Winter (2024) 12(47): 15-27
DOI: 10.30473/eab.2024.67071.1901
Received: 13 Feb 2023 Accepted: 9 Mar 2024

Experimental Animal Biology Open Access

ORIGINAL ARTICLE

Effect of intraperitoneal injection of the L-tryptophan on feed intake, rectal temperature, and serum biochemical metabolites of Kermani lamb

Nabiolah Salari[1], Yadollah Badakhshan[2*], Rohollah Mirmahmoudi[2], Arsalan Barazandeh[2], Jamil Bahrampour[1]

[1]Jahad-Keshavarzi organization in south of Kerman Province, Kerman, Iran.
[2]Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran.

Correspondence
Yadollah Badakhshan
Email: y.badakhshan@ujiroft.ac.ir

How to cite
Salari, N., Badakhshan, Y., Mirmahmoudi, R., Barazandeh, A., & Bahrampour, J. (2024). Effect of intraperitoneal injection of the L-tryptophan on feed intake, rectal temperature, and serum biochemical metabolites of Kermani lamb. *Experimental Animal Biology*, *12*(47), 15-27.

ABSTRACT

Tryptophan is 3 [th] essential amino acid for the body. Also an important substrate for essential hormones such as serotonin and melatonin. This amino acid is metabolized in two ways in the body 1- Kynurunine pathway and 2- serotonin pathway. Tryptophan entry to These metabolizing pathways is five percent for serotonin production and ninety and five percent for kynurenine production. This experiment was performed to evaluate the Effect of intraperitoneal injection of the L-tryptophan on feed intake, rectal temperature, and some blood biochemical metabolites of the Kermani sheep breed. 20 eight-month-old lambs grouped in 10 males and 10 females in a factorial design. Lambs were divided into control groups (saline intraperitoneal injection) and treatment groups (intraperitoneal injection with 50 mg tryptophan amino acid/kg body weight). The Control group of each gender was injected only with physiological serum intraperitoneally .immediately after injection, the feed was offered to them and cumulative feed intake was measured in 2 hours intervals for a four-hour duration. Feed was a total mixed ration consisting of 40 % concentrated and 60 % roughage. Heartbeat, respiration rate, and rectal temperature were measured every hour after amino acid or saline injection. This experiment showed that feed intake in tryptophan treatment was reduced compared to the control group, also female lambs had significantly lower cumulative feed intake ($P<0.05$). Heart rate decreased in males and tryptophan treatment ($P<0.05$). Tryptophan injection significantly reduced rectal temperature ($P<0.05$). Tryptophan injection did not show a significant effect on the serum concentrations of T3 and T4 hormones of lambs ($P>0.05$) but reduced the ratio of T3 to T4 ($P<0.05$). this means thyroxin converted to triiodothyronine more effectively in the group that received tryptophan amino acid. Levels of cortisol, total protein, cholesterol, triglyceride, creatine, and urea were not significantly different in the tryptophan-receiving lamb compared to the control group ($P>0.05$). Serum albumin concentration decreased in tryptophan-receiving lambs compared to the control group ($P<0.05$).blood Albumin level was decreased in tryptophan-injected lamb compared with the control group ($P<0.05$). According to the results of this experiment, reduction of heart rate and rectal temperature in tryptophan treatment, it could be concluded that tryptophan improves the condition of livestock under heat stress by affecting the mechanisms of coping with high ambient temperature. These mechanisms are related to heartbeat and respiration rate control centers that were affected by intraperitoneal injection of tryptophan amino acid. Tryptophan in route of intraperitoneal injection significantly reduced cumulative feed intake but this was compensated for some hours of post-injection.

KEYWORDS

Blood Parameter, Heat stress, intraperitoneal injection, Kermani sheep, L-tryptophan.

© 2023, by the author(s). Published by Payame Noor University, Tehran, Iran.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

سال دوازدهم، شماره سوم، پیاپی چهل و هفتم، زمستان ۱۴۰۲ (۲۷-۱۵)
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۹
DOI: 10.30473/eab.2024.67071.1901

نشریه علمی
زیست‌شناسی جانوری تجربی

«مقاله پژوهشی»

تأثیر تزریق داخل صفاقی اسید آمینه تریپتوفان بر مصرف خوراک، دمای بدن و برخی متابولیت‌های بیوشیمیایی بره در طول استرس گرمایی تابستانه

نبی الله سالاری[۱]، یدالله بدخشان[۲*]، روح الله میرمحمودی[۲]، ارسلان برازنده[۲]، جمیل بهرامپور[۲]

[۱]سازمان جهاد کشاورزی جنوب استان کرمان، کرمان، ایران.
[۲]گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران.

نویسنده مسئول:
یدالله بدخشان
رایانامه: y.badakhshan@ujiroft.ac.ir

چکیده

تریپتوفان سومین اسیدآمینه ضروری بدن و پیش‌ساز هورمون‌های مهمی مانند سروتونین و ملاتونین در بدن است. این اسید آمینه به دو مسیر متابولیکی کینورنین و سروتونین وارد و در یکی از این دو مسیر متابولیزه می‌شود، که تنها پنج درصد آن در مسیر سروتونین است و باقی آن در مسیر کینورنین وارد می‌گردد. به‌منظور بررسی تأثیر تزریق داخل صفاقی اسید آمینه تریپتوفان بر مصرف خوراک، دمای بدن و برخی متابولیت‌های بیوشیمیایی گوسفند ۲۰ رأس بره (۱۰ رأس نر و ۱۰ رأس ماده) هشت ماه سن، وزن ۳/۵± ۲۴/۹ کیلوگرم و در قالب طرح فاکتوریل استفاده شد. بره‌ها به دو گروه کنترل (تزریق سرم فیزیولوژیکی به‌صورت داخل صفاقی) و گروه تیمار (تزریق‌شده با ۵۰ میلی‌گرم تریپتوفان/ کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی) تقسیم شدند. طول دوره عادت‌دهی بره‌ها به شرایط آزمایشی هفت روز بود. پس از تزریق بلافاصله خوراک کاملاً مخلوط به نسبت ۴۰ درصد کنسانتره و ۶۰ درصد علوفه در اختیار بره‌ها قرار گرفت و در فواصل دو ساعت و به‌مدت چهار ساعت میزان مصرف خوراک اندازه‌گیری شد. میزان دمای رکتوم، ضربان قلب و تعداد تنفس در هر ساعت به‌مدت چهار ساعت انجام شد. این آزمایش نشان داد که خوراک مصرفی تجمعی در تیمار تریپتوفان نسبت به گروه کنترل کاهش یافت، هم‌چنین بره‌های ماده به‌طور معنی‌داری مصرف خوراک تجمعی کم‌تری داشتند (P<۰/۰۵). هم‌چنین تریپتوفان به‌روش تزریق صفاقی سبب افت مصرف خوراک تجمعی در دو ساعت اول آزمایش در مقایسه با گروه شاهد شد، اما در ادامه این کاهش جبران شد. تعداد ضربان قلب در جنس نر و تیمار تریپتوفان کاهش یافت (P<۰/۰۵). تزریق تریپتوفان به‌طور معنی‌داری باعث کاهش دمای رکتومی شد (P<۰/۰۵). تزریق تریپتوفان تأثیر معنی‌داری بر غلظت هورمون‌های T3 و T4 سرم بره‌ها نشان نداد (P>۰/۰۵)، اما نسبت هورمون T3 به T4 را کاهش داد (P<۰/۰۵). یعنی تبدیل هورمون تیروکسین به تری‌یدو تیرونین در گروه دریافت‌کننده تریپتوفان افزایش یافت. سطح کورتیزول، کلسترول، تری‌گلیسیرید، کراتین و اوره در بره‌های دریافت‌کننده تریپتوفان نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). غلظت آلبومین سرم در بره‌های دریافت‌کننده تریپتوفان نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (P<۰/۰۵). با توجه به نتایج به‌دست آمده از این آزمایش و کاهش ضربان قلب و دمای رکتومی در تیمار تریپتوفان می‌توان نتیجه گرفت که تریپتوفان با تأثیر بر مکانیسم‌های مقابله با افزایش دمای بدن باعث بهبود وضعیت دام در شرایط تنش گرمایی شد.

واژه‌های کلیدی

تزریق درون صفاقی، تریپتوفان، تنش گرمایی، متابولیت‌های خونی، گوسفند.

استناد به این مقاله:
سالاری، نبی‌الله؛ بدخشان، یدالله؛ میرمحمودی، روح‌الله؛ برازنده، ارسلان و بهرامپور، جمیل (۱۴۰۲). تأثیر تزریق داخل صفاقی اسید آمینه تریپتوفان بر مصرف خوراک، دمای بدن و برخی متابولیت‌های بیوشیمیایی بره در طول استرس گرمایی تابستانه. فصلنامه زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۱۲(۴۷)، ۲۷-۱۵.

مقدمه

حیوانات تحت انواع مختلفی از عوامل تنش‌زا از جمله تنش فیزیکی، تغذیه‌ای، شیمیایی و گرمایی قرار می‌گیرند. در میان همه، تنش گرمایی نگران‌کننده‌ترین موضوع امروزه در سناریوهای اقلیمی در حال تغییر است (Silanikove *et al*., 2015)، به‌ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری، تنش گرمایی اهمیت ویژه‌ای پیدا می‌کند (McManus *et al*., 2020)، خشک و نیمه‌خشک جهان است. تغییرات اقلیمی جدی‌ترین چالش بلندمدتی است که صاحبان نشخوارکنندگان کوچک در بیش‌تر نقاط جهان با آن مواجه هستند، زیرا بر تولید و سلامت حیوانات تأثیر می‌گذارد. پاسخ‌های رفتاری گوسفند و بز تحت تنش گرمایی عبارتند از قرارگرفتن در سایه به‌صورت چرت‌زدن، له‌له‌زدن، تنفس با دهان باز، کاهش مصرف خوراک و افزایش مصرف آب (Slimen *et al*., 2019). از ترکیب درجه حرارت خشک هوا و رطوبت نسبی شاخص حرارتی-رطوبتی (THI)[1] به‌دست می‌آید. که برحسب درجه فارنهایت شاخصِ ۷۲ و کم‌تر به معنی منطقه خنک، ۷۷-۷۳ استرس حرارتی ملایم، ۸۹-۷۸ استرس متوسط و بالاتر از ۹۰ به‌عنوان شدید شناخته می‌شود. تقسیم‌بندی این شاخص برحسب درجه سانتی‌گراد ۲۲/۲ عدم استرس گرمایی،۲۳/۳>- ۲۲/۲ استرس متوسط، ۲۵/۶>-۲۳/۳ استرس شدید و بالاتر از ۲۵/۶ به معنی استرس فوق‌العاده تعریف می‌شود (Marai *et al*., 2007b).

تریپتوفان از جمله اسیدهای آمینه ضروری است که بدن انسان و ماکیان قادر به سنتز آن نیست (Bitzer-Quintero *et al*., 2010, Rosa *et al*., 2001). درنتیجه باید از طریق مواد غذایی تأمین گردد. این اسیدآمینه در دو مسیر متابولیکی پیش می‌رود ۱- مسیر تولید سروتونین- ملاتونین به‌واسطه آنزیم محدودکننده تریپتوفان هیدروکسیلاز ۲- مسیر تولید کینورنین به‌واسطه آنزیم‌های ایندول آمین دی‌اکسیژناز و تریپتوفان دی‌اکسیژناز. مسیر اول و دوم به‌ترتیب پنج و ۹۵ درصد سهم متابولیکی تریپتوفان را به خود اختصاص می‌دهند (Badawy, 2017) (شکل ۱). تیمار تریپتوفان هم‌چنین دارای اثرات ضد التهابی قوی بر روی سلول‌های اپیتلیال روده از طریق مسدودکردن ترشحات اینترلوکین ۸ ناشی از فاکتور نکروز تومور است (Mine *et al*., 2015). افزایش تریپتوفان جیره غذایی می‌تواند سنتز ایمونوگلوبولین سرم را تقویت کند و دفاع سیستم ایمنی را تقویت کند (Mondanelli *et al*., 2019).

مکمل تریپتوفان (پنج گرم برکیلوگرم جیره غذایی) برای خوک‌ها باعث افزایش سروتونین هیپوتالاموس، کاهش کورتیزول بزاقی و کاهش فعالیت بدنی بعد از ۱۰ روز می‌شود (Stracke *et al*., 2017, Bandeira *et al*., 2015). هم‌چنین شواهد مشابهی در مورد ماهی (Zhang *et al*., 2019) و انسان وجود دارد (Bernabucci *et al*., 2009).

در یک مطالعه بروی گوسفندان نژاد مرینوس که به‌مدت ۲۰ نسل برای صفت تهاجمی بودن یا آرام‌بودن انتخاب شده بودند، ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم ژن تریپتوفان هیدروکسیلاز، گیرنده سروتونین و صفت آرام‌بودن آن‌ها گزارش شده است (Ding *et al*., 2021). در مطالعه دیگری تغذیه تریپتوفان به گوسفندان پرواری سبب کاهش چشمگیر اضطراب، بهبود عملکرد، مصرف غذا و کاهش گوشت اکسیداتیو پس از ذبح در آن‌ها شده است (Wang *et al*., 2023). در بررسی گوسفندان مبتلا به بیماری توبرکولیز (بیماری گوارشی یون)، افزایش فعالیت آنزیم تریپتوفان دی‌اکسیژناز و کمک این آنزیم به افزایش و تقویت ایمنی حیوان گزارش شده است، به‌طوری‌که پیشرفت بیماری با کاهش سطح این آنزیم همراه بوده است در این حالت افزایش سوبسترای آنزیم یعنی تریپتوفان به بهبود وضعیت بیماری کمک کرده است (Plain *et al*., 2011). در مطالعه دیگری بروی میش‌هایی که دچار سقط جنین حاصل از کلامیدیا آبورتیس می‌شدند، مصرف تریپتوفان باعث جلوگیری از واکنش‌های التهابی و بهبود سلامت در دام‌های مبتلا شده است. پژوهش‌گران در این مطالعه تعادل میان تریپتوفان خون و سایتوکین‌های التهابی را برای میش‌های آبستن ضروری می‌دانند (Brown *et al*., 2001). اثر افزودن ال- تریپتوفان محافظت‌شده به جیره غذایی گوسفند بر افزایش سطح سروتونین و ملاتونین خون چند ساعت بعد از مصرف آن به‌خوبی اثبات شده است (Zhao *et al*., 2022).

تغذیه جیره غذایی ال- تریپتوفان محافظت‌شده در شکمبه نه تنها باعث افزایش عملکرد رشد بره‌ها و تولید پشم به میزان ۷ درصد در گوسفندان شد. بلکه باعث بهبود استفاده از نیتروژن از جمله ده درصد کاهش دفع نیتروژن ادرار و نیتروژن نگهداری و میانگین افزایش وزن روزانه در گوساله‌ها شد (Sejian *et al*., 2018). از این‌رو، هدف پژوهش حاضر بررسی اثر تجویز اسید آمینه تریپتوفان به‌روش تزریق درون صفاقی بر پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خون در بره‌های تحت تنش گرمایی تابستانه بود.

1. Temperature-Humidity index

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از تعداد ۲۰ رأس بره (۱۰ رأس نر و ۱۰ رأس ماده) انتخاب شده از گله گوسفندان نژاد کرمانی ایستگاه تحقیقاتی شهید بهشتی دانشگاه جیرفت در تیرماه تابستان سال ۱۴۰۰، با میانگین وزن زنده ۳/۵±۲۴/۹۰ کیلوگرم و با سن هشت ماه استفاده شد. بره‌ها به‌طور مساوی (پنج رأس نر و پنج رأس ماده) بین گروه تیمار و گروه کنترل تقسیم شدند. براساس شاخص رطوبتی-حرارتی تیرماه و مردادماه استرس گرمایی شدید تابستانه رخ می‌دهد. هر رأس بره در باکس‌های انفرادی نگهداری شد. اطلاعات حاصله از گله‌های اطراف حاکی از شیوع کنه در منطقه بود. به همین دلیل برای مقابله با کنه‌ها و هم‌چنین انگل تراپی دام‌های مورد آزمایش، از آیورمکتین یک درصد و محلول خوراکی نیکلوزامید استفاده شد. مقدار مصرف براساس توصیه شرکت‌های سازنده و براساس وزن زنده دام بود. تیمارهای موردمطالعه در این آزمایش به شرح زیر بودند:

الف- گروه کنترل: تزریق‌شده تنها با سرم فیزیولوژیک به‌صورت داخل صفاقی.

ب- گروه تیمار: تزریق‌شده با ۵۰ میلی‌گرم تریپتوفان/ کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی (Bandeira *et al*., 2015).

آماده‌سازی و تزریق اسید آمینه تریپتوفان

در این آزمایش از تریپتوفان کریستاله پودری ساخت شرکت بیوبیسیک کانادا[1] استفاده شد. تریپتوفان کریستاله پودری در محلول سرم فیزیولوژیک هیدروکلریک‌اسید ۰/۱ نرمال، یک ساعت قبل از تزریق محلول، پس از محلول‌سازی در غلظت‌های مدنظر تزریق حجم ۲۰ تا ۲۵ میلی‌لیتر (براساس وزن دام) به‌صورت صفاقی انجام شد. محل تزریق قبل از شروع دوره با استفاده از پشم‌چین برقی، پشم چینی شده بود. تزریق یک بار در روز و به‌مدت سه روز انجام شد.

دوره عادت‌دهی دام‌ها به قفس‌های انفرادی هفت روز بود و پس از آن به‌مدت سه روز نمونه‌برداری انجام شد. صفات اندازه‌گیری شده در این آزمایش عبارتند از مصرف خوراک، ضربان قلب، دمای رکتومی و متابولیت‌های بیوشیمیایی سرم شامل کورتیزول، هورمون‌های تیروئیدی، نسبت تری‌یدوتیرونین به تیروکسین، کلسترول، تری‌گلیسیرید، کراتینین و اوره بود.

برای اندازه‌گیری میزان خوراک مصرفی، هر روز کل خوراک اختصاص یافته روز قبل از باقی مانده همان خوراک کسر و میزان خوراک مصرفی محاسبه شد. تعداد ضربان قلب با استفاده از گوشی پزشکی و در مدت زمان یک دقیقه شمارش شد. دمای رکتومی به‌وسیله دماسنج دیجیتال رکتومی اندازه‌گیری شد (Avendaño-Reyes *et al*., 2020). برای اندازه‌گیری متابولیت‌های خونی، از سیاهرگ وداج خون‌گیری انجام شد. خون‌گیری در ساعت ۱۲ هر روز و به‌مدت سه روز انجام گرفت. سپس نمونه خون‌ها به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ، در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سرم جداسازی شد. میزان کورتیزول سرم با استفاده از کیت‌های شرکت مونوباند و دستگاه الایزا بیوتک اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری سایر متابولیت‌های خون با استفاده از کیت پارس آزمون انجام شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل (۲×۲×۳×۳) و در قالب طرح اندازه‌گیری در واحد زمان[2] انجام شد. تیمارها شامل اثر روز به‌مدت سه روز، اثر جنس شامل بره‌های ماده و نر، اثر دارو شامل تیمار سرم فیزیولوژیک و اسیدآمینه تریپتوفان و اثر ساعت شامل زمان صفر، دو و چهار ساعت پس از تزریق صفاقی بود. داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS (1991) و رویه میکس[3]، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. متابولیت‌های خون با آزمون تی مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی و در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد.

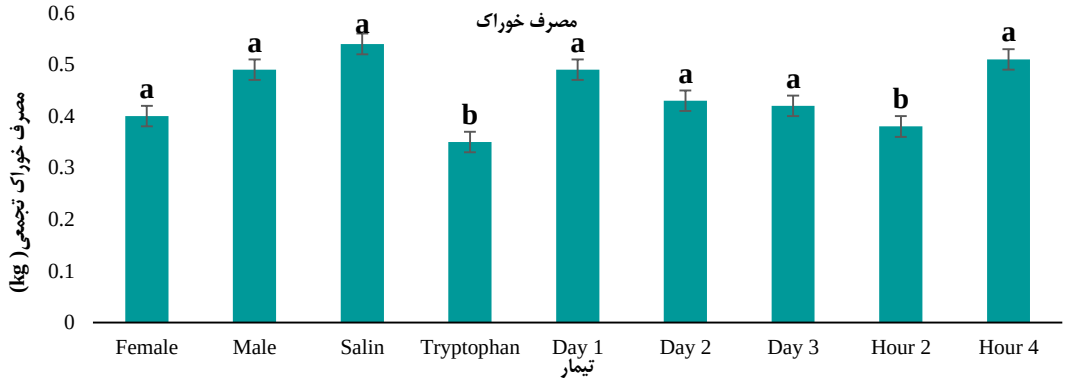
نتایج

در نمودار ۱ اثرات جنس، اسید آمینه، روز نمونه‌برداری و زمان پس از تزریق بر مصرف خوراک بره‌ها نشان داده شده است ($P<0/05$). میزان خوراک مصرفی تحت تأثیر جنس، تیمار اسیدآمینه و زمان پس از تزریق قرار گرفت ($P<0/05$). در نمودار ۲ تأثیر تیمار آزمایشی و اثرات متقابل آن‌ها بر ضربان قلب بره‌های تحت تنش گرمایی نشان داده شده است. ضربان قلب به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر فاکتورهای جنس، اسیدآمینه، روز،

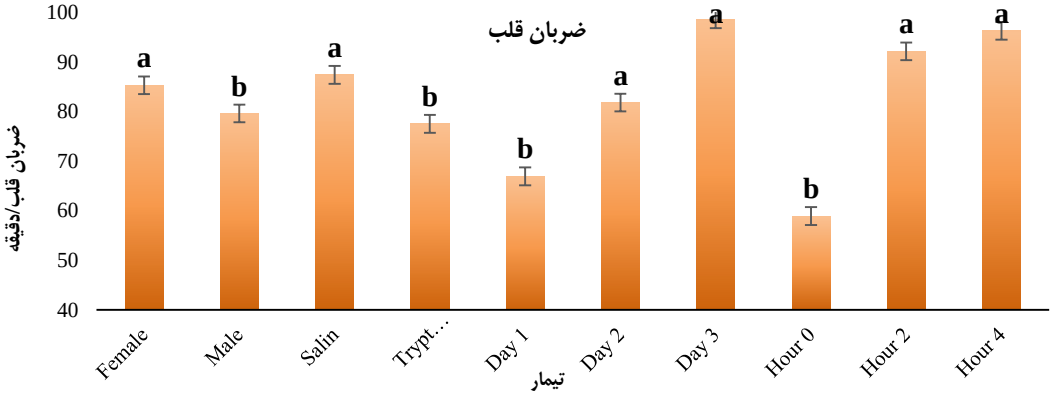
1. Biobasic Company

2. Repeated measure in time
3. Mixed

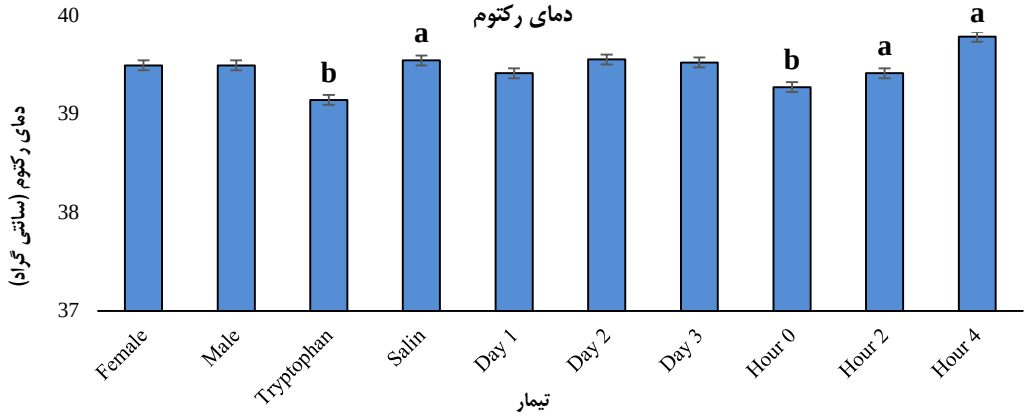
زمان و اثرات متقابل آن‌ها قرار گرفت (P<۰/۰۵). در جنس ماده و گروه کنترل بیش‌ترین تعداد ضربان قلب ثبت شد. هم‌چنین در روزهای دوم و سوم و ساعت دو و چهار نمونه‌برداری بیش‌ترین تعداد ضربان قلب به‌دست آمد. نمودار ۳ نشان‌دهنده تأثیر تیمار آزمایشی و اثرات متقابل آن‌ها بر دمای رکتومی بره‌های تحت تنش گرمایی است. دمای رکتومی تحت تأثیر جنس و روز آزمایش قرار نگرفت (P>۰/۰۵)، اما با تیمار اسید آمینه تریپتوفان و زمان رابطه معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵).



نمودار ۱. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه، روز نمونه‌برداری و زمان بر مصرف خوراک بره‌های نژاد کرمانی.
abc میانگین‌های هر عامل با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

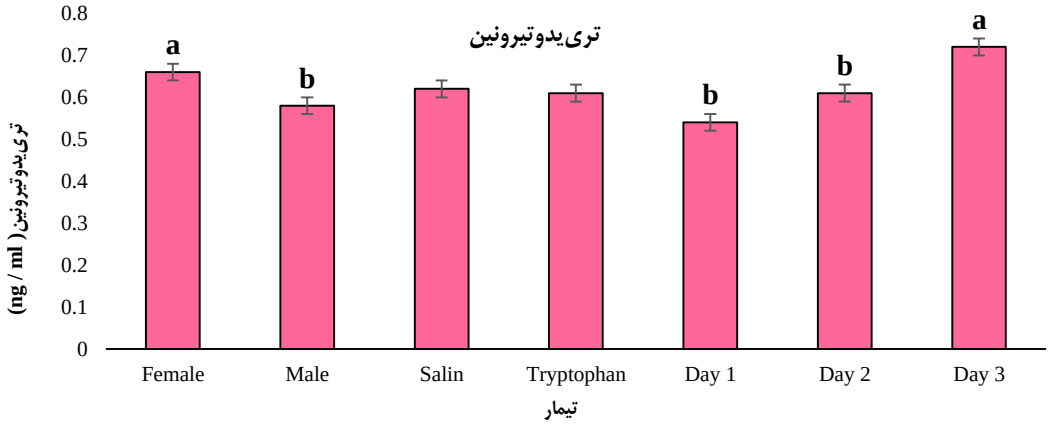


نمودار ۲. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه، روز نمونه‌برداری و زمان بر ضربان قلب بره‌های نژاد کرمانی.
abc میانگین‌های هر عامل با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

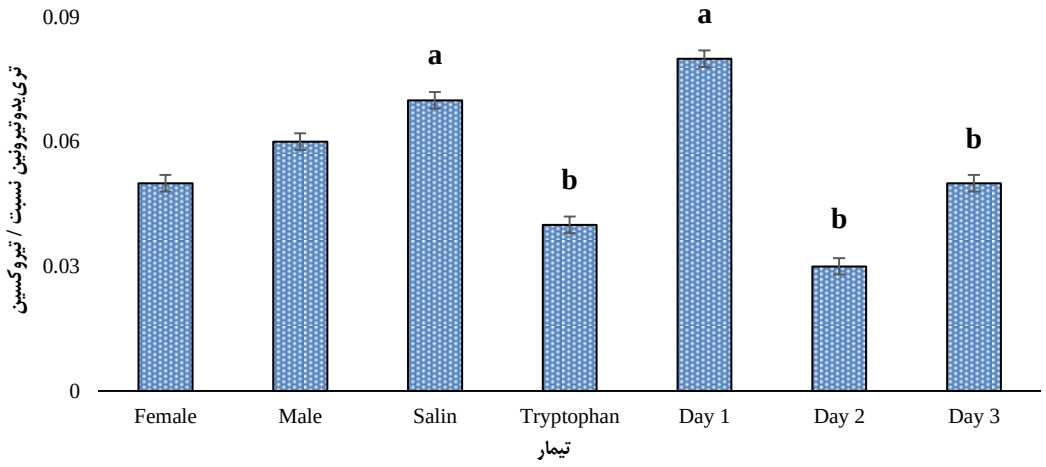


نمودار ۳. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه، روز نمونه‌برداری و زمان بر دمای رکتومی بره‌های نژاد کرمانی.
abc میانگین‌های هر عامل با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

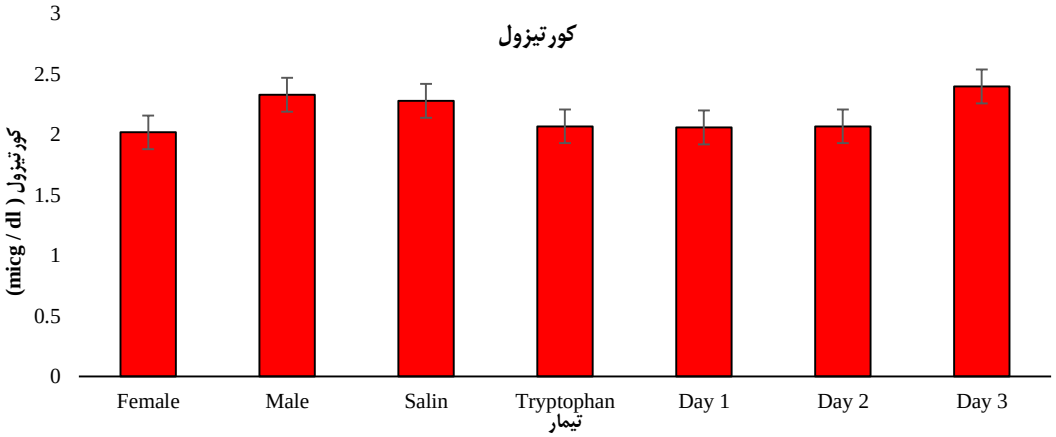
گروه دریافت‌کننده اسید آمینه تریپتوفان نسبت به گروه کنترل دمای رکتومی پایین‌تری را نشان دادند. تأثیر فاکتورهای آزمایشی و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان هورمون‌های تیروئیدی (T3 و T4) سرم بره‌ها در نمودارهای ۴ و ۱۲ به‌ترتیب نشان داده شده است. میزان هورمون‌های تیروئیدی در بره‌های ماده نسبت به بره‌های نر به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود (P<۰/۰۵)، هم‌چنین میزان تری‌یدوتیرونین بره‌ها در روز سوم نمونه‌برداری نسبت به روزهای اول و دوم به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). میزان تری‌یدوتیرونین سرم در بره‌های دریافت‌کننده اسید آمینه تریپتوفان نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). همان‌طور که در نمودار۵ نشان داده شده است، نسبت تری‌یدوتیرونین به تیروکسین بین دوجنس نر و ماده تفاوت معنی‌داری ندارد (P>۰/۰۵)، اما در گروه دریافت‌کننده اسیدآمینه تریپتوفان و در روزهای دوم و سوم نمونه‌برداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). اثر متقابل جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر نسبت هورمون‌های تیروئیدی سرم معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). کم‌ترین نسبت تری‌یدوتیرونین به تیروکسین در بره‌های ماده دریافت‌کننده اسید آمینه تریپتوفان در روز دوم نمونه‌برداری به‌دست آمد. نمودار ۶ نشان‌دهنده تأثیر جنس، اسید آمینه، روز نمونه‌برداری و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان کورتیزول سرم بره‌هاست. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر میزان کورتیزول سرم معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵)، اما اثرات متقابل آن‌ها تفاوت معنی‌داری بر میزان کورتیزول سرم نشان دادند (P<۰/۰۵). نمودار ۷ نشان‌دهنده تأثیر جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر سطح آلبومین سرم بره‌ها می‌باشد. سطح آلبومین در دو جنس نر و ماده و هم‌چنین روزهای نمونه‌برداری تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵)، اما در بره‌های دریافت‌کننده اسید آمینه تریپتوفان نسبت به گروه کنترل سطح آلبومین سرم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). مطابق نمودار ۸، سطح کلسترول سرم در بره‌های ماده نسبت به بره‌های نر به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (P<۰/۰۵). هم‌چنین سطح کلسترول سرم در روزهای دوم و سوم نمونه‌برداری نسبت به روز اول به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). اثر اصلی تزریق اسید آمینه تریپتوفان بر سطح کلسترول سرم بره‌ها معنی‌دار نبود اما اثر متقابل آن با جنس معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). مطابق نمودار ۹، اثرات اصلی جنس، اسید آمینه و روزهای نمونه‌برداری بر سطح تری‌گلیسیرید سرم معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵)، اما اثرات متقابل آن‌ها به‌طور معنی‌داری نشان‌دهنده تغییر در سطح تری‌گلیسیرید سرم بره‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که بالاترین سطح تری‌گلیسیرید سرم در بره‌های ماده دریافت‌کننده اسید آمینه تریپتوفان به‌دست آمد. نمودار ۱۰ نشان‌دهنده اثرات اصلی و متقابل جنس، اسیدآمینه و روز نمونه‌برداری بر میزان کراتینین سرم بره‌ها است. تأثیر جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر میزان کراتین معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵)، اما اثر متقابل جنس و روز نمونه‌برداری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بالاترین سطح کراتینین سرم در بره‌های ماده و در روز سوم مشاهده شد. نمودار ۱۱ نشان‌دهنده اثرات اصلی جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر میزان اوره سرم بره‌ها می‌باشد. میزان اوره سرم بره‌ها به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر جنس و روز نمونه‌برداری قرار گرفت (P<۰/۰۵) اما تزریق اسید آمینه نسبت به عدم تزریق آن تأثیر معنی‌داری بر میزان اوره خون نداشت (P>۰/۰۵). میزان اوره سرم در بره‌های نر نسبت به بره‌های ماده بیش‌تر بود.



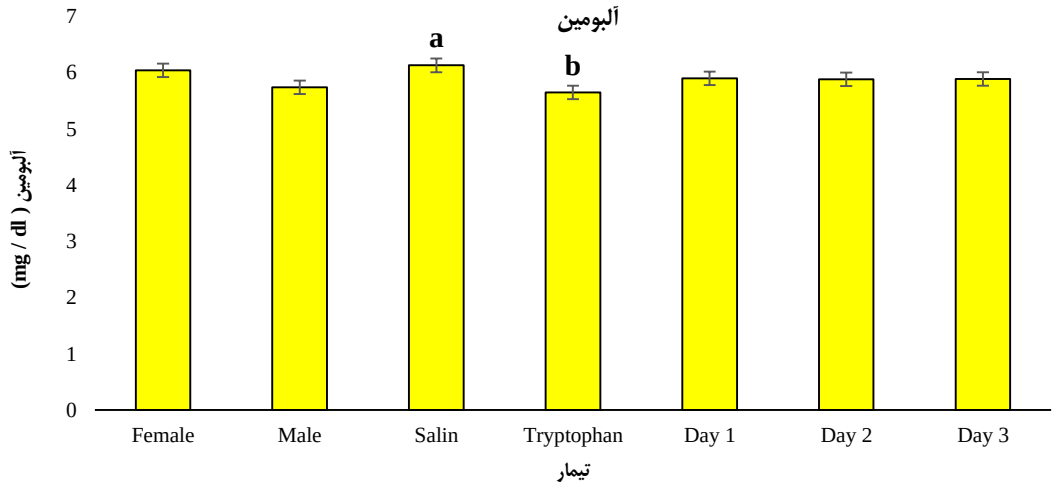
نمودار ٤. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر میزان T3 سرم بره‌های نژاد کرمانی.
abc میانگین‌های هر عامل با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).



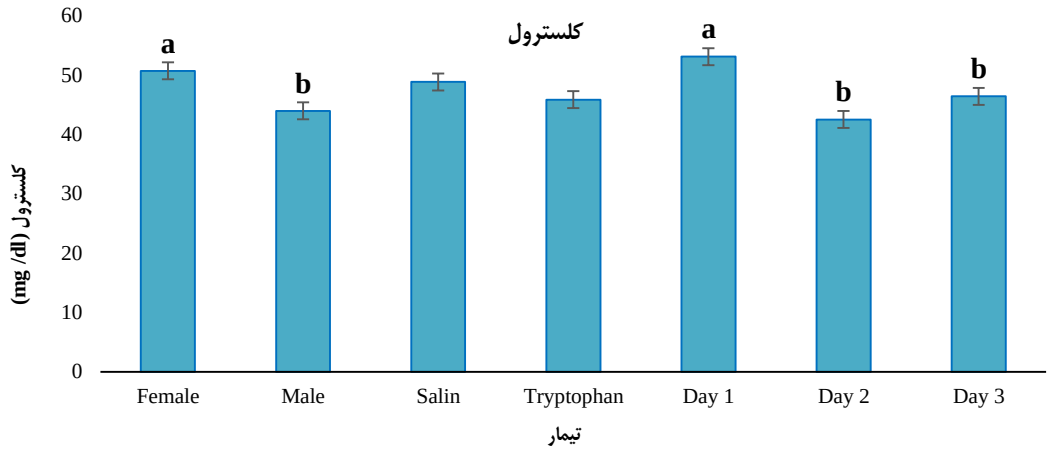
نمودار ۵. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر نسبت T3 به T4 بره‌های نژاد کرمانی.
abc میانگین‌های هر عامل با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).



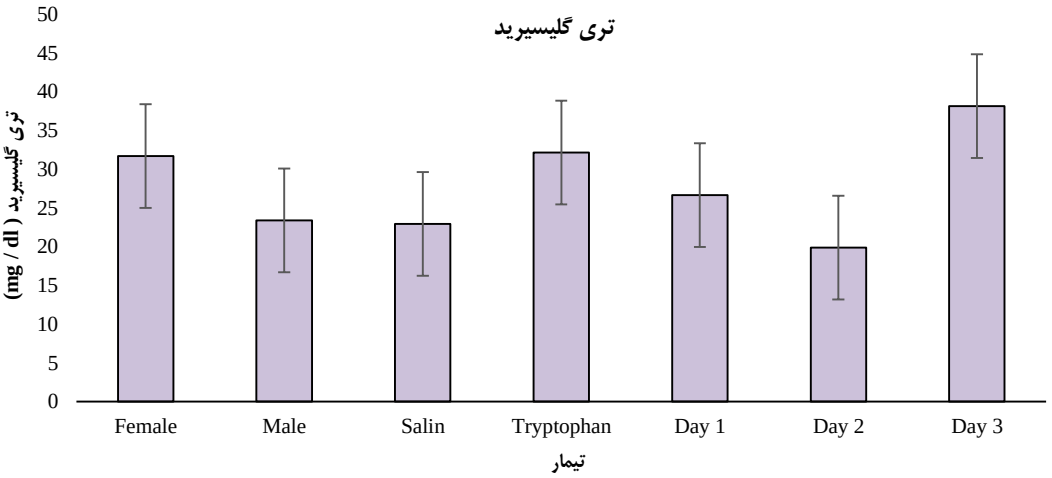
نمودار ٦. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر میزان کورتیزول سرم بره‌های نژاد کرمانی.
abc میانگین‌های هر عامل با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).



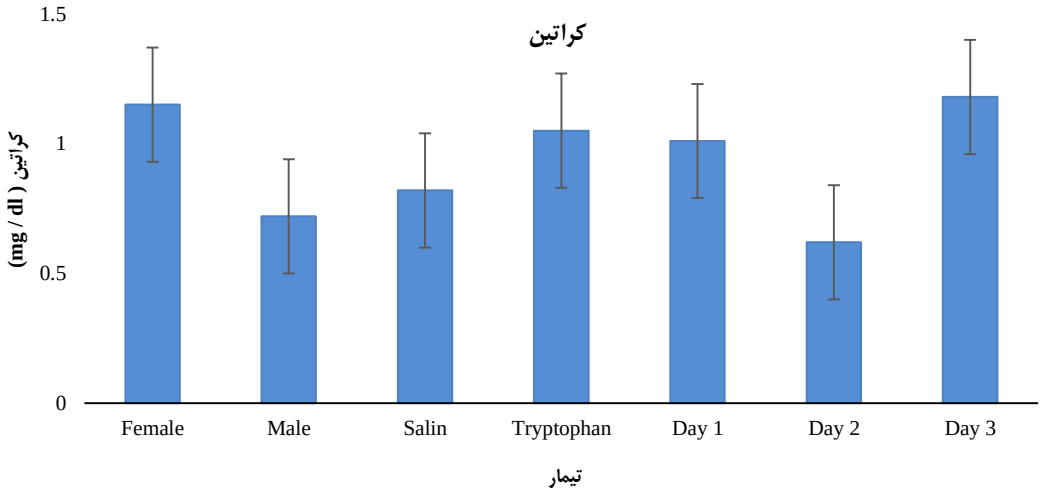
نمودار ۷. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر میزان آلبومین سرم بره‌های نژاد کرمانی.
abc میانگین‌های هر عامل با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).



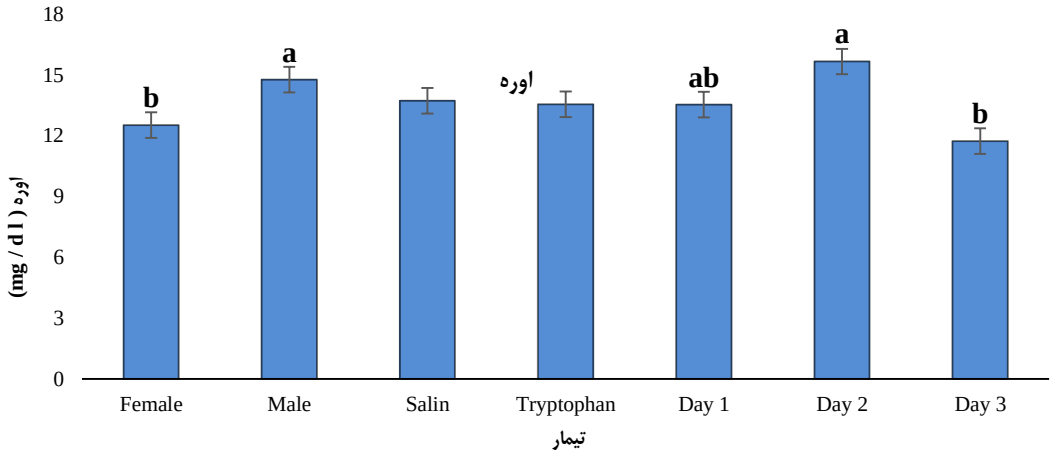
نمودار ۸. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر میزان کلسترول سرم بره‌های نژاد کرمانی.
abc میانگین‌های هر عامل با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).



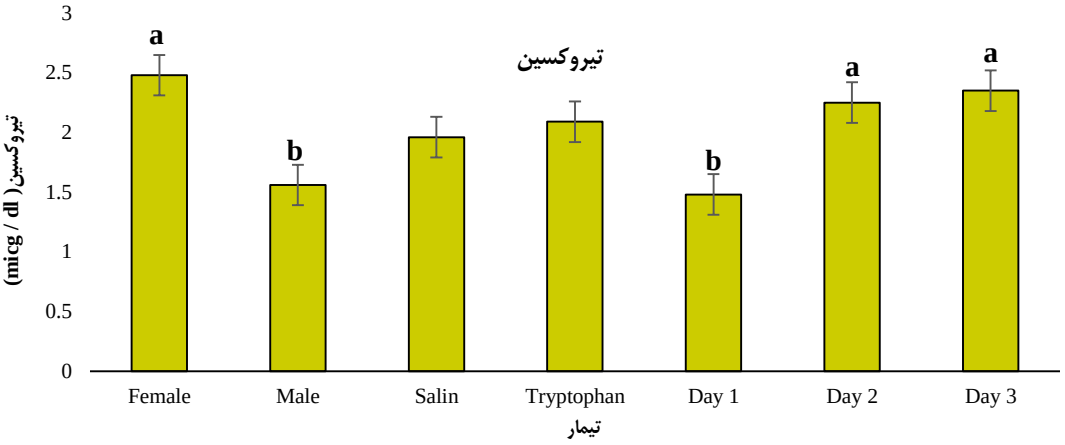
نمودار ۹. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر میزان تری‌گلیسیرید سرم بره‌های نژاد کرمانی.
abc میانگین‌های هر عامل با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).



نمودار ۱۰. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر میزان کراتین سرم بره‌های نژاد کرمانی.
abc میانگین‌های هر عامل با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).



نمودار ۱۱. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر میزان اوره سرم بره‌های نژاد کرمانی.
abc میانگین‌های هر عامل با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).



نمودار ۱۲. اثرات اصلی جنس، اسید آمینه و روز نمونه‌برداری بر میزان T4 سرم بره‌های کرمانی
abc میانگین‌های هر عامل با حروف متفاوت، اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که تأثیر تریپتوفان بر پارامترهای فیزیولوژیک بارزتر و معنی‌دارتر نسبت به پارامترهای بیوشیمیایی است. دمای رکتوم، مصرف غذا و ضربان قلب به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر استرس گرمایی قرار گرفتند. دمای رکتوم و ضربان قلب به‌طور معنی‌داری تا پایان آزمایش در گروه دریافت‌کننده اسید آمینه پایین‌تر بود، اما مصرف تجمعی خوراک در ابتدا در گروه اسیدآمینه کاهش و در ادامه مشابه با گروه شاهد قرار گرفت. در این رابطه در شرایط تنش گرمایی، مصرف ماده خشک در میش‌های نژاد ساردا کاهش یافت (Bernabucci *et al.*, 2009). کاهش در میزان خوراک مصرفی می‌تواند پاسخی در جهت سازگاری حیوان با شرایط محیطی به‌منظور کاهش حرارت تولیدی ناشی از تخمیر شکمبه‌ای و سوخت و ساز بدن و حفظ دمای طبیعی بدن آن‌ها باشد (Sejian *et al.*, 2018). سطوح مختلف اسید آمینه تریپتوفان بر مصرف خوراک بزهای کشمیری، تأثیر معنی‌داری نداشت (Ma *et al.*, 2012). اثر سطوح صفر، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ گرم در روز، اسید آمینه تریپتوفان بر گاوهای شیری تحت تنش گرمایی شد. نتایج نشان داد، در سطح ۳۰ گرم در روز اسید آمینه تریپتوفان کانژوگه نسبت به سایر سطوح آن، ماده خشک مصرفی افزایش یافت. دلیل کاهش در ماده خشک مصرفی گاوهای شیری دریافت‌کننده سطح ۶۰ گرم در روز از اسید آمینه تریپتوفان را سمیت دوز مصرفی گزارش کردند (Choi *et al.*, 2021). احتمالاً اثر کاهش مصرف خوراک تحت تأثیر تزریق تریپتوفان موقت و گذرا بوده و هم‌چنین تحت تأثیر مقدار تریپتوفان مصرفی نیز قرار می گیرد.

در پژوهش حاضر تزریق صفاقی اسید آمینه سبب کاهش ضربان قلب گردید. در گروه شاهد به‌طورمعنی‌داری ضربان قلب بالاتر بود. افزایش ضربان قلب در شرایط تنش گرمایی به ویژه تنش گرمایی شدید گزارش شده است (Iguchi *et al*., 2012). اسوانسون و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند، تنفس عمیق بره‌هایی که تحت تنش گرمایی هستند، باعث هیپراکسمی شد، در انسان نیز نشان داده شده است که تنش گرمایی ضربان قلب را تا حدود ۱۰ درصد کاهش داد (Swanson *et al*., 2020). اما سطوح مختلف (صفر، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ گرم در روز) اسید آمینه تریپتوفان کانژوگه تأثیر معنی‌داری بر تعداد ضربان قلب گاوهای تحت تنش گرمایی نداشت (Choi *et al*., 2021). دلیل این اختلاف احتمالاً مربوط به‌روش کاربرد اسید آمینه می‌باشد، زیرا در روش صفاقی اسید آمینه به‌صورت دست‌نخورده به بدن حیوان می رسد اما در روش خوراکی بخش زیادی از آن در شکمبه توسط میکروب‌ها شکسته می‌شود.

افزایش دمای رکتومی بهترین نشانگر شروع تنش گرمایی و یا میزان آن در حیوانات معرفی شده است. افزایش دمای رکتومی در بره‌های نژاد افشاری در شرایط تنش گرمایی گزارش شده است (Mahjoubi *et al*., 2014). سطوح صفر، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ گرم در روز، اسید آمینه تریپتوفان بر دمای رکتوم گاوهای شیری تحت تنش گرمایی تأثیر معنی‌داری دربر نداشت (Choi *et al*., 2021). اگرچه در پژوهش بر روی بره‌های کرمانی، تزریق صفاقی تریپتوفان سبب کاهش دمای رکتوم گردید. در این رابطه می‌توان به این مطلب اشاره کرد که

تریپتوفان خون می‌تواند به‌عنوان پیش‌ماده برای سنتز سروتونین و ملاتونین در بدن استفاده شود (Choi *et al*., 2021; Richard *et al*., 2009). ملاتونین و سروتونین به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های دمای مرکزی بدن عمل می‌کنند و می‌توانند اثرات تنش گرمایی را کاهش دهند (Choi *et al*., 2021). سروتونین و ملاتونین از طریق مکانیسم تحریک و افزایش دفع دمای پوست برای دفع گرما از بدن باعث ایجاد اثرات ضد تنش گرمایی می‌شوند (Sutoh *et al*., 2018). پژوهش‌ها نشان داد که هورمون‌های تولیدشده توسط غدد فوق کلیوی و تیروئید نقش مهمی در تنظیم حرارت و پاسخ متابولیک در دام دارند. کاهش سطح هورمون‌های متابولیک به‌منظور کاهش تولید گرمای متابولیک در شرایط تنش گرمایی در بزها گزارش شده است (Sejian *et al*., 2010). گزارش شده است که غلظت هورمون‌های تیروئیدی در شرایط تنش گرمایی کم‌تر از تنش سرمایی است (Nazifi *et al*., 2003). در پژوهشی دیگر، بالابودن هورمون T4 در جنس ماده نسبت به جنس نر گزارش شده است (Steinhauser *et al*., 2021). در بره‌های کرمانی با تزریق تریپتوفان سطح هورمون‌های تیروئیدی تغییری نسبت به گروه شاهد نشان نداد اما نسبت T3 به T4 در گروه دریافت‌کننده تریپتوفان پایین‌تر بود. این بدین معنی می‌باشد که T3 کم‌تری تولید می‌شود. احتمالاً تبدیل T4 به T3 یکی از اثرات تریپتوفان می‌باشد.

با تزریق تریپتوفان تفاوت معنی‌داری در سطح کورتیزول خون بره‌ها مشاهده نشد. ترشح گلوکوکورتیکوئیدها پاسخ غدد درون‌ریز اصلی به شرایط تنش گرمایی است (Sejian *et al*., 2017). کورتیزول یک هورمون استرس است که با افزایش تریپتوفان کاهش می‌یابد (Koopmans *et al*., 2006). این می‌تواند به‌دلیل افزایش سروتونین مغز باشد که به حیوان کمک می‌کند تا با استرس مقابله کند و در نتیجه کورتیزول موجود در بزاق را از طریق کنترل بازخورد منفی محور غده فوق کلیوی هیپوفیز هیپوتالاموس کاهش می‌دهد. پژوهش‌گران گزارش کردند، تنش گرمایی میزان آلبومین سرم گاوها را کاهش داد، اما بر پروتئین کل سرم تأثیری نداشت (Zhai *et al*., 2019). در پژوهش حاضر سطح آلبومین تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و تزریق تریپتوفان نشان نداد. آلبومین ممکن است قادر به تنظیم فشار انکوتیک و تعدیل پاسخ‌های التهابی یا ایمنی باشد (Baldassarre *et al*., 2017). ظرفیت کبدی برای تولید پروتئین در طول تنش گرمایی به‌شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرد و منجر به کاهش تولید پروتئین کل و آلبومین می‌شود. سیستم کبدی به تنش گرمایی حاد حساس‌تر است و تولید پروتئین را کاهش می‌دهد (Habeeb *et al*., 2007; Kadim *et al*., 2006). اما به‌تدریج در طول تنش گرمایی مزمن، سازگار می‌شود (Korde *et al*., 2007; Scharf *et al*., 2010).

در پژوهش حاضر به‌واسطه تزریق صفاقی تریپتوفان تغییری در سطح کلسترول، اوره، تری گلیسیرید و کراتینین مشاهده نشد. هم‌راستا با نتایج به‌دست‌آمده در یک پژوهش میزان کلسترول سرم گاوهای تحت تنش گرمایی نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت (Zhai *et al*., 2019). Rasouli *et al*. (2004)، گزارش کردند میزان کلسترول سرم خون گاوها در تابستان بالاتر است. کاهش غلظت کلسترول سرم می‌تواند بدلیل کاهش

غلظت استات باشد (Marai *et al.*, 2007a). Nazifi *et al.* (2003) گزارش کردند نگهداری بره‌ها در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (در شرایط تنش گرمایی)، سبب کاهش تری‌گلیسیرید سرم بره شد، اما بر میزان کلسترول سرم تأثیری نداشت. پژوهش‌گران گزارش کردند که کراتینین سرم در طول تنش گرمایی به‌دلیل کاهش مصرف خوراک و تعادل منفی نیتروژن افزایش می‌یابد (Abeni *et al.*, 2007). سایر پژوهش‌گران کاهش در سطح کراتینین سرم گاو و گاومیش‌های تحت تنش گرمایی را گزارش کردند (Wankar *et al.*, 2021). در بره‌های آواسی تحت تنش گرمایی میانگین اوره خون در دو تیمار پروتئین اوره ای و پودر ماهی به‌ترتیب ۴۵/۹ و ۵۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود که فاقد اختلاف معنی‌دار گزارش شده است. این نشان می‌دهد تغییر منبع نیتروژن پروتئینی، باوجود تنش گرمایی در گوسفندان آواسی سبب تغییر معنی‌دار در غلظت اوره خون آن‌ها نشده است (Can *et al.*, 2005). محققین عدم تأثیر تنش گرمایی بر میزان اوره سرم را گزارش کردند (Hamzaoui *et al.*, 2013). در پژوهش انجام‌شده توسط Nazifi *et al.* (2003) کاهش اوره سرم بره‌های نگهداری شده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به بره‌های نگهداری شده در دمای ۲۱ درجه گزارش شد. بدیهی است بسیاری از اختلافات در نتایج به‌دست‌آمده مربوط به شیوه اجرای آزمایش، سن، جنس و سایر عوامل محیطی و درونی حیوان قرار می‌گیرد.

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش و کاهش ضربان قلب و دمای رکتومی در تیمار تریپتوفان می‌توان نتیجه گرفت که تریپتوفان با تأثیر بر مکانیسم‌های مقابله با افزایش دمای محیطی باعث بهبود وضعیت دام در شرایط تنش گرمایی می‌شود. با تزریق تریپتوفان، متابولیت‌های خون شامل کلسترول، تری گلیسیرید، هورمون‌های تیروئیدی تغییری پیدا نکرد.

تشکر و قدردانی

از کمک‌های کارکنان محترم ایستگاه تحقیقاتی شهید بهشتی دانشگاه جیرفت در انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان وجود ندارد.

References

Abeni, F., Calamari, L., & Stefanini, L. (2007). Metabolic conditions of lactating Friesian cows during the hot season in the Po valley. 1. Blood indicators of heat stress. *International journal of biometeorology*, 52(2), 87-96.

Avendaño-Reyes, L., Macías-Cruz, U., Correa-Calderón, A., Mellado, M., Corrales, J.L., Corrales, G., Ramirez-Bribiesca, E., & Guerra-Liera, J.E. (2020). Biological responses of hair sheep to a permanent shade during a short heat stress exposure in an arid region. *Small Ruminant Research*, 189, 106146.

Badawy, A.A. (2017). Kynurenine pathway of tryptophan metabolism: regulatory and functional aspects. *International Journal of Tryptophan Research*, 10, 1178646917691938.

Baldassarre, M., Naldi, M., Domenicali, M., Volo, S., Pietra, M., Dondi, F., Caraceni, P., & Peli, A. (2017). Simple and rapid LC–MS method for the determination of circulating albumin microheterogeneity in veal calves exposed to heat stress. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 144, 263-268.

Bandeira, L.G., Bortolot, B.S., Cecatto, M.J., Monte-Alto-Costa, A., & Romana-Souza, B. (2015). Exogenous tryptophan promotes cutaneous wound healing of chronically stressed mice through inhibition of TNF-α and IDO activation. *PloS one*, 10(6), e0128439.

Bernabucci, U., Lacetera, N., Danieli, P.P., Bani, P., Nardone, A., & Ronchi, B. (2009). Influence of different periods of exposure to hot environment on rumen function and diet digestibility in sheep. *International journal of biometeorology*, 53(5), 387-395.

Bitzer-Quintero, O.K., Dávalos-Marín, A.J., Ortiz, G.G., del Angel Meza, A.R., Torres-Mendoza, B.M., Robles, R.G., Huerta, V.C., & Beas-Zárate, C. (2010). Antioxidant activity of tryptophan in rats under experimental endotoxic shock. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 64(1), 77-81.

Brown, J., Howie, S.E.M., & Entrican, G. (2001). A role for tryptophan in immune control of chlamydial abortion in sheep. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 82(1), 107-119.

Can, A., Denek, N., & Yazgan, K. (2005). Effect of replacing urea with fish meal in finishing diet on performance of Awassi lamb under heat stress. *Small Ruminant Research*, 59(1), 1-5.

Choi, W.-T., Nejad, J.G., 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.

Ding, L., Maloney, S.K., Wang, M., Rodger, J., Chen, L., & Blache, D. (2021). Association between temperament related traits and single nucleotide polymorphisms in the serotonin and oxytocin systems in Merino sheep. *Genes, Brain and Behavior*, 20(3), e12714.

Habeeb, A., Fatma, F., & Osman, S. (2007). Detection of heat adaptability using heat shock proteins and some hormones in Egyptian buffalo calves. *Egyptian J Appl Sci*, 22(2A), 28-53.

Hamzaoui, S., Salama, A., Albanell, E., Such, X., & Caja, G. (2013). Physiological responses and lactational performances of late-lactation dairy goats under heat stress conditions. *Journal of Dairy Science*, 96(10), 6355-6365.

Iguchi, M., Littmann, A.E., Chang, S.-H., Wester, L.A., Knipper, J.S., & Shields, R.K. (2012). Heat stress and cardiovascular, hormonal, and heat shock proteins in humans. *Journal of athletic training*, 47(2), 184-190.

Kadim, I., Mahgoub, O., Al-Kindi, A., Al-Marzooqi, W., & Al-Saqri, N. (2006). Effects of transportation at high ambient temperatures on physiological responses, carcass and meat quality characteristics of three breeds of Omani goats. *Meat Science*, 73(4), 626-634.

Koopmans, S., Guzik, A., Van Der Meulen, J., Dekker, R., Kogut, J., Kerr, B., & Southern, L. (2006). Effects of supplemental L-tryptophan on serotonin, cortisol, intestinal integrity, and behavior in weanling piglets. *Journal of Animal Science*, 84(4), 963-971.

Korde, J., Singh, G., Varshney, V., & Shukla, D. (2007). Effects of long-term heat exposure on adaptive mechanism of blood acid-base in buffalo calves. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 20(5), 742-747.

Ma, H., Zhang, W., Song, W.H., Sun, P., & Jia, Z.H. (2012). Effects of tryptophan supplementation on cashmere fiber characteristics, serum tryptophan, and related hormone concentrations in cashmere goats. *Domest Anim Endocrinol*, 43(3), 239-50.

Mahjoubi, E., Amanlou, H., Mirzaei-Alamouti, H., Aghaziarati, N., Yazdi, M.H., Noori, G., Yuan, K., & Baumgard, L. (2014). The effect of cyclical and mild heat stress on productivity and metabolism in Afshari lambs. *Journal of Animal Science*, 92(3), 1007-1014.

Marai, I., El-Darawany, A., Fadiel, A., & Abdel-Hafez, M. (2007a). Physiological traits as affected by heat stress in sheep—a review. *Small ruminant research*, 71(1-3), 1-12.

Marai, I.F.M., El-Darawany, A.A., Fadiel, A., & Abdel-Hafez, M.A.M. (2007b). Physiological traits as affected by heat stress in sheep—A review. *Small Ruminant Research*, 71(1–3),1-12.

McManus, C.M., Faria, D.A., Lucci, C.M., Louvandini, H., Pereira, S.A., & Paiva, S.R. (2020). Heat stress effects on sheep: Are hair sheep more heat resistant? *Theriogenology*, 155, 157-167.

Mine, Y., & Zhang, H. (2015). Calcium-sensing receptor (CaSR)-mediated anti-inflammatory effects of L-amino acids in intestinal epithelial cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(45), 9987-9995.

Mondanelli, G., Iacono, A., Allegrucci, M., Puccetti, P., & Grohmann, U. (2019). Immunoregulatory interplay between arginine and tryptophan metabolism in health and disease. *Frontiers in immunology*, 10, 1565.

Nazifi, S., Saeb, M., Rowghani, E., & Kaveh, K. (2003). The influences of thermal stress on serum biochemical parameters of Iranian fat-tailed sheep and their correlation with triiodothyronine (T3), thyroxine (T4) and cortisol concentrations. *Comparative Clinical Pathology*, 12(3), 135-139.

Plain, K.M., Silva, K.D., Earl, J., Begg, D.J., Purdie, A.C., & Whittington, R.J. (2011). Indoleamine 2,3-Dioxygenase, Tryptophan Catabolism, and Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis: a Model for Chronic Mycobacterial Infections. *Infection and Immunity*, 79(9), 3821-3832.

Rasouli, A., Nouri, M., KHAJEH, G.H., & Rasekh, A. (2004). The influences of seasonal variations on thyroid activity and some biochemical parameters of cattle.

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.

Rosa, A., & Pesti, G. (2001). Estimation of the tryptophan requirement of chickens for maximum body weight gain and feed efficiency. *Journal of Applied Poultry Research*, 10(2), 135-140.

Scharf, B., Carroll, J., Riley, D., Chase Jr, C., Coleman, S., Keisler, D., Weaber, R., & Spiers, D. (2010). Evaluation of physiological and blood serum differences in heat-tolerant (Romosinuano) and heat-susceptible (Angus) Bos taurus cattle during controlled heat challenge. *Journal of animal science*, 88(7), 2321-2336.

Sejian, V., Bhatta, R., Gaughan, J., Dunshea, F., & Lacetera, N. (2018). Adaptation of animals to heat stress. *Animal*, 12(s2), s431-s444.

Sejian, V., Bhatta, R., Gaughan, J., Malik, P.K., Naqvi, S., & Lal, R. (2017). Adapting sheep production to climate change. In *Sheep production adapting to climate change*, 1-29. Springer.

Sejian, V., Maurya, V.P., & Naqvi, S.M. (2010). Adaptability and growth of Malpura ewes subjected to thermal and nutritional stress. *Tropical Animal Health and Production*, 42(8), 1763-1770.

Silanikove, N., & Koluman, N. (2015). Impact of climate change on the dairy industry in temperate zones: Predications on the overall negative impact and on the positive role of dairy goats in adaptation to earth warming. *Small Ruminant Research*, 123(1), 27-34.

Slimen, I.B., Chniter, M., Najar, T., & Ghram, A. (2019). Meta-analysis of some physiologic, metabolic and oxidative responses of sheep exposed to environmental heat stress. *Livestock Science*, 229, 179-187.

Steinhauser, C., Askelson, K., Hobbs, K., Bazer, F., & Satterfield, M. (2021). Maternal nutrient restriction alters thyroid hormone dynamics in placentae of sheep having small for gestational age fetuses. *Domestic Animal Endocrinology*, 77, 106632.

Stracke, J., Otten, W., Tuchscherer, A., Witthahn, M., Metges, C.C., Puppe, B., & Düpjan, S. (2017). Dietary tryptophan supplementation and affective state in pigs. *Journal of Veterinary Behavior*, 20, 82-90.

Sutoh, M., Kasuya, E., & Yayou, K.I. (2018). Effects of intravenous tryptophan infusion on thermoregulation in steers exposed to acute heat stress. *Animal Science Journal*, 89(5), 777-783.

Swanson, R.M., Tait, R.G., Galles, B.M., Duffy, E.M., Schmidt, T.B., Petersen, J.L., & Yates, D.T. (2020). Heat stress-induced deficits in growth, metabolic efficiency, and cardiovascular function coincided with chronic systemic inflammation and hypercatecholaminemia in ractopamine-supplemented feedlot lambs. *J Anim Sci*, 98(6), skaa168.

Wang, J., Ding, L., Yu, X., Wu, F., Zhang, J., Chen, P., Qian, S., & Wang, M. (2023). Tryptophan improves antioxidant capability and meat quality by reducing responses to stress in nervous Hu sheep. *Meat Sci*, 204, 109267.

Wankar, A., Singh, G., & Yadav, B. (2021). Effect of temperature x THI on acclimatization in buffaloes subjected to simulated heat stress: physio-metabolic profile, methane emission and nutrient digestibility. *Biological Rhythm Research*, 52(10), 1589-1603.

Zhai, R., Dong, X., Feng, L., Li, S., & Hu, Z. (2019). The effect of heat stress on autophagy and apoptosis of rumen, abomasum, duodenum, liver and kidney cells in calves. *Animals*, 9(10), 854.

Zhang, C., Zhang, Q., Song, X., Pang, Y., Song, Y., Wang, Y., He, L., Lv, J., Cheng, Y., & Yang, X. (2019). L-tryptophan promotes the cheliped regeneration of Chinese mitten crab (Eriocheir sinensis) through melatonin, serotonin and dopamine involvement. *Aquaculture*, 511, 734205.

Zhao, F., Wang, G., Li, X.-b., Zhao, G.-d., Chen, H., Ma, C., & Yang, K.-l. (2022). Effect of diet supplemented with rumen-protected 5-hydroxytryptophan on the concentration of 5-hydroxytryptophan and melatonin in the plasma of sheep.