

## بررسی همبستگی بین تولید و ترکیب شیر و ارزش اصلاحی آن‌ها با میزان متان پیش‌بینی شده از طریق اسیدهای چرب فرار در گاوهای هلشتاین ایران

علی جلیل سرفلعه<sup>۱</sup>، محمد مرادی شهربابک<sup>۲\*</sup>، حسین مرادی شهربابک<sup>۳</sup>، اردشیر نجاتی جوارمی<sup>۴</sup> و مهدی ساعتچی<sup>۵</sup>  
۱، ۲، ۳، ۴. دانشجوی دکتری، استاد، استادیار و دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران  
۵. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی و زیستی، دانشگاه ایالتی آیووا آمریکا  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۵)

### چکیده

در سیستم تولیدی نشخوارکنندگان، هر حیوان روزانه ۵۰۰-۲۵۰ لیتر متان تولید می‌کند به طوری که تخمین زده شده است میزان مشارکت نشخوارکنندگان در گرمای جهان معادل با ۱۰-۸ درصد در طول ۱۰۰-۵۰ سال آینده می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی مقدار همبستگی میزان متان (پیش‌بینی شده از طریق اسیدهای چرب فرار) با صفات تولید شیر، اجزای متشکل آن و ارزش‌های اصلاحی این صفات در گاوهای هلشتاین ایران می‌باشد. در این راستا مایع شکمبه از دو زیر جمعیت ۷۵ راسی به روش لوله مری جمع‌آوری گردید (زیر جمعیت‌ها از نظر ارزش اصلاحی تولید شیر با یکدیگر متفاوت بودند). آنالیز داده‌ها در محیط R.3.3.0 انجام شد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که مقدار متان پیش‌بینی شده به‌ازای یک واحد شیر و چربی در دو زیر جمعیت تفاوت بسیار معنی‌داری با یکدیگر دارند ( $P < 0.0001$ ). همچنین در این پژوهش مشخص گردید که ارزش اصلاحی صفات مرتبط با تولید و ترکیب شیر با میزان متان تولید شده به‌ازای یک واحد محصول دارای همبستگی منفی ضعیف تا متوسط می‌باشد ( $P < 0.05$ ). بیشترین مقدار همبستگی میان تولید روزانه چربی با میزان متان تولیدی به‌ازای یک کیلوگرم چربی ( $-0.79$ ) و تولید روزانه شیر با میزان متان تولیدی به‌ازای یک کیلوگرم شیر ( $-0.62$ ) بود. این نتایج نشان می‌دهد که احتمالاً میزان متان تولیدی را می‌توان به‌طور غیر مستقیم و از طریق صفات که دارای همبستگی بالا با این انتشار متان هستند (مانند تولید روزانه چربی یا شیر) در هر نسل کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: ارزش اصلاحی، تولید و ترکیب شیر، گاو هلشتاین ایران، متان، همبستگی.

## Study of the correlation among milk production traits, its components and the breeding value of these traits with predicted methane using volatile fatty acids in Iranian Holstein cattle

Ali Jalil Sarghale<sup>1</sup>, Mohammad Moradi Shahrebabak<sup>2\*</sup>, Hossein Moradi Shahrebabak<sup>3</sup>,  
Ardeshir Nejadi Javaremi<sup>4</sup> and Mahdi Saatchi<sup>5</sup>

1, 2, 3, 4. Ph.D. Candidate, Professor, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

5. Assistant Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Life Sciences, Iowa State University, USA

(Received: May 11, 2017 - Accepted: Aug. 27, 2017)

### ABSTRACT

The methane production from ruminant production system was estimated to reach 250-500 L per animal per day which has been reported to contribute up to 8-10 % of global warming during the next 50-100 years. The aim of this study was to investigate the correlation among methane emission (predicted by volatile fatty acids) with milk production traits, its components and breeding values (BV) of these traits in Iranian Holstein cattle. The rumen digesta was obtained from 150 cattle through stomach tubing and this population divided into 2 groups with 75 cattle in each (the groups have different milk production BV). Data were analyzed by R.3.3.0. The results showed that methane emission per unit of milk and fat were different in the two groups ( $P < 0.0001$ ). Also, the BVs of milk production, fat and protein traits and daily production of milk, fat and protein had weak to moderate negative correlation with methane emission per unit ( $P < 0.05$ ). The highest correlation was observed between daily production of fat with methane emission per unit of fat ( $-0.79$ ) as well as daily milk production with methane emission per unit of milk ( $-0.62$ ). These results showed that methane emission may be reduced by indirect selection per generation for the traits had a high correlation with the gas (daily production of milk and fat).

**Keywords:** Breeding value, correlation, Iranian Holstein cattle, methane, production and component of milk.

\* Corresponding author E-mail: moradim@ut.ac.ir

### مقدمه

پیشرفت فوق‌العاده ناشی از انتخاب ژنتیکی در صنعت گاو شیری همراه با پیشرفت در مدیریت دام‌ها در سطح مزرعه در طی ۶۰ سال اخیر منجر به افزایش ۴۰۰ درصد تولید شیر در آمریکا شمالی شده است (VanRaden, 2004; Shook, 2006; Capper *et al.*, 2009). این افزایش در تولید شیر به موازات ۶۴ درصد کاهش در جمعیت گاو شیری و همچنین ۵۷ درصد کاهش گاز متان نسبت به یک واحد محصول تولیدی بوده است (Capper *et al.*, 2009). در ایران (Seyeddokht *et al.*, 2012) روند تولید شیر را برای حیوانات نر و ماده به ترتیب ۲۵/۱۳ و ۱۵/۴۵ کیلوگرم در سال گزارش کردند. اگرچه دستاوردهای قابل توجهی در تولید شیر و بعضی از صفات عملکردی و اقتصادی از طریق انتخاب ژنتیکی حاصل شده است، اما برای بعضی از صفات از قبیل ضریب تبدیل غذایی، میزان متان تولیدی به‌ازای یک واحد محصول و صفات تولید مثلی انتخاب به صورت مستقیم انجام نشده بود. از جمله دلایلی که می‌توان برای نادیده گرفتن این صفات مطرح نمود می‌توان به هزینه بالا، مشکل در رکوردبرداری و پایین بودن توارث‌پذیری اشاره نمود. امروزه متان نقش بسیار مؤثری در گرم‌تر شدن جهان دارد. توانایی این گاز در گرم‌تر شدن کره زمین ۲۵ برابر دی‌اکسیدکربن است و بعد از گاز دی‌اکسیدکربن، متان دومین گاز گلخانه‌ای از لحاظ مقدار است (Forster *et al.*, 2007). مطالعه‌های مختلف نشان داده است که از سال ۱۹۷۰ تا سال ۲۰۰۴ میزان دی‌اکسیدکربن و متان به ترتیب ۸۰ و ۴۰ درصد افزایش داشته است (Palut & Canziani, 2007). در سطح جهانی، ۶۰-۵۰ درصد گاز متان از بخش کشاورزی تولید می‌شود که حیوانات نشخوارکننده در این میان نقش کلیدی دارند (Llis *et al.*, 2007). محققین بیان کردند که میزان ۸۹ درصد از متان تولیدشده در نشخوارکنندگان، در شکمبه تولید می‌شود (Murray *et al.*, 1976). گزارش شده است که گاوهای شیری و گوشتی به ترتیب ۵/۵-۳/۵ و ۹-۵/۵ درصد از انرژی مصرفی خویش را از طریق تولید متان از دست می‌دهند که این امر باعث هدر رفتن انرژی می‌شود (Johnson & Ward, 1996).

محققین گزارش کرده‌اند که در حالت انفرادی میزان متان تولیدی را می‌توان به سه روش کاهش داد. روش اول: افزایش تولید شیر به‌ازای هر راس دام است مشروط به این‌که میزان ماده خشک مصرفی کمتر افزایش یابد که به تبع آن هزینه انرژی نگهداری هر دام و بهره‌وری از انرژی به‌ترتیب کاهش و افزایش می‌یابند. روش دوم: کاهش اندازه بدن بدون کاهش در سطح شیر تولیدی و اجزای متشکل آن که در این شرایط نیز بازدهی انرژی از طریق کاهش سطح انرژی نگهداری مورد نیاز حیوان بهبود می‌یابد. روش سوم: انتخاب در جهت کاهش باقیمانده خوراک مصرفی<sup>۱</sup> یا پس مانده تولید که در این صورت نیز راندمان استفاده از خوراک افزایش پیدا می‌نماید (Knapp *et al.*, 2014). کلیه این روش‌ها بر اساس این راهکار هستند که انرژی نگهداری یک هزینه ثابت و تابعی از اندازه بدن است در صورتی‌که تولید متان متناسب با انرژی مصرفی در حیوانات است که اگر انرژی مصرفی برای نگهداری یا تولید شیر به‌ترتیب کاهش و افزایش یابند می‌توان میزان انتشار متان را کاهش داد. انتخاب ژنتیکی در طول شش دهه اخیر عمدتاً براساس روش اول بوده است به‌طوری‌که در صنعت گاو شیری انتخاب در جهت افزایش تولید شیر و چربی آن دنبال شده بود. گزارش شده است که به‌ازای هر ۱۰۰ کیلوگرم افزایش تولید شیر در طی یک دوره شیردهی، انتظار می‌رود ۷/۳ درصد کاهش در CH<sub>4</sub>/ECM<sup>۲</sup> در سطح تولید ۷۰۰۰ کیلوگرم رخ بدهد ولی در سطح تولید ۱۳۰۰۰ کیلوگرم و با فرض این‌که هیچ تغییری در قابلیت هضم و تخمیر شکمبه رخ نمی‌دهد، تنها ۳/۱ درصد کاهش در تولید این گاز اتفاق می‌افتد (Knapp *et al.*, 2014). در تحقیقی که میزان انتشار متان (g/kg of FPCM)<sup>۳</sup> به‌ازای هر گاو از طریق طیف سنجی مادون قرمز<sup>۴</sup> اندازه‌گیری گردید همبستگی ژنتیکی بین میزان متان (g/kg of FPCM) با تولید شیر (تصحیح شده برای چربی و پروتئین)، چربی و

1. Residual Feed Intake (RFI)
2. Energy-corrected milk
3. Fat- and protein-corrected milk
4. Mid-infrared spectroscopy

ایران از یکی شرکت‌های هلدینگ گسترش کشاورزی و دامپروری فردوس پارس به روش لوله مری گرفته شد. این ۱۵۰ حیوان به دو زیر جمعیت ۷۵ راسی تقسیم شدند که یک زیرجمعیت دارای بیشترین ارزش اصلاحی و زیر جمعیت دیگر دارای کمترین ارزش اصلاحی برای صفت تولید شیر بودند همچنین در این مرحله آنالیز شجره با استفاده از نرم‌افزار CFC انجام شده بود و سعی بر این بود که دام‌هایی با حداقل رابطه خویشاوندی انتخاب شوند. گاوها در این شرکت با یک جیره شیری ۵۷/۱ درصد کنسانتره (جو، ذرت، کنجاله سویا، آهک، پودر ماهی، پودر گوشت، نمک، پودر چربی، بنتونیت، دانه سویا، بایوساف، مکمل ویتامینه، مکمل معدنی و اکسید منیزیم) و ۴۲/۹ درصد علوفه (یونجه، گاه و سیلوی ذرت) در هر ۲۴ ساعت چهار بار (صبح، ظهر، عصر و شب) تغذیه می‌شدند و دام‌ها به آب تازه دسترسی آزاد داشتند.

#### اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار و پیش‌بینی گاز متان تولیدی

در زمان نمونه‌گیری، pH مایع شکمبه دام‌ها بلافاصله پس از تهیه مایع شکمبه با استفاده از pH متر تعیین و ثبت گردید. اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه از طریق روش ارائه شده توسط Ottenstei *et al.* (1971) در آزمایشگاه تغذیه دام گروه علوم دامی دانشگاه تهران اندازه‌گیری شدند. با توجه به امکانات و داده‌های موجود، در این تحقیق میزان متان تولیدی براساس روش Ramin *et al.* (2015) که بر مبنای غلظت مولی اسیدهای چرب فرار بود محاسبه گردید. مدل پیش‌بینی گاز متان این محققین به صورت ذیل می‌باشد:

$$\text{CH}_4 \text{ (ml)} = 22.4 \times (0.5 \times \text{Ac} - 0.25 \times \text{Pr} + 0.5 \times \text{Bu})$$

در این مدل: CH<sub>4</sub>: میزان متان پیش‌بینی شده به ازای هر راس دام، Ac: مقدار غلظت اسید استیک، Pr: مقدار غلظت اسید پروپیونیک و Bu: مقدار غلظت اسید بوتیرات می‌باشند.

#### تجزیه و تحلیل داده‌ها

آنالیز مرتبط با داده‌ها در محیط R.3.3.0 انجام شد و

پروتئین به ترتیب معادل با ۰/۸۳، ۰/۶۳ و ۰/۷۸ - مشاهده شد (Kandel *et al.*, 2013). یکی از عوامل کلیدی که تأثیر قابل توجهی بر میزان متان تولیدی به ازای هر راس دام دارد نسبت اسیدهای چرب فرار تولیدی در محیط شکمبه می‌باشد. اسیدهای چرب فرار جزء محصولات مهم و حد واسط تولید گاز متان هستند. محققین بیان کرده‌اند که نرخ تبدیل اسیدهای چرب فرار به متان به ترتیب از بیشترین به کمترین به صورت اسید استیک، بوتیرات و پروپیونات می‌باشد (Ren *et al.*, 2003). این اسیدها قبل از این که به متان تجزیه شوند اول به اسید استیک تجزیه می‌شوند، لیکن نرخ تبدیل آنها به ترتیب از بیشترین به کمترین به صورت بوتیرات و پروپیونات است. بیان شده است که تجمع پروپیونات در محیط شکمبه فرآیند متانوژنسیس<sup>۱</sup> را به شدت کاهش می‌دهد (Ren *et al.*, 2003). با توجه به وجود یک رابطه قوی بین غلظت اسیدهای چرب فرار و میزان متان تولید شده در شکمبه، امروزه یکی از روش‌های پیش‌بینی میزان متان تولیدی به ازای هر راس دام بر اساس غلظت اسیدهای چرب فرار تولیدی در شکمبه می‌باشد. با توجه به نقش کلیدی گاز متان در بازدهی خوراک مصرفی و اثرات مخرب آن بر روی کره زمین، به نظر می‌رسد تحقیقی جامعی جهت بررسی مقدار همبستگی متان پیش‌بینی شده از طریق تولیدی این اسیدهای چرب با صفات تولید شیر، اجزای متشکل آن و ارزش‌های اصلاحی این صفات در گاو هلشتاین ایران ضروری باشد. به این ترتیب ارتباطات و همبستگی بین صفات و این که کدام یک از صفات مورد مطالعه دارای بیشترین ارتباط با میزان انتشار گاز متان را دارند تعیین گردیده و شاید بتوان بدین روش و از طریق یک انتخاب غیر مستقیم مؤثرتری، میزان متان تولیدی را به ازای هر راس دام به طور قابل توجهی کاهش داد.

### مواد و روش‌ها

#### دام و مدیریت آن

نمونه‌های مایع شکمبه از ۱۵۰ راس گاو هلشتاین

#### 1. Methanogenesis

برای شیر و اجزای متشکل آن توسط کارشناسان مرکز اصلاح نژاد کل کشور با استفاده از مدل تابعیت تصادفی محاسبه شده بودند.

### نتایج و بحث

ویژگی‌های آماری داده‌های ارزش‌های اصلاحی شیر و اجزای متشکل آن و متان پیش‌بینی شده در کل جمعیت، زیر جمعیت‌های با بیشترین و کمترین ارزش اصلاحی به ترتیب در جدول‌های ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است. با توجه به این که ضریب تغییرات یک صفت، معیاری برای تعیین میزان تنوع آن صفت به شمار می‌رود، ضرایب تغییرات برای صفات مورد مطالعه نشان می‌دهد که ارزش‌های اصلاحی صفات شیر و اجزای متشکل آن دارای تنوع بالایی هستند که یکی از دلایل آن این است که یکی از معیارهای اصلی در این تحقیق، جهت انتخاب حیوانات بر مبنای ارزش اصلاحی شیر بوده است با توجه به این که در این تحقیق حیوانات در دو انتهای نمودار توزیع نرمال انتخاب شدند (کمترین و بیشترین برای ارزش اصلاحی شیر) پس پیش‌بینی می‌شد چنین ضریب تغییراتی برای این صفات مشاهده گردد.

مقایسه میانگین‌های مقادیر متان پیش‌بینی شده در دو زیر جمعیت با ارزش‌های اصلاحی بیشترین و کمترین از آزمون t-test با استفاده از بسته 'plyr' در محیط R صورت گرفت. با توجه به این که در این تحقیق، حیوانات براساس ارزش اصلاحی شیر مرتب شده بودند و ۷۵ حیوان با بیشترین ارزش اصلاحی و ۷۵ حیوان با کمترین ارزش اصلاحی انتخاب شده بودند، اکثر صفات مورد مطالعه در این تحقیق دارای توزیع نرمال نبودند به همین دلیل جهت محاسبه ضرایب همبستگی بین صفات تولید شیر، اجزای متشکل آن، ارزش اصلاحی این صفات و مقدار متان پیش‌بینی از همبستگی رتبه‌ای<sup>۱</sup> به جای همبستگی پیرسون<sup>۳</sup> استفاده شد، چرا که همبستگی رتبه‌ای برخلاف همبستگی پیرسون هیچ وابستگی به توزیع نرمال داده‌ها ندارد. جهت آماده‌سازی داده‌ها برای آنالیز همبستگی رتبه‌ای، در مرحله اول داده‌های هر صفت از کوچک به بزرگ مرتب شدند و در مرحله بعد رتبه یک به کوچکترین داده و بزرگترین رتبه به بالاترین داده آن صفت اختصاص یافت. از بسته Hmisc جهت محاسبه همبستگی رتبه‌ای استفاده گردید. این نکته قابل ذکر است که مقادیر ارزش‌های اصلاحی

جدول ۱. ویژگی‌های آماری صفات تولید شیر، اجزای متشکل آن، ارزش اصلاحی این صفات و متان پیش‌بینی شده در کل جمعیت

Table 1. Statistic characteristics of breeding values of milk yield, its components and predicted methane in total population

Trait	Mean	Min	Max	Standard deviation	CV (%)
pH	6.62	5.4	7.94	0.46	6.94
BV milk (kg)	870.22	-1299.2	2475.1	903.41	103.81
BV fat (kg)	29.31	-34.28	82.730	24.47	84.21
BV fat percentage	0.01	-0.21	0.38	0.099	900.68
BV protein (kg)	24.91	-31.75	67.78	16.93	67.99
BV protein percentage	-0.01	-0.38	0.53	0.018	-3009.58
Total Milk (kg)	11879	5659	15846	2213.12	18.63
Total Fat (kg)	306.6	122.6	481.7	74.62	24.36
Total Protein (kg)	311.6	142.2	2375.6	224.12	71.93
Daily milk production (kg)	38.95	18.55	51.95	7.25	18.62
Daily fat production (kg)	1.01	0.4	1.58	2.45	24.42
Daily Protein production (kg)	1.02	0.47	7.79	0.735	71.99
Prediction of methane(ml)	14819.88	8564	19315	2235.15	15.08
Methane (ml) per kg milk	384.42	316.5	478	31.50	8.19
Methane (ml) per kg fat	15390.92	8556	31503	3340.50	21.70
Methane (ml) per kg protein	16157.75	2063	30401	3425.65	21.20

Note: BV: breeding value and total of milk, fat and protein adjusted for thrice milking daily-305.

1. Package
2. Spearman
3. Pearson

جدول ۲. ویژگی‌های آماری صفات تولید شیر، اجزای متشکل آن، ارزش اصلاحی این صفات و متان پیش‌بینی‌شده در زیر جمعیت با بیشترین ارزش اصلاحی

Table 2. Statistic characteristics of breeding values of milk yield, its components and predicted methane in sub-population with high BV

Trait	Mean	Min	Max	Standard deviation	CV (%)
pH	6.66	5.4	7.94	0.49	7.32
BV milk (kg)	1723.57	1490	2475.1	220.01	12.77
BV fat (kg)	50.42	28.84	82.73	10.32	20.46
BV fat percentage	-0.05	-0.21	0.12	0.06	-133.39
BV protein (kg)	34.85	7.53	65.18	11.57	33.19
BV protein percentage	-0.15	-0.38	0.11	0.10	-67.22
Total Milk (kg)	13517	9943	15846	1308.35	9.68
Total Fat (kg)	354.64	215.8	481.7	52.59	14.83
Total Protein (kg)	312.12	193.8	393.4	43.05	13.79
Daily milk production (kg)	44.32	32.60	51.95	4.29	9.68
Daily fat production (kg)	1.16	0.71	1.58	0.17	14.84
Daily Protein production (kg)	1.02	0.64	1.29	0.14	13.84
Prediction of methane(ml)	16346.99	12584	19315	1447.29	8.85
Methane (ml) per kg milk	369.92	322.7	435.9	23.94	6.47
Methane (ml) per kg fat	14365.10	8556	27294	2592.77	18.05
Methane (ml) per kg protein	16607.82	12114	30401	2879.78	17.34

Note: BV: breeding value and total of milk, fat and protein adjusted for thrice milking daily-305.

جدول ۳. ویژگی‌های آماری صفات تولید شیر، اجزای متشکل آن، ارزش اصلاحی این صفات و متان پیش‌بینی‌شده در زیر جمعیت با کمترین ارزش اصلاحی

Table 3. Statistic characteristics of breeding values of milk yield, its components and predicted methane in sub-population with low BV

Trait	Mean	Min	Max	Standard deviation	CV (%)
pH	6.58	5.79	7.48	0.43	6.52
BV milk (kg)	16.87	-1299.2	358.20	344.13	2039.99
BV fat (kg)	8.20	-34.28	51.50	14.73	179.56
BV fat percentage	0.07	-0.16	0.38	0.08	114.31
BV protein (kg)	14.97	-31.75	67.78	15.61	104.23
BV protein percentage	0.14	-0.24	0.53	0.12	86.98
Total Milk (kg)	10242	5659	13037	1647.45	16.08
Total Fat (kg)	257.97	122.6	372.4	60.88	23.60
Total Protein (kg)	310.98	142.2	2375.6	326.68	105.05
Daily milk production (kg)	33.58	18.55	42.74	5.40	16.08
Daily fat production (kg)	0.84	0.40	1.22	0.20	23.69
Daily Protein production (kg)	1.02	0.47	7.79	1.07	105.14
Prediction of methane(ml)	13292.77	8564	17020	1799.35	13.54
Methane (ml) per kg milk	398.91	316.5	478	31.61	7.92
Methane (ml) per kg fat	16416.75	9991	31503	3690.30	22.48
Methane (ml) per kg protein	15644.89	2063	26313	3929.70	25.12

Note: BV: breeding value and total of milk, fat and protein adjusted for thrice milking daily-305.

بین میزان تولید شیر دام و میزان خوراک مصرفی یک رابطه همبستگی ژنتیکی بالایی (۰/۶۶) وجود دارد (Ageeb & Hayes, 2006). همچنین همبستگی ژنتیکی قوی (۰/۷۹) بین میزان خوراک مصرفی و میزان متان تولیدی (Herd *et al.*, 2014) وجود دارد. بنابراین دام‌های با بیشترین ارزش اصلاحی به دلیل شیر تولیدی بالا و خوراک مصرفی بالاتر در مقایسه با دام‌های با کمترین ارزش اصلاحی متان بیشتری در کل تولید می‌کنند. مقایسه میزان انتشار متان در این دو زیر جمعیت زمانی صحیح‌تر و قابل ملموس‌تر است که میزان متان تولیدی به‌ازای یک واحد تولید در این دو زیر جمعیت مورد قیاس قرار گیرد. همان‌طوری‌که در جدول ۴ مشاهده می‌گردد

مقایسه میانگین‌های میزان متان پیش‌بینی شده با استفاده از آزمون t-test در دو زیر جمعیت مورد مطالعه در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج در این جدول نشان می‌دهد که مقدار متان پیش‌بینی‌شده در دو زیر جمعیت مورد مطالعه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰/۰۰۰۱). به‌طوری‌که که دام‌های با بیشترین ارزش اصلاحی برای صفت تولید شیر در مقایسه با دام‌های با کمترین ارزش اصلاحی برای این صفت، در مجموع متان بیشتری را تولید می‌کنند یکی از دلایلی که برای این نتیجه می‌تواند مطرح باشد این است که دام‌های با ارزش اصلاحی شیر بالا در مقایسه با دام‌های با ارزش اصلاحی پایین برای صفت شیر، دارای تولید شیر بالاتری هستند و

تطابق می‌باشد. در مطالعه‌ای که توسط Herd *et al.* (2013) انجام شده بود نشان داده شد که متان تولیدی روزانه ارتباط معنی‌داری با ارزش اصلاحی صفات وزن، لاشه و چربی داشتند و علاوه بر این محققین گزارش کردند متان تولیدی روزانه به‌ازای یک واحد وزن بدن دارای ارتباط قابل‌توجهی با ارزش اصلاحی وزن و لاشه دارند. سازمان محیط زیست گزارش کرده است که بهبود بهره‌وری دام منجر به کاهش میزان متان به‌ازای هر واحد محصول می‌شود که این روش، روشی مقرون به‌صرفه جهت کاهش انتشار این گاز می‌باشد (Hogan, 1993) و در تطابق با اقدامات جهانی است (Shafer *et al.*, 2011). علاوه بر این بیان شده است که انتخاب ژنتیکی برای افزایش تولید شیر که در دهه‌های گذشته انجام شده بود باعث کاهش ۵۷ درصد متان نسبت به یک واحد محصول تولیدی شده است (Capper *et al.*, 2009).

ضرایب همبستگی رتبه‌ای بین صفات تولید شیر، اجزای متشکل و ارزش اصلاحی آن‌ها با متان پیش‌بینی شده در جدول ۵ نشان داده شده است. همانطوری مشاهده می‌شود مقادیر ضرایب همبستگی این صفات متنوع می‌باشد. به‌طوری‌که بیشترین ضریب همبستگی رتبه‌ای بین ارزش‌های اصلاحی درصد چربی شیر و درصد پروتئین شیر (۰/۹۳) و کمترین بین pH و ارزش اصلاحی چربی شیر (۰/۰۰) می‌باشد. محققین مقادیری مختلفی را برای همبستگی بین تولید شیر و چربی آن در دامنه ۰/۴۵ تا ۰/۹۶ (Chauhan & Hayes, 1991; Boujenane, 2002) تولید شیر و درصد چربی در دامنه ۰/۲۰ تا ۰/۶۷ (Cue *et al.*, 1987; Chauhan & Hayes, 1991; Welper & Freeman, 1992; Boujenane, 2002; Sneddon *et al.*, 2015) گزارش کردند مقادیر همبستگی که در این پژوهش مشاهده شده است در این دامنه‌ها قرار گرفت.

مقدار متان پیش‌بینی شده به‌ازای یک کیلوگرم صفات شیر و چربی در دو زیر جمعیت تفاوت معنی‌داری را از نظر آماری نشان می‌دهند ( $P < 0.001$ ). درحالی‌که تفاوت معنی‌داری برای این قیاس در متان تولیدی به‌ازای یک کیلوگرم پروتئین مشاهده نشد ( $P = 0.18$ ). پس این نتایج نشان می‌دهند که در زیر جمعیت با بیشترین ارزش اصلاحی در مقایسه با زیر جمعیت با کمترین ارزش اصلاحی به‌ازای یک واحد تولید شیر و چربی میزان بسیار پایین‌تری متان تولید می‌شود. دلیل این رویداد این است که دام‌های با ارزش اصلاحی بیشتر دارای ترکیب ژنتیکی برتری هستند که حداکثر بازدهی استفاده از انرژی مصرفی را فراهم می‌کنند یکی از احتمالاتی که می‌تواند مطرح باشد این است که ترکیب ژنتیکی میزبان در حیوانات با بیشترین ارزش اصلاحی باعث شده است که جریان هیدروژن به تولید پروپیونات از طریق لاکتات یا فومارات منحرف شده است و میزان کمتری هیدروژن در جهت تولید متان صرف گردیده است که احتمالاً ترکیب ژنتیکی در این حیوانات یک شرایطی محیطی در شکمبه فراهم کرده است که میکروبیوم‌های کاهش‌دهنده فومارات از جمله *Selenomonas*, *Veillonella parvula*، *Selenomonas ruminantium* subsp. *Ruminantium*، *Fibrobacter ruminantium* subsp. *Lactilytica* و *succinogenes* (Asanuma & Iwamoto, 1999; Asanuma *et al.*, 1999) نسبت به فلور جمعیتی جنس‌های مختلف آرکایا متانوژنیک (تولیدکننده متان در محیط شکمبه) بیشتر رشد و توسعه پیدا کردند که این رویکرد باعث شده است جریان هیدروژن به تولید پروپیونات از طریق لاکتات یا فومارات منحرف شود و از هدررفتن انرژی جلوگیری گردد. گزارش شده است که تجمع پروپیونات در محیط شکمبه فرآیند متانوژنسیس را به‌شدت کاهش می‌دهد (Ren *et al.*, 2003). نتایج این بخش از تحقیق با گزارش‌های Hayes *et al.* (2013) در

جدول ۴. مقایسه میانگین‌های مقدار متان پیش‌بینی شده در دو زیر جمعیت با ارزش اصلاحی بالا و پایین

Table 4. The compression of predicted methane in two sub-populations with high and low BVs

	Mean±S.E		P – Value <
	Sub-population with high BV	Sub-population with low BV	
Prediction of methane (ml)	16346.99±170.56 <sup>a</sup>	13292.77±212.05 <sup>b</sup>	0.0001
Methane (ml) per kg milk	369.92±2.82 <sup>b</sup>	398.91±3.72 <sup>a</sup>	0.0001
Methane (ml) per kg fat	14365.10±305.56 <sup>b</sup>	16416.74±434.91 <sup>a</sup>	0.0001
Methane (ml) per kg protein	16607.82±411.39 <sup>a</sup>	15664.89±599.27 <sup>a</sup>	0.18

a, b: Values with different superscripts within the same row differ significantly ( $p < 0.05$ ).

به ترتیب با میزان متان تولید شده به ازای یک کیلوگرم شیر، چربی و پروتئین دارای همبستگی منفی متوسط و بالایی می‌باشند (جدول ۵). به طوری که بیشترین مقدار همبستگی در این بخش میان تولید روزانه چربی با میزان متان تولیدی به ازای یک کیلوگرم چربی (۰/۷۹-) و تولید روزانه شیر با میزان متان تولیدی به ازای یک کیلوگرم شیر (۰/۶۲-) بوده است. در تحقیقی گزارش شده که همبستگی ژنتیکی بین شدت انتشار متان با صفات عملکرد شیر، چربی، پروتئین، شمار سلول‌های بدنی و طول عمر به ترتیب برابر با ۰/۶۸، ۰/۱۳، ۰/۴۷، ۰/۰۷ و ۰/۰۵ است (Kandel et al., 2014).

همچنین در مطالعه‌ای که میزان انتشار متان به ازای هر راس حیوان از طریق روش SF6 براساس چهار معادله رگرسیون متفاوت پیش‌بینی شده بود مقادیر همبستگی ژنتیکی شیر (کیلوگرم به ازای هر روز)، درصد چربی و درصد پروتئین شیر به ترتیب معادل با (۰/۱۸، ۰/۱۷، ۰/۱۷ و ۰/۱۱-)، (۰/۵۵، ۰/۵۴، ۰/۳۱ و ۰/۴۳) و (۰/۳۲، ۰/۳۶، ۰/۱۷ و ۰/۱۴) مشاهده شده بود (Kandel et al., 2015). علاوه بر این مقادیر همبستگی ژنتیکی بین میزان انتشار متان (به ازای شیر تصحیح شده برای چربی و پروتئین) با تولید شیر (تصحیح شده برای چربی و پروتئین) در هفته‌های مختلف تولید (۱-۴۲) دارای دامنه‌ای از ۰/۴۳- تا ۰/۹۵- بوده است (De Haas et al., 2011).

Sneddon et al. (2015) بیان کردند که ضرایب همبستگی فنوتیپی بین صفات تولید شیر با چربی و پروتئین شیر به ترتیب معادل با ۰/۷۵ و ۰/۹۲ بوده است و علاوه بر این مقدار همبستگی فنوتیپی بین چربی و پروتئین شیر را ۰/۸۱ گزارش کردند. همبستگی بین این صفات بیانگر آن است که بسیاری از ژن‌های مؤثر بر یکی از این صفات، بر صفت دیگر هم تأثیر دارند. وجود اختلاف بین گزارش‌های محققین مختلف برای این صفات به این علت است که نوع مجموعه داده‌ها، نوع روش آنالیز آماری، نوع نژاد و شرایط محیطی متفاوت بوده است. یکی از نکته‌های قابل توجه در جدول ۵ عدم وجود همبستگی معنی‌دار بین pH و صفات مربوط به شیر و اجزای متشکل آن بود است. همچنین pH با سه صفت مقدار متان پیش‌بینی شده به ازای یک کیلوگرم شیر، چربی و پروتئین دارای عدم همبستگی بود. Hünnerberg et al. (2015) در مطالعه‌ای گزارش کردند که مقدار تولید متان در  $pH \leq 5/5$  و  $pH \geq 5/2$  کاهش معنی‌داری را نشان نداده بود. که این نتایج با نتایج این تحقیق در تطابق بوده است.

علاوه بر این در این تحقیق مشخص شده است که ارزش‌های اصلاحی صفات تولید شیر، چربی و پروتئین با میزان متان تولید شده به ازای یک کیلوگرم شیر دارای همبستگی منفی ضعیف و متوسط می‌باشند (جدول ۵). همچنین تولید روزانه شیر، پروتئین و چربی

جدول ۵. ضرایب همبستگی رتبه‌ای بین صفات تولید شیر، اجزای متشکل آن و ارزش اصلاحی این صفات با متان پیش‌بینی شده  
Table 5. The Spearman correlation coefficient among milk production traits, its components and breeding values of these traits with predicted methane

Type of variable	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
A	-0.02 <sup>ns</sup>	0.00 <sup>ns</sup>	-0.12 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	-0.09 <sup>ns</sup>	0.13 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	0.00 <sup>ns</sup>	-0.02 <sup>ns</sup>	-0.02 <sup>ns</sup>
B		0.90 <sup>**</sup>	-0.60 <sup>**</sup>	0.69 <sup>**</sup>	-0.75 <sup>**</sup>	0.71 <sup>**</sup>	0.58 <sup>**</sup>	0.36 <sup>**</sup>	-0.47 <sup>**</sup>	-0.27 <sup>**</sup>	0.22 <sup>*</sup>
C			-0.31 <sup>**</sup>	0.89 <sup>**</sup>	-0.54 <sup>**</sup>	0.63 <sup>**</sup>	0.58 <sup>**</sup>	0.38 <sup>**</sup>	-0.43 <sup>**</sup>	-0.32 <sup>**</sup>	0.11 <sup>ns</sup>
D				-0.02 <sup>ns</sup>	0.93 <sup>**</sup>	-0.64 <sup>**</sup>	-0.46 <sup>**</sup>	-0.32 <sup>**</sup>	0.33 <sup>**</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	-0.23 <sup>*</sup>
E					-0.19 <sup>*</sup>	0.41 <sup>**</sup>	0.39 <sup>**</sup>	0.32 <sup>**</sup>	-0.31 <sup>**</sup>	-0.22 <sup>*</sup>	-0.04 <sup>ns</sup>
F						-0.75 <sup>**</sup>	-0.59 <sup>**</sup>	-0.38 <sup>**</sup>	0.41 <sup>**</sup>	0.24 <sup>**</sup>	-0.25 <sup>*</sup>
G							0.65 <sup>**</sup>	0.65 <sup>**</sup>	-0.62 <sup>**</sup>	-0.15 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>
H								0.61 <sup>**</sup>	-0.36 <sup>**</sup>	-0.79 <sup>**</sup>	-0.09 <sup>ns</sup>
I									-0.37 <sup>**</sup>	-0.32 <sup>**</sup>	-0.55 <sup>**</sup>
J										0.26 <sup>**</sup>	0.27 <sup>**</sup>
K											0.29 <sup>**</sup>

ns، \* و \*\* وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود اختلاف معنی‌دار.

نوع متغیر: A: pH، B: ارزش اصلاحی شیر، C: ارزش اصلاحی چربی شیر، D: ارزش اصلاحی درصد چربی شیر، E: ارزش اصلاحی پروتئین شیر، F: ارزش اصلاحی درصد پروتئین شیر، G: تولید شیر روزانه، H: تولید چربی شیر روزانه، I: تولید پروتئین شیر روزانه، J: مقدار متان پیش‌بینی شده به ازای یک کیلوگرم شیر، K: مقدار متان پیش‌بینی شده به ازای یک کیلوگرم چربی و L: مقدار متان پیش‌بینی شده به ازای یک کیلوگرم پروتئین.

ns، \*، \*\*، Significant differences at 5 and 1% of probability levels and non-significant (P > 0.05).

Type of variable: A: pH, B: Breeding value of milk, C: Breeding value of fat, D: Breeding value of protein, E: Breeding value of protein percentage, F: Breeding value of protein percentage, G: Daily milk production, H: Daily fat production, I: Daily Protein production, J: Methane emission per unit of milk, K: Methane emission per unit of fat and L: Methane emission per unit of protein.

### نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق مشخص شد که حیوانات با ارزش اصلاحی بیشتر در مقایسه با حیوانات با ارزش اصلاحی کمتر به‌ازای یک واحد تولید شیر و چربی دارای ضریب تبدیل بهتر و میزان بسیار پایین‌تری متان تولید می‌کنند و همچنین همبستگی منفی ضعیف تا متوسط بین ارزش‌های اصلاحی صفات تولید شیر، چربی و پروتئین و همبستگی منفی متوسط تا بالایی بین تولید روزانه شیر، پروتئین و چربی با میزان متان تولید شده به‌ازای یک واحد محصول مشاهده شد. به‌طوری‌که تولید روزانه شیر و چربی دارای همبستگی قوی به‌ترتیب با میزان متان تولیدی به‌ازای یک کیلوگرم شیر (۰/۶۲-) و میزان متان تولیدی به‌ازای یک کیلوگرم چربی (۰/۷۹-) داشتند. این نتایج موید این است که این صفات تحت تأثیر ژن‌های یکسانی ولی در جهت عکس قرار می‌گرفتند و این نتیجه می‌تواند امیدوارکننده باشد چرا که تابع‌های هدفی که در گذشته در صنعت گاو شیری استفاده شده این احتمال وجود دارد که نه تنها میزان تولید این گاز به‌ازای یک واحد محصول در اثر این نوع انتخاب افزایش نیافته بلکه به علت همبستگی منفی بین متان تولیدی با صفات موجود در تابع‌های هدف، میزان متان تولیدی به‌ازای هر واحد محصول در هر نسل روندی کاهشی را دنبال کرده است. جهت تسریع پیشرفت ژنتیکی کاهش میزان متان به‌ازای هر واحد محصول معقول‌تر است به صفات که با انتشار این گاز دارای همبستگی بالایی (مانند تولید چربی یا روزانه شیر) هستند ضریب بالاتری در جهت انتخاب حیوانات برای نسل بعد داده شود.

### سپاسگزاری

از پارک علم و فناوری دانشگاه تهران که بخشی از این تحقیق را حمایت کردند تشکر و قدردانی می‌گردد.

Kandel *et al.* (2013) مقادیر همبستگی ژنتیکی

بین میزان متان (g/kg of FPCM) با تولید شیر (تصحیح‌شده برای چربی و پروتئین)، چربی و پروتئین به‌ترتیب معادل با ۰/۸۳، ۰/۶۳- و ۰/۷۸- بیان کردند. وجود همبستگی قوی بین تولید روزانه شیر و چربی با میزان متان تولیدی به‌ازای یک واحد تولید در نتایج این تحقیق مؤید این است که این صفات تحت تأثیر ژن‌های یکسانی ولی در جهت عکس قرار می‌گرفتند با توجه به این‌که شاید این نگرانی امروز در صنعت گاو شیری مطرح باشد که در دهه‌های گذشته و امروزه در تابع هدف برای اصلاح نژاد گاوها به صفت تولید کمتر متان و انتخاب پروفایل مطلوب‌تر آرکایا متانوژنیک ضریب داده نشده است پس متان تولیدی به‌ازای یک واحد محصول مانند صفات تولید مثلی در اثر انتخاب جهت افزایش تولید شیر و اجزای متشکل آن در گذشته دچار اثرات نامطلوب این نوع انتخاب قرار گرفته باشند ولی وجود همبستگی منفی متوسط و بالا بین صفات تولید شیر و اجزای متشکل آن با میزان متان تولیدی به‌ازای یک واحد محصول تولیدی بسیار امیدوارکننده می‌باشد و این نظریه و احتمال وجود دارد که تابع‌های هدفی که در گذشته در صنعت گاو شیری استفاده شده بود نه تنها میزان تولید این گاز را به‌ازای یک واحد محصول افزایش نداده است بلکه به علت همبستگی منفی بین متان تولیدی با صفات موجود در تابع‌های هدف، میزان متان تولیدی به‌ازای هر واحد محصول در هر نسل روندی کاهشی را دنبال کرده بود و این رویکرد احتمالاً در گذشته سبب بهبود ضریب تبدیل غذا، کاهش انتشار متان، کاهش گرم‌شدن زمین و افزایش سود دامدار شده بود. ولی باید به این نکته کلیدی توجه داشته باشیم که این نوع انتخاب جهت کاهش متان از طریق صفات همبسته از شدت و پیشرفت کندی‌تری نسبت به انتخاب به‌طور مستقیم برای این گاز برخوردار است.

### REFERENCES

1. Asanuma, N. & Iwamoto, M. (1999). The production of formate, a substrate for methanogenesis, from compounds related with the glyoxylate cycle by mixed ruminal microbes. *Nihon Chikusan Gakkaiho*, 70, 67-73.
2. Asanuma, N., Iwamoto, M. & Hino, T. (1999). Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms in vitro. *Journal of Dairy Science*, 82, 780-787.



3. Boujenane, I. (2002). Estimates of genetic and phenotypic parameters for milk production in moroccan Holstein-Friesian cows. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 55, 63-67.
4. Capper, J. L., Cady, R. & Bauman, D. (2009). The environmental impact of dairy production: 1944 compared with 2007. *Journal of Animal Science*, 87, 2160-2167.
5. Chauhan, V. & Hayes, J. (1991). Genetic parameters for first lactation milk production and composition traits for Holsteins using multivariate restricted maximum likelihood. *Journal of Dairy Science*, 74, 603-610.
6. Cue, R., Monardes, H. & Hayes, J. (1987). Correlations between production traits in first lactation Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 70, 2132-2137.
7. De Haas, Y., Windig, J., Calus, M., Dijkstra, J., De Haan, M., Bannink, A. & Veerkamp, R. (2011). Genetic parameters for predicted methane production and potential for reducing enteric emissions through genomic selection. *Journal of Dairy Science*, 94, 6122-6134.
8. Ellis, J., Kebreab, E., Odongo, N., McBride, B., Okine, E. & France, J. (2007). Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *Journal of Dairy Science*, 90, 3456-3466.
9. Forster, P., Ramaswamy, V., Artaxo, P., Berntsen, T., Betts, R., Fahey, D. W., Haywood, J., Lean, J., Lowe, D.C. & Myhre, G. (2007). Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing. Chapter 2, Climate Change 2007. The Physical Science Basis.
10. Hayes, B.J., Lewin, H.A. & Goddard, M.E. (2013). The future of livestock breeding: genomic selection for efficiency, reduced emissions intensity, and adaptation. *Trends in Genetics*, 29, 206-214.
11. Herd, R., Bird, S., Donoghue, K., Arthur, P. & Hegarty, R. (2013). Phenotypic associations between methane production traits, volatile fatty acids and animal breeding traits. Proceedings of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics, pp. 286-289.
12. Hogan, K. (1993) Opportunities to reduce anthropogenic methane emissions in the United States. US Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA.
13. Hünerberg, M., McGinn, S., Beauchemin, K., Entz, T., Okine, E., Harstad, O. & McAllister, T. (2015). Impact of ruminal pH on enteric methane emissions. *Journal of Animal Science*, 93, 1760-1766.
14. Johnson, D.E. & Ward, G.M. (1996). Estimates of animal methane emissions. *Environmental monitoring and assessment*, 42, 133-141.
15. Kandel, P. B., Gengler, N. & Soyeurt, H. (2015). Assessing variability of literature based methane indicator traits in a large dairy cow population. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 19, 11-19.
16. Kandel, P.B., Vanderick, S., Vanrobays, M.L., Vanlierde, A., Dehareng, F., Froidmont, E., Soyeurt, H. & Gengler, N. (2014). Consequences of selection for environmental impact traits in dairy cows. In: Proceedings of 10<sup>th</sup> World Congress of Genetics Applied to Livestock Productio. Vancouver, Canada.
17. Kandel, P.B., Vanrobays, M.L., Vanlierde, A., Dehareng, F., Froidmont, E., Dardenne, P., Lewis, E., Buckley, F., Deighton, M. & McParland, S. (2013). Genetic parameters for methane emissions predicted from milk mid-infrared spectra in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95, 388.
18. Knapp, J., Laur, G., Vadas, P., Weiss, W. & Tricarico, J. (2014). Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *Journal of Dairy Science*, 97, 3231-3261.
19. Murray, R., Bryant, A. & Leng, R. (1976). Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *British Journal of Nutrition*, 36, 1-14.
20. Ottenstein, D. & Bartley, D. (1971). Improved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. *Analytical Chemistry*, 43, 952-955.
21. Palut, M.P.J. & Canziani, O.F. (2007). *Contribution of working group II to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change*. Cambridge University Press.
22. Ramin, M., Leroose, D., Tagliapietra, F. & Huhtanen, P. (2015). Comparison of rumen fluid inoculum vs. faecal inoculum on predicted methane production using a fully automated in vitro gas production system. *Livestock Science*, 181, 65-71.
23. Ren, N., Liu, M., Wang, A., Ding, J. & Li, H. (2003). Organic acids conversion in methanogenic-phase reactor of the two-phase anaerobic process. Huan jing ke xue= Huanjing kexue/[bian ji, Zhongguo ke xue yuan huan jing ke xue wei yuan hui" Huan jing ke xue" bian ji wei yuan hui.], 24, 89-93.
24. Ren N., Wang, A. & Ma, F. (2005). Acid-producing fermentative microbe physiological ecology. Science Press, Beijing.
25. Seyeddokht, A., Aslaminejad, A., Tahmoorespur, M., Naeemipour, H., Mahdavi, M. & Zabetiyan, H. M. (2012). Estimation of genetic trend for 305-day milk yield using random regression test day model in Iranian Holstein cattle. *Animal Production Research*, 1, 9-18. (in Farsi)
26. Shafer, S.R., Walthall, C.L., Franzluebbers, A.J., Scholten, M., Meijs, J., Clark, H., Reisinger, A., Yagi, K., Roel, A. & Slattery, B. (2011). Emergence of the global research alliance on agricultural greenhouse gases. *Carbon Management*, 2, 209-214.

27. Shook, G. (2006). Major advances in determining appropriate selection goals. *Journal of dairy science*, 89, 1349-1361.
28. Sneddon, N., Lopez-Villalobos, N., Davis, S., Hickson, R. & Shalloo, L. (2015). Genetic parameters for milk components including lactose from test day records in the New Zealand dairy herd. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 58, 97-107.
29. VanRaden, P. (2004). Invited review: Selection on net merit to improve lifetime profit. *Journal of dairy science*, 87, 3125-3131.
30. Welper, R. & Freeman, A. (1992). Genetic Parameters for Yield Traits of Holsteins, Including Lactose and Somatic Cell Score. *Journal of Dairy Science*, 75, 1342-1348.
31. Wolin, M. J. (1960). A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*, 43, 1452-1459.