علوم دامی ایران
دورهٔ ۴۵، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۳ (ص ۲۲۱-۲۰۹)

اثر سطوح روغن ماهی بر عملکرد، خصوصیات لاشه و ترکیب اسیدهای چرب گوشت در گوساله‌های نر پرواری تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف یونجهٔ خشک

حسین ذکریاپور بهنمیری[1]، مهدی گنج‌خانلو[2]* و ابوالفضل زالی[3]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱/۲۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۸/۱۲)

چکیده

به منظور بررسی اثر افزودن سطوح مختلف روغن ماهی و علوفهٔ یونجه و ذرت سیلوشده بر عملکرد پروار و ترکیب و کیفیت لاشه و پروفایل اسیدهای چرب لاشهٔ ۳۶ گوسالهٔ نر هلشتاین با میانگین وزن اولیهٔ ۶۱± ۳۴۵ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی و به روش فاکتوریل ۳×۲ (۰، ۱ و ۲/۱ درصد روغن ماهی و دو سطح ۱۰ و ۲۰ درصد یونجهٔ خشک) ۹۰ روز مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد بین تیمارها تفاوت معناداری از لحاظ افزایش وزن روزانه، مصرف مادهٔ خشک و ضریب تبدیل غذایی وجود نداشت. سطح بالای روغن ماهی، صرف نظر از نسبت یونجه در جیره باعث کاهش مصرف خوراک شد (P<۰/۰۱). سطح بالای یونجهٔ خشک باعث کاهش مصرف مادهٔ خشک شد(P<۰/۰۱). مکمل‌کردن روغن ماهی اکسیداسیون گوشت را دو ماه پس از کشتار به طور معناداری افزایش داد (P<۰/۰۱). افزودن روغن ماهی به جیره موجب افزایش معناداری در مقدار نسبی اسیدهای چرب دکوزاهگزائنوئیک و ایکوزاپنتانوئیک چربی عضلهٔ چشمی (P< ۰/۰۱) و افزایش غلظت اسیدهای چرب n-3 (P<۰/۰۱) و در پی آن کاهش معنادار نسبت اسیدهای چرب n-6 به n-3 شد (P< ۰/۰۱). نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که با به‌کارگرفتن راهکارهایی جهت جلوگیری از اکسیداسیون گوشت پس از کشتار، روغن ماهی می‌تواند برای افزایش اسیدهای چرب سلامتی‌بخش در محصولات دامی استفاده شود. همچنین باتوجه به کاهش مصرف خوراک در نتیجهٔ مکمل‌سازی روغن ماهی، جیره‌های بر پایهٔ ذرت سیلوشده در مقایسه با یونجهٔ خشک بهتر می‌توانند از آثار کاهندگی مکمل‌های چربی بر مصرف خوراک جلوگیری کنند.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب، کیفیت گوشت، مکمل چربی، نسبت علوفه.

مقدمه

ماهی و روغن ماهی منبع طبیعی اسید ایکوزاپنتانوئیک (20:5n-3) و اسید دکوزاهگزائنوئیک (22:n6-3) است. روغن محصولات دریایی غنی از اسیدهای چرب بلندزنجیر شامل ایکوزاپنتانوئیک تا ۳۰ درصد و دکوزاهگزائنوئیک تاحدود ۲۵ درصد هستند (Chilliard *et al*., 2001). نشان داده شده است که روغن ماهی باعث کاهش چربی محوطهٔ شکمی در موش‌های صحرایی مقاوم به انسولین شده است (Peyron-Caso *et al*., 2003). جایگزینی روغن‌های استاندارد (مخلوطی از روغن‌های گیاهی و حیوانی) به وسیلهٔ روغن ماهی در جیرهٔ موش‌های صحرایی باعث جلوگیری از هایپرتروفی چربی احشایی، تری‌گلیسرید و گلوکز بالای خون شد. تحریک لیپولیز در سلول‌های چربی جداشده از موش‌های صحرایی تغذیه‌شده با روغن ماهی در مقایسه با روغن استاندارد بیشتر بود. همچنین موش‌های تغذیه‌شده با روغن ماهی، فعالیت کبدی اسید چرب سنتاز

* تلفن: ۰۹۱۲۵۱۲۹۰۴۵
Email: ganjkhanlou@can.ut.ac.ir

کمتری داشتند. کاهش چربی احشایی در موش‌های صحرایی تغذیه‌شده با روغن ماهی می‌تواند به دلیل غلظت کمتر تری‌اسیل‌گلیسرول پلاسمایی و افزایش بسیج چربی باشد و نه کاهش ذخیرهٔ چربی. تأثیرات روغن ماهی بر متابولیسم شکمبه‌ای بیشتر به علت دو اسید چرب n-3 ایکوزاپنتائنویک و دکوزا هگزائنویک است (Fievez *et al*., 2003). نشان داده شده است که روغن ماهی بر بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای اسید لینولئیک و لینولنیک اثر مهارکنندگی اعمال می‌کند (Qiu *et al*., 2004). این اثر مهارکنندگی باعث افزایش مقدار حد واسطه‌های بیوهیدروژناسیون در تولیدات نشخوارکنندگان (گوشت و شیر) می‌شود. این حد واسطها عبارتند از: ایزومرهای مختلف اسیدهای چرب مزدوج (CLA[1]) که مهم‌ترین آن‌ها سیس-۹ ترانس-۱۱ است که تأثیرات ضد سرطانی، ضد سخت‌شدگی رگ و آنتی‌اکسیدانی دارد و بعد از آن واسینیک اسید ($c18:1\ t_{11}$) که یک پیش‌ساز برای سیس-۹ ترانس-۱۱ است و تأثیرات ضد سرطانی آن نیز گزارش شده است (Corl *et al*., 2003; Lock & Bauman, 2004). متوسط مقدار CLA در چربی شیر ۳ تا ۵/۵ میلی‌گرم بر گرم اسید چرب است. تأثیر مصرف CLA توسط انسان (براساس وزن بدن) از تأثیرات کاهنده‌ای که نشان داده شده است بر انواع سرطان در مدل‌های حیوانی دارد، کمتر است (Ip *et al*., 1994). افزایش مصرف CLA توسط انسان می‌تواند با افزایش مصرف خوراک‌های با منشأ حیوانات نشخوارکننده یا افزایش غلظت این ترکیبات در شیر و گوشت امکان‌پذیر باشد. از طرفی نشان داده شده است که جیره‌های پایهٔ متفاوت پاسخ‌های متفاوتی را به مکمل‌های چربی ایجاد می‌کند که این امر به تأثیرات متقابل جیره و مکمل چربی ربط داده شده است (Onetti *et al*., 2004). نوع فیبر جیره از عوامل تأثیرگذار بر عملکرد در زمان مکمل‌سازی چربی است. پژوهشگران (Smith *et al*., 1993; Smith & Harris Jr, 1993) گزارش کردند که در غلظت یکسان فیبر در جیره، جایگزین‌کردن ذرت سیلوشده با علوفهٔ خشک یونجه در جیرهٔ حاوی تخم پنبه و پیه، تولید شیر و شیر تصحیح‌شده بر اساس چربی را کاهش می‌دهد. Kowsar *et al*. (2008) با افزایش نسبت ذرت سیلوشده به یونجهٔ خشک در جیرهٔ حاوی مکمل چربی باعث افزایش مادهٔ خشک مصرفی و انرژی خالص شیردهی شدند. آن‌ها مصرف بیشتر جیرهٔ حاوی ذرت سیلوشده را در مقایسه با علوفهٔ خشک یونجه به دلیل اثر مثبت ذرت سیلوشده بر خوش‌خوراکی و همچنین افزایش رطوبت جیره دانستند. از طرفی Onetti *et al*. (2003) با افزودن پیه به جیرهٔ حاوی ذرت سیلوشده باعث کاهش مصرف خوراک و تولید و درصد چربی شیر در گاو شیری شدند و این کاهش را با قراردادن علوفهٔ خشک یونجه در جیره به جای ذرت سیلوشده تخفیف دادند. Smith *et al*. (1993) پیشنهاد کردند که اثرات مهارکنندگی مکمل‌های چربی بر تخمیر شکمبه‌ای در زمانی که ذرت سیلوشده علوفهٔ اصلی جیره است، در مقایسه با علوفهٔ خشک یونجه بیشتر است و دلیل آن را قابلیت بیشتر پوشیده‌شدن علوفهٔ سیلوشده توسط چربی‌ها در مقایسه با علوفهٔ خشک دانستند. یونجه و ذرت سیلوشده هردو منبع الیاف هستند اما تأثیرات متفاوتی بر تخمیر شکمبه‌ای دارند که این امر نه فقط به دلیل میزان رطوبت و پروتئین متفاوت، بلکه به سبب تفاوت بیوانرژتیکی آن‌هاست. علوفهٔ سیلوشده باعث محلولیت پروتئین و کاهش بازدهی ورود آمونیاک، اسیدهای آمینه و پپتیدها به تودهٔ میکروبی و در پی آن از دست رفتن نیتروژن می‌شود (Kowsar *et al*., 2008; Beaver *et al*., 1993). تغییر نسبت‌های علوفهٔ سیلوشده و خشک در جیرهٔ کاملاً مخلوط باعث تغییر در میزان ATP قابل آزاد شدن و تغییر همزمانی فراهم بودن آن با نیتروژن و در پی آن اثر بر تولید و بازدهی تودهٔ میکروبی و تولید شیر می‌شود. هدف از مطالعهٔ حاضر بررسی اثر روغن ماهی بر خصوصیات لاشه و ترکیب اسیدهای چرب گوشت در نسبت‌های مختلف علوفهٔ یونجهٔ خشک و ذرت سیلوشده و پیداکردن جیرهٔ پایهٔ مناسبی برای محدودکردن یا حذف آثار منفی روغن ماهی بر مصرف مادهٔ خشک است.

مواد و روش‌ها

گوساله‌های مورد آزمایش

گوساله‌ها به صورت انفرادی و در جایگاهی مسقف که از سه طرف با دیوار محصور شده بود، به صورت بسته نگهداری شدند. هر گوساله آخور مجزایی داشت، به‌طوری که مصرف روزانهٔ خوراک هر گوساله قابل اندازه‌گیری بود. برای هر دو گوسالهٔ مجاور یک آبشخور

1. Conjugated linoleic acid

اتوماتیک در نظر گرفته شد. از بین گوساله‌های نر موجود در ایستگاه آموزشی و پژوهشی گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۳۶ رأس گوسالهٔ نر هلشتاین با میانگین سنی ۱۱ تا ۱۳ ماه و وزن اولیهٔ ۶۱ ±۳۴۵ کیلوگرم با حداکثر شباهت از نظر وزن و سن، بعد از معاینهٔ دامپزشک و اطمینان از سلامت آن‌ها انتخاب و به صورت تصادفی به ۶ گروه ۶ رأسی تقسیم شدند. هریک از گروه‌ها تصادفی به یکی از جیره‌های آزمایشی اختصاص داده شدند. مدت این پژوهش ۹۰ روز بود که ۱۴ روز قبل از آن به عنوان دورهٔ عادت‌دهی به جایگاه و جیرهٔ آزمایشی در نظر گرفته شد. همچنین در طول دورهٔ عادت‌دهی برای ایمنی بیشتر گوساله‌ها، ۵ میلی‌لیتر ای-سلنیوم[1] به صورت عضلانی در آن‌ها تزریق شد.

جیره‌های آزمایشی و نحوهٔ خوراک‌دهی

جیره‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار[2] NRC (1996) و درصد کنسانترهٔ آن‌ها به صورت ۷۰ درصد بر اساس مادهٔ خشک تنظیم شد. تیمارها شامل سه سطح ۰، ۱ و ۲/۱ درصد روغن ماهی و دو سطح ۱۰ و ۲۰ درصد یونجه و ذرت سیلوشده بودند. به منظور ایجاد مادهٔ خشک یکسان در تمامی جیره‌ها، به جیره‌های دارای ذرت سیلوشدهٔ بیشتر، آب افزوده شد. اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌ها در جدول ۱ آمده است. جیره‌ها از لحاظ انرژی و پروتئین یکسان بودند. جیره‌ها به صورت کاملاً مخلوط و روزانه در دو نوبت یعنی ساعت ۸ و ۱۶ به گوساله‌ها عرضه می‌شد. روغن ماهی مورد استفاده از کارخانهٔ پودر ماهی واقع در شمال کشور و از ماهی کیلکا تهیه شد. ترکیب اسیدهای چرب روغن ماهی در جدول ۲ آمده است.

اندازه‌گیری خوراک مصرفی و تغییرات وزن بدن

خوراک مصرفی به‌صورت انفرادی و روزانه برای گوساله‌ها ثبت و باقی‌ماندهٔ خوراک قبلی هم هر روز قبل از ریختن خوراک جمع‌آوری و توزین می‌شد. برای تعیین تغییرات وزن بدن گوساله‌ها، وزن‌کشی آن‌ها هر ماه یک بار پس از ۱۶ ساعت گرسنگی و قبل از وعدهٔ تغذیهٔ صبح، با استفاده از باسکول دیجیتالی ایستگاه انجام می‌گرفت و در پایان افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی محاسبه می‌شد.

کشتار گوساله‌ها و اندازه‌گیری صفات مربوط به خصوصیات لاشه

پس از اتمام آزمایش (۹۰ روز) تمام گوساله‌ها وزن‌کشی وکشتار شدند. پس از کشتار، نمونهٔ عضلهٔ چشمی در حد فاصل دندهٔ ۱۲ و ۱۳ گرفته و برای آزمایش‌های بعدی در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد.

شاخص‌های مربوط به کیفیت گوشت

اندازه‌گیری pH نمونه‌های گوشت

برای اندازه‌گیری pH، ۲۴ ساعت پس از کشتار، حدود ۱۰ گرم از نمونهٔ گوشت چرخ‌شده که از ماهیچهٔ راسته ناحیهٔ بین دندهٔ ۱۲ و ۱۳ گرفته شده بود، در ۹۰ گرم آب دیونیزه شد. سپس مخلوط آماده‌شده از کاغذ صافی (واتمن متوسط قطر ۱۵۰ میلی‌متر) عبور داده شد (Boakye & Mittal, 1993). در نهایت با استفاده از pHمتر سنترون (مدلA102-003) با سه بار تکرار اندازه‌گیری شد. میانگین تکرارها برای آنالیز استفاده شد.

اندازه‌گیری رنگ نمونه‌های گوشت با سامانهٔ هانتر

ماهیچهٔ راستهٔ بین دندهٔ ۱۲ و ۱۳، ۲۴ ساعت پس از کشتار در کیسه‌های نایلونی عایق به هوا نگهداری شد. سپس درحالی‌که نمونه‌ها تا این زمان در کیسه‌های مخصوص بسته‌بندی گوشت و در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داشت آزمایش بررسی کیفیت رنگ با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج انجام گرفت. نمونه‌برداری به صورت برش عرضی عمود بر محور طولی ماهیچه صورت گرفت. ضخامت نمونه‌ها ۲/۵ سانتی‌متر بود. هر نمونه با سه بار تکرار مورد آزمایش قرار گرفت و میانگین مقادیر برای آنالیز آماری استفاده شد. قبل از استفاده از دستگاه هانتر کالیبراسیون براساس استاندارد رنگ سیاه L=۰ و استاندارد رنگ سفید (ارزیابی برحسب BaSo4 یا Mg0 تازه سوخته‌شده) L=۱۰۰ صورت گرفت.

1. E- Selenium
2. National research concil

جدول ۱. مواد خوراکی جیره‌ها و ترکیب شیمیایی آن‌ها (درصد مادهٔ خشک)

	سطوح روغن ماهی (درصد مادهٔ خشک)					
	۰		۱		۲/۱	
	سطوح علوفهٔ خشک و خردشدهٔ یونجه (درصد مادهٔ خشک)					
	۱۰	۲۰	۱۰	۲۰	۱۰	۲۰
یونجهٔ خشک (درصد)	۱۰	۲۰	۱۰	۲۰	۱۰	۲۰
ذرت سیلوشده (درصد)	۲۰	۱۰	۲۰	۱۰	۲۰	۱۰
جو (درصد)	۴۱	۴۱	۴۱	۴۱	۴۱	۴۱
گندم (درصد)	۲	۵	۱	۳	۰/۵	۰/۵
کنجالهٔ سویا (درصد)	۲	۲	۲	۲	۲	۲
کنجالهٔ کلزا (درصد)	۱۲	۱۰	۱۳	۱۰	۱۴	۱۱
تفالهٔ چغندر (درصد)	۵	۵	۵	۵	۵	۵
سبوس (درصد)	۵	۴	۴	۵	۲	۵
زئولیت (درصد)	۱	۱	۱	۱	۱	۱
کربنات کلسیم (درصد)	۰/۵	۰/۴	۰/۵۵	۰/۵	۰/۶۸	۰/۶۲
بیکربنات سدیم (درصد)	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷
مکمل معدنی و ویتامینی[1] (درصد)	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷
نمک (درصد)	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
روغن ماهی (درصد)	۰	۰	۱	۱	۲/۱	۲/۱
مادهٔ خشک (درصد)	۵۶	۵۶	۵۶	۵۶	۵۶	۵۶
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری برکیلوگرم)	۲/۶۱	۲/۶۱	۲/۶۱	۲/۶۱	۲/۶۱	۲/۶۱
پروتئین خام[2] (درصد)	۱۵/۵	۱۵/۵	۱۵/۵	۱۵/۵	۱۵/۵	۱۵/۵
EE[3] (درصد)	۳	۳	۴	۴	۵/۱	۵/۱
NDF[4] (درصد)	۳۷	۳۵	۳۷	۳۵	۳۷	۳۵

۱. کیلوگرم مکمل ویتامینی دارای ۶۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین D، ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۲۵۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان، ۱۹۵ گرم کلسیم، ۸۰ گرم فسفر، ۲۱۰۰۰ میلی‌گرم منیزیم، ۲۲۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۳۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۲۰ میلی‌گرم ید و ۱/۱ میلی‌گرم سلنیوم بود.

۲. مقادیر بر اساس نرم‌افزار NRC (1996) برآورد شده است. / ۳. Ether extract / ۴. Nautral detergent fiber

اندازه‌گیری نیروی برش یا شاخص تردی (تست برش وارنر براتسلیر)[1]

این روش ۷۲ ساعت پس از کشتار درحالی‌که نمونه‌ها در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شده بودند، انجام گرفت. در این روش از دستگاه بافت‌سنج با خصوصیات تیغهٔ زیر برای برش نمونه‌های استاندارد و اندازه‌گیری نیروی برش استفاده شد. برای برش‌دادن نمونه‌ها تیغه باید ۱/۲ میلی‌متر ضخامت داشته باشد. سرعت تیغه ۱۰۰ میلی‌متر در دقیقه رو به پایین بود.

اندازه‌گیری کلسترول گوشت

اندازه‌گیری کلسترول گوشت با روش Janssen & Meijer (1995) اجرا شد که به طور خلاصه به صورت زیر است: ۱ گرم نمونهٔ گوشت در لولهٔ آزمایش ۱۵ میلی‌لیتری قرار داده شد و ۳ میلی‌لیتر از محلول فولچ (نسبت ۲ به ۱ کلروفرم به متانول) به آن اضافه شد. لوله‌های آزمایش برای مخلوط‌شدن کامل نمونه و حلال ورتکس شدند و به لوله‌ها ۱ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و دوباره ورتکس شدند. لوله‌های آزمایش به منظور تشکیل فازهای متفاوت ۱۰ دقیقه در دور ۲۵۰۰ سانتریفیوژ شدند. ۰/۵ میلی‌لیتر از فاز زیرین به میکروتیوب‌های از پیش توزین‌شده منتقل شد و حلال به وسیلهٔ گاز نیتروژن تبخیر و وزن عصارهٔ باقیمانده در میکروتیوب‌ها محاسبه شد. معادل شش برابر وزن عصارهٔ خشک (میلی‌گرم)، مخلوط و برابر Triton-X100 و کلروفرم (میکرولیتر) به آن اضافه شد و حجم نهایی به وسیلهٔ

1. Warner Bratzler Shear force

کلروفرم به ۵۰۰ میکرولیتر رسانده شد و بعد از آن میکروتیوب‌ها ورتکس شدند. ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه به لولهٔ آزمایش دیگری منتقل و توسط گاز نیتروژن تبخیر شد و کلسترول توسط معرف آنزیمی (کیت‌های تجاری) اندازه‌گیری شد.

جدول ۲. ترکیب اسیدهای چرب روغن ماهی (درصد)

اسیدهای چرب	روغن ماهی (درصد)	چربی مگالاک (درصد)
C14:0	۶/۲	۲
C16:0	۲۲/۵	۴۸
C16:1	۷/۹	-
C18:0	۴/۸	۵
C18:1	۲۵/۸	۳۶
C18:2	۳/۶	۹
C18:3	۱/۳	-
C20:4 n-6	۰/۰۷	-
C20:5 n-3	۸/۳	-
C22:6 n-3	۱۷/۶	-

اندازه‌گیری مقدار اکسیداسیون بافت گوشت (مالون دی آلدهید (MDA))

اکسیداسیون نمونه‌های عضلهٔ چشمی به روش Esterbauer & Cheeseman (1990) اندازه‌گیری شد. ابتدا محلول‌هایی به صورت زیر تهیه شد: ۰/۰۳۷ گرم EDTA[1] با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. ۰/۲ گرم BHT[2] با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد ترکیب شد. ۳ گرم TCA[3] با ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شد. ۰/۱۳۴ گرم TBA با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای حل‌شدن سریع‌تر TBA در آب مقطر، محلول آماده‌شده ۲۰ دقیقه در حمام آب داغ ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. مقداری از نمونه (مثلاً ۱ گرم)، وزن شده و درون میکروتیوب که حاوی مقدار مشخصی آب است (مثلاً ۵ میلی‌لیتر) قرار گرفت؛ معادل حجمی که در بر می‌گیرد محاسبه شد (فرض شود که ۱ گرم نمونه باعث افزایش حجم آب از ۵ به ۶ می‌شود، بنابراین ۱ گرم نمونه معادل ۱ میلی‌لیتر است). سپس یک حجم از BHT و یک حجم از EDTA را با نمونه مخلوط و دو حجم TCA به آن افزوده شد (اگر حجم ۱ گرم از نمونه برابر ۱ میلی‌لیتر است، یک حجم گفته‌شده معادل ۱ میلی‌لیتر است). نمونه‌های آماده‌شده ۱۵ دقیقه درون سانتریفیوژ با دور ۲۰۰۰g قرار گرفت. این کار برای ته‌نشینی محتویات انجام شد چون وجود محتویات دقت کار را کاهش می‌دهد. ۱ میلی‌لیتر از قسمت مایع نمونهٔ سانتریفیوژشده با ۱ میلی‌لیتر از محلول TBA درون میکروتیوب مخلوط شد. میکروتیوب‌ها ۱۵ دقیقه در Hot plate با دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از سردشدن نمونه‌ها، ۱ میلی‌لیتر از نمونه درون کووت (سل) ریخته شد و در دستگاه اسپکتروفتومتر مقدار جذب انجام‌شده توسط نمونه‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر یادداشت شد.

استخراج چربی از نمونه‌ها

نمونه‌های عضلهٔ چشمی جهت تعیین پروفیل اسیدهای چرب در روز کشتار برداشته شد و در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌های گوشت (۱ گرم) ماهیچهٔ راسته به صورت کامل هموژن شد و چربی آن طبق روش Folch *et al.* (1957) استخراج شد. برای این کار ۱۵ میلی‌لیتر مخلوط کلروفرم و متانول (به نسبت ۲ به ۱) به محتویات بافت عضله و چربی اضافه شد، سپس ۲۴ ساعت در دمای یخچال نگهداری شد تا چربی در کلروفرم حل شود. بعد از ۲۴ ساعت، ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به لوله‌ها اضافه و به شدت تکان داده شد. بعد لوله‌ها در جا لوله‌ای قرار داده شد تا مخلوط ۳ لایه شود. سپس لایهٔ رویی تخلیه و نمونه از لوله آزمایش به دکانتور منتقل شد. سپس لایهٔ پایینی به لولهٔ آزمایش تمیز منتقل شد. در این مرحله با استفاده از گاز نیتروژن و روی هیتر، محلول تبخیر شد. بعد از اینکه محلول به ۰/۵ تا ۱ میلی‌لیتر رسید، تبخیر متوقف و محلول به یخچال منتقل شد تا بقیهٔ کلروفرم آن تبخیر شود.

متیله‌کردن اسیدهای چرب

متیله‌کردن اسیدهای چرب با استفاده از اسیدکلریدریک متانوله طبق روش Ichihara & Fukubayashi (2010) انجام شد. در ابتدا ۹/۷ میلی‌لیتر از محلول اسید کلریدریک تجاری (۳۵ درصد) با ۴۱/۵ میلی‌لیتر از متانول رقیق شد و محلول اسید کلریدریک ۸ درصد به

1. Ethylenediaminetetraacetic acid
2. Butylated hydroxytoluene
3. Trichloroacetic acid

دست آمد. متیله‌کردن طی مراحل زیر صورت گرفت: چربی استخراج‌شده از بافت‌ها در لولهٔ آزمایش (۱۰ میلی‌لیتری) قرار داده شد و در مرحلهٔ بعد ۱ میلی‌لیتر تولوئن به آن اضافه شد. برای حل‌شدن بهتر چربی، ۷/۵ میلی‌لیتر متانول و ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول سنتزشدهٔ اسید کلریدریک (۸ درصد) به لوله‌ها اضافه شد. بعد از ورتکس‌کردن لوله‌ها به منظور متیله‌شدن ملایم اسیدهای چرب، آن‌ها ۱۴ ساعت در حمام آب گرم (۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد) قرار گرفتند. بعد از سردشدن لوله‌ها (در دمای اتاق)، ۵ میلی‌لیتر هگزان به همراه ۵ میلی‌لیتر آب برای استخراج استر اسیدهای چرب متیله‌شده به لوله‌ها اضافه و پس از آن سولفات سدیم به منظور حذف آب از محیط لوله‌ها به آن افزوده شد. بعد از ورتکس نهایی لوله‌ها، لایهٔ بالایی (برای آنالیز اسیدهای چرب) به میکروتیوب (۱/۵ میلی‌لیتر) منتقل شد.

ستون دستگاه کروماتوگرافی از نوع مویرگی محصول شرکت واریان[1] کانادا و به طول ۱۰۰ متر، سطح مقطع ۰/۲ میکرومتر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر (CP Sil-88; Varian, Mississauga, Ontario) و دتکتور[2] آن از نوع یونیزاسیون شعله‌ای بود. نسبت تزریق ۱ به ۲۰ و نرخ جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه تنظیم شد. گاز نیتروژن نیز به عنوان گاز حامل آن انتخاب شد. مقدار تزریق نمونه ۱ میکرولیتر بود. برنامهٔ دمایی ستون به این صورت تنظیم شد که دمای اولیهٔ ستون ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد بود و ۴ دقیقه ثابت ماند، سپس دما با سرعت ۱۰ درجه در دقیقه به ۱۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد افزایش یافت که مدت توقف در این دما ۱۰ دقیقه بود. در مرحلهٔ بعد، دما از ۱۷۰ به ۲۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد افزایش یافت که سرعت افزایش آن ۵ درجهٔ سانتی‌گراد در دقیقه بود و ۴ دقیقه در این دما ثابت ماند. در انتها دمای ستون با سرعت ۱ درجهٔ سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد افزایش یافت که مدت توقف در این دما ۱۰ دقیقه بود. دمای قسمت‌های تزریق و دتکتور به ترتیب در ۲۲۵ و ۲۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد تنظیم شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیهٔ آماری داده‌های حاصل از این آزمایش با روش فاکتوریل (۳×۲) و در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS و رویهٔ MIXED انجام گرفت. اثر حیوان به عنوان اثر تصادفی و اثر سطوح مختلف مکمل روغن ماهی در جیره، نسبت مختلف علوفهٔ خشک یونجه در جیره و اثر متقابل آن‌ها به عنوان اثر ثابت در نظر گرفته شدند. معادلهٔ مدل آماری زیر مورد استفاده قرار گرفت:

$$y_{ijk}= \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + bBW_{ijk} + e_{ij}$$

که در آن: y_{ijk}: مقدار هر مشاهده، μ: میانگین کل، A_i: اثر سطوح روغن ماهی، B_j: اثر نسبت علوفه (یونجه به ذرت سیلوشده)، AB_{ij}: اثر متقابل روغن ماهی و نسبت علوفه، BW: وزن دام به عنوان عامل کوواریت برای عملکرد و خوراک مصرفی و e_{ij}: اثر خطای آزمایشی است.

نتایج و بحث

عملکرد

در بین تیمارها، تفاوت معناداری در نتیجهٔ اثر متقابل بین نسبت علوفهٔ یونجه و روغن ماهی برای مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی وجود نداشت(جدول ۳). هر چند افزایش سطح روغن ماهی در جیره صرف نظر از نسبت یونجه، خوراک مصرفی را کاهش داد (۸/۵۷، ۸/۵ و ۷/۸۹ به ترتیب برای سطح ۰، ۱ و ۲/۱ درصد روغن ماهی با (P<۰/۰۱) که این امر با گزارش Whitlock *et al.* (2002)، Wistuba *et al.* (2006) و Scollan *et al.* (2001b) هم‌خوانی دارد. Rule *et al.* (1989) گزارش کردند که جیره‌های حاوی بیش از ۸ درصد چربی به دلیل اثرات مضر چربی به‌خصوص اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه بر جمعیت میکروبی شکمبه، می‌تواند باعث کاهش مصرف خوراک شود. Nicholson & Omer (1983) پیشنهاد کردند که اسیدهای چرب بلندزنجیر باعث افزایش ترشح کوله سیستوکینین و در پی آن کاهش حرکات شکمبه می‌شود که ممکن است موجب کاهش نرخ عبور و مصرف خوراک شود. Scollan *et al.* (2001b) گزارش کردند که جیره (نسبت ۶۰ به ۴۰ علوفه و کنسانتره) حاوی ۶ درصد چربی که ۲ درصد آن از روغن ماهی بود، باعث کاهش مصرف مادهٔ خشک در گاو نشد. هرچند

1. Varian
2. Detector

Whitlock *et al.* (2002) با افزودن ۲ درصد روغن ماهی به جیرهٔ گاو شیری، کاهش در مصرف خوراک را مشاهده کردند. همچنین Wonsil *et al.* (1994) با افزودن ۱/۵ درصد روغن ماهی و ۱/۵ درصد اسید استئاریک به جیرهٔ گاو شیری باعث کاهش مصرف خوراک شدند. از طرفی سطح بالای یونجهٔ خشک (۲۰ درصد) صرف نظر از سطوح روغن ماهی، باعث کاهش مصرف خوراک شد (۷/۹۶ و ۸/۶۸ به ترتیب برای سطح ۲۰ و ۱۰ درصد یونجه با P<۰/۰۱). Kowsar *et al.* (2008) نیز خوراک مصرفی بیشتری را با جایگزینی ذرت سیلوشده در جیرهٔ گاوهای شیری گزارش کردند. آن‌ها علت این امر را خوش‌خوراکی و قابلیت بهتر ذرت سیلوشده در ایجاد جیرهٔ کاملاً مخلوط با یکنواختی بیشتر و در پی آن پذیرش بهتر آن از سوی دام دانستند. Onetti *et al.* (2002) در هنگام تغذیهٔ گاو شیری با جیرهٔ حاوی پیه، با جایگزین‌کردن ذرت سیلوشده با سیلوی یونجه، هیچ افزایشی در مصرف خوراک مشاهده نکردند. Onetti *et al.* (2004) با جایگزین‌کردن ذرت سیلوشده با یونجهٔ خشک خردشده، توانستند از کاهش مصرف خوراک حاوی روغن پیه جلوگیری کنند. Chalupa *et al.* (1984) آزادشدن کلسیم در اثر تخمیر یونجه در شکمبه و تشکیل صابون‌های نامحلول با اسیدهای چرب بلندزنجیر و در پی آن کاهش تأثیرات مضر این اسیدهای چرب بر جمعیت میکروبی شکمبه را دلیلی بر بهبود مصرف خوراک با جایگزینی یونجه دانستند. هرچند Palmquist *et al.* (1986) هیچ اثر صابونی‌شدن قابل اندازه‌گیری در شکمبه از طریق تأمین کلسیم با اکسید کلسیم و سنگ آهک مشاهده نکردند. در مطالعهٔ حاضر افزایش مصرف خوراک با جیرهٔ حاوی ذرت سیلوشدهٔ بیشتر ممکن است به دلیل خوش‌خوراکی و پذیرش بهتر ذرت سیلوشده توسط گوساله باشد. در مورد افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی، نتایج ما با نتایج Scollan *et al.* (2001b) و Wistuba *et al.* (2006) که هیچ اثر منفی از افزودن روغن ماهی به جیره مشاهده نکردند، هم‌خوانی دارد. Nicholson *et al.* (1992) کاهش‌نیافتن افزایش وزن روزانه در نتیجهٔ کاهش مصرف خوراک را به علت افزایش بازده استفاده از مواد مغذی جذب‌شده با مکمل‌کردن پودر ماهی در جیره دانستند. در بین تیمارها، تفاوتی در ضریب تبدیل غذایی دیده نشد، هرچند سطح بالای روغن ماهی از لحاظ عددی ضریب تبدیل بهتری را نشان داد. این امر می‌تواند به دلیل کاهش مصرف خوراک در سطح بالای روغن ماهی و از طرفی بهبود قابلیت هضم و جذب در اثر استفاده از روغن ماهی باشد.

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین عملکرد تیمارهای آزمایشی

	سطوح روغن ماهی (درصد)									
	۰		۱		۲/۱					
	سطوح علوفهٔ خشک یونجه در جیره (درصد)						SEM[1]	سطح معناداری		
	۱۰	۲۰	۱۰	۲۰	۱۰	۲۰		روغن	علوفه	اثر متقابل
وزن اولیه (کیلوگرم)	۳۴۸	۳۴۲	۳۴۱	۳۴۱	۳۶۱	۳۳۸	۲۹	۰/۹۷	۰/۶۹	۰/۹۱
وزن نهایی (کیلوگرم)	۴۴۸	۴۴۳	۴۴۳	۴۴۳	۴۶۹	۴۲۷	۲۸	۰/۹۹	۰/۵۱	۰/۷۳
افزایش وزن (کیلوگرم)	۱/۱۱	۱/۱۵	۱/۱۵	۱/۱۴	۱/۲۰	۱/۰۹	۰/۰۷	۰/۹۷	۰/۶۶	۰/۵۸
مصرف خوراک (کیلوگرم)	۹/۰۴	۸/۱۴	۸/۶۹	۸/۳۲	۸/۳۴	۷/۵۰	۰/۲۲	۰/۰۱	۰/۰۰۰۷	۰/۳۵
ضریب تبدیل خوراک مصرفی	۸/۷۲	۷/۶۲	۸/۳۲	۷/۵۸	۷/۲۸	۷/۰۶	۰/۴۸	۰/۱۱	۰/۰۹	۰/۶۸

۱- Standard error of means

کیفیت گوشت

هیچ‌یک از شاخص‌های کیفیت گوشت به جز اکسیداسیون گوشت تحت تأثیر اثرات متقابل سطوح روغن ماهی و نسبت علوفه قرار نگرفتند (جدول ۴). افزایش سطح روغن ماهی باعث افزایش معناداری در کلسترول موجود در گوشت شد به طوری که سطوح ۰، ۱ و ۲/۱ درصد آن به ترتیب کلسترول ۲۴/۹۸، ۳۴/۸۰ و ۵۳/۰۴ را باعث شده است (P<۰/۰۱). اکسیداسیون گوشت نیز با افزایش سطح

روغن ماهی به صورت معناداری افزایش یافت (۰/۱۴، ۰/۳۸ و ۱/۰۲ به ترتیب برای سطوح ۰، ۱ و ۲/۱ درصد روغن ماهی با P<۰/۰۱). تیمار با سطح بالای روغن ماهی و ۲۰ درصد ذرت سیلوشده اکسیداسیون بالایی را در گوشت در مقایسه با بقیهٔ تیمارها نشان داد. همچنین سطوح روغن ماهی و نسبت علوفه به‌طور جداگانه اثری بر pH گوشت ۲۴ ساعت پس از کشتار، نیروی برش، روشنایی، قرمزی، زردی، Hue angle و chroma value نداشتند.

جدول ۴. مقایسهٔ میانگین شاخص‌های کیفیت گوشت تیمارهای آزمایشی

	سطوح روغن ماهی (درصد)									
	۰		۱		۲/۱					
	سطوح علوفهٔ خشک یونجه (درصد)								سطح معناداری	
	۱۰	۲۰	۱۰	۲۰	۱۰	۲۰	SEM[1]	روغن	علوفه	اثر متقابل
کلسترول (mg/100g)	۲۵/۲۶	۲۴/۷۱	۳۱/۸۶	۳۷/۷۴	۵۸/۳۰	۴۷/۷۷	۶/۲۷	۰/۰۰۲	۰/۷۴	۰/۴۴
اکسیداسیون گوشت (µg/g)	۰/۱۴[b]	۰/۱۳[b]	۰/۳۵[b]	۰/۴۰[b]	۱/۳۶[a]	۰/۶۸[b]	۰/۱۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۹	۰/۰۴
pH گوشت	۵/۸۹	۵/۴۹	۵/۵۵	۵/۳۷	۵/۴۸	۵/۵۶	۰/۱۱	۰/۱۵	۰/۱۰	۰/۱۵
نیروی برش (کیلوگرم)	۴/۲۶	۳/۸	۲/۶۲	۴/۴۶	۴/۱۳	۴/۲۹	۰/۶۴	۰/۵۷	۰/۳۴	۰/۲۱
شاخص روشنایی (L)	۳۶/۶۷	۳۷/۸۵	۳۹/۶۰	۳۷/۹۳	۳۸/۰۵	۳۹/۲۳	۳/۵۹	۰/۸۹	۰/۹۳	۰/۹۰
شاخص قرمزی (a)	۱۲/۸۷	۱۱/۷۹	۱۲/۲۵	۱۲/۵۱	۱۲/۴۳	۱۲/۳۴	۰/۵۹	۰/۹۹	۰/۵۳	۰/۵۱
شاخص زردی (b)	۳/۹۱	۴/۰۱	۵/۶۶	۴/۰۶	۳/۸۷	۴/۰۷	۰/۶۹	۰/۳۵	۰/۴۵	۰/۳۶
Hue angle	۱۶/۶۳	۱۸/۶۰	۲۴/۸۰	۱۸/۰۴	۱۷/۳۷	۱۷/۶۸	۲/۷۱	۰/۲۸	۰/۵۰	۰/۲۵
Chroma value	۱۳/۴۸	۱۲/۴۶	۱۳/۵۱	۱۳/۱۵	۱۳/۰۳	۱۳/۲۰	۰/۶۶	۰/۸۵	۰/۴۶	۰/۶۷

۱. Standard error of means

Wistuba *et al.* (2006) با افزودن روغن ماهی به جیرهٔ گوساله‌های پرواری هیچ اثری بر رنگ و نیروی برش گوشت مشاهده نکردند. همچنین این فاکتورها به همراه pH گوشت در مطالعهٔ Kook *et al.* (2002) با افزودن روغن ماهی به جیرهٔ گوساله‌های کره‌ای تحت تأثیر قرار نگرفتند. این نتایج با نتایج Mach *et al.* (2006) که دو نوع روغن بزرک و آفتابگردان را در جیرهٔ گوساله‌های هلشتاین استفاده کردند و Scollan *et al.* (2001b) که چربی مگالاک (غنی از اسید پالمتیک)، روغن بزرک و ماهی را با هم مقایسه کردند، در تطابق است. در مطالعهٔ حاضر مقدار کلسترول بیشتر پلاسما در تیمارهای دریافت‌کنندهٔ سطح بالای روغن ماهی می‌تواند افزایش کلسترول گوشت را از طریق افزایش سطح روغن ماهی در جیره توجیه کند (کلسترول پلاسمایی ۸۲/۰۹، ۱۰۵/۴۳ و ۱۴۶/۱۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به ترتیب برای سطوح ۰، ۱ و ۲/۱ درصد روغن ماهی با P<۰/۰۱). در مطالعهٔ Haak *et al.* (2008) اکسیداسیون چربی در خوک‌های تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی روغن ماهی تفاوت معناداری با تیمار شاهد نشان نداد. افزایش غلظت اسیدهای چرب غیراشباع در گوشت با مکمل‌سازی روغن ماهی (جدول ۵) می‌تواند قرارگیری بیشتر در معرض اکسیداسیون و در پی آن غلظت بیشتر مالون دی آلدئید در تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح بالای روغن ماهی را توجیه کند؛ هرچند سطح بالای ذرت سیلوشده اثری بر غلظت اسیدهای چرب گوشت نداشت و افزایش اکسیداسیون در سطح بالای روغن ماهی و ذرت سیلوشده ممکن است به دلیل غلظت تغییریافتهٔ اسیدهای چربی غیر از اسیدهای چرب سنتزشده باشد. Saleh *et al.* (2010) با افزودن روغن ماهی به جیرهٔ جوجه‌های گوشتی شاهد افزایش اکسیداسیون در ماهیچهٔ سینه و ران جوجه‌ها بودند.

ترکیب اسیدهای چرب چربی داخل ماهیچه‌ای عضلهٔ چشمی

در مطالعهٔ حاضر ترکیب اسیدهای چرب چربی داخل ماهیچه‌ای تحت تأثیر اثر متقابل سطوح روغن ماهی و

نسبت علوفه در جیره قرار نگرفت (جدول ۵). افزایش سطح روغن ماهی در جیره باعث ایجاد غلظت (گرم اسید چرب بر ۱۰۰ گرم از کل اسیدهای چرب) بیشتری از اسیدهای چرب اشباع شامل c۱۶:۰ (P<۰/۰۱) و c۲۴:۰ (P<۰/۰۱) در عضلهٔ چشمی، صرف نظر از نسبت علوفه در جیره شده است. افزایش مقدار c۱۶:۰ به دلیل اثرات افزایندگی چربی و کلسترول آن در صنعت گوشت ناخواسته است (Lough *et al*., 1992). غلظت اسید لینولنیک تحت تأثیر افزایش سطح روغن ماهی در جیره افزایش یافت (P<۰/۰۱). Rule *et al*. (1989) افزایش c۱۸:۱ و c۱۸:۰ را در گوشت به دلیل تأثیرات کاهندگی کلسترول آن‌ها در انسان، برای صنعت گوشت مفید دانستند. مکمل‌کردن روغن ماهی همچنین باعث افزایش درصد اسیدهای چرب c۲۰:۱ (P<۰/۰۱)، c۲۰:۲ (P<۰/۰۱) و c۲۰:۴ (P< ۰/۰۱) در چربی عضلهٔ چشمی شد. مکمل‌کردن روغن ماهی به جیره باعث افزایش معناداری در میزان نسبی اسید ایکوزاپنتانوئیک و اسید دکوزاهگزائنوئیک چربی عضلهٔ چشمی شده است (P<۰/۰۱). در مطالعهٔ Scollan *et al*. (2001a) غلظت c۱۴:۰ و c۱۶:۰ در عضلهٔ چشمی تحت تأثیر قرار نگرفت ولی غلظت c۲۴:۰ افزایش یافت. کاهش درصد اسید چرب لینولئیک در مطالعهٔ حاضر با مطالعهٔ Scollan *et al*. (2001a) و همچنین Wistuba *et al*. (2006) مطابقت دارد ولی افزایش غلظت اسید لینولنیک در این مطالعه بر خلاف مطالعهٔ Scollan *et al*. (2001a) است؛ هرچند با Wistuba *et al*. (2006) مطابقت دارد. میزان نسبی اسیدهای چرب c۲۰:۲، c۲۰:۳ و c۲۰:۴ در مطالعهٔ Wistuba *et al*. (2006) افزایش یافت و این افزایش در مورد c۲۰:۴ در مطالعهٔ Scollan *et al*. (2001a) نیز گزارش شد. Ponnampalam *et al*. (2001) هیچ اثری از تغذیهٔ پودر و روغن ماهی بر نسبت 20:4 در عضلهٔ گوسفند مشاهده نکردند. در مطالعهٔ Ashes *et al*. (1992) مکمل‌کردن روغن ماهی بر مقدار (c ۲۰:۴n-6) در فسفولیپید پلاسما و عضله اثری نداشت که آن‌ها علت این امر را فعالیت کافی آنزیم دلتا-۶ اشباع‌زدا[1] دانستند. افزایش در مقدار اسید ایکوزاپنتانوئیک و اسید دکوزاهگزائنوئیک در مطالعهٔ حاضر با نتایج Scollan *et al*. (2001a) و Mandell *et al*. (1997) هم‌خوانی دارد. تغییرات ذکرشده در درصد نسبی اسیدهای چرب فوق باعث افزایش کل اسیدهای چرب اشباع (SFA) و کاهش کل اسیدهای چرب غیراشباع (UFA) شد، هر چند که از لحاظ آماری معنادار نبود. افزایش غلظت اسیدهای چرب n-3 (P<۰/۰۱) باعث کاهش معنادار نسبت اسیدهای چرب n-6 به n-3 شد (P<۰/۰۱) که با مطالعهٔ Mandell *et al*. (1997) هم‌خوانی دارد. جایگزینی اسیدهای چرب n-3 (18:3، 20:5 و 22:6) در گوشت با کاهش نسبت اسیدهای چرب n-6 به n-3 باعث افزایش ارزش غذایی گوشت می‌شود (از ۱۰- ۱:۱۲ تا ۳-۱:۴) (Kris-Etherton *et al*., 2000). اسیدهای چرب n-3 موجود در روغن ماهی و پودر ماهی باعث مهار تولید اسید آراشیدونیک از اسید لینولئیک می‌شود، Ratnayake *et al*. (2006) و Morgan *et al*. (1992) این فرضیه را ارائه داد که اسیدهای چرب n-3 با اسید آراشیدونیک بر سر جایگزینی در فسفولیپیدها رقابت می‌کنند. افزایش سطح روغن ماهی در جیره باعث افزایش معنادار غلظت سیس-۹ ترانس-۱۱ (P<۰/۰۱) و واسینیک اسید (P<۰/۰۱) شد. روغن‌های دریایی در مقایسه با روغن‌های گیاهی با وجود داشتن مقدار کم اسید لینولئیک و لینولنیک (کمتر از ۶ درصد از کل اسیدهای چرب) در مقدار مساوی (AbuGhazaleh *et al*., 2002; Qiu *et al*., 2004)، به طور مشابه یا گاهی اوقات به طور مؤثرتری باعث افزایش غلظت واسینیک اسید و سیس-۹ ترانس-۱۱ CLA شیر می‌شوند. Demirel *et al*. (2004) با افزودن مخلوط روغن ماهی و بزرک، افزایش CLA بیشتری را در مقایسه با روغن بزرک به‌تنهایی مشاهده کردند. مقدار پیش‌سازهای CLA (اسید لینولئیک و لینولنیک) در روغن ماهی ناچیز است و گمان می‌رود اسیدهای چرب بلندزنجیر n-3 موجود در روغن ماهی باعث تأثیر بر بیوهیدروژناسیون اسید لینولئیک و لینولنیک یا تأثیر بر آنزیم دلتا-۹ اشباع‌زدا شوند، چون مقدار بیوهیدروژناسیون و ایزومراسیون این اسیدهای چرب در شکمبه محدود است و این اسیدهای چرب به‌راحتی می‌توانند اثر خود را چه در شکمبه و چه در بافت‌های بدن اعمال کنند (Raes *et al*., 2004).

1. Delta-6 desaturase

جدول ۵. مقایسهٔ میانگین غلظت اسیدهای چرب عضلهٔ چشمی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی (درصد)

		سطوح روغن ماهی (درصد)								
		۰		۱		۲/۱				
		سطوح علوفهٔ خشک یونجه (درصد)							سطح معناداری	
		۱۰	۲۰	۱۰	۲۰	۱۰	۲۰	SEM[1]	روغن	علوفه	اثر متقابل
	c۱۰:۰	۰/۹۶	۱/۴۱	۰/۸۰	۱/۰۶	۰/۶۵	۰/۵۶	۰/۳۱	۰/۲۴	۰/۴۴	۰/۷۰
	c۱۲:۰	۰/۵۰	۰/۱۸	۰/۲۸	۰/۳۵	۰/۳۷	۰/۳۳	۰/۱۵	۰/۹۷	۰/۴۵	۰/۴۹
	c۱۴:۰	۳/۴۹	۳/۸۳	۴/۰۶	۳/۲۱	۳/۴۴	۳/۴۸	۰/۲۳	۰/۶۶	۰/۴۵	۰/۰۷
	c۱۴:۱	۰/۷۳	۰/۸۱	۰/۵۹	۰/۷۰	۰/۵۴	۰/۵۷	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۳۳	۰/۸۵
	c۱۶:۰	۲۴/۶۷	۲۵/۱۱	۲۷/۴۶	۲۶/۱۶	۲۷/۵۹	۲۷/۵۵	۰/۵۱	۰/۰۰۱	۰/۵۰	۰/۲۸
	c۱۶:۱	۳/۶۷	۳/۷۴	۳/۱۳	۳/۹۷	۳/۲۰	۳/۳۷	۰/۴۲	۰/۶۵	۰/۳۴	۰/۶۵
	c۱۷:۰	۱/۳۳	۱/۵۸	۱/۱۶	۱/۲۹	۱/۱۶	۱/۰۸	۰/۱۲	۰/۰۸	۰/۳۶	۰/۴۹
	c۱۷:۱	۰/۵۳	۰/۳۳	۰/۳۴	۰/۴۱	۰/۳۹	۰/۳۵	۰/۱۴	۰/۸۴	۰/۶۹	۰/۶۵
	c۱۸:۰	۱۷/۴۶	۱۷/۹۳	۱۶/۸۴	۱۵/۹۸	۱۶/۲۷	۱۶/۵۰	۰/۵۰	۰/۰۵	۰/۹۰	۰/۴۳
c۱۸:۱	trans-11	۱/۳۲	۱/۲۵	۱/۶۳	۱/۶۲	۲/۱۴	۲/۰۰	۰/۱۰	۰/۰۰۰۱	۰/۴۰	۰/۸۴
c۱۸:۱	cis-9	۳۹/۴۲	۳۶/۸۳	۳۷/۱۲	۳۷/۹۵	۳۷/۲۰	۳۷/۱۲	۰/۸۵	۰/۵۸	۰/۴۱	۰/۲۰
c۱۸:۲	cis-9, trans-11	۰/۱۵	۰/۱۷	۰/۲۳	۰/۲۲	۰/۲۸	۰/۲۷	۰/۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۷۷	۰/۶۲
	c۱۸:۲	۳/۳۷	۴/۱۸	۳/۱۱	۴/۱۵	۳/۰۰	۳/۱۷	۰/۳۸	۰/۲۵	۰/۰۵	۰/۵۱
	c۲۰:۰	۰/۲۳	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۱۷	۰/۲۰	۰/۱۶	۰/۰۳	۰/۶۲	۰/۳۰	۰/۹۶
	c۱۸:۳	۰/۲۳	۰/۲۲	۰/۳۱	۰/۲۹	۰/۳۷	۰/۳۸	۰/۲۱	۰/۰۰۰۱	۰/۷۲	۰/۸۱
	c۲۰:۱	۰/۲۳	۰/۲۲	۰/۲۵	۰/۲۳	۰/۴۰	۰/۳۵	۰/۰۳	۰/۰۰۱	۰/۴۰	۰/۸۵
	c۲۰:۲	۰/۴۲	۰/۴۵	۰/۶۴	۰/۶۱	۰/۷۹	۰/۸۱	۰/۰۵	۰/۰۰۰۴	۰/۸۷	۰/۸۸
	c۲۰:۳	۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۰۹	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۰۲	۰/۱۸	۰/۹۶	۰/۷۶
	c۲۰:۴	۰/۲۴	۰/۲۵	۰/۳۲	۰/۳۱	۰/۳۸	۰/۴۴	۰/۰۲	۰/۰۰۰۷	۰/۴۳	۰/۴۹
	c۲۲:۰	۰/۱۳	۰/۱۸	۰/۱۱	۰/۱۴	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۲	۰/۱۱	۰/۲۴	۰/۶۹
	c۲۲:۱	۰/۵۲	۰/۷۱	۰/۶۲	۰/۳۷	۰/۴۲	۰/۴۱	۰/۱۷	۰/۵۶	۰/۸۶	۰/۵۰
	c۲۴:۰	۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۲۶	۰/۲۰	۰/۰۲	۰/۰۰۰۲	۰/۴۶	۰/۳۴
	c۲۴:۱	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۱۱	۰/۱۰	۰/۰۵	۰/۰۷	۰/۰۳	۰/۵۱	۰/۸۰	۰/۸۶
	c۲۰:۵	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۱۲	۰/۱۳	۰/۲۷	۰/۲۱	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱	۰/۴۶	۰/۲۰
	c۲۲:۶	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۲۵	۰/۲۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۰۲	۰/۰۰۰۱	۰/۹۱	۰/۹۲
	SFA	۴۸/۸۷	۵۰/۵۳	۵۱/۰۶	۴۸/۵۲	۵۰/۰۷	۴۹/۹۹	۰/۸۴	۰/۹۲	۰/۶۵	۰/۰۸
	MUFA	۴۶/۵۴	۴۳/۴۳	۴۳/۸۳	۴۵/۳۸	۴۴/۳۷	۴۴/۲۸	۰/۸۷	۰/۵۹	۰/۶۳	۰/۱۲
	PUFA	۴/۵۷	۵/۴۷	۵/۱۰	۶/۰۸	۵/۵۴	۵/۷۲	۰/۴۰	۰/۲۱	۰/۰۶	۰/۵۶
	UFA	۵۱/۱۲	۴۹/۴۶	۴۸/۹۳	۵۱/۴۷	۴۹/۹۲	۵۰/۰۰	۰/۸۱	۰/۹۲	۰/۶۵	۰/۰۸
	P/S	۰/۰۹	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۲	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۰۰۸	۰/۳۶	۰/۰۶	۰/۴۴
	n-6[2]	۳/۷۳	۴/۵۶	۳/۵۳	۴/۵۵	۳/۴۶	۳/۶۹	۰/۳۸	۰/۳۳	۰/۰۵	۰/۵۷
	n-3[3]	۰/۲۶	۰/۲۷	۰/۶۹	۰/۶۸	۰/۹۹	۰/۹۳	۰/۰۴	۰/۰۰۰۱	۰/۶۱	۰/۷۶
	n-6/n-3	۱۴/۸۹	۱۶/۷۸	۵/۱۶	۶/۷۲	۳/۴۹	۳/۹۷	۱/۲۸	۰/۰۰۰۱	۰/۲۴	۰/۸۵

۱. Standard error of means / ۲. اسیدهای چرب n-3 شامل c۱۸:۳، c۲۰:۵ و c۲۲:۶. / ۳. اسیدهای چرب n-6 شامل c۱۸:۲، c۲۰:۳ و c۲۰:۴.

AbuGhazaleh *et al.* (2002) پیشنهاد دادند که روغن ماهی به‌عنوان اصلاح‌کنندهٔ بیوهیدروژناسیون در شکمبه در جهت افزایش تولید واسینیک اسید عمل می‌کند. AbuGhazaleh & Jenkins (2004) نشان دادند که اثر تحریک‌کنندگی روغن ماهی بر تولید سیس-۹ ترانس-CLA۱۱، به سبب اثر مهارکنندگی اسید دکوهگزائنوئیک (اسید چرب غالب در روغن ماهی) بر احیای اسید واسینیک به c18:0 است. اگرچه مکانیسم این عمل

نامشخص است، فرضیهٔ آن‌ها اثر مهاری اسید دکوزاهگزائنوئیک روی باکتری‌ها یا آنزیم‌های مسئول در آخرین مرحله از بیوهیدروژناسیون (تبدیل واسینیک اسید به c18:0) است. Chow *et al.* (2004) نیز گزارش کردند که روغن ماهی با مهار آخرین مرحله از بیوهیدروژناسیون باعث انباشتگی اسید واسینیک در شکمبه می‌شود که این امر باعث فراهم‌کردن مادهٔ اولیهٔ بیشتری برای ساختن آندوژنوسی CLA می‌شود. غلظت CLA و اسید واسینیک تحت تأثیر نسبت علوفهٔ خشک یونجه در جیره قرار نگرفت. در مطالعهٔ آن‌ها گاوهای مصرف‌کنندهٔ جیرهٔ حاوی سیلوی ذرت و ۲ درصد پیه، مقدار بیشتری از اسیدهای چرب c18:1 و ایزومرهای سیس-۹ ترانس-۱۱ و ترانس-۱۰ سیس-۱۲ را در چربی شیرشان در مقایسه با گاوهای مصرف‌کنندهٔ جیره‌های حاوی ذرت سیلوشده و بدون پیه نشان دادند. همچنین جایگزین‌کردن ذرت سیلوشده با یونجه باعث افزایش غلظت c18:0، c18:2 و c18:3 در چربی شیر شد، در حالی که بر میزان سیس-۹ ترانس-۱۱ هیچ اثری نداشت و حتی باعث کاهش نسبت ترانس-۱۰سیس-۱۲ نیز شد. در مطالعهٔ حاضر تأثیرنپذیرفتن غلظت اسیدهای چرب از نسبت علوفهٔ خشک یونجه می‌تواند به دلیل درصد کمتر علوفه در جیره و همچنین مصرف کمتر خوراک در مقایسه با گاو شیری باشد.

نتیجه‌گیری

سطح بالای مصرف روغن ماهی در مطالعهٔ حاضر صرف نظر از نوع علوفهٔ جیره، اگر چه باعث کاهش مصرف خوراک شد ولی بر افزایش وزن روزانه تأثیرگذار نبود و در نتیجه باعث ضریب تبدیل غذایی بهتر از لحاظ عددی در سطح بالای مصرف روغن ماهی شد. به‌علاوه روغن ماهی باعث کاهش نسبت اسیدهای چرب n-6 به n-3 از طریق افزایش غلظت اسیدهای چرب n-3 و همچنین افزایش میزان CLA و واسینیک اسید در عضلهٔ چشمی شده است که از لحاظ تغذیهٔ انسانی بسیار اهمیت دارد. از طرفی افزودن روغن ماهی باعث افزایش مقدار اکسیداسیون گوشت در ۲ ماه پس از کشتار شد که نشان‌دهندهٔ نیازمندی به راهکارهایی جهت محافظت گوشت پس از کشتار و هنگام ذخیره‌سازی است. بنا بر این افزودن روغن ماهی می‌تواند بدون اثر منفی بر تولید، در جهت افزایش ارزش غذایی تولیدات نشخوارکنندگان با به‌کارگیری تدابیری برای کاهش اکسیداسیون گوشت استفاده شود. اگرچه نسبت‌های مختلف علوفه‌ها نتوانست اثر معناداری بر بیوهیدروژناسیون شکمبه‌ای اسیدهای چرب و در پی آن غلظت اسیدهای چرب گوشت داشته باشد ولی با توجه به مصرف خوراک بیشتر در تیمارهای با سطح بالاتر ذرت سیلوشده در مقایسه با تیمارهای با سطح بالاتر علوفهٔ یونجه، ذرت سیلوشده با توجه به خوش‌خوراکی آن می‌تواند برای مصرف خوراک بیشتر هنگام افزودن روغن ماهی به جیره استفاده شود.

سپاسگزاری

از ایستگاه آموزشی و پژوهشی گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران به جهت فراهم‌آوردن امکان اجرای تحقیق حاضر تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. AbuGhazaleh, A. & Jenkins, T. (2004). Short Communication: Docosahexaenoic Acid Promotes Vaccenic Acid Accumulation in Mixed Ruminal Cultures When Incubated with Linoleic Acid. *Journal of Dairy Science*, 87, 1047-1050.
2. AbuGhazaleh, A., Schingoethe, D., Hippen, A., Kalscheur, K. & Whitlock, L. (2002). Fatty acid profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. *Journal of Dairy Science*, 85, 2266-2276.
3. Ashes, J.R., Siebert, B.D., Gulati, S.K., Cuthbertson, A.Z. & Scott, T.W. (1992). Incorporation of n-3 fatty acids of fish oil into tissue and serum lipids of ruminants. *Lipids*, 27, 629-631.
4. Beaver, D., Forbes, J. & France, J. (1993). Rumen function. *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*, 1, 187-215.
5. Boakye, K. & Mittal, G. (1993). Changes in pH and water holding properties of Longissimus dorsi muscle during beef ageing. *Meat Science*, 34, 335-349.
6. Chalupa, W., Rickabaugh, B., Kronfeld, D. & David Sklan, S. (1984). Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 67, 1439-1444.

7. Chilliard, Y., Ferlay, A. & Doreau, M. (2001). Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science*, 70, 31-48.
8. Chow, T., Fievez, V., Moloney, A., Raes, K., Demeyer, D. & Smet, S. (2004). Effect of fish oil on in vitro rumen lipolysis, apparent biohydrogenation of linoleic and linolenic acid and accumulation of biohydrogenation intermediates. *Animal Feed Science and Technology*, 117, 1-12.
9. Corl, B. A., Barbano, D. M., Bauman, D. E. & Ip, C. (2003). cis-9, trans-11 CLA derived endogenously from trans-11 18: 1 reduces cancer risk in rats. *The Journal of Nutrition*, 133, 2893-2900.
10. Council, N. R. (1996). *Nutrient requirements of beef cattle*. National Academy Press Washington, DC.
11. Demirel, G., Wood, J. & Enser, M. (2004). Conjugated linoleic acid content of the lamb muscle and liver fed different supplements. *Small Ruminant Research*, 53, 23-28.
12. Esterbauer, H. & Cheeseman, K.H. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in Enzymology*, 186, 407-421.
13. Fievez, V., Vlaeminck, B., Dhanoa, M. & Dewhurst, R.J. (2003). Use of principal component analysis to investigate the origin of heptadecenoic and conjugated linoleic acids in milk. *Journal of Dairy Science*, 86, 4047-4053.
14. Folch, J., Lees, M. & Sloane-Stanley, G. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem*, 226, 497-509.
15. Haak, L., De Smet, S., Fremaut, D., Van Walleghem, K. & Raes, K. (2008). Fatty acid profile and oxidative stability of pork as influenced by duration and time of dietary linseed or fish oil supplementation. *Journal of Animal Science*, 86, 1418-1425.
16. Ichihara, K. & Fukubayashi, Y. (2010). Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *Journal of Lipid Research*, 51, 635-640.
17. Ip, C., Singh, M., Thompson, H.J. & Scimeca, J.A. (1994). Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Research*, 54, 1212-1215.
18. Janssen, G. B. & Meijer, G. W. (1995). Enzymatic determination of lipids in liver extracts. *Clinical Biochemistry*, 28, 312.
19. Kook, K., Choi, B., Sun, S., Garcia, F. & Myung, K. (2002). Effect of fish oil supplement on growth performance, ruminal metabolism and fatty acid composition of longissimus muscle in Korean cattle. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 15, 66-71.
20. Kowsar, R., Ghorbani, G., Alikhani, M., Khorvash, M. and Nikkhah, A. 2008. Corn silage partially replacing short alfalfa hay to optimize forage use in total mixed rations for lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 91, 4755-4764.
21. Kris-Etherton, P., Taylor, D.S., Yu-Poth, S., Huth, P., Moriarty, K., Fishell, V., Hargrove, R. L., Zhao, G. & Etherton, T. D. (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 179S-188S.
22. Lock, A. L. & Bauman, D. E. (2004). Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids*, 39, 1197-1206.
23. Lough, D., Solomon, M., Rumsey, T., Elsasser, T., Slyter, L., Kahl, S. & Lynch, G. (1992). Effects of dietary canola seed and soy lecithin in high-forage diets on cholesterol content and fatty acid composition of carcass tissues of growing ram lambs. *Journal of Animal Science*, 70, 1153-1158.
24. Mach, N., Devant, M., Díaz, I., Font-Furnols, M., Oliver, M., Garcia, J. & Bach, A. (2006). Increasing the amount of n-3 fatty acid in meat from young Holstein bulls through nutrition. *Journal of Animal Science*, 84, 3039-3048.
25. Mandell, I., Buchanan-Smith, J., Holub, B. & Campbell, C. (1997). Effects of fish meal in beef cattle diets on growth performance, carcass characteristics, and fatty acid composition of longissimus muscle. *Journal of Animal Science*, 75, 910-919.
26. Morgan, C.A., Noble, R.C., Cocchi, M. & McCartney, R. (1992). Manipulation of the fatty acid composition of pig meat lipids by dietary means. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58, 357-368.
27. Nicholson, J., Charmley, E. & Bush, R. (1992). The effect of supplemental protein source on ammonia levels in rumen fluid and blood and intake of alfalfa silage by beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 72, 853-862.
28. Nicholson, T. & Omer, S.A. (1983). The inhibitory effect of intestinal infusions of unsaturated long-chain fatty acids on forestomach motility of sheep. *Br. J. Nutr*, 50, 141-149.
29. Onetti, S., Reynal, S. & Grummer, R. (2004). Effect of alfalfa forage preservation method and particle length on performance of dairy cows fed corn silage-based diets and tallow. *Journal of Dairy Science*, 87, 652-664.

30. Onetti, S., Shaver, R., Bertics, S. & Grummer, R. (2003). Influence of corn silage particle length on the performance of lactating dairy cows fed supplemental tallow. *Journal of Dairy Science*, 86(9), 2949-2957.
31. Onetti, S., Shaver, R., McGuire, M., Palmquist, D. & Grummer, R. (2002). Effect of supplemental tallow on performance of dairy cows fed diets with different corn silage: alfalfa silage ratios. *Journal of Dairy Science*, 85, 632-641.
32. Palmquist, D., Jenkins, T. & Joyner Jr, A. (1986). Effect of Dietary Fat and Calcium Source on Insoluble Soap Formation in the Rumen1. *Journal of Dairy Science*, 69, 1020-1025.
33. Peyron-Caso, E., Quignard-Boulangé, A., Laromiguière, M., Feing-Kwong-Chan, S., Véronèse, A., Ardouin, B., Slama, G. & Rizkalla, S.W. (2003). Dietary Fish Oil Increases Lipid Mobilization but Does Not Decrease Lipid Storage–Related Enzyme Activities in Adipose Tissue of Insulin-Resistant, Sucrose-Fed Rats. *The Journal of Nutrition*, 133, 2239-2243.
34. Ponnampalam, E., Sinclairt, A., Egan, A., Blakeley, S. & Leury, B. (2001). Effect of diets containing n-3 fatty acids on muscle long-chain n-3 fatty acid content in lambs fed low-and medium-quality roughage diets. *Journal of Animal Science*, 79, 698-706.
35. Qiu, X., Eastridge, M., Griswold, K. & Firkins, J. (2004). Effects of Substrate, Passage Rate, and pH in Continuous Culture on Flows of Conjugated Linoleic Acid and Trans C 18: 1. *Journal of dairy science*, 87, 3473-3479.
36. Raes, K., De Smet, S. & Demeyer, D. (2004). Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 113, 199-221.
37. Ratnayake, W., Ackman, R.G. & Hulan, H.W. (2006). Effect of redfish meal enriched diets on the taste and n-3 pufa of 42-day-old broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 49, 59-74.
38. Rule, D., WEN-HSIN, W., Busboom, J., Hinds, F. & Kercher, C. (1989). Dietary canola seeds alter the fatty acid composition of bovine subcutaneous adipose tissue. *Nutrition Reports International*, 39, 781-786.
39. Saleh, H., Rahimi, S., Torshizi, M.K. & Golian, A. (2010). Effect of Dietary Fish Oil on Oxidative Stability and Lipid Composition of Broiler Chickens Breast and Thigh Meat. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9, 2877-2882.
40. Scollan, N.D., Choi, N.-J., Kurt, E., Fisher, A.V., Enser, M. & Wood, J.D. (2001a). Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *British Journal of Nutrition*, 85, 115-124.
41. Scollan, N.D., Choi, N.J., Kurt, E., Fisher, A.V., Enser, M. & Wood, J.D. (2001b). Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *British Journal of Nutrition*, 85, 115-124.
42. Smith, W., Harris, B., Van Horn, H. & Wilcox, C. (1993). Effects of forage type on production of dairy cows supplemented with whole cottonseed, tallow, and yeast. *Journal of dairy science*, 76, 205-215.
43. Smith, W. & Harris Jr, B. (1993). The influence of type of forage on the production response of lactation dairy cows supplemented with different types of fat. *Prof. Anim. Sci*, 8, 7-21.
44. Whitlock, L., Schingoethe, D., Hippen, A., Kalscheur, K., Baer, R., Ramaswamy, N. & Kasperson, K. (2002). Fish Oil and Extruded Soybeans Fed in Combination Increase Conjugated Linoleic Acids in Milk of Dairy Cows More Than When Fed Separately1. *Journal of Dairy Science*, 85, 234-243.
45. Wistuba, T., Kegley, E. & Apple, J. (2006). Influence of fish oil in finishing diets on growth performance, carcass characteristics, and sensory evaluation of cattle. *Journal of Animal Science*, 84, 902-909.
46. Wonsil, B.J., Herbein, J.H. & Watkins, B.A. (1994). Dietary and ruminally derived trans-18: 1 fatty acids alter bovine milk lipids. *The Journal of Nutrition*, 124, 556.