

Dal latte le informazioni per la dieta della bovina

Fabio Abeni, CREA Centro di ricerca Zootecnia e Acquacoltura

La diagnosi di problemi metabolici nella bovina da latte si è basata per molto tempo sull'esame del sangue e, per alcuni aspetti, delle urine. Rispetto al sangue, il latte rappresenta un materiale nel quale il diverso rapporto tra le frazioni liquida e solida e tra le componenti idrosolubile, lipidica e proteica rendono non direttamente traslabile dal sangue stesso l'applicazione di alcune metodiche di analisi. Inoltre, la presenza nel latte di alcuni metaboliti non è interpretabile direttamente come nel sangue, ma in funzione di quello che è il tasso di estrazione dal circolo da parte della mammella (per i componenti che possono passare più o meno direttamente dal sangue al latte) o della trasformazione e neo-sintesi di nuovi componenti nel latte, nonché dal momento della mungitura in cui il latte è campionato.

Tuttavia, nel quarto di secolo che ci precede, sono stati fatti grandi progressi sia nella introduzione di tecniche analitiche rapide, sia nella conseguente possibilità di interpretare i nuovi (soprattutto in termini di frequenza) dati disponibili, grazie anche all'applicazione di apposite tecniche statistiche.

Il controllo degli apporti azotati (proteina e non solo)

Il significato del contenuto in urea del latte è da tempo noto agli allevatori e ai loro consulenti, in quanto disponibile attraverso il sistema dei controlli funzionali. Tuttavia, l'interpretazione del dato in passato è stata fatta a tavolino insieme ai consulenti, ma dalla stessa non sempre sono scaturiti interventi immediati in stalla o si è arrivati a una valutazione complessiva della distribuzione dei valori di urea in funzione del potenziale produttivo degli animali; spesso ci si è limitati a valutare soprattutto la presenza di eventuali eccessi, certamente importanti da controllare sia per ragioni di salute delle bovine che per un discorso, come vedremo, ambientale.

Oggi l'urea nel latte è un valore facilmente ottenibile in stalla grazie alla disponibilità di strumentazioni in grado di stabilire il momento ottimale del campionamento (non necessario a ogni mungitura) e di realizzare nel giro di pochi secondi la determinazione del livello di urea nel latte della singola bovina.

L'urea nella fisiologia della bovina da latte. Per capire la complessità dei fattori che sono a monte della minore o maggiore presenza di urea nel latte, cerchiamo di orientarci con l'aiuto della **Figura 1**, tratta da Spek et al. (2013).

L'origine principale di azoto (**N**) ammoniacale dalle deiezioni è l'N dell'urea contenuta nelle urine, che viene idrolizzata a ammoniaca e anidride carbonica dalle ureasi microbiche che ci sono nelle feci. La formazione di urea avviene principalmente nel fegato della bovina al fine di detossificare l'ammoniaca presente nel sangue e tende a diffondersi o essere trasportata nei vari fluidi corporei incluso il latte. L'urea viene escreta con le urine (ove nei bovini rappresenta dal 50 al 90% dell'N presente) attraverso la filtrazione del sangue da parte dei reni. L'aumento di ingestione di N con l'alimentazione determina una maggiore escrezione di N attraverso le urine rispetto a quanto si ha attraverso le feci e, come vedremo in risposta anche ad altri fattori che possono modulare tale escrezione, determina anche un aumento della concentrazione di N ureico nel latte.

Tra i fattori fisiologici che determinano la variabilità di tale risposta, vediamo i più importanti. Ricordiamo innanzitutto che, anche in risposta a quanto accade nel sangue, esistono ritmi giornalieri che possono influenzare il livello di N ureico nel latte. Ad esempio, dopo un pasto, la microflora ruminale determina la degradazione di una parte di proteine producendo un innalzamento del livello di ammoniaca nel rumine che, secondo il percorso evidenziato in **Figura 1**, porta in ultima analisi a un aumento del livello di urea nel latte. Questo innalzamento è tanto minore quanto più nella dieta è presente una importante frazione di carboidrati rapidamente degradabili dalla microflora stessa che in tal modo utilizza l'ammoniaca ruminale per produrre proteina microbica.

Fattori gestionali e individuali che influenzano il contenuto di urea nel latte. La frequenza con cui vengono distribuiti gli alimenti e il numero di mungiture giornaliere possono comportare una differenza nel livello di urea del latte. È molto importante oggi comprendere tali relazioni in quanto l'interpretazione del dato che andremo a fare in azienda può risentire dalla presenza di sistemi di alimentazione automatizzata, con i quali è più facile aumentare il numero di distribuzioni di alimento nel corso della giornata, così come può risentire della differente frequenza di mungitura che si può avere con sistemi robotizzati, nei quali le bovine possono farsi mungere più volte rispetto alle tradizionali 2 munte al giorno. In particolare, una maggiore frequenza di distribuzione della dieta comporta un aumento del livello di urea nel latte (Spek et al., 2013). Da quanto scritto sopra, un bilanciamento della degradabilità dei carboidrati con quella delle fonti azotate entro il rumine contribuisce, a parità di apporti energetici e azotati, a un abbassamento della concentrazione di urea nel latte. Tra i fattori legati al singolo animale, è chiaro che una bovina di maggiori dimensioni di altre ha in circolo una maggiore quantità di urea da eliminare. Entrano in gioco anche elementi collegati allo stato di idratazione e agli equilibri elettrolitici della dieta; per questo, razioni ricche in sodio e potassio inducono un maggior consumo idrico e una maggiore produzione di urina, con conseguente riduzione del livello di urea nel sangue e, quindi, nel latte.

Infine, teniamo presente, parlando di sensoristica in allevamento e possibile comparazione dei risultati analitici ottenuti con metodi di laboratorio, le differenti prestazioni in termini di capacità di rilevazione e di variabilità dell'errore del metodo (vedi errore standard della media). Nello specifico, i sistemi enzimatici basati sulla conversione dell'urea in ammoniaca danno prestazioni in tal senso migliori rispetto ai sistemi basati sulla riflettanza nel vicino infrarosso; ricordiamo tuttavia l'importanza di poter ottenere tramite quest'ultimo metodo una maggiore frequenza di osservazioni in breve tempo. D'altra parte, la diffusione delle tecniche di analisi chemiometrica con strumentazioni basate sulla spettrometria nel vicino (NIR) o medio (MIR) infrarosso ha già reso disponibile da anni il dato dell'urea tramite il periodico controllo eseguito dall'Associazione Regionale Allevatori.

Applicazioni del contenuto di urea nel latte individuale. Il dato dell'urea individuale va sempre rapportato, in prima battuta, alla fase di lattazione e al livello produttivo della bovina (Jonker et al., 1998). Infatti, l'andamento di tale valore riflette, in condizioni normali, lo stesso andamento che ha la curva di lattazione, differenziandosi come valore assoluto in funzione del livello produttivo. Il valore che si ottiene è determinato dal livello di ingestione di proteina nel corso della giornata. In seconda battuta, dal punto di vista operativo, il miglior modo di gestire e considerare tale dato, quale verifica della adeguatezza degli apporti proteici alimentari, è quello di gruppo, perché praticamente è al gruppo di bovine che viene distribuita una determinata dieta.

Il livello di urea nel latte viene oggi visto anche in funzione del potenziale impatto ambientale della dieta per un eventuale eccesso di apporti proteici che si ripercuotono in una maggiore escrezione di N nell'ambiente attraverso le deiezioni. Utilizzando l'equazione riportata da Kauffman e St.Pierre (2001) si ottiene il grafico di **Figura 2** che indica la proporzionalità dell'escrezione urinaria di N al crescere del valore di N ureico presente nel latte. Considerando la disponibilità di alcuni sistemi di pesare la bovina a ogni mungitura (ad esempio nel caso di alcuni robot o in alcune sale di mungitura), oggi c'è la possibilità di stimare la quantità di N emesso con le urine da ciascun capo in lattazione. Ma oggi è possibile avere ancora di più, in base alle tecnologie già disponibili e alla conoscenza delle relazioni fisiologiche tra apporti in nutrienti e composti azotati nei fluidi corporei. Infatti, in base a quanto evidenziato da Nousiainen et al. (2004) e ricostruito nel grafico di **Figura 3**, il livello di azoto ureico nel latte ci dà una misura dell'efficienza di utilizzo dell'azoto della dieta per la produzione di proteina del latte; questo elemento, oltre ai risvolti ambientali associati, consente all'allevatore di fare prontamente un conteggio sulla reale convenienza di forzare gli apporti azotati in una dieta per la quale le sue bovine non stanno rispondendo adeguatamente in termini produttivi.

Broderick e Clayton (1997) hanno fornito le equazioni per stimare, partendo dal livello di N ureico del latte, diversi parametri utili nella fase di verifica della formulazione della dieta; tra questi, molto importanti sono l'efficienza di utilizzo dell'azoto per la produzione di latte e l'eccesso di azoto ingerito.

Altri possibili indicatori del latte associati alla nutrizione proteica della bovina

Abbiamo visto come l'azoto ureico ci possa dare informazioni sugli apporti azotati o proteici in modo indifferenziato, senza dirci in quale tratto del sistema digerente (in quale fase del processo digestivo) ci possano essere problemi nel metabolismo azotato stesso.

Da decenni, si sta cercando di capire se alcuni indicatori possono darci una informazione più dettagliata, magari indicando se vi sono inefficienze o problemi a livello di sintesi batteriche ruminali. Capire quanto influiscono le modifiche della dieta sull'attività microbica ruminale potrebbe consentire una formulazione più mirata della dieta stessa, ad esempio concentrando la propria attenzione, più che sugli apporti totali di energia e azoto, su aspetti relativi ai tempi di rilascio, nel tratto digerente, delle componenti azotate ed energetiche. Da questo punto di vista, si è pensato di cercare una relazione tra il livello di escrezione urinaria di derivati delle basi puriniche (principalmente allantoina e acido urico) e il metabolismo microbico ruminale.

Il motivo per cui si è scelta la strada di cercare di quantificare i derivati delle basi azotate è perché queste sono degradate dai batteri ruminali e rappresentano la gran parte degli acidi nucleici che entrano nel duodeno della bovina (Gieseke et al., 1994). Tra questi metaboliti, l'allantoina è il prodotto finale del metabolismo della purina nei ruminanti ed in molte altre specie di mammiferi. Nei ruminanti, la principale quantità di allantoina urinaria è derivata dagli acidi nucleici dei microbi ruminali. Tuttavia, la standardizzazione di un metodo pratico di campionamento delle urine in allevamento, senza dare disagio alle bovine, non è facile da impostare. Da questo punto di vista, il latte è considerato il mezzo ideale per l'analisi della allantoina perché facilmente campionabile senza disturbare la bovina; inoltre, avvenendo ad orari tendenzialmente fissi, il valore dei metaboliti del latte tende ad essere naturalmente più standardizzabile. Esistono ormai diversi studi che hanno esplorato questa possibilità (Gieseke et al., 1994). Di più facile determinazione dell'allantoina è un'altra molecola coinvolta in tale metabolismo: **l'acido urico**. Il problema che riguarda l'interpretazione di tale dato è collegato al fatto che la sua presenza nel latte è dovuta anche a una grande quota di sintesi mammaria.

Nell'ambito del progetto DIM4ZOO, a scopo puramente dimostrativo, si è cercato di trovare una possibile relazione tra il livello di acido urico nel latte e altre variabili fisiologiche e produttive della bovina, per capire se fosse possibile

umentare il livello di informazione per la gestione della dieta. Per questo, abbiamo controllato 16 bovine ad alta produzione (media 41,5 kg capo⁻¹ giorno⁻¹), di differente ordine di parto (da 1 a 5) e in diversa fase di lattazione (da 18 a 364 giorni di lattazione). Dalle nostre osservazioni, condotte per preparare gli eventi dimostrativi riguardanti il monitoraggio del tempo di ruminazione nel corso della giornata, non è stato possibile evidenziare un rapporto significativo tra il livello di acido urico nel latte e il tempo medio di ruminazione del singolo animale. Abbiamo anche cercato di attuare una correzione in funzione di altri fattori collegati alla bovina (numero parti, stadio di lattazione e livello produttivo) nonché del livello di creatinina nello stesso campione di latte per rapportare l'acido urico all'escrezione di tale metabolita, ma il risultato non consente di trarre, per ora, chiare indicazioni per un suo trasferimento pratico. Tuttavia, è risultato interessante rilevare come il rapporto tra acido urico e creatinina nel latte risenta dello stadio di lattazione, con una progressiva riduzione di tale rapporto al procedere della lattazione stessa. Questo tipo di indagine merita, secondo noi, ulteriori sforzi per cercare di ottenere nuove informazioni dal latte.

Il controllo dello stato energetico

Tra le analisi tradizionali dei macrocomponenti del latte, il rapporto tra grasso e proteina fornisce, da tempo, una buona indicazione del rischio di problemi metabolici nella bovina, che può consentire una azione di prevenzione di differenti patologie che possono giungere sino alla dislocazione dell'abomaso.

Gli studi sul rapporto **grasso:proteina** si riferiscono a un'epoca in cui il riferimento utile, dal punto di vista gestionale, poteva essere quello del dato ottenibile dal primo controllo funzionale dopo il parto. Oggi è possibile avere un monitoraggio più frequente (quindi, con una maggiore probabilità di attivare azioni preventive in tempo utile) grazie ai sistemi di analisi immediata in-line.

Quando si ha un rapporto grasso:proteina maggiore di 1,5 si ha una forte perdita di riserve adipose. Le vacche che si trovano in questa situazione sono a maggiore rischio di chetosi, dislocazione dell'abomaso, cisti ovariche, problemi podali e mastiti, cui si associa un ovvio peggioramento delle prestazioni riproduttive, anche se la produzione per se' risulta maggiore rispetto agli altri capi perché sostenuta, appunto, da un forte (eccessivo) ricorso alle risorse corporee. Se in corrispondenza dei risultati del controllo funzionale mensile mettiamo in un grafico il livello di grasso, proteina, il loro rapporto e il contenuto in urea del latte rispetto alla produzione di latte stesso, così come se mettiamo il contenuto di urea in rapporto a quello della proteina, abbiamo facilmente una lettura di quello che è il bilancio in nutrienti delle nostre bovine.

Bovine che al primo controllo funzionale hanno un rapporto grasso:proteina elevato sono 8 volte più a rischio di dislocazione dell'abomaso rispetto alle altre bovine che hanno valori nella norma. Inoltre, tali capi sono soggetti a una successiva maggiore perdita di condizione corporea nel periodo successivo. Tutto questo è determinato da un alto livello di sintesi lipidica nella mammella. Per tenere monitorato questo fenomeno, è importante osservare che il rapporto grasso:proteina non vada oltre i valori tra 1,35 e 1,50, perché questo vorrebbe dire che la bovina sta andando incontro a una situazione di carenza energetica e un conseguente elevato rischio di disturbi metabolici (Heuer et al., 1999). Potendo utilizzare, come oggi è possibile, i dati della bovina (settimana di lattazione, ordine di parto, produzione latte) in contemporanea a una stima di grasso, proteina, ma soprattutto del rapporto grasso:proteina, si riesce a spiegare la gran parte delle variazioni nel suo bilancio energetico (Heuer et al., 2000).

Ricordiamo anche come il rapporto tra grasso e proteina sia utile fonte di informazioni quando è troppo basso; ad esempio, si considera che un valore attorno allo 0,9 sia un indice di una dieta acidogena.

La possibilità di utilizzare pienamente il potenziale, offerto dai modelli matematico-statistici, di stimare il bilancio energetico del singolo animale ha, oggi, un interessante sbocco nella possibile adozione di modelli di organizzazione e gestione dei gruppi di alimentazione della nostra stalla che ci consentono di ottimizzare anche la gestione economica degli stessi. Oggi, infatti, è possibile realizzare gruppi di alimentazione che, mediante tecniche statistiche di clusterizzazione delle bovine (vale a dire del loro raggruppamento in base alla massima somiglianza dei fabbisogni nutritivi, in termini di densità della dieta in nutrienti), permettono di realizzare un maggior profitto complessivo al netto delle spese di alimentazione (*income over feed cost*, IOFC), come evidenziato da Wu et al. (2019).

A questa diagnostica sul latte, è sempre stata affiancata quella sul sangue mediante la determinazione di attività enzimatiche quali l'AST (una transaminasi) e la determinazione del livello dei corpi chetonici. Già da tempo, in Lombardia, il laboratorio dell'Associazione Regionale Allevatori (ARA Lombardia) fornisce, in occasione dei controlli funzionali, i valori delle concentrazioni di acetone e betaidrossibutirrato (**BHB**), due corpi chetonici la cui presenza nel latte è associata a un eccesso di ricorso alle riserve energetiche corporee, a indicare uno stato di carenza negli apporti energetici con la dieta. Chiaramente, non è sempre possibile che il controllo funzionale cada nel periodo di maggiore rischio metabolico, che si colloca generalmente nelle prime due settimane dopo il parto. La possibilità che oggi è fornita dalla sensoristica associata a certi sistemi di mungitura consente di avere un costante monitoraggio, proprio nel momento di maggiore rischio, giorno per giorno, di questi metaboliti, BHB in particolare. Fino a pochi anni fa, il dibattito della ricerca si concentrava sulla adozione di soglie di BHB nel latte (100 vs 200 mcml/L) per evidenziare la presenza di un serio rischio di dismetabolie. Nei sistemi automatizzati oggi forniti, il risultato della singola determinazione viene

direttamente valutato entro un modello animale che il sistema adotta e associa, in relazione alle altre caratteristiche della bovina, alla presenza di un effettivo rischio specifico sulla singola bovina, considerando tutte le sue caratteristiche individuali. Oggi, non solo siamo in grado di prevenire problemi “estremi” per la bovina, ma siamo in grado di rilevare quella che nei nostri animali può essere una situazione subdola, la chetosi subclinica, che può sfociare in problemi più gravi. Si è stimato che la chetosi subclinica in quanto tale possa determinare, nei primi due mesi di lattazione, perdite di latte da 1 a 4 kg/d. È in tale periodo che si ha il 90% dei casi di chetosi subclinica e ben il 10-30% dei capi può esserne soggetto già nella prima settimana postparto (Geishauser et al., 2000).

Le nuove frontiere: cosa ci dice il profilo acidico del grasso

Grazie alla evoluzione continua delle metodiche di analisi spettrometriche nel vicino e medio infrarosso, oggi è possibile avere una stima del peso che le diverse categorie di acidi grassi hanno nella composizione dei lipidi. Da tali dati, possiamo ottenere importanti informazioni.

Gli acidi grassi di nuova sintesi (da C4 a C14) sono quelli che sono sintetizzati dalla mammella della bovina utilizzando i precursori acetato (C2) e butirato (C4) che provengono dalla circolazione sanguigna e che derivano dalle fermentazioni degli alimenti fibrosi nel rumine (Woolpert et al., 2017). Vi è una quota di acidi grassi misti (C16) che possono in parte derivare anch'essi dalla neosintesi o possono derivare direttamente dalla circolazione perché preformati e depositati in altri organi; da questi acidi grassi, proprio per la loro origine incerta, è difficile trarre informazioni, come vedremo. Poi vi sono gli acidi grassi cosiddetti preformati (\geq C18) che arrivano alle cellule mammarie dalla circolazione sanguigna e sono originati dai tessuti dell'intestino, del fegato o dal tessuto adiposo (Woolpert et al., 2017).

Già da tempo, in Lombardia, nelle analisi effettuate sul latte in occasione dei controlli funzionali vengono determinate le percentuali di acidi grassi saturi (SFA), insaturi (UFA) e, tra questi, la quota di monoinsaturi (MUFA) e polinsaturi (PUFA). I rapporti reciproci tra le diverse famiglie di acidi grassi possono fornire indicazioni sulla risposta della fisiologia e del rumine delle nostre bovine, sapendo come gli acidi grassi saturi siano fondamentalmente di nuova sintesi da parte della bovina e siano associati al livello di attività batteriche ruminali.

La disponibilità di strumentazioni basate sulla spettrometria nel medio infrarosso ha consentito, in questi anni, di sviluppare stime in tempo reale della composizione acidica del grasso del latte, con buona affidabilità soprattutto per il dato aggregato di ciascuna famiglia di acidi vista sopra. In questo modo, possiamo associare il risultato analitico alle condizioni che lo hanno determinato e poter rilevare, dal punto di vista zootecnico, quali elementi hanno determinato il nostro risultato. In particolare, chi per primo ha applicato tale approccio a rilievi zootecnici su più allevamenti ha potuto associare alti livelli di acidi grassi di neosintesi con una distribuzione di alimento fresco 2 volte al giorno anziché 1, così come in situazioni di densità di allevamento contenuta rispetto a quelle caratterizzate da sovraffollamento e in situazioni in cui è garantita una buona disponibilità di spazio alla mangiatoia rispetto a situazioni in cui lo spazio per capo è minore (Woolpert et al., 2017).

Da quanto visto, dunque, dal latte possono derivare informazioni che sono a supporto non solo della composizione della dieta, ma anche della correttezza complessiva delle modalità operative con cui è gestita e distribuita.

In **Figura 4** vediamo come dal latte possano arrivare dati e informazioni (per essere incorporati e analizzati in un sistema informativo che riguarda tutti gli aspetti di gestione della mandria) in grado di supportare le decisioni riguardanti la dieta delle bovine e la sua formulazione.

In questo quadro, come abbiamo visto sempre nel progetto DIM4ZOO e in particolare nel video dedicato alla valutazione rapida degli alimenti (insilato in particolare), è necessario avere una precisa conoscenza della composizione e delle caratteristiche chimico-fisiche degli alimenti impiegati, soprattutto di quelli più variabili come i foraggi.

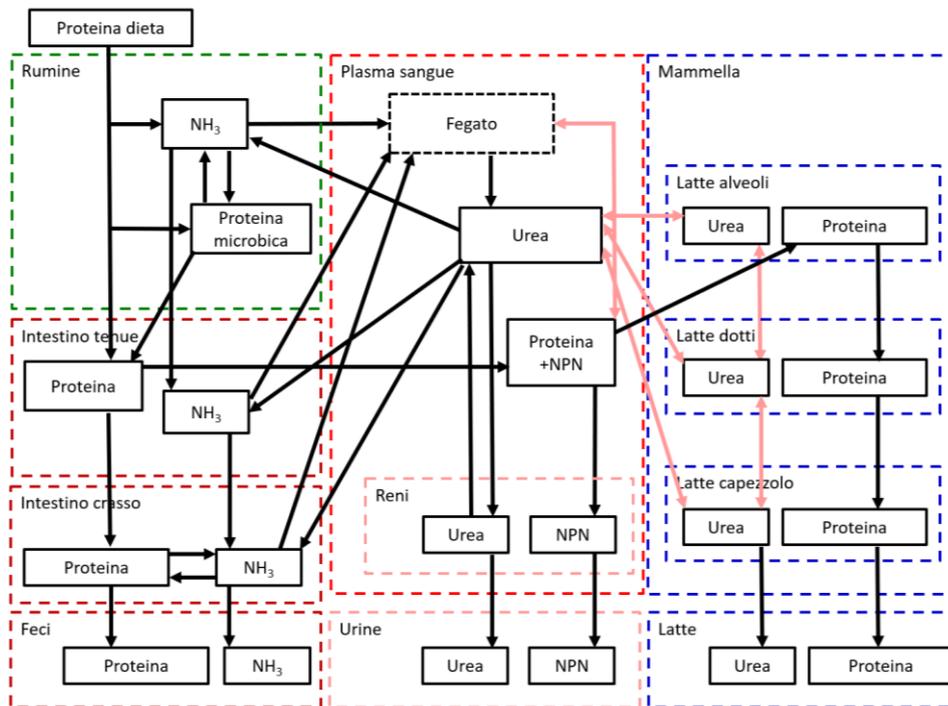


Figura 1. Illustrazione del metabolismo dell'azoto in relazione alla formazione ed escrezione di urea nella bovina da latte (modificato da Spek et al., 2013).

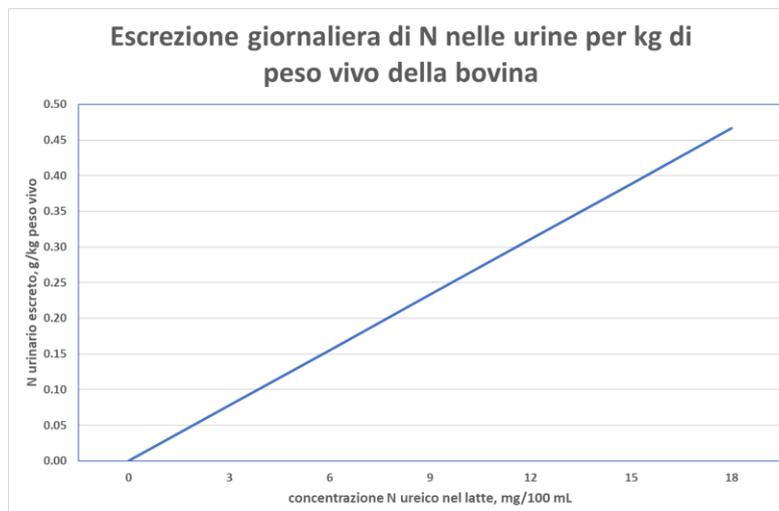


Figura 2. Relazione esistente tra la concentrazione di azoto (N) ureico nel latte e l'azoto escreto nelle urine dalla bovina (ottenuto dalle formule di Kauffman e St.Pierre, 2001).

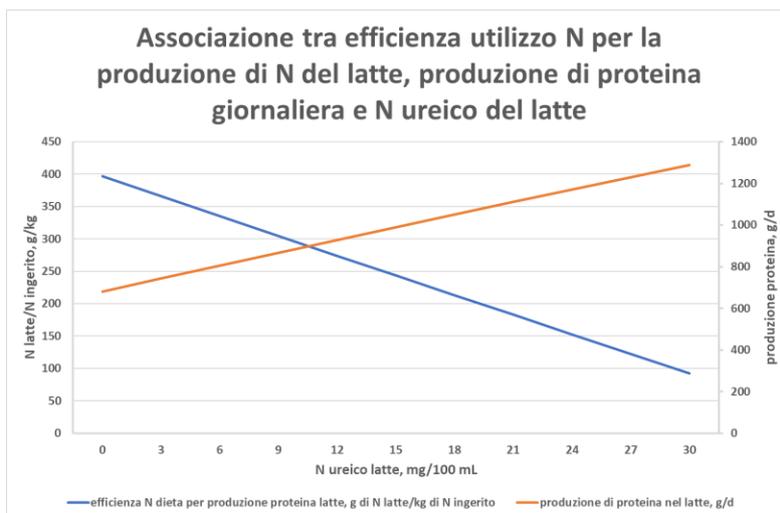


Figura 3. Associazione tra contenuto di azoto (N) ureico nel latte, efficienza di utilizzazione dell'azoto per la produzione di azoto nel latte e la produzione giornaliera di proteina (ottenuto secondo le formule di Nousiainen et al., 2004).

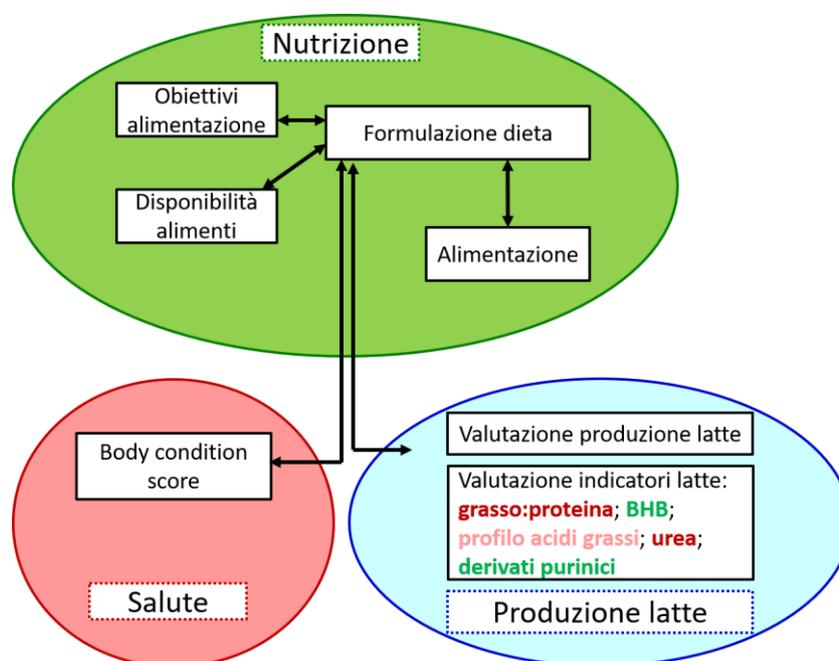


Figura 4. Rappresentazione schematica delle possibili relazioni tra le informazioni generate dalla sensoristica applicata al latte e il pronto riscontro operativo attuabile nella dieta per adeguarla secondo le informazioni stesse (adattato da Pietersma et al., 1998).

Riferimenti bibliografici

- Broderick G.A., Clayton M.K. (1997). A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci.* 80, 2064-2071
- Geishauser T., Leslie K., Tenhag J., Bashiri A. (2000). Evaluation of eight cow-side ketone tests in milk for detection of subclinical ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83, 296-299
- Giesecke D., Ehrentreich L., Stangassinger M., Ahrens F. (1994). Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77, 2376-2381
- Heuer C., Schukken Y.H., Dobbelaar P. (1999). Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.* 82, 295-304
- Heuer C., Van Straalen W.M., Schukken Y.H., Dirkwager A., Noordhuizen J.P.T.M. (2000). Prediction of energy balance in a high yielding dairy herd in early lactation: model development and precision. *Livestock Production Science* 65, 91-105
- Jonker, J. S., R. A. Kohn, and R. A. Erdman. 1998. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:2681–2692
- Kauffman, A. J., and N. R. St-Pierre. 2001. The relationship of milk urea nitrogen to urine nitrogen excretion in Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 84:2284–2294.
- Nousiainen J., Shingfield K.J., Huhtanen P. (2004). Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. *J. Dairy Sci.* 87, 386-398
- Pietersma D., Lacroix R., Wade K.M. (1998). A framework for the development of computerized management and control systems for use in dairy farming. *J Dairy Sci* 81, 2962-2972
- Spek, J. W., J. Dijkstra, G. Van Duinkerken, and A. Bannink (2013). A review of factors influencing milk urea concentration and its relationship with urinary urea excretion in lactating dairy cattle. *J. Agric. Sci.* 151, 407-423 doi:10.1017/S0021859612000561
- Woolpert M.E., Dann H.M., Cotanch K.W., Melilli C., Chase L.E., Grant R.J., Barbano D.M. (2017). Management practices, physically effective fiber, and ether extract are related to bulk tank de novo fatty acid concentration on Holstein farms. *J. Dairy Sci.* 100, 5097-5106. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12046>
- Wu Y., Liang D., Shaver R.D., Cabrera V.E. (2019). An income over feed cost nutritional grouping strategy. *J. Dairy Sci.* 102, 4682-4693 <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15302>