۴	۴/۵۶	الیومین (گرم در دسی لیتر)
۰/۳۴	۰/۰۴۷	۰/۵۲۸	۰/۵۰۹	۰/۶۱۰	NEFA (میلی مول در لیتر)
۰/۷۱	۰/۰۳۹	۰/۵۰۳	۰/۴۶۵	۰/۵۰۰	BHBA (میلی مول در لیتر)
۰/۸۵	۰/۰۶۵	۰/۱۸	۰/۱۰	۰/۱۱	تغییرات وزن بدن (کیلوگرم در روز)
۰/۵۷	۰/۰۳۸	۰/۰۹	۰/۱۱	۰/۱۵	تغییر امتیاز شرایط بدنی (طی دوره آزمایشی)
۰/۲۷	۰/۰۹	۳۹/۳	۳۹/۴	۳۹/۴۵	دمای راستروده (سانتی گراد)
۰/۱۵	۰/۰۷	۳۸/۹	۳۸/۷	۳۸/۹	ساعت ۱۵
۰/۳۸	۱/۸	۷۹	۸۳	۸۱/۱	ساعت ۷ صبح
۰/۸	۱/۳	۶۴/۶۶	۶۵/۰۵	۶۶/۱۶	تعداد تنفس (در دقیقه)
حروف غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است ($P < 0/05$)					
SEM = خطای استاندارد میانگین‌ها					

نیتروژن برای تولید شیر در گاوها تغذیه شده از جیره‌های ۱ تا ۳ به ترتیب برابر ۲۶/۹، ۲۷/۸، و ۲۸/۹ بود (جدول ۳). تجزیه واریانس داده‌ها اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها نشان داد ($P = 0/008$). افزایش بازده نیتروژن برای تولید پروتئین شیر که در پژوهش حاضر مشاهده گردید با نتایج گزارش شده از طرف برخی از پژوهشگران (Dinn *et al.*, 1998; Arieli *et al.*, 2004; Broderick *et al.*, 2009; Abdi Benmar *et al.*, 2011) هم‌سویی داشت. بهبود در بازده نیتروژن به منظور تولید شیر در جیره‌ها با کاهش سطح پروتئین جیره دیده شد.

میانگین غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات (BHBA) در تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۰/۴۶۵، ۰/۵۰۰، و ۰/۵۰۳ میلی مول در لیتر بود ($P = 0/71$). افزایش در میزان BHBA در پی آزادشدن ذخایر چربی بدن و افزایش سوخت‌وساز ناقص اسیدهای چرب غیر استریفیه در کبد است. این وضعیت در زمان کاهش خوراک مصرفی و میزان گلوکز تولیدی کبد رخ می‌دهد (Drackley 2001) et al., با توجه به غیر معنی‌داری گلوکز و NEFA و تغییرات نمره بدنی در این پژوهش انتظار می‌رود که غلظت BHBA تفاوت معنی‌داری نداشته باشد. بازده

صفت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ($P=0.27$). دمای راستروده در تیمارهای این پژوهش بالاتر از دمای طبیعی بدن بود که نشان دهنده شرایط تنفس گرمایی برای دامها بود. میانگین تعداد تنفس در ساعت ۱۵ برای گاوهایی که از جیره‌های ۱ تا ۳ غذایی شده بودند به ترتیب برابر $81/10$, $83/8$, $79/79$ بار تنفس در دقیقه بود ($P=0.38$). میزان تنفس در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد ولی از میزان عادی تنفس در حرارت معمولی محیط، بالاتر بود که ناشی از وجود شرایط تنفس گرمایی برای دامها بود.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد جیره غذایی $16/5$ درصد پروتئین خام دارای بازده نیتروژن بهتر و نیتروژن اورهای شیر پایین‌تری در مقایسه با جیره‌های با سطوح بالاتر پروتئین بود. با توجه به نتایج این پژوهش در زمان کاهش ماده خشک مصرفی در تنفس گرمایی، برخلاف برخی از توصیه‌های رایج، نیازی به افزایش در سطح پروتئین خام نیست. کاهش سطح پروتئین خام جیره غذایی همراه با نسبت بهینه در آمینواسیدهای محدود‌کننده در شرایط تنفس گرمایی ملایم تا متوسط می‌تواند در حفظ تولید، کاهش هزینه‌های تولیدی واحدهای پرورش گاو شیری، و کاهش خطرات زیستمحیطی ناشی از دفع نیتروژن اضافی به محیط، در تابستان سودمند باشد.

تیمار ۳ با سطح پروتئین $16/5$ درصد دارای بهترین بازده بود که بعد از کاهش میزان پروتئین مصرفی بود.

تغییرات وزن بدن و امتیاز وضعیت بدنی
تغییرات وزن تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب $0/11$, $0/10$, و $0/08$ کیلوگرم در روز بود (جدول ۴). پیشنهاد شده است که میزان موبیلیزاسیون بافتی بدن بستگی به et al. سطح تولید و امتیاز بدنی در پس از زایش دارد. Kalscheur (1990) با افزایش سطح پروتئین $15/4$ و $17/4$ درصد، بیشترین افزایش وزن روزانه را در جیره حاوی $17/4$ درصد مشاهده کردند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. تغییرات امتیاز وضعیت بدنی تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب $0/15$, $0/11$, و $0/09$ بود (جدول ۴). جیره‌های با RUP بالاتر، ممکن است از موبیلیزاسیون ذخایر بدن جلوگیری کند (Komaragiri et al., 1997). داده‌های موجود تغییرات نمره وضعیت بدنی بسیار محدود است، در عین حال ارتباط خوبی بین تغییرات وزن و وضعیت بدنی در آزمایش‌ها وجود ندارد. بسیاری از عوامل دیگر نیز به غیر از خوراندن در ازدست‌دادن وزن بدن نیز دخیل هستند (Chilliard, 1993). میانگین دمای راستروده در ساعت ۱۵ برای گاوهایی که از جیره‌های ۱ تا ۳ استفاده کرده بودند به ترتیب برابر $39/45$, $39/4$, و $39/3$ درجه سانتی‌گراد بود. تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این

REFERENCES

1. Abdi Benmar, H., Rezayazdi, K. & Dehghan Banadaki, M. (2011). Effect of supplementation of different Level protein diets with rumen protected methionine and lysine on performance and ruminal parameters of Holstein dairy cows in early lactation. *Iranian Journal of Animal sciences*, 42, 221-230 (in farsi)
2. Arieli, A., Adin, G. & Bruckental, I. (2004). The Effect of Protein Intake on Performance of Cows in Hot Environmental Temperatures. *J. Dairy Sci*, 87, 620–629.
3. Armstrong, D. V. (1994). Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci*, 77, 2044–2050
4. Baker, L. D., Ferguson, J. D. & chalupa, W. (1995). Responses in urea and true protein of milk to different protein feeding schemes for dairy cows. *J. Dairy Sci*, 78, 2424–2434.
5. Baumgard, L. H. & Rhoads, R. P. (2007). The effects of heat stress on nutritional and management decisions. Proceeding of annual Western Dairy Management Conference. pp, 191–202.
6. Beede, D. K. & Collier, R. J. (1986). Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *J. Anim. Sci*, 62, 543–554.
7. Belibasakis, N. G., Ambatzidis, P., Aktsalis, P. & Tsirgogianni, D. (1995). Effects of degradability of dietary protein on milk production and blood components of dairy cows in hot weather. *World Rev. Anim. Prod*, 30, 21–26.
8. Broderick, G. A. (2003). Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 1370–1381.

9. Broderick, G. A., Stevenson, M. J. & Patton, R. A. (2009). Effect of dietary protein concentration and degradability on response to rumen-protected methionine in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 92, 2719–2728.
10. Bruckental, I., Holtzman, M., Kaim, M., Aharoni, Y., Zamwell, S., Voet, H. & Arieli, A. (2000). Effect of undegradable crude protein in the diets of hight – yielding dairy cows on energy balance and reproduction . *Livest. prod. Sci*, 63, 131–140.
11. Butler, W. R. (1998). Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci*, 81, 2533–2539.
12. Chen, K. H., Huber, J. T., Armsrong, R. C. & Sullivan, J. L. (1993). Effect of protein quality and evaporative cooling on lactational performance of Holstein cows in hot weather. *J. Dairy Sci*, 76, 819–825.
13. Chilliard, Y. (1993). Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, & rodent: a review. *J. Dairy Sci*, 76, 3897–3931.
14. Collier, R. J & Beede, D. K. (1985). Thermal Stress as a Factor Associated with Nutrient Requirements and Interrelationships. In Nutrition of Grazing Ruminants. (Ed) by L.McDowell. Academic Press, New York, NY, 59–71.
15. Cunningham, K. D., Cecava, J., Johnson. & Ludden, P. A. (1996). Influence of source and amount of dietary protein for milk yield by cows in early lactation. *J. Dairy sci*, 79, 620–630.
16. Davidson, S., Hopkins, B. A., Diaz, D. E., Bolt, S. M., Brownie, C., Fellner, V., Whitlow, L. W. (2003). Effects of amount and degradability of dietary protein on lactation, nitrogen utilization . and excretion in early lactation Holstein cows. *J. Dairy Sci*, 86, 1681–1689.
17. Dinn, N.E., Shelford, J.A. & Fisher, L. J. (1998). Use of the cornell net carbohydrate and protein system and rumen-protected lysine and methionine to reduce nitrogen excretion from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 81, 229–237.
18. Drackley, J. K., Overton, T. R. & Douglas, G. N. (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.
19. Higginbotham, G. E., Torabi, M. & Huber, J. T. (1989). Influence of dietary protein concentration and degradability on performance of lactating cows during hot environmental temperatures. *J. Dairy Sci*, 72, 2554–2564.
20. Huhtanen, P. & Hristov, A. N.(2009). A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows. *J. Dairy Sci*, 92, 3222–3232.
21. Ipharraguerre, I. R. & Clark, J. H. (2005). Varying protein and starch in the diet of dairy cows. II. effects on performance and nitrogen utilization for milk production. *J. Dairy Sci*, 88, 2556–2570.
22. Kadzere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, N. & Maltz, E. (2002). Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Prod. Sci*, 77, 59–91.
23. Kalscheur, K. F., Vandersall, J. H., Erdman, R. A. & Russek, E. (1990). Effect of dietary crude protein concentration and degradability on milk production responses of early, mild and late lactation dairy cows. *J. Dairy sci*, 82, 545–554.
24. Komaragiri, M. V. S. & Erdman, R. A. (1997). Factors affecting body tissue mobilization.1. effect of dietary protein on mobilization of body fat and protein. *J. Dairy sci*, 80, 929–937.
25. Law, R. A., Young, F. J., Patterson, D. C., Kilpatrick, D. J., Wylie, A. R. G. & Mayne, C. S. (2009). Effect of dietary protein content on animal production and blood metabolites of dairy cows during lactation. (2009). *J. Dairy Sci*, 92, 1001–1012.
26. Moorby, J. M., Dewhurst, R. J., Evans, R. T. & Fisher, W. J. (2002). Effects of level of concentrate feeding during the second gestation of Holstein-Friesian dairy cows. 2. Nitrogen balance and plasma metabolites. *J. Dairy Sci*, 85, 178–189.
27. National Research Council. (1981). *Effect of Environment on Nutrient Requirement of Domestic Animals*. National Academy Press. Washington, DC.
28. National Research Council. (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, (7th rev. ed.). Nat. Acad. Press, Washington, DC.
29. Nayeri, A., Upah, N. C., Sucu, E., Pearce, S. C., Fernandez, M. V., Rhoads, R. P. & Baumgard, L. H. (2011). Potential nutritional strategies to mitigate the negative effects of heat stress, In: Proceeding of *Four-State Dairy Nutrition and Management Conference*, pp, 128–133.
30. Olmos Colmenero, J. J. & Broderick, G. A. (2006). Effect of Dietary Crude Protein Concentration on Milk Production and Nitrogen Utilization in Lactating Dairy Cows . *J. Dairy Sci*, 89, 1704–1712.
31. Pullen, D. L., Palmquist, D. L. & Emery, R. S. (1989). Effect of days of lactation and methionine hydroxy analog on incorporation of plasma fatty acids into plasma triglycerides. *J. Dairy Sci*, 72, 49–58.

32. Rhoads, M. L., Rhoads, R. P., VanBaale, M. J., Collier, R. J., Sanders, S. R., Weber, Crooker, W. J. & Baumgard, L. H. (2009). Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *J. Dairy Sci.*, 92, 1986–1997.
33. Schwab, C. G., Hahtanen, P., Hunt, C. W. & Hvelplund, T. (2005). Nitrogen Requirement of cattle.In:E. Pfeffer and A. Hristov, (Eds.). *Nitrogen and Phosphorus nutrition of cattle*. CABI Publishing.
34. Shwartz, G., Rhoads, M. L., VanBaale, M. J., Rhoads, R. P. & Baumgard, L. H. (2009). Effects of a supplemental yeast culture on heat stressed lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 92, 935–942.
35. Silanikove, N. (2000). Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest. Prod.Sci.*, 67, 1–18
36. West, J. W. (1999). Nutritional strategies for managing the heat-tressed dairy cow. *J.Anim. Sci.vol.77 Suppl.2/J.Dairy Sci.*, 82, 1.2/1999.21–53.
37. West, J.W. (2003). Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 86, 2131-2144.
38. Wheelock , J. B., Rhoads, R. P., VanBaale, M. J., Sanders, S. R. & Baumgard, L. H. (2010). Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows . *J. Dairy Sci.*, 93, 644–655.
39. Wildman, E. E., Jones, G. M.,Wagner, P. E., Bowman, R. L., Troutt, H. F.& Lesch, T. N. (1982). A dairy cow body condition scoring system and relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.*, 65, 495–501.
40. Wu, Z & Satter, L. D. (2000). Milk production during the complete lactation of dairy cows fed diets containing different amount of protein. *J. Dairy Sci.*, 83, 1043–1051.