

**تأثیر افزایش غلظت الیاف در جیره‌های مکمل شده با روغن گیاهی روی غلظت چربی شیر،
فراسنجه‌های شکمبه و رفتار تغذیه‌ای گاوها در اواسط شیردهی**حمیدرضا میرزایی الموتی^{۱*}، اصغر آقایی^۲، کامران اکبری پابندی^۲ و مینا وزیری گهر^۳

۱ و ۲. دانشیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

۳. دانشجوی سابق دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج و مدیر تحقیق و توسعه شرکت آتی زیست دام

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۷)

چکیده

به منظور مطالعه اثر افزایش غلظت الیاف (الیاف نامحلول در شوینده خنثی) در جیره‌های مکمل شده با روغن گیاهی بر عملکرد و رفتار تغذیه‌ای گاوهای اواسط شیردهی از چهار رأس گاو هلشتاین یک بار زایش کرده و چهار رأس چند بار زایش کرده به ترتیب با میانگین وزنی 525 ± 30 و 587 ± 88 کیلوگرم و روزهای شیردهی 99 ± 12 روز استفاده شد. گاوها به چهار جیره غذایی به ترتیب با غلظت الیاف ۳۱، ۳۵، ۳۹ و ۴۳ درصد و با اضافه کردن ۲ درصد روغن آفتابگردان در قالب طرح مربع لاتین 4×4 اختصاص داده شدند. یکی از جیره‌های با ۳۱ درصد الیاف بدون اضافه شدن روغن بود. دوره‌های آزمایشی ۲۱ روز بود و نمونه‌گیری در هفته سوم انجام شد. نتایج نشان داد که افزایش الیاف جیره به ۳۵ و ۳۹ درصد باعث کاهش در ماده خشک مصرفی می‌شود ($P < 0.01$). قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، پروتئین و الیاف با افزودن روغن به جیره با الیاف بالا تمایل به کاهش نشان داد ($P < 0.01$). فعالیت جویدن با افزایش الیاف جیره به ۳۵ و ۳۹ تمایل به افزایش نشان داد ($P < 0.01$). افزودن روغن با الیاف پایین باعث کاهش pH شکمبه، نسبت استات به پروپیونات و درصد چربی و پروتئین شیر شد ولی با الیاف متوسط و بالا این تأثیر وجود نداشت. به طور کلی اثرات متفاوتی از روغن بر عملکرد حیوان با درصد الیاف مختلف مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: الیاف نامحلول در شوینده خنثی، ترکیب شیر، قابلیت هضم، گاو هلشتاین، ماده خشک.

Effect of increasing concentration of dietary fiber in diets supplemented with plant oil on milk fat concentration, rumen parameters and feeding behavior of mid-lactating cowsHamidreza Mirzaei-Alamouti^{1*}, Asghar Aghaei², Kamran Akbari² and Mina Vazirigohar³

1, 2. Associate Professor and Former M. Sc. Student, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

3. Former Ph.D. Student, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran and Senior Researcher at Ati Zist Dam Co. Karaj, Iran

(Received: Feb. 4, 2019 - Accepted: Apr. 27, 2019)

ABSTRACT

This experiment was conducted to investigate the effects of different levels of dietary NDF in diets rich in plant oil (sunflower) on milk performance and feeding behavior of mid-lactating Holstein dairy cows. Four primiparous (BW: 525 ± 30 kg; DIM: 103 ± 6) and four multiparous (BW: 587 ± 88 kg; DIM: 99 ± 12) cows were used in a 4×4 replicated Latin square design with 21-d experimental periods. Cows were received 1 of 4 four treatments: 1) 31% fiber (NDF) and no supplement plant oil, LF, 2) 31% fiber with 2% supplement plant oil, LFO 3) 35% fiber with 2% plant oil, MFO 4) 39% fiber with 2% plant oil, HFO. Daily dry matter intake (DMI), milk yield and composition, blood metabolites, dry matter digestibility, rumen fluid characteristics and BW variations were determined. There was no significant different in milk production among diets. Milk fat ($P < 0.01$) and protein ($P < 0.05$) concentrations were significantly affected by treatments. Dry matter intake and DM digestibility were higher ($P < 0.01$) in LFO diet. The cows fed HFO had higher NDF digestibility ($P < 0.01$). Total VFA and acetate concentration were greater for HFO diet and propionate concentration was greater for LFO diet ($P < 0.01$) than the others. Rumen fluid pH was increased by increasing dietary NDF concentration ($P < 0.01$). Chewing activity was positively affected by increasing concentration of dietary NDF ($P < 0.01$). This study showed that diets rich in plant oil and low concentration of NDF induce the milk fat depression in mid-lactating cows.

Keywords: Digestibility, dry matter, Holstein cow, milk content, NDF.

* Corresponding author E-mail: alamoutih@gmail.com, alamoutih@znu.ac.ir

(*et al.*, 2008). محققین با مطالعه سطوح مختلف الیاف در جیره‌های حاوی سطوح پایین چربی‌های غیراشباع در اوایل شیردهی نشان دادند که جیره‌های حاوی الیاف پایین و چربی‌های غیراشباع با چند پیوند دوگانه پایین با وجود بروز اسیدوز شکمبه‌ای منجر به افت چربی شیر و تغییر در پروفیل اسیدهای چرب آن نشدند (*AlZahal et al.*, 2008). ولی افزودن روغن گیاهی به جیره با الیاف پایین سبب افت چربی شیر و تغییر در پروفیل اسید چرب شیر شده است (*Vazirigohar et al.*, 2014). داده‌ها در مورد اثرات سطوح مختلف الیاف با جیره‌های حاوی چربی‌های غیراشباع بالا محدود و پراکنده می‌باشد و نتایج متناقضی از سطوح الیاف متفاوت در جیره در حضور اسیدهای چرب غیراشباع و اثر آن بر بروز افت چربی شیر گزارش شده است. با توجه به وجود تناقضات مختلف در ارتباط با تغذیه چربی‌ها با سطوح مختلف الیاف مطالعه حاضر به منظور بررسی اضافه کردن روغن گیاهی در سطوح مختلف الیاف جیره بر عملکرد و رفتارهای تغذیه‌ای حیوان متمرکز شده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات و جیره‌های آزمایشی

در این مطالعه هشت رأس گاو شیری هلشتاین یک بار و چند بار زایش کرده (میانگین وزنی 88 ± 587 کیلوگرم و روزهای شیردهی 12 ± 99 روز) از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان استفاده شد. گاوها به طور تصادفی به جیره‌های آزمایشی شامل (۱) نسبت کنسانتره به علوفه ۶۰ به ۴۰ (بر اساس ماده خشک) حاوی ۳۱ درصد NDF بدون افزودن روغن گیاهی، (۲) نسبت کنسانتره به علوفه ۶۰ به ۴۰ (بر اساس ماده خشک) حاوی ۳۱ درصد NDF با افزودن ۲۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره روغن آفتابگردان، (۳) نسبت کنسانتره به علوفه ۵۰ به ۵۰ (بر اساس ماده خشک) حاوی ۳۵ درصد NDF با افزودن ۲۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره روغن آفتابگردان، (۴) نسبت کنسانتره به علوفه ۴۰ به ۶۰ (بر اساس ماده خشک) حاوی ۳۹ درصد NDF با افزودن ۲۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره روغن آفتابگردان در قالب طرح مربع لاتین 4×4 تکرار شده اختصاص داده شدند. طول دوره آزمایش ۲۱ روز بود که دو هفته اول برای

مقدمه

یکی از عوامل مهم تأثیرگذار بر عملکرد مناسب شکمبه در دوران شیردهی به ویژه در جیره‌های با تخمیر سریع، سطح مناسب الیاف می‌باشد. ایجاد توازن بین مقدار الیاف مؤثر از لحاظ مقدار و اندازه فیزیکی با کربوهیدرات‌های با قابلیت تخمیر سریع جهت پیشینه کردن تولید، بدون اثرات مضر بر سلامتی و عملکرد حیوان کاری دشوار است (*Zebeli et al.*, 2011)، بنابراین از آنجایی که استفاده از علوفه با کیفیت بالا خطر ابتلا به ناهنجاری‌های گوارشی را کاهش می‌دهد (*Zebeli et al.*, 2010) فراهم کردن سطوح کافی الیاف برای جلوگیری از بروز اسیدوز تحت حاد شکمبه‌ای بسیار حیاتی است (*Plaizier et al.*, 2008) زیرا بروز اسیدوز باعث کاهش هضم الیاف، ماده خشک مصرفی و تولید شیر می‌شود. از طرفی گزارش شده است که جیره‌های با مقدار الیاف اضافی باعث کاهش خوراک مصرفی و کاهش بازده خوراک می‌شود (*Zebeli et al.*, 2012). اسیدوز شکمبه‌ای با کاهش pH شکمبه همراه است که هنگام استفاده از جیره‌های حاوی سطوح بالای غلات که منبع خوبی از کربوهیدرات‌های غیرالیافی سهل‌الهضم می‌باشند رخ می‌دهد. یافتن یک مقدار بهینه از الیاف که میزان خطر بروز اسیدوز تحت حاد را بدون خطر جدی بر روی عملکرد تولیدی گاوهای شیری کاهش دهد ضروری به نظر می‌رسد (*Zebeli et al.*, 2012). افزودن چربی غیر اشباع به جیره گاوهای شیری مزایای مختلفی از جمله؛ افزایش غلظت انرژی، اثرات مثبت فیزیولوژیک بر تولید مثل، بهبود الگوی اسیدهای چرب شیر (*NRC*, 2001) و کاهش تولید گاز متان (*Dohme et al.*, 2000) دارد. با این وجود، اثرات منفی استفاده از چربی در تغذیه گاو بر هضم الیاف و چربی شیر گزارش شده است (*Pantoja et al.*, 1994). همچنین تغذیه به‌عنوان مهمترین عامل محیطی بالقوه برای تغییر میزان چربی شیر مورد توجه قرار گرفته است و بیان شده است که کاهش چربی شیر در دو حالت می‌تواند اتفاق افتد. در مورد اول فرآیندهای میکروبی شکمبه به دلیل کاهش میزان pH شکمبه دچار اختلال می‌شوند که دلیل آن استفاده از جیره‌های حاوی غلات بالا و الیاف پایین است و در حالت دوم حضور اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه می‌باشد (*AlZahal*

در روز ۱۶ هر دوره گاوها به مدت ۲۴ ساعت تحت نظر قرار گرفتند و فعالیت خوردن و نشخوار کردن تمام گاوها ثبت شد (Kargar *et al.*, 2010). در روز ثبت رفتارهای تغذیه‌ای هیچ اقدامی که در رفتار طبیعی گاوها اختلال ایجاد کند انجام نشد. برای کل فعالیت جویدن، جمع زمان نشخوار کردن و زمان خوردن و برای نشخوار کردن جمع زمان ایستاده و خوابیده نشخوار کردن محاسبه شد.

قابلیت هضم ماده خشک در کل دستگاه گوارش به روش خاکستر نامحلول در اسید به دست آمد (Van Keulen & Yang, 1977). تولید شیر روزانه اندازه‌گیری شد. نمونه‌های شیر (محافظت شده با دی‌کرومات پتاسیم) در هر وعده شیردوشی در روزهای ۵ و ۶ هفته آخر جمع‌آوری شد و با استفاده از روش مادون قرمز ترکیبات آن شامل چربی، پروتئین و لاکتوز (MilkoScan 4000; Foss, Hillerød, Denmark) اندازه‌گیری شد. در روز ۲۱ آزمایش نمونه‌گیری از مایع شکمبه با استفاده از مکش از طریق لوله مری انجام شد. برای کاهش اثر بزاق بر pH مایع شکمبه گرفته شده، اولین نمونه گرفته شده (حدود ۳۰۰ میلی لیتر) دور ریخته شد و از دومین نمونه استفاده شد. بلافاصله پس از گرفتن مایع شکمبه pH توسط pH متر سیار (Eit ABB Kent Taylor Ltd, Kent, Ukraine) اندازه‌گیری شد. غلظت اسیدهای چرب فرآر با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگراف (Varian Inc., Walnut Creek, Canada) تعیین شد.

تجزیه آماری

داده‌های خوراک مصرفی و تولید و ترکیبات شیر به‌ازای هر حیوان قبل از شروع تجزیه آماری میانگین گرفته شدند. داده‌ها با استفاده از روش مربع لاتین و با استفاده از مدل آماری شامل اثر ثابت تیمار، اثر مربع، اثر دوره و اثر تصادفی گاو داخل تیمار با استفاده از Proc Mixed نرم‌افزار SAS تجزیه شدند. قابلیت هضم، عملکرد تخمیر شکمبه و رفتارهای تغذیه‌ای با استفاده از همان مدل بدون اثر کوواریت تجزیه شدند. حداقل میانگین مربعات در سطح معنی‌داری کوچک‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار گزارش شد و در سطوح بین ۰/۰۵ تا ۰/۱۰ تمایل به معنی‌داری گزارش شد.

عادت‌پذیری و هفته آخر به جمع‌آوری داده‌ها اختصاص یافت. گاوها در سالن مسقف در جایگاه‌های انفرادی توسط یک زنجیر به آخور مربوطه بسته شده، آزادانه به آب تازه دسترسی داشته و ۳ بار در روز (۰۶:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۲۰:۰۰) در سالن شیردوشی دوشیده می‌شدند. جیره‌های آزمایشی به‌صورت کاملاً مخلوط شده روزانه در ۲ وعده (۰۹:۰۰ و ۱۷:۰۰) و به مقادیر مساوی در هر وعده در اختیار گاوها (با در نظر گرفتن ۱۰ درصد خوراک باقیمانده در آخور) قرار گرفت. علوفه در تمام جیره‌ها شامل ذرت سیلو شده و یونجه خشک (با نسبت مساوی بر اساس ماده خشک) بود که ترکیب شیمیایی آن‌ها در جدول ۱ گزارش شده است.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی علوفه یونجه و سیلاژ ذرت (بر اساس ماده خشک)

Table 1. Chemical composition of alfalfa hay and corn silage (based on dry matter)

Chemical composition (Calculated)	Corn Silage	Alfalfa hay
DM (%)	25.0	90.0
CP (%)	9.5	15.0
NDF (%)	49.0	43.0
ADF (%)	30.0	36.0
Lignin (%)	10.0	20.0
peNDF ¹ > 8mm (%)	-	12.5
peNDF ² > 1.18mm (%)	-	23.9
NE _L ³ , Mcal/kg of DM	1.60	1.25

۱. الیاف مؤثر فیزیکی بیش از ۸ برابر است با درصد ذرات بیش از ۸ میلی متر ضرب در غلظت الیاف نمونه کل (مشابه با دو الک بالایی پنسیلوانیا) (Kononoff *et al.*, 2003).

۲. الیاف مؤثر فیزیکی بیش از ۱/۱۸ برابر است با درصد ذرات بیش از ۱/۱۸ میلی متر ضرب در غلظت الیاف نمونه کل (مشابه با سه الک بالایی پنسیلوانیا) (Kononoff *et al.*, 2003).

۳. بر اساس مقادیر جداولی (NRC, 2001).

1. Physically effective NDF > 8.0 = % of particles >8 mm × NDF of whole sample (similar to top 2 sieves of PSPS) (Kononoff *et al.*, 2003).
2. Physically effective NDF > 1.18 = % of particles >1.18 mm × NDF of whole sample (similar to top 3 sieves of PSPS) (Kononoff *et al.*, 2003).
3. Based on tabular values (NRC, 2001).

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری‌ها

ماده خشک مصرفی روزانه اندازه‌گیری شد. هفته‌ای یک بار از خوراک داده شده برای تعیین ترکیبات آن نمونه‌برداری شد. پروتئین خام، چربی خام و خاکستر نمونه‌های خوراک بر اساس روش‌های آزمایشگاهی بین‌المللی (AOAC, 2000) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی^۱ با استفاده از فن آوری انکوم (Van Soest *et al.*, 1991) اندازه‌گیری شدند.

1. Neutral detergent fiber

جدول ۲. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی بر اساس ماده خشک
Table 2. Ingredients and chemical composition of experimental diets on DM basis

Item	Diet ¹			
	LF	LFO	MFO	HFO
Ingredient, % of DM				
Alfalfa hay	20	20	25	30
Corn silage	20	20	25	30
Ground barley grain	26.9	26.9	19.4	4.4
Ground corn grain	8.3	5.85	1.95	1.47
Wheat bran	7.35	7.35	9.27	19
Fish meal	-	-	-	0.97
Soybean meal	9.75	10.24	8.30	9.50
Cottonseed meal	4.86	4.86	6.37	0.74
Calcium carbonate	0.98	0.98	0.98	0.20
Vitamin-mineral mix ²	0.58	0.58	0.58	0.58
Salt	0.30	0.30	0.30	0.30
Sunflower oil	-	2.00	2.00	2.00
Sodium bicarbonate	0.98	0.98	0.98	0.98
Chemical composition				
NE _L ³ , Mcal/kg of DM	1.68	1.74	1.66	1.62
CP, % of DM	16.10	16.11	15.94	16.37
RUP, % of CP	32.67	33.17	33.15	33.58
RDP, % of CP	10.85	10.93	10.65	10.81
Methionine	1.98	1.98	1.96	1.98
Lysine	6.83	6.86	6.87	6.96
Ether extract, % of DM	3.00	5.00	5.00	5.00
LCFA, % of DM	2.50	4.10	4.13	4.15
NDF, % of DM	31.00	31.00	35.00	39.00
peNDF ⁴	18.37	18.84	22.31	27.35
NFC ⁵ , % of DM	43.36	42.00	37.75	33.75
Starch, % of DM	28.14	26.35	21.42	16.70
Ca	0.75	0.76	0.83	0.96
P	0.49	0.48	0.50	0.57

۱. LF = الیاف پایین بدون مکمل روغن؛ LFO = الیاف پایین با مکمل روغن؛ MFO = الیاف متوسط با مکمل روغن؛ HFO = الیاف بالا با مکمل روغن.
 ۲. حاوی ۱۹۶۰۰۰، ۹۶۰۰۰، ۱۹۰۰۰، ۴۶۰۰۰، ۳۰۰۰، ۲۰۰۰، ۵۰۰۰، ۱۰۰، ۱۰۰، ۱۰۰، ۱، ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ماده خشک به ترتیب کلسیم، فسفر، منیزیم، سدیم، آهن، مس، منگنز، روی، کبالت، ید، سلنیم، آنتی اکسیدانت، همچنین ویتامین A (۳۰۰۰ واحد در کیلوگرم)، ویتامین D (۸۰۰ واحد در کیلوگرم) و ویتامین E (۶ واحد در کیلوگرم).
 ۳. بر اساس مقادیر جداولی (NRC, 2001).
 ۴. الیاف مؤثر فیزیکی بیش از ۱/۱۸ برابر است با درصد ذرات بیش از ۱/۱۸ میلی متر ضرب در غلظت الیاف نمونه کل (مشابه با سه الک بالایی پنسیلوانیا) (Kononoff *et al.*, 2003).

۵. بر اساس تفاوت مجموع الیاف، چرب خام، پروتئین خام و خاکستر از ۱۰۰ محاسبه شده است.

1. LF = Low fiber without oil supplementation; LFO = Low fiber with oil supplementation; MFO = Medium fiber with oil supplementation; HFO = High fiber with oil supplementation.
 2. Supplied 196000, 96000, 19000, 46000, 3000, 300, 2000, 3000, 100, 100, 1 and 400 mg/kg of diet DM of calcium, phosphorus, magnesium, sodium, iron, copper, manganese, zinc, cobalt, iodine, selenium, antioxidant, respectively, as well as vitamin A (3,000 IU/kg), vitamin D (800 IU/kg), and vitamin E (6 IU/kg).
 3. Based on tabular values (NRC, 2001).
 4. Physically effective NDF > 1.18 = % of particles > 1.18 mm × NDF of whole sample (similar to top 3 sieves in PSPS) (Kononoff *et al.*, 2003).
 5. Calculated by difference 100 - (% NDF + % CP + % fat + % ash).

نتایج و بحث

گزارش شده است که افزایش الیاف جیره باعث پرشدگی شکمبه شده در نتیجه ماده خشک مصرفی کاهش پیدا می‌کند (Chalupa *et al.*, 1996). از طرفی گزارش شده است که افزایش مقدار کنسانتره باعث افزایش مصرف خوراک می‌شود (NRC, 2001) که در مطالعه حاضر در تیمار الیاف بالا کمترین درصد کنسانتره وجود داشت. از طرفی مطرح شده است که افزودن چربی تا پنج درصد تأثیری در ماده خشک مصرفی ندارد ولی مقادیر بالای آن باعث کاهش ماده خشک مصرفی می‌شود (NRC, 2001) که در این مطالعه تیمار دارای الیاف بالا دارای عصاره اتری ۵ درصد بود.

نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که افزایش درصد الیاف جیره باعث کاهش ماده خشک مصرفی شد ($P < 0.05$)، همچنین با افزایش درصد الیاف جیره قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی کاهش پیدا کرد ولی قابلیت هضم الیاف نا-محلول در شوینده خنثی افزایش پیدا کرد ($P < 0.01$). افزودن روغن به جیره با الیاف پایین باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی شد ($P < 0.01$) ولی بر الیاف نامحلول در شوینده خنثی تأثیر معنی‌داری نداشت.

جدول ۳. تأثیر درصد الیاف جیره و افزودن روغن گیاهی بر ماده خشک مصرفی و قابلیت هضم مواد مغذی

Table 3. Effect of difference in NDF content and oil supplementation on dry matter intake and nutrient digestibility

Item	Treatment ¹				SEM	P-value
	LF	LFO	MFO	HFO		
Dry matter intake (Kg/d)	18.9 ^a	19.0 ^a	18.2 ^a	17.3 ^b	0.63	0.02
Digestibility (%)						
DM	68.8 ^b	71.5 ^a	69.0 ^b	68.0 ^c	0.16	<0.01
OM	70.7 ^c	73.3 ^a	71.6 ^b	69.1 ^d	0.15	<0.01
NDF	58.9 ^c	58.9 ^c	63.3 ^b	66.6 ^a	0.30	<0.01
EE	69.5	69.5	69.4	69.3	0.35	0.97
CP	66.9	67.3	67.0	67.2	0.22	0.23

۱. LF = الیاف پایین بدون مکمل روغن؛ LFO = الیاف پایین با مکمل روغن؛ MFO = الیاف متوسط با مکمل روغن؛ HFO = الیاف بالا با مکمل روغن.

1. LF = Low fiber without oil supplementation; LFO = Low fiber with oil supplementation; MFO = Medium fiber with oil supplementation; HFO = High fiber with oil supplementation.

هضم به منبع و مقدار مکمل چربی استفاده شده و به اثرات متقابل با سایر اجزای جیره وابسته است، همچنین مطرح شده که منبع علوفه جیره و نسبت علوفه به کنسانتره نیز اثرات متقابلی با تأثیر چربی بر قابلیت هضم می‌تواند داشته باشد (Benchaar *et al.*, 2012). در مطالعه حاضر با توجه به این که تیمارهای الیاف متوسط و بالا فعالیت جویدن بیشتری نشان داده‌اند (جدول ۵)، همچنین در تیمارهای داری الیاف بالا نسبت علوفه به کنسانتره بیشتر شده است و از طرفی ماده خشک مصرفی کمتری هم داشته در نتیجه افزایش قابلیت هضم الیاف می‌تواند مربوط به این عوامل باشد.

تولید شیر

در رابطه با تولید شیر تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ولی افزودن روغن با الیاف پایین باعث کاهش تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵ و ۴ درصد چربی شد. افزودن روغن با الیاف پایین موجب سندرم افت چربی شیر شد و کل تولید چربی شیر از سایر تیمارها کمتر بود ولی با افزایش سطح الیاف جیره با افزودن روغن این کاهش جبران شد. افزودن روغن صرف نظر از سطح الیاف جیره سبب کاهش پروتئین شیر شد (جدول ۴).

منشأ چربی شیر از اسیدهای چرب حاصل از پلاسمای خون که از روده کوچک و یا بافت ادیپوز (اسیدهای چرب زنجیر بلند) و یا سنتز دنوو از استات و بوتیرات (اسیدهای چرب C4:0 تا C14:0 و بخشی از C16:0) در غدد پستانی حاصل می‌شود (Nudda *et al.*, 2014). گزارش شده است که پاسخ تولید شیر با افزودن

بر خلاف مطالعه حاضر، محققین (Pantoja *et al.*, 1994) گزارش کرده‌اند که با افزودن چربی به خصوص چربی‌های غیر اشباع قابلیت هضم ماده خشک و الیاف کاهش می‌یابد. دلیل این امر را به کاهش جمعیت باکتری‌های سلولولیتیک و پوشش‌دار شدن مواد خوراکی با روغن ارتباط داده‌اند (Patra & Yu, 2013). در یک متا آنالیز در رابطه با قابلیت هضم الیاف گزارش شده است که اسیدهای چرب زنجیر بلند تأثیر اندکی بر قابلیت هضم الیاف دارند (Weld & Armentano, 2017). در مطالعه دیگری گزارش شده است که افزایش الیاف مؤثر فیزیکی در جیره باعث افزایش فعالیت جویدن گاوها شده در نتیجه قابلیت هضم الیاف افزایش پیدا می‌کند (Zebeli *et al.*, 2006). به‌علاوه گزارش شده است که کاهش خوراک مصرفی باعث کاهش سرعت عبور مواد غذایی از شکمبه شده در نتیجه قابلیت هضم افزایش پیدا می‌کند (Harvatine & Allen, 2006). Avila *et al.* (2000) و Akbari-Pabandi & Mirzaei-Alamouti (2015) به ترتیب با اضافه کردن ۲ و ۲/۵ درصد روغن گیاهی تأثیری بر قابلیت هضم مواد مغذی مشاهده نکردند. همچنین در چندین مطالعه دیگر در استفاده از منابع مختلف چربی از جمله روغن پسماند آشپزخانه تا ۵ الی ۶ درصد تأثیر در قابلیت هضم ماده خشک و الیاف مشاهده نکردند (Maia *et al.*, 2012; Morgado *et al.*, 2014).

با توجه به وجود تناقضات مختلف در رابطه با تأثیر منابع مختلف چربی بر قابلیت هضم مواد مغذی در شکمبه نشخوارکنندگان (Chelikani *et al.*, 2004) پیشنهاد کرده‌اند که میزان تأثیر منابع چربی بر قابلیت

روغن به صورت غیر خطی می‌باشد به طوری که در مقادیر کم افزودن چربی باعث افزایش تولید شیر می‌شود ولی با استفاده از مقادیر بیشتر یا تأثیری در تولید شیر نداشته یا اثر منفی می‌گذارد و این اثرات منفی به کاهش ماده خشک مصرفی، کاهش هضم الیاف، اثرات منفی بر تخمیر شکمبه و اثرات متابولیک مربوط است (NRC, 2001). موافق با نتایج حاضر در یک مطالعه با افزودن ۲/۵ درصد از منابع مختلف چربی بیان شد که افزودن مکمل چربی تأثیر معنی‌داری بر تولید شیر نداشت (Harvatine & Allen, 2006) در توفیق با مطالعه حاضر اغلب مطالعات اثرات منفی افزودن مکمل روغن بر درصد چربی شیر گزارش کرده‌اند (Rabiee et al., 2012;)

جدول ۴. تأثیر سطح الیاف جیره و افزودن روغن گیاهی بر تولید و ترکیب شیر

Table 4. Effect of difference in diet's NDF content and oil supplementation on milk yield and contents

Item	Treatment ¹				SEM	P-value
	LF	LFO	MFO	HFO		
Milk yield (kg/d)						
Milk	32.1	31.9	31.2	31.3	0.40	0.38
3.5%FCM ²	29.0 ^a	27.3 ^b	28.9 ^a	28.3 ^a	0.41	0.05
Milk contents yield (kg/d)						
Fat	0.94 ^a	0.84 ^b	0.95 ^a	0.92 ^a	0.02	0.01
protein	0.94 ^a	0.89 ^b	0.90 ^b	0.89 ^b	0.01	0.04
Lactose	1.40	1.40	1.37	1.39	0.01	0.58
Milk contents (%)						
Fat	2.93 ^a	2.65 ^b	3.05 ^a	2.94 ^a	0.05	0.03
Protein	2.93 ^a	2.81 ^b	2.88 ^b	2.84 ^b	0.02	0.01
Lactose	4.38	4.40	4.39	4.43	0.02	0.34
Fat/protein ratio	1.00 ^b	0.94 ^c	1.05 ^a	1.04 ^a	0.01	0.03

۱. LF = الیاف پایین بدون مکمل روغن؛ LFO = الیاف پایین با مکمل روغن؛ MFO = الیاف متوسط با مکمل روغن؛ HFO = الیاف بالا با مکمل روغن.
 ۲. شیر تولیدی با ۳/۵ درصد چربی برابر است با مجموع ۰/۴۳۲۳ شیر تولیدی و ۱۶/۲۳ چربی تولیدی

1. LF = Low fiber without oil supplementation; LFO = Low fiber with oil supplementation; MFO = Medium fiber oil supplementation; HFO = High fiber with oil supplementation.
 2. 3.5%FCM = (0.4324×Milk yield) + (16.23×Fat yield)

جدول ۵. تأثیر درصد الیاف جیره و افزودن روغن گیاهی بر فعالیت جویدن گاوهای تحت آزمایش

Table 5. Effect of difference in diet's NDF content and oil supplementation on chewing activity of experimental cows

Feeding behavior	Treatment ¹				SEM	P-value
	LF	LFO	MFO	HFO		
Chewing (min/d)	800 ^b	805 ^b	887 ^a	915 ^a	9.79	0.01
Eating time (min/d)	246 ^b	247 ^b	283 ^a	303 ^a	7.20	0.04
Ruminating (min/d)	555 ^b	557 ^b	603 ^a	612 ^a	6.87	0.05
Eating per kg of NDF (min)	41.3	42.5	45.2	45.0	1.78	0.24
Eating per kg of forage NDF (min)	70.7	71.5	67.6	63.7	2.78	0.14
Ruminating per kg of NDF (min)	94.8	96.5	95.0	90.7	4.02	0.18
Ruminating per kg of forage NDF (min)	161 ^a	162 ^a	141 ^b	128 ^c	6.21	0.01
Chewing per kg of NDF (min)	136	138	140	135	5.76	0.64
Chewing per kg of forage NDF (min)	231 ^a	233 ^a	209 ^b	192 ^c	8.63	0.03
Eating per kg of DMI (min)	12.9 ^c	13.0 ^c	15.9 ^b	17.6 ^a	0.60	0.01
Ruminating per kg of DMI (min)	29.6 ^c	29.6 ^c	33.4 ^b	35.5 ^a	1.39	0.01
Chewing per kg of DMI (min)	42.5 ^c	42.6 ^c	49.3 ^b	53.2 ^a	1.90	0.01
NDF (kg/d)	5.96 ^c	5.87 ^c	6.36 ^b	6.77 ^a	0.24	0.07
FNDF (kg/d)	3.52 ^c	3.51 ^c	4.23 ^b	4.76 ^a	0.16	<0.01

۱. LF = الیاف پایین بدون مکمل روغن؛ LFO = الیاف پایین با مکمل روغن؛ MFO = الیاف متوسط با مکمل روغن؛ HFO = الیاف بالا با مکمل روغن.
 1. LF = Low fiber without oil supplementation; LFO = Low fiber with oil supplementation; MFO = Medium fiber with oil supplementation; HFO = High fiber with oil supplementation.

Mirzaei, 2015; Wu & Huber, 1994; Rabiee *et al.*, 2015)، در یک مرور از پژوهش‌های مختلف گزارش شده است که افزودن روغن باعث کاهش پروتئین شیر می‌شود که این کاهش ناشی از کاهش هضم ماده آلی و کاهش تولید پروتئین میکروبی در شکمبه در نتیجه افزودن روغن می‌باشد (Rabiee *et al.*, 2012).

فعالیت جویدن

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزایش الیاف جیره از ۳۱ به ۳۵ و ۳۹ درصد باعث افزایش در فعالیت خوردن، نشخوار کردن و کل فعالیت جویدن و همچنین خوردن، نشخوار کردن و جویدن به ازای هر واحد از ماده خشک شد (جدول ۵). درمقایسه بین تیمار با الیاف پایین و با و بدون افزودن روغن تفاوت معنی‌داری در رفتار جویدن مشاهده نشد. Firkins (1997) بیان کرده است که افزایش الیاف علوفه‌ای و کاهش غلظت کربوهیدرات‌های غیر الیافی فعالیت خوردن و جویدن را افزایش می‌دهد. چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که افزودن روغن به جیره‌های گاوهای شیری تأثیری در فعالیت جویدن آن‌ها نداشت (Harvatine & Allen, 2006; Akbari & Mirzaei, 2015). به‌علاوه آنها گزارش دادند که اسیدهای چرب غیراشباع سرعت مصرف خوراک را کاهش دادند.

گزارش شده است که افزایش الیاف نامحلول در شوینده خنثی و مقدار الیاف مؤثر فیزیکی جیره باعث افزایش فعالیت جویدن (خوردن و نشخوار کردن) گاوهای شیری می‌شود (Mertens, 1997; Zebeli *et al.*, 2008). بنابراین باتوجه به افزایش الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف مؤثر فیزیکی در دو تیمار الیاف متوسط و الیاف بالا نسبت به دو تیمار الیاف پایین (۳۵ و ۳۹ در مقابل ۳۱ درصد و ۲۲ و ۲۷ در مقابل ۱۸ درصد)، افزایش فعالیت جویدن در این دو تیمار را می‌توان به این بحث ارتباط داد.

فراسنجه‌های شکمبه‌ای

در این مطالعه در تیمار با الیاف پایین افزودن روغن باعث کاهش معنی‌دار pH شد و غلظت اسیدهای

همچنین گزارش شده است که کاهش نسبت استات به پروپیونات در شکمبه موجب افت درصد چربی شیر می‌شود (Shabi *et al.*, 1999). مطرح شده است که بیوهیدروژناسیون ناقص اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه سبب افزایش جریان دئودنومی اسیدهای چرب ترانس ۱۸:۱ و اسیدلینولئیک مزدوج می‌گردد که از طریق کاهش بیان ژن لیپوژنیک باعث کاهش چربی شیر می‌گردند (Peterson *et al.*, 2002).

همچنین افزایش تولید پروپیونات در شکمبه می‌تواند باعث افزایش گلوکز خون و در نتیجه افزایش انسولین خون شود. انسولین ذخیره گلوکز و استات را توسط بافت‌های بدن تحریک می‌کند (به‌ویژه بافت چربی) و به این وسیله می‌تواند قابلیت دسترسی آنها برای سنتز چربی در غدد پستانی را کاهش دهد (Bauman & Currie, 1980). ایزومر CLA ترانس-۱۰، سیس-۱۲ تولید شده در شکمبه از طریق کاهش بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های مربوط به جذب و انتقال اسید چرب جریان خون، سنتز دنوو اسید چرب، غیر اشباع کننده اسیدچرب و سنتز تری‌گلیسرید از سنتز چربی شیر ممانعت می‌کند (Baumgard *et al.*, 2002). در مطالعه حاضر باتوجه به این‌که در تیمار با الیاف پایین حاوی روغن pH شکمبه به حدود ۵/۸ کاهش پیدا کرده و از طرفی مقدار استات به‌عنوان پیش ماده سنتز اسیدهای چرب زنجیر کوتاه در پستان کاهش و مقدار پروپیونات افزایش پیدا کرده است و همچنین از آنجاکه این جیره شرایط لازم برای ایجاد افت چربی شیر که همانا فراهم بودن اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند دوگانه و کاهش pH شکمبه می‌باشد (Bauman & Grinari, 2003) را فراهم کرده است، لذا کاهش چربی شیر در این تیمار می‌تواند به علت عوامل مذکور باشد.

در مطالعه Dhiman *et al.* (2000) کاهش درصد پروتئین شیر با افزودن مکمل چربی مشاهده شد. Pantoja *et al.* (1994) با آزمایش بر روی سه منبع مختلف چربی که شامل پیه، پیه غیر اشباع و روغن‌های گیاهی بود مشاهده کردند که افزودن چربی، پروتئین شیر را کاهش داد. همچنین در اغلب مطالعات انجام شده با اضافه کردن مکمل چربی به جیره‌ها کاهش درصد پروتئین شیر رخ داده است (Akbari &

افزودن منابع مختلف چربی به جیره گاوهای شیری گزارش شده است (Firkins, 1996; Onetti *et al.*, 2001). همچنین Ivan *et al.* (2013) افزایش پروپیونات و کاهش نسبت استات به پروپیونات را در شکمبه گاوهای تغذیه شده با دانه‌های روغنی (دارای غلظت بالای اسید لینولنیک و لینولیک) مشاهده کردند. Onetti *et al.* (2001) اثر نوع و سطح چربی را بر الگوی تخمیر شکمبه‌ای را مورد مطالعه قرار داده و مشاهده کردند که pH شکمبه و غلظت کل اسیدهای چرب فرآر شکمبه تحت تأثیر مکمل‌های چربی قرار نگرفتند. ولی نسبت استات به پروپیونات و تعداد پروتوزوا با افزودن مکمل چربی کاهش پیدا کرد. در یک مطالعه با افزایش غلظت روغن ماهی به عنوان منبع امگا-۳ از صفر به ۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم در روز برای بره‌های پرواری غلظت استات و بوتیرات به صورت خطی کاهش و غلظت پروپیونات افزایش پیدا کرد (Garcia *et al.*, 2017). گزارش شده است که کاهش تعداد پروتوزای شکمبه در نتیجه افزودن منابع مختلف چربی به شکمبه باعث کاهش غلظت استات به پروپیونات می‌شود (Firkins, 1996).

به‌طور کلی می‌توان گفت وجود تناقض در نتایج مطالعات مختلف در رابطه با تأثیر منابع چربی بر شاخصه‌های تخمیر شکمبه می‌تواند به وجود تفاوت در سایر اجزای جیره مربوط باشد که خود می‌تواند عاملی در جهت تغییر جمعیت میکروبی شکمبه باشد (Shingfield *et al.*, 2010).

چرب فرآر شکمبه با الیاف پایین تحت تأثیر روغن قرار نگرفت (جدول ۶). ولی افزایش درصد الیاف جیره از ۳۱ به ۳۵ و ۳۹ باعث افزایش معنی‌دار در pH و غلظت کل اسیدهای چرب فرآر شکمبه شد، همچنین در تیمار با الیاف پایین و افزودن روغن غلظت استات کاهش و غلظت پروپیونات افزایش پیدا کرد. افزایش الیاف در جیره‌های حاوی روغن باعث افزایش غلظت استات و کاهش پروپیونات شد.

در مطالعات انجام‌شده در سال‌های گذشته به اثبات رسیده است که افزایش درصد الیاف جیره باعث افزایش فعالیت جویدن و در نتیجه افزایش ترشح بزاق و بالا رفتن ظرفیت بافری شکمبه می‌شود که به دنبال آن pH شکمبه افزایش پیدا می‌کند (Poppi *et al.*, 2004; Tafaj *et al.*, 2001). در مطالعه حاضر نیز در توافق با نتایج مطالعات ذکر شده افزودن الیاف جیره باعث افزایش فعالیت جویدن از ۸۰۰ و ۸۰۵ دقیقه در روز به ۸۸۷ و ۹۱۵ دقیقه در روز شد که در نتیجه آن pH شکمبه نیز در این تیمارها افزایش پیدا کرد. بر خلاف نتایج این مطالعه گزارش شده است که افزودن منابع مختلف چربی بر pH شکمبه تأثیر معنی‌داری نداشته است (Amitava *et al.*, 2017; Onetti *et al.*, 2001). در اغلب مطالعات انجام شده تأثیر معنی‌داری از افزودن روغن بر غلظت اسیدهای چرب فرآر مشاهده نشده است (Onetti *et al.*, 2001; Lunsin *et al.*, 2012). همگام با این مطالعه در مطالعات مختلف نیز کاهش استات شکمبه و افزایش پروپیونات شکمبه با

جدول ۶: تأثیر سطح الیاف جیره و افزودن روغن گیاهی بر تخمیر شکمبه گاوهای تحت آزمایش

Table 6. Effect of difference level of diet's NDF content and oil supplementation on rumen fermentation of experimental cows

Item	Treatment ¹				SEM	P-value
	LF	LFO	MFO	HFO		
Ruminal pH	6.23 ^d	5.85 ^c	6.43 ^b	6.75 ^a	0.03	<0.01
Urinary pH	7.74 ^a	7.76 ^a	7.76 ^a	7.29 ^b	0.05	<0.01
Fecal pH	6.26	6.33	6.41	6.36	0.05	0.18
Ruminal VFA mol/100 mol						
Acetate	61.0 ^e	59.6 ^d	63.3 ^b	65.6 ^a	0.16	<0.01
Propionate	21.8 ^b	23.1 ^a	21.2 ^b	20.6 ^{bc}	0.06	<0.01
Others	8.3 ^{bc}	8.5 ^b	8.9 ^{ab}	9.2 ^a	0.20	0.04
Total VFA (mM)	91.3 ^c	91.3 ^c	93.5 ^b	95.5 ^a	0.11	<0.01

۱. LF = الیاف پایین بدون مکمل روغن؛ LFO = الیاف پایین با مکمل روغن؛ MFO = الیاف متوسط با مکمل روغن؛ HFO = الیاف بالا با مکمل روغن.

1. LF = Low fiber without oil supplementation; LFO = Low fiber with oil supplementation; MFO = Medium fiber with oil supplementation; HFO = High fiber with oil supplementation.

به‌طورکلی رفتار متفاوتی از افزودن روغن گیاهی با درصد مختلف الیاف بر عملکرد و رفتارهای تغذیه‌ای گاوهای شیرده هلشتاین در اواسط شیردهی مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

افزودن روغن با درصد الیاف پایین باعث اثرات منفی بر تخمیر شکمبه و ترکیبات شیر شد و این اثرات منفی با افزایش درصد الیاف جیره برطرف شد.

REFERENCES

1. Akbari-Pabandi, K. & Mirzaei-Alamouti, H. R. (2015). Effects of feeding frequency and plant oil supplementation on performance and feeding behavior of Holstein lactating cows. *Journal of Animal Production*, 17, 119-129. (in Farsi)
2. Alzahal, O., Odongo, N. E., Mutsvangwa, T., Or-Rashid, M. M., Duffield, T. F., Bagg, R. & Dick, P. (2008). Effects of Monensin and Dietary Soybean Oil on Milk Fat Percentage and Milk Fatty Acid Profile in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 91, 1166-1174.
3. Amitava, R., Guru, P. M. & Amlan, K. P. (2017). Effects of different vegetable oils on rumen fermentation and conjugated linoleic acid concentration in vitro. *Veterinary World*, EISSN: 2231-0916.
4. AOAC International. (2000). *Official Methods of Analysis*. Vol. I. (17th ed.). AOAC International, Arlington, VA.
5. Avila, C. D., DePeters, E. J., Perez-Monti, H., Taylor, S. J. & Zinn, R. A. (2000). Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 83, 1505-1519.
6. Bauman, D. E. & Griinari, J. M. (2001). Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science*, 70, 15-29.
7. Bauman, D. E. & Currie, W. B. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*, 63, 1514-1529.
8. Benchaar, C., Romero-Perez, G. A., Chouinard, P. Y., Hassanat, F., Eugene, M., Petit, H. V. & Cortes, C. (2012). Supplementation of increasing amounts of linseed oil to dairy cows fed total mixed rations: effects on digestion, ruminal fermentation characteristic, protozoal populations, and milk fatty acid composition. *Journal of Dairy Science*, 95, 4578-4590.
9. Baumgard, L. H., Matitashvili, E., Corl, B. A., Dwyer, D. A. & Bauman, D. E. (2002). Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 2155-2163.
10. Chalupa, W., Rickabaugh, B., Kronfeld, D. S. & Sklan, D. (1984). Rumen fermentation in vitro as influenced by long-chain fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 67, 1439-1444.
11. Chelikani, P. K., Ball, J. A. & Kanelly, J. J. (2004). Effect of feeding or abomasal infusion of canola oil in Holstein cows 1. Nutrient digestion and milk composition. *Journal of Dairy Research*, 71, 279-287.
12. Dhiman, T. R., Satter, L. D., Pariza, M. W., Galli, M. P., Albright, K. & Tolosa, M. X. (2000). Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *Journal of Dairy Science*, 83, 1016-1027.
13. Dohme, F., Machmüller, A., Wasserfallen, A. & Kreuzer, M. (2000). Comparative efficiency of various fats rich in medium-chain fatty acids to suppress ruminal methanogenesis as measured with RUSITEC. *Canadian Journal of Animal Science*, 80, 473-784.
14. Firkins, J. L. (1997). Effects of feeding nonforage fiber sources on site of fiber digestion. *Journal of Dairy Science*, 80, 1426-1437.
15. Firkins, J. L. (1996). Maximizing microbial protein synthesis in the rumen. *The Journal of Nutrition*, 126, 1347S-1354S.
16. Harvatine, K. J. & Allen, M. S. (2006a). Effects of fatty acid supplements on feed intake, and feeding and chewing behavior of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 1104-1112.
17. Harvatine, K. J. & Allen, M. S. (2006b). Effects of Fatty Acid Supplements on Ruminal and Total Tract Nutrient Digestion in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 1092-1103.
18. Ivan, M., Petit, H., Chiquette, J. & Wright, A. D. (2013). Rumen fermentation and microbial population in lactating dairy cows receiving diets containing oilseeds rich in C-18 fatty acids. *British Journal of Nutrition*, 109, 1211-1218.
19. Kargar, S., Khorvash, M., Ghorbani, G. R., Alikhani, M. & Yang, W. Z. (2010) Short communication: effects of dietary fat supplements and forage: concentrate ratio on feed intake, feeding, and chewing behavior of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93, 4297-4301.
20. Kononoff, P. J., Heinrichs, A. J. & Lehman, H. A. (2003). The effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 3343-3353.

21. Lunsin, R., Wanapat, M., Yuangklang, C. & Rowlinson, P. (2012) Effect of rice bran oil supplementation on rumen fermentation, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. *Livestock Science*, 145, 167-173.
22. Maia, M. O., Susin, I., Ferreira, E. M., Nolli, C. P., Gentil, R. S., Pires, A. V. and Mourao, G. B. 2012. Intake, nutrient apparent digestibility and ruminal constituents of sheepfed diets with canola, sunflower or castor oils. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(11), 2350-2356.
23. Mertens, D. R. (1997). Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80, 1463-1481.
24. Morgado, E. S., Ezequiel, J. M. B., Galzerano, L. & Santos, V. C. (2014). Consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio de cordeiros alimentados com alto teor de amido ou fibra solúvel em detergente neutro associados ao óleo de girassol (Intake, digestibility and nitrogen balance of lambs fed with high level of starch or neutral detergent soluble fiber associated with sunflower oil). *Journal of Semina-Ciencias Agrarias*, 35(1), 457-466.
25. National Research Council (NRC). (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev ed. National Academy Press. *Washington, DC, USA*.
26. Nudda, A., Battacone, G. N., Cannas, O. B., Helena, A., Francesconi, A., Atzori, D. & Pulina, A. S. 2014. Feeding strategies to design the fatty acid profile of sheep milk and cheese. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(8), 445-456.
27. Onetti, S. G., Shaver, R. D., McGuire, M. A. & Grummer, R. R. (2001). Effect of type and level of dietary fat on rumen fermentation and performance of dairy cows fed corn silage-based diets. *Journal of Dairy Science*, 84, 2751-2759.
28. Pantoja, J., Firkins, J. L., Eastridge, M. L. & Hull, B. L. (1994). Effects of fat saturation and source of fiber on site of nutrient digestion and milk production by lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 77, 2341-2356.
29. Patra, A. K. & Yu, Z. (2013). Effects of coconut and fish oils on ruminal methanogenesis, fermentation, and abundance and diversity of microbial populations in vitro. *Journal of Dairy Science*, 96, 1782-1792.
30. Peterson, D. G., Baumgard, L. H. & Bauman, D. E. (2002). Milk Fat Response to Low Doses of trans-10, cis-12 Conjugated Linoleic Acid (CLA). *Journal of Dairy Science*, 85, 1764-1766.
31. Plaizier, J. C., Krause, D. O., Gozho, G. N. & McBride, B. W. (2008). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *Veterinary Journal*, 176, 21-31.
32. Poppi, D. P., Ellis, W. C., Matis, J. H. & Lascano, C. E. (2001). Marker concentration patterns of labelled leaf and stem particles in the rumen of cattle grazing Bermuda grass (*Cynodon dactylon*) analysed by reference to a raft model. *British Journal of Nutrition*, 85, 553-563.
33. Rabiee, A. R., Breinhild, K., Scott, W., Golder, H. M., Block, E. & Lean, I. J. (2012). Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Dairy Science*, 95, 3225-3247.
34. Shabi, Z., Bruckental, I., Zamwell, S., Tagari, H. & Arieli, A. (1999) Effects of extrusion of grain and feeding frequency on rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82, 1252-1260.
35. Shingfield, K. J., Lee, M. R. F., Humphries, D. J., Scollan, N. D., Toivonen, V. & Reynolds, C. K. (2010). Effect of incremental amounts of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. *British Journal of Nutrition*, 104, 56-66.
36. Sjaunja, L. O., Baevre, L., Junkkarinen, L., Pedersen, J. & Setälä, J. (1990). A Nordic proposal for an energy corrected milk (ECM) formula. In: *Proceedings of the 2nd Session of International Committee for Recording and Productivity of Milk Animal Paris*. pp. 156-157.
37. Tafaj, M., Junck, B., Maulbetsch, A., Steingass, H., Piepho, H. P. & Drochner, W. (2004). Digesta characteristics of dorsal, middle and ventral rumen of cows fed with different hay qualities and concentrates levels. *Archive Animal Nutrition*, 58, 325-342.
38. Van Keulen, V. & Young, B. H. (1977). Evaluation of acid-insoluble ash as natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 26, 119-135.
39. Van Soest, P. J., Robertson, J. B. & Lewis, B. A. (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
40. Vazirigohar, M., Dehghan-Banadaky, M., Rezayazdi, K., Krizsan, S. J., Nejati-Javaremi, A. & Shingfield, K. J. (2014) Fat source and dietary forage-to-concentrate ratio influences milk fatty-acid composition in lactating cows. *Animal*, 8, 163-174.
41. Weld, K. A. & Armentano, L. E. (2017). The effects of adding fat to diets of lactating dairy cows on total-tract neutral detergent fiber digestibility: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 100, 1-14.
42. Wu, Z. & Huber, J. T. (1994) Relationship between dietary-fat supplementation and milk protein-concentration in lactating cows-a review. *Livestock Production Science*, 39, 141-155.

43. Zebeli, Q., Mansmann, D., Ametaj, B. N., Steingass, H. & Drochner, W. (2010). A statistical model to optimize the requirements of lactating dairy cows for physically effective neutral detergent fibre. *Archive Animal Nutrition*, 64, 265-278.
44. Zebeli, Q., Dijkstra, J., Tafaj, M., Steingass, H., Ametaj, B. N. & Drochner, W. (2008). Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. *Journal of Dairy Science*, 91, 2046-2066.
45. Zebeli, Q., Aschenbach, J. R., Tafaj, M., Boguhn, J., Ametaj, B. N. & Drochner, W. (2012). Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 95, 1041-1056.
46. Zebeli, Q., Dunn, S. M. & Ametaj, B. N. (2011). Perturbations of plasma metabolites correlated with the rise of rumen endotoxin in dairy cows fed diets rich in easily degradable carbohydrates. *Journal of Dairy Science*, 94, 2374-2382.