



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Effect of unprotected methionine and choline on feed intake, growth, digestibility, fecal score, blood metabolites, and feeding behavior of suckling calves

T. Ghoorchi^{1*}, M. Hossein Abadi², A. H. Toghdory³

1. Professor, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran

2. Former Ph.D. Student, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran

3. Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran

(Received: 01-01-2023 – Revised: 29-05-2023 – Accepted: 30-05-2023)

Introduction: Choline and methionine are crucial nutrients for livestock as they provide methyl groups. The relationship between these two nutrients is intricate, with varying opinions on their interdependence. Methionine is often a limiting amino acid in dairy diets and its metabolism is linked to that of choline and betaine. Choline as an alternative to methionine, can act as a precursor to phosphatidylcholine, which is important for dairy cows around calving time. Furthermore, choline and betaine impact methionine requirements and methionine can affect choline metabolism. Given that limited study and experimentation have been conducted so far to investigate the effects of unprotected methionine and choline on calves, this research aimed to examine the impact of unprotected methionine and choline on feed intake, growth, digestibility, fecal score, blood metabolites, and feed behavior of pre-weaned calves. The expected hypothesis of the study was the significant effect of utilizing unprotected methionine and choline on feed intake, growth, digestibility, fecal score, blood metabolites, and feeding behavior of pre-weaned calves due to their mono-gastric nature and lack of rumen development.

Materials and methods: A total number of 32 Simmental male suckling calves, aged approximately one month old with an initial weight of 44 ± 2.1 kg, were used in this study. The experimental treatments included: 1) a basal diet without choline and methionine (control), 2) the basal diet with three grams of methionine, 3) the basal diet with three grams of choline, and 4) the basal diet with 1.5 grams of methionine and 1.5 grams of choline per head per day. The calves were randomly assigned to the experimental treatments in a completely randomized design with eight replications. The study lasted for 45 days, including a 7-day adaptation period. Blood glucose, cholesterol, triglycerides, and urea nitrogen levels were measured on the last day of the study, four hours after morning feeding, to evaluate the metabolic profile of the animals. Additionally, feed consumption behavior was visually observed for 24 hours on the last day of the study to calculate the animal's rumination, eating, chewing, and resting time. To determine the digestibility of dry matter, samples were collected from feed and feces during the last three days of the experiment using the acid-insoluble ash internal indicator method. Stool consistency was scored for all of the calves as an indicator of animal health.

Results and discussion: The inclusion of three grams of methionine in the experimental treatments resulted in a decrease in dry matter intake, and when methionine and choline were added, it increased the daily weight gain of the animals ($P < 0.05$). However, the treatments did not have a significant effect on the feed conversion ratio ($P > 0.05$). The results of other studies showed that the addition of choline did not have a significant effect on the amount of dry matter consumed, daily weight gain, and feed conversion ratio of Holstein bull calves. Consistent

* Corresponding author: ghoorchit@yahoo.com



with the results of the present study, no improvement was observed in the feed efficiency of steers with the addition of a protected choline supplement, and no effect was observed on dry matter intake. The treatments did not have a significant impact on dry matter digestibility, stool consistency, blood glucose, cholesterol, triglyceride, and urea nitrogen ($P>0.05$). In agreement with the results of the present study, the digestibility of dry matter and organic matter in steers was not affected by choline. Researchers reported that the use of protected biocholine and methionine did not have a significant effect on the digestibility of dry matter in calves. Also, it was observed that the use of choline did not have a significant effect on the digestibility of dry matter in sheep and pre-weaned calves. Researchers have reported that the use of protected methionine and choline did not have a significant effect on the levels of glucose and triglycerides in the blood of dairy cows before calving. In another study, the urea nitrogen in the blood of dairy cows was not affected by methionine and choline. Additionally, the experimental treatments did not affect feed consumption behavior ($P>0.05$).

Conclusions: Feeding unprotected choline and methionine did not have a significant effect on glucose, cholesterol, triglycerides, blood urea nitrogen, digestibility of dry matter, fecal consistency score, and feeding behavior. However, the use of methionine improved dry matter intake and daily weight gain. Feeding Simmental calves with three grams of methionine per day is recommended to improve dry matter intake and daily weight gain, although it does not significantly affect the feed conversion ratio.

Keywords: Growth performance, Choline, Suckling calf, Blood metabolites, Methionine

Ethics statement: This study was conducted with the full consideration of animal welfare and the approval of this study was granted by the Ethics Committee of Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Iran.

Data availability statement: The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.

Funding: The authors received no specific funding for this work.

Acknowledgments: The authors would like to acknowledge Mr. Mohsen Abedini and the Faculty of Animal Science of the Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources for their help in conducting this study.

How to cite this article:

Ghoorchi, T., Hossein Abadi, M., & Toghdory, A. H. (2023). Effect of unprotected methionine and choline on feed intake, growth, digestibility, fecal score, blood metabolites, and feeding behavior of suckling calves. *Animal Production Research*, 12(2), 31-41. doi: 10.22124/AR.2023.23543.1742



مقاله پژوهشی

اثر متیونین و کولین محافظت نشده بر مصرف خوراک، رشد، قابلیت هضم، امتیاز مدفوع، متابولیت های خون و رفتار مصرف خوراک گوساله های شیرخوار

تقی قورچی^{۱*}، مصطفی حسین آبادی^۲، عبدالحکیم توغدوری^۳

۱- استاد، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانش آموخته دکتری، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- استادیار، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۱ - تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۳/۰۸ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۰۹)

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثر متیونین و کولین محافظت نشده بر مصرف خوراک، رشد، قابلیت هضم، قوام مدفوع، متابولیت های خونی و رفتار مصرف خوراک گوساله های شیرخوار، با استفاده از ۳۲ رأس گوساله نر شیرخوار نژاد سیمنتال با سن حدود 30 ± 7 روزگی و وزن بدن اولیه $44 \pm 2/1$ کیلوگرم انجام شد. این آزمایش در چهار تیمار شامل: ۱- جیره آزمایشی بدون کولین و متیونین (شاهد)، ۲- جیره آزمایشی با سه گرم متیونین، ۳- جیره آزمایشی با سه گرم کولین، و ۴- جیره آزمایشی با $1/5$ گرم متیونین و $1/5$ گرم کولین به ازای هر رأس گوساله در روز، در قالب طرح کاملاً تصادفی با هشت تکرار انجام شد. طول دوره آزمایش ۴۵ روز، شامل هفت روز دوره عادت پذیری بود. مصرف ماده خشک، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل خوراک، قابلیت هضم جیره (با استفاده از خاکستر نامحلول در اسید) و امتیاز قوام مدفوع تعیین شد. جهت اندازه گیری متابولیت های خونی، نمونه گیری در روز پایانی و چهار ساعت پس از تغذیه صبح انجام شد. تیمارهای آزمایشی موجب بهبود معنی دار ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه شد ($P < 0/05$)، ولی تأثیر معنی داری بر ضریب تبدیل خوراک نداشت ($P > 0/05$). تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی داری بر قابلیت هضم ماده خشک، قوام مدفوع، غلظت گلوکز، کلسترول، تری گلیسیرید، نیتروژن اوره ای خون و رفتار مصرف خوراک نداشت ($P > 0/05$). در مجموع، تغذیه متیونین (به میزان سه گرم در روز) برای بهبود ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه گوساله های شیرخوار سیمنتال قابل توصیه است، هرچند تأثیر معنی داری بر ضریب تبدیل غذایی نداشت.

واژه های کلیدی: عملکرد رشد، کولین، گوساله شیرخوار، متابولیت های خون، متیونین

* نویسنده مسئول: ghoorchit@yahoo.com

مقدمه

پروتئین یک ماده مغذی محدودکننده در جیره نشخوارکنندگان است که به آسانی در شکمبه تجزیه می‌شود. استفاده از پروتئین بیش از حد نیاز در جیره، مطلوب نیست، زیرا تجزیه زیاد پروتئین جیره در شکمبه، اغلب یکی از فرایندهای ناکارآمد در نشخوارکنندگان است و به دفع نیتروژن اضافی منجر خواهد شد. این نیتروژن اضافی باید به‌صورت اوره دفع شود که همراه با مصرف انرژی است. آنزیم‌های اوره‌آز موجود در مدفوع و خاک به سرعت اوره را به آمونیاک تبدیل می‌کنند و گاز آمونیاک در جو پخش می‌شود و می‌تواند آثار نامطلوبی بر محیط و سلامتی انسان داشته باشد (Powell, 2008). علاوه بر مشکلات ذکر شده، پروتئین اضافی باعث افزایش هزینه خوراک و افزایش آمونیاک در شکمبه شده و نیز آثار نامطلوبی بر سیستم تولیدمثل حیوان می‌گذارد. یک راه‌کار تغذیه‌ای به منظور کاهش این مشکلات، کاهش درصد پروتئین خام جیره، در حد نیاز دام و استفاده از اسیدهای آمینه است که باعث استفاده بهتر از پروتئین جیره می‌شود (Pipenbrink *et al.*, 1996). متیونین یکی از اسیدهای آمینه ضروری بوده که نقش مهمی در انتقال گروه متیل در بدن دارد. همچنین تبدیل متیونین به سیستاتین و سیستئین از مسیر واکنش‌های انتقال گوگرد یا ترانس سولفوراسیون اهمیت خاصی دارد (Daniyalzadeh and Zareian, 1995).

کولین برای ساخت و حفظ ساختار مولکولی ضروری بوده و در ساختمان لسیتهین و اسفنگومیلین استفاده می‌شود. کولین یک آمین چهار جزئی است که دارای سه گروه متیل بوده و برای تشکیل متیونین از هموسیستئین و کراتین از اسید گوانیدیک به‌کار می‌رود (NRC, 2001). ویژگی مشترک کولین و متیونین، دهندگی گروه متیل است. در این زمینه، نظرات مختلفی وجود دارد. مثلاً کولین توانایی ذخیره کردن متیونین را داشته و متیونین می‌تواند کولین را هزینه کرده یا در صورت وجود متیونین در خوراک، نیازی به تغذیه کولین نیست. کولین و متیونین دو ماده اصلی تولیدکننده گروه‌های متیل در بدن حیوانات و انسان محسوب می‌شوند که این توانایی به علت داشتن گروه‌های متیل با امکان جدا شدن از ترکیب اصلی است. متیونین می‌تواند یک گروه متیل به اتانول آمین داده و کولین را تولید کند، در عوض گروه‌های متیل کولین به

هموسیستئین اضافه شده و متیونین را تشکیل دهد. بنابراین نیاز به کولین و متیونین به‌طور مستقیم بر یکدیگر اثر می‌گذارد. اغلب حیوانات برای ساخت مقادیر کافی کولین مورد نیاز خود، احتیاج به تأمین مقادیر کافی از گروه‌های متیل دارند. مطالعات اندکی در مورد ارتباط کولین و متیونین در حیوانات نشخوارکننده انجام شده است. در آزمایشی (Bryant *et al.*, 1999) گزارش شد که تغذیه کولین محافظت‌شده در شکمبه، متوسط افزایش وزن روزانه گوساله‌ها را در مقایسه با تیمار شاهد بهبود بخشید، ولی روی ماده خشک مصرفی تأثیری نداشت. استفاده از کولین محافظت‌شده در شکمبه و چربی در تلیسه‌های پروری روی مصرف خوراک روزانه (Bindel *et al.*, 2000) و افزایش وزن گوساله‌های نر (Galvay *et al.*, 1999) تأثیری نداشت. طی آزمایشی (Atkins *et al.*, 1988) نتیجه گرفتند که کولین اثر معنی‌داری بر مصرف ماده خشک ندارد، در حالی که تیمارهای حاوی کولین تمایل به مصرف ماده خشک بیشتر داشتند. در آزمایش دیگری که با مصرف کولین و متیونین و ۲-آمین ۲-متیل ۱- پروپانول انجام شد، آثار آنها بر مصرف ماده خشک از نظر آماری معنی‌دار نبود (Sharma and Erdman, 1988). اثر کولین و پروتئین تجزیه‌ناپذیر در شکمبه در جیره گاوهای دوره انتقالی تأثیری بر مصرف ماده خشک در دوره انتقال نداشت (Hartwell *et al.*, 2000). مصرف مقادیر زیاد کولین محافظت‌نشده باعث کاهش مصرف ماده خشک می‌شود که این به دلیل خاصیت قلیایی کولین و افزایش pH شکمبه است. در آزمایش دیگری برای بررسی میزان تجزیه‌پذیری کولین در شکمبه، میزان کولین مصرفی را از ۱۸ گرم در روز به ۲۸۲ گرم در روز افزایش داده و دریافتند که ماده خشک مصرفی دام از ۱۸/۴ کیلوگرم به ۱۶/۷ کیلوگرم در روز کاهش یافت (Sharma and Erdman, 1988). با بررسی اثر کولین محافظت‌شده در شکمبه در گوساله‌ها، اعلام شد که استفاده از کولین محافظت‌شده در شکمبه، باعث افزایش بازده لاشه و کاهش ماده خشک مصرفی شد (Drouillard *et al.*, 1998). با توجه به اینکه تاکنون مطالعه و آزمایش محدودی برای بررسی تأثیر متیونین و کولین محافظت‌نشده روی گوساله‌ها صورت گرفته است، هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر متیونین و کولین محافظت‌نشده بر مصرف خوراک، رشد، قابلیت هضم، امتیاز مدفوع، متابولیت‌های خون و رفتار مصرف خوراک گوساله‌های شیرخوار بود. فرضیه مورد

انتظار تحقیق، تأثیر معنی‌دار استفاده از متیونین و کولین محافظت‌نشده بر مصرف خوراک، رشد، قابلیت هضم، امتیاز مدفوع، متابولیت‌های خون و رفتار مصرف خوراک با توجه به تک‌معدای بودن و عدم رشد شکمبه گوساله‌های شیرخوار بود.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در یک واحد پرورش گاو شیری بخش خصوصی واقع در شمال غربی شهرستان گرگان انجام شد. در این مطالعه از ۳۲ رأس گوساله نر شیرخوار نژاد سیمنتال با سن حدود 30 ± 7 روزگی و وزن بدن اولیه $44 \pm 2/1$ کیلوگرم در چهار تیمار و هشت تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تیمارها شامل: ۱- جیره آزمایشی بدون کولین و متیونین محافظت‌نشده (شاهد)، ۲- جیره آزمایشی با سه گرم متیونین، ۳- جیره آزمایشی با سه گرم کولین، و ۴- جیره آزمایشی با $1/5$ گرم متیونین و $1/5$ گرم کولین به ازای هر رأس گوساله در روز بود. طول مدت دوره آزمایشی ۴۵ روز شامل هفت روز دوره عادت‌پذیری بود. متیونین مورد استفاده در این آزمایش از شرکت Degussa ساخت کشور بلژیک و کولین از شرکت Liaoning Biochem کشور چین تهیه شد. گوساله‌ها در جایگاه

انفرادی با کف بتونی و دارای بستری از کلس که قبلاً شعله-افکنی و ضدعفونی شده بود، نگهداری شدند. در دوره شیرخواری، حیوانات روزانه با دو وعده شیر کامل به میزان ۱۰ درصد وزن بدن تغذیه شدند. هر روز صبح راس ساعت هشت، خوراک آغازین به اضافه یونجه (نسبت ۸۰ به ۲۰) در اختیار گوساله‌ها قرار داده شد و میزان مصرف خوراک به‌صورت روزانه ثبت شد. متیونین و کولین به‌صورت سرک به خوراک اضافه شد. همچنین، آب تمیز به‌صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار داشت. درصد مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه در جدول ۱ نشان داده شده است. مقدار خوراک مصرفی روزانه از اختلاف خوراک داده شده برای هر گوساله و خوراک باقی‌مانده در آخر روز بعد همان گوساله محاسبه شد. افزایش مقدار خوراک داده شده به دام‌ها بر اساس پس‌آخور هر دام در روز بعد مشخص شد، به‌طوری که اگر پس‌آخور دامی کمتر از ۱۰ درصد باقی‌مانده بود، خوراک آن دام افزایش می‌یافت. وزن‌کشی دام‌ها ابتدا و انتهای دوره به‌صورت ناشتا، پس از اعمال ۱۶ ساعت گرسنگی انجام شد. افزایش وزن روزانه، با تقسیم کردن اختلاف وزن در دوره زمانی بر تعداد روزهای همان بازه زمانی اندازه‌گیری شد. ضریب تبدیل خوراک با تقسیم نمودن میانگین مقدار ماده خشک مصرفی روزانه هر گوساله بر میانگین افزایش وزن روزانه همان دام محاسبه شد.

جدول ۱- مواد تشکیل‌دهنده خوراک و ترکیب شیمیایی جیره پایه (درصد ماده خشک)

Table 1. Feed ingredients and chemical composition of basal diet

Ingredients	(DM%)
Alfalfa	20.0
Corn	22.4
Barley	24.0
Soybean meal	12.8
Rapeseed meal	10.4
Wheat bran	8.0
Mineral supplement	0.96
Salt	0.64
Sodium bicarbonate	0.8
Chemical composition	
Dry matter (%)	89.2
Crude protein (%)	18.40
Crude fat (%)	1.87
Neutral detergent fiber(%)	26.08
Acid detergent fiber (%)	8.16
Ash (%)	4.71
Metabolizable energy (Mcal/kg)	2.69

میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، تیمارهای آزمایشی بر ماده خشک مصرفی و میانگین افزایش وزن روزانه تأثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، اما ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگیرد ($P > 0.05$). بیشترین و کمترین میزان ماده خشک مصرفی به ترتیب مربوط به گوساله‌های مصرف‌کننده جیره حاوی سه گرم متیونین و تیمار شاهد بود. گروه دریافت‌کننده سه گرم متیونین، بیشترین میزان افزایش وزن روزانه را داشت. برخی محققان تغذیه روزانه ۲۰ تا ۶۰ گرم کولین محافظت‌شده را در دوره انتقالی گاوها بررسی کرده و دریافتند که تأثیری بر مصرف ماده خشک نداشت. محققان بیان کردند که تفاوت در نوع، مقدار کولین مصرفی و شیردهی گاو می‌تواند از جمله عوامل مؤثر بر مصرف ماده خشک باشد (Hartwell et al., 2000; Janovick, 2006; Guretzky et al., 2006).

در یک بررسی، کولین اثری بر ماده خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک گوسفند نداشت (Li et al., 2015). محققان با افزودن متیونین و کولین از یک هفته قبل از زایمان تا ۱۵ هفته بعد از زایمان به جیره گاوهای شیری، افزایش میزان مصرف ماده خشک به ترتیب به میزان ۱/۳۶ و ۳/۱۲ کیلوگرم در روز به ازای مصرف متیونین و کولین را مشاهده نمودند (Ardalan et al., 2011). در پژوهش دیگری، استفاده از متیونین و کولین در جیره‌های گوساله‌ها، تأثیر معنی‌داری بر میزان ماده خشک مصرفی روزانه نداشت (Davis et al., 1955). محققین با تغذیه متیونین و کولین به گاوهای شیری از زمان زایمان تا ۸۶ روز پس از زایمان، افزایش مصرف ماده خشک را برای گروه‌های تغذیه شده با تیمارهای حاوی کولین مشاهده کردند (Soltan et al., 2012). در تحقیقی، اثر متقابل بین کولین و متیونین مشاهده نشد، ولی نتایج نشان داد کولین، مصرف ماده خشک، تولید شیر و درصد چربی شیر و متیونین، مصرف مواد خشک، تولید شیر و درصد پروتئین شیر را افزایش داد (Sun et al., 2016). محققین گزارش کردند استفاده از کولین بر مصرف ماده خشک گاوهای شیری تأثیر نداشت، اما استفاده از متیونین، مصرف ماده

برای اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، طی پنج روز پایانی آزمایش، روزانه ۱۰۰ گرم مدفوع گوساله در نایلون پلاستیکی پرسی جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده از هر گوساله مخلوط و یک نمونه جهت تجزیه شیمیایی مدفوع استفاده شد. قابلیت هضم ماده خشک با استفاده از خاکستر نامحلول در اسید به عنوان نشانگر داخلی (اسید کلریدریک دو نرمال) محاسبه شد (Van Keulen and Yaung, 1977). در طول دوره آزمایش، امتیاز قوام مدفوع تعیین شد. امتیاز یک برای مدفوع طبیعی (مدفوع طبیعی محکم که شکل فیزیکی آن بعد از افتادن در جایگاه حفظ شود)، امتیاز دو برای مدفوع نرم (مدفوعی کپه‌ای که پس از افتادن در جایگاه پخش شود و بخش جامد از مایع بیشتر است)، امتیاز سه برای مدفوع شل (مدفوعی که پس از افتادن در جایگاه پخش شود و بخش مایع و جامد آن برابر باشد و روی زمین جاری شود) و امتیاز چهار برای مدفوع آبکی (مدفوعی که آبکی و موکوسی باشد) در نظر گرفته شد (Larson et al., 1977). در صورتی که نمره مدفوع به‌طور متوسط برای سیالیت و قوام مدفوع بیشتر از سه بود، یک روز اسهال برای گوساله ثبت می‌شد.

نمونه‌گیری از خون در روز آخر دوره آزمایش و سه ساعت پس از تغذیه، به میزان ۱۰ سی‌سی از ورید وادج گردن و بدون استفاده از ماده ضدانعقاد انجام شد. برای جداسازی سرم، لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. غلظت گلوکز، کلسترول، تری-گلیسیرید و نیترژن اوره‌ای با کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (مدل BT 1500) ساخت کشور ایتالیا اندازه‌گیری شد. در روز آخر دوره آزمایش، رفتار مصرف خوراک به‌صورت ثبت فعالیت طی مدت ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد. در این مدت، فراسنجه‌های خوردن، نشخوار، استراحت و جویدن در فاصله زمانی هر پنج دقیقه به‌صورت چشمی و با فرض اینکه آن فعالیت در پنج دقیقه گذشته نیز ادامه داشته، برای تمام گوساله‌ها طی ساعات یک شبانه‌روز مشاهده و ثبت شد (Araujo et al., 2008).

داده‌های به‌دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و هشت تکرار با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه

2006). بخش قابل توجهی از این اختلافات می‌تواند ناشی از تفاوت در جیره پایه، منبع، مقدار، طول دوره تغذیه و غیره باشد.

همان‌طور که اطلاعات جدول ۳ نشان می‌دهد، تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک نداشت ($P>0.05$). مطابق با نتایج تحقیق حاضر، در آزمایشی، قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی جیره در گوساله‌های اخته تحت تأثیر کولین قرار نگرفت (Bindel *et al.*, 2005). در مطالعه دیگر، با استفاده از کولین، قابلیت هضم ماده خشک در بره‌ها افزایش یافت (Bryant *et al.*, 1999). محققین گزارش کردند که استفاده از بیوکولین و متیونین محافظت‌شده، تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک بره ندارد (Rodríguez-Guerrero *et al.*, 2018). استفاده از کولین تأثیر معنی‌داری بر میزان قابلیت هضم ماده خشک در گوسفند (Li *et al.*, 2015) و گوساله‌های شیرخوار نداشت (Hajilou *et al.*, 2015). همچنین، قوام مدفوع تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P>0.05$). نمره قوام مدفوع گوساله‌های هر چهار تیمار، در حدود دو بود که به عنوان حد طبیعی در گوساله‌های در حال رشد در نظر گرفته می‌شود (Hosseinabadi *et al.*, 2020; Thomas *et al.*, 2007).

خشک (۲/۰۸ کیلوگرم در روز)، تولید شیر (یک کیلوگرم در روز) و درصد پروتئین شیر (۰/۰۸ درصد) را افزایش داد (Zhou *et al.*, 2016). نتیجه استفاده از متیونین در گوساله‌ها، ماده خشک مصرفی بالاتر، عملکرد کبد بهتر و قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر بود. متیونین یک ماده غذایی کلیدی در تغذیه گوساله‌ها، نه فقط برای ساخت پروتئین، بلکه به عنوان واسطه‌ای کلیدی برای افزایش فرآیندهای متابولیکی است (Bradford *et al.*, 2011). افزودن کولین تأثیر معنی‌داری بر میزان ماده خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک گوساله‌های نر هلشتاین نداشت (Hajilou *et al.*, 2015). هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر، در مطالعه Drouillard *et al.* (1998)، عدم بهبود کارایی خوراک گوساله‌های اخته، با افزودن مکمل کولین محافظت‌شده و عدم تأثیر بر ماده خشک مصرفی (Bindel *et al.*, 2000) مشاهده شد. در آزمایشی روی بره‌های سافولک، متوسط افزایش وزن روزانه به سطوح کولین محافظت‌شده در شکمبه پاسخ داده، ولی میزان مصرف ماده خشک و ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر قرار نگرفت (Bryant *et al.*, 1999). استفاده از کولین محافظت‌شده در جیره گاوهای شیری تأثیری بر ماده خشک مصرفی ندارد (Pinotti *et al.*, 2002; Piepenbrink and Overton, 2003; Zahra *et al.*,

جدول ۲- اثر متیونین و کولین محافظت‌نشده بر مصرف خوراک و عملکرد رشد گوساله‌های شیرخوار

Table 2. Effect of non-protected methionine and choline on feed consumption and growth performance of suckling calves

Parameter	Treatments (g/day)				SEM	P-value
	Control	Methionine (3 g)	Choline (3 g)	1.5 g methionine +1.5 g choline		
Initial weight	44.5	42.8	45.1	44.1	3.98	0.21
Final weight	74.0	75.1	76.1	74.7	2.64	0.63
Dry matter intake (g/day)	1183 ^b	1245 ^a	1190 ^b	1185 ^b	16.48	0.04
Average daily weight gain (g/day)	655 ^c	717 ^a	683 ^b	677 ^{bc}	8.05	0.0001
Feed conversion ratio	1.80	1.73	1.73	1.74	0.03	0.14

^{a-c} Values with differing letters within the same row are significantly different ($P<0.05$). The final weight is the same as the weaning weight.

جدول ۳- اثر متیونین و کولین محافظت‌نشده بر قابلیت هضم ماده خشک و قوام مدفوع گوساله‌های شیرخوار

Table 3. Effect of non-protected methionine and choline on dry matter digestibility and stool consistency in suckling calves

Parameter	Treatments (g/day)				SEM	P-value
	Control	Methionine (3 g)	Choline (3 g)	1.5 g methionine +1.5 g choline		
Dry matter digestibility	79.63	82.04	79.98	81.13	1.98	0.82
Fluidity score	2.00	2.10	2.04	2.03	0.05	0.68

(Vance, 1988 and در مطالعاتی، میزان کلسترول و تری-گلیسیرید خون در بره‌ها (Li *et al.*, 2015)، میزان NEFA و گلوکز پلاسمای گاوهای شیری تحت تأثیر کولین قرار نگرفت (Chung *et al.*, 2009). در آزمایشی دیگر، تفاوت معنی‌داری در میزان گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید و نیتروژن اوره‌ای خون بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی کولین محافظت‌شده و کولین محافظت‌نشده، مشاهده نشد (Toghdory *et al.*, 2009) که با نتایج بعضی از تحقیقات دیگر همخوانی دارد (Erdman and Sharma, 1991; Bryant *et al.*, 1999; Bindel *et al.*, 2000). تفاوت در نتایج می‌تواند مرتبط با نوع و مقدار مکمل مصرفی، جیره پایه، حیوان مورد آزمایش، طول دوره و غیره باشد. اطلاعات و نتایج مربوط به رفتار تغذیه در جدول ۵ ارائه شده است. متغیرهای استراحت، جویدن، خوردن و نشخوار در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشت. نسبت علوفه به کنسانتره در همه تیمارهای آزمایشی در این پژوهش به یک نسبت در نظر گرفته شد و اندازه ذرات علوفه مورد استفاده در تمام گروه‌ها یکسان بود. ویژگی‌های فیزیکی جیره می‌تواند رفتار تغذیه‌ای و عملکرد دام را تحت تأثیر قرار دهد. همچنین الیاف جیره اعم از علوفه‌ای و غیرعلوفه‌ای در تحریک فعالیت نشخوار متفاوت عمل می‌کنند، زیرا اندازه ذرات و زمان ماندگاری متفاوتی در شکمبه دارند (Mertens, 1977). تغییرات در زمان نشخوار ممکن است مرتبط با تفاوت در ماده خشک مصرفی و نیز گوارش‌پذیری مواد مغذی باشد و نیز فعالیت نشخوار به عنوان عاملی برای تشخیص سلامت شکمبه به دلیل تحریک ترشح بزاق در نظر گرفته می‌شود (Maekawa *et al.*, 2002). مدت زمان صرف شده برای فعالیت جویدن (مجموع خوردن و نشخوار کردن) معیار خوبی از سلامت شکمبه است. افزایش سطح علوفه جیره باعث افزایش مدت زمان جویدن شده، فعالیت جویدن نیز موجب تحریک ترشح بزاق شده و بیکربنات موجود در آن در ایجاد محیط بافری شکمبه برای فرآیند تخمیر مفید است (Moura *et al.*, 2017). به‌طور کلی مدت زمان جویدن با کاهش اندازه ذرات و محتوای الیاف نامحلول در شونده خنثی کاهش می‌یابد (Grant *et al.*, 1990). ممکن است محتوای کمتر الیاف نامحلول در شونده خنثی و ماهیت شیمیایی و فیزیکی آن، موجب کاهش فعالیت نشخوار کردن و جویدن شود (Van Soest, 1994).

نتایج و اطلاعات مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر متابولیت‌های خونی در جدول ۴ ارائه شده است. تیمارهای آزمایشی تأثیری بر غلظت گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید و نیتروژن اوره‌ای خون نداشتند. محققین اعلام کردند استفاده از متیونین و کولین محافظت‌شده بر میزان گلوکز و تری‌گلیسیرید خون گاوهای شیری قبل از زایمان تأثیر معنی‌داری نداشت (Ardalan *et al.*, 2011). در تحقیق دیگری، نیتروژن اوره‌ای خون گاوهای شیری تحت تأثیر متیونین و کولین قرار نگرفت. افزایش دسترسی به اسید آمینه ممکن است باعث افزایش تولید گلوکز شود. استفاده از متیونین، کولین و بتائین تأثیر معنی‌داری بر کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم خون گاوهای هلشتاین نداشت (Davidson *et al.*, 2008). فسفاتیدیل کولین در ساخت و انتقال تری‌گلیسیریدها در لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار پایین شرکت می‌کند (Zeisel, 2006). متیونین محافظت-شده تأثیر معنی‌داری بر گلوکز، تری‌گلیسیرید، اسیدهای چرب غیراستریفه (NEFA) و غلظت اوره خون گاو شیری نداشت (Soltan *et al.*, 2012). در تحقیق دیگری، مصرف لیزین و متیونین تأثیری بر گلوکز، تری‌گلیسیرید و NEFA خون گاوهای بران سوئیس نداشت (Krober *et al.*, 2000). در مطالعه دیگری، هیچ تفاوتی در فراسنجه‌های خونی گاوهای تغذیه شده با کنسانتره پلت شده حاوی لیزین و متیونین با کولین یا بدون کولین مشاهده نشد (Ye *et al.*, 2010). استفاده از مکمل کولین محافظت‌شده (Suksombat *et al.*, 2012) و استفاده از کولین، متیونین و لیزین در گاوهای شیری تأثیری بر فراسنجه‌های خونی نداشت (Amrutkar *et al.*, 2015). غلظت بالاتر تری‌گلیسیرید در تیمار حاوی کولین را می‌توان به کولین که به عنوان یک عامل لیپوتروپیک به بهینه‌سازی تعادل بین ساخت پروتئین چربی در گاوهای شیری کمک می‌کند، نسبت داد (Sales *et al.*, 2010). کولین همچنین برای انتقال و سوخت و ساز کلسترول لیپیدی ضروری است (Zeisel and Da Costa, 2009) که غلظت بالاتر کلسترول خون را توضیح می‌دهد. ساز و کار تحریک ساخت کلسترول کبدی به وسیله کولین در نشخوارکنندگان کاملاً مشخص نیست، اما در گونه‌های دیگر، کولین برای ساخت بخش فسفاتیدیل کولین در لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین مورد نیاز است (Yao).

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه، تغذیه کولین و متیونین محافظت‌نشده دارای تأثیر معنی‌داری بر گلوکز، کلوسترول، تری‌گلیسیرید و نیتروژن اوره‌ای خون، قابلیت هضم ماده خشک، امتیاز قوام مدفوع و رفتار تغذیه نبود، ولی استفاده از متیونین، میزان ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه را بهبود بخشید. لذا می‌توان از آن به میزان سه گرم در روز در جیره گوساله‌های شیرخوار سیمنتال استفاده کرد، هرچند تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی نداشت.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای محسن عابدینی بابت همکاری لازم جهت انجام این آزمایش در واحد پرورش گاو شیری ایشان و همچنین از دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که در انجام این پژوهش یاری رساندند، قدردانی به‌عمل می‌آید.

جدول ۴- اثر متیونین و کولین محافظت‌نشده بر متابولیت‌های خون گوساله‌های شیرخوار

Table 4. Effect of non-protected methionine and choline on blood metabolites of suckling calves

Parameter (mg/dL)	Treatments (g/day)				SEM	P-value
	Control	Methionine (3 g)	Choline (3 g)	1.5 g methionine +1.5 g choline		
Glucose	74.81	76.30	72.26	71.06	2.15	0.32
Cholesterol	86.34	85.68	89.89	86.06	2.43	0.59
Triglyceride	31.26	32.94	36.08	35.94	0.05	0.73
Urea nitrogen	14.28	14.89	15.18	13.68	0.96	0.70

جدول ۵- اثر متیونین و کولین محافظت‌نشده بر رفتار تغذیه (دقیقه/ روز) گوساله‌های شیرخوار

Table 5. Effect of non-protected methionine and choline on feeding behavior (minutes/day) of suckling calves

Parameter	Treatments (g/day)				SEM	P-value
	Control	Methionine (3 g)	Choline (3 g)	1.5 g methionine +1.5 g choline		
Eating	356.37	370.63	358.61	360.12	8.39	0.85
Rumination	220.88	228.75	219.26	226.74	9.21	0.73
Chewing (eating+ rumination)	577.25	599.38	577.87	586.86	6.07	0.57
Resting	862.75	840.62	862.13	853.14	5.21	0.69

فهرست منابع

- Amrutkar, S. A., Pawar, S. P., Thakur, S. S., Kewalramani, N. J., & Mahesh, M. S. (2015). Dietary supplementation of rumen-protected methionine, lysine and choline improves lactation performance and blood metabolic profile of Karan-Fries cows. *Agricultural Research*, 4(4), 396-404. doi: 10.1007/s40003-015-0178-2
- Araujo, R. C., Pires, A. V., Susin, I., Mendes, C. Q., Rodrigues, G. H., Packer, I. U., & Eastridge, M. L. (2008). Milk yield, milk composition, eating behavior, and lamb performance of ewes fed diets containing soybean hulls replacing coastcross (*Cynodon species*) hay. *Journal of Animal Science*, 86, 3511-3521. doi: 10.2527/jas.2008-0940
- Ardalan, M., Dehghan-Banadaky, M., Rezayazdi, K., and Ghavi Hosseini-Zadeh, N. (2011). The effect of rumen-protected methionine and choline on plasma metabolites of Holstein cows. *Journal of Agricultural Science*, 149, 639-646. doi: 10.1017/S0021859610001292
- Association of Official Analytical (AOAC.) (1999). Official Methods of Analysis. Washington, D. C., USA.

- Atkins, K. B., Erdman, R. A., & Vandersall, J. H. 1988. Dietary choline effects on milk yield and duodenal choline flow in dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 71, 109-116. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(88)79531-4
- Bindel, D. J., Drouillard, J. S., Titgemeyer, E. C., Wessels, R. H., & Loest, C. A. (2000). Effects of ruminally protected choline and dietary fat on performance and blood metabolites of finishing heifers. *Journal of Animal Science*, 78, 2497-2503. doi: 10.2527/2000.78102497x
- Bindel, D. J., Titgemeyer, E. C., Drouillard, J. S., & Ives, S. E. (2005). Effects of choline on blood metabolites associated with lipid metabolism and digestion by steers fed corn-based diets. *Journal of Animal Science*, 83, 1625-1632. doi: 10.2527/2005.8371625x
- Bryant, T. C., Rivera, J. D., Galyean, M. L., Duff, G. C., Hallford, D. M., & Montgomery, T. H. 1999. Effects of dietary level of ruminally protected choline on performance and carcass characteristics of finishing beef steers and on growth and serum metabolites in lambs. *Journal of Animal Science*, 77, 2893-2903. doi: 10.2527/2005.8371625x
- Chung, Y. H., Brown, N. E., Martinez, C. M., Cassidy, T. W., & Varga, G. A. (2009). Effects of rumen-protected choline and dry propylene glycol on feed intake and blood parameters for Holstein dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 92, 2729-2736. doi: 10.3168/jds.2008-1299
- Daniyalzadeh, A., & Zareian, Kh. (1995). Principles of Biochemistry. Tehran University Jihad Publications. [In Persian]
- Davidson, S., Hopkins, B. A., Odle, J., Brownie, C., Fellner, V., & Whitlow, L. W. (2008). Supplementing limited methionine diets with rumen-protected methionine, betaine, and choline in early lactation Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 91, 1552-1559. doi: 10.3168/jds.2007-0721
- Drouillard, J. S., Flake, A. S., & Kuhl, G. L. (1998). Effects of added fat, degradable intake protein, and ruminally protected choline in diets of finishing steers. *K-State's Cattlemen's Day Program*, 804, 75. doi: 10.4148/2378-5977.1910
- Erdman, R. A., & Sharma, B. K. (1991). Effect of dietary rumen-protected choline in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 74, 1641-1647. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78326-4
- Galyean, M. L., Harris, S. C., Nunnery, G. A., Salyer, G. B., Defoor, P. J., Robinson, K. D., & Rocha, R. I. (1999). Effects of source and level of ruminally protected choline on performance and carcass characteristics of finishing beef steers. research report. Department of Animal Sciences and food Tech., Texas Tech. University, Lubbock, 79409-21480.
- Grant, R. J., Colenbrander, V. F., & Mertens, D. R. (1990). Milk fat depression in dairy cows: role of particle size of alfalfa hay. *Journal of Dairy Science*, 73, 1823-1833. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(90)78862-5
- Hajilou, M., Dehghan-Banadaky, M., Zali, A., & Rezayazdi, K. (2015). Effect of choline and L-carnitine on performance, apparent digestibility and carcass characteristics of Holstein male calves. *Journal of Animal Science Research*, 25(4), 11-19. [In Persian]
- Hartwell, J. R., Cecava, M. J., & Donkin, S. S. (2000). Impact of dietary rumen- undegradable protein and rumen-protected choline on intake, peripartum liver triacylglyceride, plasma metabolites and milk production in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 83, 2907-2917. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75191-5
- Hosseinabadi, M., Torbatinejad, N. M., Ghoorchi, T., & Toghdory, A. (2022). Effect of flaxseed level and processing method of performance, skelet growth indices, health, and rumination behavior of suckling calves. *Animal Production Research*, 11(2), 31-42. doi: 10.22124/ar.2022.19593.1617. [In Persian]
- Janovick Guretzky N. A., Carlson D. B., Garrett J. E., & Drackley J. K. (2006). Lipid metabolite profiles and milk production for Holstein and Jersey cows fed rumen-protected choline during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 89, 188-200. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72083-5
- Krober, T. F., Kreuzer, M., Senn, M., Langhans, W., & Sutter, F. (2000). Lactational and metabolic effects in cows of lysine and methionine added to a ration deficient according to the I.N.R.A. method. *Archives of Animal Nutrition*, 53, 375-394. doi: 10.1080/17450390009381959
- Larson, L. L., Owen, F. G., Albright, J. L., Appleman, R. D., Lamb, R. C., & Muller, L. D. (1977). Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. *Journal of Dairy Science*, 60, 6. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(77)83975-1
- Li, H., Wang, H., Yu L., Wang, M., Liu, S., Sun, L., & Chen, Q. (2015). Effects of supplementation of rumen-protected choline on growth performance, meat quality and gene expression in longissimus dorsi muscle of lambs. *Archives of Animal Nutrition*, 69, 340-350. doi: 10.1080/1745039X.2015.1073001
- Maekawa M., Beauchemin K. A., & Christensen, D. A. (2002). Chewing activity, saliva production, and ruminal pH of primiparous and multiparous Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 1176-1182. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74180-5
- Mertens, D. R. (1997). Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy Cow. *Journal of Dairy Science*, 80, 1463-1481. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76075-2
- Moura, L. V., Oliveira, E. R., & Fernandes, A. R. M. (2017). Feed efficiency and carcass traits of feedlot lambs supplemented either monensin or increasing doses of copaiba (*Copaifera spp.*) essential oil. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 232, 110-118. doi: 10.1016/j.anifeeds.2017.08.006

- National Research Council (NRC). (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th revised edition. National Academy of Science, Washington, DC.
- Piepenbrink, M. S., & Overton, T. R. (2003). Liver metabolism and production of cows fed increasing amounts of rumen-protected choline during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 86, 1722-1733. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73758-8
- Pinotti, L., Baldi, A. M., & Dell'Orto, V. (2002). Comparative mammalian choline metabolism with emphasis on the high-yielding dairy cow. *Nutrition Research Review*, 15, 315-331. doi: 10.1079/NRR200247
- Pinotti, L., Baldi, A., Politis, I., Rebucci, R., Sangalli, L., & Dell'Orto, V. (2003). Rumen-protected choline administration to transition cows: effects on milk production and vitamin E status. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 50, 18-21. doi: 10.1046/j.1439-0442.2003.00502.x
- Piepenbrink, M. S., Overton, T. R., & Clark, J. H. (1996). Response of cows fed a low crude protein diet to ruminally protected methionine and lysine. *Journal of Dairy Science*, 79, 1638-1646. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(96)76527-X
- Powell, J. M., Broderick, G. A., & Misselbrook, T. H. (2008). Seasonal diet affects ammonia emissions from tiestall dairy barns. *Journal of Dairy Science*, 91, 857-869. doi: 10.3168/jds.2007-0588
- Rodríguez-Guerrero, V., Lizarazo, A. C., Ferraro, S., Suárez, N., Miranda, L. A., & Mendoza, G. D. (2018). Effect of herbal choline and rumen-protected methionine on lamb performance and blood metabolites. *South African Journal of Animal Science*, 48(3), 427-434. doi: 10.4314/sajas.v48i3.3
- Sales, J., Homolka, P., & Koukolová, V. (2010). Effect of dietary rumen-protected choline on milk production of dairy cows: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 93, 3746-3754. doi: 10.3168/jds.2010-3106
- SAS. (2003). Statistical Analysis System user's guide. SAS 9.1. Cary (NC): SAS Institute.
- Sharma, B. K., & Erdman, R. A. (1988). A. Abomasal infusion of choline and methionine with or without 2-amino-2-methyl-1-propanol for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 71, 2406-2411. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(88)79825-2
- Soltan, M. A., Mujalli, A. M., Mandour, M. A., & Abeer, M. E. (2012). Effect of dietary rumen protected methionine and/or choline supplementation of rumen fermentation characteristics and protective performance of early lactating cows. *Pakistan Journal of Nutrition*, 11(3), 221-230. doi: 10.3923/pjn.2012.221.230
- Suksombat, W., Homkao, J., & Klangnork, P. (2012). Effect of biotin and rumen protected choline supplementation on milk production, milk composition, live weight change and blood parameters in lactating dairy weights. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10, 2186-2192. doi: 10.3923/javaa.2012.1116.1122
- Sun, F., Cao, Y., Cai, C., Li, S., Yu, C., & Yao, J. (2016). Regulation of nutritional metabolism in transition dairy cows: Energy homeostasis and health in response to post-ruminal choline and methionine. *PloS One*, 11, 8, e0160659. doi: 10.1371/journal.pone.0160659
- Thomas, L. C., Wright, T. C., Formusiak, A., Cant, J. P., & Osborne, V. R. (2007). Use of flavored drinking water in calves and lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 90, 3831-3837. doi: 10.3168/jds.2007-0085
- Toghdory, A., Ghoorchi, T., Naserian, A., Jafari Ahangari, Y., & Hassani, S. (2009). Nutritional effects of choline on productive performance and some blood metabolites of lactating Holstein dairy cow. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 16(1). [In Persian]
- Van Keulen, J., & Young, B. A. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44, 282-287. doi: 10.2527/jas1977.442282x
- Van Soest, P. J. (1994). Nutritional Ecology of the Ruminants. Cornell University Press, Ithaca, New York. steers. *Nebraska Beef Cattle Reports*, 67A, 72-74.
- Yao, Z. M., & Vance, D. E. (1988). The active synthesis of phosphatidylcholine is required for very low density lipoprotein secretion from rat hepatocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 263, 2998-3004.
- Ye, J. A., Wang, C., Wang, H. F., Liu, H. Y., Wang, Y. M., & Chen, B. (2010). Effects of pelletizing and supplementary methionine, lysine, and choline on the performance of periparturient dairy cows. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 60(10), 230-238. doi: 10.1080/09064702.2010.532566
- Zahra, L. C., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Overton, T. R., Putnam, D., & Leblanc, S. J. (2006). Effects of rumen-protected choline and monensin on milk production and metabolism of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 4808-4818. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72530-9
- Zeisel, S. H. (2006). Choline: critical role during fetal development and dietary requirements in adults. *Annual Review of Nutrition*, 2(1), 229-250. doi: 10.1146/annurev.nutr.26.061505.111156
- Zeisel, S. H., & da Costa, K. (2009). Choline: An essential nutrient for public health. *Nutrition Reviews*, 67, 615-623. doi: 10.1111/j.1753-4887.2009.00246.x
- Zhou, Z., Vailati-Riboni, M., Trevisi, E., Drackley, J. K., Luchini, D. N., & Looor, J. J. (2016). Better postpartal performance in dairy cows supplemented with rumen protected methionine compared with choline during the peripartal period. *Journal of Dairy Science*, 99, 1-17. doi: 10.3168/jds.2015-10525