



## Original Research Paper

## The effect of daily temperature fluctuation on hematological, biochemical and coagulation parameters in Holstein cattle

Masoud Morshedi, Seyedeh Parastoo Yasini \*, Alireza Shaghayegh

Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

### Key Words

Temperature fluctuation  
Hematological  
Biochemical Coagulation  
Holstein cattle

### Abstract

**Introduction:** Hematological and biochemical parameters, as livestock response indicator, can be used as a basis for diagnosis, treatment, and prognosis of diseases.

**Materials & Methods:** Blood samples were collected from 20 Holstein cows to investigate the effect of daily temperature fluctuation on hematological, biochemical, coagulation and hormonal parameters. Sampling was done three times per day that is in the morning, at noon and in the evening on a summer day in Nazarabad, Alborz province. RBC, Hb, HCT, MCV, MCH, MCHC, total and differential white blood cell (WBC) counts, AST, GGT, glucose, urea, total protein, albumin, fibrinogen, cortisol concentration, PT and APTT and platelet were measured. Rectal temperature was measured at the same time of blood sampling.

**Results:** According to the results, there was an insignificant increase in RBC, Hb, HCT, MCV, MCH, MCHC, urea and cortisol in the second time of blood sampling (39C°) compared to the other two times (The first time: 25C°, the third time:32C°). Also, a significant increase in the total number of white blood cells, neutrophils, monocytes, total protein, albumin, AST, GGT and rectal temperature and a decrease in the number of eosinophils were observed in second sampling. No significant changes were observed in APTT, PT and platelet count. The evaluation of clinical indicators under heat stress showed a significant increase in rectal temperature.

**Conclusion:** According to the results of this study, daily temperature fluctuation and mild heat stress can affect hematological and biochemical factors and should be considered for the evaluation and interpretation of hematological and biochemical profiles.

\* Corresponding Author's email: [p.yasini@kiau.ac.ir](mailto:p.yasini@kiau.ac.ir)

Received: 21 November 2020; Reviewed: 23 December 2020; Revised: 25 February 2021; Accepted: 1 April 2021

(DOI): [10.22034/AEJ.2021.275967.2475](https://doi.org/10.22034/AEJ.2021.275967.2475)

## مقاله پژوهشی

## تاثیر نوسانات روزانه دمایی بر روی پارامترهای هماتولوژی، بیوشیمیایی و انعقادی در گاوهای نژاد هلشتاین

مسعود مرشدی، سیده‌پرستو یاسینی\*، علیرضا شقایق

گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

### کلمات کلیدی

نوسانات دمایی  
هماتولوژی  
بیوشیمیایی  
انعقادی  
گاو هلشتاین

### چکیده

**مقدمه:** پارامترهای خونی و بیوشیمیایی، به‌عنوان شاخص پاسخ دام، می‌تواند به‌عنوان مبنایی جهت تشخیص، درمان و پیش‌آگهی بیماری‌ها باشد.

**مواد و روش‌ها:** به‌منظور بررسی اثر نوسانات روزانه دمایی بر روی پارامترهای هماتولوژی، بیوشیمیایی، انعقادی و هورمونی نمونه‌گیری بر روی ۲۰ راس گاو نژاد هلشتاین در یک روز تابستان در منطقه نظر آباد واقع در استان البرز و در سه نوبت انجام شد. RBC، Hb، HCT، MCV، MCH، MCHC، شمارش تام و تفریقی WBC، AST، GGT، گلوکز، اوره، پروتئین تام، آلبومین، فیبرینوژن، PT و APTT، پلاکت و غلظت کورتیزول مورد سنجش قرار گرفت. هم‌زمان با هر نوبت خونگیری اندازه‌گیری درجه حرارت رکتال انجام شد.

**نتایج:** براساس نتایج به‌دست آمده، RBC، Hb، HCT، MCV، MCH، MCHC، اوره و کورتیزول در نوبت دوم خونگیری (دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد)، نسبت به دو نوبت دیگر (نوبت اول: ۲۵ درجه سانتی‌گراد، نوبت سوم: ۳۲ درجه سانتی‌گراد) با افزایش غیرمعنی‌دار همراه بود. هم‌چنین افزایش معنی‌دار تعداد تام WBC، نوتروفیل و مونوسیت، پروتئین تام، آلبومین، AST، GGT، درجه حرارت رکتال و کاهش تعداد ائوزینوفیل‌ها در این نوبت مشاهده شد. در ارتباط با APTT، PT و تعداد پلاکت‌ها تغییرات معنی‌دار نبود.

**نتیجه‌گیری و بحث:** با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه تغییرات روزانه دمایی و بروز استرس گرمایی ملایم می‌تواند بر برخی از فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی تأثیرگذار باشد و در هنگام ارزیابی پروفایل هماتولوژی و بیوشیمیایی و تفسیر آن بایستی تغییرات روزانه دمایی را مد نظر قرار داد.

## مقدمه

گرما در اثر فعالیت‌های متابولیکی در بدن حیوان تولید می‌شود و هم‌چنین ممکن است از محیط حاصل شود. قرار گرفتن گاو شیری در محیط با دمای بالا مکانیسم‌های تنظیم دمایی را تحریک می‌کند و باعث کاهش میزان متابولیسم، کاهش میزان شیر و درصد چربی آن و کاهش مصرف خوراک و بهره‌وری می‌شود (۱، ۲، ۳). تعریق، افزایش شدت تنفس، انبساط عروق محیطی، افزایش درجه حرارت رکتال، کاهش مصرف مواد خشک و افزایش مصرف آب پاسخ فیزیولوژیکی است که با اثرات منفی استرس گرمایی به مقابله می‌پردازد (۴، ۵). گرما از طریق تابش، هدایت دمایی، همرفت، تبخیر آب از پوست و مجاری تنفسی و دفع مدفوع و ادرار از بدن خارج می‌شود. هنگامی که افزایش گرما و از دست دادن گرما متعادل شود، ثبات حرارتی وجود دارد. سازوکارهای فیزیولوژیکی مختلفی در دام‌ها به منظور ایجاد ثبات حرارتی در سطح دمای طبیعی بدن وجود دارد، که برای حفظ تعادل میان افزایش گرما و از دست دادن گرما تلاش می‌کند. تنظیمات گردش خون در ناحیه حرارتی و متابولیسم ثابت، برای حفظ حالت پایدار حرارتی کافی است. اما در دمای بالاتر، تنظیمات گردش خون به تنهایی برای حفظ این تعادل کافی نیست و اتلاف گرما از طریق تبخیر پوست و تنفس اتفاق می‌افتد (۶). خون یک محیط مهم و قابل اطمینان برای تخمین وضعیت سلامت حیوان است (۷). پروفایل پارامترهای خونی و بیوشیمیایی، به‌عنوان شاخص پاسخ دام، می‌تواند به‌عنوان مبنایی جهت تشخیص، درمان و پیش‌آگهی بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرد (۸، ۹). هم‌چنین عوامل متعددی از جمله تغییرات فصلی و محیطی، عوامل ژنتیکی و غیرژنتیکی، نژاد، گونه، سن، جنس، محیط، دما، طول روز، فصل، موقعیت جغرافیایی، شرایط آب و هوایی، تغذیه، سلامت و فعالیت فیزیکی می‌توانند روی پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی موثر باشند (۱۰). تغییرات دمایی می‌تواند بر روی پارامترهای خونی و بیوشیمیایی دام تاثیرگذار باشد و آن‌ها را دستخوش تغییر نماید، نوسانات دمایی و بروز استرس گرمایی ملایم خصوصاً در تابستان که طول روز بلند و اختلاف دما بین صبح و ظهر نسبتاً زیاد است از جمله فاکتورهای حائز اهمیت است، لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر نوسانات روزانه دمایی بر روی فاکتورهای هماتولوژی، بیوشیمیایی، انعقادی و هورمون کورتیزول در گاوهای نژاد هلشتاین می‌باشد، که این امر می‌تواند در تفسیر پاسخ‌های پروفایل خون‌شناسی و بیوشیمیایی با توجه به شرایط دمایی راهگشا باشد.

## مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر روی ۲۰ رأس گاو ماده ۴-۲ ساله سالم و غیر آبستن، در بیمارستان دامپزشکی دانشگاه آزاد واحد کرج، واقع در منطقه نظرآباد، انجام شد. نمونه‌گیری در یک روز تابستان و در سه نوبت صبح، ظهر و عصر انجام شد و تغییرات دمایی در هر مرحله براساس گزارشات مرکز هواشناسی منطقه نظرآباد به ترتیب ۲۵، ۳۹ و ۳۲ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. پس از قرارگیری گاوها در باکس و مهار آن‌ها، به‌منظور ارزیابی فاکتورهای خون‌شناسی، بیوشیمیایی، انعقادی و اندازه‌گیری هورمون کورتیزول خونگیری از ورید و داج انجام شد. نمونه‌های خون پس از اخذ به لوله‌های حاوی ضدانعقاد (EDTA)، سیترات سدیم و لوله‌های بدون ضدانعقاد منتقل گردید و هم‌زمان اندازه‌گیری درجه حرارت رکتال انجام پذیرفت و سپس شماره گاو و ساعت خونگیری روی لوله ثبت شد. لوله‌ها بعد از انجام خونگیری به آزمایشگاه ارسال شد. سنجش فاکتورهای خون‌شناسی شامل تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، میزان هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (HCT)، حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC)، پلاکت (PLT) و شمارش تام گلبول‌های سفید بر روی نمونه خون حاوی ضد انعقاد EDTA و با استفاده از دستگاه سل کانتر مدل Nihon Kohden ۶۴۵۰ ساخت ژاپن انجام پذیرفت. پس از تهیه گسترش‌های خونی نازک از هر نمونه و ثبت شماره گاو بر روی آن، بررسی و شمارش تفریقی گلبول‌های سفید با استفاده از رنگ‌آمیزی گیمسا انجام گرفت و درصد و تعداد مطلق هر یک از سلول‌ها محاسبه گردید. لوله‌های حاوی نمونه‌های خون فاقد ضدانعقاد پس از لخته شدن، با دور ۲۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و سپس سرم آن‌ها به‌وسیله سمپلر جدا گردید. سرم هر نمونه توسط سمپلرهای جداگانه به ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال و به آزمایشگاه ارجاع داده شد. فاکتورهای بیوشیمیایی شامل گلوکز، اوره، پروتئین تام، آلومین، آسپارات آمینو ترانسفراز (AST)، گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) و فیبریноژن، با استفاده از دستگاه اتوانالایزر Global مدل ۲۴۰ ساخت ایتالیا و با استفاده از کیت بیوشیمیایی شرکت پارس آزمون مورد سنجش قرار گرفت. میزان کورتیزول با استفاده از کیت (DiaMetra) ساخت ایتالیا و با استفاده از دستگاه الایزا ریدر Stat Fax مدل ۴۷۰۰ ساخت آمریکا اندازه‌گیری شد. جهت انجام آزمایشات زمان پرترومبین (PT) و زمان ترومبوپلاستین نسبی فعال شده (APTT) نمونه‌های خون حاوی ضدانعقاد سیترات سدیم، با دور ۲۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و سپس پلاسما آن‌ها به‌وسیله سمپلر جدا گردید. آزمایشات PT و APTT با استفاده از کیت PT و APTT ساخت

گلوکز: در مقایسه گلوکز مقدار میانگین آن در ۳ نوبت خونگیری اگرچه تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد، ولی مقدار آن در نوبت دوم نسبت به دو نوبت دیگر کاهش اندکی داشته است. اوره: در نوبت دوم نسبت به دو نوبت دیگر مقدار آن افزایش غیرمعنی‌دار داشته است. پروتئین تام و آلبومین: پروتئین تام و آلبومین در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، در مقایسه با دمای ۳۹ و ۳۲ درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری را نشان داد، به طوری که در نوبت اول کم‌ترین میزان مشاهده شد. آسپارات آمینو ترانسفراز و گاماگلوتامیل ترانسفراز: فعالیت آنزیم AST و GGT در نوبت دوم در مقایسه با نوبت اول بالاتر و از لحاظ آماری معنی‌دار بود. فیبرینوژن: فیبرینوژن در سه نوبت خونگیری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. میانگین و خطای استاندارد فاکتورهای انعقادی شامل PT، PLT، APTT در جدول ۴ آورده شده و ( $P \leq 0.05$ ) به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شده است. میانگین تغییرات PLT، PT، PTT در سه نوبت خونگیری معنی‌دار نبود. میانگین و خطای استاندارد هورمون کورتیزول و درجه حرارت رکتال در جدول ۵ نشان داده شده است. مقادیر کورتیزول در نوبت دوم نسبت به دو نوبت دیگر افزایش غیرمعنی‌دار و درجه حرارت رکتال افزایش معنی‌دار نشان داد ( $P \leq 0.05$ ).

شرکت فیشر امریکا انجام گرفت. میزان فیبرینوژن با استفاده از روش رسوب حرارتی اندازه‌گیری شد. ارزیابی داده‌ها و مقایسه گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آماری Repeated Measures و LSD (نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴) انجام گرفت و  $P \leq 0.05$  از جهت آماری تغییر معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

با مقایسه پارامترهای Hb، RBC، HCT، MCV، MCH، MCHC در نوبت‌های مختلف خونگیری مشخص شد که در نوبت دوم خون‌گیری ( $39^{\circ}\text{C}$ ) افزایش نشان دادند هرچند این افزایش برای هیچ‌یک از پارامترها معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ) (جدول ۱). میانگین و خطای استاندارد شمارش تام و تفریقی گلبول‌های سفید در جدول ۲ نشان داده شد. تعداد تام گلبول سفید، نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت در نوبت دوم خونگیری عدد بالاتری را به خود اختصاص داد و این تفاوت در مورد تعداد تام گلبول‌های سفید، نوتروفیل و مونوسیت در نوبت دوم نسبت به نوبت اول معنی‌دار بود. تعداد ائوزینوفیل از نوبت ۱ تا ۳ روند کاهشی داشت و در مقایسه نوبت ۱ و ۳ معنی‌دار بود. میانگین و خطای استاندارد پارامترهای بیوشیمیایی در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۱: مقایسه میانگین  $\pm$  خطای استاندارد پارامترهای گلبول قرمز

نوبت ۳	نوبت ۲	نوبت ۱	پارامتر
(۳۲ درجه سانتی‌گراد)	(۳۹ درجه سانتی‌گراد)	(۲۵ درجه سانتی‌گراد)	
$7/36 \pm 0.22^a$	$7/40 \pm 0.24^a$	$22/7 \pm 0.26^a$	گلبول‌های قرمز (تعداد $\times 10^6$ در میکرولیتر)
$10 \pm 0.35^a$	$10/15 \pm 0.36^a$	$9/75 \pm 0.38^a$	هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)
$32/75 \pm 1.23^a$	$33/23 \pm 1.31^a$	$31/94 \pm 1.34^a$	هماتوکریت (درصد)
$44/47 \pm 0.96^a$	$44/87 \pm 0.93^a$	$44/24 \pm 1.01^a$	حجم متوسط گلبول قرمز (فمتولیت)
$13/57 \pm 0.29^a$	$13/73 \pm 0.25^a$	$13/53 \pm 0.30^a$	غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (پیکوگرم)
$30/58 \pm 0.09^a$	$30/64 \pm 0.15^a$	$30/61 \pm 0.14^a$	غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (گرم در دسی‌لیتر)

حروف لاتین غیرمشترک، نشان‌دهنده اختلاف بین گروه‌ها است ( $P \leq 0.05$ )

جدول ۲: مقایسه میانگین  $\pm$  خطای استاندارد شمارش تام و تفریقی گلبول‌های سفید

نوبت ۳	نوبت ۲	نوبت ۱	پارامتر
(۳۲ درجه سانتی‌گراد)	(۳۹ درجه سانتی‌گراد)	(۲۵ درجه سانتی‌گراد)	
$9/31 \pm 0.75^a$	$9/98 \pm 0.80^b$	$8/63 \pm 0.60^a$	گلبول‌های سفید (تعداد $\times 10^3$ در میکرولیتر)
$2/95 \pm 0.29^a$	$3/08 \pm 0.39^b$	$2 \pm 0.23^a$	نوتروفیل (تعداد $\times 10^3$ در میکرولیتر)
$5/93 \pm 0.51^a$	$6/30 \pm 0.48^a$	$6/15 \pm 0.52^a$	لنفوسیت (تعداد $\times 10^3$ در میکرولیتر)
$0.24 \pm 0.05^b$	$0.26 \pm 0.05^b$	$0.13 \pm 0.02^a$	مونوسیت (تعداد $\times 10^3$ در میکرولیتر)
$0.21 \pm 0.03^b$	$0.30 \pm 0.06^{ab}$	$0.34 \pm 0.05^a$	ائوزینوفیل (تعداد $\times 10^3$ در میکرولیتر)

حروف لاتین غیرمشترک، نشان‌دهنده اختلاف بین گروه‌ها است ( $P \leq 0.05$ )

جدول ۳: مقایسه میانگین  $\pm$  خطای معیار پارامترهای بیوشیمیایی سرم و پلاسما

پارامترها	نوبت ۱ (۲۵ درجه سانتی گراد)	نوبت ۲ (۳۹ درجه سانتی گراد)	نوبت ۳ (۳۲ درجه سانتی گراد)
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	۶۶/۶۳ $\pm$ ۱/۳۲ <sup>a</sup>	۶۶/۵۸ $\pm$ ۲/۵۶ <sup>a</sup>	۶۷/۴۲ $\pm$ ۱/۹۸ <sup>a</sup>
اوره (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۵/۵۸ $\pm$ ۰/۸۴ <sup>a</sup>	۱۶/۳۷ $\pm$ ۰/۸۵ <sup>a</sup>	۱۵/۸۶ $\pm$ ۰/۹ <sup>a</sup>
پروتئین تام (گرم در دسی لیتر)	۷/۱۲ $\pm$ ۰/۱۴ <sup>a</sup>	۷/۶۱ $\pm$ ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۷/۷۷ $\pm$ ۰/۱۷ <sup>b</sup>
آلبومین (گرم در دسی لیتر)	۳/۱۱ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۳/۲۶ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>b</sup>	۳/۳۰ $\pm$ ۰/۰۹ <sup>b</sup>
آسپارات آمینو ترانسفراز (واحد بین المللی در لیتر)	۶۸/۶۳ $\pm$ ۲/۴۵ <sup>a</sup>	۷۶/۴۷ $\pm$ ۳/۲۷ <sup>b</sup>	۷۶/۸۴ $\pm$ ۳/۲۴ <sup>b</sup>
گاماگلوتامیل ترانسفراز (واحد بین المللی در لیتر)	۲۲/۲۴ $\pm$ ۰/۹۷ <sup>a</sup>	۲۴/۳۵ $\pm$ ۱/۰۰۷ <sup>b</sup>	۲۵/۱۴ $\pm$ ۰/۹۹ <sup>b</sup>
فیبریونژن (میلی گرم در دسی لیتر)	۲۵۷/۸۹ $\pm$ ۲۰/۶۸ <sup>a</sup>	۲۵۲/۶۳ $\pm$ ۲۰/۷۵ <sup>a</sup>	۲۲۱/۰۵ $\pm$ ۱۹/۶۱ <sup>a</sup>

حروف لاتین غیرمشترک، نشان دهنده اختلاف بین گروه‌ها است (P $\leq$ ۰/۰۵)

جدول ۴: مقایسه میانگین  $\pm$  خطای استاندارد فاکتورهای انعقادی

پارامتر	نوبت ۱ (۲۵ درجه سانتی گراد)	نوبت ۲ (۳۹ درجه سانتی گراد)	نوبت ۳ (۳۲ درجه سانتی گراد)
پلاکت (تعداد $\times 10^3$ در میکرولیتر)	۳۵۹/۸۰ $\pm$ ۲۲/۶۴ <sup>a</sup>	۴۱۰/۳۰ $\pm$ ۳۴/۰۶ <sup>a</sup>	۴۱۳/۳۰ $\pm$ ۳۳ <sup>a</sup>
زمان پروترومبین (ثانیه)	۱۰/۸۴ $\pm$ ۰/۴۹ <sup>a</sup>	۱۱/۶۳ $\pm$ ۰/۵۵ <sup>a</sup>	۱۰ $\pm$ ۰/۵۸ <sup>a</sup>
زمان ترومبوپلاستین نسبی فعال شده (ثانیه)	۳۹/۰۶ $\pm$ ۱/۸۶ <sup>a</sup>	۳۵/۷۱ $\pm$ ۲/۱۹ <sup>a</sup>	۴۰/۸۸ $\pm$ ۱/۴۶ <sup>a</sup>

حروف لاتین غیرمشترک، نشان دهنده اختلاف بین گروه‌ها است (P $\leq$ ۰/۰۵)

جدول ۵: مقایسه میانگین  $\pm$  خطای استاندارد کورتیزول و درجه حرارت رکتال

پارامتر	نوبت ۱ (۲۵ درجه سانتی گراد)	نوبت ۲ (۳۹ درجه سانتی گراد)	نوبت ۳ (۳۲ درجه سانتی گراد)
درجه حرارت رکتال (درجه سانتی گراد)	۳۸/۲۷ $\pm$ ۰/۱۲ <sup>a</sup>	۳۸/۵۸ $\pm$ ۰/۱۰ <sup>b</sup>	۳۸/۴۰ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>ab</sup>
کورتیزول (میکروگرم در دسی لیتر)	۳۷/۰۰۸ $\pm$ ۵/۶۰ <sup>a</sup>	۴۸/۸۰ $\pm$ ۴/۲۸ <sup>a</sup>	۴۸/۱۶ $\pm$ ۶/۳۵ <sup>a</sup>

حروف لاتین غیرمشترک، نشان دهنده اختلاف بین گروه‌ها است (P $\leq$ ۰/۰۵)

## بحث

تغییر در فاکتورهای آب و هوایی از جمله درجه حرارت، رطوبت و تابش آفتاب به عنوان عوامل بالقوه خطرزا در رشد و تولید تمامی گونه‌های دام‌های اهلی شناخته شده است (۱۱). در میان فاکتورهای استرس‌زا، استرس گرمایی مهم‌ترین عاملی است که باعث کاهش تولید دام می‌گردد (۱۲). پروفاایل پارامترهای خونی و بیوشیمیایی دام، به عنوان شاخص پاسخ دام، می‌تواند به عنوان مبنایی جهت تشخیص، درمان و پیش‌آگهی بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرند (۸، ۹) و تغییرات فصلی و محیطی می‌توانند بر روی فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی در حیوانات اهلی تاثیرگذار باشند (۱۰). استان البرز و منطقه نظرآباد از جهت تغییرات دمایی در طول روزهای تابستان

حائز اهمیت است، به طوری که دما از حدود ۲۵-۲۳ درجه سانتی گراد در هنگام صبح به ۴۰-۳۸ درجه سانتی گراد در نیمه روز و میزان تقریبی ۳۲-۳۵ درجه سانتی گراد در زمان غروب آفتاب می‌رسد، نوسانات دمایی و بروز استرس گرمایی ملایم می‌تواند بر روی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی دام تاثیرگذار باشد و آن‌ها را دستخوش تغییر نماید، لذا تاثیر نوسانات روزانه دمایی بر روی پارامترهای هماتولوژی، بیوشیمیایی، انعقادی و هورمونی در گاوها در این مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که پارامترهای مرتبط با گلبول‌های قرمز از جمله تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط گلبول قرمز، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز هم‌زمان با خونگیری نوبت دوم و تحت شرایط استرس گرمایی افزایش ملایم

دارد. با توجه به تطبیقی که احتمالاً دام از لحاظ فیزیولوژیک با محیط اطراف پیدا کرده است، تغییرات در هیچ‌یک از فاکتورهای ذکر شده معنی‌دار نبود. در بررسی حاضر شمار گلبول‌های سفید، نوتروفیل، مونوسیت، لنفوسیت در نتیجه استرس دمایی افزایش و ائوزینوفیل کاهش یافت، که این تغییرات در مورد تعداد تام گلبول‌های سفید، نوتروفیل، مونوسیت و ائوزینوفیل معنی‌دار بود. با توجه به افزایش ترشح کورتیزول تحت شرایط استرس دمایی مشاهده تابلوی خونی استرس قابل انتظار است. مطالعات Koubkova و همکاران، بر روی گاوهای شیری با تولید بالا نشان داد که با افزایش درجه حرارت محیطی، Hb، HCT، نوتروفیل و ائوزینوفیل افزایش و تعداد تام گلبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها کاهش یافت (۱۳). Berian و همکاران، مشاهده کردند که میزان Hb و HCT در گاوهای تحت استرس گرمایی نسبت به گروه شاهد بالاتر بوده، در حالی که تعداد RBC و WBC در این گروه کاهش یافته بود و این تغییرات در محدوده فیزیولوژیکی گاوها بود (۱۴). تحقیقات Rana و همکاران، در ارتباط با تاثیر استرس گرمایی بر روی پارامترهای خونی در گوسفندان بومی نشان داد که Hb، RBC و PCV هم‌زمان با بروز استرس گرمایی افزایش می‌یابد و WBC تغییر معنی‌داری را نشان نداد (۱۵). Mazzullo و همکاران، با بررسی تاثیرات استرس گرمایی بر روی پارامترهای هماتولوژی در گاوهای شیری گزارش کردند که Hb، RBC و HCT به دلیل مصرف آب بیش‌تر در شرایط استرس گرمایی و رقیق شدن خون کاهش می‌یابد که با نتایج حاصل از این تحقیق مغایرت دارد، هم‌چنین در این مطالعه افزایش تعداد تام گلبول‌های سفید، لنفوسیت، ائوزینوفیل و کاهش نوتروفیل مشاهده شد (۱۶). در مطالعات Morar و همکاران، که مرتبط با تغییرات فاکتورهای خون‌شناسی تحت تاثیر استرس گرمایی در گاوهای شیری بود، افزایش WBC، نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت و کاهش ائوزینوفیل مشاهده شد که با یافته‌های این مطالعه مطابقت دارد (۱۷). بررسی‌های Farooq و همکاران، نشان داد، تعداد تام گلبول‌های سفید، لنفوسیت و مونوسیت در تابستان‌های خشک که با آب و هوای گرم مناطق مورد مطالعه ما شباهت زیادی دارد افزایش معنی‌داری یافته است که می‌تواند به علت افزایش ترشح اپی‌نفرین در پاسخ به استرس دمایی باشد (۱۸). در مطالعه حاضر میانگین غلظت گلوکز در بیشینه دمایی کم‌ترین مقدار را نسبت به دو نوبت دیگر نشان داد، هرچند این تغییرات از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. بی‌اشتهایی و کاهش مصرف غذایی در شرایط افزایش دما و بروز استرس گرمایی ملایم به‌عنوان یکی از دلایل کاهش گلوکز سرم مد نظر قرار دارد. بررسی‌های Attia، بر روی بزهایی که تحت شرایط افزایش دمای محیطی و استرس گرمایی بودند کاهش گلوکز را نشان داد که این کاهش را به افزایش فعالیت انسولین در خون و کاهش

مصرف خوراک ارتباط دادند (۱۹). براساس مطالعات انجام شده توسط Rasouli و همکاران، بر روی گاوهای غیرآبستن در فصول مختلف، مشخص شد که میزان گلوکز در فصل تابستان نسبت به زمستان کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد که علت آن راه کاهش هورمون‌های تیروئیدی و سطح متابولیسم در نتیجه استرس گرمایی نسبت دادند (۲۰). ارزیابی‌های Srikandakumar و Johnson، نشان داد که در گاوهای نژاد هلشتاین استرس گرمایی موجب افزایش گلوکز می‌گردد (۲۱). تفاوت معنی‌داری در میانگین غلظت اوره در سه گروه تحت مطالعه حاضر مشاهده نشد؛ هرچند مقدار آن در نوبت دوم خونگیری افزایش نشان داد. که از دلایل آن می‌توان به قرار گرفتن حیوان در معرض گرما و از دست دادن مایع خارج سلولی و در نتیجه افزایش غلظت اوره پلاسما اشاره کرد. در تحقیقات Berian و همکاران، افزایش اوره هم‌زمان با افزایش گرما در گاوهای شیری گزارش شده است (۱۴). Ferreira و همکاران، با به‌دست آوردن نتایج مشابه، افزایش غلظت اوره در حیوان تحت استرس را از یک سو به کاهش پرفیوژن کلیوی در نتیجه کاهش مایعات خارج سلولی و از سوی دیگر به افزایش کاتابولیسم پروتئین‌ها نسبت دادند (۲۲). براساس گزارشات Soveri و همکاران (۲۳) و Eldon و همکاران (۲۴) افزایش میزان اوره خون در فصل زمستان مشاهده شده است. در این بررسی مقدار پروتئین تام و آلبومین در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد (نوبت دوم خونگیری) نسبت به خونگیری نوبت اول در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد افزایش معنی‌دار نشان داده است. که این احتمالاً حیوان به جهت دهیدراتاسیون در دمای بالاتر آب بدن خود را از دست می‌دهد و پروتئین تام و آلبومین افزایش می‌یابد. طبق مشاهدات Rasouli و همکاران، در گاوهای غیرآبستن هولشتاین مقدار پروتئین تام و آلبومین در تابستان با افزایش معنی‌دار همراه بود (۲۰). در معرض گرما بودن و از دست دادن مایعات بدن در طی استرس گرمایی، افزایش هورمون ADH را در بر دارد، که باعث کاهش خروج ادرار و افزایش قابل‌توجهی در پروتئین و آلبومین پلاسما می‌شود، هم‌چنین نتایج این بررسی نشان می‌دهد که دمای محیط ارتباط مثبتی با پروتئین تام سرم دارد. Ferreira و همکاران، افزایش پروتئین تام و آلبومین در هنگام افزایش دما را به رخداد دهیدراتاسیون و تغلیظ خون مرتبط می‌دانند (۲۲). نتایج مطالعات Arfaei akhoole و همکاران، نشان داد که میزان پروتئین تام سرم در فصل تابستان کاهش پیدا می‌کند و آلبومین تغییر معنی‌داری ندارد (۲۵)، که با یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر مغایرت داشت. آن‌ها معتقد بودند که در فصل تابستان اغلب حیوانات با مواد غذایی که از لحاظ پروتئین بسیار فقیر می‌باشند تغذیه می‌شوند لذا این فقر پروتئینی جیره در طولانی مدت می‌تواند باعث هایپوپروتئینمی گردد. در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم AST و GGT در بیشینه دمایی



نسبت به نوبت اول افزایش معنی‌داری داشته است؛ اگرچه GGT و AST نسبت به تغییرات غلظت مایع پلازما حساس نیستند، اما در مقایسه با هماتوکریت و پروتئین تام این متغیرها از همان رفتار پیروی می‌کنند. Srikandakumar و Johnson (۲۱) و Singh و همکاران (۲۶) مشاهده کردند که آنزیم AST به ترتیب در گاوها و گاومیش‌هایی که در معرض تنش گرمایی بودند به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. افزایش سطح AST را به دلیل شرایط گرم محیطی گزارش کرده و اعلام کردند که این آنزیم بهترین شاخص برای ارزیابی استرس گرمایی و افزایش دما می‌باشد و دلیل آن را نشت از عضلات اسکلتی تخریب شده ذکر کردند. نتایج مشابهی بر طبق مطالعات Ferreira و همکاران، مبنی بر این که آنزیم GGT تحت استرس گرمایی افزایش می‌یابد، ارائه شد (۲۲). براساس تحقیقات Sprake و همکاران، بر روی بره‌هایی که در شرایط دمایی بالا قرار داشتند نیز افزایش آنزیم GGT و AST گزارش شد (۲۷). در تحقیقات Berian و همکاران، افزایش AST هم‌زمان با افزایش گرما در گاوهای شیری گزارش شده است (۱۴). در این تحقیق از لحاظ آماری تغییر قابل توجهی در میانگین فیبرینوژن دردهماهای مورد مطالعه مشاهده نشد. Berg و همکاران، در طی تحقیقی عدم تغییر معنی‌دار در میانگین میزان فیبرینوژن را به دنبال استرس گرمایی گزارش کردند (۲۸). بر طبق مطالعه Khoshvaghti، افزایش فیبرینوژن در فصل زمستان به‌طور معنی‌داری نسبت به تابستان بیش‌تر بود. استرس سرمایی بر روی فیبرینوژن تأثیر گذاشته و فیبرینوژن به‌عنوان یک پروتئین مرحله حاد مثبت به این استرس پاسخ داده و میزان آن افزایش می‌یابد (۲۹). براساس نتایج به‌دست آمده، میانگین تعداد پلاکت‌ها به تدریج از نوبت اول تا سوم افزایش یافت، هرچند این تغییرات معنی‌دار نیست. در مطالعه Wojtas و همکاران، بر روی گوسفندانی که در محیط شبیه‌سازی شده براساس THI انجام شد، مشاهده شد که با افزایش THI تعداد پلاکت به‌صورت غیرمعنی‌داری افزایش نشان داد (۳۰). گزارش ارائه شده توسط Al-Haidary، نشان داد در گوسفندان نایمی تعداد پلاکت‌ها تحت شرایط استرس گرمایی افزایش غیرمعنی‌دار دارد (۳۱). در تحقیقات Casella و همکاران، که روی گاوهای شیری در مناطقی از ایتالیا انجام پذیرفت، مشخص شد میانگین تعداد پلاکت‌ها در ماه‌های گرم سال کاهش می‌یابد (۳۲). در مطالعه حاضر تغییرات PT و APTT در هیچ‌یک از نوبت‌ها معنی‌دار نبود. بررسی‌های Khoshvaghti بر روی بره‌های تغییرات مسیره‌های انعقادی گاو در دو فصل زمستان و تابستان نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین PT و APTT در این دو فصل وجود ندارد (۲۹). برخی تحقیقات بر تأثیر افزایش استرس گرمایی بر مدت زمان APTT و PT دلالت دارند (۳۳، ۳۴، ۳۵) و برخی محققین اثر کاهنده استرس گرمایی را بر این پارامترها گزارش نموده‌اند (۳۶، ۳۷). در این مطالعه

مقدار کورتیزول خون در نوبت دوم افزایشی را نسبت به نوبت اول نشان داد، هرچند این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در شرایط محیطی گرم، هورمون کورتیزول یک مکانیسم تنظیم کننده گرمایی است که از تولید گرمای متابولیسمی جلوگیری می‌کند. مطالعه Kim و همکاران، بر روی گوساله‌هایی که در معرض استرس گرمایی قرار داشتند نشان داد که میزان کورتیزول بالاتر است و میان غلظت کورتیزول و درجه حرارت رکتال و تعداد ضربان قلب رابطه مستقیمی وجود دارد (۳۸). بر طبق مطالعات Wojtas و همکاران، سطح کورتیزول خون به طور قابل ملاحظه‌ای در گوسفندان در معرض دمای بالا افزایش می‌یابد و در حیواناتی که به‌صورت طولانی در معرض دماهای بالا قرار دارند تدریجاً کاهش می‌یابد (۳۰). کاهش مقادیر کورتیزول در طی استرس گرمایی مزمن، به دلیل سازگاری حیوان با شرایط دمایی محیط می‌باشد (۳۹). براساس نتایج به‌دست آمده درجه حرارت رکتال، در نوبت دوم نسبت به نوبت اول خونگیری روند افزایشی داشت و این افزایش معنی‌دار بود. فعالیت‌های متابولیکی دمای بدن را افزایش می‌دهند که با سیستم تنظیمی بدن کنترل می‌شود و وقتی دمای محیط نیز بالا باشد به هدف حذف بار دمایی، فعالیت متابولیکی بیش‌تری انجام می‌شود که می‌تواند خود دمای بدن را افزایش دهد. مطالعات انجام شده روی گاوهای دوره‌ای که در رده سنی ۵ تا ۸ سال بودند نتایجی را ارائه داده است که با نتایج به‌دست آمده در مطالعات ما مطابقت دارد. گاوها در همه سنین با افزایش شاخص دمایی-رطوبتی دمای بدنشان افزایش یافت (۱). با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه تغییرات روزانه دمایی و بروز استرس گرمایی ملایم می‌تواند بر برخی از فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی تأثیرگذار باشد و در هنگام ارزیابی پروفایل هماتولوژی و بیوشیمیایی و تفسیر آن بایستی تغییرات روزانه دمایی را مد نظر قرار داد.

## منابع

1. Abdelatif, A.M. and Alameen, A.O., 2012. Influence of Season and Pregnancy on Thermoregulation and Haematological Profile in Crossbred Dairy Cows in Tropical Environment. *Glob. Vet.* 9(3): 334-340.
2. Savar Sofla, S., Seyedsharifi, R., Mansourian, M. and Kazemi, M., 2019. Relationship between temperature humidity index and test-day milk and fat percentage milk of Holstein dairy cattle in Mediterranean climate of Iran. *Journal of Animal Environmental.* 11(2): 37-46. (In Persian)
3. Dashtbin, F., Zare Shahneh, A., Jahanbakhshi, A. and Mirtorabi, S.M., 2015. Study of Some Effective Factors on Reproductive Performance of Holstein Cows in Tehran and

- parameters in dairy cows. *Lucrări Stiințifice Medicină Veterinară*. 2: 65-70.
18. **Farooq, U., Ahmad, N., Ahmad, I., Mahmood, S.A., Hassan, A.S. and Idris, M., 2015.** Effect of seasonal variations on the haematochemical profile of Cholistani service bulls. *J. Appl. Anim. Res.* 45(1): 85-89.
  19. **Attia, N., 2016.** Physiological, hematological and biochemical alterations in heat stressed goats. *BVMJ*. 31(2): 56-62.
  20. **Rasouli A., Nouri M., Khajeh Gh.H. and Rasekh A., 2004.** The influences of seasonal variations on thyroid activity and some biochemical parameters of cattle. *IVJR*. 5(2): 55-62.
  21. **Srikandakumar, A. and Johnson, E.H., 2004.** Effect of Heat Stress on Milk Production, Rectal Temperature, Respiratory Rate and Blood Chemistry in Holstein, Jersey and Australian Milking Zebu Cows. *Trop Anim Health Prod.* 36(7): 685-692.
  22. **Ferreira, F., Campos, W.E., Carvalho, A.U., Pires, M.F.A., Martinez, M.L., Silva, M.V.G.B., Verneque, R.S. and Silva, P.F., 2009.** Parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e hormonais de bovinos submetidos ao estresse calórico. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61(4): 769-776.
  23. **Soveri, T., Sankari, S. and Nieminen, M., 1992.** Blood chemistry of reindeer calves (*Rangifer tarandus*) during the winter season. *Comp. Biochem. Physiol., Part A: Physiology.* 102(1): 191-196.
  24. **Eldon, J., Thorsteinsson, T. and Olafsson, T., 1988.** The Concentration of Blood Glucose, Urea, Calcium and Magnesium in Milking Dairy Cows. *J Vet Med Series A.* 35(1-10): 44-53.
  25. **Arfaei akhoole, A., Shirazi, M.R., Rashnavadi, M., Rasooli, A., Nouri, M. and Razi Jalali, M., 2015.** Evaluation of some serum hormones and biochemical parameters of buffalo in hot and cold seasons in Ahvaz. *Iranian Veterinary Journal.* 11(1): 15-23. (In Persian)
  26. **Singh, S.P., Hooda, O.K., Kundu, S.S. and Singh, S., 2012.** Biochemical changes in heat exposed buffalo heifers supplemented with yeast. *Trop Anim Health Prod.* 44(7): 1383-1387.
  27. **Sprake, P.M., Hubertus, C., Bissett, W.T., Porter, B.F., Russell, K.E., Garland, T. and Washburn, K.E., 2013.** Neurological Disease in Lambs Associated with Exposure to High Environmental Temperature and Humidity. *J. Vet. Intern. Med.* 27(5): 1242-1247.
  28. **Burg, P.J.M.V.D., Hospers, J.E.H., Van Vliet, M., Mosterd, W.L., Bouma, B.N. and Huisveld, I.A., 1997.** Effect of endurance training and seasonal fluctuation on coagulation and fibrinolysis in young sedentary men. *J. Appl. Physiol.* 82(2): 613-620.
  29. **Khoshvaghti, A., 2013.** The changes in the fibrinogen concentration and coagulation pathways in winter and Alborz Provinces. *Journal of Animal Environmental.* 7(3): 29-32. (In Persian)
  4. **West, J.W., Hill, G.M., Fernandez, J.M., Mandebvu, P. and Mullinix, B.G., 1999.** Effects of dietary fiber on intake, milk yield, and digestion by lactating dairy cows during cool or hot, humid weather. *J. Dairy Sci.* 82(11): 2455-2465.
  5. **Kadzere, C.T., Murphy, M.R., Silanikove, N. and Maltz, E., 2002.** Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livest. Prod. Sci.* 77: 59-91.
  6. **Bhan, C., Singh, S.V., Hooda, O.K., Upadhyay, R.C.B. and Mangesh, V., 2012.** Influence of temperature variability on physiological, hematological and biochemical profile of growing and adult sahiwal cattle. *J. Environ. Res. Develop.* 7(2A): 987-994.
  7. **Oduye, O.O., 1976.** Hematological values of Nigerian goats and sheep. *Trop. Anim. Health Prod.* 8(3): 131-135.
  8. **Otto, F., Vilela, F., Harun, M., Taylor, G., Baggasse, P. and Bogin, E., 2000.** Biochemical blood profile of angoni cattle in mozambique. *Isr. J. Vet. Med.* 55(3): 1-9.
  9. **Ndlovu, T., Chimonyo, M., Okoh, A.I., Muchenje, V., Dzama, K. and Raats, J.G., 2007.** Assessing the nutritional status of beef cattle: current practices and future prospects. *Afr. J. Biotechnol.* 6(24): 2727-2734.
  10. **Feldman, B.F.; Zinkl, J.G. and Jain, N.C., 2000.** *Schalm's veterinary hematology (5th Edition).* Philadelphia: Lippincott & Williams. 1075-1084.
  11. **Ganaie, A., Shanker, G., Bumla, N., Ghasura, R., Mir, N., Wani, S. and Dudhatra, G., 2013.** Biochemical and physiological changes during thermal stress in bovines. *J. Vet. Sci. Technol.* 4(1): 1-6.
  12. **Silanikove, N., 2000.** Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest Prod Sci.* 67: 1-18.
  13. **Koubková, M., Knížková, I., Kunc, P., Härtlová, H., Flusser, J. and Dolezal, O., 2002.** Influence of high environmental temperatures and evaporative cooling on some physiological, hematological and biochemical parameters in high-yielding dairy cows. *Czech J. Anim. Sci.* 47(8): 309-318.
  14. **Berian, S., Gupta, S.K., Sharma S., Ganai I., Dua, S. and Sharma, N., 2019.** Effect of Heat Stress on Physiological and Hemato-biochemical Profile of Cross Bred Dairy Cattle. *J. Appl. Anim. Res.* 9(1): 95-101.
  15. **Rana, M.S., Hashem, M.A. Sakib, M.N. and Kumar, A., 2014.** Effect of heat stress on blood parameters in indigenous sheep. *J Bangladesh Agril Univ.* 12(1): 91-94.
  16. **Mazzullo, G., Rifici, C., Cammarata, F., Caccamo, G., Rizzo, M. and Piccione, G., 2014.** Effect of different environmental conditions on some haematological parameters in cow. *Ann. Anim. Sci.* 14(4): 947-954.
  17. **Morar, D., Ciulan, V., Simiz, F., Moț, T., Huțu, I. and Văduva, C., 2018.** Effect of heat stress on haematological



- summer in cattle. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*. 7(26): 1890-1896. (In Persian)
30. **Wojtas, K., Cwynar, P. and Kolacz, R., 2014.** Effect of thermal stress on physiological and blood parameters in merino sheep, *Bull Vet Inst Pulawy*. 58: 283-288.
  31. **Al-Haidary, A., 2004.** Physiological responses of naimey sheep to heat stress challenge under semi-arid environments. *Int J Agric Biol*. 6(2): 307-309.
  32. **Casella, S., Scianò, S., Zumbo, A., Monteverde, V., Fazio, F. and Piccione, G., 2013.** Effect of seasonal variations in Mediterranean area on haematological profile in dairy cow. *Comp Clin Path*. 220: 691-695.
  33. **Chen, C.M., Hou, C.C., Cheng, K.C., Tian, R.L., Ching, C.P. and Lin, M.T., 2006.** Activated protein C therapy in arat heat stroke model. *Medicine Center Research Laboratory*. 34(7): 1960-1966.
  34. **Bruchim, Y., Klement, E., Saragustry, J., Finkeilstein, E., Kass, P. and Arch, I., 2006.** Heatstroke in dogs: a retrospective study of 54 cases (1999-2004) and analysis of risk factor for death. *J. Vet. Med*. 20: 38-46.
  35. **Hsu, S.F., Niu, K.C., Lin, C.L. and Lin, M.T., 2006.** Brain cooling causes attenuation of cerebral oxidative stress, systemic inflammation, activated coagulation and tissue ischemia/injury during Heathstroke. *Sock*. 26(2): 210-220.
  36. **Bouchama, A., Roberts, G., Almohanna, F., El-sayed, R., Lach, B., Chollet- Martin, S., Ollivier, V., Albaradei, R., Loualich, A., Nakeeb, S., Eldali, A. and Deports, D., 2005.** Inflammatory, hemostatic, and clinical changes in baboon experimental model for heat stroke. *J. Appl. Physiol*. 98: 697-705.
  37. **Al-Mashhadani, S.A., Gader, A.G., Harthi, S.S, Kangav, D., Shaheen, F.A. and Bogus, F., 1994.** The coagulopathy of that storke: alternations in coagulation and fibrinolysis in heat stroke patients during the pilgrimage (haj) to Makkah. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 5(5): 731-736.
  38. **Kim, W.S., Lee, J., Jeon, S.W., Peng, D.Q., Kim, Y. S., Bae, M.H., Jo, Y.H. and Lee, H.G., 2018.** Correlation between blood, physiological and behavioral parameters in beef calves under heat stress. *Asian Australas J Anim Sci*. 31: 919-925.
  39. **Collier, R.J., Beede, D.K., Thatcher, W.W., Israel, L.A. and Wilcox, C.J., 1982.** Influences of environment and its modification on dairy animal health and production. *J. Dairy Sci*. 65(11): 2213-2227.