

## اثر وانادیوم (وانادیل سولفات) بر تولید شیر، دینامیک تخمدان و برخی از

### فراسنجه‌های خونی گاوهای هلشتاین در اواخر دوره زایش

### و اوایل دوره شیردهی

- سید رسول حیدری

دانشجوی دکتری تغذیه نشخوارکنندگان.

- ابوالفضل زالی (نویسنده مسئول)

دانشیار دانشگاه تهران.

- مهدی گنج خانلو

دانشیار دانشگاه تهران.

- غلامرضا قربانی

استاد دانشگاه صنعتی اصفهان.

- مهدی دهقان بنادکی

دانشیار دانشگاه تهران.

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۳

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۳۶۳۴۲۵۱

Email: azali@ut.ac.ir

### چکیده

هدف از این آزمایش، بررسی اثر افزودن وانادیوم (وانادیل سولفات) بر تولید شیر، پاسخ‌های عملکردی، دینامیک رشد فولیکول‌های تخمدان و برخی فراسنجه‌های متابولیکی در اواخر آبستنی و اوایل شیردهی گاوهای هلشتاین بود. ۳۲ راس گاو هلشتاین زایش دوم و سوم با توجه به زایش پیش‌بینی شده به طور تصادفی به یکی از چهار تیمار اختصاص یافتند. تیمارها شامل سطوح ۰، ۰/۰۴، ۰/۰۸ و ۰/۱۲ میلی‌گرم وانادیوم به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی بدن بودند. گاوها جهت بررسی رشد فولیکول‌های تخمدان در روزهای ۲۸ تا ۳۰ پس از زایش با روش Targeted Breeding همزمان شدند. اولتراسونوگرافی وانادیوم سبب افزایش معنی‌دار تولید شیر خام شد ( $P = 0/05$ ). وانادیوم نتوانست ماده خشک مصرفی، وزن بدن، قابلیت هضم مواد مغذی در کل دستگاه گوارش و نمره امتیاز بدنی را قبل و پس از زایش تحت تاثیر قرار دهد. پروژسترون سرم با افزایش سطح وانادیوم کاهش یافت ( $P = 0/001$ ). غلظت‌های انسولین و گلوکز سرم در گاوهای دریافت‌کننده سطوح ۰/۰۴ و ۰/۰۸ میلی‌گرم وانادیوم در مقایسه با گروه شاهد و گاوهای دریافت‌کننده ۰/۱۲ بیشتر بود ( $P = 0/01$ ). تعداد فولیکول‌های کوچک و بزرگ در گاوهای دریافت‌کننده سطوح ۰/۰۴ و ۰/۰۸ میلی‌گرم وانادیوم در مقایسه با گروه شاهد و گاوهای دریافت‌کننده ۰/۱۲ میلی‌گرم وانادیوم بیشتر بود (به ترتیب  $P = 0/02$  و  $P = 0/05$ ). تعداد کل فولیکول‌ها در گاوهای دریافت‌کننده ۰/۰۴ میلی‌گرم وانادیوم در مقایسه با سایر گروه‌ها بالاتر بود ( $P = 0/03$ ). به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که وانادیوم می‌تواند سبب بهبود تولید، فراسنجه‌های خونی و دینامیک تخمدان‌ها در گاوهای شیری شود.

واژه‌های کلیدی: گاوهای شیری هلشتاین، وانادیوم، تولید شیر، دینامیک تخمدان.

Animal Science Journal (Pajouhesh &amp; Sazandegi) No 108 pp: 157-168

**Effect of vanadium as vanadyl sulfate on milk yield, follicular dynamic, and some blood metabolites of Holstein dairy cows during late gestation throughout early lactation**Seyed Rasol Heidari,<sup>1</sup> Abolfazl Zali,<sup>1\*</sup> Mehdi Ganjkanlou,<sup>1</sup> Gholamreza Ghorbani,<sup>2</sup> Mehdi Dehghan-banadaky<sup>1</sup><sup>1</sup> Ph.D student of ruminant nutrition, Associate professor at University of Tehran, Assistant Professor at University of Tehran, <sup>2</sup> Professor at technical University of Isfahan, <sup>1</sup> Associate professor at University of Tehran<sup>1\*</sup> Corresponding author: Abolfazl Zali, Associate professor at University of Tehran, Tell: +989123634251  
Email: azali@ut.ac.ir.**Received: September 2014****Accepted: August 2015**

The objective of this study was to investigate the effect of supplemental vanadium (V) as vanadyl sulfate on milk yield, performance responses, nutrients total tract digestibility, follicular dynamics and some blood metabolites in late gestation and early lactation of dairy cows. Thirty-two multiparous Holstein dairy cows according to the expected calving date were randomly assigned to one of the four groups. Treatments were supplementation of 0, 0.04, 0.08, and 0.12 mg of V as vanadyl sulfate/kg of BW<sup>0.75</sup>. Cows ovarian were synchronized on d 28-30 with Targeted Breeding. Vanadium supplement increased milk yield (P = 0.05). Vanadium supplementation could not affect dry matter intake, body weight, nutrients total tract digestibilities and BCS both before and after calving. Serum progesterone concentration decreased by increasing V supplementation (P = 0.001). Serum insulin and glucose concentrations for cows receiving 0.04, 0.08 mg of V as vanadyl sulfate/kg of BW<sup>0.75</sup> were higher than those receiving 0.12 mg of V as vanadyl sulfate/kg of BW<sup>0.75</sup> and control group (P = 0.01). The number of small and large follicles for cows receiving 0.04, 0.08 mg of V as vanadyl sulfate/kg of BW<sup>0.75</sup> were higher than those receiving 0.12 mg of V as vanadyl sulfate/kg of BW<sup>0.75</sup> and control group (P = 0.02 and P = 0.05 respectively). The numbers of total follicles were higher for cows receiving 0.04 mg of V as vanadyl sulfate/kg of BW<sup>0.75</sup> than the others (P = 0.03). Overall, we concluded that vanadium could improve production, blood metabolites, and developmental dynamics of follicles in dairy cows.

**Key words:** Dairy Holstein cow, vanadium, milk performance, follicle dynamic**مقدمه**

انسولینی یا IGF) مرتبط می باشد که همه این عوامل ارتباط مستقیمی با وضعیت تغذیه دارند (نبل و مک گیلارد، ۱۹۹۳). تغذیه مناسب سبب ترشح گنادوتروپین، انسولین و IGF و در نتیجه بلوغ فولیکولی و تخمک‌ریزی خواهد شد (اتلر، ۲۰۰۳؛ بونزک و همکاران، ۱۹۸۸). تغذیه جیره‌هایی که سبب تسریع افزایش گلوکز و انسولین سرم شود می تواند وضعیت هورمونی و متابولیسی گاوها در اوایل شیردهی را بهبود بخشد. با این وجود، تغذیه مقادیر زیاد نشاسته که سبب افزایش غلظت گلوکز سرم می‌شود، می‌تواند مصرف خوراک در اوایل شیردهی را سرکوب یا به عبارتی کاهش دهد و در نهایت غلظت پروتسترون خون را تحت تاثیر قرار دهد (وازکنسلوز و همکاران، ۲۰۰۳؛ ویلا-گودی و همکاران،

تغذیه نقش بسیار مهمی در عملکرد تولید مثلی گاوهای شیری دارد (سانتوز و همکاران، ۲۰۰۸). انرژی به عنوان مهمترین عامل در تغذیه محسوب می شود که عدم تامین کافی آن در گاوهای شیری، آثار مخربی بر فعالیت تولید مثلی آنها دارد (ویت فورد و شلدون، ۲۰۰۵). گاوهای شیرده در شرایط توازن منفی انرژی دارای دوره بدون تخمک‌ریزی طولانی‌تری هستند (هامون و همکاران، ۲۰۰۶). عدم بروز فحلی پس از زایش و ناباروری با از دست دادن نمره امتیاز بدنی در اوایل شیردهی همراه است (جوردن و فوردین، ۱۹۹۳). شروع چرخه تخمک‌ریزی ارتباط مستقیمی با توازن انرژی دارد و با سازوکارهایی همچون علائم متابولیسی و هورمون های تنظیم کننده (انسولین و فاکتور شبه

وانادیوم سولفات بر دینامیک تخمدان، متابولیت و هورمون‌های خونی در گاوهای هلشتاین می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش، در مزرعه تحقیقی پژوهشی گروه علوم دامی دانشگاه تهران واقع در کرج انجام شد. در این آزمایش، ۳۲ راس گاو هلشتاین چند بار زایش (زایش دو و سه)، ۲۸ روز مانده به زایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی وارد آزمایش شدند و به ۴ گروه تیماری اختصاص یافتند و تا ۵۵ روز پس از زایش به طور مجزا در استال‌ها نگهداری شدند.

تیمارها شامل: ۱- گروه شاهد یا کنترل (C)، ۲- گروه دریافت کننده ۰/۰۴ میلی گرم وانادیوم در شکل وانادیل سولفات به ازای هر کیلوگرم وزن متابولیک (L)، ۳- گروه دریافت کننده ۰/۰۸ میلی گرم وانادیوم در شکل وانادیل سولفات به ازای هر کیلوگرم وزن متابولیک (M) و ۴- گروه دریافت کننده ۰/۱۲ میلی گرم وانادیوم در شکل وانادیل سولفات به ازای هر کیلوگرم وزن متابولیک (H) بودند.

گاوها در ۲۲ روز مانده به زایش پیش بینی شده وزن شدند و به طور تصادفی به یکی از ۴ گروه تیماری اختصاص یافتند. بعد از زایش نیز گاوها دوباره وزن (جهت محاسبه میزان وانادیوم مصرفی) و در جایگاه‌های انفرادی و تیمارهای مربوطه منتقل شدند. جیره‌ها به شکل کاملاً مخلوط شده (جیره پایه) و به صورت آزاد در اختیار دام‌ها قرار گرفتند. در کل ۲ جیره، قبل و بعد از زایش به عنوان جیره پایه تغذیه شدند که بر اساس احتیاجات گاوهای شیری (NRC, 2001) متوازن گشتند (جدول ۱). خوراک‌ها قبل از زایش روزانه یک‌بار و در ساعت ۷ صبح و پس از زایش دوبار در ساعت‌های ۶ صبح و ۱۸ در اختیار گاوها قرار گرفتند. میزان خوراک ریخته شده و پس مانده روزانه جهت محاسبه ماده خشک مصرفی در قبل و بعد از زایش ثبت شد. نمونه برداری از خوراک‌ها جهت تعیین ماده خشک مصرفی و تعیین مواد مغذی خوراک‌ها به‌طور هفتگی انجام گرفت.

وانادیوم (وانادیل سولفات) به صورت کاملاً مخلوط با ۲۰۰ گرم سبوس گندم نرم به صورت سرک و یک وعده روی خوراک

(۱۹۸۸) که همه این عوامل می‌تواند بر رشد و توسعه فولیکولی اثرگذار باشد. نشان داده شده است که گاوهای پرتولید، پروفیل اندوکرینی متفاوتی در مقایسه با گاوهای کم تولید دارند به طوری که غلظت هورمون رشد و پرولاکتین بیشتر و انسولین سرمی کمتری در مقایسه با گاوهای کم تولید دارند (بونزک و همکاران، ۱۹۸۸). از طرفی گاوهای دوره انتقالی دارای تغییرات هومورتیکی (بلند مدت) شدیدی می‌شوند به طوری که بافت‌های چربی (آدیپوز) و سلول‌های عضلات خصوصاً عضلات بافت‌های عقبی مقاوم به انسولین می‌گردند (بل، ۱۹۹۵).

تا به امروز راه کارهای تغذیه مختلفی توسط محققین جهت بهبود عملکرد تولید مثلی و تولیدی در گاوهای شیری پرتولید به کار رفته است. یکی از این راه کارها استفاده از عنصر کم نیاز کروم است (صدری و همکاران، ۲۰۰۹؛ اسمیت و همکاران، ۲۰۰۵؛ هیریلی و همکاران، ۲۰۰۱). کروم در گاوهای دوره انتقالی سبب بهبود وضعیت گلوکز از طریق تسهیل اتصال سلولی و عمل انسولین گردیده است (اسمیت و همکاران، ۲۰۰۸). یکی دیگر از این عناصر در رابطه با بهبود وضعیت انرژی یا به عبارت دیگر تسهیل اتصال انسولین به گیرنده خود، وانادیوم است. اسناد اولیه در مورد اثرات شبه انسولینی وانادیوم برای اولین بار توسط لیونت و همکاران (۱۸۹۹) انتشار یافت. وانادیوم در رت‌های دیابتی (نوع ۲) سبب بهبود مصرف گلوکز توسط بافت‌های چربی و عضلات شده است (شفیر و همکاران، ۲۰۰۱). در مورد نشخوارکنندگان تا سال ۱۹۸۰، هیچ‌گونه ضرورت تغذیه‌ای برای وانادیوم وجود نداشت تا این‌که تیم تحقیقاتی در کشور آلمان گزارش دادند که کمبود وانادیوم در بزهای شیری و آبستن با استفاده از جیره‌های نیمه سنتتیک باعث کاهش عملکرد تولید مثلی همراه با نرخ سقط بالا و مرگ و میر بزها و بزغاله‌های آن‌ها می‌شود (هانلین و همکاران، ۲۰۱۱). در این مطالعه سطوح کافی وانادیوم، ۲ میلی گرم روزانه گزارش شد. تاکنون بیشتر مطالعات اثر وانادیوم را بر انسان و رت‌های دیابتی مورد تحقیق قرار داده‌اند و هیچ‌گونه گزارشی مبنی بر مطالعه روی گاو انجام نگرفته است.

بنابراین هدف از انجام این آزمایش، بررسی اثر وانادیوم در شکل

۱- فولیکول‌های کوچک به اندازه قطر ۶-۴ میلی متر، ۲- فولیکول‌های متوسط به اندازه قطر ۹-۷ میلی متر، ۳- فولیکول‌های بزرگ با اندازه قطر ۱۰ میلی متر و بیشتر، ۴- تعداد کل فولیکول‌ها (پیرسون و گینتر، ۱۹۸۷).

به علاوه بعد از هر دفعه سونوگرافی، نمونه‌های خون توسط ونوژکت (۵ mL) تحت خلا از سیاهرگ دمی هر گاو گرفته شد و در فلاسک یخ سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد و توسط دستگاه ساتریفوژ (۳۰۰۰ دور و ۱۵ دقیقه) سرم جداسازی و در میکروتیوپ‌ها در ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. نمونه‌های سرم جهت اندازه‌گیری گلوکز (پارس آزمون، ایران)، هورمون انسولین (زندوکس، انگلیس)، هورمون پروژسترون (دیپلاس، ایالات متحده آمریکا) با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Liasys Random Access، ایتالیا) یخ‌گشایی شدند.

### آنالیزهای آماری

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار (SAS 1999) و رویه MIXED با استفاده از روش داده‌های تکرار شونده در زمان مورد آزمون قرار گرفت. مدل آماری به شرح زیر است:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + B_j + P_k + A_l + e_{ijkl}$$

به طوری که:

$Y_{ijkl}$ : مشاهدات،  $\mu$ : میانگین،  $T_i$ : اثر تیمارهای آزمایشی ( $i = 1, \dots, 4$ )،  $B_j$ : اثر بلوک (زمان ورود گاو به طرح با توجه زمان زایش؛  $j = 1, \dots, 9$ )،  $P_k$ : اثر دوره یا زمان نمونه‌گیری،  $A_l$ : اثر تصادفی حیوان بود.

نتایج به صورت میانگین حداقل مربعات و مقایسه میانگین توسط دستور PDIFF و به صورت حداقل مربعات انجام شد. سطح آماری معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) و تمایل به معنی‌داری ( $0.10 < P < 0.05$ ) در نظر گرفته شد.

صبح گاوها پاشیده شد و به گروه شاهد، همان ۲۰۰ گرم سبوس بدون وانادیوم داده شد. نمونه‌های مدفوع در قبل از زایش و بعد از زایش، ۷ روز متوالی و در ساعت‌های مختلف از رکتوم گاوها گرفته شدند و در آن ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت جهت اندازه‌گیری ماده آلی (AOAC, 1999)، ماده خشک (AOAC, 1999)، پروتئین خام (AOAC, 1999)، فیبر نامحلول در شوینده خنثی یا NDF و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی یا ADF (ون سوست، ۱۹۹۱) استفاده شدند.

همچنین در مورد نمونه‌های خوراک نیز از همین روش‌ها استفاده شد و در نهایت طبق روش ونکولن و یانگ (۱۹۷۷) با استفاده از خاکستر نامحلول در اسید به عنوان مارکر داخلی قابلیت هضم مواد مغذی محاسبه شد.

نمره امتیاز بدنی هفتگی توسط سه نفر کارشناس طبق روش ادمونسون و همکاران (۱۹۸۹) انجام گرفت و همچنین توزین گاوها نیز به صورت هفتگی بعد از دوشش وعده صبح انجام گرفت. گاوها روزانه ۳ وعده در ساعت‌های ۶ صبح، ۱۴ عصر و ۲۲ شب، شیر دوشی شدند و رکوردها روزانه ثبت شدند.

در ۳۰-۲۸ روز پس از زایش، گاوها توسط دامپزشک و تکنسین مامایی جهت هم‌زمانی چرخه فعلی کنترل و اولین تزریق پروستاگان‌دین و ۱۴ روز بعد از آن دومین تزریق پروستاگان‌دین انجام شد. ۳-۲ روز پس از آن، ۵ مرتبه به فاصله یک روز در میان (۱۰روز) صبح‌ها ساعت ۱۱ توسط دستگاه اولتراسونوگرافی (پرتابل مدل Emp V9- و فرکانس ۵ مگاهرتز)، سونوگرافی شدند و فیلم‌های تخمدان‌های هر گاو جهت شمارش فولیکول‌ها و اندازه‌گیری قطر آن‌ها ثبت و ضبط شد.

به این شرح که کل فیلم‌ها توسط یک نفر مورد ارزیابی قرار گرفت و قطر و اندازه فولیکول‌ها در ۴ کلاس ثبت شد:

جدول ۱- جیره پایه و اجزای مواد مغذی (بر اساس ماده خشک) در گاوهای قبل و پس از زایش

جیره		اجزا
پس از زایش	قبل از زایش	
		اجزای خوراک، %
۲۵/۰	۳۰/۸	یونجه خشک
۱۹/۱	۲۷/۰	علوفه ذرت سیلو شده
۳/۵	-	تفاله خشک چغندر قند
-	۴/۸	سبوس گندم
۱۶/۴	۱۲/۳	دانه جو آسیاب شده
۸/۲	۱۰/۳	دانه ذرت آسیاب شده
۳/۵	-	پنبه دانه
۱/۶	-	گلوتن ذرت
۰/۶	-	پودر گوشت
۴/۴	۵/۷	کنجاله آفتابگردان
۱۱/۵	۴/۲	کنجاله سویا
۱/۷	-	پودر چربی گیاهی
۱/۲	۱/۳	گلایکولان
۰/۱	۱/۰	کربنات کلسیم
۰/۷	-	جوش شیرین
۰/۲	-	اکسید منیزیم
۰/۶	۰/۲	دی کلسیم فسفات
۰/۲	-	نمک
۱/۰	-	بنتونیت
۰/۶	-	مکمل معدنی ویتامینه شیری <sup>۱</sup>
-	۲/۴	مکمل معدنی ویتامینه انتظار زایش <sup>۲</sup>
		اجزای شیمیایی جیره‌ها
۱/۶۷	۱/۴۸	انرژی خالص شیردهی (مگا کالری بر کیلو گرم) <sup>۳</sup>
۵۷/۱	۵۲/۵	ماده خشک، %
۹۱/۲	۸۹/۵	ماده آلی، %
۱۶/۷	۱۴/۳	پروتئین خام، % ماده خشک
۳۳/۵	۳۹/۳	فیبر نامحلول در شوینده خنثی، %
۲۱/۸	۲۵/۰	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی، %
۳۵/۹	۳۳/۷	کربوهیدرات غیر فیبری <sup>۴</sup> ، %
۴/۹	۲/۸	چربی خام، %
۰/۹۱	۱/۳	کلسیم <sup>۳</sup> ، %
۰/۴۵	۰/۴	فسفر <sup>۳</sup> ، %

۱ حاوی (بر اساس ماده خشک): ۲۴٪ کلسیم، ۷٪ فسفر، ۳٪ منیزیم، ۴/۶٪ سدیم، ۰/۵٪ گوگرد، ۲۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم آهن، ۷۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم منگنز، ۷۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روی، ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کبالت، ۱۷۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ید، ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سلنیوم، ۲۵۰ کیلو واحد بین المللی ویتامین A، ۲۰۰ کیلو واحد بین المللی ویتامین D3، ۱/۵ کیلو واحد بین المللی ویتامین E. ۲ حاوی (بر اساس ماده خشک): ۱۵/۵٪ کلسیم، ۳٪ منیزیم، ۰/۸۸٪ سدیم، ۴/۹٪ گوگرد، ۱۲/۸۶٪ کلر، ۱۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم آهن، ۹۸۸ میلی‌گرم/کیلوگرم منگنز، ۱۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روی، ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کبالت، ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم مس، ۱۳ میلی‌گرم/کیلوگرم ید، ۱۵ میلی‌گرم/کیلوگرم سلنیوم، ۵۰۰ کیلو واحد بین المللی ویتامین A، ۵۰ کیلو واحد بین المللی ویتامین D3، ۲ کیلو واحد بین المللی ویتامین E.

۳ محاسبه شده بر اساس احتیاجات گاو شیری (NRC (2001).

۴ (NRC, 2001) فیبر نامحلول در شوینده خنثی + فیبر نامحلول در شوینده اسیدی + پروتئین خام + چربی خام + خاکستر) - ۱۰۰

## نتایج و بحث

با توجه به نتایج جدول ۲، ماده خشک مصرفی، امتیاز نمره بدنی، و وزن بدن تحت تاثیر تیمار در قبل و بعد از زایش قرار نگرفتند ( $P > 0/10$ ). در حالی که تولید شیر خام تحت تاثیر تیمارها قرار داشت ( $P = 0/05$ ) به این شرح که گاوهای دریافت کننده ۰/۰۴ میلی گرم وانادیوم به ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی دارای بیشترین مقدار تولید شیر در مقایسه با گروه شاهد و سایر گروه های دریافت کننده وانادیوم بودند.

افزودن وانادیوم به جیره، هیچ اثر معنی داری بر قابلیت هضم مواد مغذی (ماده خشک، ماده آلی، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی، فیبر نامحلول در شوینده خنثی و پروتئین) در قبل و پس از زایش نداشت. صدوری و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که مکمل کروم نیز هیچ اثری بر قابلیت هضم مواد مغذی در قبل و پس از زایش ندارد ولی افزایش تولید شیر را می توان به غلظت های بالاتر گلوکز سرم و فراهمی بیشتر انرژی در طرف غدد پستانی دانست.

جدول ۴، اثر وانادیوم بر متابولیت و هورمون های خون در ۱۰ روز اولتراسونوگرافی را نشان می دهد.

اثر زمان و اثر متقابل تیمار در زمان بر متابولیت و هورمون های خونی معنی دار نبود ( $P > 0/10$ ). غلظت انسولین و گلوکز سرم در گاوها تحت تاثیر تیمارها قرار گرفتند ( $P = 0/01$ ).

به طوری که گاوهای دریافت کننده سطوح ۰/۰۴ و ۰/۰۸ میلی گرم وانادیوم به ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی دارای بالاترین غلظت انسولین و گلوکز در سرم در مقایسه با شاهد و گروه دریافت کننده ۰/۱۲ میلی گرم وانادیوم به ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی بودند.

بالاتر بودن غلظت انسولین را در این دسته از گاوها می توان به بالاتر بودن غلظت گلوکز در آن ها مرتبط دانست. در اواخر دوره آبستنی و چند هفته اول زایش که نشخوارکنندگان با توازن منفی انرژی روبرو هستند، ظرفیت کبد در گلوکوئوتوزن برای تامین گلوکز کافی برای رحم و بعد از زایش برای شیردهی افزایش می یابد (ویلسون و همکاران، ۱۹۹۶؛ بل و بومن، ۱۹۹۷). هم چنین

نشان داده شده که نرخ گلوکوئوتوزن کبدی در دوره انتقالی و توازن منفی انرژی تقریباً دو برابر می شود (بومن و لیوت، ۱۹۸۳). وانادیوم در شکل وانادیل سولفات در رت های دیابتی نوع دو نشان داده شده که می تواند سبب القای فعالیت فسفوانیزوتید-۳-کیناز (PI3-K) شده که در واقع جهت تحریک ساخت گلیکوژن اهمیت دارد (سکار و همکاران، ۱۹۹۹). به نظر می رسد که وانادیوم سبب افزایش گلوکوئوتوزن کبدی و افزایش غلظت خون در این دسته از گاوها شده است و با توجه به این که در سطوح ۰/۱۲ میلی گرم وانادیوم افت غلظت گلوکز انسولین را مشاهده می کنیم احتمالاً در این سطح وانادیوم یک مسمومیت جزئی در گاو ایجاد می شود که همانند عنصر کم نیاز سلنیوم حد نیاز و حد مسمومیت وانادیوم بسیار نزدیک است.

احمدی و همکاران (۱۳۸۸)، با افزودن ۰/۵۰ میلی گرم وانادیل سولفات به آب آشامیدنی رت های دیابتی، افزایش غلظت هورمون انسولین را در این دسته از حیوانات مشاهده کردند. نسبت انسولین به گلوکز تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت ( $P > 0/10$ ). غلظت پروژسترون به طور معنی داری در گاوهای دریافت کننده ۰/۰۴ و ۰/۰۸ میلی گرم وانادیوم در مقایسه با شاهد و گروه دریافت کننده ۰/۱۲ میلی گرم، کمتر بود ( $P = 0/001$ ).

مقادیر زیادی از هورمون پروژسترون می تواند در بافت های چربی گاو ذخیره شود و زمانی که این بافت به منظور تامین انرژی در شرایط توازن منفی انرژی موبیلاز می شود، آزاد سازی شده و سبب افزایش غلظت پروژسترون خون در گاوها می شود (رادریگوئیس و همکاران، ۲۰۱۱). در این مطالعه با توجه به این که غلظت گلوکز تحت تاثیر تیمار افزایش یافت شاید بتوان گفت که به دلیل فراهمی بیشتر انرژی موبیلاز بافت چربی کمتری صورت گرفته و در نتیجه غلظت پروژسترون کمتری در خون داشته اند.

علاوه بر این، در مطالعه بر روی رت ها و انسان های دیابتی با وانادیوم نشان داده شده که وانادیوم سبب کاهش کل کلسترول خون می شود (کوژی و همکاران، ۲۰۰۱). از آنجایی که

عدم فراهمی گلوکز مستقیماً نمی تواند غدد هیپوفیز یا سیستم ترشحی نورون GnRH را تحت تاثیر قرار دهد. فاستر و ناگاتانی (۱۹۹۹) نشان دادند که گلوکز می تواند به عنوان یک سیگنال متابولیکی در تنظیم ترشح GnRH باشد. بنابراین، به نظر می رسد که گلوکز، نقش کلیدی در آزاد سازی LH و تنظیم ترشح GnRH بر عهده دارد (واتسون و همکاران، ۲۰۰۰). بنابراین، با توجه به غلظت بیشتر گلوکز و انسولین در گاوهای دریافت کننده سطوح ۰/۰۴ و ۰/۰۸ میلی گرم وانادیوم و همچنین غلظت های پایین تر پروژسترون در این دسته از گاوها در مقایسه با شاهد و گروه دریافت کننده ۰/۱۲ میلی گرم وانادیوم به ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی، می توان بیشتر بودن تعداد فولیکول های کوچک و بزرگ را در این دسته گاوها توجیه کرد. از طرف دیگر با توجه به نتایج این آزمایش می توان بیان کرد که وانادیوم در سطح ۰/۱۲ میلی گرم می تواند سبب ایجاد مسمومیت خفیفی شود.

### نتیجه گیری

وانادیوم در شکل وانادیل سولفات نتوانست خوراک مصرفی، وزن بدن و نمره امتیاز بدنی گاوها در قبل و بعد از زایش را تحت تاثیر قرار دهد ولی تولید شیر خام را تحت تاثیر قرار داد. قابلیت هضم مواد مغذی در کل دستگاه گوارش تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. وانادیوم، سبب افزایش غلظت انسولین و گلوکز و کاهش غلظت پروژسترون سرم در گاوهای دریافت کننده ۰/۰۴ و ۰/۰۸ میلی گرم وانادیوم شد و در نهایت نتوانست سبب بهبود رشد و توسعه فولیکول ها در این دسته از گاوها شود. به علاوه بهترین سطح وانادیوم در شکل وانادیل سولفات با توجه به نتایج این آزمایش، ۰/۰۴ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی در اوایل دوره شیردهی با وجود توازن منفی انرژی توصیه می شود.

کلسترول به عنوان پیش ساز هورمون پروژسترون است بنابراین وانادیوم شاید از این طریق هم سبب کاهش پروژسترون خون شود. جدول ۵، اثر وانادیوم بر تعداد و اندازه فولیکول های تخمدان را نشان می دهد. تعداد فولیکول های کوچک در گاوهای دریافت کننده سطوح ۰/۰۴ و ۰/۰۸ میلی گرم وانادیوم در مقایسه با شاهد و گروه دریافت کننده ۰/۱۲ میلی گرم وانادیوم به ازای کیلوگرم وزن متابولیک، بیشتر بودند ( $P=0/02$ ).

تعداد فولیکول های متوسط تحت تاثیر تیمار قرار نگرفتند ( $P>0/10$ ). گاوهای دریافت کننده وانادیوم در مقایسه با شاهد، تعداد فولیکول های بزرگ بیشتری داشتند ( $P=0/02$ ). انسولین به عنوان تحریک کننده مسیر سنتز استروئیدها در سلول های گرانولوزا و تیکای گاو شناخته می شود (اسپایسر و استیوارت، ۱۹۹۶؛ اسپایسر و همکاران، ۱۹۹۳). غلظت های اندک انسولین ارتباط مستقیمی با توازن منفی انرژی در اوایل شیردهی گاوها دارد (کنفیلد و باتلر، ۱۹۹۱؛ مک کان و هانسسل، ۱۹۸۶). مک کان و هانسسل (۱۹۸۶)، نشان دادند که انسولین نقش بسیار مهمی در عملکرد هیپوفیز - تخمدان دارد.

به طوری که انسولین برای سنتز استروئیدها در سلول های لوتئال و فولیکولی لازم است (اسپایسر و اکثرنکمپ، ۱۹۹۵). علاوه بر نقش انسولین در ساخت هورمون های استروئیدی، نقش دیگر آن به عنوان یک سیگنال متابولیکی در آزادسازی LH توسط هیپوفیز پیشین می باشد (مونگت و مارتین، ۱۹۹۷) و نشان داده شده که نقشی در تنظیم پاسخ تخمدانی به گنادوتروپین ها دارد (دیسکین و همکاران، ۲۰۰۳).

به علاوه بوچالتز و همکاران (۱۹۹۶)، گزارش دادند که فراهمی بیشتر گلوکز، ترشح LH را تحت تاثیر قرار می دهد که این مکانیسم از طریق عمل بر سیستم عصبی مرکزی در تشخیص مکان های پریفرال به نورون (سلول عصبی) GnRH می باشد زیرا

جدول ۲- اثر وانادیوم در شکل وانادیل سولفات بر عملکرد و تولید گاوها

متغیرها	میانگین حداقل مربعات تیمارها <sup>۱</sup>				میانگین خطای استاندارد <sup>۲</sup>	سطح معنی داری
	H	M	L	C		
قبل زایش						
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم/روز)	۱۳/۴۸	۱۳/۵۵	۱۳/۵۴	۱۲/۹۷	۰/۴۲	۰/۱۷
امتیاز نمره بدنی	۳/۵۱	۳/۵۵	۳/۵۲	۳/۴۸	۰/۰۴	۰/۲۵
وزن بدن (کیلوگرم)	۶۶۰	۶۶۶	۶۶۴	۶۶۶	۱۰/۲۵	۰/۷۰
بعد از زایش						
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم/روز)	۱۷/۵۰	۱۶/۹۴	۱۶/۷۲	۱۶/۶۸	۰/۷۲	۰/۲۴
امتیاز نمره بدنی	۳/۱۵	۳/۰۸	۳/۰۵	۳/۰۴	۰/۰۷	۰/۱۳
وزن بدن (کیلوگرم)	۶۰۳	۵۹۵	۵۹۸	۵۹۸	۶/۰۱	۰/۴۶
تغییرات وزن بدن %	-۶/۲۹	۶/۸۰	-۶/۴۴	-۶/۸۶	۲/۲۷	۰/۸۷
شیر خام (کیلوگرم/روز)	۳۲/۸ <sup>b</sup>	۳۳/۶ <sup>b</sup>	۳۴/۸ <sup>a3</sup>	۳۱/۷ <sup>b</sup>	۱/۱	۰/۰۵

۱ به ترتیب شاهد (C)، گروه دریافت کننده ۰/۰۴ میلی گرم وانادیوم (وانادیل سولفات) به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی (L)، ۰/۰۸ میلی گرم وانادیوم (وانادیل سولفات) به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی (M)، ۰/۱۲ میلی گرم وانادیوم (وانادیل سولفات) به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی (H) SEM (Standard Error of Means) ۲  
 ۳ اعداد با حروف نا متشابه از نظر آماری در سطح پنج درصد معنی دار هستند.

جدول ۳- اثر وانادیوم در شکل وانادیل سولفات بر قابلیت هضم مواد مغذی در کل دستگاه گوارش (درصد)

متغیرها	میانگین حداقل مربعات تیمارها <sup>۱</sup>				میانگین خطای استاندارد <sup>۲</sup>	سطح معنی داری
	H	M	L	C		
قبل زایش						
ماده خشک	۶۳/۲	۶۳/۲	۶۳/۵	۶۴/۰	۰/۹۹	۰/۴۳
ماده آلی	۶۵/۵	۶۴/۹	۶۵/۱	۶۵/۶	۰/۸۲	۰/۹۸
پروتئین خام	۶۴/۷	۶۴/۹	۶۳/۰	۶۳/۹	۰/۸۲	۰/۲۳
<sup>۳</sup> NDF	۵۴/۱	۵۳/۸	۵۴/۸	۵۳/۸	۱/۳۱	۰/۹۷
<sup>۴</sup> ADF	۵۳/۲	۵۲/۱	۵۲/۵	۵۲/۵	۱/۲۲	۰/۲۳
بعد از زایش						
ماده خشک	۷۱/۸	۷۰/۸	۷۱/۵	۷۰/۹	۰/۸۶	۰/۴۵
ماده آلی	۷۲/۴	۷۲/۰	۷۲/۲	۷۲/۰	۰/۸۰	۰/۶۷
پروتئین خام	۷۱/۶	۷۱/۶	۷۱/۰	۷۰/۵	۰/۹۱	۰/۱۹
<sup>۳</sup> NDF	۵۶/۲	۵۵/۷	۵۵/۶	۵۵/۱	۱/۱۷	۰/۳۲
<sup>۴</sup> ADF	۵۳/۲	۵۲/۲	۵۲/۱	۵۳/۷	۱/۱۷	۰/۷۵

۱ به ترتیب شاهد (C)، گروه دریافت کننده ۰/۰۴ میلی گرم وانادیوم (وانادیل سولفات) به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی (L)، ۰/۰۸ میلی گرم وانادیوم (وانادیل سولفات) به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی (M)، ۰/۱۲ میلی گرم وانادیوم (وانادیل سولفات) به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی (H) SEM (Standard Error of Means) ۲  
 ۳ فیبر نامحلول در شوینده خنثی  
 ۴ فیبر نامحلول در شوینده اسیدی



جدول ۴- اثر وانادیوم در شکل وانادیل سولفات بر متابولیت و هورمون ها در اوایل شیردهی

متغیرها	میانگین حداقل مربعات تیمارها <sup>۱</sup>				میانگین خطای استاندارد <sup>۲</sup>	سطح معنی داری
	H	M	L	C		
پروژسترون (نانو گرم/میلی لیتر)	۲/۵۵ <sup>a3</sup>	۱/۹۱ <sup>b</sup>	۱/۳۱ <sup>b</sup>	۲/۹۸ <sup>a</sup>	۰/۲۱	۰/۰۰۱
انسولین (نانو گرم/میلی لیتر)	۶/۲۱ <sup>b</sup>	۷/۴۳ <sup>a</sup>	۷/۲۱ <sup>a</sup>	۶/۱۸ <sup>b</sup>	۰/۳۰	۰/۰۱
گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر)	۴۷/۳۰ <sup>b</sup>	۵۳/۱۱ <sup>a</sup>	۵۴/۷۹ <sup>a</sup>	۴۵/۱۰ <sup>b</sup>	۱/۷۱	۰/۰۱
انسولین: گلوکز	۱۷/۵۰	۱۸/۳۵	۱۷/۲۴	۱۷/۹۵	۲/۲۱	۰/۵۸

۱ به ترتیب شاهد (C)، گروه دریافت کننده ۰/۰۴ میلی گرم وانادیوم (وانادیل سولفات) به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی (L)، ۰/۰۸ میلی گرم وانادیوم (وانادیل سولفات) به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی (M)، ۰/۱۲ میلی گرم وانادیوم (وانادیل سولفات) به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی (H)

۲ SEM (Standard Error of Means)

۳ اعداد با حروف نا متشابه از نظر آماری در سطح پنج درصد معنی دار هستند.

جدول ۵- اثر وانادیوم در شکل وانادیل سولفات بر تعداد و اندازه فولیکول های تخمدان

متغیرها	میانگین حداقل مربعات تیمارها <sup>۱</sup>				میانگین خطای استاندارد <sup>۲</sup>	سطح معنی داری
	H	M	L	C		
فولیکول های کوچک <sup>۳</sup>	۲/۹۲ <sup>b</sup>	۳/۴۴ <sup>a</sup>	۳/۸۷ <sup>a</sup>	۲/۹۹ <sup>b</sup>	۰/۱۳	۰/۰۲
فولیکول های متوسط <sup>۴</sup>	۳/۹۰	۳/۶۶	۳/۹۱	۳/۸۱	۰/۲۱	۰/۳۷
فولیکول های بزرگ <sup>۵</sup>	۱/۰۱ <sup>ab</sup>	۱/۳۷ <sup>a</sup>	۱/۳۹ <sup>a</sup>	۰/۸۸ <sup>b</sup>	۰/۱۵	۰/۰۵
کل فولیکول ها	۷/۸۵ <sup>b</sup>	۸/۴۵ <sup>b</sup>	۹/۱۸ <sup>a6</sup>	۷/۸۹ <sup>b</sup>	۰/۱۷	۰/۰۳

۱ به ترتیب شاهد (C)، گروه دریافت کننده ۰/۰۴ میلی گرم وانادیوم (وانادیل سولفات) به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی (L)، ۰/۰۸ میلی گرم وانادیوم (وانادیل سولفات) به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی (M)، ۰/۱۲ میلی گرم وانادیوم (وانادیل سولفات) به ازای کیلوگرم وزن متابولیکی (H)

۲ SEM (Standard Error of Means)

۳ فولیکول های ۴-۶ میلی متری

۴ فولیکول های ۷-۹ میلی متری

۵ فولیکول های ۱۰ و بزرگتر از ۱۰ میلی متری

۶ اعداد با حروف نا متشابه از نظر آماری در سطح پنج درصد معنی دار هستند.

## منابع

- muscle insulin sensitivity in type 2 diabetes. *J. of Cli. Endocrin. Metabol.* 86:1410-1417.
- Diskin, M.G., Mackey, D.R., Roche, J.F. and Sreenan, J.M. (2003). Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science.* 78:345-370.
- Edmonson, A., Lean, I., Weaver, L., Farver, T. and Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 72: 68-78.
- Foster D. L. and Nagatani S. (1999). Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Bioogy. Reproduction.* 60:205-215.
- Haenlein, G. and Anke, M. (2011). Mineral and trace element research in goats: A review. *Small Ruminant Research.* 95: 2-19.
- Hammon, D.S., Evjen, IM., Dhiman, T.R., Goff, P. and Walters, J.L. (2006). Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology Immunop.* 113: 21-29.
- Hayirli, A., Bremmer, D.R., Bertics, S.J., Socha, M.T. and Grummer, R.R. (2001). Effect of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science.* 84:1218-1230.
- Jordan, E.R. and R.H. Fourdraine, R.H. (1993). Characterization of the management practices of the top milk producing herds in the country. *Journal of Dairy Science.* 76:3247-3256.
- McCann J. P., Hansel W. (1986). Relationships between insulin and glucose metabolism and pituitary-ovarian functions in fasted heifers. *Biology Reproduction.* 34:630-641.
- Monget P. and Martin G.- B. (1997). Involvement of insulin-like growth factors in the interactions between nutrition and reproduction in female mammals. *Hum. Reproduction.* 12 (suppl 1):33-52.
- احمدی صلاح الدین، کریمیان سید مرتضی، ستوده مسعود، بهادری مسلم، دهقان غلامعباس. (۱۳۸۸). بررسی اثر وانادیل سولفات خوراکی بر فراساختار سلول‌های بتای پانکراس موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوس. *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان.* ۴: ۱-۱۳.
- AOAC. (1999). Official Methods of Analysis. 16<sup>th</sup> ed. K. Helrich, ed. *Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.*
- Bauman D. E. and J. Elliot M. (1983). Control of nutrient partitioning in lactating ruminants. In T. B. Mephram (ed.), *Biochemistry of Lactation*, Elsevier, Amsterdam, pp. 437-468.
- Bell, A.W. and Bauman, D.E. (1997). Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *J. Mammary Gland Biological Neoplasia.* 2: 265-278.
- Bell, A.W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science.* 73: 2804-2819.
- Bonczeck, R.R., C.W. Young, J.E. Wheaton, and K.P. Miller. (1988). Responses of somatotropin, insulin, prolactin, and thyroxine to selection for milk yield in Holsteins. *Journal of Dairy Science.* 71:2470-2478.
- Bucholtz, D.C., Vidmans, N.M., Herbosa, C.G., Schillo, K.K., Foster, D.L. (1996). Metabolic interfaces between growth and reproduction. Part V: Pulsatile luteinising hormone secretion is dependent on glucose availability. *Endocrinology.* 137:601-607.
- Canfield R.W. and Butler W.R. (1991). Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. *Journal of Animal Science.* 69:740-783.
- Cusi, K., Cukier, S., DeFronzo, R.A., Torres, M., Puchulu, F.M. and Redondo J.C. (2001). Vanadyl sulfate improves hepatic and

- Nebel, R.L., and McGilliard, M.L. (1993). Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 76:3257-3268.
- NRC. (2001). Nutrient Requirement of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Pierson, R.A., and Ginther, O.J. (1987). Follicular populations during the oestrous cycle in heifers: 1. Influence of day. *Animal Reproduction Science*. 14:165-176.
- Rodrigues, R. O., Trevisanuto, C., Cooke, R. F. and Vasconcelos, J.L.M. (2011). Effects of body weight loss on serum progesterone concentrations of non-lactating dairy cows. *Theriogenology*. 75: 131-137.
- Sadri, H., Ghorbani, G.R., Rahmani, H.R., Samie, A.H., Khorvash, M. and Bruckmaier, R.M. (2009). Chromium supplementation and substitution of barley grain with corn: Effects on performance and lactation in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 11: 5411-5418.
- Santos, J.E.P., T.R. Bilby, W.W. Thatcher, C.R. Staples, and F.T. Silvestre. (2008). Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. *Reproduction of Domestic Animal*. 43 (Supp. 2):23-30.
- SAS Institute. (1999). SAS User's Guide: Statistics. Version 8.2 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sekar N., Li J., He Z., Gefel, D. and Shechter Y. (1999). Independent Signal-Transduction Pathways for vanadate and for insulin in the activation of glycogen synthase and glycogenesis in rat adipocytes. *Endocrinology*. 140: 1125-1131.
- Shafir E., Spielman S. and Nachliel L. (2001). *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 17: 55-66.
- Smith, K.L., Waldron, M.R., Ruzzi L.C., Drackley J.K., Socha M.T. and Overton T.R. (2008). Metabolism of dairy cows as affected by prepartum dietary carbohydrate source and supplementation with chromium throughout the periparturient period. *Journal of Dairy Science*. 91:2011-2020.
- Smith, K.L., Waldron, M.R., Drackley, J.K., Socha, M.T. and Overton, T.R. (2005). Performance of dairy cows as affected by prepartum dietary carbohydrate source and supplementation with chromium throughout the transition period. *Journal of Dairy Science*. 88:255-263.
- Spicer L. J., Echternkamp S. E. (1995). The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology*. 12:233-245.
- Spicer L.J. and Stewart R.E. (1996). Interactions among basic fibroblast growth factor, epidermal growth factor, insulin, and insulin-like growth factor-I (IGF-I) on cell numbers and steroidogenesis of bovine thecal cells: role of IGF-I receptors. *Biology Reproduction*. 54:255-263.
- Spicer L.J., Alpizar E. and Echternkamp S.E. (1993). Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and (or) insulin-like growth factor I production in vitro. *Journal of Animal Science*. 71:1232-1241.
- utler, W.R. (2003). Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science*. 83: 211-218.
- Van Keulen, V. and Young, B.H. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as natural marker in ruminant digestibility studies. *Journalk Animal Science*. 26:119-135.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74:3583-3597.

