Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 16, Issue 3, 2025 p: 172-179

OPEN ACCESS

Research Paper

The Effect of Omega-3 and N-acetyl Tryptophan Feeding on Ovarian Cycle Resumption and Follicular Dynamics in Holstein Dairy Cows During the Transition Period

Majid Dehghan[1], Essa Dirandeh[2], Zarbakht Ansari[1], William Thacther[3]

1- Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran,

2- Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran, (Corresponding Author: Dirandeh@gmail.com)

3- Department of Animal Science, University of Florida, Gainesville, Florida

Received: 09 February, 2025 Revised: 23 April, 2025 Accepted: 25 May, 2025

Extended Abstract

Background: The transition period in dairy cows at the end of the lactation period and the first weeks of milk production at the beginning of the next lactation period are the foundation for the success or failure of the entire lactation period. The entire dry period is important in terms of preparing the cow for the next lactation period, but the final three weeks of the dry period (the pre-calving transition period) and the following three weeks of lactation (the post-calving transition period) are particularly important in this regard. The beneficial effects of omega-3 nutrition have been shown in previous studies, such that dietary supplementation of fatty acids affects the concentrations of prostaglandins, steroid hormones, and growth factors. As a result, increased follicular growth and luteal activity can improve fertility in dairy cows. Tryptophan, as an essential amino acid, affects feed intake, growth performance, reproduction, neural function, immunity, and anti-stress responses in monogastric animals and ruminants. Therefore, the present study aimed to investigate the effect of omega-3 and N-acetyl tryptophan feeding on ovarian cycle resumption and follicular dynamics in Holstein dairy cows during the transition period.

Methods: One hundred and twenty pregnant Holstein cows with multiple calvings were selected based on expected calving and randomly assigned to treatments. Cows with a history of mammary, locomotor, or other diseases during the current calving were excluded. Cows that were outside the normal range in terms of the body condition score (BCS greater than 4 and less than 3) were also excluded from the list in such a way that cows in each experimental group had the same conditions in terms of calving time (1.3 ± 1.2) and BCS (2.3 ± 0.2). Cows were assigned to one of four treatment groups from day 30 before calving to day 80 after calving based on a 2x2 factorial design: 1- cows fed a diet without coated tryptophan and saturated fatty acids (SFA), 2- cows fed a diet without coated tryptophan and omega-3 fatty acids, 3- cows fed a diet with coated tryptophan and no SFA, and 4- Cows fed a diet with coated tryptophan and omega-3. Plasma concentrations of progesterone (days 14, 24, and 34 after parturition) and 17 beta-estradiol (day of ovulation) were measured with an ELISA reader (STAT FAX 2100) using Diaplus ELISA kits manufactured in Canada with kit numbers 4810185 and 49101123. All animals were ultrasound scanned weekly from day 14 postpartum to day 60 postpartum to assess follicular dynamics (dominant follicle diameter, corpus luteum diameter, and ovulation). A change in the color and shape of a pre-identified large follicle was considered the ovulation of the dominant follicle. One or two large follicles together with a number of small follicles were considered a follicular wave. Cows with progesterone concentrations greater than 1 ng/ml in at least two consecutive blood samples were considered to have luteal activity (Stevenson, 1997). Finally, data were analyzed using the GLM procedure with SAS statistical software version 9.1 (SAS, 2001). Treatment means were compared using Duncan's multiple range test at the 0.05 level of error.

Results: The resumption of the ovarian cycle (days) was affected by the interaction effect of omega-3 and tryptophan and was significantly earlier in cows fed omega-3 and tryptophan than in the other groups ($P < 0.05$). The interval from calving to the first ovulation (days) after calving was affected by the interaction effect of omega-3 and tryptophan and was significantly shorter in cows fed omega-3 and tryptophan than in the other groups ($P < 0.05$). Ovulatory follicle diameter (mm) and corpus luteum diameter (mm) were affected by the interaction of omega-3 and tryptophan and were significantly larger in cows fed omega-3 and tryptophan than in the other

Copyright ©2025 Dehghan et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 Unported License, which allows users to read, copy, distribute, and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

groups ($P < 0.05$). The dominant follicle diameter was affected only by omega-3 feeding ($P < 0.05$), and the effect of tryptophan feeding and the interaction of omega-3 and tryptophan were not significant ($P < 0.05$). Estradiol concentration (picogram/mL) at the time of ovulation was significantly higher in cows that received omega-3 and tryptophan than in the other groups ($P < 0.05$). Progesterone concentration (nanogram/mL) after calving was significantly higher in cows that received omega-3 and tryptophan than in the other groups ($P < 0.05$).

Conclusion: In general, the results of the present study showed that omega-3 and N-acetyl tryptophan feeding positively affected the resumption of the ovarian cycle and follicular dynamics in Holstein dairy cows during the transition period. It positively affected fertility increase by shortening the interval from calving to the first ovulation, faster resumption of ovarian cycles after calving, and increasing the diameter of the ovulatory follicle and the diameter of the corpus luteum.

Keywords: Blood collection, Dairy cow, Transition period, Ultrasonography

How to Cite This Article: Dehghan, M., Dirandeh, E., Ansari, Z., & Thacther, W. (2025). The Effect of Omega-3 and N-acetyl Tryptophan Feeding on Ovarian Cycle Resumption and Follicular Dynamics in Holstein Dairy Cows During the Transition Period. *Res Anim Prod,* 16(3), 172-189. DOI: 10.61882/rap.2025.1552

مقاله پژوهشی

تاثیر تغذیه امگا-۳ و ان-استیل تریپتوفان بر از سرگیری چرخه تخمدانی و دینامیک فولکیولی در گاوهای شیری هلشتاین طی دوره انتقال

مجید دهقان[۱]، عیسی دیرنده[۲]، زربخت انصاری[۱] و ویلیام تاچر[۳]

۱- گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران، (نویسنده مسوول: Dirandeh@gmail.com)
۲- گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- گروه علوم دامی، دانشگاه فلوریدا، گینزویل، فلوریدا

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۱ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۲/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۴
صفحه ۱۷۳ تا ۱۸۹

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: دوره انتقال در گاو شیری در پایان دورهٔ شیردهی و هفته‌های نخست تولید شیر در آغاز دورهٔ شیردهی بعدی، زمینه‌ساز موفقیت یا شکست در کل دورهٔ شیردهی است. سراسر دورهٔ خشکی از نظر آماده‌سازی گاو برای ورود به دورهٔ شیردهی بعدی مهم است، اما سه هفتهٔ پایانی خشکی (دورهٔ انتقال پیش از زایمان) و در ادامهٔ آن سه هفتهٔ آغازین شیردهی (دورهٔ انتقال پس از زایمان) از این نظر اهمیت ویژه دارند. اثرات سودمند تغذیه امگا-۳ در مطالعات پیشین ثابت شده‌اند، به‌طوری‌که مکمل‌کردن اسیدهای چرب در جیره بر غلظت‌های پروستاگلندین‌ها، هورمون‌های استرویدی و فاکتورهای رشد تأثیر می‌گذارد. در نتیجه، افزایش رشد فولیکولی و فعالیت لوتئال می‌تواند باروری گاوهای شیری را بهبود ببخشد. تریپتوفان به‌عنوان یکی از اسیدهای آمینه ضروری بر مصرف خوراک، عملکرد رشد، تولیدمثل، کنش عصبی، ایمنی و پاسخ‌های ضدتنش در حیوانات تک‌معده‌ای و نشخوارکنندگان اثر می‌گذارد. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر تغذیه امگا-۳ و ان-استیل تریپتوفان بر از سرگیری چرخه تخمدانی و دینامیک فولکیولی در گاوهای شیری هلشتاین طی دوره انتقال بود.

مواد و روش‌ها: یکصد و بیست راس گاو هلشتاین آبستن چندشکم‌زا براساس پیش‌بینی زایش انتخاب و به‌طور تصادفی در بین تیمارها توزیع شدند. گاوهایی که سابقه مشکلات پستانی، اندام حرکتی و یا دیگر بیماری‌ها در نوبت زایش فعلی داشتند از فهرست حذف شدند. همچنین، گاوهایی که از نظر نمره وضعیت بدنی (BCS) خارج از دامنه طبیعی بودند (BCS بیشتر از ۴ و کمتر از ۳) از فهرست خارج شدند، به‌گونه‌ای که گاوهای هر گروه آزمایش از نظر نوبت زایش (۳/۱±۱/۲) و نمره وضعیت بدنی (۳/۲۵±۰/۲) شرایط یکسانی داشتند. گاوها از روز ۳۰ قبل از زایش تا روز ۸۰ پس از زایش در یکی از چهار گروه تیماری براساس طرح فاکتوریل ۲*۲ قرار گرفتند. ۱- گاوهای تغذیه‌شده با جیره بدون تریپتوفان پوشش‌دار شده و اسیدهای چرب اشباع (SFA)، ۲- گاوهای تغذیه شده با جیره بدون تریپتوفان پوشش‌دار شده و اسیدهای چرب امگا-۳، ۳- گاوهای تغذیه‌شده با جیره دارای تریپتوفان پوشش‌دار شده و بدون اسیدهای چرب اشباع (SFA) و ۴- گاوهای تغذیه‌شده با جیره دارای تریپتوفان پوشش‌دار شده و اسیدهای چرب امگا-۳. غلظت پلاسمایی پروژسترون (روز ۱۴، ۲۴ و ۳۴ پس از زایش) و استرادیول ۱۷ بتا (روز تخمک‌ریزی) با استفاده از دستگاه الایزا ریدر اندازه‌گیری شد. برای این‌منظور از کیت الایزا دیاپلاس ساخت کشور کانادا با شماره کیت ۴۸۱۰۱۸۵ و ۴۹۱۰۱۱۲۳ استفاده شد. تمام دام‌ها برای بررسی دینامیک فولکولی (قطر فولیکول غالب، قطر جسم زرد، و تخمک‌ریزی) از روز ۱۴ پس از زایش تا روز ۶۰ پس از زایش به‌صورت هفتگی سونوگرافی شدند. تغییر در رنگ و شکل یک فولیکول بزرگ از پیش‌شناسایی‌شده به‌عنوان تخمک‌ریزی فولیکول چیره در نظرگرفته شد. یک یا دو فولیکول بزرگ به‌همراه تعدادی فولیکول کوچک به‌عنوان یک موج فولیکولی در نظر گرفته شدند. گاوهایی که حداقل در دو نمونه‌برداری خونی متوالی غلظت پروژسترون بیشتر از یک نانوگرم بر میلی‌لیتر داشتند به عنوان گاوهای دارای فعالیت لوتیال در نظر گرفته شدند. تجزیه و تحلیل نهایی داده‌ها با استفاده از رویه GLM توسط نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ (SAS, 2001) انجام گرفت. مقایسه میانگین تیمارها نیز با استفاده از آزمون چنـددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها: از سرگیری چرخه تخمدانی (روز) تحت تاثیر اثر متقابل امگا-۳ و تریپتوفان قرار گرفت و در گاوهایی که با امگا-۳ و تریپتوفان تغذیه شدند به‌صورت معنی‌داری زودتر از سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۵$) . فاصله زایش تا اولین تخمک‌ریزی (روز) پس از زایش تحت تاثیر اثر متقابل امگا-۳ و تریپتوفان قرار گرفت و در گاوهایی که با امگا-۳ و تریپتوفان تغذیه شدند به‌صورت معنی‌داری کمتر از سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۵$). قطر فولیکول تخمک‌ریزی‌کننده (میلی‌متر) و قطر جسم زرد (میلی‌متر) تحت تاثیر اثر متقابل امگا-۳ و تریپتوفان قرار گرفتند و در گاوهایی که با امگا-۳ و تریپتوفان تغذیه شدند به‌صورت معنی‌داری بزرگ‌تر از سایر گروه‌ها بودند ($P < ۰/۰۵$). قطر فولیکول غالب تنها تحت تاثیر تغذیه امگا-۳ قرار گرفت ($P < ۰/۰۵$) و اثر تغذیه تریپتوفان و اثر متقابل امگا-۳ و تریپتوفان معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$). غلظت استرادیول (پیکوگرم/میلی‌لیتر) در زمان تخمک‌ریزی در گاوهایی که امگا-۳ و تریپتوفان دریافت کرده بودند به‌صورت معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۵$). غلظت پروژسترون (نانوگرم/میلی‌لیتر) پس از زایش در گاوهایی که امگا-۳ و تریپتوفان دریافت کرده بودند به‌صورت معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش حاضر نشان دادند که تغذیه امگا-۳ و ان-استیل تریپتوفان بر از سرگیری چرخه تخمدانی و دینامیک فولکیولی در گاوهای شیری هلشتاین طی دوره انتقال تأثیر مثبت داشت و با کوتاه کردن فاصله زایش تا اولین تخمک‌ریزی، از سرگیری سریع‌تر چرخه‌های تخمدانی پس از زایش و افزایش قطر فولکیول تخمک‌ریزی‌کننده و قطر جسم زرد تاثیر مثبتی در افزایش باروری داشت.

واژه‌های کلیدی: اولتراسونوگرافی، خون‌گیری، دوره انتقال، گاو شیری

مقدمه

گاو شیری نزدیک به زایمان، به‌دلیل تغییر رژیم غذایی، سازگاری‌های فیزیولوژیک و متابولیک شدیدی را همزمان با چالش‌های محیطی برای حمایت از شیردهی تجربه می‌کند (Pires *et al.*, 2013). علاوه بر این، انتقال به شیردهی اغلب با افزایش خطر ابتلا به اختلالات متابولیک (به‌عنوان مثال، کتوز و هیپوکلسمی) و عفونت (به‌عنوان مثال، ورم پستان و متریت) همراه است. در واقع، تقریباً ۷۵ درصد از بیماری‌ها در اولین ماه پس از زایمان رخ می‌دهند و تنها کمتر از ۵۰ درصد از گاوها دوره انتقال را بدون تجربه مشکل سلامتی پشت سر می‌گذارند (Goetz, 2023). پس از پس‌روی جسم‌زرد، آبستنی پیش از اولین تخمک‌ریزی یک دوره عدم فحلی که از نظر مدت زمانی متغیر است وجود دارد.

طول این دوره بستگی به تعدادی از عوامل محیطی و پاتوفیزیولوژیک شامل سطح تغذیه، وضعیت بدنی، شیردهی، نژاد، سن، فاصله از زایش، وضعیت رحم و بیماری‌های مزمن ضعیف‌کننده بدن دارد.

اسیدهای چرب امگا-۳ به گروهی از اسیدهای چرب اشباع‌نشده اشاره دارند و شامل آلفا لینولنیک اسید (ALA)، ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و اسید دوکوزاهگزانوئیک (DHA) می‌شوند. اصطلاح امگا ۳ اشاره به ساختاری دارد که به موقعیت پیوند دوگانه‌ای که به انتهای متیل زنجیره آسیل اسید چرب نزدیک است. اسید آلفا لینولنیک از اسید لینولئیک (C18:2n6) توسط دلتا ۱۵ دساتوراز ساخته می‌شود. حیوانات دارای آنزیم‌های دلتا ۱۲ و دلتا ۱۵ دساتوراز نیستند و بنابراین نمی‌توانند ALA را بسازند، پس این اسید چرب باید در رژیم غذایی تأمین شود. پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که اضافه‌کردن اسیدهای چرب امگا-۳ در رژیم غذایی اثرات مثبتی بر عملکرد تولید مثلی و فیزیولوژیکی گاوهای شیری دارد. یکی از سازوکارهایی که تغذیه چربی از راه آن سبب بهبود باروری می‌شود تأثیر بر رشد فولیکول و تخمک‌ریزی است (Dirandeh *et al*., 2013; 2015; 2016). استفاده از نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب زنجیربلند به‌جای ذرت در ابتدای زایش اندازه فولیکول‌های متوسط (۶ تا ۹ میلی‌متری) را طی ۲۵ روز پس از زایش افزایش داد و همچنین اندازه فولیکول غالب در این گروه گاوها افزایش یافت (۱۸/۲ در مقابل ۱۲/۴ میلی‌متر، Lucy *et al.,* 1993). چندین مطالعه نشان دادند که قطر فولیکول غالب در گاوهایی که با جیره‌های غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه تغذیه شدند در مقایسه با گاوهایی که با جیره‌های غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه تغذیه شدند افزایش یافت (Dirandeh *et al*., 2013; 2015; 2016) که نشان‌دهنده اثرات مختلف اسیدهای چرب بر رشد فولیکول است.

تریپتوفان به‌عنوان یکی از اسیدهای آمینه ضروری بر مصرف خوراک، عملکرد رشد، تولید مثل، کنش عصبی، ایمنی و پاسخ‌های ضد تنش در حیوانات تک‌معده‌ای و نشخوارکنندگان اثر می‌گذارد. همچنین، تریپتوفان آزاد پلاسما زیرواحد سازنده پروتئین و پیش‌ساز ملاتونین است (Lee *et al*., 2019). آثار مکمل تریپتوفان در سطح وسیعی در انسان، گاو گوشتی و حیوانات تک‌معده‌ای (Yao *et al*. 2011; Richard *et al*., 2009) مورد بررسی قرار گرفته‌اند. استفاده از تریپتوفان کپسوله‌شده نه‌تنها سبب تحریک هورمون‌های دستگاه گوارش و ملاتونین می‌شود بلکه همچنین سبب افزایش هضم دئودنومی نشاسته در گاوهای گوشتی می‌شود (Lee *et al*., 2019). چوی و همکاران (Choi *et al.,* 2021) با بررسی سه سطح مختلف تریپتوفان گزارش کردند که استفاده از سطح ۳۰ گرم در روز ترپتوفان نسبت به سطح ۱۵ و ۶۰ گرم در روز در روزهای شیردهی ۷۰ تا ۱۲۰ روز سبب افزایش مصرف خوراک و تولید شیر شد؛ افزون بر این، غلظت کورتیزول پلاسما کاهش و غلظت‌های سروتونین و ملاتونین افزایش یافتند.

علاوه بر این، یکی از مطالعات اخیر نشان داده است که روزانه ۲۰ میلی‌گرم ملاتونین در جیره باعث کاهش دمای واژن در تلیسه‌های باردار در طول تابستان شد (Contreras-Correa *et al*., 2021). همچنین، تزریق ال- تریپتوفان سبب افزایش غلظت ملاتونین در گاوهای گوشتی شد (Lee *et al*., 2019). شکل ان استیل تریپتوفان به‌طور مؤثر از تریپتوفان در برابر تخریب باکتری محافظت می‌کند، در نتیجه نسبت فرار حدود ۹۵ درصد در کشت با استفاده مصنوعی از مایع شکمبه به‌دست آمد (Priatno *et al*., 2020). لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر تغذیه امگا-۳ و ان-استیل تریپتوفان بر از سرگیری چرخه تخمدانی و دینامیک فولکیولی در گاوهای شیری هلشتاین طی دوره انتقال بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی ماه‌های مهر الی آذر ماه ۱۴۰۳ در شرکت زراعی دشت‌ناز واقع در استان مازندران شهرستان ساری انجام شد.

حیوانات آزمایشی

در این پژوهش، گاوهای هلشتاین با نوبت زایش سوم و چهارم مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس تاریخ زایش، سوابق تولیدمثلی و نمره وضعیت بدنی (BCS)، ۱۲۰ راس گاو هلشتاین با تولید شیر بیشتر از ۳۰ کیلوگرم در روز دارای شرایط مناسب پژوهش، انتخاب شدند. گاوهایی که سابقه مشکلات پستانی، اندام حرکتی و یا دیگر بیماری‌ها در شکم فعلی داشتند از فهرست حذف شدند. همچنین گاوهایی که از نظر نمره وضعیت بدنی[1] خارج از دامنه طبیعی بودند (BCS بیشتر از ۴ و کمتر از ۳) از فهرست خارج شدند، به‌گونه‌ای که گاوهای هر گروه آزمایش از نظر نوبت زایش (۱/۲±۳/۱) و نمره وضعیت بدنی (۰/۲۵±۳/۲۵) شرایط یکسانی داشتند. گاوها از روز ۳۰ قبل از زایش تا روز ۸۰ پس از زایش در یکی از چهار گروه تیماری بر اساس طرح فاکتوریل ۲*۲ قرار گرفتند. ۱-گاوهای تغذیه‌شده با جیره بدون تریپتوفان پوشش‌دار شده و اسیدهای چرب اشباع (SFA)، ۲- گاوهای تغذیه‌شده با جیره بدون تریپتوفان پوشش‌دار شده و اسیدهای چرب امگا-۳، ۳- گاوهای تغذیه‌شده با جیره دارای تریپتوفان پوشش‌دار شده و بدون اسیدهای چرب اشباع (SFA) و ۴- گاوهای تغذیه‌شده با جیره دارای تریپتوفان پوشش‌دار شده و اسیدهای چرب امگا-۳.

خون‌گیری

در روزهای ۱۴، ۲۴ و ۳۴ پس از زایش و روز تخمک‌ریزی (ساعت ۱۰ صبح، سه ساعت پس از خوراک صبحگاهی) از همه گاوها خون‌گیری انجام شد. خون‌گیری با استفاده از لوله‌های ونوجکت پنج میلی‌لیتری یکبار مصرف دارای EDTA، از سیاهرگ دمی هر گاو انجام شد و در هر بار خون‌گیری پنج میلی‌لیتر خون گرفته شد. نمونه‌های خون بلافاصله برای ۱۵ دقیقه و با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند.

[1] Body condition score (BCS)

سپس پلاسمای حاصل به آزمایشگاه فیزیولوژی گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انتقال داده شد و تا زمان شروع آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری پروژسترون و استرادیول ۱۷ بتا

غلظت‌های پلاسمایی پروژسترون (روزهای ۱۴، ۲۴ و ۳۴ پس از زایش) و استرادیول ۱۷ بتا (روز تخمک‌ریزی) با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (STAT FAX 2100) اندازه‌گیری شدند. برای این‌منظور از کیت الایزا دیاپلاس ساخت کشور کانادا با شماره کیت ۴۸۱۰۱۸۵ و ۴۹۱۰۰۱۱۲۳ استفاده شد.

مطالعه دینامیک تخمدان

تمام دام‌ها برای بررسی دینامیک فولیکولی (قطر فولیکول غالب، قطر جسم زرد، قطر فولیکول تخمک‌ریزی کننده) از روز ۱۴ پس از زایش تا روز ۶۰ پس از زایش به صورت هفتگی سونوگرافی شدند.

تعیین الگوی فعالیت جسم زرد و از سرگیری چرخه تخمدانی (روز)

گاوهایی که حداقل در دو نمونه‌برداری خونی متوالی غلظت پروژسترون بیشتر از یک نانوگرم بر میلی‌لیتر داشتند به‌عنوان گاوهای دارای فعالیت لوتیال در نظر گرفته شدند (Stevenson, 1997).

تعیین تخمک‌ریزی

زمانی‌که غلظت استرادیول بیشتر از دو پیکوگرم بر میلی‌لیتر و قطر فولیکول غالب بزرگ‌تر یا مساوی ۱۰ میلی‌متر بود آن زمان به‌عنوان زمان تخمک‌ریزی در نظر گرفته شد. در صورتی‌که قطر فولیکول غالب بزرگ‌تر یا مساوی ۱۵ میلی‌متر بود ولی غلظت استرادیول کمتر یا مساوی دو پیکوگرم بر میلی‌لیتر نبود گاوها در گروه گاوهای غیر تخمک‌ریز قرار می‌گرفتند (Cheong et al, 2015).

هم‌زمانی فحلی و اولتراسونوگرافی

برای هم‌زمانی گاوها از روش پیش‌همزمانی-آوسینک استفاده شد (Heidari *et al*., 2015). در روز ۳۰ پس از زایش با دو تزریق $PGF_{2\alpha}$ (استروپلان، ۲۵۰ میلی‌گرم کلوپروستنول سدیم، پارنل تکنولوژی، الکساندریا، استرالیا[2]) به فاصله ۱۴ روز از هم پروتکل پیش‌همزمانی اجرا شد. دوازده روز پس از تزریق دوم $PGF_{2\alpha}$ پروتکل آوسینک-سیدر اجرا شد؛ به‌گونه‌ای که روز ۵۶ پس از زایش یک تزریق عضلانی GnRH (گنابرید، ۱۰۰میلی‌گرم گونادرلین استات، پارنل تکنولوژی، الکساندریا، استرالیا) انجام و سیدر (کیو-میت، دارای ۱/۵۶ گرم پروژسترون، سلامتی حیوانات بیونیک، آرمیدال، استرالیا[3]) وارد واژن شد. در روز هفت پروتکل به تمام گاوها $PGF_{2\alpha}$ تزریق و سیدر از واژن خارج شد. در روز نه پروتکل، همه گاوها GnRH دریافت کردند و ۱۶ ساعت بعد تحت تلقیح زمان‌بندی‌شده قرار گرفتند. روز فحلی ناشی از همزمانی به‌عنوان روز صفر چرخه تخمدانی مورد مطالعه در نظر گرفته شد. تمام فولیکول‌های بزرگتر از سه میلی‌متر هر دو تخمدان شمارش و تصویر آنها ثبت شد. قطر فولیکول‌های شمارش‌شده در هر روز در یک کاغذ شطرنجی که محور افقی آن روز چرخه فحلی و محور عمودی آن قطر فولیکول بود درج شد و درنهایت به‌صورت نموداری برای هر فولیکول طراحی شد. تغییر در رنگ و شکل یک فولیکول بزرگ از پیش شناسایی شده به‌عنوان تخمک‌ریزی فولیکول چیره در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری

داده‌های سنجه‌های تکرار شونده و دینامیک تخمدان با استفاده از PROC Mixed و نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ واکاوی شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. الگوی ریاضی طرح به‌صورت زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + A_j + TA_{jj} + \varepsilon_{ijk}$$

که در آن Y_{ijk} = متغیر وابسته؛ μ = میانگین کل؛ T_i = اثر تریپتوفان؛ $A_{(i)j}$ = اثر امگا-۳؛ TA_{jk} = اثر متقابل تریپتوفان و امگا-۳ و ε_{ijk} = آثار باقی‌مانده هستند.

نتایج و بحث

قطر فولیکول تخمک‌ریزی کننده (میلی‌متر) و قطر جسم زرد (میلی‌متر) تحت تأثیر اثر متقابل امگا-۳ و تریپتوفان قرار گرفتند و در گاوهایی که با امگا-۳ و تریپتوفان تغذیه شدند به‌صورت معنی‌داری بزرگ‌تر از سایر گروه‌ها بودند ($P < ۰/۰۵$). قطر فولیکول غالب تنها تحت تأثیر تغذیه امگا-۳ قرار گرفت ($P < ۰/۰۵$) و اثر تغذیه تریپتوفان و اثر متقابل امگا-۳ و تریپتوفان معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$). پژوهش‌های مختلف گزارش داده‌اند که استفاده از اسیدهای چرب امگا-۳ سبب افزایش قطر فولیکول تخمک‌ریزی کننده و افزایش قطر جسم زرد شد (Badiei *et al*., 2014). کلسترول پیش‌ساز ساخت هورمون‌های استروئیدی است و افزایش مقدار آن در خون می‌تواند سبب افزایش ساخت هورمون‌های استروئیدی شود (Mattos *et al*., 2004). گزارش شده است که استفاده از اسیدهای چرب امگا-۳ تراوش $PGF_{2\alpha}$ رحمی را کاهش می‌دهد که لوتئولیز عملکردی کامل را به تأخیر می‌اندازد. مکمل‌کردن اسیدهای چرب امگا-۳ به شکل پودر ماهی غلظت EPA و DHA را در کارانکل‌های رحم افزایش می‌دهد (Mattos *et al*., 2004). قابلیت در دسترس بودن بیشتر این اسیدهای چرب می‌تواند به‌طور کامل اکسیداسیون اسید آراشیدونیک به‌وسیله سیکلواکسی‌ژناز را مهار کند و در نتیجه ساخت $PGF_{2\alpha}$ را کاهش می‌دهد که منجر به افزایش ساخت پروستاگلندین‌های سری سه می‌شود. پروستانوییدهای سری سوم دسترسی زیستی کمتری دارند (Dirandeh & Ghaffari, 2018).

تریپتوفان به‌عنوان یکی از اسیدهای آمینه ضروری بر مصرف خوراک، عملکرد رشد، تولیدمثل، کنش عصبی، ایمنی و پاسخ‌های ضدتنش در حیوانات تک‌معده‌ای و نشخوارکنندگان اثر می‌گذارد (Lee *et al*., 2019). افزون بر این، تریپتوفان آزاد پلاسما نقش‌های متفاوتی دارد، مانند زیرواحد سازنده پروتئین و پیش‌ساز بسیاری از متابولیت‌ها مانند میانجی عصبی سروتونین (۵-هیدروکسی تریپتامین)، ملاتونین و نیاسین

[2] EstroPLAN, 250 µg cloprostenol sodium; Parnell Technologies. Alexandria, Australia

[3] Cue-Mate, containing 1.56 g progesterone, Bioniche Animal Health, Armidale, Ausrralia

(Lee *et al*., 2019; Richard *et al*., 2009). از طرف دیگر، ترکیب ان-استیل تریپتوفان از نظر ساختاری مشابه تریپتوفان است، بنا بر این تجمع آن ممکن است بر جذب تریپتوفان تأثیر بگذارد (Wegmann *et al*., 1978). علاوه بر اثر غیر مستقیم ان-استیل تریپتوفان بر جذب دیگر اسیدهای آمینه، به‌دلیل ظرفیت آن برای مهار گونه‌های فعال اکسیژن معمولاً به‌عنوان یک تثبیت‌کننده پروتئین، به‌ویژه برای آلبومین استفاده می‌شود (Kouno *et al*., 2014). نتایج نشان می‌دهند که ملاتونین می‌تواند توانایی رشد گامت‌های نر و ماده و مراحل اولیه جنینی گاوهای بالغ و پیش از بلوغ را در شرایط آزمایشگاهی بهبود بخشد.

نتایج نشان دادند که از سرگیری چرخه تخمدانی (روز) تحت تأثیر اثر متقابل امگا-۳ و تریپتوفان قرار گرفت و در گاوهایی که با امگا-۳ و تریپتوفان تغذیه شدند به‌صورت معنی‌داری زودتر از سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۵$) . فاصله زایش تا اولین تخمک‌ریزی (روز) پس از زایش تحت تأثیر اثر متقابل امگا-۳ و تریپتوفان قرار گرفت و در گاوهایی که با امگا-۳ و تریپتوفان تغذیه شدند به‌صورت معنی‌داری کمتر از سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۵$). از سرگیری زود هنگام چرخه تخمدانی پس از زایمان در گاوهای شیری با عملکرد تولیدمثلی بعدی در ارتباط است. در واقع، گاوهایی که قبل از ۲۱ روز پس از زایمان تخمک‌ریزی کردند عملکرد تولیدمثلی بهتری نسبت به گاوهایی برای اولین‌بار بین روزهای ۲۱ و ۴۹ پس از زایش تخمک‌ریزی کردند نشان دادند. بیشتر گاوها در اوایل دو هفته پس از زایش دارای فولیکول غالب خواهند بود. هر چند که تنها ۴۰ درصد این فولیکول‌های غالب وارد گامه تخمک‌ریزی می‌شوند. در پژوهش‌های پیشین، تخمک‌ریزی اولین فولیکول غالب پس از زایش سبب افزایش غلظت استرادیول پیش از تخمک‌ریزی شد، در حالی‌که بیشتر گاوهایی که غلظت‌های بالایی از استرادیول نداشتند، تخمک‌ریزی از خود نشان ندادند. سندرم تخمدان‌های چندکیستی با کاهش غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها در ارتباط بود در نتیجه می‌تواند به‌عنوان وضعیت اکسیدانی محسوب شود. کاهش مصرف اکسیژن در میتوکندری وسطوح گلوتاتیون همراه با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن تأییدی بر اختلال در کنش میتوکندری در شرایط کیست است (Victor *et al*., 2011). هم‌راستا با نتایج این پژوهش، گزارش شد که استفاده از لیپیدها با منابع اسیدهای چرب مختلف بر از سرگیری چرخه تأثیر گذاشت (Silvestre *et al*., 2011; Jahani-Moghadam *et al*., 2015). در گاوهای شیرده، طولانی‌شدن فاز لوتئال و تأخیر اولین تخمک‌ریزی دو اختلال مهم تخمدان بودند که شروع مجدد چرخه پس از زایمان را به تاخیر انداختند. در گاوهای شیری پرتولید (Shrestha *et al*., 2004) استفاده از ۵۰۰ گرم در روز روغن گیاهی (۶۰ درصد اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه) در مقایسه با گروه کنترل فاصله زایش تا از سرگیری چرخه تخمدانی را هفت روز کاهش داد (Marin-Aguilar *et al*., 2007). استفاده از تریپتوفان به‌دلیل کاهش تنش اکسیداتیو سبب افزایش باروری شد (Gutiérrez, 2021). همچنین، در گاوهای دارای مرگ و میر رویانی غلظت ملاتونین کمتر بود و بین بیان ژن گیرنده ملاتونین و تراوش ISG-15 همبستگی مثبت وجود داشت (Dirandeh *et al*., 2024).

غلظت‌های استرادیول و پروژسترون تحت تأثیر اثر متقابل امگا-۳ و تریپتوفان قرار گرفتند ($P < ۰/۰۵$). غلظت استرادیول (پیکوگرم/میلی لیتر) در زمان تخمک‌ریزی در گاوهایی که امگا-۳ و تریپتوفان دریافت کرده بودند به‌صورت معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۵$). غلظت پروژسترون (نانوگرم/میلی‌لیتر) پس از زایش در گاوهایی که امگا-۳ و تریپتوفان دریافت کرده بودند به‌صورت معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۵$). در تأیید نتایج پژوهش حاضر، گزارش شد که استفاده از اسیدهای چرب امگا-۳ سبب افزایش غلظت پروژسترون طی گامه لوتیال و همچنین افزایش غلظت استرادیول در زمان تخمک‌ریزی شد (Badiei *et al*., 2014). استفاده از دسیهای چرب امگا-۳ سبب مهار سیستن اندوکانابونئیدی و مهار التهاب شد که هر دو این‌ها با افزایش علظت پروژسترون و استرادیول در ارتباط بودند (Sina *et al*., 2015). غلظت پلاسمایی پروژسترون (نانوگرم بر میلی لیتر) و استرادیول (پیکوگرم بر میلی لیتر) طی چرخه فحلی در گاوهای سالم به‌صورت معنی‌داری بیشتر از گاوهای دارای التهاب بود. همچنین، قطر فولیکول تخمک‌ریزی کننده نیز در گاوهای سالم به‌صورت معنی‌داری بیشتر از گاوهای دارای التهاب بود. به‌طور کلی، نتایج پژوهش حاضر ارتباط بین وضعیت التهاب و الگوهای متفاوت فعالیت گامه لوتئال را نشان داد به‌طوری‌که گاوهای دارای التهاب الگوی غیرطبیعی فعالیت گامه لوتئال داشتند و این گاوها دارای عملکرد تولیدمثلی ضعیف‌تری بودند (Sina *et al*., 2015). در تخمدان، بعد از تخمک‌ریزی جسم زرد تشکیل می‌شود که پروژسترون تولید می‌کند و برای حفظ آبستنی بسیار مهم است. گونه‌های فعال اکسیژن در جسم زرد نیز تولید می‌شوند و فاکتوری کلیدی برای تولیدمثل هستند. کاهش سریع در پروژسترون برای تکامل فولیکول و شروع چرخه بعدی موردنیاز است. غلظت آهن، مس و فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در جسم زرد از گامه ابتدایی لوتئال به‌گامه میانی افزایش می‌یابند و در گامه پس‌روی کاهش می‌یابند که به پراکسیداسیون لیپیدی منجر می‌شود و می‌تواند افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در طی گامه پس‌روی را تأیید و توجیه کند (Behrman & Knowles, 2003). سازوکار دیگر می‌تواند کاهش جریان خون باشد که سبب آسیب بافتی به‌دلیل تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. اثرات مثبت استفاده از تریپتوفان که پیش‌ساز ملاتونین است می‌تواند به‌دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی آن باشد. علاوه بر اثر غیر مستقیم ان-استیل تریپتوفان بر جذب دیگر اسیدهای آمینه، به‌دلیل ظرفیت آن برای مهار گونه‌های فعال اکسیژن معمولاً به‌عنوان یک تثبیت‌کننده پروتئین، به‌ویژه برای آلبومین استفاده می‌شود (Kouno *et al*., 2014).

جدول ۱- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر دینامیک فولیکولی و غلظت استرادیول و پروژسترون در گاوهای شیری هلشتاین
Table 1. Effects of experimental Treatments on the follicular dynamics and estradiol and progesterone concentrations in Holstein dairy cows

Items							
Progesterone concentration (ng/ml)	Estradiol concentration (pg/ml)	Time of first ovulation (d)	Resumption of cyclisity (d)	Ovulatory Follicle diameter (mm)	Corpus luteum diameter (mm)	Dominant Follicle diameter (mm)	Treatment
							Omega3 (gr / cow)
11.86±0.51^{b}	9.26±0.63^{b}	37.16±0.63^{a}	38.13±0.63^{a}	11.16±0.21^{b}	13.26±0.35^{b}	12.36±0.31^{b}	0 (A)
16.70±0.50^{a}	13.50±0.70^{a}	34.30±0.60^{b}	33.20±0.60^{b}	13.40±0.21^{a}	16.40±0.35^{a}	14.48±0.3^{a}	100 (B)
				Tryptophan (gr /cow)			
12.74±0.65^{b}	11.55±0.42^{b}	39.38±0.52^{a}	40.38±0.52^{a}	12.05±0.25^{b}	13.55±0.24^{b}	12.05±0.35	0 (C)
15.80±0.66 ^{a}	14.71±0.46 ^{a}	33.10±0.76^{b}	34.10±0.76^{b}	14.30±0.26 $_{a}$	15.42±0.24^{a}	13.45±0.36	100 (D)
				Omega3 ⁎ Tryptophan			
11.68±0.51^{c}	8.67±0.31^{c}	38.80±0.77^{c}	39.50±0.80^{c}	10.56±0.11^{c}	12.35±0.21^{c}	11.56±0.55	0 ⁎ 0 (AC)
15.73±0.44^{b}	10.23±0.18^{b}	35.13±0.13^{b}	34.13±0.28^{b}	13.33±0.20^{b}	16.90±0.25^{b}	13.13±0.56	100 ⁎ 0 (BC)
14.86±0.45^{b}	10.28±0.19^{b}	35.28±0.44^{b}	33.28±0.33^{b}	13.16±0.20^{b}	16.88±0.26^{b}	12.26±0.53	0 ⁎ 100 (AD)
18.75±0.45^{a}	12.59±0.25^{a}	32.19±0.40^{a}	31.19±0.30^{a}	14.80±0.31 $_{a}$	19.78±0.41 $_{a}$	13.35±0.50	100 ⁎100 (BD)
				P-Value			
0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	Omega 3
0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.71	Tryptophan
<.01	<.01	<.01	<.01	<.01	<.01	0.80	Omega3⁎Tryptophan

حروف غیر متشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان دادند که تغذیه امگا-۳ و ان-استیل تریپتوفان بر از سرگیری چرخه تخمدانی و دینامیک فولکیولی در گاوهای شیری هلشتاین طی دوره انتقال تاثیر مثبت داشت و با کوتاه کردن فاصله زایش تا اولین تخمک‌ریزی، از سرگیری سریع‌تر چرخه‌های تخمدانی پس از زایش و افزایش قطر فولکیول تخمک‌ریزی کننده و قطر جسم زرد تأثیر مثبتی در افزایش باروری داشت.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و در قالب رساله دکتری انجام شد.

References

Badiei, A., Aliverdilou, A., Amanlou, H., Beheshti, M., Dirandeh, E., & Masoumi, R. et al. (2014). Postpartum responses of dairy cows supplemented with n-3 fatty acids for different durations during the peripartal period. *Journal of Dairy Science*, 97(10), 6391–9.

Behrman, J. R., & Knowles, J. C. (2003). Economic Evaluation of Investments in Youth in Selected SEE Countries, Report prepared for the Social Development Initiative/ECA, *Washington*, DC: The World Bank. Processed.

Cheong, S. H., Ocilon Filho, G. S., Absalón-Medina, V. A., Pelton, S. H., Butler, W. R., & Gilbert, R. O. (2015). Metabolic and endocrine differences between dairy cows that do or do not ovulate first postpartum dominant follicles. *Biology of Reproduction*, 94(1).

Choi, W. T., Ghasem-Nejad, J., Moon, J. O., & Lee, H. G. (2021). Dietary supplementation of acetate-conjugated tryptophan alters feed intake, milk yield and composition, blood profile, physiological variables, and heat shock protein gene expression in heat-stressed dairy cows. *Journal of Thermal Biology*, 98, 102949.

Contreras-Correa, Z. E., Messman, R. D., Sanchez-Rodriguez, H., & Lemley, C. O. (2021). Examining Melatonin-induced Changes in Uterine Blood Flow and Vaginal Temperatures in Nutrient Restricted Pregnant Heifers. *Journal of Animal Science*, 99, 132-32.

Dirandeh, E., & Ghaffari, J. (2018). Effects of feeding a source of omega-3 fatty acid during the early postpartum period on the endocannabinoid system in the bovine endometrium. *Theriogenology*, 121,141–6.

Dirandeh, E., Towhidi, A., Ansari, Z., Zeinoaldini, S., & Ganjkhanlou, M. (2016). Effects of dietary supplementation with different polyunsaturated fatty acids on expression of genes related to somatotropic axis function in the liver, selected blood indicators, milk yield and milk fatty acids profile in dairy cows. *Annals of Animal Science*, 16(4), 1045–1058.

Dirandeh, E., Towhidi, A., Zeinoaldini, S., Ganjkhanlou, M., Ansari Pirsaraei, Z., & Fouladi-Nashta, A. (2013). Effects of different polyunsaturated fatty acid supplementations during the postpartum periods of early lactating dairy cows on milk yield, metabolic responses, and reproductive performances. *Journal of Animal Science,* 91(2), 713–21.

Gutiérrez Añez, J. C. (2021). Role of melatonin in bovine gametes competence and preimplantation embryo development in vitro', Dissertation, Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover, 20.

Heidari, F., Dirandeh, E., Pirsaraei, Z. A., & Colazo, M. G. (2017). Modifications of the G6G timed-AI protocol improved pregnancy per AI and reduced pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal*, 11(11), 2002–2009.

Jahani-moghadam, M., Mahjoobi, E., & Dirandeh, E. (2015). Effect of linseed feeding on blood metabolites, incidence of cystic follicles and productive andreproductive performances in fresh Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science,* 98, 1828–1835.

Kouno, Y., Anraku, M., Yamasaki, K., Okayama, Y., Iohara, D., Ishima, Y., Maruyama, T., Kragh-Hansen, U., Hirayama, F., & Otagiri, M. (2014). N-acetyl-l-methionine is a superior protectant of human serum albumin against photo-oxidation and reactive oxygen species compared to N-acetyl-l-tryptophan. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 26, 266-274.2.

Lee, S., Lee, K., Wang, T., Lee, J., Jung, U., Ghassemi-Nejad, J., Oh, Y., Baek, Y., Kim, K. H., & Lee, H. (2019). Intravenous administration of L-tryptophan stimulates gastrointestinal hormones and melatonin secretions: study on beef cattle. *Journal of Animal Science and Technology*, 61, 239.

Marin-Aguilar, M. A., Tinoco-Magana, J. C., Herrera-Camacho, J., Sanchez-Gil, L. G., Sanchez-Parra, V. M., Solorio-Rivera, J. L., & Garcia-Valladares, A. (2007). Resumption of ovarian activity and level of lipid metabolites in dairy cows supplemented with vegetable oil during the early postpartum. *Interciencia* 32, 180-184. [In Spanish, English abstract]

Mattos, R., Staples, C. R., Arteche, A., Wiltbank, M. C., Diaz, F. J., Jenkins, T. C., & Thatcher, W. W. (2004). The effects of feeding fish oil on uterine secretion of PGF2α, milk composition, and metabolic status of periparturient Holstein cows. *Journal of Dairy Science,* 87, 921-932.

Pires, J. A. A., Delavaud, C., Faulconnier, Y., Pomies, D., & Chilliard, Y. (2013). Effects of body condition score at calving on indicators of fat and protein mobilization of periparturient Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, *96*(10), 6423-6439.

Priatno, W., Jo, Y.H., Ghassemi Nejad, J., Lee, J. S., Moon, J. O., & Lee, H. G., (2020). Dietary supplementation of L-tryptophan increases muscle development and adipose tissue catabolism and fatty acid transportation in the muscles of steers. *Journal of Animal Science and Technology*, 62 (5), 595–604.

Richard, D. M., Dawes, M. A., Mathias, C. W., Acheson, A., Hill-Kapturczak, N., Dougherty, D. M. (2009). L-tryptophan: basic metabolic functions, behavioral research and therapeutic indications, *International Journal of Tryptophan Research*, 2: IJTR. S2129.

Shrestha, H. K., Nakao, T., Higaki, T., Suzuki, T., & Akita, M. (2004). Resumption of postpartum ovarian cyclicity in high-producing Holstein cows. *Theriogenology*, 61, 637–649.

Silvestre, F. T., Carvalho, T. S. M., Francisco, N., Santos, J. E. P., Staples, C. R., Jenkins, T. C., & Thatcher, W. W. (2011). Effects of differential supplementation of fatty acids during the peripartum and breeding periods of Holstein cows: I. Uterine and metabolic responses, reproduction, and lactation. *Journal of Dairy Science*, 94, 189–204.

Sina, M., Dirandeh, E., Deldar, H., & Shohreh, B. (2018). Inflammatory status and its relationships with different patterns of postpartum luteal activity and reproductive performance in early lactating Holstein cows. *Theriogenology*, 108, 262–268.

Stevenson, J. S. (1997). Clinical reproductive physiology of the cow. *In Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (ed. RS Younquist), pp. 257–267. WB Saunders, Philadelphia.

Victor, P., Sobiesiak, M., Glodny, J., Nielsen, S.N., & Oncken, O. (2011). Long term persistence of subduction earthquake segment boundaries: Evidence from Mejillones Peninsula, northern Chile, *Journal of Geophysical Research, Solid Earth*, 116.

Wegmann, H., Curtius, H., & Redweik, U. (1978). Selective ion monitoring of tryptophan, N-acetyltryptophan and kynurenine in human serum: Applicatin to the in vivo measurement of tryptophan pyrrolase activity, *Journal of Chromatography A*, 158, 305-312.

Yao, K., Fang, J., Yin, Y., Feng, Z., Tang, Z., & Wu, G. (2011). Tryptophan metabolism in animals: important roles in nutrition and health. *Frontiers in Bioscience-Scholar*, 3, 286-297.