



## The Effect of Flaxseed Oil Supplementation and Injection of Vitamins (A, D<sub>3</sub>, E) on the Performance and Blood Metabolites of Suckling Calves

Mehرداد Movahed Nasab<sup>1</sup>, Abdolmansour Tahmasbi<sup>1\*</sup>, Seyed Alireza Vakili<sup>2</sup>, Abbas Ali Naserian<sup>2</sup>

Received: 08-05-2021  
Revised: 27-10-2021  
Accepted: 02-11-2021  
Available Online: 13-11-2022

### How to cite this article:

Movahed Nasab, M., Tahmasbi, A. M., Vakili, S. A. R., & Naserian, A.A. (2022). The effect of flaxseed oil supplementation and injection of vitamins (A, D<sub>3</sub>, E) on the performance and blood metabolites of suckling calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 14(3), 305-315.

DOI: [10.22067/ijasr.2021.70050.1020](https://doi.org/10.22067/ijasr.2021.70050.1020)

**Introduction:** Proper nutrition management during calf rearing is one of the most important factors which influence herd profitability. Environmental stressors and immature immune system of calves, reduce the viability of the animal. Today, attempts are being made to increase immune system postnatal calf life in various ways. Supplying unsaturated fats, which have double bonds on their structure, in starter diet, is one of the suggested solutions to improve the calf's immune system. Neonata ruminants do not have the ability to biosynthesize fat-soluble vitamins (A, D<sub>3</sub>, E), while these vitamins play a major role in the animal's immune system and their performance. Supplying fat-soluble vitamins in the calves' diets is critical for the normal growth of muscles and the body skeleton, as they have an improvement role to improve the immune system in animals. The common symptoms of a fat soluble vitamin deficiency in suckling calves are growth retardation, coarse hair, and susceptibility to infectious diseases.

**Materials and Methods:** In this experiment, twenty eight Holstein female calves with an average weight of 37.74 kg ( $\pm$  4/76) were used from birth to 56 days. After birth calves were separated from their dam and after weighing they transferred to individual pen. On the fourth day, the calves were randomly assigned to one of four treatments. All calves received colostrum for the first 3 d and then whole milk at 8% of bodyweight in the two equal part in the morning (4.00 A.M) and evening (16 P.M) until weaning. The experimental treatments included: 1) control: whole milk with starter 2) control diet supplemented with flaxseed oil (0.3ml per kilogram of body weight) 3) control diet and weekly injection of 7 cc of fat-soluble vitamins (A, D<sub>3</sub>, E) 4) The control diet which supplemented with flaxseed oil (0.3ml per kilogram of body weight) plus weekly injection of 7 cc of fat-soluble vitamins. Flaxseed oil was mixed into milk (morning feeding) until weaning. During the experiment period, calves had ad libitum access to chopped alfalfa hay and starter diet. Water from a plastic bucket (7 liters), filled twice a day, and was provided throughout the study. Composition of starter did not change throughout the experiment. Starter intake was recorded daily. Body weight gain determined weekly until the end of experiment. Fecal consistencies were scored twice a day. Blood sample were harvested from jugular vein for collection of blood serum. Blood metabolites, glucose, cholesterol, triglycerides were analyzed using commercially available colorimetric and enzymatic assay kits. Data were analyzed using SAS version 9.4 as a randomized completely randomized design experiment. For all results, significant differences between treatments were reported at  $P \leq 0.05$  and tendencies were reported at  $0.05 < P \leq 0.10$ . Least square means for each treatment are reported in the tables and were separated using Tukey's test.

**Results and Discussion:** The results of this study showed that the use of flaxseed oil and injection of fat-soluble vitamins during pre-weaning period had no significant effect on the starter feed intake, daily weight gain, rectal temperature and skeletal growth parameters of calves.

Serum concentrations of total protein, triglyceride, creatinine and urea were not affected by experimental treatments. Calves received flaxseed oil and fat soluble vitamins injection tended to have the lowest serum glucose concentration ( $P < 0.10$ ). Calves received flax seed oil and fat soluble vitamins injection had the highest cholesterol

1- M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

2-Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

\*Corresponding Author Email: [tahmasebi@um.ac.ir](mailto:tahmasebi@um.ac.ir)

concentration.

**Conclusion:** The results of this study indicated that inclusion of flaxseed oil and injection of fat-soluble vitamins (A, D, E) had no any marked effects on weight gain, daily feed intake and skeletal bone growth.

**Keywords:** Calf, Fat-soluble vitamins, Flaxseed oil, Unsaturated fatty acids.

## مقاله پژوهشی

اثر مکمل روغن کتان و تزریق ویتامین‌های (A, D<sub>3</sub>, E) بر عملکرد و متابولیت‌های سرم گوساله‌های ماده شیرخوارمهرداد موحد نسب<sup>۱</sup>، عبدالمنصور طهماسبی\*<sup>۲</sup>، سید علیرضا وکیلی<sup>۲</sup>، عباسعلی ناصریان<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۱۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۸/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۱۱

موحد نسب، م، طهماسبی، ع، وکیلی، س. ع. ر، و ناصریان، ع. ع. (۱۴۰۱). اثر مکمل روغن کتان و تزریق ویتامین‌های (A, D<sub>3</sub>, E) بر عملکرد و متابولیت‌های سرم گوساله‌های ماده شیرخوار. پژوهش‌های علوم دامی ایران، ۱۴ (۳)، ۳۱۵-۳۰۵.

## چکیده

به منظور بررسی تأثیر روغن دانه کتان و ویتامین‌های محلول در چربی (E, D<sub>3</sub>, A) بر عملکرد و فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار، آزمایشی با استفاده از ۲۸ رأس گوساله شیرخوار ماده هلشتاین اجرا شد. در این آزمایش، گوساله‌ها در سن چهار روزگی به صورت کاملاً تصادفی به یکی از چهار تیمار مورد آزمایش اختصاص داده شدند. تیمارهای مورد آزمایش شامل: ۱) شیرکامل همراه با استارتر آغازین (شاهد) ۲) جیره شاهد مکمل شده با روغن کتان (۰/۳ میلی لیتر به ازای هر کیلو وزن بدن)، ۳) جیره شاهد و تزریق هفته‌ای هفت سی‌سی ویتامین محلول در چربی (۴ جیره شاهد مکمل شده با روغن کتان (۰/۳ میلی لیتر به ازای هر کیلو وزن بدن) و تزریق هفته‌ای هفت سی‌سی ویتامین محلول در چربی. نمونه‌های خون در روزهای ۱، ۱۴، ۲۸، ۵۶ روزگی (زمان از شیرگیری) از سیاه رگ گردنی جمع‌آوری شد. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی تأثیری بر مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه، بازده خوراک و رشد اسکلتی نداشت. غلظت پارامترهای سرم خونی مانند گلوکز، پروتئین تام، کراتینین، تری گلیسیرید و اوره سرمی خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان می‌دهد که استفاده از اسیدهای چرب اشباع نشده چندگانه روغن دانه کتان و یا تزریق ویتامین محلول در چربی نه تنها هیچ تأثیر سوئی بر عملکرد گوساله‌ها نداشت، بلکه سبب بهبود برخی از متابولیت سرمی نیز شد.

**واژه‌های کلیدی:** اسیدهای چرب غیراشباع، روغن کتان، گوساله‌های شیرخوار، ویتامین‌های محلول در چربی.

## مقدمه

عدم تکامل سیستم ایمنی، قدرت زنده‌مانی حیوان به شدت تقلیل می‌یابد. از طرفی، در این دوره سیستم آنزیمی حیوان کامل نبوده و لذا قادر به استفاده از برخی مواد نمی‌باشد. خوراندن آغوز با کیفیت به گوساله‌ها در اولین ساعات زندگی، از مهم‌ترین راهکارهای مناسب و ضروری برای انتقال ایمنی غیرفعال به گوساله شیرخوار می‌باشد. امروزه سعی می‌گردد که به روش‌های مختلفی توانایی سیستم ایمنی در گوساله‌های شیرخوار را افزایش دهند (Godden et al., 2009).

موفقیت یک واحد پرورشی گاو شیری منوط به جایگزین نمودن گوساله‌ها و تلیسه‌های با کیفیت، در گله می‌باشد. لذا مدیریت و تغذیه صحیح در پرورش گوساله‌های شیرخوار جایگزین از مهم‌ترین ارکان در سودآوری گله می‌باشد (Quigley et al., 2006). در بدو تولد و در طی دوران شیرخوارگی به دلیل وجود عوامل استرس‌زای محیطی و نیز

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

(Email: [tahmasebi@um.ac.ir](mailto:tahmasebi@um.ac.ir))

\*- نویسنده مسئول:

ژن‌های IL-4 و IL-8 در آن‌ها گردیده بود، در حالی که روغن ماهی اثر مثبتی در کاهش بیان TNF- $\alpha$  از خود نشان داد.

هیل و همکاران (Hill et al., 2011) با افزودن مکمل تجاری با نام NeoTec4 (ترکیبی از روغن نارگیل، روغن کتان و اسید استیک) در جایگزین شیر گوساله‌های شیرخوار، پارامترهای ایمنی و سلامت و رشد را مورد سنجش قرار گرفت، نتایج این آزمایش حاکی از آن بود که مصرف NeoTec4 باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی، مصرف خوراک و میانگین افزایش وزن روزانه شد و از طرفی، باعث کاهش تحریک فاکتورهای التهابی TNF- $\alpha$  و IL-4 در خون گوساله‌ها شد.

کروگر و همکاران (Krueger et al., 2016) گزارش نمودند که استفاده از ویتامین‌های محلول در چربی در شیر پاستوریزه مورد استفاده گوساله‌های شیرخوار، باعث هم‌کوشی این ویتامین‌ها گردیده است و از طرفی، سبب بهبود عملکرد و سلامت و نیز افزایش انتقال فعال هپتاتگلوبین در گوساله‌های تغذیه شده با شیر پاستوریزه شده بود.

با توجه به وجود اطلاع اندک در خصوص استفاده از روغن دانه کتان و ویتامین‌های محلول در چربی و یا استفاده توأم آن‌ها در نوزاد نشخوارکنندگان، آزمایش پیش رو با هدف بررسی اثرات روغن کتان و تزریق ویتامین‌های محلول در چربی بر عملکرد، بر ابعاد بدن، پارامترهای سلامتی حیوان، متابولیت‌های خونی گوساله‌های شیرخوار طراحی و اجرا گردید.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در مرکز تحقیقات گاو‌شیری دانشگاه فردوسی مشهد در اوایل تیر ماه تا اواسط آبان سال ۱۳۹۹ انجام گردید. تعداد ۲۸ رأس گوساله ماده هلشتاین با میانگین وزن  $(37/7 \pm 4/8)$  کیلوگرم، بعد از تولد از مادر جدا شده و پس از وزن‌کشی به جایگاه‌های انفرادی منتقل شدند. گوساله‌ها به مدت سه روز متوالی دو نوبت در روز و هر وعده با دو لیتر آغوز با کیفیت تغذیه شدند (رفلکتومتر چشمی ATC مدل ۰۰۳۲ و بریکس ۰ تا ۳۲ درصد برای تعیین کیفیت کلاستروم استفاده گردید) و از ابتدای روز چهارم شیر کامل جایگزین کلاستروم گردید.

در ابتداء، روز چهارم گوساله‌ها بر مبنای وزن دسته‌بندی و به صورت کاملاً تصادفی به یکی از چهار تیمار اختصاص داده شدند. تیمارها مورد آزمایش شامل: (۱) شیر کامل همراه با خوراک آغازین (شاهد) (۲) جیره شاهد به همراه شیرمکمل شده با روغن کتان به صورت گاواژه همراه شیر (۳/۰ میلی لیتر به‌ازای هر کیلو وزن بدن) (۳) جیره شاهد و تزریق هفته‌ای هفت سی سی ویتامین محلول در چربی (محلول استریل تزریقی از شرکت رازک، هر میلی لیتر حاوی: Vitamin A ۵۰۰۰ IU، Vitamin D<sub>3</sub> ۱۰۰۰۰ IU، Vitamin E ۲۰ mg، Vitamin D<sub>3</sub>، E، A) (۴) جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن کتان (۳/۰ میلی لیتر به‌ازای هر کیلو وزن بدن) و تزریق هفته‌ای هفت سی سی ویتامین محلول در

استفاده از چربی‌های غیراشباع که دارای دو باند دوگانه می‌باشد، از راهکارهای پیشنهادی برخی از محققین در بهبود سیستم ایمنی نوزاد حیوانات می‌باشد (McDonnell et al., 2019).

تغذیه با چربی‌های غیراشباع نه تنها به تأمین انرژی حیوان، بلکه به توسعه سیستم متابولیسی و آنزیمی حیوان نیز کمک می‌کند. فقدان چربی در جیره و عدم بیوسنتز برخی از ویتامین‌ها منجر به محدودیت رشد حیوان می‌گردد. از مهم‌ترین روغن‌هایی که امروزه تحقیقات گسترده‌ای بر روی آن صورت گرفته روغن دانه کتان می‌باشد. روغن دانه کتان به‌طور متوسط حاوی نه درصد اسیدهای چرب اشباع، ۱۸ درصد اسیدهای چرب دارای یک پیوند دوگانه و ۷۳ درصد اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه (PUFA) می‌باشد (Thiessen Debbie., 2004).

اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه در روغن دانه کتان، از ۱۶ درصد اسیدهای چرب اومگا ۶ (به‌طور عمده اسید لینئولئیک) و ۵۷ درصد اسید لینولئیک تشکیل شده‌اند (Ambrose et al., 2006). روغن دانه کتان یکی از منابع اصلی و باارزش اسیدهای چرب امگا-۳ ضروری (عمدتاً آلفا لینولئیک اسید که پیش‌ساز ایکوزاپنتانوئیک اسید است) می‌باشد (Newkiri., 2015). ایکوزاپنتانوئیک اسید پیش‌ساز ایکوزونوئیدها بوده که مشابه ترکیبات شبه هورمونی عمل می‌نمایند و نقش مهمی در سیستم ایمنی حیوان ایفا می‌نمایند (Hill et al., 2011).

نوزاد نشخوارکنندگان در اوائل زندگی به دلیل عدم توسعه شکمبه از سیستم ناودان مری استفاده می‌نمایند و مواد غذایی به‌ویژه اسیدهای چرب غیراشباع بدون اینکه پروسه بیوهیدروژناسیون بر روی آن‌ها صورت پذیرد و ویتامین‌های محلول در چربی بدون هیچ‌گونه تغییری می‌توانند مستقیماً وارد روده باریک شده و اثرات مثبت خود را ایفا نمایند. لذا تصور می‌گردد با وجود پروفایل اسیدهای چرب ضروری موجود در دانه کتان، استفاده از روغن کتان و ویتامین‌های محلول در چربی می‌تواند در بهبود بازده خوراک، ضریب رشد، انرژی متابولیسی، رشد طبیعی غضلات و استخوان‌ها و همچنین بهبود سیستم ایمنی مؤثر باشد (Masmeijer et al., 2020). از طرفی، به علت اینکه نوزاد نشخوارکنندگان توانایی بیوسنتز ویتامین‌های محلول در چربی (A, E, K, D<sub>3</sub>) را نداشته و غلظت این ویتامین‌ها در سرم خون آن‌ها کم است، ممکن است با کمبود این ویتامین‌های ضروری روبه‌رو شوند که از علائم آن می‌توان به کاهش رشد، موهای زبر و مستعد ابتلا به بیماری‌های عفونی اشاره کرد (McDowell and Lee, 2008; Abd Elghany et al., 2008).

کارچر و همکاران (Karcher et al., 2014) گزارش نمودند که فاکتورهای التهابی و شاخص‌های رشدی و عملکردی در گوساله‌های شیرخوار، با افزودن روغن ماهی و روغن کتان در جایگزین‌کننده شیر تغییر می‌یابد به طوری که افزودن روغن کتان سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد بیشتری در گوساله‌ها شده بود و از طرفی، کاهش

چربی بودند. در کل دوره آزمایش، گوساله‌ها به صورت آزاد به خوراک آغازین و آب دسترسی داشتند. ترکیبات موجود در خوراک آغازین در تمامی گروه‌ها یکسان بود. اجزای تشکیل‌دهنده خوراک آغازین و ترکیبات آن در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- اقلام تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره آغازین آزمایش

Table 1- Ingredients and chemical compositions of the beginning experimental diet

| اقلام خوراکی<br>Ingredients (%DM)                           |       |
|---|-------|
| ذرت آسیاب شده<br>Ground corn                                | 45    |
| جو آسیاب شده<br>Milled barley                               | 15    |
| کنجاله سویا<br>Soybean meal                                 | 29    |
| سبوس گندم<br>Wheat bran                                     | 9     |
| مکمل ویتامینی<br>Mineral-vitamin premix                     | 1     |
| سنگ آهک<br>Limestone  | 1     |
| ترکیب شیمیایی<br>Chemical composition                       |       |
| پروتئین خام<br>Crude protein (%)                            | 20.1  |
| ماده خشک<br>Dry mater (%)                                   | 90.5  |
| کربوهیدرات‌های غیر فیبری<br>Non-fibrous carbohydrates (NFC) | 57.7  |
| عصاره اتری<br>Ether extracts (EE) (%)                       | 3.1   |
| فسفر<br>Phosphorus (%)                                      | 0.6   |
| کلسیم<br>Calcium (%)  | 0.7   |
| خاکستر<br>Ash (%)   | 5.29  |
| ماده آلی<br>Organic matter (%)                              | 94.71 |
| فیبر نامحلول در شوینده خنثی<br>Neutral detergent fiber (%)  | 57.7  |
| فیبر نامحلول در شوینده اسیدی<br>Acid detergent fiber (%)    | 6.9   |

اقلام تشکیل‌دهنده مکمل ویتامینی در جیره آغازین: ویتامین D<sub>3</sub> 300000 (IU/Kg)، ویتامین E 3000 (IU/Kg)، کلسیم 7011 (mg/kg)، فسفر 30000 (mg/kg)، منیزیم 20700 (mg/kg)، سدیم 40000 (mg/kg)، منگنز 5000 (mg/kg)، روی 10000 (mg/kg)، مس 3000 (mg/kg)، سلنیوم 100 (mg/kg)، ید 120 (mg/kg)، سلنیوم آلی 2 (mg/kg)، کبالت 100 (mg/kg)، آنتی‌اکسیدان 1000 (mg/kg).

Vitamin supplement components in the initial diet: vitamin D<sub>3</sub> 300000 (IU/Kg), vitamin E 3000 (IU/Kg), calcium 7011 (mg/kg), phosphorus 30000 (mg/kg), magnesium 20700 (mg/kg), sodium 40000 (mg/kg), manganese 5000 (mg/kg), zinc 10000 (mg/kg), copper 3000 (mg/kg), selenium 100 (mg/kg), iodine 120 (mg/kg), organic selenium 2 (mg/kg), cobalt 100 (mg/kg), antioxidant 1000 (mg/kg).

([Karimi et al., 2021](#)) در حالی که کریمی و همکاران (Karimi et al., 2021) تأثیر معنی‌داری در استارت‌ر مصرفی گوساله‌های شیرخوار تغذیه شده با منابع مختلف چربی گزارش کردند. مطالعات نشان می‌دهد که خوراک مصرفی می‌تواند متأثر از سن، میزان چربی کل جیره، نوع چربی و نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع جیره باشد ([Doppenberg and Palmquist, 1991](#); [Ghorbani et al., 2020](#); [Hill et al., 2011](#)). محققین گزارش نمودند که افزودن اسیدهای چرب غیراشباع C18:2 و C18:3 در خوراک گوساله‌های شیرخوار تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن نداشته است ([Kadkhoday et al., 2017](#))، حال آن که گوساله‌های تغذیه شده با نمک‌های کلسیمی روغن کتان وزن نهایی بیشتری را نشان دادند ([Thiessen Debbie, 2004](#)). همان‌گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، تیمارها تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه گوساله‌ها نداشت. این نتایج با نتایج به‌دست آمده از آزمایش بلیکلی و همکاران ([Blakely et al., 2019](#)) ناهمسو است که گزارش کردند، گوساله‌های دریافت‌کننده ویتامین‌های محلول در چربی نسبت به گروه شاهد از افزایش وزن کمتری برخوردار بودند. این تفاوت در نتیجه، ممکن است به دلیل مصرفی ویتامین و یا شرایط آزمایش باشد. از طرفی، هیل و همکاران ([Hill et al., 2009](#)) بیان کردند که استفاده از روغن‌های C18:3 (لینولیک اسید) در جیره‌های استارت‌ر گوساله‌های شیرخوار منجر به بالا رفتن افزایش وزن و بازده خوراک می‌گردد ([Garcia et al., 2015](#)). بازده خوراک در کل دوره تحقیق، تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. کدخدایی و همکاران ([Kadkhoday et al., 2017](#)) بیان کردند که به‌طور کلی، افزودن منابع مختلف چربی شامل اسیدهای چرب C18:2 و C18:3 تأثیر معنی‌داری بر بازده خوراک گوساله‌ها خواهد داشت. از طرفی، ال-دی‌هی و همکاران ([El-Diahy et al., 2016](#)) نیز بیان نمودند که ضریب تبدیل خوراک با افزودن روغن کتان در جیره بهبود می‌یابد و به عبارتی، مقدار ماده خشک، پروتئین و TDN کمتری برای تولید یک لیتر شیر با ۴ درصد چربی لازم است. کارچر و همکاران ([Karcher et al., 2014](#)) در گزارشات به‌دست آمده از تحقیق خود نشان دادند که گوساله‌های دریافت‌کننده روغن کتان نسبت به گوساله‌هایی که روغن ماهی دریافت کرده بودند، بازده خوراک بهتری را از خود نشان دادند. شاید از دلایل احتمالی عدم معنی‌دار شدن بازده خوراک، تفاوت در شرایط آزمایشی و مدیریتی، نوع وارسته دانه کتان و فرایند استحصال روغن آن و سایر عوامل ناشناخته بوده باشد که می‌تواند به‌عنوان خطای آزمایش محسوب گردد.

برای تعیین ترکیب و کیفیت شیر در طول دوره آزمایش، چهار نوبت نمونه‌گیری انجام شد و نمونه‌ها با استفاده از دستگاه میکواسکن (Foss FT3, Foss Electric, Hillerød, Denmark) برای ارزیابی میزان پروتئین، چربی، لاکتوز و مواد جامد موجود در آن‌ها مورد آنالیز قرار گرفتند.

خوراک آغازین مورد استفاده نیز در انتهای هر هفته و در هنگام تولید، نمونه‌برداری و تا زمان تعیین مواد مغذی موجود در آن، در دمای ۲۰- درجه سلسوس ذخیره گردید. پارامترهای سلامتی گوساله‌ها مانند سرفه، ترشحات بینی و چشم، قوام مدفوع و میزان سرخالی گوساله به‌صورت روزانه و بعد از وعده شیر صبح، بر اساس روش دانشگاه ویسکانسین ([McGuirk, 2005](#)) مورد ارزیابی و نمره‌دهی قرار گرفت. بر اساس این روش، نمره صفر به دام‌های کاملاً سالم و نرمال و بقیه نمرات بر اساس شاخص سلامتی (تا ۳) امتیاز داده می‌شد. دمای رکتوم نیز به‌صورت هفتگی و در ساعات ۱۲ تا ۱۴ به‌کمک دماسنج دیجیتال (Vekto TM - 502) اندازه‌گیری می‌شد. در ابتدای هر هفته وزن و فرم بدن که شامل ارتفاع بدن، ارتفاع ران، فاصله استخوان‌های پین تا هیپ، فاصله استخوان‌های پین، فاصله استخوان‌های پین، محیط قفسه سینه، عمق بدن، طول کل (از وسط سر تا ابتدای دم)، طول ران، عرض قفسه سینه، عرض شانه و عرض ران با کمک کولیس و متر اندازه‌گیری شد ([McCoard et al., 2019](#)). نمونه خون در روزهای ۱، ۱۴، ۲۸ و ۵۶ آزمایش قبل از وعده شیر صبح از هر گوساله گرفته شد و پس از سانتریفیوژ با دور ۳۵۰۰ rpm (۱۵۰۹ Xg) به‌مدت ۱۰ دقیقه، سرم آن‌ها جدا و تا زمان اندازه‌گیری متابولیت‌های گلوکز، کلاسترول، تری‌گلیسیرید، کراتینین، اوره سرمی خون، پروتئین تام و HDL در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. متابولیت‌های خونی با استفاده از کیت‌های تجاری رایج و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر مدل Alpha Classic اندازه‌گیری شدند. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS۹/۴ و به‌روش GLM آنالیز شد و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون توکی - کرامر در سطح آماری ۹۵ درصد مقایسه گردید.

## نتایج و بحث

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، مصرف خوراک، افزایش وزن، بارده خوراک، دمای رکتوم و نمره مدفوع تحت تأثیر تیمارهای مورد آزمایش قرار نگرفت، داده‌های به‌دست آمده همسو با نتایج گزارش شده با سایر محققین می‌باشد ([Hill et al., 2011](#); [Kadkhoday et](#)

جدول ۲- تأثیر تیمارهای آزمایش بر عملکرد و سلامت گوساله‌های شیرخوار

Table 2- Effect of experimental treatments on performance and health of weaning calves

| عملکرد<br>Performance                           | تیمارهای آزمایشی<br>Experimental treatments |                            |                    |  | SEM   | P value |
|---|---|----------------------------|--------------------|--|-------|---------|
|   | شاهد<br>Control                             | روغن کتان<br>Flax seed oil | ویتامین<br>Vitamin | روغن کتان + ویتامین<br>Flax seed oil+vitamin |       |         |
| خوراک مصرفی (g/day)<br>Feed intake              | 627.90                                      | 575.70                     | 687.20             | 524.00                                       | 47.97 | 0.15    |
| افزایش وزن روزانه (g/day)<br>Average daily gain | 430.60                                      | 461.50                     | 513.20             | 486.50                                       | 22.61 | 0.09    |
| بازده خوراک<br>Feed efficiency                  | 0.73  | 0.82                       | 0.73               | 0.91   | 0.07  | 0.24    |
| دمای بدن (°C)<br>Body temperature               | 38.67                                       | 38.76                      | 38.65              | 38.71  | 0.057 | 0.56    |
| نمره مدفوع<br>Fecal score                       | 0.89  | 0.83                       | 0.84               | 0.78   | 0.05  | 0.42    |

در هر ردیف حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<0.05).

In each row, different letters indicate a significant difference (p<0.05).

فراسنجه‌های رشد نداشت. قاسمی و همکاران (Ghasemi et al., 2017) گزارش کردند که افزودن منابع چربی (روغن سویا، پیه و روغن پالم) به جیره گوساله‌ها تأثیری بر پارامترهای ابعاد بدنی آن‌ها نداشته است. کدخدایی و همکاران (Kadkhoday et al., 2014) نگرارش کردند که منابع مختلف چربی و اسیدهای چرب C18:3 و C18:2 تأثیری بر نمره بدنی و پارامترهای رشد اسکلتی گوساله‌های شیرخوار نداشته است.

بر اساس نتایج به‌دست آمده، اختلاف معنی‌داری بین غلظت گلوکز سرمی خون در تیمارهای مختلف مشاهده نشد (جدول ۴). هر چند که غلظت گلوکز به لحاظ عددی در تیمار حاوی روغن کتان نسبت به سایر تیمار بیشتر بود، از دلایل احتمالی می‌توان به این نکته اشاره کرد که بهره‌وری از منبع انرژی در گوساله‌های مصرف‌کننده روغن کتان بیشتر صورت گرفته است و لذا بخشی از گلوکز که برای تأمین انرژی بوده، مورد استفاده قرار نگرفته است (Thiessen Debbie, 2004). ولی عدم تفاوت معنی‌دار داده‌های فوق در این آزمایش ممکن است به دلیل بالا بودن خطای آزمایش باشد.

اختلاف معنی‌داری بین کلاسترول تیمارهای آزمایشی مشاهده می‌گردد. تیمار حاوی روغن کتان و ویتامین در کل دوره آزمایش غلظت کلاسترول بیشتری را نسبت به سه تیمار دیگر به خود اختصاص داده بود (p>0.05). کلاسترول نقش اساسی در غشای سلولی داشته و پیش‌ساز بسیاری از ترکیبات منجمله هورمون‌های استروئیدی، اسیدهای صفراوی و ویتامین D می‌باشد. رژیم غذایی، وزن بدن، سن، جنسیت و وراثت از جمله عوامل مؤثر بر سطح کلاسترول خون می‌باشند. غلظت پروتئین تام در این مطالعه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

دمای رکتوم تحت تأثیر تیمارهای مختلف بر قرار نگرفت. هیل و همکاران (Hill et al., 2011) نیز بیان کردند که مکمل کردن جیره با اسیدهای چرب تأثیری بر روی دمای رکتوم نداشت. دمای رکتوم به منظور تعیین سلامتی حیوان، که نشان‌دهنده بیماری‌هایی همچون اسهال، نفخ، سرماخوردگی، افسردگی و کاهش اشتها است، تعیین می‌گردد. در گوساله‌هایی که دمای رکتوم آن‌ها بیش از ۳۹/۵ درجه سلسیوس باشد، به‌عنوان گوساله‌های تب دار شناسایی می‌گردند. همان‌گونه که در جدول دو مشخص است، دمای رکتوم تمامی گوساله زیر ۳۹ درجه می‌باشد که در دامنه طبیعی درجه حرارت گوساله سالم (۳۸-۳۹ درجه سلسیوس) می‌باشد.

اسکور مدفوع در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. بر اساس روش پیشنهادی دانشگاه ویسکانسن (McGuirk, 2005) امتیاز صفر برای دام‌های سالم و امتیاز سه برای دام‌های بیمار اختصاص داده می‌شود. داده‌های به‌دست آمده نشان‌دهنده آن است که گوساله‌ها در کل دوره از سلامتی نسبی برخوردار بوده‌اند، زیرا درجه اسکور مدفوع آن‌ها زیر یک می‌باشد. هر چند که اسکور مدفوع در گروه کنترل کمی بالاتر از بقیه تیمارها است و این احتمالاً به دلیل مبتلا شدن یک گوساله به اسهال در اوایل آزمایش برمی‌گردد. هیل و همکاران (Hill et al., 2009; Hill et al., 2007) نشان دادند که تغذیه گوساله‌ها با لینولنیک اسید تأثیر مثبتی بر روی سلامت آن‌ها دارد و گوساله‌هایی که این اسید چرب را دریافت کردند نمره مدفوع بهتر و روزهای ابتلا به اسهال کمتری را نسبت به تیمارهای دیگر داشتند.

نتایج مربوط بر رشد استخوانی و ابعاد بدنی گوساله‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از روغن کتان و ویتامین‌های (A, D<sub>3</sub>, E) در شیر گوساله‌ها تأثیر معنی‌داری بر

جدول ۳- اثر تیمارهای بر فراسنجه‌های رشد اسکلتی (سانتی متر)  
**Table 3-** Effect of experimental treatment on structural growth parameters (cm)

| فراسنجه های رشد اسکلتی<br>Structural growth parameters | تیمارهای آزمایشی<br>Experimental treatments |                            |                    |  | SEM    | P value |
|--|---|----------------------------|--------------------|--|--------|---------|
|  | شاهد<br>Control                             | روغن کتان<br>Flax seed oil | ویتامین<br>Vitamin | روغن کتان + ویتامین<br>Flax seed oil + vitamin |        |         |
| ارتفاع بدن (cm)<br>Withers height                      | 81.17                                       | 80.66                      | 81.69              | 82.51  | 0.64   | 0.21    |
| ارتفاع ران (cm)<br>Hip height                          | 85.06                                       | 85.26                      | 86.66              | 86.31  | 0.68   | 0.27    |
| فاصله پین تا هیپ (cm)<br>Hip to pin                    | 24.66                                       | 23.89                      | 23.94              | 24.46  | 0.30   | 0.21    |
| عرض پین (cm)<br>Pin width                              | 9.17  | 9.54                       | 9.10               | 9.05   | 0.16   | 0.13    |
| عرض هیپ (cm)<br>Hip width                              | 15.76                                       | 15.89                      | 16.09              | 16.21  | 0.27   | 0.66    |
| محیط قفسه سینه (cm)<br>Heart girth                     | 84.13                                       | 84.00                      | 85.46              | 85.46  | 1.11   | 0.66    |
| عمق بدن (cm)<br>Body barrel                            | 89.29                                       | 90.49                      | 90.74              | 90.17  | 1.55   | 0.91    |
| طول کل (cm)<br>Top line                                | 96.06                                       | 95.54                      | 96.63              | 96.80  | 1.10   | 0.84    |
| طول ران (cm)<br>Rump length                            | 27.66                                       | 27.03                      | 27.79              | 27.74  | 0.42   | 0.54    |
| عرض قفسه سینه (cm)<br>Chest width                      | 10.80                                       | 11.24                      | 11.13              | 11.46  | 0.22   | 0.20    |
| عرض شانه (cm)<br>Shoulder width                        | 16.60                                       | 16.37                      | 16.57              | 15.97  | 0.26   | 0.31    |
| عرض ران (cm)<br>Rump width                             | 22.89                                       | 23.60                      | 23.63              | 23.86  | 0.4301 | 0.41    |

در هر ردیف حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ( $p < 0.05$ ).

In each row, different letters indicate a significant difference ( $p < 0.05$ ).

نتایج به دست آمده از این آزمایش اختلاف معنی داری را بین HDL در تیمارهای مختلف نشان می دهد، به گونه ای که تیمار دریافت کننده شیر مکمل شده با روغن کتان و ویتامین و تیمار دریافت کننده شیر مکمل با روغن کتان به ترتیب دارای بیشترین میزان غلظت HDL در سرم خون خود بودند ( $p < 0.05$ ). اسپیتان و همکاران ([Špitalniak et al., 2020](#)) گزارش کردند که مکمل کردن جایگزین کننده شیر با روغن کتان برای گوساله های شیرخوار باعث افزایش میزان HDL سرم شد. در حالی که قاسمی و همکاران ([Ghasmi et al., 2017](#)) بیان کردند که افزودن منابع مختلف چربی به جیره آغازین گوساله ها در شرایط تنش سرمایی اثر معنی داری بر روی میزان غلظت HDL سرمی نداشت.

بر اساس نتایج موجود، تأثیر افزودن روغن کتان به جیره و تزریق ویتامین های محلول در چربی به گوساله ها بر غلظت کراتینین سرم خون معنی دار نبوده است. کراتینین موجود در خون، یک شاخص دقیق تجزیه و تخریب بافت های ماهیچه ای به حساب می آید، در طیور ([Yunianto et al., 1997](#))، خوک ([Pearce et al., 2013](#)) و گاوشیری ([Schneider et al., 1988](#)) کمبود انرژی، میزان کراتینین را افزایش می دهد.

در این پژوهش، اوره سرمی خون تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. غلظت تری گلیسیرید خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت و اختلاف بین تیمارها معنی داری نشد. از جمله عوامل تأثیرگذار بر غلظت تری گلیسیرید خون می توان به فعالیت لیپاز پانکراسی و میزان مصرف جیره آغازین اشاره کرد ([Hill et al., 2009](#)).



جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایش بر فراسنجه‌های سرم

Table 4- Effect of experimental treatments on serum metabolites

| فراسنجه های سرم<br>Serum metabolites                               | تیمار<br>Treatment |                            |                    |   | SEM   | P value |
|--|--------------------|----------------------------|--------------------|---|-------|---------|
|  | شاهد<br>Control    | روغن کتان<br>Flax seed oil | ویتامین<br>Vitamin | روغن کتان+ویتامین<br>Flaxseed oil + vitamin |       |         |
| گلوکز<br>Glucose (mg/dl)   | 97.21              | 99.07                      | 87.75              | 88.54                                       | 3.78  | 0.09    |
| کلسترول<br>Cholesterol (mg/dl)                                     | 84.43 <sup>b</sup> | 97.13 <sup>ab</sup>        | 91.65 <sup>b</sup> | 109.83 <sup>a</sup>                         | 4.503 | 0.00    |
| پروتئین تام<br>Total Protein (g/dl)                                | 5.66               | 5.77                       | 5.42               | 5.45  | 0.117 | 0.10    |
| کراتینین<br>Creatinine (mg/dl)                                     | 1.17               | 1.14                       | 1.15               | 1.16  | 0.062 | 0.98    |
| اوره<br>Urea, mg/dl)   | 25.04              | 27.30                      | 26.52              | 24.04                                       | 1.686 | 0.52    |
| بیوپروتئین با چگالی بالا<br>high-density lipoprotein (HDL) (mg/dl) | 20.30 <sup>b</sup> | 23.65 <sup>ab</sup>        | 22.09 <sup>b</sup> | 28.70 <sup>a</sup>                          | 1.414 | 0.00    |
| تری گلیسرید<br>Triglyceride (mg/dl)                                | 27.91              | 24.48                      | 22.52              | 23.26                                       | 2.838 | 0.55    |

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<0.05)

In each row, different letters indicate a significant difference (p<0.05).

### نتیجه‌گیری کلی

و HDL خون گوساله‌ها شده است. تیمارهای مورد استفاده هیچ اثر سوئی بر سلامت حیوان نگذاشته‌اند. کمترین بازده خوراک مصرفی در گوساله‌های مصرف‌کننده روغن کتان و ویتامین محلول در چربی به‌دست آمده است، بدین معنی که حیوان به‌ازای هر واحد وزن، غذای کمتری مصرف نموده است و بازده خوراک تقریباً ۱۸ درصد بهبود یافته است. بنابراین، چنانچه هزینه تولید در نظر گرفته شود، این تیمار از لحاظ اقتصادی مقرون به‌صرفه خواهد بود. از طرفی، همه دام‌ها از لحاظ سلامتی در حد مطلوبی قرار داشته‌اند.

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که استفاده از روغن دانه کتان و ویتامین‌های A, D<sub>3</sub>, E در گوساله‌های شیرخوار تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن، خوراک مصرفی، بازده خوراک مصرفی، دمای بدن، اسکور مدفوع، ابعاد بدن و برخی از متابولیت‌های خونی نداشته است، حال آن که افزودن روغن کتان به‌تنهایی و یا به‌هنگام تزریق ویتامین‌های محلول در چربی منجر به افزایش معنی‌دار کلسترول سرم

### References

1. Abd Elghany Hefnawy, R., Revilla-Vazquez, A., Ramírez-Briebesca, E., & Tórtora-Pérez, J. (2008). Effect of pre- and postpartum selenium supplementation in sheep. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(1), 61-67.
2. Ambrose, D. J., Kastelic, J. P., Corbett, R., Pitney, P. A., Petit, H. V., Small, J. A. & Zalkovic, P., (2006). Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in  $\alpha$ -linolenic acid. *Journal of Dairy Science*, 89(8), 3066-3074.
3. Blakely, L. P., Poindexter, M. B., Stuart, R. L., & Nelson, C. D. (2019). Supplementing pasteurized waste-milk with vitamins A, D, and E improves vitamin status of dairy calves. *The Bovine Practitioner*, 134-141.
4. Dopenberg, J., & Palmquist, D. L. (1991). Effect of dietary fat level on feed intake, growth, plasma metabolites and hormones of calves fed dry or liquid diets. *Livestock Production Science*, 29(2-3), 151-166.
5. El-Diahy, Y. M., El-Hamd, A., & Elshora, M.A. (2016). Effect of flaxseed oil supplementation during pre and postpartum on some physiological parameters and productive performance cow. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 19(1), 1-15.
6. Ghorbani, H., Kazemi-Bonchenari, M., HosseinYazdi, M., & Mahjoubi, E. (2020). Effects of various fat delivery methods in starter diet on growth performance, nutrients digestibility and blood metabolites of Holstein dairy calves. *Animal Feed Science and Technology* 262, 114429.
7. Garcia, M., Shin, J. H., Schlaefli, A., Greco, L. F., Maunsell, F. P., Santos, J. E. P., Staples, C. R., & Thatcher, W.

- W., (2015). Increasing intake of essential fatty acids from milk replacer benefits performance, immune responses, and health of preweaned Holstein calves. *Journal of dairy science*, 98(1), 458-477.
8. Ghasemi, E., Azad-Shahraki, M., & Khorvash, M. (2017). Effect of different fat supplements on performance of dairy calves during cold season. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5319-5328.
  9. Godden, S. M., Haines, D. M., Konkol, K., & Peterson, J. (2009). Improving passive transfer of immunoglobulins in calves. II: Interaction between feeding method and volume of colostrum fed. *Journal of dairy science*, 92(4), 1758-1764.
  10. Hill, T. M., VandeHaar, M. J., Sordillo, L. M., Catherman, D. R., Bateman II, H. G., & Schlotterbeck, R. L. (2011). Fatty acid intake alters growth and immunity in milk-fed calves. *Journal of Dairy Science*, 94(8), 3936-3948.
  11. Hill, T. M., Aldrich, J. M., Schlotterbeck, R. L., & Bateman II, H. G. (2007). Amino acids, fatty acids, and fat sources for calf milk replacers. *The Professional Animal Scientist*, 23(4), 401-408.
  12. Hill, T. M., Bateman II, H. G., Aldrich, J. M., & Schlotterbeck, R.L. (2009). Effects of changing the essential and functional fatty acid intake of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 92(2), 670-676.
  13. Kadkhoday, A., Ahmad, R., Masoud, A., Dehghan-Banadaky, M., & Kowsar, R. (2017). Effects of fat sources and dietary C18: 2 to C18: 3 fatty acids ratio on growth performance, ruminal fermentation and some blood components of Holstein calves. *Livestock Science*, 204, 71-77.
  14. Karcher, E. L., Hill, T. M., Bateman II, H. G., Schlotterbeck, R. L., Vito, N., Sordillo, L. M. & Vandehaar, M.J., (2014). Comparison of supplementation of n-3 fatty acids from fish and flax oil on cytokine gene expression and growth of milk-fed Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 97(4), 2329-2337.
  15. Karimi, A., Alijoo, Y. A., Kazemi-Bonchenari, M., Mirzaei, M., & Sadri, H. (2021). Effects of supplemental fat sources and forage feeding levels on growth performance, nutrient digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen utilization in dairy calves. *Animal*, 100179.
  16. Khan, M. A., Lee, H. J., Lee, W. S., Kim, H. S., Kim, S. B., Ki, K. S., Park, S. J., Ha, J. K., & Choi, Y. J. (2007). Starch source evaluation in calf starter: I. Feed consumption, body weight gain, structural growth, and blood metabolites in Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 90(11), 5259-5268.
  17. Khan, M. A., Lee, H. J., Lee, W. S., Kim, H. S., Kim, S. B., Park, S. B., Baek, K. S., Ha, J. K., & Choi, Y. J. (2008). Starch source evaluation in calf starter: II. Ruminal parameters, rumen development, nutrient digestibilities, and nitrogen utilization in Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 91(3), 1140-1149.
  18. Krueger, L. A., Reinhardt, T. A., Beitz, D. C., Stuart, R. L. & Stabel, J. R. (2016). Effects of fractionated colostrum replacer and vitamins A, D, and E on haptoglobin and clinical health in neonatal Holstein calves challenged with *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 2884-2895.
  19. Masmeyer, C., Van Leenen, K., De Cremer, L., Deprez, P., Cox, E., Devriendt, B., & Pardon, B. (2020). Effects of omega-3 fatty acids on immune, health and growth variables in veal calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 179, 104979.
  20. McCoard, S., Heiser, A., Lowe, K., Molenaar, A., MacLean, P., Johnstone, P., Leath, S., Hoskin, S.O., & Khan, M.A. (2019). Effect of weaning age on growth, mammary gland development, and immune function in Holstein Friesian calves fed conserved alfalfa (FiberStart). *Journal of Dairy Science*, 102(7), 6076-6087.
  21. McDowell, Lee, R. (2008). Vitamins in animal and human nutrition. John Wiley and Sons.
  22. McDonnell, R. P., O'Doherty, J. V., Earley, B., Clarke, A. M., & Kenny, D. A. (2019). Effect of supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and/or  $\beta$ -glucans on performance, feeding behaviour and immune status of Holstein Friesian bull calves during the pre-and post-weaning periods. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10(1), 1-17.
  23. McGuirk, S. M. (2005). Otitis media in calves. Proc. 23<sup>rd</sup> Am. Coll. Vet. Intern. Med., Baltimore, MD: 228-230.
  24. Newkirk, R. (2015). Flax feed industry guide. *Flax Canada*, 1-24.
  25. Nonnecke, B. J., Foote, M. R., Miller, B. L., Beitz, D. C., & Horst, R. L. (2010). Fat-soluble vitamin and mineral status of milk replacer-fed dairy calves: Effect of growth rate during the preruminant period. *Journal of Dairy Science*, 93(6), 2684-2690.
  26. National Research Council, (2001). Nutrient requirements of dairy cattle: 2001. National Academies Press.
  27. Pearce, S. C., Gabler, N. K., Ross, J. W., Escobar, J., Patience, J. F., Rhoads, R. P., & Baumgard, L. H. (2013). The effects of heat stress and plane of nutrition on metabolism in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 91(5), 2108-2118.
  28. Quigley, J. D., Wolfe, T. A., & Elsasser, T. H. (2006). Effects of additional milk replacer feeding on calf health, growth, and selected blood metabolites in calves. *Journal of Dairy Science*, 89(1), 207-216.
  29. Schneider, P. L., Beede, D. K., & Wilcox, C. J. (1988). Nycterohemeral patterns of acid-base status, mineral concentrations and digestive function of lactating cows in natural or chamber heat stress environments. *Journal of Animal Science*, 66(1), 112-125.
  30. Śpitalniak-Bajerska, K., Szumny, A., Pogoda-Sewerniak, K., & Kupczyński, R. (2020). Effects of n-3 fatty acids on growth, antioxidant status, and immunity of preweaned dairy calves. *Journal of dairy science*, 103(3), 2864-2876.
  31. Thiessen Debbie, L. (2004). Optimization of feed peas, canola and flaxseed for aqua feeds: The Canadian prairie

- perspective. *Avancesen Nutricion Acuicola*.
32. Winter, K. A. (1985). Comparative performance and digestibility in dairy calves weaned at three, five, and seven weeks of age. *Canadian Journal of Animal Science*, 65(2), 445-450.
  33. Yunianto, V. D., Hayashit, K., Kaneda, S., Ohtsuka, A., & Tomita., Y (1997). Effect of environmental temperature on muscle protein turnover and heat production in tube-fed broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, 77(6), 897-909.