

Research Paper

Effect of Supplementation Lipogenic and Lipolytic Sources on Dry Matter Intake, Milk Composition and Blood Parameters of Lactating Cows

Mohammad Hassan Mortazavi¹, Mahdi Ganjkanlou² , Aboalfazl Zali³ and Kamran Reza Yazdi³

1. Ph.D. student, Department of Animal Science, University of Tehran, Tehran, Iran

2. Professor, Department of Animal Science, University of Tehran, Tehran, Iran,
(Corresponding author: ganjkanlou@ut.ac.ir)

3. Professor, Department of Animal Science, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 04 April, 2024

Revised: 14 July, 2024

Accepted: 05 August, 2024

Extended Abstract

Background: Cows after calving, due to the production of milk with high fat content, which increases the energy output from the body; on the other hand, due to the less dry matter intake than what meets animal requirements, which is mainly due to metabolic and hormonal responses, cannot provide that amount of output energy from their body. All of these factors may cause the activation of lipolysis messages for energy supply and as a result can cause metabolic disorders in this period. One of the solutions to deal with these disorders is the use of nutritional supplements, which can help prevent the occurrence of disorders during this period by reducing lipolysis messages or reducing the energy output from the body. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of sodium acetate supplement as a lipogenic source and conjugated linoleic acid supplement as a lipolytic source on the performance of lactating cows in early lactation. Purpose of using sodium acetate supplement as a lipogenic source was to increase the animal's energy access to supply energy for intestinal tissue cells, peripheral cells, and increase de novo milk fatty acids production, which reduces the secretion of energy request messages by these tissues. On the other hand, conjugated linoleic acid supplement has a negative effect on the function of enzymes that produce milk de novo fatty acids, it causes a reduction of milk fatty acids and prevents releasing of energy through milk, which can help reduce the negative energy balance during early lactation. This study allows a comparative analysis of two distinct energy adjustment systems, each employing different mechanisms to enhance the management of negative energy balance.

Methods: Twenty-four multiparous cows with an average live body weight of 618 kg and a body condition score (BCS) of 3.73, which were examined in terms of health and without any fever, retention of fetal membranes, metritis, and milk fever, five days after calving were grouped into three treatments with eight replications. The duration of the experiment was 21 days (from the 5th to the 25th day after calving). Treatments include: (1) control, (2) 100 grams per day of conjugated linoleic acid (BASF Co) supplement with 20 percent purity content of 50 percent cis-9 trans-11, 50 percent trans-10 cis-12, and (3) 300 grams per day sodium acetate supplement. Dry matter intake was measured every day before feed delivery in the morning meal. Milk production was recorded in each meal and milk compositions were measured on 5, 8, 11, 14, 17, 20, and 25 days after calving. Blood parameters including glucose, total protein, and blood urea nitrogen were evaluated on 5, 7, 14, 20, and 25 days after calving. Statistical analysis of the parameters that were measured several times during the experiment was performed using the mixed procedure, and for other parameters that were measured once during the experiment, the GLM procedure was performed using the SAS statistical software (version 9/4).

Results: Dry matter intake was not affected among treatments ($P = 0.31$). However, dry matter intake on day 25 compared to day 5 in the control, conjugated linoleic acid and sodium acetate treatments increased by 1.64, 2.16, and 2.76 kg, respectively. Feeding sodium acetate supplement increased 19 percent daily milk production and 17 percent daily milk fat production (fat corrected milk based on 4 percent fat) compared to the control treatment ($P = 0.03$). Fat corrected milk



based on 4 percent fat was not significantly different between conjugated linoleic acid treatment compared to other treatments (control and sodium acetate treatments; $P = 0.23$). Conjugated linoleic acid supplement tended to decrease milk fat percentage compared to the other two treatments ($P = 0.09$). There was a tended to be significant difference in the percentage of milk fat in sodium acetate treatment than in the control treatment. No significant difference was observed in the percentage and amount of daily production of other milk compounds including lactose and protein between treatments ($P > 0.10$). In the blood parameters, only glucose index in conjugated linoleic acid treatment and sodium acetate treatment was significantly higher ($P = 0.01$) than control treatment. However, there was no significant difference in other blood parameters including total protein and blood urea nitrogen either in the whole period or at any measurement time.

Conclusion: According to the results of this study, it seems that the conjugated linoleic acid supplement improved energy storage in the body and balanced blood glucose by reducing the energy output by reducing the percentage of milk fat. On the other hand, sodium acetate supplement by supplying energy to the tissues and its role as a precursor of milk fat, which causes a decrease in fatty acid extraction from blood by the mammary glands, and a decrease in lipolysis messages caused an increase in milk fat and an increase in blood glucose.

Keywords: Conjugated linoleic acid, Fatty liver, Metabolic disease, Milk fat, Negative energy balance

How to Cite This Article: Mortazavi, M. H., Ganjkanlou, M., Zali, A., & Reza Yazdi, K. (2025). Effect of Supplementation Lipogenic and Lipolytic Sources on Dry Matter Intake, Milk Composition and Blood Parameters of Lactating Cows. *Res Anim Prod*, 16(1), 64-75. DOI: 10.61186/rap.16.1.64

مقاله پژوهشی

اثر منابع چربی‌زا و چربی‌زدا بر ماده خشک مصرفی، ترکیبات شیر و فراسنجه‌های خونی گاوهای شیرده

محمد حسن مرتضوی^۱، مهدی گنج‌خانلو^{۱،۲}، ابوالفضل زالی^۳ و کامران رضا یزدی^۳

۱- دانشجوی دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه تهران، تهران، ایران، (نویسنده مسوول: ganjkanlou@ut.ac.ir)
۳- استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۵

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۹
صفحه: ۶۴ تا ۷۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۶

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: گاوها بعد از زایش با توجه به تولید شیر با محتوی چربی بالا که سبب افزایش خروج انرژی از بدن می‌شود و از طرف دیگر، مصرف ماده خشک کمتر از آن چه که باسختگی تأمین نیازهای حیوان است که به‌طور عمده دلایل متابولیک و هورمونی دارد، توانایی تأمین انرژی خروجی از بدن را ندارند. این عوامل سبب فعال شدن پیام‌های لیپولیز در بدن برای تأمین انرژی و در نهایت بروز ناهنجاری‌های متابولیک در این دوران می‌شود. یکی از راهکارهای مقابله با این ناهنجاری‌ها استفاده از مکمل‌های تغذیه‌ای است که یا با کاهش بروز پیام‌های لیپولیز (کاهش خروج انرژی از بدن) یا با تأمین انرژی مورد نیاز برای تولید حیوان می‌تواند به جلوگیری از بروز ناهنجاری‌ها در این دوران کمک کند. لذا هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر تغذیه مکمل استات‌سدیم به‌عنوان منبع چربی‌زا (لیپوژنیک) و مکمل اسید لینولئیک مزدوج (CLA^۱) به‌عنوان منبع چربی‌زدا (لیپولایزیک) بر عملکرد گاوهای شیرده اوایل شیردهی انجام شد. هدف استفاده از مکمل استات‌سدیم به‌عنوان یک منبع لیپوژنیک افزایش دسترسی حیوان به انرژی برای تأمین انرژی سلول‌های بافت روده، سلول‌های محیطی و تولید چربی شیر که سبب کاهش ترشح پیام‌های درخواست انرژی توسط این بافت‌ها می‌شود. از طرف دیگر، مکمل CLA با تأثیر منفی بر عملکرد آنزیم‌های تولید کننده درون تنی چربی شیر، سبب کاهش چربی شیر و جلوگیری از خروج انرژی با شیر می‌شود که می‌تواند به کاهش توازن منفی انرژی در این دوران کمک کند. این مطالعه امکان مقایسه دو نوع سیستم تعدیل انرژی با دو ساز و کار متفاوت جهت بهبود توازن منفی انرژی را فراهم می‌کند.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۴ رأس گاو چند شکم زایش با میانگین وزن بدن ۶۱۸ کیلوگرم و نمره وضعیت بدنی^۲ (BCS) ۳/۷۳ که از لحاظ سلامتی بررسی شدند و بدون هیچ بیماری‌ای مانند تب، جفت‌ماندگی، عفونت رحم و تب‌شیر بودند، پنج روز بعد از زایش به سه تیمار با هشت تکرار دسته‌بندی شدند. مدت زمان انجام آزمایش ۲۱ روز (از روز ۵ تا ۲۵ بعد از زایش) بود. تیمارها شامل: (۱) تیمار شاهد، (۲) تیمار تغذیه‌شده با ۱۰۰ گرم در روز مکمل محافظت شده CLA (BASF Co) با خلوص ۲۰ درصد محتوی ۵۰ درصد سیس-۹-ترانس-۱۱، ۵۰ درصد ترانس-۱۰-سیس-۱۲ و (۳) تیمار تغذیه‌شده با ۳۰۰ گرم در روز مکمل استات‌سدیم بودند. اندازه ماده خشک مصرفی هر روز قبل از خوراک‌دهی وعده صبح در زمانی که گاوها در سالن شیردوشی بودند، اندازه‌گیری شد. تولید شیر در هر وعده ثبت شد و ترکیبات شیر در روزهای ۵، ۸، ۱۱، ۱۴، ۱۷، ۲۰ و ۲۵ اندازه‌گیری شدند. دو ساعت بعد از تغذیه وعده صبح فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز، پروتئین کل و نیتروژن اوره‌ای خون در روزهای ۵، ۷، ۱۴، ۲۰ و ۲۵ ارزیابی شدند. تجزیه و تحلیل آماری فراسنجه‌هایی که چندبار در طول آزمایش اندازه‌گیری شده بودند با استفاده از رویه مختلط (Mixed) و برای سایر فراسنجه‌هایی که یک‌بار در طول آزمایش اندازه‌گیری شده بودند از رویه GLM با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۴) انجام شد.

یافته‌ها: اندازه ماده خشک مصرفی تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت ($P = 0.31$). اما مقایسه ماده خشک مصرف‌شده در روز ۲۵ نسبت به روز ۵ در تیمار شاهد، تیمار تغذیه‌شده با مکمل محافظت شده CLA و تیمار تغذیه‌شده با مکمل استات‌سدیم به‌ترتیب ۱/۶۴، ۲/۱۶ و ۲/۷۶ کیلوگرم افزایش یافت. تغذیه مکمل استات‌سدیم باعث افزایش ۱۹ درصدی تولید روزانه شیر و ۱۷ درصدی تولید روزانه چربی شیر (شیر تصحیح شده براساس ۴ درصد چربی) نسبت به تیمار شاهد شد ($P = 0.03$). اما این شاخص در تیماری که با مکمل CLA تغذیه‌شده بود تفاوت معنی‌داری با دو تیمار دیگر نداشت ($P = 0.23$). تغذیه مکمل محافظت شده CLA سبب کاهش درصد چربی شیر نسبت به دو تیمار دیگر شد ($P = 0.09$). درصد چربی شیر در تیمار تغذیه‌شده با مکمل استات‌سدیم نسبت به تیمار تغذیه‌شده با مکمل محافظت شده CLA بیشتر بود که از لحاظ آماری این تفاوت تمایل به معنی‌داری داشت، اما با تیمار شاهد تفاوتی نداشت. از نظر درصد و اندازه تولید روزانه سایر ترکیبات شیر شامل لاکتوز و پروتئین در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.10$). از بین فراسنجه‌های خونی فقط فراسنجه خونی گلوکز در تیمارهای تغذیه‌شده با مکمل محافظت شده CLA و مکمل استات‌سدیم نسب به شاهد به‌طور معنی‌داری ($P = 0.01$) افزایش یافت. اما تفاوت معنی‌داری در سایر فراسنجه‌های خونی شامل پروتئین کل و نیتروژن اوره‌ای خون مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه به‌نظر می‌رسد که مکمل اسیدلینولئیک مزدوج با کاهش خروج انرژی توسط کاهش درصد چربی شیر سبب بهبود وضعیت ذخیره انرژی در بدن و متعادل نگه‌داشتن گلوکز خون شد. از طرفی مکمل استات‌سدیم با تأمین انرژی برای بافت‌ها و نقش آن به‌عنوان پیش‌ساز چربی شیر که سبب کاهش برداشت اسید چرب از خون توسط غدد پستانی می‌شود و کاهش پیام‌های لیپولیز سبب افزایش چربی شیر و افزایش گلوکز خون شد.

واژه‌های کلیدی: اسید لینولئیک مزدوج، توازن منفی انرژی، چربی شیر، کبد چرب، ناهنجاری متابولیک

مقدمه

استریفیه^۴ (NEFA) از سلول‌های چربی و ورود آن‌ها به خون و در نهایت برداشت آن‌ها توسط کبد می‌شوند. ورود حجم عظیم NEFA به کبد عامل ایجاد عارضه‌های کبدی از جمله کبد چرب است (Mekuriaw, 2023).

گاوها بعد از زایش به‌دلیل عدم توازن در انرژی مصرفی و انرژی خروجی مستعد به بروز توازن منفی انرژی^۳ (NEB) هستند. کاهش گلوکز خون سبب آزاد شدن اسیدهای چرب غیر

^۱ Conjugated linoleic acid

^۲ Body condition score

^۳ Negative energy balance (NEB)

^۴ Non-esterified fatty acid

بتواند میزان لیپولیز را کاهش و یا میزان لیپوژنز را تحریک نماید در عملکرد حیوان بهبود ایجاد خواهد کرد، لذا هدف اصلی از این آزمایش مطالعه تاثیر دو منبع لیپوژنز (چربی‌زا) و لیپولیز (چربی‌زدا) شامل مکمل استات‌سدیم به‌عنوان تحریک کننده لیپوژنز و مکمل CLA به‌عنوان کاهش دهنده چربی شیر و بهبود دهنده توازن انرژی در اوایل زایش است. در واقع این مطالعه امکان مقایسه دو نوع سیستم تعدیل انرژی با دو مکانیسم متفاوت جهت بهبود توازن منفی انرژی را فراهم می‌کند.

مواد و روش‌ها مکان انجام آزمایش

این آزمایش در پاییز سال ۱۳۹۹ در قالب طرح کامل تصادفی به مدت ۲۰ روز بر روی گاوهای تازه‌زا در ایستگاه علمی پژوهشی علوم دامی دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران اجرا گردید.

تیمارهای آزمایشی و خوراک‌دهی

تعداد ۲۴ راس گاو چند شکم زایش با میانگین وزن بدن ۶۱۸ کیلوگرم و نمره وضعیت بدنی ۳/۷۳ که از لحاظ سلامتی بررسی شدند و بدون هیچ عارضه‌ای مانند تب، جفت‌ماندگی، عفونت رحم و تب‌شیر بودند، پنج روز بعد از زایمان به سه تیمار با هشت تکرار دسته بندی شدند.

جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- شاهد، ۲- تغذیه شده با ۱۰۰ گرم در روز مکمل محافظت شده CLA با خلوص ۲۰ درصد محتوی ۵۰ درصد سیس-۹-ترانس-۱۱، ۵۰ درصد ترانس-۱۰-سیس-۱۲، ۳- تغذیه شده با ۳۰۰ گرم در روز مکمل استات‌سدیم به‌شکل پودر که در هنگام تهیه جیره کاملاً مخلوط (TMR) به کنساتره اضافه شدند. جیره‌ها با استفاده از نرم‌افزار Amino cow تنظیم شد و به‌صورت کاملاً مخلوط شده و در ساعات ۰۸:۰۰ و ۱۶:۰۰ از روز ۵ تا ۲۵ بعد از زایش در اختیار گاوها قرار داده شد. مقدار خوراک مصرفی و باقیمانده به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شد.

میزان طبیعی گلوکز خون در گاو بین ۴۵ تا ۷۵ میلی‌گرم در دسی لیتر است (Radostits *et al.*, 2007). کاهش سطح گلوکز در گاوهای تازه زایمان کرده نشان دهنده توازن منفی انرژی است (Quiroz-Rocha *et al.*, 2009). بعد از زایش دریافت گلوکز از طریق خوراک نسبت به آن‌چه بدن حیوان نیاز دارد کمتر است. این اختلاف در روز ۲۱ بعد از زایش به حداکثر می‌رسد و تا روز ۸۰ ادامه دارد (Macrae *et al.*, 2019).

به‌نظر می‌رسد تغذیه گاوها با استات‌سدیم در دوران توازن منفی انرژی اثرهای سودمندی داشته‌باشد. بافت اپیتلیال شکمبه حدود ۱۰ درصد از استات جذب شده را برای مصارف انرژی، مصرف و مابقی استات از طریق خون به بافت‌های بدن می‌رسد. استات در مسیر پنتوزفسفات در تولید $NADPH^1$ نقش دارد. $NADPH$ یکی از مواد حدواسط در تولید درون بافتی^۲ چربی‌هاست. در زمان توازن منفی انرژی تغذیه مکمل استات سبب کاهش برداشت گلوکز توسط غدد پستانی برای ساخت درون بافتی اسیدهای چرب می‌شود. همچنین استات سبب کاهش نیاز سلول‌های بدنی به گلوکز می‌شود (Urrutia & Harvatine, 2017).

اسید لینوئیک مزدوج مهم‌ترین نقش را در متابولیسم لیپیدها دارد (Poirier *et al.*, 2006). مطالعات نشان داده CLA با کاهش تولید چربی و افزایش پتانسیل تجزیه چربی سبب تغییر ترکیب بدن می‌شود. در اصل CLA با افزایش فعالیت کارنیتین پالمیتوئیل ترانسفراز-۱^۳ (CPT-1) سبب اکسیداسیون بیشتر اسیدهای چرب می‌شود (Kennedy *et al.*, 2010). همچنین مکمل CLA با تاثیر بر آنزیم لانگاز در غدد پستانی سبب جلوگیری از تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و کاهش چربی شیر می‌شود که در زمان توازن منفی انرژی می‌تواند مفید واقع شود (Lee & Jenkins, 2011).

به‌نظر می‌رسد لیپولیز بیش از حد چربی در اوایل زایش به‌همراه مقاومت به انسولین عامل اصلی بسیاری از معضلات و ناهنجاری‌های متابولیک در گاوهای شیرده باشد. هر عاملی که

¹ Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

² De novo

³ Carnitine palmitoyl transferase I

جدول ۱- ترکیب جیره و مواد مغذی براساس درصد ماده‌ی خشک جیره

Table 1. Diet composition and nutrients based on diet dry matter percentage

تیمارهای آزمایشی*			اقلام جیره غذایی
3	2	1	Feed ration items
24.36	24.31	24.31	یونجه Alfalfa
25.27	25.21	25.21	ذرت سیلو شده Corn silage
12.87	12.83	12.83	دانه جو Barely grain
14.30	14.96	14.96	دانه ذرت Corn grain
-	0.50	0.50	سوس گندم Wheat bran
9.16	9.15	9.15	کنجاله سویا Soybean meal
2.93	2.92	2.92	سویا اکستروند شده Extruded soybean
2.93	2.92	2.92	کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal
1.80	1.35	1.80	پودر چربی کلسمی شده Calcium fat
0.60	0.60	0.60	مکمل معدنی و ویتامینی ^۱ Vitamin and mineral supplement ¹
0.91	0.91	0.91	جوش شیرین Sodium bicarbonate
0.27	0.27	0.27	اکسید منیزیم Magnesium oxide
0.11	0.48	0.48	نمک Salt
0.32	0.32	0.32	کربنات کلسیم Calcium carbonate
0.16	0.16	0.16	دی کلسیم فسفات Di calcium phosphate
1.23	1.23	1.23	زنولیت Zeolite
0.16	0.16	0.16	توکسین بایندر Toxin binder
1.33	1.33	1.33	پروپیلن گلیکول Propylene glycol
-	0.45	-	CLA ^۲
1.35	-	-	استات سدیم Sodium acetate
1.69	1.67	1.67	ترکیبات شیمیایی جیره خوراکی ^۳ Chemical compounds of the diet ³
17.10	17.10	17.10	انرژی خالص شیردهی (مکاکالری در کیلوگرم) NEL (Mcal/kg)
4.3	4.25	4.3	پروتئین خام CP
39.10	39.10	39.10	عصاره اتزی EE
16.81	16.86	16.86	کربوهیدرات غیرالیافی NFC
28.19	28.42	28.42	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی ADF
0.88	0.92	0.92	فیبر نامحلول در شوینده خنثی NDF
0.41	0.41	0.41	کسیم Ca
			فسفر P

* ۱ = شاهد، تیمار ۲ = گاوهای تغذیه شده با مکمل CLA، تیمار ۳ = گاوهای تغذیه شده با مکمل استات سدیم.

* 1 = control, 2 = Supplemented with CLA, and 3 = Supplemented with sodium acetate.

^۱ هر کیلوگرم مخلوط مکمل معدنی و ویتامین شامل: ۱۵۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۲۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D₃، ۵۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۱۵۰ میلی‌گرم بیوتین، ۲۵۰۰ میلی‌گرم مونسین، ۶۰۰۰۰ میلی‌گرم کلسیم، ۴۰۰۰۰ میلی‌گرم فسفر، ۶۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۴۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۵۰۰۰۰ میلی‌گرم منیزیم، ۱۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۱۰۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۲۰۰ میلی‌گرم ید، ۸۰ میلی‌گرم کبالت، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم گوگرد، ۲۰۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان است.

^۱ Each kilogram of mineral and vitamin supplement mix contains: 1500000 IU of vitamin A, 200000 IU of vitamin D₃, 5000 mg of vitamin E, 150 mg of biotin, 2500 mg of monensin, 60000 mg of calcium, 40000 mg of phosphorus, 6000 mg of copper, 14000 mg of zinc, 50000 mg of magnesium, 1000 mg of iron, 100 mg of selenium, 10000 mg of manganese, 200 mg of iodine, 80 mg of cobalt, 20000 mg of sulfur, and 2000 mg of antioxidant.

^۲ محافظت شده با خلوص ۲۰ درصد^۲ Protected with 20% purity^۳ محاسبه شده توسط نرم افزار جیره نویسی Amino cow^۳ Calculated by Amino Cow software

با دستگاه میلکو اسکن (EKOMILK TOTAL, Bulgaria) اندازه‌گیری شد.

نمونه‌گیری از خون و تعیین غلظت فراسنج‌های خونی در طول دوره آزمایش، دو ساعت بعد از خوراک‌دهی در روزهای ۵، ۷، ۱۴، ۲۰ و ۲۵ بعد از زایش از سیاهرگ دمی با استفاده از لوله‌های تحت خلاء حاوی EDTA انجام شد. نمونه خون با سانتریفیوژ ۳۵۰۰ g (۷۵۰ دور در دقیقه) به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلاسما جدا و در دو میکروتیوب ۱/۵

نمونه‌گیری

نمره وضعیت بدنی براساس سیستم نمره‌دهی ۵ شماره‌ای (Edmonson *et al.*, 1989) و وزن همه گاوها در روز ۵ و ۲۵ بعد از زایش (ابتدا و انتهای آزمایش) اندازه‌گیری شد. همه‌ی گاوها سه وعده در ساعت‌های ۰۱:۰۰، ۰۹:۰۰ و ۱۶:۰۰ دوشیده شده و رکورد هر وعده ثبت گردید و ترکیبات شیر در روزهای ۵، ۸، ۱۱، ۱۴، ۱۷، ۲۰ و ۲۵ بعد از زایش اندازه‌گیری شد. ترکیبات شیر شامل درصد چربی، درصد پروتئین و درصد لاکتوز

مصرفی بین روز ۵ تا ۲۵ در گروه شاهد ۱/۶۴، تیمار تغذیه شده با مکمل CLA ۲/۱۶ و تیمار تغذیه شده با مکمل استات سدیم ۲/۷۶ کیلوگرم افزایش مشاهده شد. در مطالعه (Maxin et al., 2011) نشان داده شد. استفاده از ۱۵۰۰ گرم در روز از مکمل استات سدیم سبب کاهش ماده خشک مصرفی شد. لازم به ذکر است دلیل استفاده از ۱۵۰۰ گرم در روز استات سدیم در این آزمایش برای مشخص شدن سطحی از این ماده که موجب کاهش ماده خشک مصرفی می‌شود، بود (Maxin et al., 2011). از طرفی استفاده روزانه ۸۰ گرم استات سدیم تاثیری در مصرف ماده خشک نداشت (Bai et al., 2016). استفاده از مقادیر متفاوت اسیدهای چرب غیراشباع اسیدلینولیک و لینولینیک سبب کاهش ماده خشک مصرفی شد (Benson et al., 2001; Jenkins, 1999; Khas-Erdene et al., 2010; Litherland et al., 2005). به خوبی مشخص شده است که اسیدهای چرب فرار مانند اسیداستیک که در شکمبه تولید می‌شوند مهم‌ترین منبع انرژی برای نشخوارکنندگان هستند (Toghdori et al., 2022) که نقش مهمی در زمان توازن منفی انرژی دارند اما تزریق داخل شکمبه‌ای اسیداستیک سبب کاهش ماده خشک مصرفی شد (Sheperd & Combs, 1998). در این مطالعه ماده خشک مصرفی تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت (جدول ۲) که مطابق با (Bai et al., 2016; Urrutia & Harvatine, 2017) بود. در مطالعه (Matamoros et al., 2022) افزودن ۳ درصد مکمل استات سدیم سبب افزایش ۲ کیلوگرمی ماده خشک مصرفی شد. این میزان افزایش ماده خشک نسبت به تیمار شاهد در این مطالعه هم مشاهده شد اما این تفاوت معنی‌داری نبود.

میلی لیتری ریخته شد. نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری فراسنجه‌های موجود در آن در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. در پایان آزمایش و پس از یخ‌گشایی نمونه‌ها غلظت پلاسما می‌فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز، پروتئین کل و نیتروژن اوره‌ای خون با استفاده از کیت‌های تشخیص فراسنجه‌های خونی (پارس آزمون) و دستگاه اسپکترو فتومتری (هیتاچی) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

فراسنجه‌هایی که چندبار در طول آزمایش اندازه‌گیری شده بودند با استفاده از رویه مختلط (Mixed) و برای سایر فراسنجه‌ها از رویه GLM با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۴) آنالیز شد. معادله مدل این آزمایش برای فراسنجه‌هایی که در طول آزمایش چندبار اندازه‌گیری شدند به صورت کلی به شرح زیر است:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + TP_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = مشاهده، μ = میانگین، T_i = اثر تیمار، P_j = اثر زمان، TP_{ij} = اثر متقابل تیمار و دوره، e_{ijk} = اثر اشتباه آزمایشی با سطح معنی‌داری ۰/۰۵.

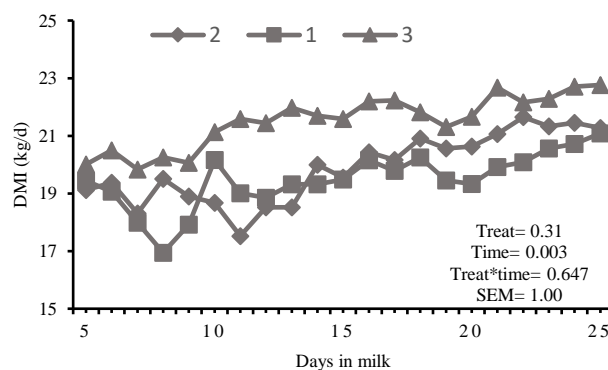
برای فراسنجه‌های تک مشاهده‌ای معادله‌ی آماری به صورت زیر است:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Y_{ij} = مشاهده، μ = میانگین، T_i = اثر تیمار، e_{ij} = اثر اشتباه آزمایشی با سطح معنی‌داری ۰/۰۵.

نتایج و بحث

مقایسه میانگین مربوطه پاسخ‌های تولیدی در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به شکل ۱ تفاوت ماده خشک



شکل ۱- ماده خشک مصرفی (kg/d) (۱= شاهد، ۲= تغذیه شده با مکمل CLA، ۳= تغذیه شده با مکمل استات سدیم).
Figure 1. Dry matter intake (kg/d) (1= control, 2= Cows fed the CLA, 3= Cows fed the acetate sodium)

(Matamoros et al., 2022; Mattos et al., 2000; Urrutia & Harvatine, 2017) بود. هیچ تفاوت معنی‌داری در پروتئین و لاکتوز شیر مشاهده نشد که همسو با مطالعات انجام شده (Bauman & Griinari, 2003; Shingfield et al., 2007) بود. درصد چربی شیر بین تیمارهای تغذیه شده با CLA و استات سدیم تمایل به معنی‌داری داشت. همچنین تمایل به معنی‌داری بین تیمار شاهد با تیمار CLA مشاهده شد. از لحاظ عددی تغذیه CLA سبب کاهش ۱۴/۳ درصد و استات سدیم سبب افزایش

تولید شیر بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد (p=0.22). در مطالعه‌ای افزودن ۱۲ گرم CLA در ۶۰ روز اول بعد از زایش سبب افزایش تولید شیر شد (Rahbar, Taghizadeh, Paya, & Kia, 2021). در پژوهشی دیگر، استفاده از ۳۰ گرم CLA در روز سبب افزایش سه کیلوگرم شیر تولیدی در روز شد اما تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (Bernal-Santos et al., 2003). تغذیه استات سدیم سبب افزایش معنی‌دار تولید شیر تصحیح شده ۴ درصد چربی نسبت به سایر تیمارها شد که همسو با نتایج پژوهش‌های قبلی

(*& Medicine, 2021*) شاخص انرژی خالص شیردهی برای این آزمایش اندازه‌گیری شد. شاخص انرژی خالص شیردهی (کیلوگرم در روز)، در تیمار تغذیه شده با مکمل استات سدیم نسبت به تیمار شاهد تمایل به معنی‌داری نشان داد. به نظر می‌رسد دلیل این افزایش خروج انرژی، تبدیل استات به چربی در غدد پستانی باشد. از آنجایی که گاوها در اوایل زایش در توازن منفی انرژی هستند افزایش خروج انرژی از بدن یک عامل منفی است که ممکن است این افزایش دفع انرژی در تیمار تغذیه شده با مکمل استات سدیم به‌ظاهر نشان دهنده استفاده نابه‌جا از استات سدیم باشد اما به‌نظر می‌رسد استات باعث فراهمی انرژی برای بدن شده‌است.

۳/۲ درصد، درصد چربی شیر شد. اما میزان تولید روزانه چربی شیر در تیمار تغذیه شده با مکمل استات سدیم نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری بیشتر بود که این نتایج همسو با مطالعات دیگر (Matamoros *et al.*, 2022; Rahbar, Taghizadeh, Paya, & Kia, 2021; Rulquin *et al.*, 2007; Shingfield & Griinari, 2007; UEYAMA *et al.*, 1972) بود.

انرژی خالص شیر با محاسبه حرارت تولیدی از سوختن مواد تشکیل‌دهنده شیر (چربی، پروتئین و لاکتوز) به‌دست می‌آید. با توجه به اینکه حرارت تولیدی از سوختن چربی، پروتئین و لاکتوز شیر به ترتیب ۹/۲۹، ۵/۵۰ و ۳/۹۵ مگا کالری در کیلوگرم هستند (National Academies of Sciences)

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر ماده‌ی خشک مصرفی، تولید و ترکیبات شیر

Table 2. Effect of treatments on dry matter intake, milk production and composition

P-value**	SEM	تیمارهای آزمایشی*			شاخص Index
		3	2	1	
0.31	1.00	21.50	19.88	19.46	ماده خشک مصرفی (کیلوگرم در روز) DMI (kg/d)
0.23	1.80	39.36	35.86	35.31	انرژی خالص مصرفی (مگا کالری در روز) Net energy consumption (Mcal/d)
0.22	2.21	38.90	38.69	33.85	شیر (کیلوگرم در روز) Milk (kg/d)
0.04	1.92	44.83 ^a	40.27 ^{ab}	37.67 ^b	شیر تصحیح شد ۴ درصد چربی FCM 4 percent
0.09	0.28	5.13	4.26	4.97	چربی Fat درصد Percent
0.04	0.37	1.96 ^a	1.65 ^b	1.67 ^b	کیلوگرم در روز kg/d
0.53	0.04	3.28	3.35	3.30	پروتئین Protein درصد Percent
0.37	0.08	1.28	1.28	1.13	کیلوگرم در روز kg/d
0.58	0.06	4.71	4.80	4.73	لاکتوز Lactose درصد Percent
0.37	0.12	1.83	1.85	1.62	کیلوگرم در روز kg/d
0.09	1.57	32.46	29.83	27.47	انرژی خالص شیر ^۱ (مگا کالری در روز) NEL (Mcal/kg)

* تیمار ۱= شاهد، تیمار ۲= گاوهای تغذیه شده با CLA، تیمار ۳= گاوهای تغذیه شده با استات سدیم.

** 1 = control, 2 = Supplemented with CLA, and 3 = Supplemented with sodium acetate.

** سطح معنی داری $P < 0.05$

** significance level is $P < 0.05$

^۱ محاسبه شده براساس NASEM, 2021: تولید شیر روزانه $(0.0929 \times \text{fat percentage}) + (0.055 \times \text{protein percentage}) + (0.0395 \times \text{lactose percentage})$

^۱ Calculated based on NASEM, 2021: daily milk production $\times (0.0929 \times \text{fat percentage}) + (0.055 \times \text{protein percentage}) + (0.0395 \times \text{lactose percentage})$.

نداشت (Bernal-Santos *et al.*, 2003). در مطالعه دیگری (Perfield II *et al.*, 2002) میزان ۳۰ گرم در روز CLA از روز ۷۹ تا روز خشکی (طول دوره آزمایش به‌طور میانگین ۱۴۰ روز بود) خورنده شد که تاثیر معنی‌داری ($P > 0.1$) روی کاهش وزن و BCS نسبت به گروه شاهد نداشت. به‌نظر می‌رسد CLA و استات سدیم تاثیر معنی‌داری روی کاهش وزن و BCS حتی با استفاده طولانی مدت از آن‌ها نمی‌گذارد.

اثر تیمارهای آزمایشی بر تغییرات وزن و BCS در جدول ۳ نشان داده شده‌است. تغییرات وزن بدن و BCS در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.10$) که همسو با نتایج Hötger *et al.*, 2013; Odens *et al.*, 2007; Rahbar, Taghizadeh, Paya, & Kia, 2021) بود. استفاده از ۳۰ گرم CLA تا روز ۱۴۰ بعد از زایش تمایل به معنی‌داری ($P < 0.10$) برای BCS نشان داد اما تاثیر معنی‌داری روی کاهش وزن

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن بدن و BCS

Table 3. Effect of treatments on body weight and BCS

P-value**	SEM	تیمارهای آزمایشی* Experimental treatments*			شاخص Index
		3	2	1	
0.72	18.10	630.10	609.17	616.66	وزن بدن ابتدای آزمایش First BW
0.49	18.43	572.61	543.84	572.82	وزن بدن انتهای آزمایش End BW
0.39	0.08	3.83	3.67	3.70	BCS ابتدای آزمایش First BCS
0.59	0.09	2.98	3.12	3.04	BCS انتهای آزمایش End BCS

* تیمار ۱= شاهد، تیمار ۲= گاوهای تغذیه شده با CLA، تیمار ۳= گاوهای تغذیه شده با استات سدیم.

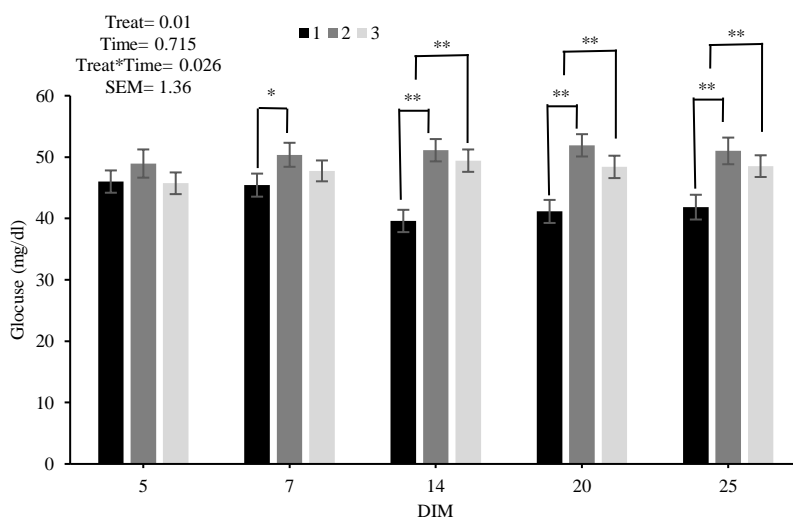
* 1 = control, 2 = Supplemented with CLA, and 3 = Supplemented with sodium acetate.

تغذیه ۱۲ گرم مکمل CLA سبب افزایش ۱۶ درصد گلوکز پلاسما شد. در حیوانات نشخوارکننده،

استات و بوتیرات پیش‌ماده‌های اصلی برای ساخت اسیدهای چرب درون‌بافتی هستند (Bauman & Griinari, 2003). هنگامی که ساخت اسیدهای چرب در حیوانات نشخوارکننده کاهش می‌یابد (مصرف مکمل CLA)، مصرف گلوکز هم کاهش می‌یابد و در نتیجه گلوکز پلاسما افزایش می‌یابد. نتایج حاضر با برخی مطالعات (Hötger *et al.*, 2013; Odens *et al.*, 2007; Roodbari *et al.*, 2016) مطابقت داشت، اما برخلاف مطالعات دیگر (Csillik *et al.*, 2017; Hutchinson *et al.*, 2011) بود. از طرفی با توجه به نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد با در دسترس بودن استات برای بافت‌ها گلوکز برداشتی کاهش می‌یابد که می‌تواند گواهی بر افزایش غلظت تیمار تغذیه شده با مکمل استات سدیم باشد (Smith *et al.*, 2018).

فراسنجه‌های خونی

به طور کلی در طول دوره بین تیمارهای تغذیه شده با مکمل CLA و استات سدیم در مقایسه با شاهد در میزان گلوکز تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0.05$). همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است میزان گلوکز پلاسما تیمارهای تغذیه شده با مکمل CLA و استات سدیم در مقایسه با شاهد از روز ۱۴ بعد از زایش تفاوت معنی‌دار داشت. در این مطالعه تغذیه مکمل CLA سبب افزایش ۲۰ درصد میزان گلوکز خون نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین تغذیه مکمل استات سدیم افزایش ۱۲ درصد را نسبت به تیمار شاهد نشان داد. در مطالعه (Odens *et al.*, 2007) تغذیه ۳۰ و ۵۸ گرم در روز CLA سبب افزایش ۱۱ درصد سطح گلوکز پلاسما شد. همچنین در مطالعه (Rahbar, Taghizadeh, Paya, & Daghigh Kia, 2021)

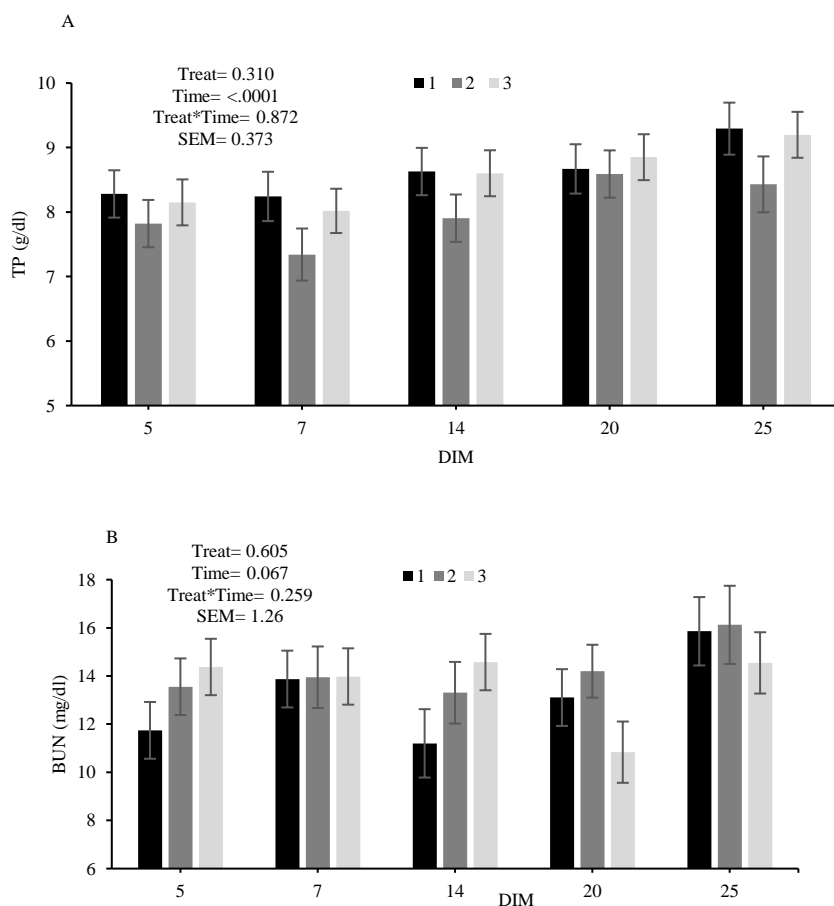


شکل ۲- غلظت گلوکز پلاسما (mg/dl) (۱= شاهد، تیمار ۲= گاوهای تغذیه شده با CLA، تیمار ۳= گاوهای تغذیه شده با استات سدیم). (**= $P < 0.05$, *= $P < 0.01$)

Figure 2. Plasma glucose concentration (mg/dl) (1= control, 2= Cows fed the CLA, 3= Cows fed sodium acetate). (**= $P < 0.05$, *= $P < 0.01$)

برای تیمارهای شاهد، CLA و استات‌سدیم، هیچ یک از تیمارها غلظت TP کمتر از حد معمول نداشتند. نیتروژن اوره‌ای خون² (BUN) به‌عنوان محصول نهایی متابولیسم پروتئین‌ها می‌باشد. میزان طبیعی BUN در گاوها بین ۱۲ تا ۱۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر است (Quiroz-Rocha *et al.*, 2009). نیتروژن اوره‌ای خون به‌عنوان معیاری برای بازده نیتروژن مورد استفاده قرار می‌گیرد (Lavery & Ferris, 2020; Ramezani & Navidshad, 2021). یکی از عوامل افزایش دهنده غلظت BUN کاهش استفاده از پروتئین جیره توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه است. این عامل زمانی اتفاق می‌افتد که عملکرد میکروارگانیسم‌های شکمبه کاهش یابد (Nasrollahi *et al.*, 2019). در این مطالعه غلظت BUN تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت که می‌تواند نشان‌دهنده عدم تاثیر منفی تیمارها بر میکروارگانیسم‌های شکمبه باشد.

سطح طبیعی پروتئین در خون گاو بین ۸/۱-۵/۷ گرم در دسی‌لیتر است (Radostits *et al.*, 2007). در مطالعه‌ای که گروه‌های آزمایشی بر اساس غلظت BHBA¹ دسته‌بندی شده بودند اگرچه میانگین کل پروتئین در بین همه گروه‌های آزمایشی در حد متعادل بود اما در گروه یا کتوز درمانگاهی کمتر بود ($P < 0.05$) که می‌تواند نشان‌دهنده عارضه کبدی باشد (Issi *et al.*, 2016). همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده‌است در میزان پروتئین کل بین تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P = 0.31$). میزان زیادی از پروتئین کل را ایمنوگلوبولین‌ها و آلبومین تشکیل می‌دهند که ساخت و تخریب میزان زیادی از این پروتئین‌ها در کبد صورت می‌گیرد در واقع هنگامی که گاو مبتلا به کبد چرب است حجم ساختن آلبومین کاهش می‌یابد که اثر مستقیم در کاهش غلظت آلبومین پلاسما دارد (Issi *et al.*, 2016). در مطالعه حاضر با توجه به غلظت TP به ترتیب ۸/۶۲، ۸/۰۲ و ۸/۵۶



شکل ۳- غلظت پروتئین کل (A) و نیتروژن اوره‌ای خون (B) (۱= شاهد، تیمار ۲= گاوهای تغذیه شده با CLA، تیمار ۳= گاوهای تغذیه شده با استات‌سدیم). (**= $P < 0.05$, *= $P < 0.01$)

Figure 3. TP (A) and BUN (B) concentration (1= control, 2= Cows fed the CLA, 3= Cows fed sodium acetate). (**= $P < 0.05$, *= $P < 0.01$)

¹ Beta hydroxybutyric acid

² Blood urinary nitrogen

خون و استات سدیم به‌عنوان تامین‌کننده انرژی باعث افزایش چربی شیر و از طرفی تامین انرژی سلول‌های بدنی و کاهش تقاضای آن‌ها برای گلوکز شد. در نتیجه استفاده از هر دو مکمل با توجه به قیمت تمام‌شده و شرایط اقتصادی برای کنترل توازن منفی انرژی در گله‌های گاو شیرده توصیه می‌شود.

با توجه به نتایج ترکیبات شیر و فراسنجه‌های پلاسما به‌نظر می‌رسد هر دو مکمل باعث بهبود توازن انرژی نسبت به گروه شاهد شدند. از آنجایی غلظت گلوکز خون تیمار تغذیه شده با CLA نسبت به سایر تیمارها معنی‌دار بود پس به‌نظر می‌رسد CLA با کاهش خروج انرژی باعث متعادل نگه‌داشتن گلوکز

References

- Bai, C., Huo, X., Khas-Erdene, Ao, C., Liu, S., Wang, X., Zhang, F., & Gao, P. (2016). Effects of acetate and long-chain fatty acids infusion into external pudic artery on lactation performance and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 97(1), 127-135. <https://doi.org/10.1139/cjas-2015-0160>
- Bauman, D. E., & Griinari, J. M. (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 23(1), 203-227 . <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.23.011702.073408>
- Benson, J., Reynolds, C., Humphries, D., Rutter, S., & Beever, D. (2001). Effects of abomasal infusion of long-chain fatty acids on intake, feeding behavior and milk production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84(5), 1182-1191 . [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74579-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74579-1)
- Bernal-Santos, G., Perfield II, J., Barbano, D., Bauman, D., & Overton, T. (2003). Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. *Journal of Dairy Science*, 86(10), 3218-3228 . [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73925-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73925-3)
- Csillik, Z., Faigl, V., Keresztes, M., Galamb, E., Hammon, H., Tröscher, A., Fébel, H., Kulcsár, M., Husvéth, F., & Huszenicza, G. (2017). Effect of pre-and postpartum supplementation with lipid-encapsulated conjugated linoleic acid on reproductive performance and the growth hormone–insulin-like growth factor-I axis in multiparous high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5888-5898. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12124>
- Edmonson, A., Lean, I., Weaver, L., Farver, T., & Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 72(1), 68-78. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79081-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0)
- 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. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6127>
- Hutchinson, I., de Veth, M. J., Stanton, C., Dewhurst, R. J., Lonergan, P., Evans, A. C., & Butler, S. T. (2011). Effects of lipid-encapsulated conjugated linoleic acid supplementation on milk production, bioenergetic status and indicators of reproductive performance in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 78(3), 308-317. <https://doi.org/10.1017/S0022029911000422>
- Issi, M., GÜL, Y., & BAŞBUĞ, O. (2016). Evaluation of renal and hepatic functions in cattle with subclinical and clinical ketosis. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 40(1), 47-52. <https://doi.org/10.3906/vet-1505-16>
- Jenkins, T. (1999). Lactation performance and fatty acid composition of milk from Holstein cows fed 0 to 5% oleamide. *Journal of Dairy Science*, 82(7), 1525-1531. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75379-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75379-8)
- Kennedy, A., Martinez, K., Schmidt, S., Mandrup, S., LaPoint, K., & McIntosh, M. (2010). Antiobesity mechanisms of action of conjugated linoleic acid. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(3), 171-179. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.08.003>
- Khas-Erdene, Q., Wang, J., Bu, D., Wang, L., Drackley, J., Liu, Q., Yang, G., Wei, H., & Zhou, L. (2010). Responses to increasing amounts of free α -linolenic acid infused into the duodenum of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1677-1684. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2681>
- Lavery, A., & Ferris, C. P. (2021). Proxy measures and novel strategies for estimating nitrogen utilisation efficiency in dairy cattle. *Animals*, 11(2), 343. <https://doi.org/10.3390/ani11020343>
- Lee, Y.-J., & Jenkins, T. C. (2011). Identification of enriched conjugated linoleic acid isomers in cultures of ruminal microorganisms after dosing with 1-13 C-linoleic acid. *The Journal of Microbiology*, 49, 622-627. <https://doi.org/10.1007/s12275-011-0415-8>

- Litherland, N., Thire, S., Beaulieu, A., Reynolds, C., Benson, J., & Drackley, J. (2005). Dry matter intake is decreased more by abomasal infusion of unsaturated free fatty acids than by unsaturated triglycerides. *Journal of Dairy Science*, 643-632, (2)88. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72727-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72727-2)
- Macrae, A., Burrough, E., Forrest, J., Corbishley, A., Russell, G., & Shaw, D. (2019). Prevalence of excessive negative energy balance in commercial United Kingdom dairy herds. *The Veterinary Journal*, 248, 51-57. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.04.001>
- Matamoros, C., Hao, F., Tian, Y., Patterson, A., & Harvatine, K. (2022). Interaction of sodium acetate supplementation and dietary fiber level on feeding behavior, digestibility, milk synthesis, and plasma metabolites. *Journal of Dairy Science*, 105(11), 8824-8838. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-21911>
- Mattos, R., Staples, C. R., & Thatcher, W. W. (2000). Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Reviews of Reproduction*, 5(1), 38-45. <https://doi.org/10.1530/ror.0.0050038>
- Maxin, G., Glasser, F., Hurtaud, C., Peyraud, J., & Rulquin, H. (2011). Combined effects of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid, propionate, and acetate on milk fat yield and composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(4), 2051-2059. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3844>
- Mekuriaw, Y. (2023). Negative energy balance and its implication on productive and reproductive performance of early lactating dairy cows. *Journal of Applied Animal Research*, 51(1), 220-228. <https://doi.org/10.1080/09712119.2023.2176859>
- Nasrollahi, S., Zali, A., Ghorbani, G., Kahyani, A., & Beauchemin, K. (2019). Blood metabolites, body reserves, and feed efficiency of high-producing dairy cows that varied in ruminal pH when fed a high-concentrate diet. *Journal of Dairy Science*, 102(1), 672-677. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15022>
- National Academies of Sciences, E., & Medicine. (2021). *Nutrient requirements of dairy cattle*. <https://doi.org/10.17226/25806>
- Odens, L., Burgos, R., Innocenti, M., VanBaale, M., & Baumgard, L. (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. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)72630-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)72630-9)
- Perfield II, J., Bernal-Santos, G., Overton, T., & Bauman, D. (2002). Effects of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid in dairy cows during established lactation. *Journal of Dairy Science*, 85(10), 2609-2617. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74346-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74346-4)
- Poirier, H., Shapiro, J. S., Kim, R. J., & Lazar, M. A. (2006). Nutritional supplementation with trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid induces inflammation of white adipose tissue. *Diabetes*, 55(6), 1634-1641. <https://doi.org/10.2337/db06-0036>
- Quiroz-Rocha, G. F., LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Wood, D., Leslie, K. E., & Jacobs, R. M. (2009). Reference limits for biochemical and hematological analytes of dairy cows one week before and one week after parturition. *The Canadian Veterinary Journal*, 50(4), 383 .
- Radostits, O., Gay, C., Hinchcliff, K., & Constable, P. (2007). A textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses. *Veterinary Medicine 10th edition Bailliere, Tindall, London, UK*, 1576-1580.
- Rahbar, B., Taghizadeh, A., Paya, H., & Daghigh Kia, H. (2021). Conjugated linoleic acid (CLA) supplementation effects on performance, metabolic parameters and reproductive traits in lactating Holstein dairy cows. *Veterinary Research, Forum*. <https://doi.org/10.30466/vrf.2019.104234.2475>
- Ramezani, M., & Navidshad, B. (2020). Effects of Extruded Flaxseed and Conjugated Linoleic Acid on Growth Performance in Holstein Milk-Fed Calves. *Research on Animal Production*, 11(30), 31-38. <http://dx.doi.org/10.52547/rap.11.30.31>. [In Persian]
- Roodbari, A. R., Towhidi, A., Zhandi, M., Rezayazdi, K., Mianji, G. R., Dirandeh, E., & Colazo, M. (2016). Effect of conjugated linoleic acid supplementation during the transition period on plasma metabolites and productive and reproductive performances in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 219, 294-303. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.07.004>
- Rulquin, H., Hurtaud, C., Lemosquet, S., & Peyraud, J. (2007). Quantification of the effects of energetic nutrients on fat content of cow milk. *INRAE Productions Animales*, 20(2), 163-176. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2007.20.2.3448>
- Sheperd, A & Combs, D. (1998). Long-term effects of acetate and propionate on voluntary feed intake by midlactation cows. *Journal of Dairy Science*, 81(8), 2240-2250. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75803-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75803-5)
- Shingfield, K. J., Bernard, L., Leroux, C., & Chilliard, Y. (2010). Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal*, 4(7), 1140-1166. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000510>

- Shingfield, K. J., & Griinari, J. M. (2007). Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(8), 799-816. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700026>
- Smith, S., Blackmon, T., Sawyer, J., Miller, R., Baber, J., Morrill, J., Cabral, A., & Wickersham, T. (2018). Glucose and acetate metabolism in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissues from steers infused with glucose, propionate, or acetate. *Journal of Animal Science*, 96(3), 921-929. <https://doi.org/10.1093/jas/sky017>
- Toghdori, A. H., Ghorchi, T., Hosseinabadi, M., & Rezvani, M. M. (2022). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production and composition, nutrient digestibility and blood parameters in dairy cows. *Research on Animal Production*. <https://doi.org/10.52547/rap.13.38.80>. [In Persian]
- Ueyama, E., Tanaka, K., & Hirose, Y. (1972). Effect of continuous infusion of volatile fatty acids into the rumen on the milk composition: infusion of mixed fatty acids. *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 43(11), 654-659.
- Urrutia, N., & Harvatine, K. (2017). Effect of conjugated linoleic acid and acetate on milk fat synthesis and adipose lipogenesis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5792-5804. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12369>