Iranian Journal of Animal Science
Vol 53, No 3, Autumn 2022 (171-186)
DOI: 10.22059/ijas.2022.338034.653869

علوم دامی ایران
دورهٔ ۵۳، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۴۰۱ (ص ۱۸۶-۱۷۱)

مقاله پژوهشی:

آثار افزودن اسید لینولئیک کنژوگه شده در جیره‌های با سطوح متفاوت NDF علوفه‌ای بر عملکرد تولیدی، متابولیت‌های سرم و شاخص عملکرد کبد در گاوهای تازه‌زای هلشتاین

حمید امانلو[۱]، طاهره امیرآبادی فراهانی[۲] و نجمه اسلامیان فارسونی[۳*]
۱. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۲. استادیار، علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳. استادیار پژوهشی بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۹ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱/۶)

چکیده

هدف از پژوهش حاضر ارزیابی آثار افزودن اسید لینولئیک کنژوگه شده (Conjugated linoleic acid; CLA) در جیره‌ها با سطوح متفاوت NDF علوفه‌ای (Forage NDF;fNDF) بر عملکرد و متابولیت‌های سرم گاوهای تازه‌زای هلشتاین بود. چهل رأس گاو هلشتاین چند بار زایش براساس امتیاز وضعیت بدنی در زمان زایش و تولید شیر معادل بلوغ ۳۰۵ روز بلوک‌بندی شدند و به‌طور تصادفی به یکی از ٤ تیمار آزمایشی اختصاص یافتند. تیمارها در یک آرایش فاکتوریل ۲×۲ با ۲ سطح fNDF (۱۸ در برابر ۲۳ درصد) و ۲ سطح مکمل CLA (بدون CLA در برابر ۲۰۰ گرم مکمل CLA) مرتب شدند؛ انواع جیره‌ها شامل جیره با fNDF پایین بدون افزودن CLA (18fNDF - CLA)؛ جیره با fNDF پایین با افزودن CLA (18fNDF + CLA)؛ جیره با fNDF بالا بدون افزودن CLA (23fNDF - CLA) وجیره با fNDF بالا با افزودن CLA (23fNDF+CLA) بودند. اثر متقابلی بین CLA و سطوح fNDF بر عملکرد و متابولیت‌های سرم طی ۲۱ روز اول پس از زایش وجود نداشت ($P>0.05$). ماده خشک مصرفی تا ۱/۵ کیلوگرم با جیره 18fNDF در مقایسه با 23FNDF افزایش یافت ($P<0.01$)، درحالی‌که افزودن CLA ماده خشک مصرفی را تا ۱/۱۵ کیلوگرم در روز در مقایسه با جیره‌های بدون CLA کاهش داد ($P<0.01$). گاوهای تغذیه‌شده با جیره 23fNDF وزن بدن بیش‌تری در مقایسه با گاوهای تغذیه‌شده با 18fNDF از دست دادند ($P=0.01$). تولید شیر گاوهای 18fNDF در مقایسه با گاوهای 23fNDF بالاتر بود ($P<0.01$). گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی CLA شیر بیش‌تر، درصد چربی شیر پایین‌تر و درصد لاکتوز بالاتری تولید کردند ($P<0.05$). گلوکز سرم گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی CLA بالاتر بود ($P<0.01$). گاوهای تغذیه‌شده با 18fNDF غلظت‌های سرمی NEFA و BHBA پایین‌تری در مقایسه با 23fNDF داشتند ($P<0.05$)، اما مکمل CLA غلظت NEFA و BHBA سرم را تحت تاثیر قرار نداد ($P>0.05$). درمجموع، کاهش NDF علوفه‌ای در جیره گاوهای تازه‌زا منجر به بهبود خوراک مصرفی و عملکرد تولیدی شد. افزودن CLA در جیره گاوهای تازه‌زا منجر به صرفه‌جویی در گلوکز از طریق کاهش ساخت‌چربی، افزایش درصدلاکتوز و تولید شیر شد.

واژه‌های کلیدی: توازن انرژی، درصد چربی شیر، گاوهای شیری تازه‌زا، ماده خشک مصرفی.

Effects of CLA supplementation in diets with different levels of forage NDF on performance, serum metabolites and liver functionality in Holstein fresh cows

Hamid Amanlou[1], Tahere Amirabadi Farahani[2] and Najme Eslamian Farsuni[3*]
1. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
2. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
3. Assistant Professor, Department of Animal Science, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shahrekord, Iran
(Received: Jan. 29, 2022 - Accepted: Mar. 26, 2022)

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of CLA supplementation in diets with different levels of forage NDF on performance, serum metabolites and liver functionality in Holstein fresh cows. Forty Cows were blocked based on their body condition score at calving and 305-d mature-equivalent milk yield, and randomly allocated to 1 of 4 experimental diets from calving to 21 days in milk (DIM). Treatments were used in a 2×2 factorial arrangement with 2 levels of fNDF and 2 doses of CLA supplement; Treatments were formulated to contain 18.0 or 23.0% fNDF without or with CLA supplement for diets 18fNDF-CLA, 18fNDF+CLA, 23fNDF-CLA and 23fNDF+ CLA. There was no effect of fNDF by CLA interaction on investigated items. Dry matter intake increased up to 1.5 kg with 18fNDF diet compared to 23FNDF ($P<0.01$), while the addition of CLA reduced the dry matter intake to 1.15 kg/d compared to diets without CLA supplementation ($P<0.01$). Cows fed 23fNDF diet lost more body weight than those fed 18fNDF. Milk yield was higher for cows fed 18fNDF than 23fNDF ($P<0.01$). Cows fed diets containing CLA produced more milk, lower milk fat percentage, and higher lactose content. ($P<0.05$). Serum glucose was higher in cows fed CLA-containing diets ($P<0.01$). Cows fed 18fNDF had lower serum concentrations of NEFA and BHBA compared to those fed 23fNDF ($P<0.05$), but CLA supplementation did not affect serum NEFA and BHBA ($P>0.05$). ($P<0.05$). In general, the reduction of forage NDF in the diet of fresh cows led to improved feed intake and production performance. Addition of CLA to the diet of fresh cows led to glucose savings by reducing fat synthesis, increasing lactose content and milk production.

Keywords: Dry mater intake, Energy balance, Fresh dairy cows, Milk fat percentage.

* Corresponding author E-mail: n.e.farsuni@gmail.com

مقدمه

پس از زایش، گاوها نمی‌توانند انرژی خارج‌شده از طریق شیر را به علت ماده خشک مصرفی محدود جبران کنند (Kokkonen *et al*., 2005) که این امر به افزایش بسیج ذخایر بدنی و توازن منفی انرژی منجر خواهد شد که با افزایش بروز ناهنجاری‌های متابولیک همراه است. بیشینه کردن انرژی مصرفی و کاهش خروج انرژی از طریق شیر، دو راهکاری هستند که به طور عمده برای کاهش شدت و مدت توازن منفی انرژی استفاده می‌شوند. افزایش مصرف انرژی به‌وسیله خوراندن جیره‌های پر غلات یا افزودن مکمل‌های چربی ممکن است که این فرآیند با افزایش خطر اسیدوز شکمبه‌ای و یا کاهش خوراک مصرفی همراه باشد (Kay *et al*., 2006). چربی شیر به لحاظ انرژی گران‌ترین ترکیب شیر است که تقریبا ۵۰ درصد از انرژی شیر را شامل می‌شود و تا ۳۵ درصد از انرژی مصرفی در اوایل دوره شیردهی به‌حساب می‌آید (Kay *et al*., 2006). کاهش در تولید و دفع چربی شیر در سطح پستان می‌تواند منجر به صرفه‌جویی انرژی برای استفاده‌های دیگر مانند تولید شیر، تولید دیگر ترکیبات شیر و یا رشد بدن شود. همان‌طوری که توسط برخی از پژوهشگران گزارش شده است (Piantoni *et al*., 2014)، یک راهکار احتمالی برای بهبود مصرف انرژی و کاهش خروج انرژی شیر از طریق کاهش دادن چربی شیر می‌تواند کاهش NDF علوفه‌ای در جیره‌های گاو تازه‌زا باشد(NRC, 2001; Piantoni *et al*., 2015). یک راهکار دیگر برای کاهش انرژی خروجی شیر از طریق کاهش دادن چربی شیر، افزودن اسید لینولئیک کنژوگه به جیره گاو در دوره انتقال است (Schlegel *et al*., 2012). با توجه به ویژگی کاهش‌دهنده چربی شیر در جیره‌ها با NDF علوفه‌ای پایین و افزودن CLA، هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر متقابل fNDF با افزودن CLA در جیره‌های گاو تازه‌زا بود. فرض بر این است که کاهش fNDF همراه با افزودن مکمل CLA در جیره گاوهای تازه‌زا ممکن است با افزایش ماده خشک و انرژی مصرفی و تشدید در کاهش چربی شیر به بهبود توازن منفی انرژی (Negative energy balance: NEB) منجر شود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در قالب یک طرح بلوک کامل تصادفی نامتعادل در مزرعه گاو شیری فکا (شرکت کشت و صنعت و دامپروری فکا، اصفهان، ایران) از خرداد تا مرداد سال ۱۳۹۴ انجام شد. مزرعه گاو شیری فکا داری ۷۰۰۰ رأس گاو شیری هلشتاین با متوسط تولید شیر ۴۰ کیلوگرم بود. چهل رأس گاو هلشتاین چند بار زایش براساس امتیاز وضعیت بدنی در زمان زایش و تولید شیر معادل بلوغ ۳۰۵- روز بلوک‌بندی شدند و به‌طور تصادفی به یکی از ۴ تیمار آزمایشی اختصاص یافتند. تیمارها در یک آرایش فاکتوریل ۲ × ۲ با ۲ سطح fNDF (۱۸ در برابر ۲۳ درصد) و ۲ سطح مکمل CLA (بدون CLA در برابر ۲۰۰ گرم مکمل CLA) مرتب شدند. در شروع آزمایش، متوسط امتیاز بدنی گاوها ۰/۳±۳/۵ واحد و متوسط شیر معادل بلوغ ۴۱۰±۱۱۳۰۱ کیلوگرم و متوسط دوره شیردهی ۰/۵±۲/۵ بود. جیره‌های آزمایشی برای ۲۳/۱۰ و ۱۸/۲۰ درصد fNDF با و بدون مکمل CLA فرموله شدند؛ جیره‌های آزمایشی 18fNDF-CLA، 18fNDF+CLA، 23fNDF-CLA و 23fNDF+ CLA بودند. درصد fNDF هدف به‌وسیله جایگزین کردن ۱۲ درصد از سیلاژ ذرت با تفاله چغندرقند به دست آمد. مکمل CLA (۲۰۰ گرم در روز) به‌صورت سرک به وعده خوراک صبح اضافه شد. تیمارهای آزمایشی حاوی مکمل CLA (LactoPlus CLA 200; Bewital GmbH & Co. KG) ۵ گرم ترانس-۱۰، سیس- ۱۲ و ۵ گرم سیس- ۹، ترانس- ۱۱ CLA در هر روز به ازای هر گاو عرضه شد. جیره‌های آزمایشی مطابق با شورای تحقیقات ملی (۲۰۰۱) برای تامین نیاز غذایی یا بیش‌تر یک گاو با روزهای شیردهی ۱۱، وزن بدن ۶۸۰ کیلوگرم و تولید شیر ۳۹ کیلوگرم در روز با ۳/۵ درصد چربی و ۳/۲ درصد پروتئین فرموله شدند. جیره‌ها برای فراهم کردن ۱۸ درصد پروتئین خام، ۱/۷ مگا کالری انرژی خالص شیردهی در هر کیلوگرم ماده خشک با سطوح متفاوت fNDF و سطوح یکسان NDF فرموله شدند. جیره‌ها سه بار در روز در ساعات ۸:۰۰، ۱۶:۰۰ و ۲۴:۰۰ در حد اشتها با هدف پس آخور ۵ تا ۱۰ درصد ارائه شدند. سه هفته پیش از زایش مورد انتظار، گاوها در اسطبل‌های فری‌استال نگهداری و با یک جیره انتظار زایش دو بار در

روز در ساعت ۰۸:۰۰ و ۱۸:۰۰ (CP=12.4%, and DCAD=-28 mEq/kg DM, NE_L=1.6 Mcal/kg؛ جدول ۱) تغذیه شدند. به محض اینکه گاوها علائم اولیه زایش را نشان دادند، کارکنان مزرعه گاوها را به باکس‌های انفرادی ۴×۴ مترمربع با بستری از ماسه با دسترسی آزاد به آب منتقل کردند. گاوهای ثبت‌شده در آزمایش اولین گروه بودند که در ساعات ۰۷:۰۰، ۱۵:۰۰ و ۲۳:۰۰ شیردوشی شدند. گاوهایی که مشکلات زایش (سخت‌زایی، دوقلوزایی یا مرده‌زایی) یا علائمی از تب شیر، ورم پستان، لنگش، یا تب (درجه راست‌روده‌ای بیش از ۳۹/۴ درجه سانتی‌گراد) نشان دادند، وارد آزمایش نشدند. طی دوره جمع‌آوری داده، گاوهای واردشده در آزمایش برای بررسی ناهنجاری‌های سلامتی توسط دامپزشک به‌طور روزانه کنترل شدند.

خوراک عرضه‌شده و بقایا به‌طور روزانه از ۱ تا ۲۱ روز شیردهی برای اندازه‌گیری خوراک مصرفی وزن و نمونه‌های خوراک و بقایای جمع‌آوری‌شده برای هر گاو در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. در پایان دوره جمع‌آوری نمونه، نمونه‌های TMR ذوب و براساس هفته در تیمار (در ۳ تکرار) مخلوط شدند (براساس وزن برابر) سپس در ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۴۸ ساعت در آون برای تعیین ماده خشک نسبی (partial) خشک شدند. بقایای خوراک هم‌چنین ذوب شدند و براساس هفته در تیمار مخلوط و برای اندازه‌گیری ماده خشک مصرفی در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. نمونه‌های خشک‌شده جیره‌های خوراکی و بقایای خوراک آسیاب شدند (جدول ۱) و برای ماده خشک، پروتئین خام به‌وسیله روش کجلدال، عصاره اتری با روش استخراج سوکسله با دی اتیل اتر، خاکستر (AOAC, 1990) و الیاف حاصل از شوینده اسیدی (ADF) به‌وسیله ستیل-تری‌متیل آمونوم بروماید (cetyl-trimethyl-ammonium bromide; CTAB) و اسید سولفوریک ۱ نرمال (AOAC, 1990; method 973.18) آنالیز شدند. مقدار NDF به‌وسیله آمیلاز مقاوم به حرارت و سولفیت سدیم تعیین شد (Van Soest *et al*., 1991). برای تعیین ماده خشک کل، ماده خشک آناتیکال در ماده خشک نسبی ضرب شد (Undersander *et al*., 1993).

تولید شیر طی ۲۱ روز اول دوره شیردهی ثبت شد و نمونه‌های شیر از سه شیردوشی متوالی متناسب با تولید شیر در بطری‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری شیر طی ۲۱ روز اول پس از زایش جمع‌آوری شدند. بلافاصله پس از جمع‌آوری نمونه‌های شیر، نمونه‌ها برای تعیین ترکیبات شیر (چربی، لاکتوز و پروتئین) با استفاده از میلکواسکن (CombiFoss 78110; Foss Analytical A/S, 213 Hillerød, Denmark) آنالیز شدند. شیر تصحیح‌شده براساس ۴ درصد چربی مطابق با Gaines & overman (1983) محاسبه شدند.

در روز زایش و روز ۲۱ شیردهی پیش از خوراک‌دهی صبح، گاوها برای تعیین تغییرات وزن بدن، وزن‌کشی شدند. گاوها برای وضعیت بدنی با استفاده از یک سیستم ۵ امتیازی، امتیازدهی شدند (Wildman *et al*., 1982). دو فرد متفاوت BCS را به‌طور مستقل مشخص کردند و نتایج به‌صورت میانگین آنالیز شدند و توازن انرژی (Energy Balance; EB) براساس NRC (2001) به‌صورت زیر محاسبه شد.

انرژی خالص مصرفی (NE_I) با ضرب کردن DMI در غلظت انرژی در هر کیلوگرم DM محاسبه شد.

انرژی خالص موردنیاز برای نگهداری (NE_M) و شیردهی (NE_L) با فرمول‌های زیر محاسبه شدند:

$$NE_M = 0.08 \times BW^{0.75}$$

$$NE_L = (0.0929\times fat\% + 0.0563\times protein\% + 0.0395 \times lactose\%) \times milk\ yield$$

EB (درصدی از نیاز) به‌صورت زیر محاسبه شدند:

$$EB = NE_I - (NE_M + NE_L)$$

نمونه‌های خون (۱۰ میلی‌لیتر) ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح از ورید دمی با استفاده از لوله‌های تحت خلأ بدون مواد ضدانعقاد (Vacumed® no additive, FL medical, Italy) در روز صفر، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روزهای شیردهی گرفته شدند. نمونه‌های سرم پس از سانتریفیوژ در ۲۵۰۰ دور برای ۱۰ دقیقه آماده شدند و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد جهت انجام آنالیزهای بعدی ذخیره شدند. نمونه‌های سرم برای تعیین غلظت نیتروژن اوره‌ای خون (Blood urea nitrogen: BUN)، گلوکز، گاما-گلوتامیل ترانس‌پپتیداز (Gamma-glutamyl transferase; GGT)، آلبومین، کلسترول، بیلی‌روبین کل و تری‌گلیسرید با استفاده از کیت‌های تجاری آنالیز شدند (Pars Azmoon Laboratory, Tehran, Iran).

جدول ۱. مواد تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در دوره‌های پابه‌ماه و تازه‌زا (درصدی از ماده خشک).

Table 1. Ingredient and chemical composition of experimental diets (% of DM).

Ingredients	Close-up	Experimental diets[1]	
		23fNDF	18fNDF
Legume Forage Hay, mature[2]	18.89	20.16	20.16
Corn Silage, normal[3]	41.00	25.56	13.55
Sugar Beet Pulp, dried[4]	-	0.00	12.00
Barley Grain, ground, dry	8.00	13.32	13.36
Corn Grain, ground, dry	15.45	10.60	10.59
Soybean Meal, solve.	6.00	8.68	8.67
Extruded full-fat soybean	-	4.38	4.38
Corn Gluten Meal, dried	-	3.49	3.49
Fish Meal	-	3.49	3.49
Cottonseed, Whole with lint	5.00	7.00	7.00
Canola Meal, mech. Extract	1.60	-	-
Calcium Carbonate	1.35	0.72	0.72
Calcium Phosphate (Di-)	-	0.18	0.18
Magnesium Oxide	0.15	0.18	0.18
Magnesium Sulfate	0.85	-	-
Calcium Chloride	0.45	-	-
Salt	-	0.30	0.30
Sodium Bicarbonate	-	0.90	0.90
Bentonite	0.47	0.33	0.33
Biotin	0.004	0.004	0.004
Selenium	0.004	0.004	0.004
Choline Chloride	0.24	0.24	0.24
Monensin	0.01	0.01	0.01
Mineral premix[5]	0.27	0.23	0.23
Vitamin premix[6]	0.27	0.23	0.23
Chemical Compositions[7]			
NE_L, Mcal/kg of DM[8]	1.60	1.70	1.68
CP, % of DM	12.4 ± 0.5	18.0 ± 0.3	18.0 ± 0.30
NDF, % of DM	35.2 ± 0.8	33.8 ± 0.9	34.4 ± 0.80
Forage NDF, % of DM	28.00	23.00	22.00
ADF, % of DM	23 ± 0.70	21.8± 0.9	21.6 ± 0.60
NFC, % of DM[9]	43 ± 0.70	37.6 ± 0.5	36.5 ± 0.80
EE, % of DM	3.6 ± 0.30	4.2 ± 0.3	4.1 ± 0.30
Ash, % of DM	6 ± 0.15	7.3 ± 0.4	7.5 ± 0.30
DCAD, mEq/kg DM[10]	-28.00	246.00	246.00

۱. 23fNDF=fNDF بالا، حاوی 23 درصدfNDF ؛ 18fNDF=fNDF پایین، حاوی ۱۸ درصدfNDF .

۲. حاوی ۸۳/۰ درصد ماده خشک، ۵۲/۳ درصد NDF، ۳۹/۴ درصد ADF و ۱۳/۵ درصد پروتئین خام (براساس ماده خشک).

۳. حاوی ۲۳/۰ درصد ماده خشک، ۴۴/۳ درصد NDF، ۲۹/۰ درصد ADF و ۸/۵ درصد پروتئین خام (براساس ماده خشک).

۴. حاوی ۸۷/۰ درصد ماده خشک، ۴۳/۵ درصد NDF، ۲۴/۲ درصد ADF و ۹/۳ درصد پروتئین خام (براساس ماده خشک).

۵. حاوی ۳۲ /۰ گرم در هر کیلوگرم کبالت، ۱۳/۳ گرم در هر کیلوگرم مس، ۰/۵ گرم در هر کیلوگرم ید، ۰/۰۴ گرم در هر کیلوگرم آهن، ۳۳/۴ گرم در هر کیلوگرم منگنز، ۸ گرم در هر کیلوگرم سلنیوم، ۵۶/۲ گرم در هر کیلوگرم روی.

۶. حاوی ۱۸۰۰۰۰۰۰ واحد بین المللی در هر کیلوگرم ویتامینA، ۲۰۰۰۰۰ واحد بین المللی در هر کیلوگرم ویتامین D، و ۱۵۰۰۰ واحد بین المللی در هر کیلوگرم ویتامینE.

۷. داده ها به صورت میانگین ± استاندارد اشتباه حاصل از سه نمونه ارائه شدند.

۸. براساس جداول شورای تحقیقات ملی (۲۰۰۱).

۹. (درصد پروتئین خام- درصد عصاره اتری- درصدالیاف حاصل از شوینده خنثی- درصد خاکستر)- ۱۰۰= کربوهیدرات غیر الیافی

** مکمل CLA (۲۰۰ گرم) به صورت سرک در وعده صبح خورانده شدند.

1. 23fNDF=high fNDF, containing 23.0% fNDF; 18fNDF=Low fNDF , containing 18.0% starch;
2. Contained 83.0% DM, 52.3% NDF, 39.4% ADF, and 13.5% CP (DM basis).
3. Contained 23.0% DM, 44.3% NDF, 29% ADF, and 8.5% CP (DM basis).
4. Contained 87.0% DM, 43.5% NDF, 24.2% ADF, and 9.3% CP (DM basis).
5. Premix contained 0.32 g of Co/kg, 13.3 g of Cu/kg, 0.5 g of I/kg, 0.04 g of Fe/kg, 33.4 g of Mn/kg, 8 g of Se/kg, 56.2 g of Zn/kg.
6. Premix contained 1,800,000 IU of vitamin A/kg, 200,000 IU of vitamin D/kg, and 15,000 IU of vitamin E/kg.
7. Data are presented as the mean ± SE of 3 samples.
8. Based on tabular value (NRC, 2001).
9. NFC%= 100%- (CP%- EE%-NDF% -Ash%)
10. DCAD= (Na+K)- (S+Cl)

** The CLA supplement (200 gr) was top dressed at the morning feeding.

غلظت‌های سرمی اسیدهای چرب غیر استریفیه (Non-esterified fatty acid: NEFA) و بتا-هیدروکسی بوتیرات (Beta-hydroxy butyrate acid: BHBA; McMurray *et al*., 1984) با استفاده از کیت‌های رندوکس (Randox Laboratories Ltd., Crumlin, County Antrim, UK) و توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (UNICCO, 2100, Zistchemi Co., Tehran, Iran) اندازه‌گیری شدند. جهت تعیین شاخص فعالیت کبد (liver functionality index :LFI)، نمونه‌های خون برای اندازه‌گیری کلسترول، آلبومین و بیلی‌روبین کل در روزهای ۳ و ۲۸ پس از زایش نیز جمع‌آوری شدند. برای همه گاوها غلظت آلبومین، کلسترول و بیلی‌روبین کل در روزهای ۳ و ۲۸ شیردهی برای برآورد LFI مطابق با Bertoni & Trevisi (2013) استفاده شدند.

طی دوره آزمایشی گاوها بیمار از آزمایش حذف شدند. در کل، ۱ گاو از تیمار 23fNDF-CLA [متریت (n=۱)]، ۲ گاو از 23fNDF+ CLA [پریتونیت (n=۱)، تب شیر (n=۱)]، ۱ گاو از 18fNDF - CLA [تب بالا و مداوم (n=۱)] حذف شدند. درنهایت در آنالیز نهایی تعداد گاو در 23fNDF-CLA، 23fNDF+ CLA، 18fNDF – CLA و 18fNDF+CLA به ترتیب ۹، ۸، ۱۰ و ۹ رأس بودند. آنالیزهای آماری با نرم‌افزار SAS انجام شد (SAS Institute Inc., Cary, NC; version 9.4). ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی به‌وسیله رویه MEANS نرم‌افزار SAS آنالیز شدند. پیش از آنالیز داده‌ها، همه داده‌ها برای نرمال بودن و یکنواختی واریانس‌ها ارزیابی شدند؛ داده‌های شمار سلول‌های پیکری برای سازگار شدن با فرض‌ها تبدیل لگاریتم شدند. ماده خشک مصرفی، توازن انرژی، تولید و ترکیبات شیر (چربی، پروتئین، لاکتوز و SCC)، غلظت متابولیت‌ها و آنزیم‌های کبدی سرم به‌صورت داده‌های تکرار شده با بلوک به عنوان اثر تصادفی و گاو در بلوک به‌عنوان سابجکت (Subject) با استفاده از رویه MIXED نرم‌افزار SAS آنالیز شدند (Littell *et al*., 2006). زمان (روزهای شیردهی برای ماده خشک مصرفی و متابولیت‌های خونی و هفته‌های شیردهی برای تولید شیر) به‌عنوان متغیر تکرار شده وارد مدل شد. ساختارهای کوواریانس بررسی شدند و مناسب‌ترین ساختار کوواریانس براساس کوچک‌ترین مقادیر برای معیار اطلاعاتی آکائیک تصحیح‌شده و معیار اطلاعاتی بیزین برای هر آنالیز انتخاب شد. مدل آماری به شرح زیر بود:

$$Y_{ijkl}= \mu+fNDF_i+CLA_j+(fNDF\times CLA)_{ij} + Time_k+ (fNDF\times Time)_{ik}+(CLA\times Time)_{jk}+ (fNDF\times CLA\times Time)_{ijk}+block_l+Cow\ (block_l)+e_{ijkl}$$

که Y_{ij} متغیر وابسته، μ میانگین کل، $FNDF_i$ اثر ثابت FNDF، CLA_j اثرثابت مکمل CLA، $Time_j$ اثر ثابت زمان، $(Diet\times Time)_{ijkl}$ اثر متقابل جیره آزمایشی در زمان، $block_l$ به‌عنوان اثر تصادفی و $Cow\ (block_k)$ گاوهای درون هر بلوک و e_{ijkl} باقی‌مانده است. همین مدل برای داده‌های تغییرات وزن بدن و BCS و LFI بدون اثر زمان و اثر متقابل جیره آزمایشی در زمان و با واردکردن بلوک به‌عنوان اثر تصادفی، استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین حداقل مربعات (LSM) گزارش شدند و سطح معنی‌داری در کم‌تر از ۰/۰۵ و تمایل به معنی‌داری در سطح احتمال بزرگ‌تر از ۰/۰۵ و کوچک‌تر و مساوی ۰/۱ مشخص شد. اگر تست F آثار ثابت و آثار متقابل آن‌ها معنی‌دار بود، LSM ها به‌وسیله دستور آزمون توکی برای مقایسه میانگین، آنالیز شدند. درصورتی‌که اثر متقابل جیره آزمایشی در زمان معنی‌دار بود، تفاوت‌ها بین تیمارهای جیره‌ای در هر نقطه زمانی با استفاده از گزینه SCLICE در دستور LSMEANS حاصل از رویه MIXED آنالیز شدند.

نتایج و بحث

ماده خشک و انرژی مصرفی

سطح fNDF و مکمل CLA و اثر متقابل fNDF در زمان به‌طور معنی‌داری ماده خشک مصرفی را تحت تاثیر قرار داد (جدول ۲). ماده خشک مصرفی تا ۱/۵ کیلوگرم به‌وسیله جیره 18fNDF در مقایسه با 23fNDF افزایش یافت ($P<$۰/۰۱)، درحالی‌که افزودن CLA (+CLA) ماده خشک مصرفی را تا ۱/۱۵ کیلوگرم در روز در مقایسه با جیره‌های بدون مکمل CLA (-CLA) کاهش داد (P <۰/۰۱). اثر زمان نشان داد که با پیشرفت روزهای شیردهی ماده خشک

مصرفی برای همه تیمارهای آزمایشی افزایش یافت (P <۰/۰۱). اثر متقابل fNDF در زمان نشان داد که ماده خشک مصرفی تا روز ۷ روزهای شیردهی بین جیره‌های 23fNDF و 18fNDFمشابه بود، اما پس از آن به‌طور پیوسته ماده خشک مصرفی در گاوهای تغذیه‌شده با 18fNDF در مقایسه 23fNDF تا پایان آزمایش بالاتر بود (*P*<۰/۰۱؛ شکل ۱). اثر متقابل CLA در fNDF طی زمان نیز (*P*<۰/۰۱؛ شکل ۱) نشان داد گاوهای تغذیه‌شده با 18fNDF-CLA ماده خشک مصرفی بالاتری طی دوره آزمایشی در میان تیمارها داشت. هم‌چنین مصرف با سرعت بیش‌تری در جیره‌های با fNDF پایین‌تر با و بدون CLA (18fNDF-CLA) و (18fNDF+CLA) در مقایسه با جیره‌های با fNDF بالاتر با و بدون -23fNDF) CLA CLA و 23fNDF+CLA) افزایش یافت (شکل ۲). عدم تغییر ماده خشک مصرفی طی ۷ روز اول دوره شیردهی غیرمنتظره نبود، زیرا اتفاقات هورمونی و تغییرات متابولیک همراه با زایش به‌عنوان عامل محدودکننده خوراک مصرفی طی دوره پیرامون زایش شناخته‌شده‌اند (Allen *et al*., 2009)؛ بنابراین به نظر می‌رسد که تغییرات جیره‌ای می‌تواند عامل ثانویه برای کنترل مصرف باشند. افزایش ماده خشک مصرفی در 18fNDF ممکن است درنتیجه قابلیت هضم بالاترNDF حاصل از الیاف غیر علوفه‌ای (Non Forage fiber; NFFS) نسبت به NDF علوفه‌ای (Bradford & Mullins, 2012) باشد و همچنین اندازه ذرات کوچک‌تر آن‌ها می‌تواند اثر پرکنندگی جیره غذایی را در شکمبه تحت تاثیر قرار دهد (Allen & Piantoni, 2013). بنابراین اگرچه خوراک مصرفی به احتمال توسط اکسیداسیون کبدی سوخت‌ها، بلافاصله پس از زایش کنترل می‌شود (Allen & Piantoni, 2013)، اما افزایش DMI برای گاوهای 18fNDFپیشنهاد می‌دهد که DMI به‌وسیله پرشدگی و اتساع شکمبه در گاوهای 23fNDF پس از ۷ دوره شیردهی در مطالعه حاضر محدود شده است. علاوه بر آن، افزایش در ماده خشک مصرفی در گاوهای 18fNDF ممکن است درنتیجه غلظت‌های پایین‌تر NEFA در گاوهای 18fNDF در مقایسه با گاوهای 23fNDF باشد (۰/۶۶ در برابر ۰/۸۸ میلی‌مول بر لیتر) که منجر به جریان کاهش‌یافته NEFA به کبد و کاهش سیری و افزایش خوراک مصرفی می‌شود (Allen *et al*., 2009). در راستای تحقیق حاضر، Miron *et al.* (2010) گزارش کردند که کاهش سطح fNDF از ۱۸/۷ به ۱۲/۸ درصد به‌وسیله جایگزین کردن علوفه با پوسته سویا ماده خشک مصرفی ۱/۷ کیلوگرم از روزهای صفر تا ۹۰ شیردهی افزایش یافت. به‌طور مشابه، کاهش دادن مقدار fNDF در گاوهای تازه‌زا از ۲۶ به ۲۰ درصد ماده خشک طی ۲۹ روز اول شیردهی مصرف را تا ۲ کیلوگرم افزایش داد (Piantoni *et al*., 2015). Rabelo *et al.* (2003) دریافتند که کاهش مقدار علوفه طی ۲۰ روز اول پس از زایش در مقایسه با خوراندن یک جیره با علوفه بالا تمایل به افزایش ماده خشک مصرفی داشت (۱۶/۵ در برابر ۱۵/۴ کیلوگرم در روز). پژوهش‌های پیشین پاسخ‌های متناقضی از افزودنCLA بر روی ماده خشک مصرفی گزارش کردند. در توافق با یافته‌های ما، پژوهش‌های پیشین یک اثر کاهشی از افزودن CLA بر روی ماده خشک مصرفی گزارش کردند (Pappritz *et al*., 2011; Hötger *et al*., 2013; Schäfers *et al*., 2017). در مقابل محققین مشاهده کردند که افزودن CLA ماده خشک مصرفی را تغییر نداد (von Soosten *et al*., 2011) و یا افزایش داد (Schlegel *et al*., 2012).

تفاوت‌ها در مصرف، منجر به انرژی مصرفی بالاتر در گاوهای 18fNDF نسبت به گاوهای 23fNDF شد (۳۰/۲۴ در برابر ۲۷/۳۵ مگا کالری در روز؛ *P*<۰/۰۱). اثر متقابل fNDF در زمان نشان داد که انرژی مصرفی بین گروه‌های 23fNDF و 18fNDF در روزهای شیردهی ۴ مشابه بود، اما به‌طور پیوسته در گاوهای 18fNDF نسبت به 23fNDF طی دوره آزمایش بالاتر بود (*P*=۰/۰۲؛ شکل ۳). اگرچه انرژی شیر و توازن انرژی به‌وسیله fNDF، CLA و اثر متقابل fNDF در CLA تحت تاثیر قرار نگرفت، اما گاوهای تغذیه‌شده با 18fNDF تمایل به توازن انرژی بهبودیافته‌ای در مقایسه با 23fNDF داشتند (*P*=۰/۰۸). اثر متقابل fNDF در زمان نشان داد که گاوهای 18fNDF در ۱۲ و ۱۶ روزهای شیردهی توازن انرژی بهبودیافته‌ای در

مقایسه با 23fNDF داشتند ($P\leq$۰/۰۳؛ شکل ۴). مطالعات پیشین نشان داد که جیره‌های با علوفه پایین توازن منفی انرژی را کاهش داد و منجر به افزایش انرژی مصرفی طی هفته‌های اول پس از زایش شد (Jerred *et al*., 1990; Rabelo *et al*., 2003). Rabelo *et al*. (2003) نشان دادند که جیره با نسبت علوفه به کنسانتره پایین‌تر (۲۵ درصد NDF) انرژی مصرفی را تا ۱۱ درصد طی ۲۰ روز اول افزایش داد و تمایل به توازن انرژی بالاتر در مقایسه با گاوها تغذیه‌شده با نسبت علوفه به کنسانتره بالاتر طی ۴ هفته اول پس از زایش داشت. هم‌چنین Piantoni *et al.* (2015) گزارش کردند که کاهش fNDF از ۲۶ به ۲۰ درصد از ماده خشک در گاوهای تازه‌زا انرژی مصرفی و توازن انرژی را ۲/۷۵ و ۳/۶۳ مگا کالری در روز طی ۲۹ روز اول شیردهی افزایش داد که در توافق با نتایج ما با جیره‌های حاوی fNDF پایین‌تر طی ۳ هفته اول پس از زایش است. باوجود این که گزارش شده است که خوراندن CLA ممکن است هزینه انرژی برای تولید شیر را به‌عنوان یک نتیجه از کاهش ساخت دنوو چربی شیر کاهش دهد (Baumgard *et al*., 2000)، در مطالعه حاضر عدم‌تغییر در خروج انرژی شیر و انرژی مصرفی در گاوهایی که CLA را دریافت کردند منجر به توازن انرژی مشابه بین گاوهای CLA+ و CLA– شد. افزودن CLA به جیره گاوهای طی دوره انتقال توازن منفی انرژی را کاهش داد (Schlegel *et al*., 2012) و یا تشدید کرد (Pappritz *et al*., 2011; Hötger *et al*., 2013)، درحالی‌که برخی پژوهش‌ها هیچ اثری مشاهده نکردند (Moallem *et al*., 2010; Schäfers *et al*., 2017). تناقض‌ها در اثر مکمل CLA بر روی ماده خشک مصرفی و توازن انرژی ممکن است درنتیجه تفاوت‌ها در مقدار CLA خورده شده، مرحله شیردهی و طول مدت مصرف مکمل CLA باشد.

امتیاز وضعیت بدنی و وزن بدن

اتلاف BCS بین سطوح متفاوت fNDF و CLA و اثر متقابل آن‌ها مشابه بود (جدول ۲). گاوهای تغذیه‌شده با جیره 23fNDF وزن بدن بیش‌تری در مقایسه با گاوهای تغذیه‌شده با 18fNDF از دست دادند (۳۵/۲۶ در برابر ۲۴/۵۳ کیلوگرم؛ P=۰/۰۱)، درحالی‌که تغییرات وزن بدن با مکمل CLA تحت تاثیر قرار نگرفت (P =۰/۸۵). بی‌اثربودن مصرف CLA بر روی تغییرات BCS و وزن بدن در توافق با عدم‌تغییر توازن انرژی در گاوهای تغذیه‌شده با CLA بود. هم‌چنین اتلاف وزن بدن کم‌تر در گاوهای 18fNDF در مقایسه با 23fNDF در توافق با بهبود توازن انرژی در گاوهای 18fNDF بود. در توافق با نتایج پژوهش حاضر، Piantoni *et al.* (2015) گزارش کردند که گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی fNDF بالا تمایل به افزایش در اتلاف وزن بدن در مقایسه با جیره‌های حاوی سطوح fNDF بالا طی ۲۹ روز اول دوره شیردهی داشتند، درحالی‌که Rabelo *et al*. (2003) اثری از کاهش علوفه بر اتلاف وزن بدن در گاوهای تازه‌زا مشاهده نکردند.

تولید و ترکیبات شیر

تولید شیر تحت تاثیر fNDF، CLA، زمان و اثر متقابل CLA در زمان قرار گرفت (جدول ۳). تولید شیر برای گاوهای 18fNDF در مقایسه با گاوهای 23fNDF بالاتر بود (۲/۹۶ کیلوگرم در روز؛ P<۰/۰۱). به همین ترتیب، گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های CLA+ ۲/۸۰ کیلوگرم شیر بیش‌تری در مقایسه با CLA– تولید کردند (P<۰/۰۱). اثر متقابل CLA در زمان نشان داد که تولید شیر بین جیره‌های CLA+ و CLA– در هفته اول شیردهی مشابه بود (۳۲/۱۰ در برابر ۶۰/ ۳۳ کیلوگرم در روز؛ P>۰/۰۵)، اما نسبت به گاوهای – CLA، گاوهای CLA+ تولید شیر بالاتری طی هفته دوم (۴۰/۸۰ در برابر ۳۷/۳۰ کیلوگرم در روز؛ P<۰/۰۱) و سوم شیردهی (۴۳/۹۵ در برابر ۴۱/۰۵ کیلوگرم در روز؛ P<۰/۰۱) داشتند. به استثنای زمان (P<۰/۰۱)، تولید شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی توسط دیگر مؤلفه‌های مدل تحت تاثیر قرار نگرفت (جدول۳). نتایج تولید شیر در توافق با مشاهدات ماده خشک مصرفی بودند. مشابه با یافته‌های حاضر، جایگزین‌کردن علوفه با NFFS منجر به افزایش ۲/۴ (Naderi *et al*., 2016) و ۱/۷ (Holt *et al*., 2010) کیلوگرمی در تولید شیر شد. هم‌چنین، Rabelo *et al*. (2003) و Hernandez-Urdaneta *et*

al. (1976) نشان دادند که جیره با نسبت علوفه به کنسانتره پایین‌تر منجر به افزایش تولید شیر طی ۲۰ روز و یا ۴ هفته اول دوره شیردهی در مقایسه با جیره با نسبت علوفه به کنسانتره بالا شد. از طرف دیگر، Piantoni *et al.* (2015) اثری از کاهش fNDF جیره بر تولید شیر طی ۲۹ روز اول دوره شیردهی مشاهده نکردند. در راستا با نتایج ما Bauman *et al.* (2011) گزارش کردند که خوراندن مکمل CLA به گاوهای اوایل دوره شیردهی و یا گاوها با تغذیه محدود منجر به افزایش در تولید شیر می‌شود. به‌خوبی شناخته شده است که کاهش ساخت چربی شیر می‌تواند انرژی مورد نیاز برای تولید شیر را کاهش دهد (NRC, 2001)؛ بنابراین اثر کاهنده افزودن CLA بر درصد چربی شیر (Bauman & Griinari, 2003) می‌تواند منجر به صرفه‌جویی انرژی در تولید شیر شود. این نتایج توسط دیگر پژوهشگران که تولید بالاتری از شیر را در گاوهای تغذیه‌شده با مکمل CLA (Schlegel *et al.*, 2012; Hötger *et al.*, 2013) مشاهده کردند، حمایت می‌شوند؛ درحالی‌که برخی پژوهش‌ها هیچ اثری از CLA بر تولید شیر مشاهده نکردند (Schäfers *et al.*, 2017).

جدول ۲. اثر سطوح NDF علوفه‌ای و افزودن CLA بر ماده خشک مصرفی، توازن انرژی و تغییرات نمره وضیت بدنی طی دوره آزمایش.

Table 2. Effects of dietary forage NDF (fNDF) content and CLA supplementation on DMI (kg/d), EB and BCS changes during experimental period.

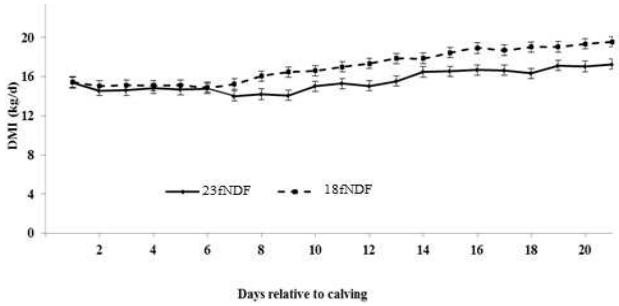
	fNDF[1]			CLA[2]			*P*- value						
Item	20fNDF	26fNDF	SEM	-CLA	+CLA	SEM	fNDF	CLA	Time	fNDF × CLA	fNDF × Time	CLA× Time	fNDF × CLA ×Time
DMI, kg/d	17.06	15.49	0.22	16.85	15.7	0.20	<0.01	<0.01	<0.01	0.7	<0.01	0.85	<0.01
Net energy intake, Mcal/d	30.24	27.35	0.33	28.82	28.77	0.35	<0.01	0.89	<0.01	0.75	0.02	0.97	0.10
NE_L, Mcal/d,	27.49	26.81	0.80	27.33	26.97	0.75	0.53	0.63	<0.01	0.65	0.48	0.12	0.17
Energy balance, Mcal/d[3]	-8.6	-10.77	0.85	-9.75	-9.67	0.9	0.09	0.82	<0.01	0.65	0.10	0.46	0.21
BCS change	-0.41	-0.44	0.031	-0.42	-0.43	0.04	0.45	0.72	-	0.38	-	-	-
BW change, kg	-24.53	-35.36	2.58	29.6	30.31	2.78	0.01	0.85	-	-	0.59	-	-

۱. 23fNDF=fNDF بالا، حاوی ۲۳ درصد fNDF؛ 18fNDF=fNDF پایین، حاوی ۱۸ درصدfNDF .

۲. مکمل CLA (۲۰۰ گرم) به صورت سرک در وعده صبح خورانده شدند.

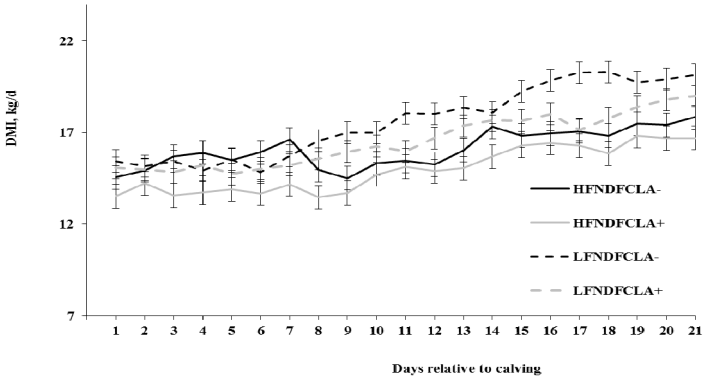
۳. براساس جداول شورای تحقیقات ملی (۲۰۰۱).

1. 23fNDF= high fNDF, containing 23% fNDF; 18fNDF= Low fNDF, containing 18% fNDF
2. The CLA supplement (200 gr) was top dressed at the morning feeding
3. Calculated based on NRC, 2001. EB=NEI - (NEM + NEL)



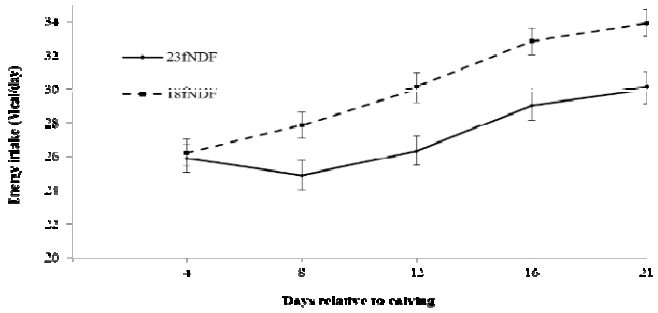
شکل ۱. پاسخ ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز) به اثر متقابل سطح fNDF جیره در زمان. fNDF، ۰/۰۱ > P؛ CLA، ۰/۰۱ > P؛ اثر زمان، ۰/۰۱ > P؛ اثر متقابل CLA در fNDF، ۰/۷۰= P؛ اثر متقابل fNDF در زمان، ۰/۰۱ > P؛ اثر متقابل CLA در زمان، ۰/۸۵= P؛ اثر متقابل fNDF در CLA در زمان، ۰/۰۱ > P.

Figure 1. Effects of dietary forage NDF (fNDF) content on DMI (kg/d) over time during the experimental period. HF=High NDF MP, LF=low fNDF, HMP=high containing 19 and 23 % of DM, respectively. fNDF, $P < 0.01$; CLA supplement , $P < 0.01$; time, $P < 0.0001$; fNDF × CLA, $P=0.70$; fNDF × time, $P < 0.01$; CLA × time, $P=0.85$; fNDF × CLA× time, $P < 0.01$.



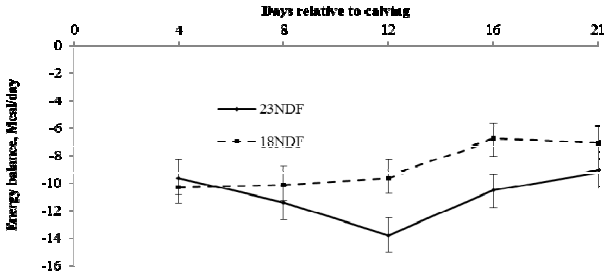
شکل ۲. پاسخ ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز) به اثر متقابل سطح fNDF جیره در مکمل CLA طی دوره آزمایشی. fNDF، P<۰/۰۱؛ CLA، P<۰/۰۱ ؛ اثر زمان، P < ۰/۰۱؛ اثر متقابل CLA در fNDF، P=۰/۰۷ ؛ اثر متقابل fNDF در زمان، P < ۰/۰۱؛ اثر متقابل CLA در زمان، P=۰/۸۵؛ اثر متقابل fNDF در CLA در زمان، P < ۰/۰۱.

Figure 2. Effects of dietary forage NDF (fNDF) content by CLA supplement interaction on DMI (kg/d) over time during the experimental period. HF=High NDF MP, LF=low fNDF, HMP=high containing 19 and 23 % of DM, respectively. fNDF, $P < 0.01$; CLA supplement , $P < 0.01$; time, $P < 0.0001$; fNDF × CLA, $P=0.70$; fNDF × time, $P < 0.01$; CLA × time, $P=0.85$; fNDF × CLA× time, $P < 0.01$.



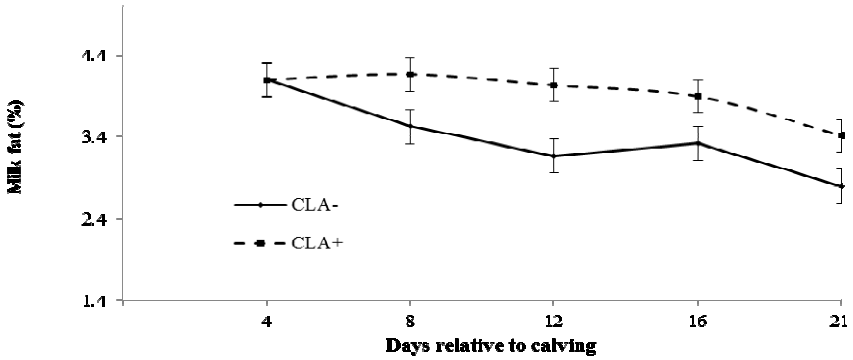
شکل ۳. پاسخ انرژی مصرفی (مگاکالری در روز) به اثر متقابل سطح fNDF جیره در زمان. fNDF، P < ۰/۰۱ ؛ CLA، P=۰/۸۹ ؛ اثر زمان، P < ۰/۰۱؛ اثر متقابل CLA در fNDF، P=۰/۷۵ ؛ اثر متقابل fNDF در زمان، P=۰/۰۲؛ اثر متقابل CLA در زمان، P=۰/۸۵؛ اثر متقابل fNDF در CLA در زمان، P.=۰/۹۷

Figure 3. Effects of dietary forage NDF (fNDF) content on energy intake (Mcal/d) over time during the experimental period.. fNDF, $P < 0.01$; CLA supplement , $P=0.89$; time, $P < 0.01$; fNDF × CLA, $P=0.75$; fNDF × time, $P=0.02$; CLA × time, $P=0.85$; fNDF × CLA× time, $P=0.97$.



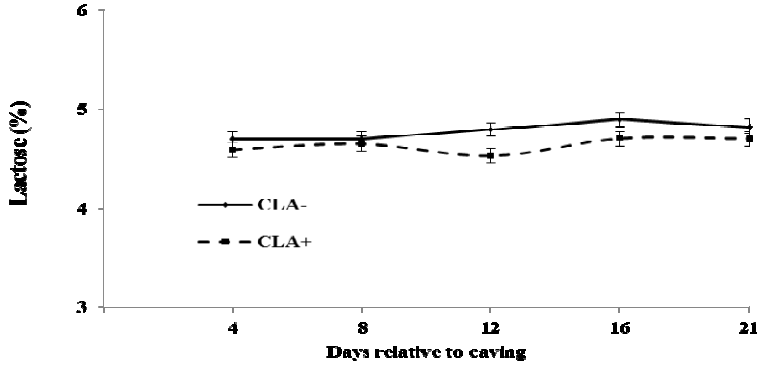
شکل ۴. پاسخ توازن انرژی (مگاکالری در روز) به اثر متقابل سطح fNDF جیره در زمان. fNDF، P=۰/۰۹؛ CLA، P=۰/۸۲؛ اثر زمان، P < ۰/۰۱؛ اثر متقابل CLA در fNDF، P=۰/۶۵؛ اثر متقابل fNDF در زمان، P=۰/۱۰؛ اثر متقابل CLA در زمان، P= ۰/۴۶؛ اثر متقابل fNDF در CLA در زمان، P=۰/۲۱.

Figure 4. Effects of dietary forage NDF (fNDF) content on energy Balance (Mcal/d) over time during the experimental period. fNDF, $P=0.09$; CLA supplement , $P=0.82$; time, $P < 0.01$; fNDF × CLA, $P=0.65$; fNDF × time, $P=0.1$; CLA × time, $P=0.46$; fNDF × CLA× time, $P=0.21$.



شکل ۵. پاسخ درصد چربی شیر (درصد) به اثر متقابل مکمل CLA در زمان. fNDF، P=۰/۰۱ ؛ CLA، P < ۰/۰۱ ؛ اثر زمان، P < ۰/۰۱؛ اثر متقابل CLA در fNDF، P=۰/۸۱ ؛ اثر متقابل fNDF در زمان،P=۰/۵۰؛ اثر متقابل CLA در زمان، P= ۰/۰۱؛ اثر متقابل fNDF در CLA در زمان، P.=۰/۱۴

Figure 5. Effects of dietary forage NDF (fNDF) content on energy intake (Mcal/d) over time during the experimental period.. fNDF, *P*=0.01; CLA supplement , *P* < 0.01; time, *P* < 0.01; fNDF × CLA, *P*=0.81; fNDF × time, *P*=0.5; CLA × time, *P*=0.01; fNDF × CLA× time, *P*=0.14.



شکل ۶. پاسخ درصد لاکتوز شیر (درصد) به اثر متقابل مکمل CLA در زمان. fNDF، P=۰/۹۳ ؛ CLA، P < ۰/۰۱ ؛ اثر زمان، P < ۰/۰۱؛ اثر متقابل CLA در fNDF، P=۰/۱۸ ؛ اثر متقابل fNDF در زمان،P=۰/۶۷؛ اثر متقابل CLA در زمان، P= ۰/۰۶؛ اثر متقابل fNDF در CLA در زمان، P=۰/۲۰.

Figure 6. Effects of dietary forage NDF (fNDF) content on energy intake (Mcal/d) over time during the experimental period.. fNDF, *P*=0.93; CLA supplement , *P* < 0.01; time, *P* < 0.01; fNDF × CLA, *P*=0.18; fNDF × time, *P*=0.67; CLA × time, *P*=0.06; fNDF × CLA× time, *P*=0.2.

درصد چربی شیر در گاوهای 23fNDF (۳/۸۲ درصد) در مقایسه با 18fNDF (۳/۴۵ درصد) تمایل به افزایش داشت (P=۰/۱۰)، درحالی‌که گاوهای CLA+ (۳/۳۸ درصد) درصد چربی شیر پایین‌تری نسبت به گاوهای CLA– (۳/۹۰ درصد) داشتند (P=۰/۰۱)؛ اما مقدار چربی شیر تحت تاثیر fNDF، CLA و اثر متقابل آن‌ها قرار نگرفت (جدول ۳). اثر متقابل CLA در زمان نشان داد که کاهش در درصد چربی شیر در روز ۸ شیردهی آشکار بود (P < ۰/۰۱) و به‌طور پیوسته در گاوهای تغذیه‌شده با CLA+ نسبت به CLA– طی دوره آزمایش پایین‌تر بود (P<۰/۰۵؛ شکل ۵). درصد چربی شیر در گاوهای 23fNDF (۳/۸۲ درصد) در مقایسه با 18fNDF (۳/۴۵ درصد) تمایل به افزایش داشت (P=۰/۱۰)، درحالی‌که گاوهای CLA+ (۳/۳۸ درصد) چربی شیر پایین‌تری نسبت به گاوهای CLA– (۳/۹۰ درصد) داشتند (P=۰/۰۱)؛ اما مقدار چربی شیر تحت تاثیر اثر متقابل آن‌ها قرار نگرفت (جدول ۳). اثر متقابل CLA در زمان نشان داد که کاهش در درصد چربی شیر در روز ۸ شیردهی آشکار بود (P<۰/۰۱) و به‌طور پیوسته

در گاوهای تغذیه‌شده با CLA+ نسبت به CLA– طی دوره آزمایش پایین‌تر بود (۰/۰۵ > P؛ شکل ۵).

جیره‌های پر علوفه با fNDF بالا اغلب منجر به افزایش درصد چربی شیر می‌شوند (Jerred *et al*., 1990). به‌طور مشابه، Holt *et al.* (2010) پس از جایگزینی NDF علوفه‌ای با پوسته سویا و تفاله چغندرقند و کاهش fNDF از ۲۱/۲ به ۱۷/۹ درصد از ماده خشک در جیره گاوهای اوایل دوره شیردهی یک کاهش در درصد چربی را گزارش کردند. برخلاف نتایج پژوهش حاضر Rabelo *et al.* (2003) اثری از کاهش بخش علوفه جیره بر روی درصد چربی در گاوهای تازه‌زا مشاهده نکردند؛ اما Piantoni *et al.* (2015) گزارش کردند که کاهش fNDF از ۲۶ به ۲۰ درصد از ماده خشک در گاوهای تازه‌زا تمایل به کاهش در درصد چربی شیر داشت. علاوه بر این، غلظت بالاتر چربی شیر در گاوهای تغذیه‌شده با 23fNDF، با افزایش اتلاف وزن (جدول ۲) و غلظت‌های بالاتر NEFA (جدول ۴) در مقایسه با جیره 18fNDF در حقیقت مطابق با این مفهوم است که چربی شیر بالاتر همراه با زایش درنتیجه بسیج بیش‌تر بافت چربی رخ می‌دهد.

استفاده از مکمل‌های CLA برای کاهش میزان چربی شیر نه‌تنها در گاوهای شیری بلکه در چندین گونه دیگر مانند خوک یا موش صحرایی به‌خوبی ثابت شده است (Bauman *et al*., 2008). هم‌چنین ثابت شده است که ایزومر ترانس- ۱۰ سیس- CLA۱۲ مسئول کاهش چربی شیر از طریق مهار ساخت دنوو اسید چرب در غدد پستان و هم‌چنین کاهش برداشت لیپوپروتئین‌های غنی از تری‌آسیل گلیسرول به علت مهار لیپوپروتئین لیپاز می‌باشد (Bauman *et al*., 2011). در راستا با یک کاهش ۱۳ و ۷/۸ درصدی به ترتیب در درصد و مقدار چربی شیر در پژوهش حاضر، گزارش شده است که گاوهای تغذیه‌شده با CLA تا کم‌تر از ۶۰ روز شیردهی درصد چربی شیر را ۱۰ تا ۲۶ درصد و مقدار چربی شیر را ۷/۵ تا ۲۳ درصد در اوایل دوره شیردهی کاهش دادند (Hutchinson *et al*., 2011; Chandler *et al*., 2017). وقتی‌که گاوها مکمل CLA را بیش از ۶۰ روز دوره شیردهی دریافت کردند درصد چربی شیر کم‌تر از ۱۶ درصد کاهش یافت (Hutchinson *et al*., 2011; Schlegel *et al*., 2012; Hötger etal., 2013). در راستا با نتایج پژوهش حاضر، پژوهش‌های پیشین نیز یک تأخیر یک (Kay *et al*., 2006; Pappritz *et al*., 2011) تا دوهفته‌ای یا بیشتر (Hötger etal., 2013;Chandler *et al*., 2017) در کاهش چربی شیر را بین شروع مصرف CLA و یک کاهش قابل‌تشخیص در چربی شیر گزارش کردند. برخی پژوهش‌ها گزارش کردند که نبود اثر CLA در هفته‌های بلافاصله پس از زایش ممکن است به علت برداشت پایین CLA توسط غدد پستان باشد. غلظت‌های افزایش‌یافته NEFA در پیرامون زایش درنتیجه بسیج بافت چربی، ممکن است با CLA برای برداشت توسط غدد پستان در رقابت باشند (Kay *et al*., 2006)؛ اما پژوهش‌های پیشین نشان دادند که ایزومر ترانس- ۱۰، سیس- ۱۲ CLA در هفته اول پس از زایش به چربی شیر گاوهای تغذیه‌شده با CLA منتقل شده است (Castañeda-Gutiérrez *et al*., 2005)؛ بنابراین نبود اثر CLA بر چربی شیر در روزهای اول پس از زایش را نمی‌توان به محدودیت در برداشت پستانی ایزومر CLA نسبت داد. پیشنهاد شده است که این امر ممکن است به دلیل عدم حساسیت یا عدم پاسخگویی گاوهای اوایل دوره شیردهی درنتیجه تغییر در آنزیم‌های کلیدی و مسیرهای بیوشیمیایی برای حمایت از شروع شیردهی باشد (Castañeda-Gutiérrez *et al*., 2005).

اگرچه سطوح fNDF و CLA درصد و مقدار پروتئین شیر را تحت تاثیر قرار ندادند، اما در راستا با تولید شیر، گاوهای 18fNDF تمایل به تولید مقدار پروتئین بیش‌تری در مقایسه با 23fNDF داشتند (۱/۳۷ در برابر ۱/۲۹ کیلوگرم در روز؛ P=۰/۰۷). در راستا با نتایج پژوهش حاضر، Piantoni *et al.* (2014) گزارش کردند که کاهش fNDF از ۲۶ به ۲۰ درصد ماده خشک درصد پروتئین شیر را تحت تاثیر قرار نداد اما منجر به افزایش مقدار پروتئین شیر در ۲۹ روز اول پس از زایش شد. درصد و مقدار پروتئین شیر توسط CLA تحت تاثیر قرار نگرفت، اما درصد پروتئین با گذشت زمان کاهش یافت (P<۰/۰۱). نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های پژوهش‌های

پیشین همسو است (Hötger etal., 2013; Chandler *et al*., 2017).

درصد لاکتوز تحت تاثیر fNDF قرار نگرفت (P=۰/۹۳)؛ اما افزایش در تولید شیر منجر به یک تمایل در افزایش مقدار لاکتوز شیر در گاوهای 18fNDF در مقایسه با 23fNDF شد (۱/۸۵ در برابر ۱/۷۳ کیلوگرم در روز؛ P=۰/۰۶). درصد (P=۰/۰۱) و مقدار لاکتوز (P=۰/۰۳) در گاوهای CLA+ در مقایسه با CLA– به ترتیب ۰/۲ درصد و ۰/۱۷ کیلوگرم در روز بالاتر بود (P < ۰/۰۱). اثر متقابل CLA در زمان نشان داد که گاوهایCLA+ در روزهای ۱۲ (۰/۰۱ > P) و ۱۶ (P=۰/۰۳) دوره شیردهی درصد لاکتوز بالاتری در مقایسه با CLA– داشتند (شکل ۶). نتایج پژوهش حاضر در توافق با یافته‌های پژوهش‌های پیشین بر روی اثر کاهش سطوح fNDF (Piantoni *et al*., 2014) یا کاهش نسبت علوفه به کنسانتره (Rabelo *et al*., 2003) بر روی درصد و مقدار لاکتوز بودند. نشخوارکنندگان بیشتر استات و بوتیرات را به‌عنوان سوبسترا برای ساخت اسیدهای چرب شیر استفاده می‌کنند، اما گلوکز علاوه بر فراهم کردن NADPH برای ساخت دنوو اسید چرب و گلیسرول، برای ساخت چربی شیر در نشخوارکنندگان نیز مورد نیاز است (Bauman & Griinari, 2003; Voigt *et al*., 2005). Hötger *et al*. (2013) گزارش کردند علی‌رغم کاهش در تولید گلوکز درون‌زا، گاوهای تغذیه‌شده با مکمل CLA درصد لاکتوز شیر بالاتری در مقایسه با گروه کنترل داشتند. در حقیقت آن‌ها فرض کردند که کاهش گلوکز مورد نیاز برای ساخت چربی شیر منجر به صرفه‌جویی در گلوکز جهت افزایش در درصد لاکتوز به‌عنوان مؤلفه تنظیم‌کننده اسمزی (osmoregulator) شیر و درنتیجه افزایش تولید شیر می‌شود که نتایج پژوهش حاضر را حمایت می‌کند.

متابولیت‌های سرم

غلظت‌های سرمی متابولیت‌های خونی و LFI در جدول ۴ ارائه شده‌اند. غلظت سرمی گلوکز توسط fNDF و اثر متقابل دو و سه جانبه آن با CLA و زمان، تحت تاثیر قرار نگرفت (جدول ۴)؛ اما گاوها در 18fNDF تمایل به افزایش غلظت گلوکز در مقایسه با 23fNDF داشتند (۵۸/۳۰ در برابر ۶۴/۱۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر؛ P=۰/۰۹).

جدول ۳. اثر سطوح متفاوت fNDF و خوراندن CLA بر تولید و ترکیبات شیر در گاوهای تازه‌زا.

Table 3. Effects of dietary forage NDF (fNDF) content and CLA supplementation on milk yield and composition during experimental period.

Item	Forage NDF[1]			CLA[2]			P- value						
	18fNDF	23fNDF	SEM	-CLA	+CLA	SEM	fNDF	CLA	Time	fNDF × CLA	fNDF × Time	CLA× Time	fNDF × CLA×Time
Milk yield, kg/d	39.50	36.54	0.73	36.65	39.45	0.75	<0.01	<0.01	<0.01	0.62	0.48	0.04	0.47
4% FCM, kg/d	35.79	35.20	1.03	36.01	35.89	1.1	0.67	0.36	<0.01	0.70	0.59	0.11	0.17
Milk composition, %													
Fat	3.45	3.82	0.16	3.90	3.38	0.14	0.10	0.01	<0.01	0.81	0.50	0.01	0.14
Protein	3.54	3.56	0.045	3.56	3.53	0.05	0.67	0.65	<0.01	0.21	0.76	0.65	0.30
Lactose	4.71	4.72	0.07	4.61	4.81	0.062	0.93	0.01	<0.01	0.18	0.67	0.06	0.20
Yields, kg/d													
Fat	1.34	1.37	0.067	1.41	1.30	0.062	0.73	0.11	0.10	0.70	0.55	0.05	0.18
Protein	1.37	1.29	0.33	1.30	1.35	0.044	0.07	0.28	<0.01	0.30	0.69	0.10	0.52
Lactose	1.85	1.73	0.06	1.70	1.87	0.043	0.06	0.03	<0.01	0.90	0.62	0.30	0.12

۱. 23fNDF=fNDF بالا، حاوی 23 درصدfNDF ؛ 18fNDF=fNDF پایین، حاوی ۱۸ درصدfNDF .

۲. مکمل CLA (۲۰۰ گرم) به صورت سرک در وعده صبح خورانده شدند.

1. 23fNDF= high fNDF, containing 23% fNDF; 18fNDF= Low fNDF, containing 18% fNDF

2. The CLA supplement (200 gr) was top dressed at the morning feeding

افزودن CLA غلظت‌های گلوکز سرم را تحت تاثیر قرار داد؛ به‌طوری که گاوها در تیمار CLA+ غلظت‌های بالاتری از گلوکز سرم در مقایسه با CLA– داشتند (P=۰/۰۱). اثر زمان (P<۰/۰۱) بر غلظت گلوکز سرم نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین غلظت گلوکز به ترتیب در روز زایش (۸۵/۸۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و روز ۷ شیردهی (۵۷/۳۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) بود. به احتمال، افزایش در گلوکز سرم در روز زایش نتیجه‌ای از سازگاری هموراتیک مانند افزایش گلوکونئوژنز و گلیکوژنولیز جهت تامین گلوکز موردنیاز غدد پستان برای تولید شیر باشد (Garverick *et al*., 2013).

مشابه با تحقیق حاضر در یک پژوهش (Piantoni *et al*., 2015)، کاهش NDF حاصل از علوفه (fNDF) از ۲۶ به ۲۰ درصد غلظت‌های گلوکز طی ۲۹ روز اول دوره شیردهی را افزایش داد. به همین ترتیب، Rabelo *et al.* (2005) یک افزایش در غلظت گلوکز پلاسما در گاوهای تغذیه‌شده در جیره‌های با نسبت پایین (۴۰ به ۶۰؛ ۲۵ درصد NDF) علوفه به کنسانتره در مقایسه با نسبت بالاتر (۶۰ به ۴۹؛ ۳۰ درصد NDF) را طی ۲۰ روز اول دوره شیردهی گزارش کردند. درحالی‌که Naderi *et al.* (2016) تغییری در غلظت گلوکز گاوهای اواسط دوره شیردهی با جایگزینی ذرت سیلوشده با تفاله چغندرقند که منجر به کاهش fNDF از ۲۱/۳ به ۱۶/۵، ۱۴/۱، یا ۱۱/۷ درصد شد را مشاهده نکردند. تناقض در پاسخ‌های غلظت گلوکز سرم به کاهش سطوح fNDF جیره‌ها ممکن است به سبب تفاوت در مرحله شیردهی و درنتیجه تفاوت در نیاز به گلوکز در این دوره‌ها باشد. Hötger *et al.* (2013) گزارش کردند خوراندن CLA طی دوره انتقال بیان ژنی فسفوانول پیروات کربوکسی‌کیناز را کاهش داد و باوجود کاهش در تولید گلوکز درون‌زاد، در گاوهای تغذیه‌شده با مکمل CLA، سطح گلوکز سرم در این گاوها بالاتر بود. آن‌ها پیشنهاد کردند که اثر صرفه‌جویی در گلوکز همراه با خوراندن CLA ممکن درنتیجه استفاده کم‌تر از گلوکز برای ساخت چربی شیر و یا استفاده موثرتر از انرژی قابل متابولیسم توسط کل بدن (Voigt *et al*., 2005; von Soosten *et al*., 2012) در گاوها تغذیه‌شده با CLA باشد. هم‌چنین افزایش در غلظت پلاسمایی گلوکز در گاوهای تغذیه‌شده با CLA طی اوایل دوره شیردهی توسط Odens *et al*,. (2007) حمایت می‌شود. درحالی‌که دیگر پژوهش‌ها گزارش کردند مصرف CLA غلظت‌های گلوکز را تحت تاثیر قرار نداد (Castaneda-Gutierrez *et al*., 2005; Schäfers *et al*., 2017).

جدول ۴. اثر سطوح متفاوت fNDF و خوراندن CLA بر متابولیت‌های سرم و LFI در گاوهای تازه‌زا.

Table 4. Effects of dietary forage NDF (fNDF) content and CLA supplementation on serum metabolites and LFI during experimental period.

Item	Forage NDF[1]			CLA[2]			P- value						
	20FNDF	26FNDF	SEM	-CLA	+CLA	SEM	fNDF	CLA	Time	fNDF × CLA	fNDF × Time	CLA× Time	fNDF × CLA× Time
Glucose, mg/dl	64.10	58.30	3.75	56.19	66.20	3.62	0.09	<0.01	<0.01	0.17	0.39	0.18	0.29
NEFA, mmol/l	0.66	0.79	0.029	0.75	0.70	0.031	<0.01	0.30	<0.01	0.35	0.69	0.88	0.14
BHBA, mmol/l	0.76	0.98	0.054	0.91	0.83	0.057	0.01	0.27	<0.01	0.91	0.54	0.21	0.15
GGT, Unit/l[3]	23.24	25.10	1.67	24.16	24.02	1.75	0.40	0.99	0.02	0.18	0.90	0.71	0.48
Albumin, g/dl	3.63	3.70	0.046	3.71	3.65	0.057	0.29	0.37	<0.01	0.90	0.18	0.20	0.43
Cholesterol, mg/dl	127.6	129.46	6.40	130.84	126.58	7.61	0.80	0.57	<0.01	0.72	0.68	0.18	0.90
Bilirubin, µmol/l	5.67	5.20	0.30	5.58	5.30	0.32	0.15	0.38	<0.01	0.15	0.41	0.47	0.17
TAG,mg/dl[4]	24.69	22.77	1.57	23.91	23.56	1.51	0.23	0.82	<0.01	0.43	0.38	0.91	0.88
BUN, mg/dl	14.52	14.30	0.41	14.20	14.61	0.39	0.63	0.38	<0.01	0.37	0.22	0.38	0.85
LFI[5]	1.43	1.32	0.75	1.21	1.50	0.78	0.88	0.68	-	0.45	-	-	-

۱. 23fNDF=fNDF بالا، حاوی ۲۳ درصدfNDF ؛ 18fNDF=fNDF پایین، حاوی ۱۸ درصدfNDF .

۲. مکمل CLA (۲۰۰ گرم) به صورت سرک در وعده صبح خورانده شدند.

۳. گاماگلوتامیل ترانس پپتیداز

۴. تری آسیل گلیسرول

۵. شاخص عملکرد کبد

1. 23fNDF= high fNDF, containing 23% fNDF; 18fNDF= Low fNDF, containing 18% fNDF
2. The CLA supplement (200 gr) was top dressed at the morning feeding.
3. Gamma glutamyl transferase
4. Triacylglycerol
5. Liver functionality index

غلظت‌های سرمی NEFA و BHBA به‌عنوان شاخص‌های انرژی تحت تاثیر هیچ یک از مؤلفه‌های مدل به جز fNDF و زمان قرار نگرفت (جدول ۴). گاوهای تغذیه‌شده با 18fNDF غلظت‌های سرمی NEFA و BHBA پایین‌تری در مقایسه با 23fNDF داشتند ($P < ۰/۰۱$). در پژوهش حاضر غلظت‌های کاهش‌یافته NEFA و BHBA در 18fNDF در توافق با نتایج کاهش در از دست دادن وزن بدن و توازن انرژی بهبودیافته (جدول ۲) در این گروه است. خوراندن مکمل CLA و اثر متقابل دو و سه‌جانبه آن با دیگر اجزای مدل غلظت NEFA و BHBA سرم را تحت تاثیر قرار نداد (جدول ۴). عدم‌تغییر در غلظت NEFA و BHBA سرم در توافق با عدم پاسخ در تغییرات BCS و وزن بدن و توازن انرژی (جدول ۲) در گاوهای دریافت‌کننده CLA است. در پژوهش حاضر، اثر کاهش دادن fNDF بر غلظت سرمی NEFA و BHBA در راستا با نتایج گزارش‌شده توسط Piantoni *et al.* (2015) است زمانی که درصد fNDF جیره گاوهای تازه‌زا از ۲۶ درصد به ۲۰ درصد کاهش یافت. اگرچه Rabelo *et al.* (2005) اثری از کاهش بخش علوفه جیره در گاوهای تازه‌زا بر روی NEFA سرم گزارش نکردند؛ اما آن‌ها کاهش در غلظت BHBA در گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های کم علوفه در مقایسه با جیره‌های پر علوفه طی ۲۰ روز اول دوره شیردهی را مشاهده کردند. عدم‌تغییر در NEFA سرم در توافق با اغلب پژوهش‌هایی است که گزارش کردند مصرف CLA غلظت NEFA را تحت تاثیر قرار نداد (Pappritz *et al*., 2011; Schlegel *et al*., 2012; Hötger *et al*., 2013; Schafers *et al*., 2017). برخلاف آن، Odens *et al.* (2007) کاهش در غلظت‌های پلاسمایی NEFA را در گاوهای تغذیه‌شده با CLA در مقایسه با گروه کنترل گزارش کردند. در توافق با نتایج پژوهش کنونی، چندین پژوهش دیگر در گاوهای شیری اثری از خوراندن CLA بر غلظت‌های پلاسمایی BHBA مشاهده نکردند (Schlegel *et al*., 2012; Schafers *et al*., 2017).

تری‌آسیل گلیسرول، LFI و مؤلفه‌های آن (آلبومین، کلسترول و بیلی‌روبین) تحت تاثیر fNDF، CLA و اثر متقابل CLA در fNDF و آثار متقابل آن‌ها با زمان قرار نگرفتند (جدول ۴). به‌طور مشابه، Piantoni *et al.* (2014) در گاوهای تازه‌زا و Naderi *et al.* (2016) در گاوهای اواسط شیردهی اثری از جایگزین کردن NFFS برای علوفه بر غلظت‌های BUN و تری‌گلیسرید مشاهده نکردند. در راستا با نتایج پژوهش حاضر، Schlegel *et al.* (2012) گزارش کردند که خوراندن CLA در گاوهای دوره انتقال بیان ژن‌های مسئول لیپوژنز ساخت کلسترول و به‌تبع آن غلظت‌های کلسترول و تری‌آسیل‌گلیسرید پلاسما را تحت تاثیر قرار نداد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که هیچ اثر متقابلی بین افزودن CLA و سطوح fNDF برای ماده خشک مصرفی، تولید و ترکیبات شیر، توزان انرژی و متابولیت‌های سرم طی ۲۱ روز اول پس از زایش وجود نداشت. درمجموع، کاهشNDF علوفه‌ای در جیره گاوهای تازه‌زا منجر به بهبود خوراک مصرفی، توازن انرژی مصرفی و عملکرد تولیدی شد. افزودن CLA در جیره گاوهای تازه‌زا منجر به صرفه‌جویی در گلوکز از طریق کاهش ساخت چربی و افزایش درصد لاکتوز و تولید شیر شد.

REFERENCES

1. Allen, M. S., Bradford, B. J., & Oba, M. (2009). Board-invited review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *Journal of Animal Science*, 87 (10), 3317-3334.
2. AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. 15th ed. *Association of Official Analytical Chemists*, Arlington, VA.
3. Bauman, D. E., Perfield, J. W., Harvatine, K. J., & Baumgard, L. H. (2008). Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: lactation and the ruminant model. *The Journal of Nutrition*, 138 (2), 403-409.
4. Bauman, D. E., & Griinari, J. M. (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition,* 23 (1), 203-227.

5. Bauman, D. E., Harvatine, K. J., & Lock, A. L. (2011). Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 31, 299-319..
6. Bradford, B. J., & Mullins, C. R. (2012). Invited review: Strategies for promoting productivity and health of dairy cattle by feeding nonforage fiber sources. *Journal of Dairy Science*, 95 (9), 4735-4746.
7. Castaneda-Gutierrez, E., Overton, T. R., Butler, W. R., & Bauman, D. E. (2005). Dietary supplements of two doses of calcium salts of conjugated linoleic acid during the transition period and early lactation. *Journal of Dairy Science*, 88 (3), 1078-1089.
8. Chandler, T. L., Fugate, R. T., Jendza, J. A., Troescher, A., & White, H. M. (2017). Conjugated linoleic acid supplementation during the transition period increased milk production in primiparous and multiparous dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 224, 90-103.
9. Gaines, W.L., and Overman, O. R. (1938). Interrelation of milk fat, milk protein and milk energy yield. *Journal of Dairy*. 21:261–271.
10. Garverick, H. A., Harris, M. N., Vogel-Bluel, R., Sampson, J. D., Bader, J., Lamberson, W. R., ... & Youngquist, R. S. (2013). Concentrations of nonesterified fatty acids and glucose in blood of periparturient dairy cows are indicative of pregnancy success at first insemination. *Journal of Dairy Science,* 96 (1), 181-188.
11. Hernandez-Urdaneta, A., Coppock, C. E., McDowell, R. E., Gianola, D., & Smith, N. E. (1976). Changes in forage-concentrate ratio of complete feeds for dairy cows. *Journal of Dairy Science,* 59 (4), 695-707.
12. Holt, M. S., Williams, C. M., Dschaak, C. M., Eun, J. S., & Young, A. J. (2010). Effects of corn silage hybrids and dietary nonforage fiber sources on feed intake, digestibility, ruminal fermentation, and productive performance of lactating Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science,* 93 (11), 5397-5407.
13. Hötger, K., Hammon, H. M., Weber, C., Görs, S., Tröscher, A., Bruckmaier, R. M., & Metges, C. C. (2013). Supplementation of conjugated linoleic acid in dairy cows reduces endogenous glucose production during early lactation. *Journal of Dairy Science,* 96 (4), 2258-2270.
14. Hutchinson, I. A., Hennessy, A. A., Dewhurst, R. J., Evans, A. C. O., Lonergan, P., & Butler, S. T. (2012). The effect of strategic supplementation with trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on the milk production, estrous cycle characteristics, and reproductive performance of lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science,* 95 (5), 2442-2451.
15. Kay, J. K., Roche, J. R., Moore, C. E., & Baumgard, L. H. (2006). Effects of dietary conjugated linoleic acid on production and metabolic parameters in transition dairy cows grazing fresh pasture. *Journal of Dairy Research,* 73 (3), 367-377.
16. Kokkonen, T., Taponen, J., Anttila, T., Syrjälä-Qvist, L., Delavaud, C., Chilliard, Y., ... & Tesfa, A. T. (2005). Effect of body fatness and glucogenic supplement on lipid and protein mobilization and plasma leptin in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88 (3), 1127-1141.
17. Littell, R. C., Milliken, G. A., Stroup, W. W., Wolfinger, R. D., & Schabenberger, O. (2006). *SAS for Mixed Models*. 2nd. Cary, NC: SAS Institute Inc..
18. Miron, J., Adin, G., Solomon, R., Nikbachat, M., Zenou, A., Yosef, E., ... & Mabjeesh, S. J. (2010). Effects of feeding cows in early lactation with soy hulls as partial forage replacement on heat production, retained energy and performance. *Animal Feed Science and Technology*, 155 (1), 9-17.
19. Naderi, N., Ghorbani, G. R., Sadeghi-Sefidmazgi, A., Nasrollahi, S. M., & Beauchemin, K. A. (2016). Shredded beet pulp substituted for corn silage in diets fed to dairy cows under ambient heat stress: Feed intake, total-tract digestibility, plasma metabolites, and milk production. *Journal of Dairy Science*, 99 (11), 8847-8857.
20. National Research Council (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th rev. ed., Washington, DC: National Academy Press.
21. Odens, L. J., Burgos, R., Innocenti, M., VanBaale, M. J., & Baumgard, L. H. (2007). Effects of varying doses of supplemental conjugated linoleic acid on production and energetic variables during the transition period. *Journal of Dairy Science,* 90 (1), 293-305.
22. Pappritz, J., Meyer, U., Kramer, R., Weber, E. M., Jahreis, G., Rehage, J., Flachowsky G., & Dänicke, S. (2011). Effects of long-term supplementation of dairy cow diets with rumen-protected conjugated linoleic acids (CLA) on performance, metabolic parameters and fatty acid profile in milk fat. *Archives of Animal Nutrition,* 65 (2), 89-107.
23. Piantoni, P., Lock, A. L., & Allen, M. S. (2014). Saturated fat supplementation interacts with dietary forage NDF content during the immediate postpartum in Holstein cows: Energy balance and metabolism. *Journal of Dairy Science*, 98, 3323-3334.
24. Piantoni, P., Lock, A. L., & Allen, M. S. (2015). Saturated fat supplementation interacts with dietary forage neutral detergent fiber content during the immediate postpartum and carryover periods in Holstein cows: Production responses and digestibility of nutrients. *Journal of Dairy Science*, 98 (5), 3309-3322.

25. Rabelo, E., Rezende, R. L., Bertics, S. J., & Grummer, R. R. (2003). Effects of transition diets varying in dietary energy density on lactation performance and ruminal parameters of dairy cows. *Journal of Dairy Science,* 86 (3), 916-925.
26. Schäfers, S., Von Soosten, D., Meyer, U., Drong, C., Frahm, J., Kluess, J., Raschka C., Rehage J., Tröscher A., Pelletier W., & Dänicke, S. (2017). Influence of conjugated linoleic acid and vitamin E on performance, energy metabolism, and change of fat depot mass in transitional dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100 (4), 3193-3208.
27. Schlegel, G., Ringseis, R., Windisch, W., Schwarz, F. J., & Eder, K. (2012). Effects of a rumen-protected mixture of conjugated linoleic acids on hepatic expression of genes involved in lipid metabolism in dairy cows. *Journal of Dairy Science,* 95 (7), 3905-3918.
28. Undersander, D., Mertens, D. R., & Thiex, N. (1993). *Forage analyses. Information Systems Division*, National Agricultural Library (United States of America) NAL/USDA, 10301.
29. Van Soest, P. V., Robertson, J. B., & Lewis, B. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74 (10), 3583-3597.
30. Voigt, J., Gaafar, K., Kanitz, W., Precht, D., Becker, F., Schneider, Spitschak, M., Schönhusen, U., Junghans, P., Aschenbach, J.R, & Gäbel, G. (2005). Utilization of glucose and long-chain fatty acids in lactating dairy cows fed a fat-enriched diet. DTW. *Deutsche Tierarztliche Wochenschrift*, 112 (11), 423-425. (In German).
31. Von Soosten, D., Meyer, U., Weber, E. M., Rehage, J., Flachowsky, G., & Dänicke, S. (2011). Effect of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on performance, adipose depot weights, and liver weight in early-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94 (6), 2859-2870.
32. Von Soosten, D., Meyer, U., Piechotta, M., Flachowsky, G., & Dänicke, S. (2012). Effect of conjugated linoleic acid supplementation on body composition, body fat mobilization, protein accretion, and energy utilization in early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95 (3), 1222-1239.
33. Wildman, E. E., Jones, G. M., Wagner, P. E., Boman, R. L., Troutt Jr, 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 (3), 495-501.