"Research article" DOI: 10.30495/JVCP.2019.669191

Association of postpartum milk fat, protein and fat-to-protein ratio with 120 days pregnancy risk in Holstein dairy cows

Saranjam, N.[1], Farhoodi, M.[2*], Akbari, Gh.[3], Mohammadsadegh, M.[4], Farzaneh, N.[5]

1- D.V.M. Graduate, Department of Clinical Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran.
5- Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
*Corresponding author's email: farhoudi@kiau.ac.ir
(Received: 2018/12/11 Accepted: 2019/9/25)

Abstract

Induced lipolysis by negative energy balance causes an increase in milk fat, a decrease in milk protein, and also as a consequence an increase in milk fat to protein ratio (FPR). The objective of this study was to evaluate available data in each milk record such as fat, protein and their ratio, somatic cell count (SCC) and the history of dairy cows in order to determine pregnancy risk (PR) till 120 days in milk (DIM). Therefore, the information of 1,279 primiparous and multiparous Holstein dairy cows was collected on days 30 and 60 of DIM and near the first artificial insemination (AI) postpartum. The results illustrated the amount of milk fat, protein and FPR on day 30 of DIM in non-pregnant and pregnant groups were (2.67±1.2, 2.62±1.04 and 1.01±0.4) and (2.87±1.16, 2.76±0.95 and 1.03±0.36), on day 60 of DIM were (2.87±1.06, 2.7±0.86 and 1.06±0.35) and (2.97±1.15, 2.73±0.9 and 1.08±0.36), and near the first AI were (2.62±1.2, 2.53±1.04 and 1.03±0.4) and (2.8±1.24, 2.63±1.01 and 1.06±0.5), respectively, in which their effects on PR till 120 DIM were significant at two sampling times (p<0.05). The effect of SCC at day 60 of DIM on PR till 120 DIM was also significant (p=0.023); but none of the milk constituents and SCC had constant effect when analyzed by Logistic regression. Seasons of calving (p=0.02) and AI (p=0.00), previous DIM (p=0.001) and milk production (p=0.016) were analyzed by COX model and it was demonstrated that only previous DIM (p=0.021, Odds ratio=0.985) and season of AI (p=0.040, Odds ratio= 7.5) had significant effect on pregnancy till 120 DIM. The result of the present study shows that the effect of previous DIM and season of AI are significant on pregnancy till 120 DIM, but milk constituents had no effect on it.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Dairy cow, Pregnancy, Milk fat, Milk protein.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2019.669191

ارزیابی ارتباط بین میزان چربی، پروتئین و نسبت چربی به پروتئین شیر و نرخ آبستنی ۱۲۰ روزه در گاوهای شیری هلشتاین

نوید سرانجام[۱]، مهران فرهودی مقدم[۲*]، قاسم اکبری[۳]، مجید محمدصادق[٤]، نیما فرزانه[٥]

۱- دستیار دوره تخصصی مامایی و بیماری‌های تولیدمثل دام، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- دانشیار گروه مامایی و بیماری‌های تولیدمثل دام، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

۳- استادیار گروه مامایی و بیماری‌های تولیدمثل دام، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

٤- دانشیار گروه مامایی و بیماری‌های تولیدمثل دام، دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران.

۵- دانشیار گروه مامایی و بیماری‌های تولیدمثل دام، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: farhoudi@kiau.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۷/۹/۲۰ پذیرش نهایی: ۹۸/۷/۳)

چکیده

در لیپولیز ناشی از بالانس منفی انرژی، میزان چربی شیر افزایش و میزان پروتئین آن کاهش می‌یابد و بدین‌ترتیب نسبت چربی به پروتئین افزایش پیدا می‌کند. هدف مطالعه حاضر، استفاده از داده‌های موجود در هر رکورد شیر مانند چربی، پروتئین و نسبت آن‌ها، شمارش سلول‌های سوماتیک (somatic cell count; SCC) و نیز استفاده از سابقه گاوهای شیری، جهت پیش‌بینی وضعیت آبستنی ۱۲۰ روزه پس از زایش بود. بنابراین، رکورد ۱۲۷۹ رأس گاو هلشتاین یک شکم‌زا و چند شکم‌زا در روزهای ۳۰ و ٦۰ شیردهی و نیز در حوالی زمان تلقیح جمع‌آوری شد. یافته‌ها نشان داد در ارزیابی آبستنی تا روز ۱۲۰ پس از زایش، میزان چربی، پروتئین و نسبت آن‌ها (همگی برحسب درصد) در روز ۳۰ شیردهی در گروه‌های غیرآبستن و آبستن به ترتیب (۱/۲±۲/٦۷، ۱/۰٤±۲/٦۲ و ۰/٤±۱/۰۱) و (۱/۱٦±۲/۸۷، ۰/۹۵±۲/۷٦ و ۰/۳٦±۱/۰۳)، در روز ٦۰ شیردهی به ترتیب (۱/۰٦±۲/۸۷، ۰/۸٦±۲/۷ و ۰/۳۵±۱/۰٦) و (۱/۱۵±۲/۹۷، ۰/۹±۲/۷۳ و ۰/۳٦±۱/۰۸) و در حوالی تلقیح به ترتیب (۱/۲±۲/٦۲، ۱/۰٤±۲/۵۳ و ۰/٤±۱/۰۳) و (۱/۲٤±۲/۸، ۱/۰۱±۲/٦۳ و ۰/۵±۱/۰٦) بود که اختلاف آماری آن‌ها در دو زمان معنی‌دار برآورد شد (*p*<۰/۰۵). تأثیر SCC در روز ٦۰ شیردهی بر نرخ آبستنی ۱۲۰روزه معنی‌دار گزارش شد (*p*=۰/۰۲۳)، اما در آزمون رگرسیون لجستیک هیچ‌کدام از فاکتورهای شیر و SCC رابطه معنی‌داری با آبستنی ۱۲۰روزه نداشتند. مدل آماری کاکس در بررسی رابطه فصول زایش (*p*=۰/۰۲)، تلقیح (*p*=۰/۰۰)، روزهای شیردهی (*p*=۰/۰۰۱) و میزان تولید شیر (*p*=۰/۰۱٦) در دوره قبل با نرخ آبستنی ۱۲۰روزه نشان داد که تنها تعداد روزهای شیردهی قبلی دام (Odds ratio=۰/۹۸۵، *p*=۰/۰۲۱) و فصل تلقیح (Odds ratio=۷/۵، *p*=۰/۰٤۰) در آبستنی ۱۲۰روزه تأثیر دارند. نتایج این مطالعه نشان داد که فاکتورهای مربوط به شیر شامل چربی، پروتئین و نسبت آن‌ها بر نرخ آبستنی ۱۲۰روزه تأثیر نداشته و استراتژی‌های مدیریتی از جمله تعداد روزهای شیردهی قبلی دام و فصل تلقیح بر آن تأثیر معنی‌دار دارند.

کلیدواژه‌ها: گاوشیری، آبستنی، چربی شیر، پروتئین شیر.

مقدمه

امروزه به موازات استفاده از پیشرفت‌های علم ژنتیک در جهت تولید شیر بیشتر به ازای هریک رأس دام (Miksa *et al*., 2004; Patton *et al*., 2007) مسائلی همانند کاهش باروری و افزایش مشکلات سلامتی در گاوها به وجود آمده است. عوامل متعددی جهت توضیح علت مسائل مذکور بیان شده است، ازجمله فاکتورهای ژنتیکی، فیزیولوژیکی، تغذیه‌ای و مدیریتی (Butler and Smith., 1989; Coeffey *et al*., 2002; Madouasse *et al*., 2010; De Marchini *et al*., 2014). یکی از متداول‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار بر کاهش نرخ باروری، بالانس منفی انرژی می‌باشد که برای سلامت عمومی و به‌خصوص باروری گاو زیان‌آور بوده و برحسب زمان ممکن است پاتولوژیک یا فیزیولوژیک باشد (Ricardo and Chebel, 2007). پس از زایمان و هم‌زمان با آغاز دوره شیردهی، گاو وارد بالانس منفی انرژی شده و این دوره تقریباً ۱۲-۱۰ هفته به طول می‌انجامد (Butler, 2003). بالانس شدید منفی انرژی که عمدتاً در طی ٤-۳ هفته اول پس از زایش دیده می‌شود، باعث کاهش باروری (Buckley *et al*., 2003, Miksa *et al*., 2004; Waldmann *et al*., 2006)، افزایش احتمال بروز بیماری‌های متابولیکی، کاهش عملکرد سیستم ایمنی بدن (Ricardo and Chebel., 2007)، شروع دیرهنگام فعالیت بافت لوتئال، کاهش بروز فحلی، افزایش تعداد روزهای باز (Loeffler *et al*., 1999)، کاهش ظرفیت تولید شیر و افزایش فاصله زایش تا اولین تخمک‌گذاری می‌شود (Butler, 2003). همچنین علاوه بر اثرات بالانس منفی انرژی در افت میزان باروری گاوهای چندشکم‌زا، غلظت هورمون‌های تیروئیدی، به‌ویژه T4 در مرحله قبل و پس از زایش نیز کاهش پیدا می‌کند (Davasaztabrizi and Mehrani, 2017). علاوه براین، در بالانس منفی انرژی، غلظت انسولین، فاکتور رشد شبه‌انسولینی ۱ (insulin growth factor-1; IGF-1)، گلوکز و کلسترول کاهش پیداکرده و برعکس غلظت اوره و اسیدهای چرب غیراشباع (non-esterified fatty acids; NEFA) افزایش پیدا می‌کند (Ricardo and Chebel, 2007).

در دام‌پروری صنعتی، نظارت بر بالانس انرژی نیازمند اندازه‌گیری منظم دریافت غذا و سایر متغیرهای اجزاء تولید در تک‌تک گاوها است که این کار هزینه‌بر بوده و عملاً در دام‌پروری‌های صنعتی غیرممکن است (Berry *et al*., 2003, Konigsson *et al*., 2008, Podpecan *et al*., 2010)، بنابراین انگیزه پراهمیتی برای یافتن شاخص قابل‌اعتماد و با دقت بالا برای بالانس منفی انرژی وجود دارد (Coffey *et al*., 2001). در این ارتباط چندین شاخص و اجزاء بیوشیمی خونی مانند لپتین، NEFA و IGF-1 در مطالعات مختلف مطرح‌شده است (Loker *et al*., 2011; Hudson *et al*., 2012)، اما معایبی همچون گرانی و تهاجمی‌بودن و سختی انجام روند کار در دام‌پروری را به دنبال دارد (Mackle *et al*., 2000). امتیاز وضعیت بدنی (body condition score; BCS) نیز یکی از این شاخص‌ها بوده و در بیشتر گونه‌ها جهت ارزیابی ذخایر بدن و وضعیت انرژی به‌طور گسترده‌ای استفاده می‌شود (Pryce *et al*., 2000; Negussie *et al*., 2013; De Marchi *et al*., 2014). اما به‌هرحال، BCS یک شاخص ذهنی بوده و تمایل برای جایگزینی آن با شاخص‌های دقیق‌تر وجود دارد (Kawai *et al*., 1999; De Marchi *et al*., 2014).

به هنگام ایجاد بالانس منفی انرژی ناشی از لیپولیز پس از زایش، درصد چربی شیر افزایش و درصد پروتئین آن کاهش پیدا می‌کند (DePeters and Cant., 1992; Hamann and Kromker, 1997; De Marchi *et al*., 2014) و در نتیجه نسبت چربی به پروتئین افزایش می‌یابد. بنابراین، می‌توان از داده‌های اجزاء شیر مانند چربی، پروتئین، نسبت چربی به پروتئین و سلول‌های سوماتیک (SCC) که در تمام رکوردها در دسترس هستند، به‌منظور بررسی مشکل مذکور استفاده نمود (Mackle *et al*., 2000). همچنین از نسبت چربی به پروتئین شیر، علاوه بر تخمین نرخ آبستنی آینده حیوان، در پیش‌بینی سایر اختلالات و بیماری‌های متداول پس از زایش نیز می‌توان استفاده نمود. به‌عنوان مثال، افزایش نسبت چربی به پروتئین در اولین آزمایش انجام گرفته از شیر، احتمال جابجایی شیردان را ۸/٦ برابر بیشتر می‌کند. لذا، این نسبت به‌عنوان یک شاخص مفید برای بررسی جابجایی شیردان مطرح شده است. همچنین از نسبت چربی به پروتئین شیر به‌عنوان یک شاخص بالقوه در تخمین میزان انرژی غذا نیز استفاده شده است (Gwazdauskas *et al*., 1973).

با توجه به موارد ذکر شده، هدف این مطالعه اخذ داده‌های موجود در هر رکورد شیر (چربی، پروتئین و نسبت آن‌ها) در روزهای ۳۰ شیردهی، ٦۰ شیردهی و حوالی اولین تلقیح و نیز SCC در روز ٦۰ شیردهی و همچنین سابقه دام شامل تعداد زایش، فصل زایش، فصل اولین تلقیح پس از زایش، طول دوره خشکی قبلی، میزان تولید شیر در دوره قبلی (۳۰۵ روزه) و ارزیابی رابطه آن‌ها با نرخ آبستنی ۱۲۰ روزه پس از زایش در گاوهای شیری هلشتاین بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در تعداد ۱۰ گله گاو شیری هلشتاین با ظرفیت‌های مختلف (از ٤۰۰ تا ۱۵۰۰ رأس گاو شیری) از زمستان ۹۵ الی زمستان ۹٦ در تهران و اطراف آن انجام شد. سیستم تمام گله‌های فوق فری‌استال (free-stall) بود. جیره گاوها طوری تنظیم شده‌بود تا توانایی تولید حدود ۳۵ کیلوگرم شیر، علاوه بر تأمین نیازهای خود را داشته باشند (بر اساس NRC, 2001). اجزای اصلی جیره شامل جو، ذرت، سیلوی ذرت، یونجه و کنسانتره بود. همچنین گاوها در گله‌های مورد مطالعه دسترسی آزاد به آب داشتند. نمونه‌برداری مجموعاً از شیر ۱۲۷۹ رأس گاو شیری یک‌شکم‌زا و چندشکم‌زا (۵-۲ زایش)، در روزهای ۳۰ و ٦۰ شیردهی و نیز حوالی تلقیح انجام شد. تمام گله‌های مورد مطالعه از برنامه تجاری مدیریت تولیدمثلی جهت ثبت اطلاعات تولید و تولیدمثل ازجمله فحلی، تلقیح و اطلاعات باروری استفاده می‌کردند. پروتکل هم‌زمانی مورد استفاده در گاوهای یک‌شکم‌زا عمدتاً دابل‌اوسینک (double-ovsynch) و در چندشکم‌زاها عموماً پره‌سینک-اوسینک (presynch-ovsynch) بود که در برخی از مراحل اجرای پروتکل، توسط دامپزشک فارم، التراسونوگرافی انجام می‌شد (پروتکل دابل‌اوسینک اجراشده بدین‌شرح بود: تزریق GnRH، ۷ روز بعد تزریق $PGF_{2\alpha}$، ۳ روز بعد تزریق GnRH، ۷ روز بعد تزریق GnRH، ۷ روز بعد تزریق $PGF_{2\alpha}$، ۲ روز بعد تزریق GnRH و ۱٦ ساعت بعد تلقیح اجباری صورت گرفت (Souza *et al*., 2008). پروتکل پره‌سینک-اوسینک نیز به این صورت اجرا شد: تزریق $PGF_{2\alpha}$، ۱٤ روز بعد تزریق $PGF_{2\alpha}$، ۱۲ روز بعد تزریق GnRH، ۷

روز بعد تزریق $PGF_{2\alpha}$، ۲ روز بعد تزریق GnRH و ۱۶ ساعت بعد تلقیح اجباری صورت گرفت (Moreira *et al.*, 2001)). اطلاعات مامایی و تولیدمثلی تمام گاوها ازجمله تاریخ زایش و اطلاعات مربوط به آن از قبیل سخت‌زایی، مشکلات حوالی زایش مانند جفت‌ماندگی و عفونت‌های رحمی، فحلی، تلقیح، تاریخ و نتیجه معاینات التراسونوگرافی به‌دقت ثبت شد. علاوه بر این‌ها گاوهایی که تلقیح نشده و بنا به دلایلی از گله حذف شدند، نیز مشخص گردیدند. اطلاعات جمع‌آوری‌شده وارد نرم‌افزار مدیریت دام‌پروری (مدیران®) شد تا پروسه کار به‌دقت صورت گیرد. گاوهایی که در اواسط پروتکل علائم فحلی را نشان می‌دادند، تلقیح شده و آن‌هایی که فحل نمی‌شدند وارد پروتکل همزمانی با تلقیح اجباری می‌شدند. در تمام گله‌ها تست آبستنی بین روز ۳۵-۳۰ پس از تلقیح توسط دامپزشک مربوطه با التراسونوگرافی انجام گردید. گاوها در تمام گله‌های مورد مطالعه روزانه سه بار دوشیده می‌شدند. همچنین برای هر رأس گاو تعداد شکم، فصل زایش، فصل اولین تلقیح پس از زایش، طول دوره خشکی قبلی، میزان تولید شیر در دوره قبلی (۳۰۵ روزه)، داده‌های مربوط به شیر مانند درصد چربی، پروتئین و نسبت چربی به پروتئین در روزهای ۳۰ و ۶۰ شیردهی و حوالی اولین تلقیح پس از زایش و SCC در روز ۶۰ شیردهی جمع‌آوری و در نرم‌افزار Excel ثبت شد. لازم به ذکر است که میزان چربی و پروتئین با دستگاه ECOMILK ULTRA PRO (Bulteh 2000 Ltd; Bulgaria) و SCC با دستگاه فوزماتیک 5000 و یا دستگاه فوزوماتیک FC (Fossomatic™; FOSS CO; Denmark) اندازه‌گیری می‌شد.

لازم به ذکر است که SCC روز ۶۰ به ۵ گروه طبقه‌بندی گردید: ۱- کمتر از $۱۰^{۳} \times ۲۰۰$ سلول در هر میلی‌لیتر، ۲- بین $۱۰^{۳} \times ۲۰۱$ تا $۱۰^{۳} \times ۵۰۰$ سلول در هر میلی‌لیتر، ۳- بین $۱۰^{۳} \times ۵۰۱$ تا $۱۰^{۶} \times ۱/۵$ سلول در هر میلی‌لیتر، ٤- بین $۱۰^{۶} \times ۱/۵$ تا $۱۰^{۶} \times ۵$ سلول در هر میلی‌لیتر و ۵- بالاتر از $۱۰^{۶} \times ۵$ سلول در هر میلی‌لیتر (Constable *et al.*, 2017). همچنین گاوهایی که پس از زایمان دچار سخت‌زایی، جفت ماندگی، عفونت‌های رحمی (متریت، اندومتریت بالینی و پیومترا)، ورم پستان بالینی، لنگش، بیماری‌های متابولیکی مانند تب شیر و کتوز بالینی بودند و نیز گاوهایی که BCS آن‌ها خارج از دامنه بین ۱/۷۵ تا ۳/۷۵ بود، از چرخه مطالعه خارج گردیدند.

- **تحلیل آماری داده‌ها:** از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (One-Sample Kolmogorov-Smirnov) برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌های کمی و از آزمون مان ویتنی (Mann-Whitney) برای مقایسه داده‌های کمی فاقد توزیع نرمال استفاده شد. در مقایسه توزیع مطلق و نسبی داده‌های کیفی هم از آزمون مربع کای (Chi-Square Test) و آزمون دقیق فیشر (Fishers Exact Test) برحسب مورد استفاده‌شد. از آزمون گروه Survival از نوع رگرسیون کاکس (Cox Regression) نیز برای سنجیدن تأثیر متغیرهای مختلف بر فاصله زایمان تا آبستنی و برآورد نسبت خطر (Hazard ratio) استفاده شد. همچنین از آزمون رگرسیون لجستیک (Logistic Regression) برای سنجیدن تأثیر متغیرهای مختلف و برآورد نسبت شانس (Odds ratio) استفاده شد. برای سنجش ارتباط میان متغیرهای مختلف هم، در مورد متغیرهای قابل

انـدازه‌گیری از آزمـون پیرسـون (Pearson Test)، در مورد متغیرهای رتبه‌ای از آزمون اسپیرمن (Spearman Test) و در خصوص متغیرهـای نـاهمگون، از آزمـون کندال (Kendall Test) استفاده‌شد. لازم به ذکـر اسـت که از لحاظ آماری در این مطالعـه خطـای نـوع اول بـا سطح معنـی‌داری α=۰/۰۵ و فاصـله اطمینـان ۰/۹۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بر اساس نتایج ثبت شده در جدول ۱، میزان چربی و پـروتئین شـیر در روز ۳۰ شـیردهی گاوهـای گـروه غیرآبستن به ترتیب۲/٦۷ درصد و ۲/٦۲ درصد و نسبت آن‌هـا ۱/۰۱ و در مـورد گاوهـای گـروه آبسـتن بـه ترتیب۲/۸۷ درصد و ۲/۷٦ درصـد و نسـبت آن‌هـا هـم ۱/۰۳ بود کـه اخـتلاف آمـاری بـین دو گـروه معنـی‌دار برآورد شد (p<۰/۰۵). همچنین میزان چربی و پـروتئین شیر در روز ٦۰ شیردهی گاوهای گـروه غیـرآبسـتن بـه ترتیب ۲/۸۷ درصد و ۲/۷ درصد و نسبت آن‌ها ۱/۰٦ و در مورد گاوهای گروه آبستن به ترتیب ۲/۹۷ درصـد و ۲/۷۳ درصد و نسبت آن‌ها هم ۱/۰۸ بـود کـه اخـتلاف آماری بین دو گروه معنی‌دار نبود. از طرف دیگـر میـزان چربی و پروتئین شیر گاوهای گروه غیرآبستن در حوالی زمان تلقـیح بـه ترتیـب ۲/٦۲ درصـد و ۲/۵۳ درصـد و نسبت آن‌ها ۱/۰۳ و در مورد گاوهای گـروه آبسـتن بـه ترتیب ۲/۸ درصد و ۲/٦۳ درصـد و نسـبت آن‌هـا هـم ۱/۰٦بود کـه اخـتلاف آمـاری بـین ایـن دو گـروه نیـز معنی‌دار برآورد شد (p<۰/۰۵). البته در تحلیلی کـه بـا مدل آماری لجستیک و آنالیز بقای کاکس انجام گرفـت، مشخص گردید که یافته‌های آمـاری معنـی‌دار در مـورد میزان چربی و پروتئین شـیر و نسـبت آن‌هـا در روز ۳۰ شـیردهی و زمـان حـوالی تلقـیح، هیچ‌کـدام معنـی‌دار نبودند.

جدول ۱- مقایسه درصد چربی و پروتئین شیر گاو و نسبت آن‌ها در دام‌های آبستن و غیرآبستن تا روز ۱۲۰ پس از زایش

نوع نمونه	شیر گاو غیرآبستن			شیر گاو آبستن		
پارامتر بررسی‌شده	تعداد نمونه	میانگین±انحراف معیار (درصد)	میانه	تعداد نمونه	میانگین±انحراف معیار (درصد)	میانه	مقدار p-value
چربی روز ۳۰	٤۷۹	۲/۱±٦۷/۲	۳*	۸۰۰	۲/۱±۸۷/۱٦	۳#	۰/۰۰۲
پروتئین روز ۳۰	٤۷۹	۲/۱±٦۲/۰٤	۲/۹٦*	۸۰۰	۲/۰±۷٦/۹۵	۳#	۰/۰۰٤
نسبت چربی به پروتئین در روز ۳۰	٤۷۹	۱/۰±۰۱/٤	۱*	۸۰۰	۱/۰±۰۳/۳٦	۱#	۰/۰۱۹
چربی روز ٦۰	٤۷۹	۲/۱±۸۷/۰٦	۳*	۸۰۰	۲/۱±۹۷/۱۵	۳/۱*	۰/۱٦
پروتئین روز ٦۰	٤۷۹	۲/۰±۷/۸٦	۲/۹*	۸۰۰	۲/۰±۷۳/۹	۲/۹*	۰/۰۷۸
نسبت چربی به پروتئین در روز ٦۰	٤۷۹	۱/۰±۰٦/۳۵	۱*	۸۰۰	۱/۰±۰۸/۳٦	#۱	۰/۰۷۵
چربی زمان تلقیح	٤۷۹	۲/۱±٦۲/۲	۲/۹*	۸۰۰	۲/۱±۸/۲٤	۳#	۰/۰۰۲
پروتئین روز تلقیح	٤۷۹	۲/۱±۵۳/۰٤	۲/۸۵*	۸۰۰	۲/۱±٦۳/۰۱	۲/#۹	۰/۰۰۷
نسبت چربی به پروتئین زمان تلقیح	٤۷۹	۱/۰±۰۳/٤	۱*	۸۰۰	۱/۰±۰٦/۵	۰/#۳۹	۰/۰۰۷

*# علائم متفاوت، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین فاکتورهای شیر و وضعیت آبستنی تا روز ۱۲۰ شیردهی است.

از تعداد ۱۲۷۹ رأس دام مورد آزمایش، ٤٧٩ رأس در گروه غیرآبستن با میانگین SCC ۱۲۹/۹ و میانه ٤٣ و ۸۰۰ رأس از آن‌ها هم در گروه آبستن با میانگین SCC ١٦٦/٣ و میانه ٤٠ قرارگرفتند. بررسی نتیجه SCC شیر دام‌های آبستن و غیرآبستن در روز ٦٠ شیردهی نشان داد که تأثیر میزان این متغیر در نتیجه آبستنی تا روز ۱۲۰ شیردهی معنی‌دار نبود (p=۰/۲). پس از طبقه‌بندی SCC به گروه‌های مختلف که پیش‌تر ذکر گردید، رابطه آن در تمام گروه‌ها معنی‌دار گزارش شد (p=۰/۰۲۳). رابطه معنی‌داری بین SCC و نرخ آبستنی ۱۲۰روزه در آنالیزهای صورت گرفته با مدل آماری لجستیک و آزمون بقای کاکس گزارش نشد. در جدول ۲ تعداد دام‌های آبستن و غیرآبستن در هر گروه و درصد آبستنی آن‌ها ارائه شده است.

جدول ۲- طبقه‌بندی نتیجه شمارش سلول‌های سوماتیک به گروه‌های مختلف، در دام‌های آبستن و غیرآبستن (p=۰/۰۲۳)*

نتیجه شمارش سلول‌های سوماتیک		دام غیرآبستن	دام آبستن	جمع کل دام‌های غیرآبستن و آبستن
کمتر از ۲۰۰×۱۰^{۳}	تعداد	٤١٥	٦٨٨	۱۱۰۳
	نرخ آبستنی تا روز ۱۲۰ شیردهی (درصد)	٨٦/٦	٨٦	٨٦/٣
بین ۲۰۱×۱۰^{۳}	تعداد	٣٩	٥٩	٩٨
تا ۵۰۰×۱۰^{۳}	نرخ آبستنی تا روز ۱۲۰ شیردهی (درصد)	٨/١	٧/٤	٧/٧
بین ۵۰۱×۱۰^{۳}	تعداد	٢٠	٣٤	٥٤
تا $۱/۵\times۱۰^{٦}$	نرخ آبستنی تا روز ۱۲۰ شیردهی (درصد)	٤/٢	٤/٣	٤/٢
بین $۱/۵\times۱۰^{٦}$	تعداد	٥	١٨	٢٣
تا ۵×۱۰^{٦}	نرخ آبستنی تا روز ۱۲۰ شیردهی (درصد)	١	٢/٣	١/٨
بالای ۵×۱۰^{٦}	تعداد	٠	١	١
	نرخ آبستنی تا روز ۱۲۰ شیردهی (درصد)	٠	٠/١	٠/١

*: p<۰/۰۵ نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

رابطه طول دوره شیردهی و میزان تولید شیر در دوره قبل و رکورد تولید شیر در روزهای ۳۰ و ٦٠ شیردهی در دام‌های آبستن و غیرآبستن نیز در جدول ۳ ارائه شده‌است که از بین متغیرهای فوق فقط رابطه طول دوره شیردهی قبلی دام (p=۰/۰۰۱) و میزان تولید شیر در دوره قبل (p=۰/۰١٦) معنی‌دار بود اما رابطه این متغیرها بر نتیجه آبستنی ۱۲۰روزه بر اساس آنالیز با آزمون بقا، معنی‌دار نبود. همچنین در خصوص تعداد شکم زایش و رابطه آن با نرخ آبستنی ۱۲۰روزه، مشخص گردید که تعداد ٤٧٩ رأس گاو شیری با میانگین شکم زایش معادل ۲/٤٣ شیردهی و میانه ۲ در گروه غیرآبستن و تعداد ۸۰۰ رأس گاو شیری هم با میانگین شکم زایش معادل ۲/۱۲ شیردهی و میانه ۱ در گروه آبستن قرار گرفتند و رابطه آن با نرخ آبستنی ۱۲۰

روزه معنی‌دار بود (p=۰/۰۰) اما این متغیر در بررسی با مدل آماری لجستیک و آنالیز بقای کاکس تأثیر معنی‌داری در نتیجه آبستنی ۱۲۰ روزه نشان نداد.

جدول ۳- رابطه طول دوره شیردهی و میزان تولید شیر در دوره قبل و رکورد تولید شیر در روزهای ۳۰ و ۶۰ شیردهی

وضعیت دام	غیرآبستن			آبستن		
تاریخچه مربوط به تولید دام	تعداد	میانگین±انحراف معیار	میانه	تعداد	میانگین±انحراف معیار	میانه
طول دوره شیردهی قبلی به روز (p=۰/۰۰۱)*	٤٧٩	۷۹/۳±۱۵٤/۵	۰	۸۰۰	۵۱/۷±۱۲۵/۹	۰
میزان تولید شیر در دوره قبلی به کیلوگرم (p=۰/۰۱۶)*	٤٧٩	۱۹۳۹/۵±٤٦۲۳/٤	۰	۸۰۰	۱۳۳۰/۷±۳۸٦٤/۷	۰
رکورد تولید شیردر روز۳۰ شیردهی به کیلوگرم (p=۰/۱۲۹)*	٤٧٩	٤۰/۵±۹/۵	٤۰/٦	۸۰۰	۳۹/۹±۹/٦	٤۰
رکورد تولید شیردر روز ٦۰ شیردهی به کیلوگرم (p=۰/۱٦۸)*	٤٧٩	٤۲/۵±۱۰/۲	٤۳	۸۰۰	٤۱/۷±۱۰/۵	۳۸

*: p<۰/۰۵ نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

همچنین بررسی رابطه بین فصول مختلف تلقیح با نرخ آبستنی۱۲۰ روزه که در جدول ٤ با جزئیات ارائه شده نشان داد که میزان آن در فصل بهار در مورد گاوهای غیرآبستن و آبستن به ترتیب ۹/٦ و ۲۳/۸ درصد، در فصل تابستان به ترتیب ۲۸ و ۵۰/٤ درصد، در فصل پاییز به ترتیب ٤٤/۵ و۱۷ درصد و در فصل زمستان نیز به ترتیب ۱۸ و ۸/۹ درصد بود که در مدل آماری لجستیک نیز اختلاف معنی‌داری بین فصول تلقیح و نرخ آبستنی۱۲۰ روزه گزارش گردید (p=۰/۰۰).

جدول ٤- ارزیابی اثر فصل تلقیح بر میزان آبستنی در دام‌های آبستن شده و نشده تا روز ۱۲۰ شیردهی (p=۰/۰۰)*

فصل		وضعیت آبستنی تا روز۱۲۰		جمع‌کل دام‌های
		غیرآبستن	آبستن	غیرآبستن و آبستن
بهار	تعداد	٤٦	۱۹۰	۲۳٦
	میزان آبستنی تا روز ۱۲۰ (درصد)	۹/٦	۲۳/۸	۱۸/۵
تابستان	تعداد	۱۳٤	٤۰۳	۵۳۷
	میزان آبستنی تا روز ۱۲۰ (درصد)	۲۸	۵۰/٤	٤۲
پاییز	تعداد	۲۱۳	۱۳٦	۳٤۹
	میزان آبستنی تا روز ۱۲۰ (درصد)	٤٤/۵	۱۷	۲۷/۳
زمستان	تعداد	۸٦	۷۱	۱۵۷
	میزان آبستنی تا روز ۱۲۰ (درصد)	۱۸	۸/۹	۱۲/۳

*: p<۰/۰۵ نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

در مطالعه حاضر تأثیر فصول مختلف زایش بر میزان آبستنی، در دام‌های آبستن و غیرآبستن تا روز۱۲۰ پس از زایش نیز بررسی شد. نتایج نشان داد که در فصل بهار تعداد گاوهای غیرآبستن و آبستن به ترتیب ۲۹٤ و ۳۹۱ رأس (کل: ٦۸۵ رأس)، در فصل تابستان به ترتیب ۷۲ و ۲۱۷ رأس (کل: ۲۸۹ رأس)، در فصل پاییز به ترتیب ٤۷ و ۷۱ رأس (کل: ۱۱۸ رأس) و در فصل زمستان نیز به ترتیب ٦٦ و ۱۲۱ رأس (کل: ۱۸۷ رأس) بود که اختلاف آماری بین آن‌ها معنی‌دار بود (p=۰/۰۲٤). اما در آنالیز بقای کاکس اختلاف آماری مذکور معنی‌دار گزارش نشد (جدول ۵).

جدول ۵- ارزیابی اثر فصل زایش بر میزان آبستنی در دام‌های آبستن شده و نشده تا روز ۱۲۰ شیردهی (p=۰/۰۲)*

فصل		وضعیت آبستنی تا روز۱۲۰		جمع‌کل دام‌های
		غیرآبستن	آبستن	غیرآبستن و آبستن
بهار	تعداد	۲۹٤	۳۹۱	٦۸۵
	میزان آبستنی تا روز ۱۲۰ (درصد)	٦۱/٤	٤۸/۹	۵۳/٦
تابستان	تعداد	۷۲	۲۱۷	۲۸۹
	میزان آبستنی تا روز ۱۲۰ (درصد)	۱۵	۲۷/۱	۲۲/٦
پاییز	تعداد	٤۷	۷۱	۱۱۸
	میزان آبستنی تا روز ۱۲۰ (درصد)	۹/۸	۸/۹	۹/۲
زمستان	تعداد	٦٦	۱۲۱	۱۸۷
	میزان آبستنی تا روز ۱۲۰ (درصد)	۱۳/۸	۱۵/۱	۱٤/٦

*: p<۰/۰۵ نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

آزمون لجستیک در بررسی اثر کوواریانت‌های مختلف معنی‌دار بر آبستنی تا روز ۱۲۰ پس از زایش نشان داد که روزهای شیردهی قبلی (p=۰/۰۲۱، Odds ratio=۰/۹۸۵) و فصل تلقیح (p=۰/۰٤۰، Odds ratio=۷/۵) تأثیر پایداری داشته‌اند، ولی با این‌وجود هیچ‌کدام از کوفاکتورهای مورد مطالعه در بررسی با مدل آماری کاکس و برآورد Hazard ratio رابطه پایدار معنی‌داری بر فاصله زایمان تا زمان آبستنی نشان ندادند.

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های مربوط به بررسی برخی از فاکتورهای شیر در مطالعه حاضر نشان داد که میزان چربی و پروتئین شیر و نیز نسبت آن‌ها در روز۳۰ شیردهی و حوالی زمان تلقیح، رابطه معنی‌داری با آبستنی ۱۲۰روزه دارد ولی در آنالیز با آزمون بقا، این رابطه بادوام نبود و بنابراین از نظر آماری، رابطه مذکور در آبستن شدن دام‌ها معنی‌دار گزارش نشد. می‌توان اظهار داشت که کاهش پروتئین شیر یک ویژگی ثابت در بالانس منفی انرژی بوده و تمام گاوها پس از زایش وارد این دوره می‌شوند. پروتئین شیر در غده پستانی ساخته شده و نیازمند تامین اسیدآمینه و انرژی از گردش خون است.

تلاش جهت پیش‌بینی مقدار پروتئین شیر از اسید آمینه همواره ناامیدکننده بوده و در مطالعه حاضر نیز آشکار شد که سیگنال‌های مولکولی برای سنتز پروتئین شیر قادر به پاسخ به انواع سیگنال‌های تغذیه‌ای و هورمونی است و تنها از روی یک فاکتور نمی‌توان مقدار پروتئین شیر را برآورد نمود. طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۱٦ گزارش شده که پروتئین بالای شیر در ٤ هفته اول شیردهی با فاصله زمانی کوتاه از زمان زایش تا اولین فعالیت بافت لوتئال، فاصله زمانی کوتاه بین زایش تا اولین تلقیح، افزایش نرخ موفقیت در اولین تلقیح و کاهش تعداد تلقیح به ازای آبستنی به‌طور چشمگیری مرتبط است، اما بافاصله زایش تا آبستنی ارتباطی ندارد (Morton *et al*., 2016). همچنین در آن مطالعه نشان داده شد که میزان پروتئین شیر از روز صفر تا ۳۰ شیردهی به‌اندازه میزان آن از روز ۳۰ تا ٦۰ شیردهی با کارایی تولیدمثلی ارتباط قوی ندارد. بنابراین، ارتباط بین غلظت پروتئین شیر و کارایی تولیدمثلی احتمالاً به دلیل فاکتورهایی به‌غیر از بالانس منفی انرژی در اوایل شیردهی است. همچنین گزارش شده است که غلظت پروتئین شیر ارث‌پذیر بوده اما تحت تأثیر فاکتورهای تغذیه‌ای و محیطی نیز می‌باشد (Morton *et al*., 2017). برخلاف نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر، در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۵ در ۲۲ گله شیری در امریکا انجام گرفته، یک ارتباط معکوسی بین نرخ آبستنی و مقدار چربی در اولین دوره شیردهی در ۱٦٤۰ رأس گاو مورد مطالعه، گزارش شده‌است (Kristula *et al*., 1995). همچنین در سال ۱۹۹۹ نشان داده‌اند که تغییر در درصد چربی و نیز نسبت چربی به پروتئین شیر در مراحل اول شیردهی، تأثیر منفی بر موفقیت اولین تلقیح دارد (Loeffler *et al*., 1999). در مطالعه‌ای هم که در سال ۲۰۱٦ در انگلستان انجام شده، گزارش کرده‌اند که درصد چربی شیر از روز صفر تا ۳۰ پس از زایش با احتمال آبستنی تا روز ۱۰۰ شیردهی ارتباط عکس داشته، اما تا روز ۱۵۰ شیردهی، فاکتور مذکور با موضوع فوق، هیچ‌گونه ارتباطی ندارد. این یافته پیشنهاد می‌کند که استفاده از درصد چربی در پیش‌بینی کارایی تولیدمثلی ممکن است محدودیت داشته باشد (Cook and Green, 2016).

تاکنون ارتباط بین نسبت چربی به پروتئین شیر در اولین آزمایش شیر در مرحله پس از زایش و بیماری‌ها (به‌غیراز left displaced abomasum; LDA) یا باروری در گاوهای هلشتاین بررسی نشده‌است (Heuer *et al*., 1999). البته در یک مطالعه هیچ ارتباط مهمی بین نسبت چربی به پروتئین شیر در اولین آزمایش شیر پس از زایش و کیست‌های تخمدانی، ناهنجاری‌های واژنی-رحمی، یا تعداد روزهای باز یافت نشده‌است (Detilleux *et al*., 1997). بااین‌حال، علی‌رغم استفاده متداول از نسبت چربی به پروتئین به‌عنوان مقیاس بالانس انرژی، پارامتر فوق تغییرپذیری زیادی با مرحله شیردهی و زمان سال نشان داده و توانایی بسیار کمی جهت پیش‌بینی زودهنگام آبستنی نسبت به مقدار شیر و ترکیبات آن دارد (Madouasse *et al*., 2010).

از طرف دیگر علی‌رغم این‌که در مطالعه حاضر، ارتباط آماری مابین مقدار SCC محاسبه‌شده با میزان آبستنی ۱۲۰روزه فقط در روز ٦۰ پس از زایش معنی‌دار به‌دست آمد (p=۰/۰۲) ولی پس از آنالیز آماری با آزمون بقا مشخص گردید که رابطه مذکور بادوام نبوده و این ارتباط معنی‌دار نیست. در این مطالعه مقدار SCC تنها

در مرحله قبل از تلقیح بررسی شد و امکان بررسی SCC در مرحله پس از تلقیح که تأثیر منفی شدیدی بر نرخ گیرایی دام نسبت به SCC قبل از تلقیح دارد (Albaaj *et al*., 2017)، وجود نداشت. چراکه مشخص نیست گاوهایی که SCC آنها در مراحل اول شیردهی بالا یا پایین بود در مراحل بعدی یعنی در زمان تلقیح و حتی پس از آن وضعیت SCC آنها چگونه تغییر یافت. تنها در یک مطالعه تأکید شده است که مقدار SCC بالا در مرحله قبل از زایش تأثیر سوء بر موفقیت آبستنی دارد (Miller *et al*., 2001). تأثیر ورم پستان بر موفقیت آبستنی به نظر می‌رسد که در فرم بالینی بیش از تحت‌بالینی و در SCC بالا بیش از SCC پایین باشد (Lomander *et al*., 2013). مهم‌ترین دوره زمانی که ورم پستان می‌تواند موفقیت آبستنی را کاهش دهد، زمان تلقیح یا در خلال ماه پس از تلقیح است (Hudson *et al*., 2012). در حقیقت یک ارتباط منفی بین SCC و کارایی تولیدمثلی وجود دارد (Hudson *et al*., 2012). همچنین گزارش شده است که تغییر در SCC ممکن است نشان‌دهنده تأثیر مستقیم عفونت تحت‌بالینی پستان بر عملکرد تولیدمثلی (Lavon *et al*., 2011) یا بیانگر شاخصی از مسائل متابولیکی باشد (Van Straten *et al*., 2009). نشان داده‌اند که هر دو نوع ورم پستان بالینی و تحت‌بالینی بر پارامترهای تولیدمثلی اثر گذاشته و باعث افزایش فاصله زایش تا آبستنی، تعداد تلقیح به ازای آبستنی و روزهای باز می‌شود. همچنین نسبت شانس (Odds ratio) بین ورم پستان بالینی یا SCC بالا و آبستنی موفق از ۴۰ درصد تا ۸۵ درصد متغیر است (Barker *et al*., 1998). مکانیسمی که در آن ورم پستان بالینی یا تحت‌بالینی به‌طور بالقوه با آبستنی دچار اثر متقابل است، ممکن است شامل تغییر در پروفایل اندوکرینی و تکامل فولیکلی، مهار LH و FSH از طریق آزادسازی سیتوکین و زنده‌مانی رویان داخل رحم باشد. این‌که چطور ارتباط بین التهاب پستان و نارسایی تولیدمثلی ممکن است تغییراتی را در شبکه سیتوکین ایجاد کند، نا آشکار است (Butler, 2003).

در مطالعه حاضر فصل زایش و فصل تلقیح هر دو بررسی و در نهایت رابطه فصل تلقیح با آبستنی ۱۲۰روزه با استفاده از مدل آماری لجستیک معنی‌دار گزارش شد. هم‌راستا با نتایج ما در تحقیقی در سال ۲۰۱۶ در انگلستان نیز چنین گزارش شده که فصل زایش تأثیری در احتمال آبستنی تا روز ۱۰۰ شیردهی نداشته، اما تأثیر خود را تا روز ۱۵۰ شیردهی بر نتایج تولیدمثلی می‌گذارد (Cook and Green, 2016). البته توضیح این یافته مشکل است، چراکه اولاً نشان داده شده است که ظرفیت تولید شیر و ترکیب آن در فصول مختلف در گله‌های شیری انگلستان و ولز متفاوت است (Madouasse *et al*., 2010) و موضوع دوم این‌که رژیم غذایی چربی شیر را متأثر می‌کند (Baumm and Griinari, 2003). در مطالعه‌ای هم که توسط چراغی و همکاران درباره اثرات فصل بر روی نتایج آبستنی با پروتکل‌های مختلف انجام شده، به نتیجه عدم معنی‌دار بودن این رابطه اشاره کرده و در نهایت پیشنهاد مطالعات بیشتر در این زمینه را داده‌اند (Cheraghi *et al*., 2015).

روزهای شیردهی قبلی دام و همچنین میزان تولید شیر در دوره قبل رابطه معنی‌داری با نتایج آبستنی داشتند، اما در بررسی با مدل آماری لجستیک تنها

روزهای شیردهی قبلی رابطه بادوامی در آبستنی ۱۲۰ روزه داشته و معنی‌دار گزارش شد. ارتباط بین میزان تولید شیر در دام و باروری همیشه با نتایج ضدونقیض همراه بوده به گونه‌ای که برخی از مطالعات ارتباط معنی‌دار و برخی عدم وجود ارتباط را گزارش کرده‌اند. هم‌راستا با موضوع فوق، نتیجه این مطالعه نیز عدم وجود ارتباط بین میزان تولید شیر و نرخ آبستنی را نشان داد. در سال ۲۰۰۷ نشان داده شده است که میزان تولید شیر در ماه اول شیردهی یا در زمان تلقیح و یا پیک آن با کارایی تولیدمثلی ارتباطی ندارد (Patton *et al.*, 2007). یافته‌های آزمایشات مختلف و تفاوت‌های انفرادی بین دام‌ها بیانگر این نکته مهم است که احتمالاً فاکتورهایی به‌غیر از میزان تولید شیر در تعیین نرخ آبستنی دخیل هستند.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ارتباط آماری اجزاء شیر شامل چربی، پروتئین، نسبت چربی به پروتئین و SCC قبل از تلقیح با نرخ آبستنی ۱۲۰روزه معنی‌دار نبوده و نیز از سوابق و تاریخچه اخذشده از دام فقط تعداد روزهای شیردهی در دوره قبل و فصل تلقیح بر این شاخص تولیدمثلی تأثیر دارند.

سپاسگزاری

این تحقیق با مساعدت حوزه پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات اجرا گردیده است که از مسئولین مربوطه تشکر می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

- Albaaj, A., Foucras, G. and Raboisson, D. (2017). High somatic cell counts and changes in milk fat and protein contents around insemination are negatively associated with conception in dairy cows. Theriogenology, 88(15): 18-27.
- Barker, A.R., Schrick, F.N., Lewis, M.J., Dowlen, H.H. and Oliver, S.P. (1998). Influence of clinical mastitis during early lactation on reproductive performance of Jersey cows. Journal of Dairy Science, 81(5): 285-1290.
- Baummn D.E. and Griinari J.M. (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis. Annual Review of Nutrition, 23 (26): 203-227.
- Berry, D.P., Buckly, F., Dillon, P., Evans, R.D., Rath, M. and Veerkamp, RF. (2003). Genetic parameters for body condition score, body weight, milk yield, and fertility estimated using random regression models. Journal of Dairy Science, 86(11): 3704-3717.
- Buckley, F., O'Sullivan, K., Mee, J.F., Evans, R.D. and Dillon, P. (2003). Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calved Holstein-Friesians. Journal of Dairy Science, 86(7): 2308-2319.
- Butler, W.R. (2003). Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. Live Production Science, 83(2-3): 211-218.
- Butler, W.R. and Smith, R.D. (1989). Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. Journal of Dairy Science, 72(3): 767-783.

- Cheraghi, H., Parsaeimehr, K.H., Hosseinkhani, A., Alijani, S. and Daghighkia, H. (2015). Effect of three methods of estrus synchronization: Osynch, Co-Synch and Prostaglandin on the fertility of subfertile dairy cows. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 8(32): 631-636. [In Persian]
- Coffey, M.P., Emmans, G.C. and Brotherstone, S. (2001). Genetic evaluations of dairy bulls for energy balance traits using random regression. Animal Science, 73(1): 29-40.
- Cook, J.G. and Green, M.J. (2016). Use of early lactation milk recording data to predict the calving to conception interval in dairy herds. Journal of Dairy Science, 99(6):1-8.
- Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H. and Grunberg, W. (2017) Veterinary Medicine. 11th ed., ELSEVIER, pp: 1914-1916.
- Davasaztabrizi, A. and Mehrani, K. (2017). Correlation of serum levels of T3 and T4 during the dry and postpartum periods with ovarian rebound in primiparous and multiparous cows. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 11(41): 63-70. [In Persian]
- De Marchi, M., Toffanin, V., Cassandro, M. and Penasa, M. (2014). Invited review: Mid-infrared spectroscopy as phenotyping tool for milk traits. Journal of Dairy Science, 97(3): 1171-1186.
- DePeters, E.J. and Cant, J.P. (1992). Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: A review. Journal of Dairy Science, 75(8): 2043-2070.
- Detilleux, J.C., Grohn, Y.T., Eicker, S.W. and Quaas, R.L. (1997). Effects of left displaced abomasum on test day milk yields of Holstein cows. Journal of Dairy Science, 80(1): 121-126.
- Gwazdauskas, F.C., Thatcher, W.W. and Wilcox, C.J. (1973). Physiological, environmental, and hormonal factors at insemination which may affect conception. Journal of Dairy Sciences, 56(7): 873-877.
- Hamann, J. and Kromker, V. (1997). Potential of specific milk composition variables for cow health management. Livestock Production Science, 48(3): 201-208.
- Heuer, C., Schukken, Y.H. and Dobbelaar, P. (1999). Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. Journal of Dairy Science, 82(2): 295-304.
- Hudson, C.D., Bradley, A.J., Breen, J.E. and Green, M.J. (2012). Associations between udder health and reproductive performance in United Kingdom dairy cows. Journal of Dairy Science, 95(7): 3683-3697.
- Kawai, K., Hagiwara, S., Anri, A. and Nagahata, H. (1999). Lactoferrin concentration in milk of bovine clinical mastitis. Veterinary Research Communication, 23(7): 391-398.
- Konigsson, K., Savoini, G., Govoni, N., Invernizzi, G., Prandi, A., Kindahl, H., *et al*. (2008). Energy balance, leptin, NEFA and IGF-I plasma concentrations and resumption of postpartum ovarian activity in Swedish Red and White breed cows. Acta Veterinaria Scandinavica, 50(3): 1-7.
- Kristula, M.A., Reeves, M., Redlus, H. and Uhlinger, C. (1995). A preliminary investigation of the association between the first postpartum milk fat test and first insemination pregnancy rates. Preventive Veterinary Medicine, 23(1-2): 95-100.
- Lavon, Y., Leitner, G., Klipper, E., Moallem, U, Meidan, R. and Wolfenson, D. (2011). Subclinical, chronic intramammary infection lowers steroid concentrations and gene expression in bovine preovulatory follicles. Domestic Animal Endocrinology, 40(2): 98-109.
- Loeffler S.H., de Vries, M.J. and Schukken, Y.H. (1999). The effects of time of disease occurrence, milk yield and body condition on fertility of dairy cows. Journal of Dairy Science, 82(12): 2589-2604.
- Loker, S., Bastin, C., Miglior, F., Sewalem, A., Schaeffer, L.R., Jamrozik, J., *et al*. (2011). Short communication: Estimates of genetic parameters of body condition score in the first 3 lactations using a random regression animal model. Journal of Dairy Science, 94(7): 3693-3699.
- Lomander, H., Svensson, C., Hallén-Sandgren, C., Gustafsson, H. and Frössling, J. (2013). Associations between decreased fertility and management factors, claw health, and somatic cell count in Swedish dairy cows. Journal of Dairy Science, 96(10): 6315-6323.
- Mackle, T.R., Dwyer, D.A., Ingvartsen, K.L., Chouinard, P.Y., Ross, D.A. and Bauman, D.E. (2000). Effects of insulin and postruminal supply of protein on use of amino acids by the mammary gland for milk protein synthesis. Journal of Dairy Science, 83(1): 93-105.
- Madouasse, A., Huxley, J.N., Browne, W.J., Bradley, A.J., Dryden, I.L. and Green, M.J. (2010). Use of individual cow milk recording data at the start of lactation to predict the calving to conception interval. American Dairy Science Association, 93(10): 4677-4690.
- Miksa, I.R., Buckley, L.C. and Poppenga, H.R. (2004). Detection of nonesterified (free) fatty acids in bovine serum: Comparative evaluation of two methods. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 16(1): 139-144.

- Miller, R.H., Clay, J.S. and Norman, H.D. (2001). Relationship of somatic cell score with fertility measures. Journal of Dairy Science, 84(11): 2543-2548.
- Moreira, F., Orlandi, C., Risco, C.A., Mattos, R., Lopes, F. and Thatcher, W.W. (2001). Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 84(7): 1646-1659.
- Morton, J., Auldist, M.J., Douglas, M.L. and Macmillan, K.L. (2016). Associations between milk protein concentration, milk yield, and reproductive performance in dairy cows. Journal of Dairy Science, 99(12): 10033-10043.
- Morton, J., Auldist, M.J., Douglas, M.L. and Macmillan, K.L. (2017). Milk protein concentration, estimated breeding value for fertility, and reproductive performance in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 100(7): 5850-5862.
- Negussie, E., Strandén, I. and Mäntysaari, E.A. (2013). Genetic associations of test-day fat:protein ratio with milk yield, fertility, and udder health traits in Nordic Red cattle. American Dairy Science Association, 96(2): 1237-1250.
- NRC. (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. The National Academies Press, Washington, DC.
- Patton, J., Kenny, D.A., Mc Namara, S., Mee, J.F., O'Mara, F.P., Diskin, M.J., et al. (2007). Relationships among milk production, energy balance, plasma analytes, and reproduction in Holstein-Friesian cows. Journal of Dairy Science, 90(2): 649-658.
- Podpecan, O., Mrkun, J. and Petra, Z. (2010). The evaluation of FPR in milk as an indicator of calving to conception interval in dairy cows using various biostatical methods. Acta Veterinaria (Beograd), 60(5-6): 541-550.
- Pryce, J.E., Coffey, M.P. and Brotherstone, S. (2000). The genetic relationship between calving interval, body condition score and linear type and management traits in registered Holsteins. Journal of Dairy Sciences, 83(11): 2664-2671.
- Rezayi, A., Amouoghli Tabrizi, B. and Saber Marouf, B. (2012). Evaluation of the levels of Leptin, Beta hydroxyl butyrate, Glucose, Cholesterol and Triglyceride in serum of Holstein cows with sub clinical ketosis. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 6(3): 1647-1656. [In Persian]
- Ricardo C. and Chebel R.C. (2007). Mastitis effects on reproduction. NMC Regional Meeting Proceedings, pp: 43-55.
- Souza, A.H., Ayres, H., Ferreira, R.M. and Wiltbank, M.C. (2008). A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. Theriogenology 70(2): 208-215.
- Van Straten, M., Friger, M. and Shpigel, N.Y. (2009). Events of elevated somatic cell counts in high-producing dairy cows are associated with daily body weight loss in early lactation. Journal of Dairy Science, 92(9): 4386-4394.
- Waldmann, A., Kurykin, U., lle Jaakma, Kaart, T., Aidnik, M., Jalakas, M., *et al*. (2006). The effects of ovarian function on estrus synchronization with PGF in dairy cows. Theriogenology, 66(5): 1364-1374.