

اثر اختلاف کاتیون-آنیون جیره بر تعادل اسید-باز، هموستازی کلسیم و عملکرد گاوهاشی شیری هلشتاین

علی رازقی^۱، حسن علی عربی^{۲*}، سید محمد مهدی طباطبائی^۱،
علی اصغر ساکی^۱ و پویا زمانی^۱
۱، ۲، ۳، ۴، ۵، دانشجوی کارشناسی ارشد و اعضاء هیأت علمی
دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعینی سینا، همدان
(تاریخ دریافت: ۸۸/۸/۲۷ - تاریخ تصویب: ۸۹/۳/۱۹)

چکیده

این پژوهش بر روی ۲۴ رأس گاو نزدیک زایش هلشتاین به صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۲ در قالب طرح واحدهای خرد شده در واحد زمان جهت بررسی اثر سطوح متفاوت اختلاف کاتیون-آنیون جیره‌ای پیش و پس از زایمان بر هموستازی کلسیم، تعادل اسید-باز و عملکرد شیردهی بعدی انجام گرفت. فاکتور اول، اختلاف کاتیون-آنیون پیش از زایش بود که گاوها دو جیره +۱۰۰ و -۱۰۰ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم ماده خشک را دریافت کردند. فاکتور دوم، اختلاف کاتیون-آنیون پس از زایش بود که گاوهاشی دریافت‌کننده جیره آنیونی در دو گروه جیره‌های حاوی +۲۰۰ و +۴۰۰ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم ماده خشک و به همین ترتیب گاوهاشی تغذیه شده با جیره کاتیونی، پس از زایمان در دو گروه هرکدام جیره‌های مشابهی را تا ۶۳ روز ابتدای دوره شیردهی دریافت کردند. برای کاهش اختلاف کاتیون-آنیون جیره از نمک‌های آنیونی و برای افزایش آن از بافرها استفاده شد. کاهش اختلاف کاتیون-آنیون جیره پیش از زایش و افزایش آن پس از زایش به ترتیب موجب کاهش و افزایش معنی‌دار pH خون و ادرار شد ($P<0.01$). با افزایش سطح اختلاف کاتیون-آنیون جیره در دوره شیردهی به +۴۰۰ میلی‌اکی‌والان مصرف خوراک، تولید شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی، درصد چربی شیر و کل مواد جامد شیر افزایش معنی‌داری یافتند. گاوهاشی دریافت‌کننده جیره آنیونی کلسیم خون بالاتر ($P<0.01$) در روز زایش و خوراک مصرفی بیشتری را ($P<0.01$) در هفته اول دوره شیردهی در مقایسه با گاوهاشی تغذیه شده با جیره کاتیونی داشتند. کاهش اختلاف کاتیون-آنیون جیره باعث کاهش بروز هیپوکلسیمی شد. در نتیجه، کاهش اختلاف کاتیون-آنیون جیره در اوخر آبستنی می‌تواند برای حفظ هموستازی کلسیم و بهبود سلامتی دام مفید و افزایش آن در جیره گاوهاشی اوایل شیردهی اثر مثبتی بر توان تولیدی حیوان در دوره شیردهی خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: اختلاف کاتیون-آنیون جیره، تعادل اسید-باز، عملکرد شیردهی، هیپوکلسیمی، گاو شیری.

مقدمه

سوخت و ساز مواد مغذی، تولید شیر بیشتر را در پی خواهد داشت و بدین ترتیب اختلاف کاتیون-آنیون وجودهای بالا پس از زایش، ماده خشک مصرفی (Hu et al., 2007a) و تولید شیر (Hu et al., 2007) را بهبود می‌دهد. از این‌رو با توجه به اثر Beede, 2005) بر جسته اختلاف کاتیون-آنیون جیره بر عملکرد تولیدی و سلامتی گاوهای شیری و کمبود اطلاعات درباره اثرات متقابل تغذیه جیره‌های با سطوح مختلف اختلاف کاتیون-آنیونی پیش و پس از زایش، این پژوهش در جهت یافتن بهترین سطح اختلاف کاتیون-آنیون جیره پیش از زایش در ارتباط با بهترین سطح اختلاف کاتیون-آنیون جیره‌ای در مرحله اوایل دوره شیردهی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۴ رأس گاو شیری هلشتاین در سن ۴۸ ماهگی، 20 ± 5 روز پیش از زایش تا اولین ۶۳ روز دوره شیردهی به طور تصادفی به چهارگروه مختلف تقسیم شدند. در مرحله اول یعنی دوره نزدیک به زایش، گاوهای شیری در قالب دو گروه (۱۲ رأسی)، تیمارهای کاتیونی و یا آنیونی را دریافت کردند. یک گروه جیره‌ای دریافت کرد که اختلاف کاتیون-آنیون جیره‌ای آن $+100$ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم ماده خشک جیره بود (جیره کاتیونی) و گروه دیگر جیره‌ای را دریافت کرد که اختلاف کاتیون-آنیون آن -100 میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم ماده خشک جیره بود (جیره آنیونی). جهت آنیونی کردن جیره از نمک‌های کلرید‌کلسیم، کلرید آمونیوم، سولفات‌منیزیم و سولفات‌کلسیم استفاده شد. جیره توسط نرم‌افزار NRC (2001) تنظیم شد (جدول ۱). میزان خوراک مصرفی در روزهای ۱۵، ۱۰، ۵ و ۲ پیش از زایش به صورت انفرادی ثبت شد. در مرحله دوم یعنی بلافصله پس از زایش از ۱۲ رأس گاو دریافت‌کننده جیره آنیونی پیش از زایش، ۶ رأس آن‌ها جیره حاوی $+200$ میلی‌اکی‌والان و ۶ رأس دیگر جیره حاوی $+400$ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم ماده خشک را دریافت کردند. به همین ترتیب از ۱۲ رأس گاو دریافت‌کننده جیره کاتیونی پیش از زایش، ۶ رأس با جیره حاوی $+200$ میلی‌اکی‌والان و ۶ رأس دیگر با جیره

اختلاف کاتیون-آنیون جیره بر دو سیستم فیزیولوژیکی اصلی بدن، تعادل اسید-باز و متابولیسم کلسیم تأثیر می‌گذارد که این دو مکانیسم در اغلب گاوهای شیری پرتوالید در اوایل دوره شیردهی دچار نقص می‌شوند (Sanchez, 2003) Dishington (1975) و Mongin (1981) اولین کسانی بودند که از مفهوم اختلاف کاتیون-آنیون به ترتیب در تغذیه دام و طیور استفاده کردند. اختلاف کاتیون-آنیون جیره بر تعادل اسید-باز در نشخوارکنندگان (Freedon et al., 1988)، عملکرد شیردهی (Tucker et al., 1988) و متابولیسم کلسیم در گاوهای شیری (Block, 1984; Oetzel & Barmore, 1993) مؤثر است. تغذیه جیره‌های با سطح اختلاف کاتیون-آنیون پایین در ۲۱ روز آخر آبستنی یک راهکار عملی تغذیه‌ای برای افزایش کلسیم خون و تولید شیر بیشتر پس از زایش است (Horst et al., 1997; Moore et al., 2000) و بسیاری از محققان با استفاده از نمک‌های آنیونی برای کاهش سطح اختلاف کاتیون-آنیون جیره گاوهای شیری پیش از زایش، کاهش وقوع هیپوکلسیمی را مشاهده نمودند (Dishington, 1975; Moore et al., 2000; Wu et al., 2008). pH کنترل ادرار در هفته‌های پیش از زایش ابزار مؤثری برای سنجش تأثیر افزودن آنیون‌ها به جیره است، به طوری که میزان pH ادرار ۴۸ ساعت (بالای ۸/۲۵) پیش از زایش با بروز هیپوکلسیمی در گاو شیری رابطه‌ای قوی دارد (Seifi et al., 2004). با افزایش کاربرد مفهوم اختلاف کاتیون-آنیون جیره‌ای در تغذیه گاوهای نزدیک به زایش، این توجه بر روی گاوهای شیرده نیز توسعه یافت. Tucker et al (1988) اثر اختلاف کاتیون-آنیون را بر عملکرد گاوهای شیرده بررسی کردند و نشان دادند که افزایش سطح اختلاف کاتیون-آنیون جیره به $+200$ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم خوراک باعث افزایش ۹ درصدی تولید شیر می‌گردد. طی اوایل دوره شیردهی، حیوانات شیری پرتوالید معمولاً تعادل منفی انرژی را به خاطر افزایش خروج مواد مغذی از طریق شیر و پایین بودن ماده خشک مصرفی تجربه می‌کنند. دستکاری اختلاف کاتیون-آنیون جیره با تقویت بی‌کربنات خون و تعادل اسید-باز بدن در خنثی نمودن اسید حاصل از

جدول ۱- ترکیب و اجزای جیره غذایی گاوهای شیری در دوره‌های پیش و پس از زایمان

اختلاف کاتیون- آنیون جیره ^۱	اجزای جیره غذایی (درصد)	پیش از زایمان	+۲۰۰	+۴۰۰	پس از زایمان
بینجه		۳۹/۹۰	۴۰/۰۷	۲۳/۹۶	۲۳/۸۲
ذرت سیلو شده		۲۸/۵۴	۲۸/۹۸	۱۴/۴۶	۱۴/۲۹
مخلوط کنسانتره ^۲ (گاو خشک)		۲۹/۶۸	۲۸/۱۸	-	-
تفاله چغندر قند		۱/۶۷	۱/۱۳	-	-
نمکهای آنیونی		۰/۲۱ ^۳	۱/۶۴ ^۴	-	-
مخلوط کنسانتره ^۵ (گاو شیرده)		-	-	۶۱/۶۸ ^۵	۶۱/۸۹ ^۶
سطح مواد مغذی (درصد)					
انرژی خالص شیردهی (Mcal/kg)		۱/۳۱	۱/۲۳	۱/۰۸	۱/۵۷
پروتئین خام		۱۳	۱۳/۲	۱۸/۴	۱۸/۵
دیواره سلولی		۴۸/۷	۴۸/۳	۳۴/۸	۳۴/۳
دیواره سلولی منهای همی سلولز		۲۷/۲	۲۷/۵	۱۹	۱۸/۹
کربوهیدرات غیرالیافی		۲۸/۳	۲۸/۶	۳۵/۷	۳۴/۶
کلسیم		۰/۷۶	۰/۴۸	۰/۸۲	۰/۸۲
منیزیم		۰/۳۱	۰/۲۳	۰/۲۹	۰/۲۹
فسفر		۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۴۱	۰/۴۱
سدیم		۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۴۹	۰/۷۸
پتاسیم		۱/۱۹	۱/۲۰	۱/۱۴	۱/۴۲
کلر		۰/۸۵	۰/۵۶	۰/۵۳	۰/۵۳
گوگرد		۰/۴۲	۰/۲۲	۰/۲۴	۰/۲۴
اختلاف کاتیون- آنیون جیره		-	-	+۲۰۶	+۴۰۴

۱- بر اساس میلی اکی والان (۵DP) $(Cl + ۰/۰ S + ۰/۰ Na + K + ۰/۱ Ca + ۰/۱ Mg - (Cl + ۰/۰ S + ۰/۰ Na + K + ۰/۱ Ca + ۰/۱ Mg))$ در کیلوگرم ماده خشک محاسبه شده است.

۲- ترکیب کنسانتره شامل: ۲۰/۵ درصد ذرت، ۴/۵ درصد گندم، ۲۸/۵ درصد سیوس گندم، ۱۹ درصد کنجاله تخم پنبه،

۶ درصد کنجاله سویا، ۱ درصد مکمل درمانی آمینوگستر

۳- نمکهای آنیونی شامل کلرید کلسیم، کلرید آمونیوم، سولفات کلسیم و سولفات منیزیم هر یک به میزان ۴۱/۰ درصد.

۴- شامل سولفات منیزیم.

۵- ترکیب کنسانتره (درصد) شامل: جو، ۱۳، گندم ۳/۷۸، ذرت ۱۲/۰۴، سیوس ۷/۷۸ گندم ۸/۷۱، کنجاله تخم پنبه ۱۲/۰۴، کنجاله سویا ۷/۵۵، پودر چربی مگالاک ۱/۷۲، بیکربنات سدیم ۰/۶۸، کربنات کلسیم ۱، اکسید منیزیم ۰/۱۸، نمک ۰/۴۹ و مکمل آمینوگستر ۰/۴۹.

۶- ترکیب کنسانتره (درصد) شامل: ۱۲/۵۱ جو، ۲/۸۷ گندم، ۱۱/۷۴ ذرت، ۸/۳۰ سیوس گندم، ۱۲/۳۳ کنجاله تخم پنبه، ۸/۰۱ کنجاله سویا، ۱/۷۱ پودر چربی مگالاک، ۱/۷۷ بیکربنات سدیم، ۴/۹ کربنات پتاسیم، ۱ اکسید منیزیم، ۰/۱۸، نمک و ۰/۴۹ مکمل آمینوگستر.

* ترکیبات مکمل معدنی و پودر چربی مورد استفاده در مخلوط کنسانتره گاوهای پس از زایمان؛ ۱- ترکیب مکمل درمانی آمینوگستر (در هر کیلوگرم) : ۵۰۰۰۰ واحد ویتامین آ، ۱۰۰۰۰ واحد ویتامین آ، ۱۰۰ میلیگرم ویتامین آی، ۱۹۶ گرم گرفگار ۹۶، ۵۰ گرم سدیم، ۱۸ گرم منیزیم، ۳ گرم آهن، ۳۰۰۰ میلیگرم مس، ۲ گرم منگنز، ۱۰۰ میلیگرم کبالت، ۱۰۰ میلیگرم ید، ۱ میلیگرم سلنیوم. ۲- پودر چربی مگالاک دارای ۹۶/۵ درصد ماده خشک، ۸۴ درصد چربی خام و ۹ درصد کلسیم.

شدند. جهت برآورده کلر نمونه‌های خوراکی از روش تیتراسیون استفاده شد. نمونه‌برداری از ادرار و خون در روزهای ۲ و ۱۲ پیش و پس از زایش ۴ ساعت پس از خوراک دادن انجام شد. خون‌گیری از گاوهای برای برآورده وضعیت کلسیم پلاسمای در ۲۴ ساعت اول زایش به میزان ۱۰ میلی‌لیتر از سیاه‌مرگ شکمی صورت گرفت. نمونه‌ها در مزرعه توسط دستگاه سانتریفیوژ (فیکست، ساخت آلمان) با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و پلاسمای حاصله در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد. نمونه‌های ادرار با تحریک دستی فرج جمع‌آوری شدند. pH نمونه‌های ادرار و خون توسط دستگاه pH متر (هانا- ۲۱۰) تعیین شد. گاوهای در سه

حاوی ۴۰۰+ میلی‌اکی والان در کیلوگرم ماده خشک تغذیه شدند. برای افزایش اختلاف کاتیون- آنیون جیره از بیکربنات سدیم و کربنات پتاسیم استفاده گردید. گاوهای مورد آزمایش در پیش و پس از زایش به صورت گروهی با جیره‌های کاملاً مخلوط تهیه شده در حد اشتها تغذیه شدند. ماده خشک مصرفی گاواها بطور هفتگی تا هفته نهم شیردهی اندازه‌گیری شد. ترکیب شیمیایی نمونه‌های خوراک با استفاده از روش AOAC (۱۹۹۰) و کلسیم، منیزیم، سدیم و پتاسیم آن با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل GBC-۳۰۰۰) و فسفر و گوگرد با اسیکتروفوتومتر (مدل ۶۳۰۰) در آزمایشگاه تغذیه مؤسسه تحقیقات علوم دامی کرج اندازه‌گیری

وضعیت جفت ماندگی نیز با آزمون کای اسکور تجزیه و تحلیل گردیدند.

نتایج و بحث

گاوها نزدیک زایش

همان طور که در جدول ۲ آمده است، ماده خشک مصرفی گاوها دریافت کننده جیره آنیونی در روزهای پیش از زایش کاهش معنی داری ($P < 0.01$) را در مقایسه با گاوها دریافت کننده جیره کاتیونی نشان داد. کاهش در ماده خشک مصرفی گاوها تغذیه شده با جیره آنیونی (۱۰۰- میلی اکی والان) در توافق با گزارش های برخی از محققان بود (Charbanneau et al., 2006; Oetzel et al., 1988; Roch et al., 2003) کاهش خوارک مصرفی ممکن است نشانگر پاسخ به اسیدوز متابولیکی ایجاد شده توسط نمک های آنیونی (Block, 1984; Vagnoni & Oetzel, 1998) بیکربنات خون، وضعیت اسید- باز بدن، کاهش pH شکمبه (Charbanneau et al., 2006; Tucker et al., 1992; Tucker et al., 1991) و طعم نامطلوب نمک ها برای گاوها شیری باشد (Charbanneau et al., 2006; Oetzel et al., 1988).

pH خون و ادرار در گاوها خشک تغذیه شده با جیره آنیونی به طور معنی داری ($P < 0.01$) کمتر از گاوها تغذیه شده با جیره کاتیونی بود (جدول ۲). کاهش pH خون در گاوها دریافت کننده جیره آنیونی در توافق با نتایج Charbanneau et al. (2008) Wu et al. (2006) بود. کاهش در pH خون با کاهش سطح اختلاف کاتیون- آنیون جیره.

جدول ۲- اثر اختلاف کاتیون- آنیون پیش از زایش بر ماده خشک مصرفی pH ادرار و خون و منیزیم پلاسمای

	تیمار	سطح DCAD	ملده خشک	pH خون	pH ادرار	pH	منیزیم	pH خون
۲/۲۳ ^a	۷/۷۳ ^b	۱۰/۵۷ ^b	۱۰/۵۷ ^b	-	-	-	-	-
۲/۶ ^b	۷/۴ ^a	۱۱/۴۹ ^a	۱۱/۴۹ ^a	+۱۰۰	-	-	-	-
۰/۰۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	-	-	-	-	-
۰/۰۰۱۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	-	-	-	-	-
۰/۹۰۹۸	۰/۴۶۶۳	۰/۸۸۲۲	۰/۵۲۹۴	-	-	-	-	-

* مربوط به اثر متقابل اختلاف کاتیون- آنیون پیش از زایش و زمان نمونه گیری

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون و هر بخش نشان دهنده عدم اختلاف در سطح خطای ۵٪ می باشد.

نوبت دوشیده می شدند و مجموع شیر تولیدی در روزهای ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ شیردهی ثبت گردید (Wu et al., 2008). جهت تعیین ترکیبات شیر، نمونه های شیر بدست آمده از ۳ وعده شیر دوشی روزانه بلا فاصله به آزمایشگاه مرکزی شیر جهاد کشاورزی شهرستان شهریار منتقل و با استفاده از دستگاه میکرواسکن (فوس- ۴۰۵) ترکیبات آن تعیین شدند. داده های جمع آوری شده در طول آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SAS (2004) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

داده های مربوط به دوره انتظار زایمان بصورت طرح داده های تکرار شده تجزیه و تحلیل شدند:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + E_{ik} + T_j + AT_{ij} + Eb_{ijk}$$

که در آن: Y_{ijk} مقدار هر مشاهده، μ میانگین مشاهدات، A_i اثر سطح i م تعادل پیش از زایش، E_{ik} اشتباہ اصلی، T_j اثر متقابل تعادل پیش از زایش در زمان، Z اثر زمان Z ام و Eb_{ijk} اشتباہ فرعی می باشدند. داده های مربوط به صفات مورد بررسی در دوره شیردهی، به صورت آزمایش فاکتوریل 2×2 در چارچوب طرح واحد های خرد شده در زمان تجزیه و تحلیل شدند که برای آن از مدل آماری زیر استفاده شد:

$$Y_{ijl} = \mu + A_i + B_j + E_{ijk} + AB_{ij} + T_l + AT_{il} + BT_{jl} + ABT_{ijl} + Eb_{ijl}$$

که در آن: Y_{ijl} مقدار هر مشاهده، μ میانگین مشاهدات، A_i اثر سطح i م تعادل ۱، B_j اثر سطح Z ام تعادل ۲، E_{ijk} اشتباہ اصلی، T_l اثر متقابل تعادل ۱ در تعادل ۲، AT_{il} اثر زمان i ام تعادل ۱ اثر متقابل تعادل ۲ در زمان j ام، ABT_{ijl} اثر اشتباها اصلی متقابل تعادل ۱ در تعادل ۲ در زمان و Eb_{ijl} اشتباہ می باشدند. تعادل ۱، اختلاف کاتیون- آنیون پیش از زایش و تعادل ۲، اختلاف کاتیون- آنیون پس از زایش می باشدند. در رابطه با مصرف ماده خشک که در آن اثر متقابل تیمار با زمان معنی دار بود، داده های هر هفته به صورت یک آزمایش فاکتوریل 2×2 در چارچوب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شد. مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح خطای ۵ درصد و

Oetzel et al. (1988) و Li et al. (2008) است. افزایش غلظت منیزم پلاسمای همراه با کاهش اختلاف کاتیون- آنیون جیره ممکن است ناشی از افزایش مقدار جیره‌ای آن باشد (۰/۳۱ درصد در جیره آنیونی در مقابله با ۰/۲۳ درصد در Shahzad et al. (2008) کاهش غلظت منیزم پلاسمای خاطر افزایش کلسیم جیره در جیره‌های آنیونی (۱۱۰- میلی‌اکیوالان) را در گاویمش‌ها گزارش کردند.

گاوهای شیرده

در هفته اول دوره شیردهی ماده خشک مصرفی گروههای اول و دوم به طور معنی‌داری ($P < 0/01$) از دیگر گروه‌ها بیشتر بود (جدول ۳). با استفاده از جیره‌های اسیدی در دوره نزدیک زایش، مصرف ماده خشک پس از زایمان سریع‌تر به حد طبیعی خود می‌رسد و به کاهش غلظت اسیدهای چرب استریفیه نشده خون کمک می‌گردد (Joyce et al., 1997; Moore et al., 2000; Wild, 2006)

مریبوط به افزایش میزان کلر جیره است. از طرفی سطوح اختلاف کاتیون- آنیون جیره‌ای پایین ممکن است بر ظرفیت کلیه‌ها در دفع مقدار اضافی یون هیدروژن تولید شده در بدن، غلبه کند و بدین ترتیب باعث ایجاد اسیدوز متابولیکی خفیف شود (Shahzad, 2005; Shahzad et al., 2008) ادرار در گاوهای دریافت‌کننده جیره آنیونی در توافق با نتایج Tucker et al. (1991) و Wu et al. (2008) است که نشان دادند روابط خطی مثبت بین pH ادرار و اختلاف کاتیون- آنیون جیره وجود دارد. pH ادرار به عنوان شاخصی برای بیان بار اسیدی یا قلیایی بدن است (Seifi et al., 2004). کلیه می‌تواند به طور کارآمدی آنیون‌های مازاد بدن را دفع کرده و از اینرو نمک‌های آنیونی کاهش شدیدی در pH ادرار ایجاد می‌کند (Wu et al., 2008).

منیزیم پلاسمای گاوهای شیرده با طور معنی‌داری ($P < 0/01$) در گاوهای تغذیه شده با جیره آنیونی بیشتر بود (جدول ۲). افزایش معنی‌دار منیزیم پلاسمای گاوهای تغذیه شده

جدول ۳- ماده خشک مصرفی گاوهای شیرده (کیلوگرم ماده خشک در روز)

همه پس از زایش												گروه ^۱
۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	DCAD	سطح		
۲۲/۶۱ ^a	۲۲/۱۱ ^a	۲۲/۴۳ ^{ab}	۲۱/۳۵ ^a	۲۰/۲۵ ^a	۱۸/۵۷ ^a	۱۶/۷۸ ^a	۱۵/۰۰ ^a	۱۴/۳۶ ^a	+۴۰۰	-۱۰۰	گروه اول	
۲۲/۱ ^b	۲۲/۸۶ ^a	۲۱/۹۶ ^b	۲۰/۸۸ ^a	۱۹/۴۷ ^b	۱۸/۲۵ ^b	۱۶/۳۵ ^a	۱۴/۴۳ ^b	۱۴/۲۸ ^a	+۲۰۰	-۱۰۰	گروه دوم	
۲۲/۵۸ ^a	۲۲/۰۶ ^a	۲۲/۲۸ ^a	۲۱/۲۲ ^a	۱۹/۹۳ ^{ab}	۱۸/۶۵ ^a	۱۶/۷۶ ^a	۱۴/۹۱ ^a	۱۲/۱۸ ^b	+۴۰۰	+۱۰۰	گروه سوم	
۲۲/۰۰ ^b	۲۲/۰۶ ^a	۲۲/۶۳ ^{ab}	۲۱/۲۳ ^a	۱۹/۵۲ ^b	۱۸/۱۲ ^b	۱۶/۴۵ ^a	۱۴/۴۵ ^b	۱۲/۲۰ ^b	+۲۰۰	+۱۰۰	گروه چهارم	
۰/۱۴	۰/۱۲	۰/۲۴	۰/۲۰	۰/۱۷	۰/۰۹	۰/۱۴	۰/۱۲	۰/۱۶		SEM		
۰/۰۰۹۷	۰/۵۰۹۴	۰/۱۲۸۳	۰/۴۴۰۴	۰/۰۱۶۸	۰/۰۰۳۱	۰/۱۱۷۸	۰/۰۰۷۱	۰/۰۰۰۱		P تیمار		
۲۲/۳۶ ^a	۲۲/۹۹ ^a	۲۲/۱۹ ^b	۲۱/۱۲ ^a	۱۹/۸۵ ^a	۱۸/۴۱ ^a	۱۶/۵۷ ^a	۱۴/۷۱ ^a	۱۴/۳۳ ^a	-۱۰۰	تعادل ۱*		
۲۲/۷۹ ^a	۲۲/۰۶ ^a	۲۲/۷۱ ^a	۲۱/۲۲ ^a	۱۹/۷۲ ^a	۱۸/۳۸ ^a	۱۶/۶۱ ^a	۱۴/۶۸ ^a	۱۲/۱۹ ^b	+۱۰۰		P تعادل ۱	
۰/۶۴۷۶	۰/۵۵۲۴	۰/۰۴۶۷	۰/۶۰۶۶	۰/۴۶۳۰	۰/۰۸۰۴۵	۰/۷۸۱۳	۰/۷۹۹۷	۰/۰۰۰۱				
۲۲/۶۰ ^a	۲۲/۰۹ ^a	۲۲/۶۰ ^a	۲۱/۲۸ ^a	۲۰/۰۹ ^a	۱۸/۶۱ ^a	۱۶/۷۷ ^a	۱۴/۹۵ ^a	۱۲/۷۷ ^a	+۴۰۰	تعادل ۲*		
۲۲/۰۵ ^b	۲۲/۹۶ ^a	۲۲/۲۰ ^a	۲۱/۰۵ ^a	۱۹/۴۹ ^b	۱۸/۱۸ ^b	۱۶/۴۰ ^b	۱۴/۴۴ ^b	۱۳/۷۵ ^a	+۲۰۰		P تعادل ۲	
۰/۰۰۱۱	۰/۳۲۵۹	۰/۲۳۲۵	۰/۲۹۰۱	۰/۰۰۳۱	۰/۰۰۰۴	۰/۰۱۹۸	۰/۰۰۰۷	۰/۸۸۲۸		۲		
۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۱۷	۰/۱۴	۰/۱۲	۰/۰۷	۰/۱۰	۰/۰۹	۰/۱۲		SEM		
۰/۸۱۸۹	۰/۳۲۵۹	۰/۵۴۵۱	۰/۲۵۶۹	۰/۳۱۵۸	۰/۲۸۹۹	۰/۶۹۷۸	۰/۷۰۳۸	۰/۸۰۵۹	P اثر مقابل			

۱- در تمامی جداول گروه اول دریافت کننده جیره پیش از زایش +۴۰۰ میلی‌اکی والان، گروه دوم دریافت کننده جیره پیش از زایش -۱۰۰ و جیره پس از زایش +۲۰۰ میلی‌اکی والان، گروه سوم دریافت کننده جیره پیش از زایش +۱۰۰ و جیره پس از زایش +۴۰۰ میلی‌اکی والان و گروه چهارم دریافت کننده جیره پیش از زایش +۱۰۰ و جیره پس از زایش +۲۰۰ میلی‌اکی والان هستند.

* اختلاف کاتیون- آنیون پیش از زایمان شامل +۱۰۰ و -۱۰۰ میلی‌اکی والان در کیلوگرم ماده خشک

** اختلاف کاتیون- آنیون پس از زایمان شامل +۴۰۰ و +۲۰۰ میلی‌اکی والان در کیلوگرم ماده خشک میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در هر ستون و هر بخش نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح خطای ۵٪ می‌باشد.

افزایش ماده خشک مصرفی در گاوهای تغذیه شده با اختلاف کاتیون- آنیون $+400$ در مقایسه با $+200$ میلی اکی والان ممکن است مربوط به افزایش بیکربنات خون، ظرفیت بافری شکمبه، رقت مایع شکمبه و عبور نشاسته غیرقابل تجزیه و افزایش pH شکمبه (Delaquis & Block, 1995; Roch et al., 2003; Wu et al., 2008)

هر چند که اختلاف کاتیون- آنیون جیره باعث اختلاف معنی داری در تولید شیر نشد، ولی آزمون دانکن اختلاف معنی داری در تولید شیر گروه اول نسبت به گروه چهارم نشان داد (جدول ۴) که در موافق با نتایج (Hu et al. 2007b) و (Wu et al. 2008) است. اختلاف کاتیون- آنیون جیره در دامنه $+300$ تا $+450$ میلی اکی والان در کیلوگرم، حداقل تولید شیر و مصرف خوراک را در پی دارد (Hu & Murphy, 2004). کاهش اختلاف کاتیون- آنیون جیره به -100 میلی اکی والان در دوره نزدیک زایش (گروه اول و دوم) موجب افزایش معنی دار $P<0.05$ تولید شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی شد و هم چنین بالا بردن سطح اختلاف کاتیون- آنیون جیره به $+400$ میلی اکی والان در دوره شیردهی موجب افزایش معنی داری ($P<0.01$) در تولید شیر تصحیح

افزایش سطح اختلاف کاتیون- آنیون جیره گاوهای شیرده به $+400$ میلی اکی والان در کیلوگرم ماده خشک باعث افزایش معنی دار خوراک مصرفی در هفته های دوم، سوم، چهارم، پنجم و نهم دوره شیردهی شد. افزایش ماده خشک مصرفی همراه با بالا بردن سطح اختلاف کاتیون- آنیون جیره در دوره شیردهی توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است (Apper-Bossard et al., 2006; Hu & Murphy, 2004; Hu et al., 2007a; Tucker et al., 1988) را بر عملکرد گاوها در اوایل دوره شیردهی می گذارند (Ghorbani et al., 1989) (Hu et al. 2007) گزارش دادند که با بالا بردن سطح اختلاف کاتیون- آنیون جیره از $+290$ به $+470$ میلی اکی والان، ماده خشک مصرفی 40 کیلوگرم در روز افزایش می یابد. دامنه اختلاف کاتیون- آنیون جیره ای بین $+200$ تا $+400$ میلی اکی والان در کیلوگرم ماده خشک جهت دستیابی به حداقل خوراک مصرفی و شیر تولیدی در گاوهای شیرده ضروری است (Shahzad, 2005). در پژوهشی دیگر افزایش سطح اختلاف کاتیون- آنیون جیره از -109 به $+313$ میلی اکی والان باعث افزایش مصرف خوراک شد (Oetzel & Barmore, 1993).

جدول ۴- تولید شیر (کیلوگرم در روز) و ترکیب شیر (درصد)

کلسیم	پروتئین	چربی	FCM	تولید شیر	DCAD	سطح	گروه
۸/۲۸ ^a	۲۱/۷۵ ^a	۲/۹۴ ^a	۴/۰۱ ^a	۳۱/۷۱ ^a	+۴۰۰	-۱۰۰	گروه اول
۸/۲۷ ^a	۲۶/۵۸ ^{bc}	۲/۸۳ ^a	۳/۶۷ ^{ab}	۳۰/۰۸ ^{ab}	+۲۰۰	-۱۰۰	گروه دوم
۷/۷۹ ^b	۲۸/۴۵ ^{ab}	۳/۰۴ ^a	۳/۸۱ ^a	۳۰/۳۷ ^{ab}	+۴۰۰	+۱۰۰	گروه سوم
۷/۸۰ ^b	۲۴/۴۱ ^c	۲/۸۸ ^a	۳/۱۶ ^b	۲۹/۵۴ ^b	+۲۰۰	+۱۰۰	گروه چهارم
۰/۰۸	۱/۰۴	۰/۱۱	۰/۱۷	۰/۶۱			SEM
۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۲۱	۰/۵۹۳۱	۰/۰۱۹۰	۰/۱۱۱۸			P تیمار
۸/۲۷ ^a	۲/۸۸ ^a	۳/۸۱ ^a	۲۸/۷۵ ^a	۳۰/۸۹ ^a	-۱۰۰		* تعادل ۱
۷/۷۹ ^b	۲/۹۶ ^a	۳/۴۸ ^a	۲۶/۵۴ ^b	۲۹/۹۶ ^a	+۱۰۰		
۰/۰۰۰۱	۰/۴۹۳۸	۰/۰۸	۰/۰۳۷۸	۰/۱۴۱۱			P تعادل ۱
۸/۰۳ ^a	۲/۹۹ ^a	۳/۹۱ ^a	۲۹/۶۹ ^a	۳۱/۰۴ ^a	+۴۰۰		* تعادل ۲
۸/۰۳ ^a	۲/۸۵ ^a	۳/۳۹ ^b	۲۵/۴۹ ^b	۲۹/۸۱ ^a	+۲۰۰		
۰/۹۹۲۲	۰/۲۴۹۵	۰/۰۰۸۳	۰/۰۰۰۷	۰/۰۵۸۲			P تعادل ۲
۰/۰۵	۰/۰۸	۰/۱۲	۰/۷۳	۰/۴۳			SEM
۰/۹۳۰۱	۰/۸۲۰۵	۰/۴۶۶۳	۰/۸۸۲۲	۰/۵۲۴			P اثر متقابل

۱- مربوط به کلسیم پلاسمایی در ۲۴ ساعت پس از زایمان

* مربوط به اختلاف کاتیون- آنیون پیش از زایمان (-100 و $+100$ میلی اکی والان در کیلوگرم ماده خشک)

* مربوط به اختلاف کاتیون- آنیون پس از زایمان ($+400$ و $+200$ میلی اکی والان در کیلوگرم ماده خشک)

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون و هر بخش نشان دهنده عدم اختلاف در سطح خطای 5% می باشد.

کاهش سطح اختلاف کاتیون- آنیون جیره افزایش می‌یابد. Wu et al. (2008) نیز افزایش سطح کلسیم پلاسمما را در گاوهای شیری با استفاده از نمکهای آنیونی به ثبت رساندند. نتایج پژوهش حاضر موافقت با برخی از پژوهش‌های دیگر دارد (Block, 1984; Charbanneau et al., 2006; Wu et al., 2008) مشاهده نشدن قب شیر در گاوهای شیری می‌تواند به دلیل سطح به نسبت پایین اختلاف کاتیون- آنیون گروه شاهد ($+100$ میلی‌اکی‌والان) باشد.

همان‌گونه که در جدول ۵ نشان داده شده است، اختلاف کاتیون- آنیون پیش از زایش بر مقادیر pH خون در گاوهای شیری تأثیر معنی‌داری نداشته است ولی اختلاف کاتیون- آنیون پس از زایش اثر معنی‌داری ($P<0.01$) بر pH خون گذاشت. بالا بردن سطح اختلاف کاتیون- آنیون جیره گاوهای شیرده باعث افزایش pH خون شد که می‌تواند ناشی از تولید بیشتر یون بی‌کربنات باشد (Tucker et al., 1992). اختلاف کاتیون- آنیون جیره پیش از زایش بر pH ادرار گاوهای شیری در دوره شیردهی تأثیر معنی‌داری نداشته است اما اختلاف کاتیون- آنیون جیره پس از زایش باعث افزایش معنی‌دار ($P<0.01$) pH ادرار گاوهای شیرده در دو گروه دریافت‌کننده جیره $+400$ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم‌های ماده خشک مصرفی شد (جدول ۵).

جدول -۵ pH خون و ادرار پس از زایمان گاوهای شیری

pH ادرار	pH خون	DCAD	سطح	گروه
۸۳۳ ^a	۷/۴۴ ^a	+۴۰۰	-۱۰۰	گروه اول
۸۲۶ ^b	۷/۴۲ ^b	+۲۰۰	-۱۰۰	گروه دوم
۸۳۳ ^a	۷/۴۴ ^a	+۴۰۰	+۱۰۰	گروه سوم
۸۲۷ ^b	۷/۴۲ ^b	+۲۰۰	+۱۰۰	گروه چهارم
.۰۰۰۱	.۰۰۰۱			نیبل P
.۰۰۶	.۰۰۰۳			SEM
۸۲۹ ^a	۷/۴۴ ^a	-۱۰۰		تعادل *
۸۳ ^a	۷/۴۳ ^a	+۱۰۰		
.۰۲۴	.۰۶۷			تعادل ۱
۸۳۳ ^a	۷/۴۵ ^a	+۴۰۰		تعادل *
۸۲۶ ^b	۷/۴۲ ^b	+۲۰۰		
.۰۰۰۱	.۰۰۰۱			تعادل P
.۰۰۴	.۰۰۲			SEM
.۰۶۹	۱/۰۰			اثر مقلل P

* مربوط به اختلاف کاتیون- آنیون پیش از زایمان (-100 و $+100$ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم ماده خشک)

* مربوط به اختلاف کاتیون- آنیون پس از زایمان ($+400$ و $+200$ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم ماده خشک) میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون و هر بخش نشان‌دهنده عدم اختلاف در سطح خطای ۵٪ می‌باشد.

شده برای ۴ درصد چربی گردید (جدول ۴). با توجه به افزایش درصد چربی شیر در گروه دریافت‌کننده جیره $+400$ میلی‌اکی‌والان، افزایش تولید شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی امری طبیعی به نظر می‌رسد. درصد چربی شیر گاوهای گروه اول در مقایسه با گروه چهارم اختلاف معنی‌داری ($P<0.05$) را نشان داد. اختلاف کاتیون- آنیون پیش از زایمان بر درصد چربی شیر اثر معنی‌داری نداشت ولی افزایش اختلاف کاتیون- آنیون- آنیون پس از زایش اثر معنی‌داری ($P<0.01$) بر درصد چربی شیر داشت. افزایش درصد چربی شیر در گاوهای دریافت‌کننده جیره $+400$ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم در توافق با نتایج برخی از محققان است (Ghorbani et al., 1989; Hu et al., 2007a; Roch et al., 2005) درصد چربی شیر همراه با افزایش سطح اختلاف کاتیون- آنیون پس از زایش ظرفیت بافری شکمبه است. در pH شکمبه ای بالا، غلظت اسیدهای چرب ترانس در شکمبه کاهش می‌یابد زیرا که اسیدهای چرب ترانس به عنوان واسطه‌های بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب در شکمبه تولید شده و به کاهش چربی شیر منجر می‌شوند (Wildman et al., 2007). اختلاف کاتیون- آنیون پس از زایش درصد پروتئین شیر اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۴). تحت تأثیر قرار نگرفتن درصد پروتئین شیر با گزارش‌های برخی از محققان همخوانی دارد (Ghorbani et al., 1989; Hu et al., 2007b; Wu et al., 2008) برخلاف نتایج مطالعه حاضر (Escobosa et al., 1984) افزایش درصد پروتئین شیر را با افزودن بافرها به جیره گزارش نمودند. گاوهای تغذیه شده با جیره آنیونی حداکثر و گاوهای دریافت‌کننده جیره کاتیونی حداقل ($P<0.01$) کلسیم پلاسمایی را در ۲۴ ساعت اول زایش داشتند (جدول ۴). هیچ موردی از تب شیر در گاوها رخ نداد. چهار مورد هیپوکلسیمی تحت بالینی (مقدار کلسیم خون زیر $7/5$ و لی بالای ۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر خون) در گاوهای دریافت‌کننده جیره کاتیونی دیده شد ولی هیچ موردی از هیپوکلسیمی در گاوهای تغذیه شده با جیره آنیونی پیش از زایش مشاهده نشد. نرمال بودن کلسیم پلاسما پیرامون زایش در گاوهای تغذیه شده با جیره آنیونی در توافق با یافته‌های Tucker et al. (1991) است که گزارش دادند غلظت کلسیم پلاسما به طور خطی با

تغذیه شده با جیره کاتیونی ($+100$ میلی‌اکیوالان) به ثبت رسید ولی آزمون کای اسکور اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P=0.06$). کاهش درصد بروز جفت ماندگی همراه با کاهش سطح اختلاف کاتیون-آنیون جیره در توافق با نتایج Wu et al. (2008) است و این مربوط به حفظ هموستازی کلسیم در آغاز شیردهی می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه جیره‌های آنیونی با سطح اختلاف کاتیون-آنیون -100 میلی‌اکیوالان در کیلوگرم ماده خشک به گاوها نزدیک زایش و افزایش این اختلاف به $+400$ میلی‌اکیوالان در کیلوگرم ماده خشک در دوره پس از زایش موجب افزایش ماده خشک مصرفی و شیر تولیدی و کاهش احتمال بروز هیپوکلسیمی می‌شود.

افزایش pH ادرار با بالا بردن سطح اختلاف کاتیون-آنیون جیره مربوط به بیکربنات خون بالاتر و دفع اسید خالص پایین‌تر ادرار می‌باشد و بیانگر این است که باز اسیدی حیوان به سرعت با افزایش اختلاف کاتیون-آنیون جیره کاهش می‌یابد (Delaquis & Block, 1995; Hu & Murphy, 2004). تغییر در pH ادرار بازتابی از تغییر در pH خون است و کلیه‌ها این تغییر را در شرایط قلیایی، توسط روند دفع بیشتر بیکربنات و ذخیره یون هیدروژن و در شرایط اسیدی، با دفع بیشتر یون هیدروژن و ذخیره بیکربنات، به حداقل می‌رسانند (Roch et al., 2003). Mostafatehrani (1996) نیز نشان داد که افزایش سطح اختلاف کاتیون-آنیون جیره گاوها شیرده از $+100$ به $+400$ میلی‌اکیوالان اثر مثبتی بر pH خون و ادرار آن‌ها دارد.

چهار مورد جفت ماندگی نیز در دو گروه گاوها

REFERENCES

1. A.O.A.C. (1990). *Official Methods of Analysis*. Assoc.Off.Anlyt.Chemist.15thEd. Arlington Virginia, U.S.A.
2. Apper-Bossard, E., Peyraud, J. L., Faverdin, P. & Meschy, F. (2006) Changing dietary cation anion difference for dairy cows fed with tow contrasting levels of concentrate in diets. *J. Dairy. Sci*, 89, 749-760.
3. Beede, D. K. (2005). Formulation of rations with optimal cations and anions for lactation, In: proceedings of *Tri-State Dairy Nutrition Conference*. May 2 and 3.US
4. Block, E. (1984). Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *J.Dairy Sci*, 67, 2939.
5. Charbanneau, E., Pellerin, D. & Oetzel, C. R. (2006) Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: A Meta-Analysis. *J. Dairy. Sci*, 89, 537-548.
6. Delaquis, A. M. & Block, E. (1995). Dietary cation anion difference, acid-base status, mineral metabolism, renal function, and milk production of lactating cows. *J. Dairy Sci*, 78, 2259-2284.
7. Dishington, I. W. (1975) Prevention of milk fever (hypocalcemic paresis puerperalis) by dietary salt supplementation. *Acta Vet. Scand*, 16, 503.
8. Escobosa, A. C. E., Coppock, L. D. & Rowe, Jr., Jenlins, W. L. & Gates, C. E. (1984). Effects of dietary sodium bicarbonate and calcium chloride on physiological responses of lactating dairy cows in hot weather. *J. Dairy. Sci*, 67, 574.
9. Freedan, A. H., DePeters, E. J. & Baldwin, R. L. (1988). Characterization of acid-base disturbances and effects on calcium and phosphorus balances of dietary fixed ions in pregnant or lactating does. *J. Anim. Sci*, 66, 159.
10. Gaynor, P. J., Mueller, F. J., Miller, J. K., Ramsey, N., Goff, J. P. & Horst, R. L. (1989). Parturient hypocalcemia in Jersey cows fed alfalfa haylage based diets with different cation to anion rations. *J. Dairy. Sci*, 72, 2525.
11. Ghorbani, G. R., Jackson, J. A. & Hemken, R. W. (1989). Effects of sodium bicarbonate and sodium sesquicarbonate on animal performance, ruminal metabolism, and systemic acid-base status. *J. Dairy. Sci*, 72, 2039-2045.
12. Horst, R. L., Goff, J. P., Reinhardt, T. A. & Boxford, D. R. (1997). Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci*, 80, 1269-1280.
13. Hu, W., Limin Kung, J. R. & Murphy, M. R. (2007). Relationship between dry matter intake and acid-base status of lactating dairy cows as manipulated by dietary cation-anion difference. *Animal Feed Science and Technology*, 136, 216.
14. Hu, W. & Murphy, R. M. (2004). Dietary cation – anion difference on performance and acid – base status of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 87, 2222 – 2229.
15. Hu, W., Murphy, M. R., Constable, P. D. & Block, E. (2007a). Dietary cation-anion difference and

- dietary protein effects on performance and acid-base status of dairy cows in early lactation. *J. Dairy. Sci.*, 90, 3355-3366.
16. Hu, W., Murphy, M. R., Constable, P. D. & Block, E. (2007b). Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of dairy cows postpartum. *J. Dairy. Sci.*, 90, 3367-3375.
 17. Joyce, P. W., Sanchez, W. K. & Goff, J. P. (1997). Effect of anionic salts in prepartum diets based on alfalfa. *J. Dairy. Sci.*, 80, 2866-2875.
 18. Li, F. C., Liu, F. H. & Wang, Z. H. (2008). Effect of dietary cation-anion difference on calcium, nitrogen metabolism and relative blood traits of dry Holstein cows. *Animal Feed Science and Technology*, 142, 185-191.
 19. Mongin, P. (1981). Recent advances in dietary anion-cation balance: Applications in poultry. *Proc. Nutr. Soc.*, 40, 285-294.
 20. Moore, S. J., Vandehaar, M. J., Sharma, K., Pilbeam, T. F., Beede, D. K., Bucholtz, F., Liesman, J. S., Horst, R. L. & Goff, J. P. (2000). Effect of altering dietary cation-Anion difference on calcium and energy metabolism in prepartum cows. *J. Dairy. Sci.*, 53, 2095.
 21. Mostafatehrani, A. (1996). *The effect of dietary cation-anion balance on productivity of Holstein dairy cow*. M. Sc. dissertation, Tehran University. (In Farsi).
 22. National Research Council. (2001). *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7th rev. Ed. Natl. Acad. Sci, Washington, DC.
 23. Oetzel, G. R. & Barmore, J. A. (1993). Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts fed to pregnant, nonlactating dairy cows. *J. Dairy. Sci.*, 76, 1617.
 24. Oetzel, G. R., Olson, J. D., Curtis, C. R. & Fettman, M. J. (1988). Ammonium chloride and Ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *J. Dairy. Sci.*, 71, 3302.
 25. Roch, J. R., Dally, D., Moate P., Grainger, C., Rath, M. & Mara, F. O. (2003). A low dietary cation-anion difference pre-calving and calcium supplementation post-calving increase plasma calcium but not milk production in a pasture based system. *J. Dairy. Sci.*, 86, 2658.
 26. Roch, J. R., Peth, S. & Kay, J. L. (2005). Manipulating the dietary cation anion difference via drenching to early lactating dairy cows grazing pasture. *J. Dairy. Sci.*, 88, 264.
 27. Sanchez, W. K. (2003). The latest in dietary cation-anion difference (DCAD) Nutrition, In Proceeding of 43rd Annual Dairy Cattle Day 26th March., Main Theater. University of California. Davis Campus.
 28. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.2. SAS Inst., Inc., Cary, NC. (2004).
 29. Seifi, H. A., Mohri, M. & Kalamati Zadeh, J. (2004). Use of prepartum urine pH to predict the risk of milk fever in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 167, 281-285.
 30. Shahzad, A. M. (2005). *Influence of altering dietary cation-anion difference on productive and reproductive performance of buffaloes during summer*. Ph. D. dissertation, University of Agriculture Faisalabad Pakistan.
 31. Shahzad, A. M., Sarwar, M. & Mahr-un-Nisa. (2008). Influence of altering dietary cation anion difference on milk yield and its composition by early lactating Nili Ravi buffaloes in summer. *Livestock Science*, 113, 133-143.
 32. Tucker, W. B., Harrison, G. A. & Hemken, R. W. (1988). Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood, urine, and rumen fluid in lactating dairy cattle. *J. Dairy. Sci.*, 71, 346-354.
 33. Tucker, W. B., Hogue, J. F., Adams, G. D., Aslam, M., Shin, I. S. & Morgan, G. (1992). Influence of dietary cation-anion balance during the dry period on the occurrence of parturient paresis in cows fed excess calcium. *J. Anim. Sci.*, 70, 1238-1250.
 34. Tucker, W. B., Hogue, J. F., Waterman, D. F., Swenson, T. S., Xin, Z., Hemken, R. W., Jackson, J. A., Adams, J. D. & Spicer, L. J. (1991). Role of sulfur and chloride in the dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, 69, 1205-1213.
 35. Vagnoni, D. B. & Oetzel, G. R. (1998). Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. *J. Dairy Sci.*, 81, 1643-1652.
 36. Wild, D. (2006). Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 96, 240-249.
 37. Wildman, C. D., West, J. W. & Bernard, J. K. (2007). Effect of dietary cation-anion difference and dietary crude protein on performance of lactating dairy cows during hot weather. *J. Dairy. Sci.*, 90, 1842-1850.
 38. Wu, W. X., Liu, J. X., Xu, G. Z. & Ye, J. A. (2008). Calcium homeostasis acid-base balance, and health status in preparturient Holstein cows fed diets with low cation-anion difference. *Livestock Science*, 117, 7-14.