علوم دامی ایران
دورۀ ۴۵، شمارۀ ۳، پاییز ۱۳۹۳ (ص ۲۵۵-۲۴۵)

اثر نوع مکمل چربی بر تولید و ترکیب شیر و فراسنجه‌های خون در دورۀ انتقال در گاو هلشتاین

هدی جواهری بارفروشی[۱]، آرمین توحیدی[۲*]، حسن صادقی‌پناه[۳]، مهدی ژندی[۴] و سعید زین‌الدینی[۵]
۱، دانش‌آموختۀ دکتری، دانشکدۀ علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
و استادیار بخش تحقیقات مدیریت پرورش دام و طیور مؤسسۀ تحقیقات علوم دامی کشور، کرج
۲، ۴ و ۵. دانشیار، استادیار و دانشیار گروه علوم دامی، دانشکدۀ علوم و مهندسی کشاورزی،
پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
۳. استادیار، بخش تحقیقات مدیریت پرورش دام و طیور، مؤسسۀ تحقیقات علوم دامی کشور، کرج
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۱۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۶/۱۱)

چکیده

هدف از آزمایش حاضر، ارزیابی تأثیر مصرف روغن ماهی در مقایسه با چربی اشباع پالم، بر سلامت پستان و عملکرد شیردهی در گاو هلشتاین بود. ده رأس گاو هلشتاین چند بار زاییده از شش هفته پیش از زایش تا ۶۳ روز پس از آن مطالعه شدند. مقدار خوراک مصرفی و تولید شیر به‌طور روزانه، ترکیبات شیر، وزن و امتیار وضعیت بدنی به‌طور هفتگی و فراسنجه‌های خونی با فواصل ۲۱ روز تعیین شدند. روغن ماهی موجب افزایش تولید شیر از هفتۀ ششم شیردهی به بعد گردید (P<۰/۰۵). از بین ترکیبات شیر، تنها درصد و مقدار چربی شیر تحت تأثیر نوع مکمل چربی قرار گرفت و در گاوهای دریافت‌کنندۀ روغن ماهی کاهش یافت (P <۰/۰۵). امتیاز (P <۰/۰۵) سلول‌های سوماتیک شیر با مصرف روغن ماهی کاهش یافت. در میان فراسنجه‌های خون، غلظت کلسترول کل، LDL- کلسترول و نسبت LDL به HDL سرم در گروه دریافت‌کنندۀ روغن ماهی در مقایسه با گروه مصرف‌کنندۀ چربی اشباع پالم کاهش معناداری یافتند (P<۰/۰۵). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد مصرف روغن ماهی در دورۀ انتقال، علاوه بر حفظ تولید شیر، می‌تواند شدت توازن منفی انرژی را در اوایل شیردهی کاهش دهد و از بار میکروبی شیر نیز بکاهد.

واژه‌های کلیدی: تولید و ترکیب شیر، دورۀ خشکی، روغن ماهی، فراسنجه‌های خونی، گاو هلشتاین.

مقدمه

در آغاز شیردهی گاو شیری، به‌طور معمول دوره‌ای از توازن منفی انرژی وجود دارد که با افزایش اسیدهای چرب غیراستریفیه[۱] (NEFA) و کتون‌ها، کاهش گلوکز خون و مقاومت به انسولین مشخص می‌شود (Grummer & Carroll, 1991). این وضعیت حیوان را برای ابتلا به انواع بیماری‌های متابولیکی مستعد می‌نماید که در نهایت به کاهش توان تولیدی و طول عمر اقتصادی دام می‌انجامد. افزایش شدت و طول مدت توازن منفی انرژی در اوایل شیردهی، مانع بروز پتانسیل ژنتیکی واقعی تولید شیر شده و برخی کنش‌های فیزیولوژیکی ازجمله ایمنی و تولیدمثل را سرکوب می‌کند. از جمله تلاش‌های انجام‌شده برای به حداقل رساندن این پدیده، افزودن مکمل‌های چربی در اوایل دورۀ شیردهی بوده است. روغن ماهی به عنوان منبع متراکم انرژی، علاوه بر افزایش اسیدهای چرب مفید جیره و حفظ نسبت مطلوب اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ در بدن و شیر، بر ارزش تغذیه‌ای فرآورده‌های لبنی نیز می‌افزاید (Butler *et al.*, 2011). پاسخ گاو به افزودن چربی، تحت تأثیر نوع جیرۀ پایه، مرحلۀ شیردهی، توازن انرژی، ترکیب چربی و مقدار چربی افزوده‌شده در خوراک قرار دارد. اگرچه چربی‌ها در بسیاری از مطالعات موجب افزایش تولید شیر شده‌اند، اما با مصرف مکمل‌های چربی

* تلفن: ۰۹۱۲۱۴۰۴۰۸۱
E-mail: atowhidi@ut.ac.ir
1. Non esterified fatty acids

مختلف پاسخ‌های متفاوتی مشاهده شده است. بخشی از این تفاوت را می‌توان به کاهش مصرف خوراک نسبت داد (NRC, 2001). Shingfield *et al.* (2003) و Mattos *et al.* (2004) در پژوهش‌های خود با استفاده از روغن ماهی کاهش مصرف مادهٔ خشک را مشاهده کردند. در حالی که Fatahnia *et al.* (2007) گزارش کردند که استفاده از روغن ماهی، روغن سویا و مخلوط آن‌ها موجب افزایش در مادهٔ خشک مصرفی و تولید شیر، ولی کاهش درصد چربی شیر در مقایسه با شاهد می‌شود. Qui *et al.* (2004) افزایش مصرف مادهٔ خشک در گاوهای شیرده را با مصرف روغن ماهی در مقایسه با روغن سویا گزارش کردند. Whitlock *et al.* (2006) نشان دادند که استفاده از روغن ماهی سبب افزایش تولید شیر شد، اما مصرف مادهٔ خشک تحت تأثیر قرار نگرفت. به نظر می‌رسد اثر مکمل چربی بر مادهٔ خشک مصرفی به مقدار مکمل چربی در جیره، درجه غیراشباع‌بودن اسیدهای چرب در مکمل چربی و شکل مکمل چربی وابسته باشد. تأثیر جیره‌های غنی از منابع اسیدهای چرب امگا-۳ در اوایل شیردهی بر برخی جنبه‌های فیزیولوژیکی مانند اثر بر مقاومت به انسولین (Van Knegsel *et al.*, 2007; Bossaert *et al.*, 2008)، اثر بر اجسام کتونی و اسیدهای چرب غیراستریفیه خون (Pires *et al.*, 2007; Allen *et al.*, 2009)، اثر بر کبد چرب (Andersen *et al.*, 2005; Bossaert *et al.*, 2008) و اثر بر بهبود بازده تولیدمثلی (Galbreath *et al.*, 2008; Garnsworthy *et al.*, 2008) بررسی و مطالعه شده‌اند، اما در ارتباط با تأثیر مصرف روغن ماهی غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ بلند زنجیر در دورهٔ پیش از زایش، از اواسط دورهٔ خشکی و ادامهٔ مصرف آن تا اوج شیردهی مطالعه‌ای انجام نشده است. به همین دلیل، در پژوهش حاضر به بررسی تأثیر افزودن روغن ماهی به جیرهٔ پیش و پس از زایش بر مصرف مادهٔ خشک، تولید و ترکیبات شیر و فراسنجه‌های خونی مرتبط با سلامت در گاو هلشتاین پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

ده رأس گاو هلشتاین با دست‌کم یک بار زایش در آغاز دورهٔ خشکی پس از بررسی وضعیت سلامت، بر اساس دفعات زایش به دو گروه پنج رأسی تقسیم شدند. جیره‌های هر دو گروه بر اساس نیازمندی‌های گاو شیری (NRC, 2001) در دو دورهٔ پیش و پس از زایش به گونه‌ای تنظیم شدند که از لحاظ انرژی و پروتئین یکسان بوده و تنها تفاوت آن‌ها در نوع مکمل چربی دریافتی باشد: ۱) گروه PO؛ چربی اشباع پالم و ۲) گروه FO؛ منبع روغن ماهی، غنی از اسیدهای چرب بلندزنجیر امگا-۳ دریافت کردند. منبع روغن ماهی مادهٔ تجاری اپتومگا ۵۰[1] بود. این ماده ظاهری خشک و پودری دارد و تنها نیمی از آن را روغن ماهی تشکیل می‌دهد و بقیهٔ آن از ترکیبات حامل تشکیل شده است. ترکیب جیره و ترکیب مکمل‌های چربی در جدول‌های ۱، ۲ و ۳ ذکر شده‌اند. حیوانات در طول آزمایش در جایگاه‌های انفرادی نگهداری شدند. خوراک‌دهی در دو نوبت صبح و عصر انجام شد و مقدار خوراک مصرفی و باقی‌ماندهٔ خوراک روزانه ثبت گردید. نمونه‌های خوراک و باقی‌ماندهٔ آن هفتگی جمع‌آوری و برای تعیین مادهٔ خشک به آزمایشگاه ارسال شدند. گاوها پس از زایش در سه نوبت دوشیده شدند و به مدت هشت هفته مقدار شیر تولیدی در هر نوبت ثبت شد. تعیین ترکیبات شیر، توزین دام‌ها و تعیین نمرهٔ بدنی (Wildman *et al.*, 1982) هفتگی انجام شد. ترکیباتی همچون چربی، پروتئین، لاکتوز، کل مواد جامد شیر، SNF و اوره با لیزر-فتومتری تعیین و شمارش سلول‌های سوماتیک شیر با روش رنگ‌آمیزی DNA و شمارش میکروسکوپی انجام شدند (Allred *et al.*, 2006). با توجه به متغیر بودن شیر تولیدی و ترکیبات آن در هر نوبت، میانگین وزنی ترکیبات شیر نیز محاسبه گردید. علاوه بر این تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی (Erdman, 2011)، تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس مواد جامد بدون چربی شیر (Tyrrell & Reid, 1965) و تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی (Orth, 1992) نیز محاسبه شدند. توازن انرژی پس از زایش نیز بر اساس فرمول ارائه‌شده توسط (Loor *et al.*, 2005) محاسبه گردید. مدت آزمایش از شش هفته پیش از زایش تا ۶۳ روز پس از آن بود. مدت زمان پیش از زایش بر اساس مراحل ماموژنز (پسرفت و بازسازی پستان) انتخاب شد.

---

۱. 50 optomega ساخت شرکت optivite انگلستان.

جدول ۱. ترکیب جیره‌های آزمایشی برای دو گروه آزمایشی قبل و پس از زایش (بر اساس ماده خشک)

مادهٔ خوراکی	دورهٔ آبستنی		آمادهٔ زایش		تازه‌زا		شیردهی	
	PO	FO	PO	FO	PO	FO	PO	FO
یونجه	۷/۷۳	۷/۷۳	۳۲/۱۴	۳۲/۱۴	۲۸/۵۷	۲۸/۵۷	۱۹/۴۸	۱۹/۴۸
ذرت سیلوشده	۳۴/۳۴	۳۴/۳۴	۲۸/۲۱	۲۸/۲۱	۱۵/۸۷	۱۵/۸۷	۲۳/۹۹	۲۳/۹۹
کاه	۳۰/۵۸	۳۰/۵۸	–	–	–	–	–	–
تفالهٔ چغندر	–	–	–	–	۶/۵۷	۶/۵۷	۴/۳۳	۴/۳۳
دانهٔ جو	۶/۹۶	۶/۹۶	۱۱/۹۲	۱۱/۹۲	۱۴/۰۰	۱۴/۰۰	۱۴/۶۱	۱۴/۶۱
دانهٔ ذرت	–	–	۵/۹۵	۴/۹۵	۸/۰۰	۷/۷۵	۵/۲۲	۴/۹۶
کنجالهٔ سویا	–	–	۷/۵۲	۷/۵۲	۱۳/۵۰	۱۳/۵۰	۹/۳۹	۹/۳۹
کنجالهٔ کلزا	۶/۷۴	۶/۷۴	–	–	–	–	–	–
کنجالهٔ پنبه‌دانه	۵/۰۰	۵/۰۰	–	–	–	–	–	–
گلوتن	–	–	–	–	۱/۵۰	۱/۵۰	۱/۰۴	۱/۰۴
پودر گوشت	–	–	–	–	۰/۵۰	۰/۵۰	۱/۰۴	۱/۰۴
پنبه‌دانه	–	–	–	–	۳/۷۵	۳/۵۰	۲/۶۱	۲/۶۱
گندم	–	–	۳/۹۶	۴/۳۶	۲/۵۰	۲/۵۰	۵/۲۲	۵/۲۲
کنجالهٔ آفتابگردان	–	–	–	–	–	–	۶/۷۸	۶/۷۸
روغن ماهی اپتامگا–۵۰	–	۰/۶۰	–	۰/۸۰	–	۲/۰۰	–	۲/۰۸
پودر چربی اشباع	۰/۳۰	–	۰/۴۰	–	۱/۰۰	–	۱/۰۴	–
سبوس گندم	۶/۶۹	۶/۶۹	۵/۹۴	۶/۱۴	–	–	۰/۸۹	۰/۶۳
مکمل ویتامینی و معدنی	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۷۳	۰/۷۳
جوش شیرین	–	–	–	–	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۸۳	۰/۸۳
نمک	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۲۱	۰/۲۱
کربنات کلسیم	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۴۱	۰/۴۱
دی کلسیم فسفات	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۳۱	۰/۳۱
کلرور آمونیم	–	–	۱/۱۹	۱/۱۹	–	–	–	–
سولفات منیزیم	–	–	۰/۲۴	۰/۲۴	–	–	–	–
زئولیت	۰/۸۶	۰/۵۶	–	–	۰/۹۰	۰/۴۰	۱/۵۶	۱/۰۴
مکمل بیوتین	–	–	–	–	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۸	۰/۰۸
گلایکولاین	–	–	۱/۱۹	۱/۱۹	۱/۰۰	۱/۰۰	–	–
مایکوسورب	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۵	۰/۰۵
اکسید منیزیم	–	–	–	–	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۷	۰/۱۷
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
دیوارهٔ سلولی بدون همی‌سلولز (درصد)*	۵۲/۵۰	۵۲/۵۰	۳۷/۰۰	۳۷/۲۰	۳۲/۲۰	۳۲/۰۰	۳۱/۸۳	۳۲/۰۳
کربوهیدرات‌های غیرالیافی (درصد)	۲۲/۸۰	۲۲/۸۰	۳۷/۳۰	۳۷/۰۰	۳۷/۲۰	۳۷/۰۰	۳۶/۹۰	۳۷/۰۰
پروتئین خام (درصد)	۱۲/۵۰	۱۲/۵۰	۱۵/۰۰	۱۵/۰۰	۱۷/۴۰	۱۷/۳	۱۷/۱۰	۱۷/۲۰
چربی خام (درصد)	۲/۹۰	۲/۹۰	۳/۱۰	۳/۱۰	۴/۱۰	۴/۱۰	۳/۹۸	۴/۰۱
انرژی خالص شیردهی (مگاکالری بر کیلوگرم)	۱/۳۰	۱/۳۰	۱/۵۰	۱/۵۰	۱/۶۴	۱/۶۴	۱/۶۰	۱/۶۰
کلسیم (درصد)	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۸۴	۰/۸۷	۰/۸۳	۰/۸۲	۰/۹۱	۰/۹۲
فسفر (درصد)	۰/۳۳	۰/۳۳	۰/۴۳	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۴۹	۰/۵۰

PO: گروه دریافت‌کنندهٔ چربی اشباع پالم، FO: گروه دریافت‌کنندهٔ روغن ماهی

*محاسبه‌شده توسط نرم‌افزار

جدول ۲. ترکیب اسیدهای چرب موجود در چربی پالم

اسیدهای چرب عمده	درصد اسیدهای چرب (تقریبی)
C16:0	۷۱–۷۶
C18:0	۴–۶
C18:1	۱۳–۱۷
C18:2	۲–۴

جدول ۳. ترکیب اسیدهای چرب موجود در اپتومگا-۵۰

اسید چرب	درصد اسید چرب
C18:2	۴
C18:3	۲
C18:4	۲
C20:4	۲
C20:5	۸-۶
C22:5	۳
C22:6	۱۱-۹
مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه	۴۵
مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه	۳۳
مجموع اسیدهای چرب اشباع	۲۲

بر این اساس، در این زمان پسرفت فعال بافت پستان به پایان رسیده و دام در مراحل انتهایی پسرفت یکنواخت و بازسازی پستان قرار دارد. خون‌گیری از گاوها در روزهای (۹/۲±۴۲/۲)۴۲ و (۵/۸±۱۸/۱)۲۱ پیش از زایش مورد انتظار، روز زایش، ۲۱، ۴۲ و ۶۳ روز پس از زایش، پیش از خوراک‌دهی صبح، از طریق سیاهرگ دم و با استفاده از ونوجکت‌های تحت خلأ انجام گردید. نمونه‌های خون در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل و پس از لخته‌شدن، با سرعت ۱۰۰۰g (۳۰۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و سرم حاصله پس از جداسازی در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شد. نمونه‌ها با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و بر اساس دستورالعمل کیت مربوطه و توسط دستگاه plate reader مورد سنجش واقع شدند. مقادیر گلوکز، اوره، تری‌گلیسرید و کلسترول کل به روش آنزیمی-کالریمتری، HDL[1]-کلسترول به روش رسوب‌دهی، پروتئین کل به روش بیوره، آلبومین به روش رنگ‌سنجی (بروموکرزول گرین)، کراتینین به روش بیکربنات قلیا (واکنش JAFFE) و آنزیم‌های کبدی اگزالو استیک گلوتامیک ترانس آمیناز (SGOT) و پیرویک گلوتامیک ترانس آمیناز (SGPT) به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شدند. اسیدهای چرب غیراستریفیه (NEFA) و اسید بتا هیدروکسی بوتریک (BHBA) با استفاده از کیت‌های شرکت Randox کشور انگلستان با روش کالریمتریک و بر اساس دستورالعمل کیت مربوطه اندازه‌گیری شدند. ضریب تغییرات محاسبه‌شده برای گلوکز (۱/۴۳)، اوره (۱/۹۸)، تری‌گلیسرید (۶/۵)، کلسترول کل (۲/۹)، HDL- کلسترول (۲/۵)، پروتئین کل (۱/۰۵)، آلبومین (۱/۱۹)، کراتینین (۱/۸۳)، SGOT (۳/۱۱)، SGPT (۳/۴۴)، NEFA (۵/۶۶) و BHBA (۴/۸۴) بودند. نتایج با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخهٔ ۹/۱ و با رویهٔ MIXED برای داده‌های با اندازه‌گیری مکرر[2] آنالیز شدند. در این مدل جیره، دفعات زایش، زمان نمونه‌گیری و اثر متقابل آن دو به‌عنوان اثرات ثابت و گاوها در هر تیمار به‌عنوان اثرات تصادفی منظور شدند. سطح معناداری ۵٪ (P<۰/۰۵) در نظر گرفته شد. مدل ریاضی طرح به صورت زیر است:

$$y_{ijk}= \mu + T_i+ A(i)j + S_k+ (T\times S)_{jk}+ e_{ijk}$$

که در آن:

y_{ijk}= هر مشاهده از آزمایش؛ μ= میانگین جامعه؛ T_j= اثر تیمار؛ $A(i)j$= اثر تصادفی حیوان در تیمار؛ S_k= زمان نمونه‌گیری؛ $(T\times S)_{jk}$= اثر متقابل تیمار در زمان نمونه‌گیری و e_{ijk}= اثر باقی‌مانده یا خطای آزمایش می‌باشند. در این مدل جیره، زمان نمونه‌گیری و اثرمتقابل آن دو به‌عنوان اثرات ثابت و گاوها در هر تیمار به‌عنوان اثرات تصادفی منظور شدند. سطح معناداری (P<۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

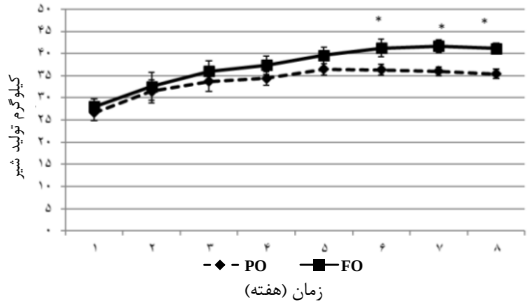
نتایج و بحث

نتایج تولید و ترکیب شیر، مادهٔ خشک مصرفی، وزن و امتیاز وضعیت بدنی در جدول ۴ و روند تغییرات توازن

1. High Density Lipoprotein- Cholestrol

2. Repeated Measurement

انرژی در شکل ۲ نشان داده شده است. با توجه به جدول مشاهده می‌گردد که در گروه FO مادهٔ خشک مصرفی، وزن، امتیاز وضعیت بدنی، تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی، تولید شیر تصحیح‌شده براساس مواد جامد بدون چربی و تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی در مقایسه با گروه PO تفاوت معنادار نداشتند (P>۰/۰۵)، اگرچه بیشتربودن میانگین تولید شیر در کل دوره برای گروه FO در مقایسه با گروه PO معنادار نبود، اما با عنایت به شکل ۱ ملاحظه می‌شود که تولید شیر از هفته ششم شیردهی به بعد در گروه دریافت‌کنندهٔ روغن ماهی افزایش معناداری یافته است (P<۰/۰۵). این نتایج در تأیید نتایج Whitlock *et al.* (2006) و Heravi Mousavi *et al.* (2007) است که با استفاده از روغن ماهی در جیره افزایش تولید شیر را مشاهده کردند، اما با نتایج مطالعهٔ Bharathan *et al.* (2008) که در آن‌ها تولید شیر چندان تحت تأثیر تیمار قرار نگرفت، هم‌خوانی ندارد. نسبت علوفه به کنسانتره، مرحلهٔ شیردهی و ترکیب جیره همگی متغیرهایی هستند که می‌توانند بر میزان تولید شیر در پاسخ به افزودن مکمل‌های چربی حاوی امگا-۳ نقش داشته باشند. در پژوهش حاضر، با توجه به بیشتربودن عددی مصرف مادهٔ خشک در گروه FO (حدود ۲ کیلوگرم)، شاید بتوان افزایش تولید شیر را به آن ربط داد، اگرچه هنوز در ارتباط با اینکه آیا مصرف خوراک بر تولید شیر اثر می‌گذارد یا اینکه متأثر از آن است، بحث و اختلاف نظر وجود دارد اما بر اساس تئوری تنظیم انرژی مصرفی، گاوها برای تأمین نیاز خود به انرژی غذا می‌خورند و بنابراین می‌توان مصرف خوراک را متأثر از تولید شیر دانست (NRC, 2001). افزایش مصرف خوراک، موجب می‌شود تا فراهمی گلوکز برای غدهٔ پستان، به منظور ساخت لاکتوز و تولید شیر افزایش یابد (Heravi Mousavi *et al.*, 2007). همچنین مشخص شده که اسیدهای چرب EPA[1] و DHA[2] موجود در روغن ماهی، روند بیوهیدروژنه شدن اسیدهای چرب غیراشباع کمتر از ۲۰ کربن را در شکمبه تغییر می‌دهند، به‌گونه‌ای که اسیدهای چرب واکنش‌پذیر شکل گرفته و الگوی تخمیر شکمبه‌ای در راستای افزایش پروپیونات (در مقایسه با استات) تغییر یابد. به این ترتیب فراهمی سوبستراهای گلوکوژنیک برای حیوان افزایش می‌یابد (Heravi Mousavi *et al.*, 2007; Shingfield *et al.*, 2011). همچنین می‌توان افزایش تولید شیر در گروه FO را ناشی از اثر مثبت اسیدهای چرب امگا-۳ موجود در روغن ماهی (EPA و DHA) بر حفظ سطوح طبیعی گلوکز خون و در نتیجه کاهش میزان گلوکونئوژنز کبدی دانست که موجب می‌شود اسیدهای آمینه جذب‌شده از روده کوچک، به جای مصرف‌شدن به عنوان سوبسترای گلوکونئوژنز کبدی، به مصرف ساخت پروتئین‌های بدن (شیر، کبد) برسند. از سوی دیگر از آنجا که افزودن روغن ماهی در جیره از دوران پیش از زایش آغاز گردید، احتمال می‌رود که باکتری‌های موجود در محیط شکمبه به تدریج به آن خوگرفته (Hashemi *et al.*, 2014) و به این ترتیب از تأثیرات منفی آن بر مصرف خوراک در دوران پس از زایش جلوگیری شده باشد. بازده تولید برای شیر و شیرهای تصحیح‌شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی، مواد جامد بدون چربی و انرژی بین دو گروه تفاوت معناداری نشان ندادند.



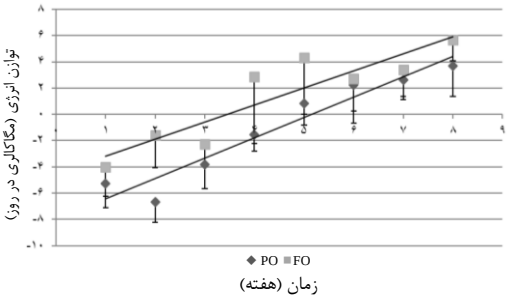
شکل ۱. روند تغییرات تولید شیر دو گروه آزمایشی در طول هشت هفته پس از زایش. PO: گروه مصرف‌کنندهٔ چربی پالم و FO: گروه مصرف‌کنندهٔ روغن ماهی. سطح معناداری (P< ۰/۰۵) در نظر گرفته شده است.

از بین ترکیبات شیر تنها درصد و مقدار چربی شیر بود که به‌طور معناداری (P<۰/۰۵) تحت تأثیر مصرف اسیدهای چرب امگا-۳ قرار گرفت و در گروه FO کاهش یافت. به‌طور معمول مکمل‌نمودن جیره با مکمل‌های غنی از اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه، موجب کاهش در میزان چربی شیر می‌شود (Boeckaert

1. Eicosapentaenoic acid
2. Docosahexaenoic acid

et al., 2008). اما Abu-Ghazaleh *et al*. (2009) با مصرف روغن ماهی اثر معناداری بر چربی شیر مشاهده نکردند. یکی از دلایل کاهش درصد چربی شیر می‌تواند کاهش گوارش‌پذیری دیوارهٔ سلولی در شکمبه و کاهش نسبت استات تولیدی باشد. افزایش ساخت ایزومر ترانس-۱۰ سیس-۱۲ اسیدلینولئیک مزدوج[1](CLA) در شکمبه نیز می‌تواند دلیل دیگری برای کاهش درصد چربی شیر گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های دارای مکمل روغن باشد (Fatahnia *et al*., 2007) چرا که افزودن منابع اسیدهای چرب بلندزنجیر غیراشباع به جیرهٔ گاوهای شیرده، تولید اسیدهای چرب ترانس (مانند اسید لینولئیک مزدوج و اسید واکسنیک) را در شکمبه (Palmquist, 2009) و در شیر (Weiss *et al*., 2013) افزایش می‌دهند که بر تولید چربی شیر تأثیرات سرکوب‌کننده دارند. این اثر خود به شکل مکمل چربی مصرفی بستگی دارد. افزایش غلظت گلوکز خون در گروه FO (شکل ۳) نشان‌دهندهٔ فراهمی بیشتر سوبستراهای گلوکوژنیک می‌باشد. از آنجا که پیشنهاد شده با مصرف روغن ماهی روند بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای به نفع تولید پروپیونات تغییر می‌کند، احتمال می‌رود علت کاهش چربی شیر در گروه FO در مطالعهٔ حاضر نیز تغییر روند تخمیر شکمبه‌ای (افزایش تولید پروپیونات و کاهش تولید استات) باشد. درصد و مقدار پروتئین شیر در بین دو گروه آزمایشی تفاوت معناداری نداشتند. نتایج به‌دست‌آمده برای درصد پروتئین شیر با نتایج Rego *et al*. (2005) مطابقت داشت. درصد و مقدار لاکتوز تحت تأثیر مکمل چربی قرار نگرفت. بر اساس مطالعات Jenkins & McGuire (2006) لاکتوز در مقایسه با پروتئین و چربی، کمتر تحت تأثیر تغییرات جیره قرار می‌گیرد و غلظت آن در شیر نسبتاً ثابت است. با استفاده از روغن ماهی در جیره، اختلاف معناداری در مقدار و درصد مواد جامد بدون چربی شیر و نیز درصد و مقدار کل مواد جامد شیر بین دو گروه مشاهده نگردید. Abu-Ghazaleh *et al*. (2009) با استفاده از منابع مختلف چربی تغییر محسوسی در درصد و مقدار کل مواد جامد شیر و نیز مواد جامد بدون چربی شیر مشاهده نکردند.

1. Conjugated Linoleic Acid



شکل ۲. روند تغییرات توازن انرژی دو گروه آزمایشی در طول هشت هفته پس از زایش. PO: گروه مصرف‌کنندهٔ چربی پالم و FO: گروه مصرف‌کنندهٔ روغن ماهی. سطح معناداری (P< ۰/۰۵) در نظر گرفته شده است. محاسبه‌شده بر اساس: Postpartum energy balance (EB =NEI - (NEM + NE LAC); Loor *et al*. (2005).

تعداد و امتیاز سلول‌های سوماتیک شیر (به ترتیب، P=۰/۰۶ و P<۰/۰۱) تحت تأثیر مصرف روغن ماهی قرار گرفته و کاهش چشم‌گیری نشان دادند که از تأثیر مثبت مصرف روغن ماهی بر سلامت پستان حکایت دارد. از طرف دیگر با توجه به غلظت آلبومین و گلوبولین سرم (جدول ۵) مشاهده می‌شود که غلظت گلوبولین سرم تحت تأثیر روغن ماهی در مقایسه با گروه PO افزایش عددی یافت. Haag *et al*. (2003) نشان دادند که اسیدهای چرب بلندزنجیر امگا-۳ قادرند بر فعالیت ATPase موجود در غشای قاعده‌ای جانبی سلول‌های پوششی روده تأثیر بگذارند. بنابراین احتمال دارد مصرف روغن ماهی موجب افزایش در بازده جذب اسیدهای آمینه از مخاط رودهٔ باریک شود. همچنین در این آزمایش مشاهده شد که نسبت آلبومین به گلوبولین سرم (شکل ۴) درگروه دریافت‌کنندهٔ روغن ماهی کاهش یافت که احتمال دارد نشانهٔ افزایش ایمنوگلوبولین‌های سرم باشد. با توجه به اینکه کبد مهم‌ترین اندام تولیدکنندهٔ پروتئین‌های پلاسماست، این احتمال وجود دارد که مصرف مکمل روغن ماهی با تأثیر بر این اندام و با حفظ اسیدهای آمینهٔ گلوکوژنیک از روند گلوکونئوژنز، موجب تغییر در روند تولید پروتئین‌های کبدی به سمت تولید بیشتر گلوبولین در مقایسه با آلبومین شده باشد. به نظر می‌رسد که تغییر در روند تولید پروتئین‌های خون در سطح بیان ژن‌های کبدی رخ می‌دهد (Grossi *et al*., 2013). از آنجا که گاماگلوبولین‌ها، پروتئین‌های مؤثر در کنش‌های سیستم ایمنی هستند، شاید بتوان پیشنهاد کرد که مصرف روغن ماهی توانسته وضعیت سیستم ایمنی بدن به‌ویژه غدهٔ

پستان را بهبود بخشد و در نتیجه بار میکروبی شیر کاهش یابد. برای تأیید این استدلال باید توان سامانهٔ ایمنی بدن به‌طور مستقیم در مطالعات آینده سنجیده شود.

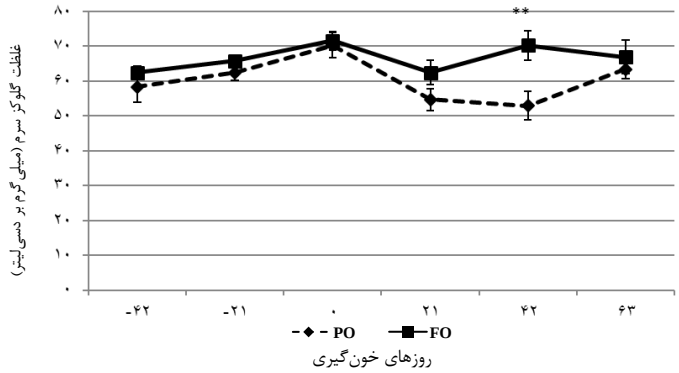
نتایج آنالیز بیوشیمیایی سرم خون گاوها در جدول ۵ نشان داده شده است. با توجه به جدول مشاهده می‌شود که غلظت کلسترول کل سرم با مصرف روغن ماهی کاهش معناداری (P<۰/۰۵) یافت که این امر نه به علت اختلاف در غلظت HDL- کلسترول بلکه به سبب کاهش معنادار در غلظت LDL-کلسترول (P<۰/۰۱) سرم بود. نسبت LDL به HDL نیز به‌طور معناداری برای گروه FO کمتر از گروه PO بود (P<۰/۰۱). گزارش شده که حداقل ۲۰ درصد از اسیدهای چرب موجود در روغن ماهی، دست‌نخورده از شکمبه عبور می‌کنند و به همین دلیل انتظار می‌رود که روغن ماهی در مقایسه با چربی اشباع یا روغن سویا کمتر کلستروژنیک باشد (Thomas *et al*., 1997). گزارش‌های بسیاری مبنی بر افزایش غلظت کلسترول خون در اثر مصرف مکمل‌های چربی اشباع وجود دارد (Hess *et al*., 2008; Herrera-Camacho *et al*., 2011). اما Robinson *et al*. (2002) نشان دادند که مکمل اسیدهای چرب امگا-۶ (روغن سویا) در مقایسه با اسیدهای چرب امگا-۳ (روغن کتان) موجب افزایش غلظت کلسترول کل پلاسما گردید.

جدول ۴. تولید، ترکیب و بازده تولید شیر و توازن انرژی در دو گروه آزمایشی طی هشت هفته پس از زایش (LSMeans±SEM)

		PO	FO	P Value	SEM	زمان	زمان×تیمار
وزن بدن (کیلوگرم)		۶۰۷/۹۵	۶۲۸/۸۷	۰/۵۴	۳۱/۰۶	<۰/۰۰۰۱	۰/۷۶
امتیاز وضعیت بدنی		۲/۹۷	۳/۲۸	۰/۸۳	۰/۲۰	<۰/۰۰۰۱	۰/۱۶
مادهٔ خشک مصرفی (کیلوگرم در روز)		۲۰/۲۶	۲۲/۴۳	۰/۲۳	۱/۶۵	۰/۰۰۰۹	۰/۸۲
تولید شیر (کیلوگرم در روز)		۳۳/۸۱	۳۷/۱۹	۰/۱۸	۲/۱۷	<۰/۰۰۰۱	۰/۵۱
تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی (کیلوگرم در روز)[1]		۳۴/۹۷	۳۵/۰۳	۰/۹۷	۱/۵۲	۰/۷۸	۰/۱۵
تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس مواد جامد بدون چربی (کیلوگرم در روز)[2]		۳۲/۱۴	۳۲/۵۷	۰/۷۸	۱/۴۷	۰/۴۴	۰/۱۶
تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی (کیلوگرم در روز)[3]		۳۴/۸۳	۳۵/۶۱	۰/۶۳	۱/۵۱	۰/۸۰	۰/۱۲
چربی شیر	درصد	۳/۷۱	۳/۳۱	۰/۰۴	۰/۱۵	۰/۰۱	۰/۰۷
	کیلوگرم	۱/۲۸	۱/۱۳	۰/۰۲	۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۰۷
پروتئین شیر	درصد	۳/۱۳	۳/۱۱	۰/۷۵	۰/۰۹	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۵
	کیلوگرم	۱/۰۷	۱/۱۲	۰/۵۸	۰/۰۸	۰/۰۱	۰/۱۰
لاکتوز شیر	درصد	۴/۷۷	۴/۷۵	۰/۷۷	۰/۰۵	۰/۰۰۶	۰/۲۴
	کیلوگرم	۱/۶۵	۱/۷۲	۰/۵۰	۰/۱۰	<۰/۰۰۰۱	۰/۳۹
مواد بدون چربی شیر	درصد	۸/۶۸	۸/۶۵	۰/۸۱	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۳۷
	کیلوگرم	۲/۹۹	۳/۱۳	۰/۴۱	۰/۱۶	۰/۰۰۳	۰/۴۳
کل مواد جامد شیر	درصد	۱۲/۲۷	۱۱/۸۸	۰/۲۰	۰/۲۸	<۰/۰۰۰۱	۰/۱۹
	کیلوگرم	۴/۱۹	۴/۲۸	۰/۶۸	۰/۲۱	۰/۰۰۲	۰/۲۱
ازت اوره‌ای شیر (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)		۱۴/۰۰	۱۵/۳۳	۰/۰۷	۰/۶۰	۰/۲۳	۰/۹۰
تعداد سلول‌های سوماتیک (×۱۰۰۰بر میلی‌لیتر)		۲۲۵/۰۳	۳۹/۷۸	۰/۰۶	۸۰/۱۶	۰/۸۰	۰/۷۰
امتیاز سلول‌های سوماتیک[4]		۳/۱۷	۰/۹۶	۰/۰۱	۰/۶۱	۰/۲۰	۰/۲۸
بازده تولید برای شیر		۱/۷۲	۱/۶۶	۰/۵۷	۰/۱۱	۰/۴۲	۰/۶۶
بازده تولید برای FCM		۱/۷۹	۱/۵۹	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۰۵	۰/۸۲
بازده تولیدبرای SCM		۱/۶۴	۱/۴۸	۰/۱۴	۰/۱۰	۰/۰۲	۰/۸۹
بازده تولید برایECM		۱/۷۸	۱/۶۱	۰/۱۱	۰/۰۹	۰/۰۳	۰/۸۰
توازن انرژی (مگاکالری در روز)[5]		−۱/۰۰	۱/۳۸	۰/۱۸	۱/۶۲	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۹

PO: گروه مصرف‌کنندهٔ چربی پالم و FO: گروه مصرف‌کنندهٔ روغن ماهی. سطح معناداری (P< ۰/۰۵) در نظر گرفته شده است.

1. FCM= (0.4318 × Kg milk) + (16.23× Kg fat), Erdman (2011).
2. SCM=12.3(kg Fat) + 6.56(kg SNF) - 0.0752(kg milk), Tyrrell & Reid (1965).
3. ECM = [(0.327 × kg milk) + (12.95 × kg fat) + (7.2 × kg protein)], Orth, (1992).
4. Somatic Cell Score: SCS = ((LOG10× (SCC/1000)-20)/LOG10 (2)) +3, Ordway *et al*. (2002).
5. Postpartum energy balance (EB =NE_I - (NE_M + NE_{LAC}), Loor *et al*. (2005).



شکل ۳. نمودار تغییرات غلظت گلوکز سرم طی شش نوبت خون‌گیری (۴۲ و ۲۱ روز پیش از زایش، زمان زایش و ۲۱، ۴۲ و ۶۳ روز پس از زایش). PO: گروه دریافت‌کنندهٔ چربی اشباع پالم؛ FO: گروه دریافت‌کنندهٔ روغن ماهی. ** سطح معناداری (P<۰/۰۱).

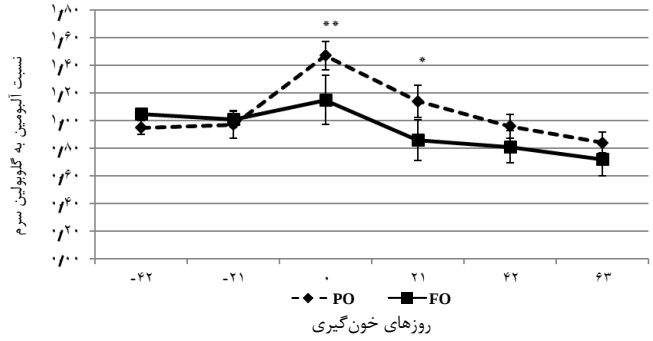
جدول ۵. غلظت فراسنجه‌های خونی در بین دو گروه آزمایشی طی ۴۲ روز پیش از زایش تا ۶۳ روز پس از زایش (LSMeans±SEM)

فراسنجه‌های خونی	جیره		P Value	SEM	زمان	زمان× تیمار
	PO	FO				
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۶۰/۹۱	۶۵/۹۸	۰/۲۱	۲/۷۹	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱
NEFA (میلی‌مول بر لیتر)	۰/۴۰	۰/۳۵	۰/۴۲	۰/۰۷	۰/۰۰۰۳	۰/۶۰
BHBA (میلی‌مول بر لیتر)	۰/۶۰	۰/۵۶	۰/۶۴	۰/۰۸	۰/۰۵	۰/۸۹
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۹۲/۱۸	۹۳/۷۳	۰/۳۹	۱/۴۴	<۰/۰۰۰۱	۰/۴۳
کلسترول تام (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۳۲/۸۷	۱۰۶/۷۹	۰/۰۴	۸/۵۴	<۰/۰۰۰۱	۰/۱۲
HDL-کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۷۳/۵۲	۶۹/۵۵	۰/۳۹	۴/۱۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۶۹
LDL-کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۴۰/۹۵	۱۸/۶۱	۰/۰۰۶	۴/۲۴	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۱
نسبت LDL به HDL	۰/۵۳	۰/۲۹	۰/۰۱	۰/۰۶	۰/۰۱	۰/۱۳
SGOT (واحد بین‌المللی بر لیتر)[1]	۶۰/۱۲	۵۰/۲۲	۰/۱۷	۴/۶۶	۰/۰۰۰۱	۰/۷۰
SGPT (واحد بین‌المللی بر لیتر)[2]	۲۲/۱۲	۱۸/۶۲	۰/۴۵	۳/۷۴	۰/۰۰۰۲	۰/۸۸
نیتروژن اوره‌ای خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۸/۳۳	۱۷/۹۰	۰/۸۱	۱/۶۱	۰/۰۵	۰/۳۲
پروتئین تام (گرم بر دسی‌لیتر)	۷/۷۵	۸/۲۹	۰/۱۵	۰/۲۴	۰/۰۰۰۱	۰/۶۸
آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر)	۳/۹۰	۳/۸۰	۰/۶۱	۰/۱۶	۰/۰۳	۰/۶۸
گلوبولین (گرم بر دسی‌لیتر)	۳/۸۳	۴/۴۷	۰/۳۰	۰/۴۶	<۰/۰۰۰۱	۰/۳۳
نسبت آلبومین به گلوبولین	۱/۰۷	۰/۹۲	۰/۱۶	۰/۰۶	<۰/۰۰۰۱	۰/۱۸
کراتینین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱/۱۱	۱/۱۰	۰/۹۳	۰/۰۳	<۰/۰۰۰۱	۰/۸۴

PO: گروه دریافت‌کنندهٔ چربی اشباع پالم، FO: گروه دریافت‌کنندهٔ روغن ماهی. سطح معناداری (P=۰/۰۵) در نظر گرفته شده است.

۱. آنزیم ترانس آمیناز اگزالو استیک گلوتامیک سرم یا آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)

۲. آنزیم ترانس آمیناز پیرویک گلوتامیک سرم یا آلانین ترانسفراز (ALT)



شکل ۴. نمودار تغییرات نسبت آلبومین به گلوبولین سرم طی شش نوبت خون‌گیری (۴۲ و ۲۱ روز پیش از زایش، زمان زایش و ۲۱، ۴۲ و ۶۳ روز پس از زایش). PO: گروه دریافت‌کنندهٔ چربی اشباع پالم؛ FO: گروه دریافت‌کنندهٔ روغن ماهی. * * و * به‌ترتیب سطح معناداری P<۰/۰۱ و P<۰/۰۵.

اسیدهای چرب غیراستریفیه (NEFA) و بتا هیدروکسی بوتیرات (BHB) خون به ترتیب به منظور پایش توازن منفی انرژی و کتوزیس تحت بالینی در گله‌ها ارزیابی می‌شوند (Stokol & Nydam, 2006). در آغاز شیردهی در گاوهای شیری، به‌طور معمول دوره‌ای از توازن منفی انرژی وجود دارد که با افزایش اسیدهای چرب غیراستریفیه و کتون‌ها و کاهش گلوکز و انسولین خون مشخص می‌شود. اگرچه کاهش در مقادیر گلوکز و انسولین خون می‌تواند از طریق افزایش لیپولیز در بافت چربی و افزایش گلوکونئوژنز کبدی جبران شود، اما هر دوی این فرآیندها موجب تشدید کتوزیس خواهند شد. بنابراین تأمین مکمل‌های حاوی گلوکز یا پیش‌سازهای گلوکز یا تغییر متابولیسم حیوان در جهت صرفه‌جویی گلوکز خون، همگی می‌توانند تأثیرات مفیدی بر مقدار کتون‌های خون و نیز مقدار تری‌گلیسرید کبدی داشته باشند (Grummer & Carroll, 1991). چنان‌که از نتایج ارائه‌شده در جدول ۵ بر می‌آید، مصرف روغن ماهی موجب تغییر معنادار در غلظت NEFA و BHBA سرم نشد؛ اگرچه در گروه FO در مقایسه با گروه PO کاهش عددی نشان داد. Heravi Mousavi *et al.* (2007) با تغذیهٔ گاوهای شیری با نمک‌های کلسیمی اسیدهای چرب روغن ماهی تغییری در میزان NEFA و BHBA پلاسما مشاهده نکردند. از طرفی کاهش در غلظت NEFA خون با استفاده از روغن ماهی و دیگر منابع حاوی اسیدهای چرب امگا-۳ مانند دانهٔ کتان در دوران پیش و پس از زایش گاو شیری در برخی مطالعات گزارش شده‌اند (Ballou *et al.*, 2009; Petit, 2003). سازوکار دقیق این کاهش ملایم در NEFA خون گاوهایی که مکمل چربی دریافت نموده‌اند هنوز مشخص نشده است و بعید به نظر می‌رسد که تنها به علت بهبود وضعیت انرژی در حیوان باشد. بسیج شدید ذخایر چربی موجب تجمع تری‌گلسیرید در کبد می‌شود که گلوکونئوژنز و اورئوژنز را در گاو کاهش می‌دهد و حیوان را مستعد ابتلا به سایر اختلالات متابولیکی می‌نماید (Brickner *et al.*, 2009). علاوه بر این به واسطهٔ تجمع بیش از حد تری‌گلیسرید در سلول‌های کبدی، کنش طبیعی این سلول‌ها مختل می‌شود. افزایش بیش از حد حجم سلول‌های کبدی در پی ذخیره بیش از اندازهٔ چربی نیز می‌تواند موجب آسیب‌دیدن غشای سلول و پارگی آن و در نتیجه افزایش غلظت SGOT و SGPT در خون شود. این دو آنزیم، آنزیم‌های درون‌سلولی موجود در کبد، ماهیچه، و سلول‌های با فعالیت متابولیکی شدید هستند که در پی جراحت یا مرگ سلولی در جریان خون آزاد می‌شوند (Archer, 2005). تغییر در غلظت پلاسمایی این ترکیبات نشان از تغییر در متابولیسم و فعالیت کبدی این آنزیم‌ها به واسطهٔ آسیب‌های کبدی دارد. همان‌گونه که در جدول ۵ نیز مشاهده می‌شود مصرف روغن ماهی موجب کاهش عددی غلظت آنزیم‌های کبدی SGOT و SGPT شد. با تغذیه اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳ و امگا-۶ به مدت ۳۰ روز به موش‌های کوچک آزمایشگاهی، غلظت پروتئین کل پلاسما افزایش یافت و در فعالیت SGOT نیز کاهش مشاهده شد که نشان از وضعیت بهتر سلامت موش‌ها داشت (Roy *et al.*, 2007).

به‌طور کلی با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان گفت که با آغاز مصرف روغن ماهی در دورهٔ خشکی در گاو شیری، به دلیل انطباق تدریجی محیط شکمبه با آن از افت مصرف خوراک جلوگیری می‌شود. در عین حال می‌توان از آثار سودمند بیولوژیکی اسیدهای چرب امگا-۳ بلندزنجیر موجود در روغن ماهی (EPA و DHA) در بهبود سلامت پستان و توان تولید دام بهره برد. به این ترتیب دام علاوه بر حفظ تولید شیر در حد مطلوب، با سلامت بیشتری با چالش‌های متابولیکی فراوان موجود در حوالی زمان زایش مواجه شده و آن‌ها را پشت سر می‌گذارد.

REFERENCES

1. Abu-Ghazaleh, A.A., Potu, R. B. & Ibrahim, S. (2009). Short communication: The effect of substituting fish oil in dairy cow diets with docosahexaenoic acid-micro algae on milk composition and fatty acids profile. *Journal of Dairy Science*, 92, 6156-6159.
2. Allen, M., Bradford, B. & Oba, M. (2009).The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *Journal of Animal Science*, 87, 3317-3334.
3. Allred, S. L., Dhiman, T. R., Brennand, C. P., Khanal, R. C., McMahon, D. J. & Luchini, N. D. (2006). Milk and cheese from cows fed calcium salts of palm and fish oil alone or in combination with soybean products. *Journal of Dairy Science*, 89, 234-248.

4. Andersen, J. B., Madsen, T. G., Larsen, T., Ingvartsen, K. L. & Nielsen, M. O. (2005). The effects of dry period versus continuous lactation on metabolic status performance in periparturient cows. *Journal of Dairy Science*, 88, 3530-3541.
5. Archer, G. S. (2005). Reducing stress in sheep by feeding the seaweed *Ascophyllum Nodosum*.Doctora thesis. Texas university, USA.
6. Ballou, M. A., Gomes, R. C., Junchem, S. O. & DePeters, E. J. (2009). Effects of dietary supplemental fish oil during the peripartum period on blood metabolites and hepatic fatty acid compositions and total triacylglycerol concentrations of multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 657-669.
7. Bharathan, M., Schingoethe, D. J., Hippen, A.R., Kalscheur, K. F., Gibson, M.L. & Karges, K. (2008). Conjugated linoleic acid increases in milk from cows fed condensed corn distillers solubles and fish oil. *Journal of Dairy Science*, 91, 2796-2807.
8. Boeckaert, C., Vlaeminck, B., Dijkstra, J., Issa-Zacharia, A., Van Nespen, T., Van Straalen, W. & Fievez, V. (2008). Effect of dietary starch or micro algae supplementation on rumen fermentation and milk fatty acid composition of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91, 4714-4727.
9. Bossaert, P., Leroy, J. L. M. R., De Vliegher, S. & Opsomer, G. (2008). Interrelations between glucose-induced insulin response, metabolic indicators, and time of first ovulation in high-yielding dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91, 3363-3371.
10. Brickner, A. E., Pires, J. A. A., Gressley, T. F. & Grummer, R. R. (2009). Effects of abomasal lipid infusion on liver triglyceride accumulation and adipose lipolysis during fatty liver induction in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 4954-4961.
11. Butler, G., Stergiadis, S., Seal, C., Eyre, M. & Leifert, C. (2011). Fat composition of organic and conventional retail milk in northeast England. *Journal of Dairy Science*, 94, 24-36.
12. Erdman, R. A. (2011). Benchmark Dairy Feed Efficiency. *Feedstuffs*, 82, 16-19.
13. Fatahnia, F., Nikkhah, A. & Zamiri, M. J. (2007). Effect of dietary omega-3 and omega-6 fatty acids sources on milk production and composition of Holstein cows in early lactation. *Pakistanian Journal of Biological Science*, 10, 575-582.
14. Galbreath, C. W., Scholljegerdes, E. J., Lardy, G. P., Odde, K. G., Wilson, M. E., Schroeder, J. W. & Vonnahme, K. A. (2008). Effect of feeding flax or linseed meal on progesterone clearance rate in ovariectomized ewes. *Domestic Animal Endocrinology*, 35,164-169.
15. Garnsworthy, P. C., Gong, J. G., Armstrong, D. G., Newbold, J. R., Marsden, M., Richards, S. E., Mann, G. E., Sinclair, K. D. & Webb, R. (2008). Nutrition, metabolism, and fertility in dairy cows: 3. Amino acids and ovarian function. *Journal of Dairy Science*, 91, 4190-4197.
16. Grossi, P., Bertoni, G., Piccioli Cappelli, F. & Trevisi, E. (2013). Effect of the precalving administration of omega-3 fatty acids alone or in combination with acetylsalicylic acid in periparturient dairy cows. *Journal of Animal Science*, 91, 2657-2666.
17. Grummer, R. R. & Carroll, D. J. (1991). Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 69, 3838-3852.
18. Haag, M., Magada, O. N., Claassern, N., Bohmer, L. H. & Kruger, M. C. (2003). Omega-3 fatty acids modulate ATPase involved in duodenal Ca absorption. *Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids*, 68, 423-429.
19. Hashemi, S., Dehghan banadaki, M., Ganjkhanlu, M., Zali, A. & Kohram, H. (2014). Comparison of different sources of fatty acids in close up period on ovarian cycle activity and blood parameters of primiparous Holstein dairy cows. *Journal of Ruminant Research*, 1, 1-18. (In Farsi)
20. Heravi Mousavi, A. R., Gilbert, R.O., Overton, T. R., Bauman, D. E. & Butler, W. R. (2007). Effects of feeding fish meal and n-3 fatty acids on milk yield and metabolic responses in early lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 136-144.
21. Herrera-Camacho, J., Soberano-Martinez, A., Duran, K. E. O., Aguilar- Perez, C. & Ku-Vera, J. C. (2011). Effect of fatty acids on reproductive performance of ruminants. M. Manafi (Ed.). *Veterinary Medicine Science*. Chapter 13. Artificial insemination in farm animals. ISBN 978-953-307-312-5.
22. Hess, B.W., Moss, G.E. & Rule, D.C. (2008). A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *Journal of Animal Science*, 86, E188-E204.
23. Jenkins, T. C. & McGuire, M. A. (2006). Major advances in nutrition: Impact on milk composition. *Journal of Dairy Science*, 89, 1302-1310.
24. Loor, J. J., Dann, H. M., Everts, R. E., Oliveira, R., Green, C. A., Janovick Guretzky, N. A., Rodriguez-zas, S. L., Lewin, H. A. & Dracklet, J. K. (2005). Temporal gene expression profiling of liver from periparturient dairy cows reveal complex adaptive mechanisms in hepatic function. *Phsiological Genomics*, 23, 217-226.
25. Mattos, R., Staples, C. R., Arteche, A., Wiltbank, M. C., Diaz, F. J., Jenkins, T. C. & Thatcher, W. W. (2004). The effects of feeding fish oil on uterine secretion of PGF2α, milk composition, and metabolic status of periparturient Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 921-932.

26. National Research Council. (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Rev. ed, *National Academic Science*, Washington, DC.
27. Ordway, R. S., Ishler, V. A. & Varga, G. A. (2002). Effects of sucrose supplementation on dry matter intake, milk yield, and blood metabolites of periparturient Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85,879-888.
28. Orth, R. (1992). Sample Day and Lactation Report. *DHIA 200 Fact Sheet A-2*. Mid-States DRPC, Ames, IA.
29. Palmquist, D. L. (2009). Omega-3 fatty acids in metabolism, health, and nutrition and for modified animal product foods. (2009). *The Professional Animal Scientist*, 25, 207-249.
30. Petit, H. V. (2003). Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed formaldehyde treated flaxseed or sunflower seed. *Journal of Dairy Science*, 86, 2637-2646.
31. Pires, J., Pescara, J. & Grummer R. (2007). Reduction of plasma NEFA concentration by nicotinic acid enhances the response to insulin in feed-restricted Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 4635-4642.
32. Qui, X., Estridge, M. L. & Firkins, J. L. (2004). Effects of dry matter intake, addition of buffer and source of fat on duodenal flow and concentration of conjugated linoleic acid and trans-11 C18:1 in milk. *Journal of Dairy Science*, 87, 4278-4286.
33. Rego, O., Rosa, H., Portugal, P., Cordeiro, R., Borba, A., Vouzela, C. & Bessa, R. J. B. (2005). Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid, omega-3 and other fatty acids in milk fat from grazing dairy cows. *Livestock Production Science*, 95, 27-33.
34. Robinson, R. S., Pushpakumara, P. G. A., Cheng, Z., Peters, A. R., Abayasekara, D. R. E. & Wathes, D. C. (2002). Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction*, 124,119-131.
35. Roy, R., Chandrasekhar, D. & Pujari, P. (2007). Dietary fish oil as hepatoprotective agent in *Mus musculus*. *Indian Journal of Experimental Biology*, 45, 367-370.
36. Shingfield, J., Ahvenjarvi, S., Toivoven, V., Arola, A., Nurmela, K. V., Huhtanen, P. & Griinari, J. M. (2003). Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Journal of Animal Science*, 77, 165-179.
37. Shingfield, K.J., Lee, M. R. F., Humphries, D. J., Scollan, N. D., Toivoven, V., Beever, D. E. & Reynolds, C. K. (2011). Effect of linseed oil and fish oil alone or as an equal mixture on ruminal fatty acid metabolism in growing steers fed maize silage- based diets. *Journal of Animal Science*, 89, 3728-3741.
38. Stokol, T. & Nydam, D. V. (2006). Effect of hemolysis on nonesterified fatty acid and β- hydroxybutyrate concentrations in bovine blood. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18, 466-469.
39. Thomas, M. G., Bao, B. & Williams, G. L. (1997). Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. *Journal of Dairy Science*, 75, 2512-2519.
40. Tyrrell, H. F. & Reid, J. T. (1965). Prediction of the energy value of cow's milk. *Journal of Dairy Science*, 48, 1215-1223.
41. Van Knegsel, A., Van den Brand, H., Dijkstra, J., Van Straalen, W., Heetkamp, M., Tamminga, S. & Kemp, B. (2007). Dietary energy source in dairy cows in early lactation: energy partitioning and milk composition. *Journal of Dairy Science*, 90, 1467-1476.
42. Weiss, W. P., Shoemaker, D. E., McBeth, L. R. & St-Pierre, N. R. (2013). Effects on lactating dairy cows of oscillating dietary concentrations of unsaturated and total long-chain fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 96, 506-514.
43. Whitlock, L. A., Schingoethe, D. J., Abu-Ghazaleh, A. A., Hippen, A. R. & Kalscheur, K. F. (2006). Milk production and composition from cows fed small amounts of fish oil with extruded soybean. *Journal of Dairy Science*, 89, 3972-3980.
44. Wildman, E. E., Jones, G. M., Wagner, P. E., Boman, R. L., Troutt, H. F. & Lesch, T. N. (1982). A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of Dairy Science*, 65, 495-501.