

مقاله پژوهشی:

اثر منابع مختلف منیزیم در جیره‌های پیش از زایش بر متابولیسم انرژی، عملکرد و سلامت گاوهای هلستاین

فرود احسان‌بخش^۱، حمید امانلو^{۲*} و محمد حسین شهیر^۳

۱، ۲ و ۳. دانشجوی دکتری تغذیه دام، استاد و دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۲ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۲۸)

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر منابع مختلف منیزیم در جیره‌های پیش از زایش بر عملکرد تولیدی، متابولیت‌های خون، مقاومت به انسولین و ناهنجاری‌های سلامتی در گاوهای دوره انتقال بود. تعداد ۶۰ راس گاو از ۲۱ روز مانده به زایش به طور تصادفی به چهار تیمار آزمایشی اختصاص یافتند. تیمارها شامل تیمار شاهد (منیزیم در سطح توصیه‌های NRC)، تیمار سولفات منیزیم، تیمار کربنات منیزیم و تیمار اکسید منیزیم (منیزیم جیره ۰/۶ درصد ماده خشک) بود. جیره‌های آزمایشی قابلیت هضم ماده خشک و NDF را افزایش دادند ($P < 0/05$). وزن گوساله، وزن جفت، تغییرات وزن و امتیاز بدنی دام‌ها تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. وقوع جفت ماندگی و هیپومنیزیومی در تیمارهای آزمایشی کاهش یافت ($P < 0/05$). تیمارهای اکسید و کربنات منیزیم تمایل به تولید شیر بالاتر داشتند ($P = 0/08$). چربی شیر در جیره شاهد افزایش یافت ($P < 0/05$). جیره‌های آزمایشی NEFA و کلسترول پلاسما را کاهش دادند و منیزیم و کلسمین پلاسما را افزایش دادند ($P < 0/05$). تیمار شاهد پایین‌ترین نرخ زدودگی گلوکز و RQUICKI را داشت ($P < 0/05$).

واژه‌های کلیدی: اسید چرب غیراستریفه، پیش از زایش، جفت ماندگی، مقاومت به انسولین، منیزیم.

Effect of different sources of magnesium in prepartum diets on energy metabolism, performance and health of Holstein cows

Forood Ehsanbakhsh¹, Hamid Amanlou^{2*} and Mohammad Hossein Shahir³

1, 2, 3. Ph.D. Candidate, Professor and Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
(Received: Aug. 24, 2021- Accepted: Oct. 20, 2021)

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of different source of magnesium in prepartum diets on productive performance, blood metabolites, insulin resistance and health disorders in transition cows. Sixty cows from 21 days prepartum were randomly assigned to 4 experimental treatments. Treatments were control treatment (Mg at NRC recommendation), magnesium sulfate treatment, magnesium carbonate treatment and magnesium oxide treatment (Mg was 0.60% of ration DM). Experimental diets increased DM and NDF digestibility ($P < 0.05$). However, Calf and placenta weight, body weight changes and BCS were not affected by treatments. The incidence of retained placenta and hypomagnesemia decreased in experimental treatments ($P < 0.05$). Magnesium oxide and carbonate treatments tended to increase milk yield ($P = 0.08$). Milk fat increased in the control diet ($P < 0.05$). Experimental diets decreased plasma NEFA and cholesterol and improved plasma Mg and Ca ($P < 0.05$). Control treatment had the lowest rate of glucose CR (%) and RQUICKI ($P < 0.05$).

Keywords: Insulin resistance, Magnesium, NEFA, Prepartum, Retained Placenta.

* Corresponding author E-mail: fehsanbakhsh@znu.ac.ir

مقدمه

دوره انتقال حساس‌ترین مرحله از چرخه زندگی گاو شیری می‌باشد. حفظ سلامت و تولید در این دوره چالش مهمی است که گله‌های گاو شیری با آن مواجه هستند (Chapinal *et al.*, 2012). در این دوره کاهش ماده خشک مصرفی به همراه افزایش نیاز به مواد مغذی برای تولید آغوز یا شیر در انتهای آبستنی، باعث می‌شود گاوها در اوایل شیردهی در توازن منفی مواد مغذی قرار گیرند. این توازن منفی منجر به تحریک بسیج ذخایر بدنی و افزایش غلظت اسیدهای چرب غیراستریفه (NEFA) و بتا‌هیدروکسی بوتیریک اسید (BHBA) پلاسما شده که خطر ناهنجاری‌های متابولیسی را افزایش داده و بازدهی تولید مثل را کاهش می‌دهد (Ospina *et al.*, 2010; Chapinal *et al.*, 2012). منیزیم به عنوان عامل کمکی بیش از ۳۰۰ آنزیم درگیر در متابولیسم انرژی و انسولین، ساخت پروتئین، انقباض عضلات، تولید مثل و هدایت پیام‌های عصبی ایفای نقش می‌کند (NRC, 2001). میزان منیزیم در جیره‌های دارای نمک‌های آنیونیک ۰/۴ درصد ماده خشک توصیه شده است (NRC, 2001). تامین مقدار کافی منیزیم در جیره برای سلامت دام مهم است. در نشخوارکنندگان مقدار منیزیم در دسترس برای متابولیسم و فعالیت‌های سلولی به درصد منیزیم جیره و میزان جذب آن از دستگاه گوارش بستگی دارد (NRC, 2001). هیپومنیزیمی باعث کاهش مصرف ماده خشک، اختلالات عصبی و ایجاد نشانه‌های کلینیکی می‌شود (Martin-Tereso *et al.*, 2014).

امروزه پذیرفته شده است که گاوهای شیرده در اواخر آبستنی و اوایل دوره شیردهی مقاومت بالاتری به انسولین دارند (De Koster & Opsomer, 2013). منیزیم با تاثیر بر آنزیم تیروزین‌کیناز و فسفریله کردن گیرنده‌های انسولین در کاهش مقاومت به انسولین در بافت‌ها تاثیر دارد. همچنین تغذیه سطوح بالاتر منیزیم در جیره‌های پیش از زایش راهکاری عملی برای جلوگیری از هیپوکلسیمی می‌باشد (Leno *et al.*, 2017a). افزون بر نقش منیزیم در متابولیسم سلولی و تاثیر آن در متابولیسم چربی، گلوکز و کلسیم و

ضرورت استفاده از آن در جیره‌های دوره انتقال، به نظر می‌رسد موقعیت متابولیسی ویژه گاوهای شیرده در زمان زایش، هموستاز منیزیم را تخریب کرده و افزودن مکمل‌های منیزیم با قابلیت جذب مناسب را ضروری می‌سازد. اکسید، کربنات و سولفات منیزیم از مکمل‌های رایج منیزیم در جیره گاوهای شیرده هستند. منیزیم این منابع به ترتیب ۵۶/۲، ۳۰/۸۱ و ۹/۸ درصد و قابلیت هضم منیزیم در این منابع ۷۰، ۳۵ و ۹۰ درصد برآورد شده است (NRC, 2001).

افزایش منیزیم از ۳/۸ به ۱۷/۳ گرم در کیلوگرم جیره با استفاده از اکسید منیزیم توانست میزان جذب منیزیم و منیزیم پلاسمای گاوهای خشک را افزایش دهد (Jittakhot *et al.*, 2004). افزایش منیزیم جیره با استفاده از اکسید منیزیم باعث بهبود ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم فیبر شد (Erdman *et al.*, 1982). بررسی عملکرد گاوها با تغذیه مکمل‌های معدنی متفاوت می‌تواند شواهدی جهت استفاده راهبردی از منابع معدنی جهت استفاده از یک جیره انتقال موفق و وضعیت مطلوب مواد معدنی را مهیا کند (Leno *et al.*, 2017a). هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر افزایش میزان منیزیم و استفاده از منابع مختلف منیزیم همچون سولفات، کربنات و اکسید منیزیم در جیره‌های پیش از زایش بر روی عملکرد تولیدی، فراسنجه‌های پلاسما، مقاومت به انسولین و ناهنجاری‌های سلامتی گاوهای هلشتاین در دوره انتقال بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در گاو‌داری کوهسار استان اصفهان انجام شد. تعداد ۶۰ راس گاو هلشتاین ۲ بار زایش و بالاتر با میانگین وزن $726 \pm 31/2$ کیلوگرم، امتیاز شرایط بدنی $3/32 \pm 0/32$ و در ۲۱ روز مانده به زایش مورد انتظار، در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت گروهی به جیره‌های آزمایشی اختصاص یافتند. جیره‌ها شامل ۱- جیره شاهد: CO (مقدار منیزیم در سطح توصیه‌های NRC)، ۲- جیره سولفات منیزیم: MgS (منیزیم = ۰/۶ درصد ماده خشک جیره)، ۳- جیره کربنات منیزیم MgC (منیزیم = ۰/۶ درصد ماده خشک جیره) و ۴- جیره اکسید منیزیم MgO (منیزیم = ۰/۶ درصد ماده خشک

جیره) بود. منیزیم جیره شاهد ۰/۳۹ درصد ماده خشک بود که ۰/۲۴ درصد آن از مواد خوراکی جیره و ۰/۱۵ درصد آن از اکسید و سولفات منیزیم تامین شد. برای بررسی ناهنجاری‌های سلامتی در هر جیره آزمایشی ۵۰ راس دام مورد بررسی قرار گرفت. جیره‌ها بر اساس نرم‌افزار NRC (۲۰۰۱) تنظیم شد (جدول ۱).

خوراک مصرفی به صورت گروهی به شکل کاملاً مخلوط (TMR) و در ساعت ۹/۰۰ صبح در حد اشتها در اختیار دام‌ها قرار گرفت. ماده خشک مصرفی به طور روزانه ثبت شد. نمونه‌برداری از خوراک به صورت هفتگی انجام شد. پس از زایش دام‌ها با جیره یکسان تغذیه شدند. وزن‌کشی گاوها در روزهای ۳ و ۲۱ پیش از زایش، روز زایش و ۲۱ روز پس از زایش انجام شد. امتیاز وضعیت بدنی گاوها در شروع آزمایش، روز زایش و روز ۲۱ شیردهی ثبت گردید. نمونه‌گیری از خون در روزهای ۲۱، ۱۴، ۷، ۳، ۱، ۳، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۱+ و ۲۱+ نسبت به زمان زایش، سه ساعت پس از خوراک‌دهی به وسیله لوله‌های هپارین‌دار تحت خلأ از سیاهرگ دمی انجام گرفت. پلاسمای استخراج شده از سانتریفیوژ ۱۵ دقیقه‌ای نمونه‌ها در ۲۵۰۰ دور در دقیقه، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از یخ‌گشایی نمونه‌ها غلظت گلوکز، منیزیم، کلسیم، کلسترول و تری‌گلیسرید با استفاده از کیت پارس آزمون، NEFA و BHBA توسط کیت Randox و انسولین توسط کیت Monobind اندازه‌گیری شد.

نمونه‌برداری رکتومی مدفوع در دو مرحله و هر مرحله ۳ روز که شروع مرحله اول از روز هفتم پیش از زایش و شروع مرحله دوم از روز دهم پس از زایش بوده است. نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه نگهداری شده و پس از یخ‌گشایی نمونه‌های هر گاو با هم مخلوط شده و یک نمونه که بیانگر کل نمونه‌های مخلوط شده بود به همراه نمونه‌های خوراک برای آنالیز ماده خشک، پروتئین خام، کلسیم، منیزیم، ADF (AOAC, 1990) مورد استفاده قرار گرفت. میزان NDF به وسیله آمیلاز مقاوم به حرارت و سولفیت سدیم تعیین شد (Van Soest et al., 1991). قابلیت هضم مواد مغذی با استفاده از خاکستر نامحلول در اسید به‌عنوان نشانگر طبیعی محاسبه شد (Van Keulen &

Young, 1977). همزمان با نمونه‌برداری از مدفوع، pH ارادار نیز اندازه‌گیری شد. تست تحمل گلوکز در ۷ روز پیش از زایش و ۱۰ روز پس از زایش، با تزریق ۰/۳ گرم گلوکز به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن از طریق رگ شیری پستانی انجام شد.

نمونه‌برداری از خون در زمانهای ۱۵-، ۵-، ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۹۰ دقیقه نسبت به تزریق گلوکز از سیاهرگ دمی انجام شد. پلاسمای استخراج شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و برای اندازه‌گیری گلوکز، انسولین و NEFA استفاده گردید. میانگین غلظت فراسنج‌های پلازما در ۵ و ۱۵ دقیقه پیش از تزریق به عنوان مقادیر پایه استفاده شد. مساحت زیر منحنی (AUC)^۱ به روش مساحت دوزنقه بدست آمد. نرخ زدودگی (CR)^۲، نیمه عمر (T_{1/2})، زمان رسیدن به غلظت پایه (T_{basal}) و شاخص حساسیت به انسولین (RQUICKI)^۳ به صورت زیر محاسبه شد (Kerestes et al., 2009).

که در این فرمول‌ها [t_a] و [t_b] غلظت گلوکز در زمان‌های t_a و t_b می باشد.

ناهنجاری‌های سلامتی در دوره پس از زایش برای همه دام‌ها ثبت شد. سخت‌زائی بر اساس سیستم ۱ تا ۵ (۱= بدون مشکل زایمان و ۵= سزارین) نمره‌دهی شد. گاوهایی که طی ۲۴ ساعت پس از زایمان جفت خود را دفع نکرده بودند، به عنوان جفت‌ماندگی ثبت شدند. ترشحات آبکی و قهوه‌ای رنگ رحم با یا بدون علائم سیستمیک در ۲۰ روز اول پس از زایمان به عنوان متریت در گاو شناخته شد. طی ۳۰ روز پس از زایمان، گاوهایی با ترشحات مخاطی چرکی به عنوان اندومتريت ثبت شدند. کتوز با علائمی چون بی‌اشتهایی، افسردگی و بوی استون در تنفس و تب

1. Area under curve

2. Clearance rate

3. Revised quantitative insulin sensitivity index

عنوان معنی‌داری و $P > 0.05$ تمایل به معنی‌داری در نظر گرفته شد و برای داده‌های تکرار شده اثر زمان و اثر تیمار در مدل آماری لحاظ گردید. وزن، BCS و فراسنجه‌های پلازما در شروع آزمایش و شیردهی دوره قبل به عنوان کوواریت در مدل استفاده شد و کوواریت‌های غیر معنی‌دار از مدل خارج شد. وقوع ناهنجاری‌های متابولیکی با رگرسیون لجستیک و رویه GENMOD تجزیه آماری شد. مدل آماری داده‌های تکرار شونده به صورت ذیل بود:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + \text{Time}_k + C_{(i)l} + (T_i \times \text{Time}_k) + \beta(x_{ij} - x_{..}) + e_{ijkl}$$

که در آن Y_{ijk} ، متغیر وابسته؛ μ ، میانگین جامعه؛ T_i ، اثر تیمار؛ Time_k ، اثر زمان نمونه‌گیری؛ $C_{(i)l}$ ، اثر تصادفی حیوان در داخل تیمار؛ $(T \times \text{Time})_{ik}$ ، اثر متقابل تیمار و زمان نمونه‌گیری؛ β ، اثر کوواریت؛ e_{ijkl} ، اثر باقیمانده بودند.

شیر با وجود ضعف، دراز کشیدن و پاسخ مطلوب به درمان با کلسیم پس از زایمان تعیین شد. هیپوکلسیمی (کلسیم پلازما کمتر از ۸/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر)، هایپرکتونمی (BHBA پلازما بیشتر از ۱/۲ میلی‌مول بر لیتر) و هیپومنیزیمی (منیزیم پلازما کمتر از ۱/۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) نیز ثبت گردید (Amirabadi, Farahani et al., 2017; Jeong et al., 2018).

در ۲۱ روز نخست پس از زایش گاوها سه بار در روز دوشیده شده و تولید روزانه اندازه‌گیری شد. چربی، پروتئین و لاکتوز به صورت هفتگی با استفاده از دستگاه تجزیه شیر (CombiFoss78110, Denmark) اندازه‌گیری شد.

تجزیه آماری

داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS (۹,۴) و با رویه MIXED تجزیه آماری شدند. در این آزمایش، $P < 0.05$

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های پیش و پس از زایش

Table 1. Ingredients and chemical composition of pre and postpartum diets

Ingredients	Prepartum				Postpartum
	CO	MgS	MgC	MgO	
Legume forage hay	20.59	20.59	20.59	20.59	20.47
Corn silage	45.64	45.64	45.64	45.64	33.35
Wheat straw	7.52	7.52	7.52	7.52	2.61
Barley grain	2.24	2.24	2.24	2.24	5.64
Corn grain, ground	8.59	8.59	8.59	8.59	17.69
Wheat bran	1.90	0.40	1.16	1.70	-
Cottonseed, whole	0.88	0.88	0.88	0.88	4.39
Soybean meal	5.50	5.50	5.50	5.50	6.13
Canola meal	1.17	1.17	1.17	1.17	1.74
Extruded full-fat soybean	2.37	2.37	2.37	2.37	5.36
Calcium carbonate	0.69	0.69	0.69	0.69	0.33
Dicalcium phosphate	0.45	0.45	0.45	0.45	0.20
Calcium chloride	0.45	-	0.65	0.65	-
Magnesium sulfate	0.42	2.37	-	-	-
Magnesium oxide	0.28	0.28	-	0.70	0.28
Magnesium carbonate	-	-	1.24	-	-
Salt	-	-	-	-	0.14
Sodium bicarbonate	-	-	-	-	0.97
Mineral and Vitamin premix ¹	1.31	1.31	1.31	1.31	0.70
Chemical composition					
NE _L (Mcal/kg of DM)	1.56	1.54	1.55	1.55	1.72
CP (% of DM)	14	13.9	13.9	14	16.4
NDF (% of DM)	38.8	38.2	38.5	38.8	33.1
ADF (% of DM)	25.6	25.3	25.5	25.5	21.9
NFC (% of DM)	37.7	37.0	37.4	37.6	41.7
Mg (% of DM)	0.39	0.60	0.60	0.60	0.37
Ca (% of DM)	1.03	1.03	1.03	1.12	0.67
P (% of DM)	0.41	0.40	0.40	0.41	0.35
DCAD (mEq/kg of DM)	74	-21	85	86	276

۱. شامل (به ازای هر کیلوگرم): مخلوط پیش از زایش ۲۲۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۸۰۰ میلی‌گرم مس، ۴۵ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۴۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۶۰ میلی‌گرم ید، ۲۰ میلی‌گرم کبالت، ۸۱۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین A، ۲۲۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین D3 و ۱۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین E؛ مخلوط پس از زایش ۱۹۸۰۰ میلی‌گرم روی، ۵۴۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۹۸۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۲۲۰ میلی‌گرم ید، ۱۲۰ میلی‌گرم کبالت، ۲۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۳۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین E و ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین بیوتین.

1. Contained (per kg): prepartum mix 3200 mg of Zn, 1800 mg of Cu, 45 mg of Se, 2400 mg of Mn, 60 mg of I, 20 mg of Co, 810000 mg of vitamin A, 220,000 mg of vitamin D3 and 12,000 mg of vitamin E; postpartum mix 19,800 mg of Zn, 5,400 mg of Cu, 100 mg of Se, 19,800 mg of Mn, 220 mg of I, 120 mg of Co, 2,000,000 IU of vitamin A, 300,000 IU of vitamin D3, 10,000 IU of vitamin E and 100 mg of vitamin biotin.

نتایج و بحث

ماده خشک مصرفی در تیمار شاهد، سولفات منیزیم، کربنات منیزیم و اکسید منیزیم به ترتیب ۱۱/۷۶، ۱۱/۴۵، ۱۱/۹۰ و ۱۲/۱۷ کیلوگرم در روز بود. به دلیل اندازه‌گیری گروهی ماده خشک مصرفی، امکان آنالیز آماری وجود نداشته و این داده‌ها باید با احتیاط مورد استفاده قرار گیرند. نتایج مربوط به pH ادرار و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در جدول ۲ ارائه شده‌است. قابلیت هضم پروتئین و منیزیم پیش و پس از زایش در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). قابلیت هضم ماده خشک و NDF پیش از زایش و قابلیت هضم NDF پس از زایش در جیره‌های حاوی منیزیم افزایش یافت ($P<0/05$). جیره حاوی سولفات منیزیم در پیش از زایش pH ادرار را کاهش داد ($P<0/05$).

با استفاده از دولومیت و اکسید منیزیم در پیش از زایش و سطوح ۰/۳ و ۰/۴۵ درصد منیزیم در پس از زایش نیز ماده خشک مصرفی تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت (Leno *et al.*, 2017a). در برخی پژوهش‌ها ماده خشک مصرفی و هضم سلولز با کاهش منیزیم جیره به طور معنی‌دار کاهش یافت (Martin *et al.*, 1964; Ammerman *et al.*, 1971). پیشنهاد شده‌است، منیزیم بر روی باکتری‌های هضم کننده سلولز اثر مثبت دارد (Morales *et al.*, 2014) و افزایش منیزیم جیره در گاوهای شیرده قابلیت هضم NDF را در کل دستگاه گوارش بهبود می‌دهد (Erdman *et al.*, 1982). کاهش DCAD جیره پیش از زایش باعث کاهش pH ادرار و بهبود وضعیت کلسیم گاوها می‌شود (Leno *et al.*, 2017b; Santos *et al.*, 2019).

نتایج مربوط به پارامترهای زمان زایش و تغییرات وزن و BCS در جدول ۳ آمده است. وزن گوساله‌ها، وزن جفت و وزن آغوز در اولین دوشش در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت ($P>0/05$), اما ساعت افتادن جفت در تیمار اکسید منیزیم تمایل به کاهش داشت ($P=0/07$). در مطالعه دیگری که سطح ۰/۳ و ۰/۶ درصد منیزیم با مکمل اکسید منیزیم در پیش از زایش استفاده شد، وزن گوساله‌ها افزایش و وزن جفت با افزایش منیزیم جیره کاهش یافت، ولی ساعت افتادن جفت تفاوتی نداشت (Amanlou *et al.*, 2018). جیره‌های حاوی منیزیم تاثیری بر تغییرات وزن و BCS از شروع تا زایش و پس از آن نداشتند. که این نتایج همسو با نتایج سایر مطالعات بود (Leno *et al.*, 2017a; Amanlou *et al.*, 2018).

نتایج اثر جیره‌های آزمایشی بر روی فراسنجه‌های پلاسما در جدول ۴ ارائه شده است. گلوکز و تری گلیسرید پلاسما در پیش و پس از زایش، انسولین پیش از زایش و BHBA پس از زایش تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت ($P>0/05$). تیمار اکسید منیزیم NEFA پیش و پس از زایش را کاهش داد. کلسترول پیش از زایش در تیمارهای اکسید و کربنات منیزیم کاهش معنی‌دار داشت ($P<0/05$). تیمارهای آزمایشی منیزیم پلاسما پیش و پس از زایش را به صورت معنی‌دار افزایش دادند و کلسیم پلاسما پیش از زایش در تیمار سولفات منیزیم افزایش معنی‌دار داشت ($P<0/05$). تیمارهای منیزیم تمایل به کاهش BHBA پیش از زایش ($P=0/07$) و تمایل به افزایش کلسیم پس از زایش ($P=0/08$) داشتند.

جدول ۲. اثر جیره‌های آزمایشی بر pH ادرار و قابلیت هضم مواد مغذی

Table 2. The effects of experimental diets on urine pH and apparent digestibility of nutrients

Item	Diet				SEM	P-value
	CO	MgS	MgC	MgO		
Prepartum						
Urine pH	7.64 ^a	6.30 ^b	7.62 ^a	7.71 ^a	0.09	<0.01
Apparent digestibility (%)						
DM	64.36 ^b	65.14 ^{ab}	63.95 ^b	68.52 ^a	1.23	0.04
CP	69.51	70.41	69.37	70.64	0.82	0.66
NDF	49.48 ^c	54.16 ^a	52.12 ^b	54.30 ^a	0.63	<0.01
Mg	19.52	20.22	19.74	19.95	0.31	0.42
Postpartum						
Urine pH	8.14	7.95	8.05	8.09	0.05	0.12
Apparent digestibility (%)						
DM	65.20	66.80	64.26	68.52	1.22	0.12
CP	70.44	70.88	70.05	71.09	0.78	0.79
NDF	50.41 ^c	54.24 ^b	53.40 ^b	56.08 ^a	0.58	<0.01
Mg	18.96	19.05	19.00	19.31	0.32	0.87

جدول ۳. اثر جیره‌های پیش از زایش بر پارامترهای زمان زایش و تغییرات وزن و امتیاز بدنی

Table 3. The effects of prepartum diets on calving measurements and BW and BCS changes

Item	Diet				SEM	P-value
	CO	MgS	MgC	MgO		
Calf weight (kg)	42.9	43.91	44.04	45.2	0.81	0.27
Time for placenta expulsion (h)	8.73	7.60	8.26	6.26	0.38	0.08
Placenta weight (kg)	6.94	7.03	6.91	7.13	0.13	0.65
BW gain before calving (kg)	14.93	14.53	15.53	16.80	1.03	0.44
BW loss at calving (kg)	-60.40	-62.13	-61.86	-61.80	1.30	0.78
BW loss 21 days after calving	-38.86	-35.20	-34.66	-33.93	1.65	0.16
BCS gain prepartum	0.16	0.13	0.20	0.25	0.05	0.55
BCS loss postpartum	-0.45	-0.43	-0.40	-0.36	0.04	0.49

جدول ۴. اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های پلاسما

Table 4. The effects of experimental diets on plasma metabolites

Item	Diet				SEM	P-value		
	CO	MgS	MgC	MgO		Diet	Time	Diet × Time
Prepartum								
Glucose (mg/dL)	58.65	55.71	58.44	57.76	1.99	0.71	0.07	0.02
Insulin (μ U/mL)	11.75	12.29	12.69	12.89	0.33	0.11	<0.01	0.14
NEFA (mmol/L)	0.45 ^a	0.43 ^{ab}	0.40 ^{ab}	0.33 ^b	0.02	0.03	<0.01	0.26
BHBA (mmol/L)	0.61	0.60	0.53	0.54	0.02	0.07	<0.01	0.47
Cholesterol (mg/dL)	122.3 ^a	121.8 ^a	115.5 ^b	114.8 ^b	0.73	<0.01	<0.01	0.49
Triglyceride (mg/dL)	36.25	36.75	35.48	35.31	0.58	0.28	<0.01	0.82
Mg (mg/dL)	1.92 ^b	2.24 ^a	2.19 ^a	2.24 ^a	0.04	<0.01	<0.01	0.39
Ca (mg/dL)	9.79 ^b	10.23 ^a	9.78 ^b	10.04 ^{ab}	0.11	<0.01	<0.01	0.54
postpartum								
Glucose (mg/dL)	52.82	56.07	54.57	54.14	1.51	0.50	<0.01	0.59
Insulin (μ U/mL)	11.29 ^b	12.09 ^{ab}	12.41 ^a	12.69 ^a	0.27	<0.01	<0.01	0.28
NEFA (mmol/L)	0.80 ^a	0.77 ^a	0.74 ^{ab}	0.66 ^b	0.02	<0.01	<0.01	0.25
BHBA (mmol/L)	0.93	0.88	0.90	0.85	0.04	0.26	<0.01	0.17
Cholesterol (mg/dL)	131.2	130.6	124.7	125.5	2.1	0.10	<0.01	0.97
Triglyceride (mg/dL)	30.45	30.50	29.74	29.32	0.46	0.25	<0.01	0.46
Mg (mg/dL)	1.81 ^b	1.95 ^a	1.90 ^a	1.96 ^a	0.02	<0.01	<0.01	0.22
Ca (mg/dL)	8.93	9.18	9.09	9.13	0.06	0.08	<0.01	0.03

Xin *et al.*,) معدنی با منیزیم بالاتر افزایش نمی‌یابد (1989)، اما همبستگی بالایی بین جذب منیزیم و غلظت منیزیم پلاسما با میزان منیزیم ادرار گزارش شده است (Chicco *et al.*, 1972). افزایش منیزیم خون با افزایش ترشح هورمون پاراتیروئید و افزایش حساسیت بافت‌ها به این هورمون و بهبود ظرفیت آزادسازی کلسیم از استخوان منجر به افزایش کلسیم خون و کاهش هیپوکلسیمی می‌شود (Goff, 2014). گزارش شده است که منیزیم با وجود افزایش DCAD جیره، تاثیر شگفت‌انگیزی در کاهش تب شیر دارد و غلظت بالای منیزیم در جیره‌های پیش از زایش عامل تعیین کننده‌ای در کاهش وقوع تب شیر است (Lean *et al.*, 2006). این مطالعات با افزایش کلسیم پلاسما در جیره‌های حاوی منیزیم همخوانی دارد. در جیره‌های حاوی منیزیم کاهش NEFA در اثر بهبود وضعیت انسولین و به دنبال آن کاهش لیپولیز و کاهش تولید NEFA می‌باشد (Van

در مطالعه‌ای که از اکسید منیزیم در پیش از زایش استفاده شده بود، کلسیم سرم پیش و پس از زایش تحت تاثیر قرار نگرفت. ولی منیزیم و گلوکز سرم پس از زایش افزایش یافت (Amanlou *et al.*, 2018). در مطالعه دیگری که از دولومیت و اکسید منیزیم در پیش از زایش و سطح ۰/۳۰ و ۰/۴۵ درصد منیزیم در پس از زایش استفاده شد، منبع و سطح منیزیم تاثیری بر کلسیم، منیزیم و BHBA پلاسما نداشت، ولی دولومیت باعث کاهش NEFA پیش و پس از زایش شد (Leno *et al.*, 2017a). در مطالعه‌ای که به منظور بررسی افزایش مصرف منیزیم بر روی جذب آن در گاوهای خشک انجام شد، با افزایش مصرف از ۳/۸ به ۱۷/۳ گرم در کیلوگرم با استفاده از اکسید منیزیم، منیزیم پلاسما افزایش معنی‌داری داشت (Jittakhot *et al.*, 2004). منیزیم پلاسما همیشه در پاسخ به تغذیه منابع

در بدن این گاوها با سرعت بیشتری اتفاق افتاده است. مقاومت به انسولین با نرخ زوددگی پایین تر، سطح زیر منحنی بالاتر، زمان بیشتر برای رسیدن به غلظت پایه و نیمه عمر بالاتر برای گلوکز مشخص می شود. گاوهای با مقاومت بالاتر به انسولین، NEFA بالاتر و نرخ زوددگی گلوکز پایین تری دارند (De Koster & Opsomer, 2013). منیزیم در هموستاز گلوکز و فعالیت انسولین در بافت های محیطی و ترشح انسولین از لوزالمعده با اثر بر فعالیت تیروزین کیناز در گیرنده های انسولین با انتقال فسفات از ATP به پروتئین نقش مهمی ایفا می کند (Barbagallo *et al.*, 2003). کاهش سطح منیزیم باعث کاهش فعالیت تیروزین کیناز در گیرنده های انسولین شده است (Suarez *et al.*, 1995; Grober *et al.*, 2015) و کلسیم درون سلولی افزایش می یابد، که منجر به تخریب سیگنال انسولین می شود. تصور بر این است که منیزیم درون سلولی حساسیت بافت چربی و بافت های اسکلتی به انسولین را حفظ می نماید. افزون بر این، منیزیم درون سلولی ترشح انسولین القاء شده توسط گلوکز را افزایش می دهد (Barbagallo *et al.*, 2003).

(Saun, 2014). افزون بر این افزایش NEFA باعث القاء فسفریلاسیون گیرنده های انسولین در باقیمانده سرین شده که این امر منجر به کاهش فسفریلاسیون تیروزین در گیرنده ها و مانع از فعالیت طبیعی انسولین می شود (LeMarchand-Brustel *et al.*, 2003). همچنین گزارش شده است که کاهش کلسیم خون باعث تجزیه بیشتر چربی بدن و افزایش NEFA در خون می شود (Goff, 2014). مجموعه این شواهد می تواند دلیل کاهش NEFA پلاسما در جیره های حاوی منیزیم باشد. اثر جیره های آزمایشی بر پارامترهای تست تحمل گلوکز در جدول ۵ گزارش شده است. گاوهای دریافت کننده جیره اکسید منیزیم در دوره پیش و پس از زایش NEFA پایه، نیمه عمر گلوکز و انسولین، زمان رسیدن به مقادیر پایه برای گلوکز و انسولین و سطح زیر منحنی گلوکز و انسولین پایین تری داشتند ($P < 0.05$). نرخ زوددگی گلوکز و انسولین و RQUICKI در تیمار اکسید منیزیم بالاتر بود ($P < 0.05$). همه موارد فوق بیانگر این است که گاوهای تغذیه شده با تیمارهای منیزیم به ویژه تیمار اکسید منیزیم، حساسیت بالاتری به انسولین داشته و برداشت گلوکز

جدول ۵. اثر جیره های آزمایشی بر پارامترهای تست تحمل گلوکز

Table 5. The effects of experimental diets on GTT measurements

Item ¹	Diet				SEM	P-value
	CO	MgS	MgC	MgO		
Prepartum						
Glucose						
CR (%/min)	1.31 ^b	1.36 ^b	1.43 ^{ab}	1.51 ^a	0.04	0.01
T _{1/2} (min)	42.34 ^a	40.41 ^a	37.83 ^{ab}	35.15 ^b	1.49	0.02
T _{basal} (min)	75.53 ^a	74.18 ^a	70.48 ^{ab}	66.66 ^b	2.15	0.04
AUC (mg/dL × 90min)	10484 ^a	8939 ^{ab}	10253 ^{bc}	9238 ^c	302.2	<0.01
Insulin						
CR (%/min)	1.80 ^b	2.01 ^a	1.95 ^a	2.08 ^a	0.04	<0.01
T _{1/2} (min)	44.75 ^a	40.57 ^b	41.51 ^b	39.62 ^b	0.79	<0.01
T _{basal} (min)	78.92 ^a	72.88 ^b	74.25 ^b	71.21 ^b	1.17	<0.01
AUC (μU/ml × 90min)	6260 ^a	5656 ^b	5117 ^c	5006 ^c	110.5	<0.01
NEFA _{basal} (mmol/L)	0.34 ^a	0.28 ^b	0.29 ^b	0.24 ^c	0.01	<0.01
RQUICKI	0.40 ^c	0.42 ^b	0.43 ^b	0.45 ^a	0.03	<0.01
Postpartum						
Glucose						
CR (%/min)	1.41 ^b	1.45 ^b	1.45 ^b	1.60 ^a	0.04	0.01
T _{1/2} (min)	44.85 ^a	42.62 ^{ab}	43.15 ^{ab}	38.73 ^b	1.26	0.03
T _{basal} (min)	81.94 ^a	78.72 ^{ab}	79.47 ^{ab}	73.11 ^b	1.81	0.02
AUC (mg/dL × 90min)	10216 ^a	8837 ^c	9896 ^{ab}	9167 ^{bc}	284.2	<0.01
Insulin						
CR (%/min)	1.89 ^c	1.98 ^{bc}	2.10 ^{ab}	2.22 ^a	0.05	<0.01
T _{1/2} (min)	42.83 ^a	41.06 ^{ab}	39.00 ^{bc}	37.33 ^c	0.83	<0.01
T _{basal} (min)	77.15 ^a	74.59 ^{ab}	71.62 ^{bc}	69.21 ^c	1.20	<0.01
AUC (μU/ml × 90min)	4605	4750	4514	4388	148.7	0.39
NEFA _{basal} (mmol/L)	0.77 ^a	0.65 ^b	0.64 ^b	0.57 ^c	0.05	<0.01
RQUICKI	0.36 ^c	0.39 ^b	0.39 ^b	0.42 ^a	0.05	<0.01

1- CR (%/min): نرخ زوددگی (درصد در دقیقه)، T_{1/2} (min): زمان لازم برای رسیدن غلظت به نصف (دقیقه)، T_{basal} (min): زمان لازم برای رسیدن به غلظت پایه (دقیقه)، AUC: سطح زیر منحنی در ۹۰ دقیقه و RQUICKI: شاخص بررسی کمی حساسیت به انسولین

1- CR (%/min): clearance rate (%/min), T_{1/2} (min): time to reach half concentration (min), T_{basal} (min): time to reach basal concentration (min) and AUC (90min): area under curve (90min), RQUICKI: the revised quantitative insulin sensitivity check index

بهبود تخمیر شکمبه‌ای می‌باشد. انسولین خون پایین‌تر در تیمار شاهد منجر به افزایش تجزیه چربی و بالاتر رفتن NEFA پلاسما و در نهایت باعث افزایش چربی شیر در این گروه شده‌است (Van Saun, 2014). اثر جیره‌های پیش از زایش بر وقوع ناهنجاری‌های سلامتی در جدول ۷ آمده‌است. درصد سخت زائی، تب شیر، کتوز، متریت و آندومتريت در بین تیمارها تفاوتی نداشتند. در تیمار اکسید منیزیم جفت‌ماندگی کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). مکمل‌های منیزیم هیپومنیزیومی را نسبت به گروه شاهد به صورت معنی‌دار کاهش دادند ($P < 0.05$) و تمایل به کاهش کتوز تحت‌بالینی داشتند ($P = 0.09$). این یافته‌ها همسو با نتایج مطالعه دیگری بود که استفاده از اکسید منیزیم و سطح 0.6% درصد منیزیم در جیره جفت‌ماندگی را کاهش داد (Amanlou *et al.*, 2018). در پژوهشی که عوامل خطر جفت‌ماندگی بررسی شد، گاوهای دارای جفت‌ماندگی NEFA بالاتر و منیزیم خون پایین‌تری را تجربه کردند (Qu *et al.*, 2014).

اثر جیره‌های پیش از زایش بر تولید شیر و ترکیبات آن در جدول ۶ ارائه شده‌است. شیر تصحیح شده بر اساس 4% درصد چربی، مقدار چربی شیر، درصد و مقدار پروتئین و لاکتوز شیر تحت‌تاثیر تیمارها قرار نگرفت ($P > 0.05$). تولید شیر در تیمارهای منیزیم تمایل به افزایش داشت ($P = 0.08$). ولی درصد چربی شیر در تیمار شاهد بالاتر بود ($P = 0.04$).

افزایش سطح منیزیم جیره به 0.6% درصد با استفاده از اکسید منیزیم تفاوتی در تولید شیر و پروتئین و درصد چربی ایجاد نکرد، ولی شیر تصحیح شده بر اساس 4% درصد چربی و مقدار چربی شیر تمایل به افزایش داشت (Amanlou *et al.*, 2018). استفاده از دولومیت و اکسید منیزیم به عنوان منابع منیزیم در پیش و پس از زایش و دو سطح 0.35% و 0.4% درصد منیزیم در پس از زایش تولید شیر و ترکیبات آن را تحت‌تاثیر قرار نداد (Leno *et al.*, 2017a). دلیل تمایل تیمارهای منیزیم به افزایش تولید شیر افزایش قابلیت هضم ماده خشک و NDF در این تیمارها و

جدول ۶. اثر جیره‌های آزمایشی بر تولید شیر و ترکیبات آن

Table 6. The effects of experimental diets on milk yield and composition

Item	Diet					P-value		
	CO	MgS	MgC	MgO	SEM	Diet	Time	Diet × Time
Milk yield (kg/d)								
Actual	38.08	38.42	39.63	39.63	0.87	0.08	<0.01	0.75
4% FCM*	37.53	37.09	37.02	37.46	0.83	0.95	<0.01	0.97
Milk fat								
%	3.95 ^a	3.78 ^{ab}	3.56 ^b	3.55 ^b	0.13	0.04	<0.01	0.96
kg/d	1.48	1.45	1.41	1.41	0.05	0.68	<0.01	0.98
Milk protein								
%	3.12	3.20	3.17	3.17	0.04	0.29	<0.01	0.25
kg/d	1.19	1.21	1.22	1.26	0.03	0.20	<0.01	0.41
Lactose								
%	4.76	4.75	4.76	4.80	0.04	0.95	<0.01	0.56
Kg/d	1.84	1.80	1.85	1.90	0.03	0.19	<0.01	0.59

*4% FCM = [0.4 × milk (kg)] + [15 × milk fat (kg)].

جدول ۷. اثر جیره‌های آزمایشی بر وقوع ناهنجاری‌های سلامتی

Table 7. The effects of experimental diets on incidences of health disorders

Disorders	Incidences of Disorders % (no/ no.)				P Value
	CO	MgS	MgC	MgO	
Retained placenta	20 (10/50)	6 (3/50)	6 (3/50)	4 (2/50)	0.03
Dystocia	6 (3/50)	2 (1/50)	4 (2/50)	2 (1/50)	0.66
Milk fever	4 (2/50)	0 (0/50)	2 (1/50)	0 (0/50)	0.2
Hypocalcemia	36 (18/50)	20 (10/50)	26 (13/50)	24 (12/50)	0.32
Hypomagnesemia	30 (15/50)	12 (6/50)	14 (7/50)	10 (5/50)	0.04
Subclinical ketosis	28 (7/25)	24 (6/25)	16 (4/25)	16 (4/25)	0.09
Clinical ketosis	4 (2/50)	2 (1/50)	2 (1/50)	0 (0/50)	0.42
Metritis	12 (6/50)	4 (2/50)	4 (2/50)	2 (1/50)	0.16
Endometritis	6 (3/50)	4 (2/50)	4 (2/50)	4 (2/50)	0.95

و کلسیم بالاتر پلاسما در این تیمارها همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش استفاده از مقدار ۰/۶ درصد منیزیم از منابع مختلف، به ویژه اکسید منیزیم باعث کاهش جفت‌ماندگی و هیپومنیزیمی شده و NEFA خون را کاهش داد. اکسید منیزیم باعث بهبود قابلیت هضم NDF و ماده خشک نیز شد، تیمارهای منیزیم تمایل به افزایش تولید شیر داشتند و منجر به کاهش چربی شیر شدند. تیمارهای سولفات منیزیم به همراه اکسید منیزیم توانستند وضعیت کلسیم پلاسما را بهبود دهند. استفاده از سطح ۰/۶ درصد منیزیم به‌وسیله مکمل‌هایی مثل اکسید و سولفات منیزیم باعث بهبود متابولیسم انرژی، بهبود وضعیت کلسیم و منیزیم پلاسما، کاهش مقاومت به انسولین و بهبود وضعیت ناهنجاری‌های سلامتی شده و می‌تواند به عنوان یک راهکار تغذیه‌ای برای گذراندن دوره انتقال مطلوب در گاوهای شیرده مورد استفاده قرار گیرد.

حد طبیعی منیزیم خون ۲/۱۹-۲/۹۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد. بررسی رابطه منیزیم سرم با ناهنجاری‌های پس از زایش نشان داد که جفت‌ماندگی در گاوهای که منیزیم خون پایین‌تر (۱/۴۵-۲/۶۵) در مقابل ۲/۷-۵/۴ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) داشتند به طور معنی‌دار بالاتر بود (Jeong *et al.*, 2018; Tsiamadis *et al.*, 2016).

کمبود منیزیم با کاهش پتانسیل استراحت غشا منجر به تحریک بیشتر عضلات می‌شود و منیزیم پایین خون به این دلیل منجر به افزایش جفت‌ماندگی می‌گردد (Jeong *et al.*, 2018). افزون بر این کاهش منیزیم سرم، منجر به کاهش ترشح هورمون پاراتیروئید و در نتیجه کاهش کلسیم سرم می‌شود، هیپوکلسیمی حضور نوتروفیل‌ها را در خون کاهش داده و منجر به کاهش ظرفیت تنش اکسیداتیو شده و به‌طور بالقوه باعث افزایش خطر جفت‌ماندگی و نقص عملکرد مایومتریوم می‌شود (Bicalho *et al.*, 2014). بر طبق این اطلاعات جفت‌ماندگی پایین‌تر در تیمارهای منیزیم با منیزیم

REFERENCES

1. Amanlou, H., Motahari, E., Amirabadi Farahani, T. & Eslamian Farsuni, N. (2018). Magnesium deficiency in the prepartum diet and incidence of retained placenta in Holstein cows. In: *4th national seminar of animal production* (In Farsi).
2. Amirabadi Farahani, T., Amanlou, H., & Kazemi-Bonchenari, M. (2017). Effects of shortening the close-up period length coupled with increased supply of metabolizable protein on performance and metabolic status of multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 100, 1-19.
3. Ammerman, C. B., Chicco, C. F., Moore, J. E., Van Walleghem, P. A. & Arrington, L. R. (1971). Effect of dietary magnesium on voluntary feed intake and rumen fermentations. *Journal of Dairy Science*, 54, 1288-1293.
4. AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
5. Barbagallo, M., Dominguez, L. J., Galioto, A., Ferlisi, A., Cani, C., Malfa, L., Pineo, A., Busardo, A. & Paolisso, G. (2003). Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X. *Molecular Aspects of Medicine*, 24, 39-52.
6. Bicalho, M. L. S., Lima, F.S., Ganda, E. K., Foditsch, C., Meira Jr, E. B. S., Machado, V. S., Teixeira, A. G. V., Oikonomou, G., Gilbert, R. O. & Bicalho, R. C. (2014). Effect of trace mineral supplementation on selected minerals, energy metabolites, oxidative stress, and immune parameters and its association with uterine diseases in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97, 1-15.
7. Chapinal, N., Carson, M. E., LeBlanc, S. J., Leslie, K. E., Godden, S., Capel, M., Santos, J. E., Overton, M. W. & Duffield, T. F. (2012). The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of Dairy Science*, 95, 1301-1309.
8. Chicco, C. F., Ammerman, C. B., Hillis, W. G. & Arrington, L. R. (1972). Utilization of dietary magnesium by sheep. *American Journal of Physiology*, 222, 1469-1472.
9. De Koster, J. D. & Opsomer, G. (2013). Insulin resistance in dairy cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 29, 299-322.
10. Erdman, R. A., Hemken, R. W. & Bull, L. S. (1982). Dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide for early postpartum lactating dairy cows: effects on production, acid-base metabolism, and digestion. *Journal of Dairy Science*, 65, 712-731.

11. Goff, J. P. (2014). Calcium and magnesium disorders. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 30, 359-381.
12. Grober, U., Schmidt, J. & Kisters, K. (2015). Magnesium in prevention and therapy. *Nutrients*, 7, 8199-8226.
13. Jeong, J. K., Choi, I. S., Moon, S. H., Kang, H. G. & Kim I. H. (2018). Relationship between serum magnesium concentration during the transition period, peri- and postpartum disorders, and reproductive performance in dairy cows. *Livestock Science*, 213, 1-6.
14. Jittakhot S., Schonewille, J.T., Wouterse, H., Uijtewaal, A.W.J., Yuangklang, C. & Beynen, A.C. (2004). Increasing magnesium intakes in relation to magnesium absorption in dry cows. *Journal of Dairy Research*, 71, 297-303.
15. Kerestes, M., Faigl, V., Kulcsar, M., Balogh, O., Foldi, J., Febel, H., Chilliard, Y. & Huszenicza, G. (2009). Periparturient insulin secretion and whole-body insulin responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. *Domestic Animal Endocrinology*, 37, 250-261.
16. Lean, I. J., De Garis, P. J., McNeill, D. M. & Block, E. (2006). Hypocalcemia in dairy cows: Meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *Journal of Dairy Science*, 89, 669-684.
17. LeMarchand-Brustel, Y., Gual, P., Gremeaux, T., Gonzalez, T., Barres, R. & Tanti, J. F. (2003). Fatty acid-induced insulin resistance: role of insulin receptor substrate 1 serine phosphorylation in the retroregulation of insulin signalling. *Biochemical Society Transactions*, 31, 1152-1156.
18. Leno, B. M., LaCount, S. E., Ryan, C. M., Briggs, D., Crombie, M. & Overton, T. R. (2017a). The effect of source of supplemental dietary calcium and magnesium in the peripartum period, and level of dietary magnesium postpartum, on mineral status, performance, and energy metabolites in multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 100, 7183-7197.
19. Leno, B. M., Ryan, C. M., Stokol, T., Kirk, D., Zanzalari, K. P., Chapman, J. D. & Overton, T. R. (2017b). Effects of prepartum dietary cation-anion difference on aspects of peripartum mineral and energy metabolism and performance of multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 100, 4604-4622.
20. Martin, J. E., Arrington, L. R., Moore, J. E., Ammerman, C. B., Davis, G. K. & Shirley, R. L. (1964). Effect of magnesium and sulfur upon cellulose digestion of purified rations by cattle and sheep. *The Journal of Nutrition*, 83, 60-64.
21. Martin Tereso, J. & Martens, H. (2014). Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease). *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 30, 643-670.
22. Morales, M. S. & Dehority, B. A. (2014). Magnesium requirement of some of the principal rumen cellulolytic bacteria. *Animal*, 9, 1427-1432.
23. NRC. (2001). *Nutrient requirements of dairy cattle*. (7th rev. ed.). National Academy Press. Washington, DC, USA
24. Ospina, P. A., Nydam, D. V., Stokol, T. & Overton, T. R. (2010). Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the Northeastern United States. *Journal of Dairy Science*, 93, 1596-1603.
25. Qu, Y., Fadden, A. N., Traber, M. G. & Bobe, G. (2014). Potential risk indicators of retained placenta and other diseases in multiparous cows. *Journal of Dairy Science*, 97, 4151-65.
26. Santos, J. E. P., Lean, I. J., Golder, H. & Block, E. (2019). Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102, 2134- 2154.
27. Suarez, A., Pulido, N., Casla, A., Casanova, B., Arrieta, F. J. & Rovira, A. (1995). Impaired tyrosine-kinase activity of muscle insulin receptors from hypomagnesaemic rats. *Diabetologia*, 38, 1262-1270.
28. Tsiamadis, V., Banos, G., Panousis, N., Kritsepi-Konstantinou, M., Arsenos, G & Valergakis, G. E. (2016). Genetic parameters of subclinical macromineral disorders and major clinical diseases in postparturient Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 99, 8901-8914.
29. Van Keulen, J. & Young, B. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44, 282-287.
30. Van Saun, R.J. (2014). Dairy nutrition. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 30, 115-337.
31. Van Soest, P. J., Robertson, J. & Lewis, B. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-3597.
32. Xin, Z., Tucker, W. B. & Hemken, R. W. (1989). Effect of reactivity rate and particle size of magnesium oxide on magnesium availability, acid-base balance, mineral metabolism, and milking performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 72, 462-470.