

اثر کاهش پروتئین جیره غذایی بر عملکرد تولیدی و فراسنجه‌های خونی گاوهای شیرده هلشتاین در تنش گرمایی

وحید غلامی^۱ و حمید امانلو^{۲*}

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 گاوهای شیرده هلشتاین در تنش 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، و 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 محافظت‌شده، در حدود ۳ به ۱ بود. نتایج نشان داد که ماده خشک مصرفی شیر تصحیح‌شده 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 مقادیر توصیه‌شده شورای تحقیقات ملی (NRC, 2001) و تأمین نسبت بهینه در آمینواسیدهای محدودکننده در شرایط تنش گرمایی می‌تواند در حفظ تولید، بهبود بازده نیتروژن، کاهش هزینه‌های تولیدی، و کاهش خطرات زیست‌محیطی ناشی از دفع نیتروژن اضافی به محیط در گاوهای تحت تنش گرمایی، سودمند باشد.

واژه های کلیدی: بازده نیتروژن، پروتئین خام، تنش گرمایی، نیتروژن اوره‌ای شیر.

مقدمه

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 تنش گرمایی همواره به‌عنوان چالشی در تغذیه گاو شیری مطرح بوده است (Nayeri *et al.*, 2011). در هنگام تغذیه گاوها در شرایط تنش 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

گاوهای شیرده به‌دلیل ماده خشک مصرفی بالا، تولید حرارت همراه با تولید شیر، و حرارت افزایشی زیاد به تنش گرمایی در تابستان حساس هستند (Armstrong *et al.*, 2010). تنش گرمایی در تابستان حساس هستند (Kadzere *et al.*, 2002; Wheelock *et al.*, 2002). تنش گرمایی با ارزیابی شاخص حرارتی-رطوبتی (THI)^۱ محاسبه می‌شود و بالاتر از عدد ۷۲ محدوده تنش گرمایی شمرده می‌شود. بر این اساس THI کمتر از ۷۲ وجودنداشتن تنش، ۷۲ تا ۷۹ تنش گرمایی خفیف، ۸۰ تا ۸۹ تنش گرمایی متوسط، و ۹۰ تا ۹۹ تنش گرمایی شدید به‌شمار می‌آید (Armstrong, 1994). در تنش گرمایی، خوراک

1. Temperature Humidity Index

با کاهش سطح پروتئین خام در گاوهای تحت تنش گرمایی انجام نگرفته است. از این رو 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 گاوهای 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 آبشخور بودند، تغذیه شدند. جیره‌های آزمایشی با نرم‌افزار جیره‌نویسی شورای تحقیقات ملی (NRC, 2001) تنظیم گردیدند. هر سه جیره ایزوانرژتیک ولی از نظر سطح پروتئین خام متفاوت بودند. گاوها به صورت تصادفی به یکی از سه جیره آزمایشی حاوی $18/5$ ، $17/5$ ، و $16/5$ درصد پروتئین خام اختصاص یافتند.

نسبت پروتئین تجزیه‌ناپذیر (RUP) به پروتئین تجزیه‌پذیر در شکمبه (RDP) در کلیه تیمارها برابر با ۳۹ به ۶۱ درصد تنظیم گردید. نسبت بهینه آمینواسیدهای ضروری لیزین به متیونین با استفاده از متیونین محافظت‌شده (Evonik Degussa GmbH, Germany) 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 $80/7$ ، 81 ، و 81 برآورد گردید (جدول ۳). میانگین THI با فرمول $THI = 0.72(W+D) + 40.8$ (1971)

خواهد شد، درحالی‌که 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 در نظر گرفتن نسبت مناسبی از پروتئین تجزیه‌ناپذیر در شکمبه به پروتئین تجزیه‌پذیر و منابع کربوهیدراتی مناسب، گاوهای شیرده پر تولید به بیش از ۶۰۰ تا ۶۵۰ گرم نیتروژن در روز (نزدیک به ۱۶ تا ۱۶/۵ درصد پروتئین خام در ماده خشک جیره غذایی) نیاز دارند (2005; Huhtanen & Hristov, 2009; Ipharraguerre & Clark, 2004). در پژوهشی (Arieli *et al.*, 2004) برای گاوهای 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 محدودکننده در تغذیه گاو شیری شناخته شده‌اند (NRC, 2001). محدودیت آن‌ها به دلیل پایین بودن 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 محافظت‌شده 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). در تحقیق Abdi Benmar *et al.*, (2011) کاهش سطح پروتئین همراه با تغذیه متیونین محافظت‌شده نتایج خوبی را به دنبال داشته است. از این رو، افزودن متیونین محافظت‌شده ممکن است تغذیه جیره‌هایی با سطوح پایین‌تر پروتئین و حفظ همان سطح از تولید را امکان‌پذیر سازد. با توجه به حجم گسترده پژوهش‌های انجام‌شده در زمینه تنش گرمایی و تغذیه پروتئین در تنش گرمایی تعدادی از پژوهشگران (2007 Baumgard & Rhoads,.) بیان کردند که پروتئین لازم گاوهای 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

(NRC, محاسبه شد. در این فرمول W درصد رطوبت و THI, منطقه پژوهش در محدوده تنش گرمایی متوسط درجه حرارت است که براساس دسته‌بندی شاخص قرار گرفت.

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

سطح پروتئین جیره‌های آزمایشی			مواد خوراکی
۱۶/۵۰	۱۷/۵۰	۱۸/۵۰	
۲۰	۲۰	۲۰	ذرت سیلوشده
۱۸	۱۸	۱۸	یونجه خشک
۰/۷۰	۰/۷۰	۰/۷۰	کاه گندم
۱۳	۱۳	۱۳	دانه ذرت آسیاب شده
۲۰/۲۰	۱۹/۱۵	۱۶/۲	دانه جو آسیاب شده
۵	۸	۱۲	کنجاله سویا
۲/۵۰	۲/۵۰	۲/۵۰	کنجاله کلزا
۴	۴	۴	کنجاله تخم پنه
۴	۲	۱	سبوس گندم
۲/۶۰	۲/۶۰	۲/۶۰	پودر ماهی
۳/۶۰	۳/۶۰	۳/۶۰	گلوتن ذرت
۲	۲	۲	پودر چربی ^۱
۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۲۰	بی‌کربنات سدیم
۰/۸۰	۰/۸۰	۰/۸۰	کربنات کلسیم
۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳	نمک
۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۰	دی‌کلسیم فسفات
۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	اکسید منیزیم
۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	گلایکولین
۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۲	مکمل معدنی ویتامینی ^۲
۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	متیونین محافظت شده (مپران)

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

۲. مکمل مینرال و ویتامینه: در هر کیلوگرم شامل ۱۹۶ گرم کلسیم، ۵۰۰۰۰۰ IU ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ IU ویتامین D3، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۹۶ گرم فسفر، ۱۹ گرم منیزیم، ۴۶ گرم سدیم، ۳۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۲۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۳۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ۱ میلی‌گرم سلنیوم، ۴۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان، مونسین سدیم ۲۲۰۰ میلی‌گرم

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

جیره			مواد مغذی
۳	۲	۱	
۵۶/۵۰	۵۶/۵۰	۵۶/۵۰	ماده خشک ^۱
۱۶/۵۰	۱۷/۵۰	۱۸/۵۰	پروتئین خام (درصد از ماده خشک) ^۱
۳۹	۳۹	۳۹	پروتئین تجزیه‌ناپذیر در شکمبه (درصد از پروتئین خام) ^۱
۶۱	۶۱	۶۱	پروتئین تجزیه‌پذیر در شکمبه (درصد از پروتئین خام) ^۱
۱/۶۷	۱/۶۷	۱/۶۷	انرژی خالص شیردهی (مگا کالری در کیلوگرم) ^۱
۴/۶۰	۴/۷۰	۴/۶۰	عصاره اتری (درصد از ماده خشک) ^۱
۲۹	۲۸/۵۰	۲۸/۵۰	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد از ماده خشک) ^۱
۴۲/۸۰	۴۲/۷۰	۴۲	کربوهیدرات غیر الیافی (درصد از ماده خشک) ^۱
۲/۱۵	۲/۱۵	۲/۱۴	متیونین (درصد از پروتئین متابولیسم‌پذیر) ^۱
۶/۳۵	۶/۴۵	۶/۵۰	لیزین (درصد از پروتئین متابولیسم‌پذیر) ^۱
۲/۹۵	۳	۳	نسبت لیزین به متیونین ^۱
۰/۸۰	۰/۸۰	۰/۸۰	کلسیم (درصد از ماده خشک) ^۱
۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	فسفر (درصد از ماده خشک) ^۱
۳۰۰	۳۰۰	۲۹۵	تعادل کاتیون-آنیون جیره (میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم ماده خشک) ^۲

۱. مقادیر برآورد شده با NRC (2001)

۲. $(Na+K)-(S+Cl)=DCAD$

جدول ۳. دما و رطوبت محیطی در زمان پژوهش

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

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

جمع‌آوری نمونه‌ها و رکوردگیری

جیره‌ها به صورت کاملاً مخلوط (TMR)^۱ و سه بار در روز پس از شیردوشی در اختیار گاوها قرار گرفت و باقی‌مانده خوراک به صورت روزانه از آخور جمع‌آوری و توزین شد و تفاوت میزان ماده خشک ریخته شده با باقی‌مانده به عنوان ماده خشک مصرفی 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 میکرواسکن (مدل ۷۸۱۱۰ minor، ساخت شرکت Foss دانمارک) تعیین شد. بازده نیتروژن برای تولید شیر (با فرض ذخیره‌نشدن و موبیلیزاسیون نیتروژن بدنی) با تقسیم میانگین نیتروژن شیر تولیدی بر میانگین نیتروژن مصرفی برای هر گاو محاسبه گردید. در آغاز و پایان پژوهش، گاوها به منظور اندازه‌گیری تغییرات وزن بدن، با باسکول الکترونیکی وزن‌کشی شدند. وزن‌کشی پس از شیردوشی صبح و پیش از خوراک‌دهی آن روز انجام شد. در آغاز و پایان آزمایش، امتیاز وضعیت بدنی گاوها با سیستم ۵ امتیازی (Wildman *et al.*, 1982) را سه کاشناس مجرب انجام دادند و امتیازهای داده شده میانگین‌گیری شد و میانگین به دست آمده در تجزیه آماری استفاده شد. به منظور تعیین فراسنجه‌های خونی در هفته آغاز و پایان آزمایش

۴ تا ۶ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح با لوله‌های خلاء هپارین‌دار خونگیری از ورید دمی انجام گرفت. نمونه‌های خون در آزمایشگاه با دستگاه سانتریفیوژ (-101-Sigma Germany) با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلاسما حاصل برای تعیین متابولیت‌های خون از قبیل آل‌بومین، پروتئین کل، گلوکز، نیتروژن اوره‌ای خون، و هورمون‌های تیروئیدی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز شدند و با دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin-Elmwr-35) با کیت‌های شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری اسیدهای چرب غیر استریفیه خون (NEFA)، با کیت رندوکس) و بتا‌هیدروکسی بوتیرات (BHBA)، با کیت رندوکس) در آزمایشگاه دامپزشکی مینا انجام پذیرفت. دمای محیط و رطوبت نسبی از نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی منطقه به صورت روزانه دریافت گردید. تعداد تنفس و دمای راست روده‌ای به صورت سه بار در هفته از ۱۲ رأس از گاوهای هر تیمار در دو نوبت در روز و ساعت یکسان (ساعت ۷ صبح و ساعت ۱۵) اندازه‌گیری و ثبت شد. طرح آزمایشی استفاده شده در این تحقیق، طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی بود. مدل آماری آن به صورت رابطه ۱ است:

(رابطه ۱)

$$Y=\mu+T_i+P_j+B_k+A_l+(T_i \times P_j)+(T_i \times B_k)+(B_k \times P_j)+C_l+e_{ijkl}$$

Y=مقدار هر مشاهده

μ =میانگین

T_i = اثر تیمار (سطح پروتئین خام)

P_j = اثر دوره (دوره نمونه‌گیری)

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 کرده‌اند که تجزیه پذیری پروتئین در شرایط تنش گرمایی تأثیری بر خوراک مصرفی ندارد، که با نتایج این مطالعه سازگار است. نتایج این تحقیق با گزارش‌های برخی از پژوهشگران (Arieli *et al.*, 2004; Belibasakis *et al.*, 1995; Cunningham *et al.*, 1996; *et al.*, 2009) موافق بود و با نتایج برخی از محققان (al., *et al.*, 2000; Broderick *et al.*, 2009; Law *et al.*, 1993; Butler, 1998; Bruckental *et al.*, 2000) مطابقت نداشت.

تولید و ترکیبات شیر

میانگین تولید شیر خام در گاوهایی که جیره‌های ۱ تا ۳ را دریافت کرده بودند به ترتیب برابر ۳۴/۲۲، ۳۲/۸۰ و ۳۲/۲۱ کیلوگرم در روز بود (جدول ۳). گاوهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱۷/۵ و ۱۶/۵ درصد پروتئین در مقایسه با جیره حاوی ۱۸/۵ درصد پروتئین خام تمایل به کاهش در شیر خام تولیدی را نشان دادند ($P=0/07$). اما میانگین تولید شیر تصحیح شده برای ۳/۵ درصد چربی در بین تیمارها تفاوت معنی داری را نشان نداد و در گاوهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی ۱ تا ۳ به ترتیب ۳۲/۵۸، ۳۱/۷۲ و ۳۰/۹۵ کیلوگرم در روز بود ($P=0/179$). احتمال می رود کاهش میزان پروتئین و میزان RUP، کاسته شدن میزان جریان آمینواسیدها به روده کوچک، و پایین آمدن میزان پروتئین متابولیسم پذیر، 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 می کند و ورود جریان خون به دستگاه گوارش کم می شود که این امر می تواند به کاهش حرکات دستگاه گوارش و در نتیجه کم شدن سرعت عبور، افزایش تجزیه بخش عبوری پروتئین، کاهش میزان پروتئین عبوری، و در پایان کاهش میزان پروتئین متابولیسم پذیر بیانجامد (Silanikove, 2000).

B_k = اثر بلوک (تعداد زایش)

A_1 = اثر حیوان (عامل تصادفی)

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

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

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

C_f = اثر کوواریت

e_{ijkl} = تأثیرات باقی مانده

داده‌ها با نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ با رویه Mixed تجزیه و تحلیل شدند. برای اندازه گیری‌های مکرر از رویه اندازه گیری‌های تکرار شده (Repeated measure) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی انجام شد و سطح معنی داری $P < 0/05$ و تمایل به معنی داری با $P > 0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

ماده خشک مصرفی

میانگین ماده خشک مصرفی در گاوهایی که با جیره‌های ۱ تا ۳ (به ترتیب حاوی ۱۸/۵، ۱۷/۵ و ۱۶/۵ درصد پروتئین خام) تغذیه شدند به ترتیب ۲۰/۶۵، ۲۰/۳۵ و ۲۰/۱۵ کیلوگرم در روز بود (جدول ۳) و تجزیه آماری آن معنی دار نبود ($P=0/22$). ماده خشک مصرفی به منظور تأمین نیازهای حیوان برای حفظ سلامت و تولید شیر (به ویژه در اوایل دوره شیردهی) اهمیت زیادی دارد. شورای تحقیقات ملی (NRC, 1981) کاهش ۷ تا ۸ درصدی در مصرف ماده خشک در گاوهای تحت تنش حرارتی در مقایسه با گاوهای نگهداری شده در شرایط طبیعی حرارتی را گزارش کرده است. با بررسی ماده خشک مصرفی گاوهای این پژوهش با مقادیر توصیه شده و برآورده شده شورای تحقیقات ملی (NRC, 2001) برای دام‌های 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 می کند و تنش گرمایی به طور غیر مستقیم با مکانیسم‌های ناشناخته‌ای سبب کاهش تولید می شود. تأثیر نداشتن جیره‌های این پژوهش بر ماده خشک مصرفی می تواند ناشی از زیاد نشدن 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 آرژنین نیز بالا می‌رود. آرژنین 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 به علت تنش گرمایی محیط، چربی شیر پایین‌تر از حد طبیعی بوده است. نتایج این تحقیق با نتایج برخی از پژوهشگران (Arieli et al., 2004) موافق و با برخی از مطالعات (Olmos et al., 2006) مطابقت نداشت. میانگین چربی شیر (جدول ۳) برحسب کیلوگرم در روز در گاوهای تغذیه شده با جیره‌های ۱ تا ۳ به ترتیب ۱/۱، ۱/۰۸، و ۱/۰۴ کیلوگرم در روز بود (P=۰/۳۱).

(Beede & Collier, 1986). برخی از پژوهشگران (2005; Schwab et al.,) توصیه کردند که RDP در حدود ۱۰/۴ تا ۱۰/۸ درصد از ماده خشک برای بهینه‌کردن 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) موافق و با نتایج برخی از پژوهشگران دیگر (Olmos et al., 2006; et al., 2003; Davidson) مطابقت نداشت. میانگین درصد چربی شیر گاوهای تغذیه شده (جدول ۳) با تیمارهای آزمایشی ۱ تا ۳ به ترتیب ۳/۲۱، ۳/۳۰، و ۳/۲۵ درصد بود (P=۰/۱۶۸). Canningham 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 موافق نبود. جیره‌های این پژوهش از نظر آمینواسیدهای

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

P-value	SEM	درصد پروتئین			صفت
		۱۶/۵	۱۷/۵	۱۸/۵	
۰/۲۲	۰/۱۵	۲۰/۱۵	۲۰/۳۵	۲۰/۶۵	ماده خشک مصرفی (کیلوگرم)
۰/۰۷	۰/۶۱	۳۲/۲۱	۳۲/۸۰	۳۴/۲۲	تولید شیر خام روزانه (کیلوگرم)
۰/۱۷	۰/۶	۳۰/۹۵	۳۱/۷۲	۳۲/۵۸	تولید شیر تصحیح شده براساس ۳/۵ چربی (کیلوگرم)
۰/۲۲	۰/۰۲	۱/۵۳	۱/۵۵	۱/۵۷	بازده غذایی ^۱
۰/۱۶۸	۰/۰۵	۳/۲۵	۳/۳	۳/۲۱	چربی شیر (درصد)
۰/۳۱	۰/۰۳	۱/۰۴	۱/۰۸	۱/۱	چربی شیر (کیلوگرم)
۰/۶۸	۰/۰۲۲	۳/۰۱	۳/۰۳	۳	پروتئین شیر (درصد)
۰/۱۹	۰/۰۳	۰/۹۷	۰/۹۹	۱/۰۳	پروتئین شیر (کیلوگرم)
۰/۵۶	۰/۰۹	۴/۷۶	۴/۷۱	۴/۶۳	لاکتوز (درصد)
۰/۰۰۵	۰/۷	^b ۱۶/۵۱	^b ۱۷/۹۴	^a ۱۹/۹۷	نیترژن اوره‌ای شیر (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۰۰۸	۰/۴۵	^a ۲۸/۹۰	^b ۲۷/۸۰	^c ۲۶/۹۸	بازده نیترژن برای تولید شیر (درصد)

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

۲. a, b, c حروف غیر مشترک در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها است (P<۰/۰۵).

SEM = خطای استاندارد میانگین‌ها

بتوانند بهترین پروفیل آمینواسیدی را در روده فراهم کنند، بهترین پاسخ را از نظر پروتئین شیر خواهد داد. درعین حال جداکردن تأثیرات پروتئین و انرژی مشکل است زیرا پروتئین ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم را بالا می‌برد (Collier, 1985; Broderick et al., 2003) 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 معنی دار نبود (P=۰/۶۸). ولی در کل میزان پروتئین شیر از میانگین درصد پروتئین شیر گاوهای هلستاین 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 پلاسما 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 متابولیسی از تلف شدن 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 تولیدمثل، سلامت دام، و محیط زیست دارد (Baker et al., 1995). منبع اوره در بدن دام از دو محل است. قسمتی از آمونیاک تولیدشده در شکمبه، که میکروارگانسیم‌های 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، به‌طور 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، انتقال‌دهنده‌های مهم بین‌ارگانی نیتروژن آمونیاکی به‌شکل 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 BUN و ۷/۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر تا ۱۵/۶ 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، میکروارگانسیم‌های

مشاهده نگردید، که با نتایج این پژوهش هم‌سو بود. میانگین مقدار پروتئین شیر (جدول ۴) برحسب 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=۰/۱۹).

فراسنجه‌های پلاسما

میانگین غلظت پلاسمایی گلوکز در تیمارهای ۱ تا ۳ به‌ترتیب ۵۹/۹۷، ۵۷/۱۳، و ۵۴/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود (P=۰/۷۲). مهم‌ترین پیش‌ماده برای سنتز گلوکز در مسیر گلوکونئوزنز در نشخوارکنندگان، پروپیونات تولیدشده در شکمبه است. در پژوهش Dinn et al. (1998) با افزایش سطح پروتئین خام جیره از میزان گلوکز خون کاسته شد که با نتایج تحقیق ما هم‌سو نبود. 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) (P=۰/۴۸). میانگین غلظت آلبومین پلاسمای تیمارهای ۱ تا ۳ به‌ترتیب ۴/۵۶، ۵/۰۴، و ۴/۹ گرم در دسی‌لیتر بود (جدول ۴) (P=۰/۳۱). آلبومین پلاسما مهم‌ترین منبع تأمین‌کننده 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 ۱۹/۹۷، ۱۷/۹۴، و ۱۶/۵۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود (جدول ۳) (P=۰/۰۰۵). 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 خوراک‌دهی است (NRC, 2001). غلظت نیتروژن اوره‌ای شیر با غلظت نیتروژن اوره‌ای پلاسما 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 میلی مول در لیتر بود (جدول ۵) ($P=0/34$). غلظت اسیدهای چرب غیر استریفیه پلاسما بیانگر سرعت آزاد شدن آن‌ها از بافت چربی است (Pullen et al., 1989; Shwartz et al., 2009) گزارش کردند که پروفیل خونی حیوانات تحت تنش گرمایی با حیواناتی که زیر حد استاندارد تغذیه می‌شوند، به شدت متفاوت است و سطح NEFA خون آن‌ها با سطح پیش از تنش گرمایی تفاوتی ندارد، درحالی‌که ماده خشک مصرفی آن‌ها کاهش یافته است. به تازگی ثابت شده است حتی با وجود کاهش ماده خشک مصرفی در گاوهای تحت تنش گرمایی و توازن منفی انرژی، سطوح NEFA خون افزایش نمی‌یابد (Whealock et al., 2010; Rhoads et al., 2009).

شکمه‌ای 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 پژوهش‌ها (Davidson et al., 2003; Broderick et al., 2008) 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 فراسنجه‌های 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 (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
۰/۴۸	۰/۳	۷/۹۹	۷/۹۸	۷/۴۲	پروتئین کل (گرم در دسی‌لیتر)
۰/۳۱	۰/۲۲	۴/۹	۵/۰۴	۴/۵۶	آلبومین (گرم در دسی‌لیتر)
۰/۳۴	۰/۰۴۷	۰/۵۲۸	۰/۵۰۹	۰/۶۱۰	NEFA (میلی‌مول در لیتر)
۰/۷۱	۰/۰۳۹	۰/۵۰۳	۰/۴۶۵	۰/۵۰۰	BHBA (میلی‌مول در لیتر)
۰/۸۵	۰/۰۶۵	۰/۰۸	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)
					دمای راست‌روده (سانتی‌گراد)
۰/۲۷	۰/۰۹	۳۹/۳	۳۹/۴	۳۹/۴۵	۱۵ ساعت
۰/۱۵	۰/۰۷	۳۸/۹	۳۸/۷	۳۸/۹	ساعت ۷ صبح
					تعداد تنفس (در دقیقه)
۰/۳۸	۱/۸	۷۹	۸۳	۸۱/۱	۱۵ ساعت
۰/۸	۱/۳	۶۴/۶۶	۶۵/۰۵	۶۶/۱۶	ساعت ۷ صبح

حروف غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است ($P < 0/05$)

SEM = خطای استاندارد میانگین‌ها

نیتروژن برای تولید شیر در گاوهای 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 (Abdi Benmar et al., 2011; Dinn et al., 1998; Arieli et al., 2004; Broderick et al., 2009) 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 ۰/۵۰۰، ۰/۴۶۵، و ۰/۵۰۳ میلی‌مول در لیتر بود ($P=0/71$). افزایش در میزان BHBA در پی آزاد شدن 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 معنی‌دار بودن گلوکز و NEFA و تغییرات نمرة 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 راست‌رونده در تیمارهای این پژوهش بالاتر از دمای طبیعی بدن بود که نشان‌دهنده شرایط تنش گرمایی برای دام‌ها بود. میانگین تعداد تنفس در ساعت ۱۵ برای گاوهایی که از جیره‌های ۱ تا ۳ تغذیه شده بودند به ترتیب برابر ۸۱/۱۰، ۸۳، و ۷۹ 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 تنش گرمایی برای دام‌ها بود.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد جیره غذایی ۱۶/۵ 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 تنش 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 تنش 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 ۱۶/۵ درصد دارای بهترین بازده بود که به علت کاهش میزان پروتئین مصرفی بود.

تغییرات وزن بدن و امتیاز وضعیت بدنی

تغییرات وزن تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۰/۱۱، ۰/۱، و ۰/۰۸ کیلوگرم در روز بود (جدول ۴) ($P=0/85$). پیشنهاد شده است که میزان موبیلیزاسیون بافتی بدن بستگی به سطح تولید و امتیاز بدنی در پس از زایش دارد. et al. Kalscheur (1990) با افزایش سطح پروتئین تجزیه‌ناپذیر در جیره‌های با سطح پروتئین خام ۱۵/۴ و ۱۷/۴ درصد، بیشترین افزایش وزن روزانه را در جیره حاوی ۱۷/۴ درصد مشاهده کردند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. تغییرات امتیاز وضعیت بدنی تیمارهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۰/۱۵، ۰/۱۱، و ۰/۰۹ بود (جدول ۴) ($P=0/57$). 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، درعین 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 راست‌رونده در ساعت ۱۵ برای گاوهایی که از جیره‌های ۱ تا ۳ استفاده کرده بودند به ترتیب برابر ۳۹/۴۵، ۳۹/۴، و ۳۹/۳ 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., Aktsali, P. & Tsigogianni, 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 high – 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 cowa. *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 duiring the complete lactation of dairy cows fed diets containing different amount of protein. *J. Dairy Sci*, 83, 1043–1051.