

The Effect of Adding Rumen-Protected L-Carnitine to the Transition Diet of Holstein Cows Containing Dry- or Moist-Processed Ground Barley and Corn Grains

Mohammad Amin Mehrjerdi ¹, Mohsen Danesh Mesgaran ^{1*}, Seyed Alireza Vakili ¹, Abdolmansour Tahmasebi ¹

1-Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Corresponding Author's Email: danesh@um.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/IJASR.2026.100171.1325>

Introduction: The transition period, spanning approximately three weeks before to three weeks after parturition, represents the most physiologically demanding phase of the lactation cycle in high-producing dairy cows. During this period, cows simultaneously confront negative energy balance, extensive adipose tissue mobilization, oxidative stress, and a transient systemic inflammatory response, all of which can compromise metabolic adaptation, animal welfare, and subsequent lactational performance. Nutritional strategies capable of improving ruminal starch fermentability and hepatic fatty acid oxidation during this critical window are therefore of considerable practical interest. Among such strategies, moisture-based grain processing (as opposed to conventional dry grinding) and dietary supplementation with rumen-protected L-carnitine have each been shown, independently, to influence starch digestibility, energy metabolism, and inflammatory status; however, information regarding their combined and potentially interactive effects remains limited. The present study was therefore designed to evaluate the effects of two barley and corn grain processing methods (dry-ground versus moistened) combined with rumen-protected L-carnitine supplementation (unsupplemented versus supplemented) on productive performance, milk composition, milk fatty acid profile, blood biochemical parameters, and inflammatory biomarkers in transition Holstein dairy cows.

Materials and Methods: Sixty multiparous Holstein cows, with an average previous 305-day milk yield of 10,800 kg, body weight of 727 ± 40 kg, and parity of 3 ± 0.2 , were enrolled in a 2×2 factorial arrangement of treatments from four weeks before to four weeks after calving. The four dietary treatments were: (1) dry-ground barley and corn without L-carnitine (Dry-LC), (2) dry-ground barley and corn with rumen-protected L-carnitine (Dry+LC), (3) moistened barley and corn without L-carnitine (Wet-LC), and (4) moistened barley and corn with rumen-protected L-carnitine (Wet+LC). Rumen-protected L-carnitine (Carneon 20 Rumen Pro) was top-dressed at 100 g/cow/day. Data on dry matter intake, milk yield, milk composition, milk fatty acid concentrations, and weekly blood biochemical profiles were collected throughout the trial, while blood samples for inflammatory and gene-expression analyses were obtained on days -7, +7, and +14 relative to calving. All repeated-measures data were analyzed using the MIXED procedure of SAS with cow nested within treatment as the random effect and time as the repeated factor.

Results and Discussion: Cows fed moistened grains, particularly those receiving Wet+LC, exhibited significantly higher concentrations of milk protein, casein, non-protein nitrogen, lactose, total solids, and solids-not-fat than cows receiving the dry-ground grain treatments (Dry-LC and Dry+LC) ($P < 0.05$). Daily yields of fat, protein, lactose, total solids, and solids-not-fat, as well as 3.5% fat-corrected milk (FCM) and energy-corrected milk (ECM), were greatest in cows receiving Wet+LC, which may be related to improved nutrient availability and energy utilization associated with grain processing and L-carnitine supplementation. Although the main effect of treatment did not significantly alter the concentrations of trans, cis, saturated, or monounsaturated milk fatty acids, all fatty acid groups displayed significant treatment $\times$ time interactions, indicating that the ruminal biohydrogenation response evolved dynamically over the course of the trial rather than differing consistently between treatments. Blood glucose and cholesterol concentrations were highest in cows fed the moistened-grain treatments (Wet-LC and Wet+LC), consistent with increased ruminal propionate production and enhanced hepatic gluconeogenesis, whereas L-carnitine supplementation reduced circulating VLDL and ALT activity, suggesting improved hepatic lipid handling and reduced hepatocellular stress. Importantly, cows receiving Wet+LC exhibited the lowest circulating concentrations of tumor necrosis factor-

alpha, interleukin-1 beta, haptoglobin, and serum amyloid A, indicating an attenuated systemic inflammatory response, likely mediated through improved energy status, reduced non-esterified fatty acid mobilization, and enhanced mitochondrial fatty acid oxidation capacity. Notably, milk somatic cell count remained unaffected by treatment, confirming that the observed improvements in milk composition and yield were attributable to metabolic and nutritional factors rather than changes in mammary gland health status.

Conclusion: These findings indicate that moisture-based grain processing, particularly when combined with rumen-protected L-carnitine (MG+LC), was associated with improvements in lactational performance, selected indicators of energy metabolism, and inflammatory status in transition Holstein dairy cows. The greater milk component yields and improved metabolic and inflammatory profiles observed with MG+LC suggest potential benefits of this dietary strategy during the transition period; however, these responses should not be interpreted as evidence of a synergistic interaction between grain processing and L-carnitine supplementation. Further studies are warranted to clarify the potential interaction between these nutritional strategies and to determine their long-term effects on reproductive performance, metabolic health, and overall herd productivity.

Keywords: Grain processing, Holstein dairy cow, Inflammatory response, L-carnitine, Milk composition, Transition period

تأثیر افزودن ال-کارنیتین عبوری به جیره دوره انتقال گاوهای هلستاین حاوی دانه‌های آسیاب‌شده جو و ذرت با رطوبت متفاوت (خشک یا مرطوب)

محمد امین مهرجردی^۱، محسن دانش مسگران^{۱*}، سید علیرضا وکیلی^۱، عبدالمنصور طهماسبی^۱

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

danesh@um.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/IJASR.2026.100171.1325>

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثرات هم‌زمان نوع فرآوری دانه‌های جو و ذرت (آسیاب‌شده در مقابل مرطوب‌شده) و افزودن ال-کارنیتین عبوری بر عملکرد تولیدی، ترکیب شیر، پروفایل اسیدهای چرب شیر، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و برخی شاخص‌های التهابی گاوهای هلستاین در دوره انتقال طراحی و اجرا شد. در این آزمایش، ۶۰ رأس گاو هلستاین به‌صورت تصادفی در چهار تیمار آزمایشی گروه‌بندی شدند. بر این اساس، گاوها به‌طور تصادفی به یکی از چهار تیمار آزمایشی اختصاص یافتند که شامل: تیمار ۱: دانه‌های خشک آسیاب‌شده بدون ال-کارنیتین (Dry-LC)؛ تیمار ۲: دانه‌های خشک آسیاب‌شده همراه با ال-کارنیتین (Dry+LC)؛ تیمار ۳: دانه‌های مرطوب بدون ال-کارنیتین (Wet-LC)؛ و تیمار ۴: دانه‌های مرطوب همراه با ال-کارنیتین (Wet+LC) بودند. ال-کارنیتین عبوری در گروه‌های مربوطه به‌صورت سرک بر روی جیره پایه افزوده شد. داده‌های حاصل با استفاده از در قالب طرح کاملاً تصادفی با اندازه‌گیری‌های مکرر تجزیه و تحلیل شدند و اثر تیمار، زمان و برهم‌کنش تیمار × زمان مورد بررسی قرار گرفت. گاوها از چهار هفته پیش از زایش تا چهار هفته پس از زایش با خوراک‌های آزمایشی تغذیه شدند. اندازه‌گیری‌های مربوط به صفات مورد مطالعه در چند مرحله زمانی انجام شد و داده‌ها با استفاده از مدل اندازه‌گیری‌های تکراری در زمان مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج نشان داد که غلظت پروتئین، کازئین، لاکتوز، مواد جامد کل و مواد جامد بدون چربی شیر در تیمار Wet+LC به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$) و بیشترین تولید روزانه مواد مغذی شیر، شیر تصحیح‌شده بر اساس چربی (FCM) و شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی (ECM) نیز در این تیمار مشاهده شد. غلظت اسیدهای چرب اندازه‌گیری‌شده شیر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما اثر متقابل زمان × تیمار برای این شاخص‌ها معنی‌دار بود. در میان فراسنجه‌های خونی، غلظت گلوکز و کلسترول در تیمار Wet-LC افزایش یافت، در حالی که فعالیت آنزیم ALT و غلظت VLDL در تیمارهای Dry+LC و Wet+LC کاهش یافت. علاوه بر این، کمترین غلظت فاکتور نکروز توموری آلفا، اینترلوکین-۱، بتا، هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A در تیمار Wet+LC مشاهده شد. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن ال-کارنیتین به جیره حاوی دانه‌های مرطوب، به نظر می‌رسد بتواند برخی فاکتورهای التهابی اندازه‌گیری‌شده را کاهش و برخی فراسنجه‌های متابولیکی خون را تحت تأثیر قرار دهد و موجب افزایش تولید شیر و برخی اجزای آن شود.

واژگان کلیدی: ال-کارنیتین، ترکیب شیر، دوره انتقال، فرآوری غلات، فراسنجه‌های التهابی خون، گاو شیری هلستاین

مقدمه

دوره انتقال، که از سه هفته پیش تا سه هفته پس از زایش را در بر می‌گیرد، حیاتی‌ترین مرحله در سلامت، تولید و سودآوری گاو شیری است (Drackley, 1999). در این دوره، گاو به‌طور هم‌زمان با توازن منفی انرژی، بسیج شدید ذخایر چربی بدن و پاسخ التهاب سیستمیک مواجه است که می‌تواند خطر ابتلا به اختلالات متابولیکی را افزایش داده و عملکرد گله را کاهش دهد (Sordillo & Raphael, 2013). ال-کارنیتین، آمینی

چهارتایی و محلول در آب، با انتقال اسیدهای چرب با زنجیره بلند از سیتوزول به میتوکندری و تسهیل β -اکسیداسیون، نقش محوری در استفاده انرژی گاو حوالی زایش دارد. کارلسون و همکاران (Carlson et al., 2007) نشان دادند که تزریق ال-کارنیتین غلظت کارنیتین کبدی را افزایش داده و ظرفیت β -اکسیداسیون اسیدهای چرب زنجیره بلند در کبد را تقویت می‌کند؛ اثری که مستقیماً به کاهش تجمع چربی کبدی و بروز کتوز مرتبط است. این ارتباط مکانیستی در سطح گله نیز تأیید شده است؛ در مطالعه‌ای بر گاوهای هلشتاین پرتولید، مصرف ال-کارنیتین عبوری در دوره انتقال غلظت پلاسمایی اسیدهای چرب غیراستریفیه را کاهش داد، شیر تصحیح‌شده بر اساس چربی و انرژی را افزایش داد، و غلظت هاپتوگلوبین پلازما به‌عنوان یک پروتئین فاز حاد مثبت و شاخص مستقیم پاسخ التهابی را در روزهای ۷ و ۱۴ پس از زایش به‌طور معنی‌داری کاهش داد (Danesh Mesgaran et al., 2021). با این حال، در شرایط چالش التهابی، اثر مکمل‌سازی ال-کارنیتین بر بیان ژن‌های متابولیسم چربی کبدی همیشه یکسان نبوده (Alaedin et al., 2021) و مطالعات متابولومیکس کبدی نیز نشان داده‌اند که پاسخ ال-کارنیتین به چالش‌های التهابی به وضعیت انرژی در دسترس گاو وابسته است (Xu et al., 2022)؛ نکته‌ای که اهمیت بررسی هم‌زمان ال-کارنیتین در کنار عاملی که مستقیماً وضعیت انرژی در دسترس را تعیین می‌کند.

از سوی دیگر، جو و ذرت به‌عنوان منابع اصلی انرژی بخش کنسانتره، بسته به روش فرآوری فیزیکی، الگوی متفاوتی از سرعت و محل تجزیه نشاسته ایجاد می‌کنند. نوسک و تامینگا (Tamminga, 1991 & Nocek) در مروری جامع نشان دادند که محل و سرعت تجزیه نشاسته در دستگاه گوارش گاو شیری مستقیماً بازده شیر و ترکیب آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد؛ آسیاب بیش از حد ریز با افزایش سرعت تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای، خطر اسیدوز تحت‌حاد را افزایش داده و می‌تواند اثر معکوس بر مصرف خوراک و تولید شیر داشته باشد. آف‌نر و همکاران (Offner et al., 2003) تأیید کردند که رطوبت و اندازه ذره دو عامل تعیین‌کننده در سرعت تجزیه‌پذیری مؤثر نشاسته دانه‌های غله‌اند؛ به این معنا که افزودن رطوبت به دانه آسیاب‌شده (آبگیری) می‌تواند الگوی تجزیه‌پذیری را نسبت به آسیاب خشک صرف تغییر دهد. محمد و همکاران (Mohammed et al., 2010) با مقایسه جو و ذرت به دو صورت آردی (ground) و پوست‌کنده خشک (dry rolled) نشان دادند که سرعت تجزیه‌پذیری نشاسته میان تیمارها تا هفت برابر تفاوت داشت، این تفاوت حداقل pH شکمبه، مدت‌زمان pH زیر ۵/۸ و درصد و بازده چربی شیر را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد. این زنجیره شواهد نشان می‌دهد که روش فرآوری دانه، از طریق تغییر سرعت تولید اسیدهای چرب فرار و ریسک اسیدوز تحت‌حاد، می‌تواند به همان متغیرهای تولیدی، ترکیب شیر و از مسیر سلامت شکمبه و التهاب موضعی ناشی از اسیدوز شاخص‌های التهابی خونی اثر بگذارد که ال-کارنیتین نیز بر آن‌ها مؤثر است. بنابراین، هدف این پژوهش بررسی اثر دو روش فرآوری دانه‌های جو و ذرت (آسیاب خشک در برابر مرطوب‌سازی پس از آسیاب) و مکمل‌سازی با ال-کارنیتین عبوری بر عملکرد تولیدی، ترکیب شیر، پروفایل اسیدهای چرب شیر، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و برخی شاخص‌های التهابی خون گاوهای هلشتاین در دوره انتقال بود.

مواد و روش

حیوانات آزمایشی و تیمارها

در این آزمایش، تعداد ۶۰ رأس گاو شیری نژاد هلشتاین با میانگین تولید شیر ۳۰۵ روزه در شیردهی قبلی ۱۰۸۰۰ کیلوگرم، میانگین وزن بدن ۴۰۰ ± ۷۲۷ کیلوگرم، میانگین شکم زایش ۰/۲ ± ۳ و میانگین ۳ ± ۲۵۰ روز آبستنی انتخاب شدند. پیش از آغاز آزمایش، تمامی دام‌ها از نظر وضعیت سلامت عمومی توسط دامپزشک معاینه و تأیید شدند. دوره آزمایش به مدت ۸ هفته، شامل چهار هفته پیش از زایش تا چهار هفته پس از زایش، به اجرا درآمد. بر این اساس، گاوها به‌طور تصادفی به یکی از چهار تیمار آزمایشی اختصاص یافتند که شامل: تیمار ۱: دانه‌های خشک آسیاب‌شده بدون ال-کارنیتین (Dry-LC)؛ تیمار ۲: دانه‌های خشک آسیاب‌شده همراه با ال-کارنیتین (Dry+LC)؛ تیمار ۳: دانه‌های مرطوب بدون ال-کارنیتین (Wet-LC)؛ و تیمار ۴: دانه‌های مرطوب همراه با ال-کارنیتین (Wet+LC) بودند. دانه‌های جو و ذرت در تیمار آسیاب‌شده با استفاده از آسیاب مجهز به توری با مش ۲ فرآوری شدند. در تیمار مرطوب، دانه‌ها با استفاده از آسیاب مجهز به توری با مش ۴ فرآوری شدند. سپس با افزودن ۳۸ درصد آب و انجام فرآیند مرطوب‌سازی مورد استفاده قرار گرفتند ال-کارنیتین عبوری (Kaesler: Carneon 20 Rumen Pro؛ Germany, Cuxhaven, Nutrition GmbH) به میزان ۱۰۰ گرم به ازای هر رأس در روز به‌صورت سرک بر روی جیره پایه افزوده شد. جیره‌های آزمایشی بر اساس توصیه‌های شورای ملی تحقیقات (NRC, 2001) و متناسب با نیازهای تغذیه‌ای گاوهای شیری در دوره انتقال تنظیم شدند تا از تأمین کامل احتیاجات غذایی دام‌ها در طول اجرای آزمایش اطمینان حاصل شود. گاوها در طول دوره پیش و پس از زایش در جایگاه‌های انفرادی مرکز تحقیقات پرورش گاو شیری دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد با ظرفیت ۳۲۰ رأس گاو شیرده نگهداری شدند. جیره کاملاً

مخلوط سه بار در روز در ساعات ۰۶:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۲۲:۰۰ به صورت آزاد (ad libitum) در اختیار دامها قرار گرفت و آب آشامیدنی نیز به طور آزادانه در دسترس بود. اجزای تشکیل دهنده خوراک و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در دوره‌های پیش و پس از زایش در جدول ۱ ارائه شده است.

نمونه‌برداری و آنالیز خوراک

به منظور تعیین ترکیب شیمیایی جیره‌ها، نمونه‌های خوراک و باقیمانده خوراک به صورت روزانه و نمونه‌های اجزای خوراک به صورت هفتگی جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها در آن با گردش هوای اجباری در دمای ۵۵ تا ۷۲ درجه سانتی‌گراد خشک، سپس با آسیاب وایلی آسیاب و از الک یک میلی‌متری عبور داده شدند. ماده خشک و خاکستر به ترتیب مطابق استانداردهای ISO 5984 و ISO 6496 تعیین شدند. نیتروژن کل به روش کج‌لدال و با استفاده از دستگاه Kjeltec 2300 Auto Analyzer (Sweden, Höganäs, Foss Tecator AB) اندازه‌گیری و پروتئین خام با ضریب ۲۵/۶ محاسبه شد. نشاسته به روش آنترون-اسید سولفوریک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و اسیدی (ADF) بر اساس روش گورینگ و ون‌سوست تعیین شدند.

تولید و آنالیز ترکیبات شیر

نمونه‌های شیر به صورت هفتگی تا چهار هفته پس از زایش، از سه نوبت دوشش متوالی هر گاو جمع‌آوری و با استفاده از ۲-برومو-۲-نیتروپروپان-۱،۳-دیول نگهداری شدند. نمونه‌ها در آزمایشگاه تجاری Sazan Rojan Alvand Co. (Alborz, Iran) با استفاده از دستگاه تیفسنج مادون قرمز تبدیل فوریه (The Netherlands, Drachten, Delta Instruments, CombiScope FTIR 600 HP:FT-IR) از نظر چربی، پروتئین، لاکتوز، نیتروژن اوره‌ای شیر (MUN)، شمارش سلول‌های سوماتیک (SCC)، مواد جامد بدون چربی (SNF)، کل مواد جامد (TS)، کازئین و نیتروژن غیرپروتئینی (NPN) تجزیه شدند. تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی (ECM) و شیر تصحیح‌شده بر اساس ۵/۳ درصد چربی (FCM) محاسبه شد. برای تعیین ترکیب اسیدهای چرب شیر، نمونه‌های چربی شیر در روز ۲۱ پس از زایش جمع‌آوری شدند. استرهای متیل اسیدهای چرب با روش ترانس‌متیلاسیون تهیه و ترکیب اسیدهای چرب با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Shimadzu GC-2010, Japan, Kyoto) مجهز به آشکارساز یونش شعله‌ای و ستون مویینه سیلیکا ذوب‌شده CP-7489 (100 m × 0/25 mm i.d. × 0/2 μm film) (USA, CA, Walnut Creek, Varian:thickness) تعیین شد.

فراسنجه‌های خونی

نمونه‌های خون چهار ساعت پس از خوراک صبحگاهی، به صورت هفتگی از دو هفته پیش از زایش تا چهار هفته پس از زایش، از ۱۰ رأس گاو به طور تصادفی از هر تیمار جمع‌آوری شدند. نمونه‌گیری از ورید وداج با استفاده از لوله‌های خلأ حاوی EDTA و مطابق روش Greenfield و همکاران انجام شد. نمونه‌ها در ۵۰۰۰ g × به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و پلاسما پس از جداسازی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شد. فراسنجه‌های بیوشیمیایی با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر Alycon اندازه‌گیری شدند. غلظت سرم آمیلوئید A (SAA) با استفاده از کیت Bovine Serum Amyloid A ELISA Kit، فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF-α) با استفاده از کیت Bovine TNF-α ELISA Kit و اینترلوکین-۱ بتا (IL-1β) با استفاده از کیت Bovine IL-1β ELISA Kit و به روش ELISA تعیین شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت و غلظت هر فراسنجه بر اساس منحنی استاندارد محاسبه شد.

آنالیز آماری

تمامی داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از رویه MIXED در نرم‌افزار SAS نسخه ۹٫۴، SAS Institute Inc.، Cary، NC، USA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری‌های مکرر، شامل عملکرد تولیدی، مصرف خوراک، ترکیبات شیر، فراسنجه‌های بیوشیمیایی و شاخص‌های التهابی خون، در قالب طرح کاملاً تصادفی با اندازه‌گیری‌های تکراری در طول زمان تحلیل شدند. در این مدل، تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار × زمان به عنوان اثرات ثابت در نظر گرفته شدند، در حالی که گاو به عنوان واحد آزمایشی و عامل تصادفی در مدل لحاظ شد. زمان نسبت به زایش به عنوان عامل اندازه‌گیری مکرر تعریف گردید. مدل آماری مورد استفاده برای داده‌های اندازه‌گیری‌های تکراری به صورت زیر بود:

$$Y_{ijkl} = \mu + P_i + C_j + T_k + (P \times C)_{ij} + (P \times T)_{ik} + (C \times T)_{jk} + (P \times C \times T)_{ijk} + \text{Cow}(ij) + e_{ijkl}$$

که در آن (Y_{ijkl}) مقدار مشاهده شده، (μ) میانگین کل، (P_i) اثر ثابت روش فرآوری دانه (آسیاب شده یا مرطوب)، (C_j) اثر ثابت مصرف ال-کارنیتین (بدون مصرف یا مصرف)، (T_k) اثر زمان نسبت به زایش، (Cow_{ij}) اثر تصادفی گاو درون هر تیمار و (e_{ijkl}) خطای تصادفی آزمایش است.

جدول ۱- ترکیب اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی گاو هلشتاین در دوره انتقال

Table 1- Ingredient and Chemical Composition of Diets Fed to Holstein Cows During the Transition

Period		
اجزاء جیره (درصد ماده خشک) Diet Ingredients (% of DM)	جیره تازه زا Fresh Postpartum	جیره قبل از زایش Close-up (Pre-calving)
سیلاژ ذرت Corn silage	27.6	38.1
کاه گندم Straw	2	7.2
یونجه Alfalfa hay	22.7	18.3
ذرت Corn grain	12	4
جو Barley	12.7	14.2
کنجاله سویا Soybean meal	12	11.1
سبوس گندم Wheat bran	8	2.5
بنتونیت Bentonite	0.22	0
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	0.26	0
ویتامین A Vitamin A	0.22	0.28
ویتامین D Vitamin D	0.22	0.34
ویتامین ای و سلنیوم Vitamin E + Selenium	0.30	0.57
مواد معدنی Mineral premix	0.82	0.6
سدیم بی کربنات Sodium bicarbonate	0.52	0
منیزیم اکسید Magnesium oxide	0.07	0
ال کارنیتین L-carnitine	-	-
مکمل انیونیک Anionic supplement	-	2.4
ترکیب شیمیایی		

Chemical Composition		
انرژی متابولیسمی (مگا کالری بر کیلوگرم ماده خشک)	2.53	2.4
Metabolizable Energy (Mcal/kg DM)		
پروتئین خام (درصدی از ماده خشک)	15.26	14.47
Crude Protein (% of DM)		
عصاره اتری (درصدی از ماده خشک)	2.8	2.7
Ether Extract (% of DM)		
الیاف نامحلول در شوینده خنی (درصدی از ماده خشک)	34.8	41.9
NDF (% of DM)		
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصدی از ماده خشک)	20.7	26.1
ADF (% of DM)		
نشاسته (درصدی از ماده خشک)	27.6	22.1
Starch (% of DM)		
خاکستر (درصدی از ماده خشک)	7.99	9.6
Ash (% of DM)		

نتایج و بحث

تولید و ترکیب شیر

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر ترکیب شیر و تولید روزانه اجزای شیر در جدول ۲ ارائه شده است. غلظت چربی شیر تحت تأثیر اثر اصلی تیمار قرار نگرفت، اما اثر متقابل تیمار $\times$ زمان معنی دار بود ($P < 0.003$)؛ در مقابل، غلظت پروتئین و نیتروژن غیرپروتئینی شیر تحت تأثیر تیمار قرار گرفت. بیشترین غلظت پروتئین شیر در Wet-LC مشاهده شد. همچنین، غلظت NPN در Wet-LC و Wet+LC بیشتر بود. افزایش غلظت پروتئین شیر در Wet-LC می تواند با افزایش قابلیت دسترسی نشاسته و بهبود تخمیر شکمبه ای آن مرتبط باشد. فرآوری مرطوب غلات با افزایش دسترسی نشاسته برای میکروارگانیسم های شکمبه می تواند تخمیر نشاسته و سنتز پروتئین میکروبی را افزایش داده و در نتیجه، عرضه اسیدهای آمینه قابل جذب به روده را بهبود بخشد (Theurer et al., 1999; Yang et al., 2000). به نظر می رسد فرآوری مرطوب غلات در Wet-LC از طریق افزایش قابلیت استفاده از نشاسته و فراهمی پیش سازهای پروتئینی، سبب افزایش غلظت پروتئین شیر نسبت به سایر تیمارها شده باشد.

غلظت کازئین شیر نیز تحت تأثیر تیمار ($P < 0.01$)، زمان ($P < 0.02$) و اثر متقابل تیمار $\times$ زمان ($P < 0.03$) قرار گرفت و بیشترین مقدار عددی آن در Wet-LC مشاهده شد. این پاسخ با افزایش غلظت پروتئین شیر در همین تیمار هم راستا بود. افزایش قابلیت تخمیر نشاسته و در پی آن افزایش سنتز پروتئین میکروبی می تواند عرضه اسیدهای آمینه مورد نیاز برای سنتز پروتئین های شیر را افزایش دهد (Theurer et al., 1999; Yang et al., 2000). ممکن است فرآوری مرطوب غلات در Wet-LC از طریق بهبود فراهمی پیش سازهای پروتئینی، سبب افزایش غلظت کازئین شیر نسبت به سایر تیمارها شده باشد.

شمارش سلول های سوماتیک تحت تأثیر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار $\times$ زمان قرار نگرفت SCC. یکی از شاخص های رایج ارزیابی وضعیت سلامت غده پستانی و التهاب داخل پستانی در گاوهای شیری است، اگرچه این شاخص تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله مرحله شیردهی، تعداد زایش، وضعیت سلامت حیوان، شرایط محیطی و مدیریت قرار می گیرد. (Dutta et al., 2018) از این رو، عدم تفاوت SCC بین تیمارهای آزمایشی نشان می دهد که تغییر در نوع فرآوری غلات و مکمل سازی ال-کارنیتین در شرایط این آزمایش، اثر قابل تشخیصی بر این شاخص سلامت پستان

نداشته است. این یافته از این نظر اهمیت دارد که دوره انتقال و اوایل شیردهی با تغییرات شدید متابولیکی و کاهش نسبی عملکرد سیستم ایمنی همراه است و می‌تواند حساسیت گاوها را به اختلالات عفونی، از جمله ورم پستان، افزایش دهد (Wankhade et al., 2017). با این حال، وضعیت تغذیه‌ای می‌تواند از طریق تعدیل عملکرد سیستم ایمنی و پاسخ‌های التهابی بر سلامت پستان اثرگذار باشند.

غلظت لاکتوز شیر تحت تأثیر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار $\times$ زمان قرار گرفت ($P < 0.001$). بیشترین غلظت لاکتوز در Wet-LC و Wet+LC مشاهده شد. همچنین، غلظت مواد جامد غیرچربی تحت تأثیر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار $\times$ زمان قرار گرفت ($P < 0.001$), در حالی که غلظت کل مواد جامد شیر فقط تحت تأثیر زمان و اثر متقابل تیمار $\times$ زمان قرار گرفت ($P < 0.001$). افزایش غلظت لاکتوز در Wet-LC و Wet+LC می‌تواند با افزایش فراهمی پیش‌سازهای گلوکز مرتبط باشد. فرآوری مرطوب غلات با افزایش قابلیت تخمیر نشاسته می‌تواند تولید پروپیونات را افزایش دهد که یکی از پیش‌سازهای اصلی گلوکونئوزن کبدی در گاوهای شیری است (Theurer et al., 1999). از آنجا که لاکتوز نقش مهمی در تنظیم فشار اسمزی شیر دارد، افزایش فراهمی گلوکز می‌تواند سنتز لاکتوز و در نتیجه تشکیل شیر را تسهیل کند. بنابراین، به نظر می‌رسد فرآوری مرطوب غلات در Wet-LC و Wet+LC از طریق افزایش قابلیت تخمیر نشاسته و فراهمی پیش‌سازهای گلوکز، سبب افزایش غلظت لاکتوز و SNF نسبت به تیمارهای Dry-LC و Dry+LC شده باشد.

غلظت نیتروژن اوره شیر (MUN) تحت تأثیر تیمار، زمان و اثر متقابل تیمار $\times$ زمان قرار گرفت ($P < 0.001$). MUN تحت تأثیر میزان عرضه و استفاده از نیتروژن و همچنین هماهنگی بین فراهمی انرژی و نیتروژن در شکمبه قرار می‌گیرد. معنی‌دار بودن اثر متقابل تیمار $\times$ زمان نشان داد که پاسخ MUN در طول دوره آزمایش بین تیمارها یکسان نبود. بنابراین، به نظر می‌رسد پاسخ MUN در تیمارهای Dry-LC، Dry+LC، Wet-LC و Wet+LC حاصل تعامل نوع فرآوری غلات، مکمل‌سازی ال-کارنیتین و تغییرات زمانی در متابولیسم نیتروژن بوده باشد.

تولید روزانه چربی، پروتئین، لاکتوز، کل مواد جامد و SNF تحت تأثیر تیمار و زمان قرار گرفت ($P < 0.001$) و اثر متقابل تیمار $\times$ زمان نیز برای تمامی این صفات معنی‌دار بود ($P < 0.001$). بیشترین تولید روزانه چربی، پروتئین، لاکتوز، کل مواد جامد و SNF در Wet+LC مشاهده شد. افزایش تولید روزانه چربی در Wet+LC در حالی مشاهده شد که غلظت چربی شیر تحت تأثیر اثر اصلی تیمار قرار نگرفت؛ بنابراین، این افزایش احتمالاً بیشتر ناشی از افزایش مقدار شیر تولیدی بوده است. ال-کارنیتین با تسهیل انتقال اسیدهای چرب زنجیره بلند به میتوکندری و اکسیداسیون آنها، در تأمین انرژی مورد نیاز حیوان نقش دارد (Danesh Mesgaran et al., 2021; Carlson et al., 2007). بنابراین، ممکن است ترکیب فرآوری مرطوب غلات و مکمل ال-کارنیتین در Wet+LC از طریق افزایش قابلیت استفاده از نشاسته و بهبود استفاده از انرژی، سبب افزایش تولید روزانه اجزای شیر نسبت به Dry-LC، Dry+LC و Wet-LC شده باشد.

تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی (FCM 3.5%) و تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی (ECM) نیز تحت تأثیر تیمار و زمان قرار گرفتند ($P < 0.001$) و اثر متقابل تیمار $\times$ زمان برای هر دو صفت معنی‌دار بود ($P < 0.001$). بیشترین تولید FCM ۳/۵% و ECM در Wet+LC مشاهده شد. این پاسخ با افزایش تولید روزانه چربی، پروتئین، لاکتوز، کل مواد جامد و SNF در Wet+LC هم‌راستا بود. افزایش تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس چربی و انرژی در پاسخ به مکمل‌سازی ال-کارنیتین نیز در برخی مطالعات گزارش شده است (Danesh Mesgaran et al., 2021). بنابراین، استفاده هم‌زمان از غلات مرطوب و ال-کارنیتین در Wet+LC از طریق بهبود فراهمی مواد مغذی و استفاده از انرژی، سبب افزایش ۳،۵ FCM % و ECM نسبت به سایر تیمارها شده باشد.

جدول ۲- میانگین غلظت مواد مغذی شیر (گرم در کیلوگرم) و تولید مواد مغذی شیر (روز/رأس/کیلوگرم) در گاوهای شیرده هلشتاین

Table 2- Milk nutrient concentrations (g/kg) and milk nutrient yields (g/head/day) in lactating Holstein dairy cows

موارد Parameter	تیمارهای آزمایشی Experiment treatment				SEM	سطح معنی داری P value		
	Dry - LC	Dry+LC	Wet-LC	Wet+LC		Treatment	Time	Trt×Time
ترکیب شیمیایی شیر (گرم در کیلوگرم) Milk chemical composition (g/kg)								
چربی (گرم در کیلوگرم) Fat (g/kg)	36.98	37.20	37.88	37.05	2.74	0.86	0.29	0.03
پروتئین (گرم در کیلوگرم) Protein (g/kg)	30.38 ^b	33.05 ^{ab}	34.10 ^a	32.93 ^{ab}	1.11	0.03	0.37	0.22
نیتروژن غیر پروتئین (گرم در کیلوگرم) NPN (g/kg)	23.25 ^b	24.38 ^{ab}	25.08 ^b	24.78 ^{ab}	0.84	0.03	0.38	0.23
لاکتوز (گرم در کیلوگرم) Lactose (g/kg)	39.10 ^b	42.68 ^{ab}	44.60 ^a	44.95 ^a	1.52	<0.01	<0.01	<0.01
کل مواد جامد (گرم در کیلوگرم) Total solids (g/kg)	106.95	111.43	116.35	115.93	3.61	0.07	<0.01	<0.01
کل مواد جامد غیر چربی (گرم در کیلوگرم) SNF (g/kg)	69.75 ^b	75.10 ^{ab}	78.93 ^a	77.90 ^a	1.98	<0.01	<0.01	<0.01
کازئین (گرم در کیلوگرم) Casein(g/kg)	24.08 ^b	26.03 ^{ab}	28.43 ^{ab}	26.30 ^{ab}	1.25	0.01	0.02	0.03
نیتروژن اوره شیر (گرم در کیلوگرم) MUN (mg/dL)	13.48 ^b	14.18 ^{ab}	14.98 ^a	14.38 ^{ab}	1.32	<0.01	<0.01	<0.01
سوماتیک سل کانت(۱۰۰۰سلول در میلی لیتر) SCC (۱۰۰۰cells/ml)	3.020	3.008	3.013	3.030	0.014	0.14	0.17	0.61
تولید مواد مغذی شیر(g/head/d) Daily milk nutrient yields (g/head/day)								
مقدار چربی (گرم در روز) Fat yield (g/d)	955.0 ^c	1011.8 ^c	1175.9 ^b	1374.5 ^a	5.31	<0.01	<0.01	0.01
مقدار پروتئین(گرم در روز) Protein yield (g/d)	776.6 ^c	908.2 ^c	1028.1 ^b	1181.0 ^a	56.0	<0.01	<0.01	0.03
مقدار لاکتوز(گرم در روز) Lactose yield (g/d)	1005.5 ^c	1183.2 ^c	1354.1 ^b	1721.6 ^a	75.06	<0.01	<0.01	0.04
کل مواد جامد(گرم در روز) Total solids yield (g/d)	2737.1 ^c	3106.4 ^c	3641.8 ^b	4967.5 ^a	95.77	<0.01	<0.01	<0.01
کل مواد جامد عاری از چربی(گرم در روز) SNF yield (g/d)	1782.1 ^c	2094.2 ^{bc}	2466.9 ^{ab}	2886.5 ^a	119.9	<0.01	<0.01	0.03
شیر تصحیح شده برای چربی(کیلوگرم در روز) 3.5% FCM (kg/d)	25.05 ^c	28.10 ^c	32.33 ^b	38.60 ^a	1.88	<0.01	<0.01	0.02
شیر تصحیح شده برای انرژی(کیلوگرم در روز) ECM (kg/d)	23.03 ^c	25.98 ^c	29.13 ^b	35.50 ^a	1.77	<0.01	<0.01	<0.01

Dry-LC: جیره حاوی دانه‌های جو و ذرت آسیاب شده بدون مکمل ال-کارنیتین عبوری؛ Dry+LC: جیره حاوی دانه‌های جو و ذرت آسیاب شده همراه با مکمل ال-کارنیتین عبوری؛ Wet-LC: جیره حاوی دانه‌های جو و ذرت مرطوب شده بدون مکمل ال-کارنیتین عبوری و Wet+LC: جیره حاوی دانه‌های جو و ذرت مرطوب شده همراه با مکمل ال-کارنیتین عبوری

اسیدهای چرب شیر

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت اسیدهای چرب شیر در جدول ۳ ارائه شده است. غلظت اسیدهای چرب ترانس، سیس، اشباع و تک غیراشباع تحت تأثیر اثر اصلی تیمار قرار نگرفت، در حالی که اثر زمان نمونه برداری و برهم کنش تیمار × زمان برای هر چهار گروه اسیدهای چرب معنی دار بود ($P < 0.05$). اگرچه اختلاف معنی داری بین میانگین تیمارها مشاهده نشد، غلظت اسیدهای چرب تک غیراشباع در Wet+LC به صورت عددی بیشتر بود. بنابراین، در شرایط این آزمایش، نوع فرآوری غلات و مکمل سازی ال-کارنیتین به تنهایی تغییر معنی داری در میانگین کلی پروفایل اسیدهای چرب شیر ایجاد نکرد، اما الگوی پاسخ در طول زمان بین تیمارها متفاوت بود. عدم مشاهده اثر معنی دار تیمار بر اسیدهای چرب اشباع می تواند با منشأ متفاوت اسیدهای چرب موجود در شیر مرتبط باشد. بخشی از اسیدهای چرب اشباع کوتاه و متوسط زنجیر در غده پستانی از طریق سنتز *de novo* و با استفاده از پیش سازهای حاصل از تخمیر شکمبه ای تولید می شوند، در حالی که اسیدهای چرب زنجیره بلند عمدتاً از جریان اسیدهای چرب منشأ گرفته از جیره و بافت های بدن تأمین می شوند. فرآوری غلات می تواند الگوی تخمیر شکمبه ای و در نتیجه دسترسی به پیش سازهای سنتز چربی را تغییر دهد؛ با این حال، نبود اثر معنی دار تیمار در مطالعه حاضر نشان می دهد که این تغییرات احتمالی برای ایجاد تفاوت قابل تشخیص در غلظت کلی اسیدهای چرب شیر کافی نبوده است (Owens et al., 1997; Theurer et al., 1999). در مورد اسیدهای چرب تک غیراشباع نیز، اگرچه Wet+LC بیشترین میانگین عددی را داشت، این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود. ال-کارنیتین می تواند با تسهیل انتقال اسیدهای چرب زنجیره بلند به میتوکندری و افزایش اکسیداسیون آن ها، بر متابولیسم اسیدهای چرب در شرایط نیاز انرژی بالا اثر گذار باشد (Carlson et al., 2007; Meyer et al., 2020). با این حال، از آنجا که در مطالعه حاضر اثر اصلی تیمار معنی دار نبود، نمی توان افزایش عددی مشاهده شده در Wet+LC را به عنوان اثر قطعی ال-کارنیتین بر پروفایل اسیدهای چرب شیر در نظر گرفت. بنابراین، پاسخ عددی بیشتر در Wet+LC احتمالاً نشان دهنده یک تغییر محدود در متابولیسم اسیدهای چرب بوده است که برای ایجاد تفاوت آماری بین تیمارها کافی نبوده است. معنی دار بودن اثر زمان و برهم کنش تیمار × زمان برای تمامی گروه های اسیدهای چرب نشان می دهد که تغییرات پروفایل اسیدهای چرب شیر در طول دوره مطالعه پویا بوده و پاسخ تیمارها در زمان های مختلف یکسان نبوده است. تغییرات تدریجی در وضعیت متابولیکی گاو، الگوی تخمیر شکمبه و مسیرهای انتقال و استفاده از اسیدهای چرب می تواند در این تغییرات زمانی نقش داشته باشد (Dewanckele et al., 2020; Enjalbert et al., 2019).

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین غلظت اسیدهای چرب شیر (گرم در کیلوگرم شیر) در گاوهای شیرده هلشتاین

Table 3- Effects of dietary treatments on milk fatty acid concentrations (g/kg of milk) in lactating Holstein cows.

موارد Parameter	تیمارهای آزمایشی Experiment treatment				SEM	سطح معنی داری P value		
	Dry-LC	Dry+LC	Wet-LC	Wet+LC		Trt	Time	Trt×Time
اسیدهای چرب ترانس (گرم در کیلوگرم) Trans fatty acids (g/kg)	2.45	2.58	2.5	2.63	0.28	0.81	0.04	0.02
اسیدهای چرب سیس (گرم در کیلوگرم) Cis fatty acids (g/kg)	10.73	10.58	10.6	11.05	1.21	0.94	<0.01	0.02
اسیدهای چرب اشباع (گرم در کیلوگرم) Saturated fatty acids (g/kg)	22.7	23.65	24.68	25.68	2.10	0.21	<0.01	0.04
اسیدهای چرب تک غیراشباع (گرم در کیلوگرم) Monounsaturated fatty acids (g/kg)	11.15	11.08	11.0	11.43	1.24	0.96	<0.01	0.04

Dry-LC: جیره حاوی دانه های جو و ذرت آسیاب شده بدون مکمل ال-کارنیتین عبوری؛ Dry+LC: جیره حاوی دانه های جو و ذرت آسیاب شده همراه با مکمل ال-کارنیتین عبوری؛ Wet-LC: جیره حاوی دانه های جو و ذرت مرطوب شده بدون مکمل ال-کارنیتین عبوری و Wet+LC: جیره حاوی دانه های جو و ذرت مرطوب شده همراه با مکمل ال-کارنیتین عبوری

عبوری

فراسنجه‌های خونی

نتایج مربوط به فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون در جدول ۴ ارائه شده است. غلظت گلوکز تحت تأثیر تیمار، زمان نمونه‌گیری و تیمار $\times$ زمان قرار گرفت ($P < 0.05$). در میانگین غلظت گلوکز در Wet-LC بیشتر از Dry-LC و Wet+LC بود. افزایش گلوکز در Wet-LC می‌تواند با تفاوت در قابلیت دسترسی نشاسته و الگوی تخمیر شکمبه‌ای در اثر فرآوری غلات مرتبط باشد؛ زیرا فرآوری غلات می‌تواند قابلیت دسترسی نشاسته برای تخمیر را تغییر دهد (Huntington, 1997; Theurer et al., 1999). با این حال، از آنجا که در مطالعه حاضر تولید پروپیونات و سایر شاخص‌های مستقیم تخمیر شکمبه اندازه‌گیری نشدند، نمی‌توان افزایش گلوکز را مستقیماً به تغییر تولید پروپیونات نسبت داد. معنی‌دار بودن تیمار $\times$ زمان نیز نشان می‌دهد که اختلاف بین تیمارها در طول دوره نمونه‌برداری ثابت نبوده است.

غلظت کلسترول تحت تأثیر تیمار و زمان قرار گرفت ($P < 0.05$)، اما تیمار $\times$ زمان معنی‌دار نبود. در میانگین غلظت کلسترول در Wet-LC بیشتر از Dry-LC و Wet+LC بود. تغییرات کلسترول در دوره انتقال می‌تواند با تغییر در وضعیت انرژی و متابولیسم چربی همراه باشد؛ با این حال، از آنجا که شاخص‌های مستقیمی مانند NEFA و BHBA در این مطالعه اندازه‌گیری نشدند، نمی‌توان تفاوت مشاهده‌شده را مستقیماً به تغییر بسیج چربی یا اکسیداسیون اسیدهای چرب نسبت داد. در مطالعه دانش مسگران و همکاران (Danesh Mesgaran et al. 2021) نیز فراسنجه‌های لیپیدی خون در طول دوره انتقال تغییر کردند و پاسخ آن‌ها به مکمل‌سازی ال-کارنیتین وابسته به مرحله نمونه‌برداری بود. غلظت تری‌گلیسرید تحت تأثیر اثر اصلی تیمار و زمان قرار نگرفت، اما تیمار $\times$ زمان معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در نتیجه، میانگین کلی تری‌گلیسرید بین تیمارها متفاوت نبود، اما تغییرات آن در طول دوره مطالعه در چهار تیمار الگوی یکسانی نداشت. این الگو نشان می‌دهد که پاسخ تری‌گلیسرید بیشتر به روند زمانی تغییرات متابولیسمی وابسته بود تا تفاوت ثابت بین تیمارها. بنابراین، تیمارهای آزمایشی میانگین تری‌گلیسرید را تغییر ندادند، اما روند تغییر آن‌ها در طول زمان متفاوت بود.

غلظت HDL تحت تأثیر تیمار، زمان و تیمار $\times$ زمان قرار گرفت ($P < 0.05$). اگرچه میانگین HDL در Dry+LC بیشتر و در Wet+LC کمتر بود، معنی‌دار بودن تیمار $\times$ زمان نشان می‌دهد که پاسخ HDL در طول دوره مطالعه بین تیمارها یکسان نبوده است. تغییرات HDL در دوره انتقال با تغییرات متابولیسم لیپید و وضعیت فیزیولوژیک گاو در اطراف زایمان همراه است و در مطالعات قبلی نیز تغییرات زمانی این فراسنجه گزارش شده است (Danesh Mesgaran et al., 2021). غلظت LDL تحت تأثیر زمان و تیمار $\times$ زمان قرار گرفت، اما اثر اصلی تیمار معنی‌دار نبود. بنابراین، اگرچه میانگین LDL بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت، روند تغییر آن در طول دوره مطالعه در تیمارها یکسان نبود. تغییرات متابولیسم چربی در اطراف زایمان و تغییر در شدت بسیج ذخایر چربی می‌تواند بر فراسنجه‌های لیپیدی خون اثرگذار باشد (Drackley, 1999; Overton and Waldron, 2004). غلظت VLDL تحت تأثیر تیمار و تیمار $\times$ زمان قرار گرفت، در حالی که اثر زمان معنی‌دار نبود. میانگین VLDL در Dry-LC بیشتر از Wet-LC و Wet+LC بود. این تفاوت نشان می‌دهد که فرآوری مرطوب غلات با تغییر در الگوی لیپوپروتئین‌های در گردش همراه بود. با این حال، از آنجا که شاخص‌های مستقیم سنتز و تجمع تری‌گلیسرید در کبد در این مطالعه اندازه‌گیری نشدند، کاهش VLDL را نمی‌توان به‌طور قطعی به کاهش تجمع چربی کبدی نسبت داد. بنابراین، Wet-LC و Wet+LC با غلظت پایین‌تر VLDL همراه بودند، اما مکانیسم دقیق این پاسخ بر اساس داده‌های حاضر قابل تعیین نیست.

اوره خون نیز تحت تأثیر زمان و تیمار $\times$ زمان قرار گرفت، در حالی که اثر اصلی تیمار معنی‌دار نبود. اگرچه میانگین اوره از Dry-LC به سمت Wet+LC به‌صورت عددی کاهش یافت، این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. کاهش عددی اوره می‌تواند با تفاوت در هماهنگی عرضه انرژی و نیتروژن در شکمبه مرتبط باشد، اما از آنجا که آمونیاک شکمبه و سنتز پروتئین میکروبی در این آزمایش اندازه‌گیری نشدند، این سازوکار را نمی‌توان مستقیماً تأیید کرد. بنابراین، تیمارها میانگین اوره خون را تغییر ندادند، اما روند تغییر آن در طول زمان بین تیمارها متفاوت بود. غلظت

پروتئین کل و آلبومین تحت تأثیر تیمار و تیمار × زمان قرار نگرفتند، اما اثر زمان برای هر دو فراسنجه معنی‌دار بود. ($P < 0.05$) این یافته نشان می‌دهد که فرآوری غلات و مکمل‌سازی ال-کارنیتین تغییر معنی‌داری در این دو شاخص ایجاد نکردند، در حالی که زمان نمونه‌گیری عامل اصلی تغییرات مشاهده‌شده بود. تغییرات پروتئین‌های خون در دوره انتقال می‌تواند با تغییرات فیزیولوژیک اطراف زایمان و تغییرات حجم پلاسما همراه باشد (Drackley, 1999).

فعالیت AST تنها تحت تأثیر زمان قرار گرفت و اثر تیمار و تیمار × زمان معنی‌دار نبود. این نتیجه نشان می‌دهد که فرآوری غلات و مکمل‌سازی ال-کارنیتین در شرایط مطالعه حاضر تغییر قابل تشخیصی در فعالیت AST ایجاد نکردند. با توجه به اختصاصیت بافتی محدود AST، تغییرات این آنزیم نیز نمی‌تواند به‌تنهایی به‌عنوان شاخص مستقیم تغییر عملکرد کبد تفسیر شود. بنابراین، تفاوت زمانی AST بیشتر با تغییرات فیزیولوژیک طی دوره مطالعه مرتبط بود. فعالیت ALT تحت تأثیر تیمار و تیمار × زمان قرار گرفت، در حالی که اثر زمان معنی‌دار نبود. فعالیت ALT در Wet-LC بیشتر و در Wet+LC کمتر بود. کاهش ALT در Wet+LC با نتایج دانش مسگران (Danesh Mesgaran et al. 2021). غلظت کلسیم تحت تأثیر تیمار، زمان و تیمار × زمان قرار گرفت. ($P < 0.05$) در میانگین تیمارها، کلسیم در Dry-LC بیشتر و در Wet-LC کمتر بود. تغییرات کلسیم در دوره انتقال با افزایش ناگهانی نیاز به کلسیم برای تولید آغوز و شیر و فعال شدن سازوکارهای هورمونی تنظیم کلسیم مرتبط است (Overton and Waldron, 2004). با توجه به معنی‌دار بودن تیمار × زمان، تفاوت مشاهده‌شده بین تیمارها در طول دوره مطالعه ثابت نبوده است؛ بنابراین، نمی‌توان اختلاف میانگین‌ها را صرفاً به فرآوری غلات یا مکمل‌سازی ال-کارنیتین نسبت داد. در نتیجه، پاسخ کلسیم به تیمارهای آزمایشی هم از نظر میانگین تیمار و هم از نظر روند زمانی متفاوت بود.

جدول ۴- اثرات تیمارهای آزمایشی بر میانگین غلظت فراسنجه‌های خونی گاوهای دوره انتقال زایمان

Table 4- Effects of Experimental Dietary Treatments on Blood Parameters of Transition Dairy Cows

موارد Parameter	تیمارهای آزمایشی Treatment				SEM	سطح معنی‌داری P value		
	Dry - LC	Dry+LC	Wet-LC	Wet+LC		TRT	Time	Trt × Time
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) Glucose (mg/dL)	79/4 ^b	80/1 ^{ab}	82/3 ^a	79/6 ^b	6/21	0.007	<0.001	0.005
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر) Cholesterol (mg/dL)	161/8 ^b	163/4 ^{ab}	165/2 ^a	162/7 ^b	4/67	0.042	<0.001	0.108
لیپوپروتئین با چگالی بالا (میلی گرم بر دسی لیتر) HDL (mg/dL)	61/2 ^{ab}	63/8 ^a	60/5 ^{ab}	58/9 ^a	3/42	0.015	<0.001	0.001
لیپوپروتئین با چگالی پایین (میلی گرم بر دسی لیتر) LDL (mg/dL)	41/8	43/9	42/6	41/2	4/33	0.062	<0.001	<0.001
لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین (میلی گرم بر دسی لیتر) VLDL (mg/dL)	13.47 ^a	12.07 ^{ab}	9.10 ^b	9.03 ^b	0.87	<0.01	0.09	0.03
تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر) Triglyceride (mg/dL)	295/4	298/7	299/1	301/2	7/76	0.176	0.215	0.040
آوره خون (میلی گرم در دسی لیتر) Urea (mg/dL)	22/1	21/4	20/8	19/9	2/24	0.087	0.002	0.017
اسپاراتات آمینو ترانسفراز (واحد بر لیتر) AST (SGOT) (U/L)	55/4	57/2	58/9	56/1	5/88	0.499	<0.001	0.597
آلانین آمینو ترانسفراز (واحد بر لیتر) ALT (SGPT) (U/L)	11/8 ^b	12/4 ^{ab}	13/1 ^a	11/5 ^b	1/78	<0.001	0.053	<0.001
کلسیم (میلی گرم در دسی لیتر) Calcium (mg/dL)	10/12	9/85	9/67	9/94	0/84	0.038	<0.001	0.001

پروتئین کل (گرم در لیتر) Total Protein (g/L)	6/85	6/92	6/78	6/81	0/29	0.187	<0.001	0.195
آلبومین (گرم بر لیتر) Albumin (g/L)	1/68	1/72	1/65	1/69	0/12	0.070	<0.001	0.623

Dry-LC: جیره حاوی دانه‌های جو و ذرت آسیاب‌شده بدون مکمل ال-کارنیتین عبوری؛ Dry+LC: جیره حاوی دانه‌های جو و ذرت آسیاب‌شده همراه با مکمل ال-کارنیتین عبوری؛ Wet-LC: جیره حاوی دانه‌های جو و ذرت مرطوب‌شده بدون مکمل ال-کارنیتین عبوری و Wet+LC: جیره حاوی دانه‌های جو و ذرت مرطوب‌شده همراه با مکمل ال-کارنیتین عبوری

فراسنجه‌های التهابی

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های التهابی خون در جدول ۵ ارائه شده است. غلظت فاکتور نکروز توموری آلفا ($\text{TNF-}\alpha$) به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.01$)، در حالی که اثر زمان بر این شاخص معنی‌دار نبود. با این حال، اثر متقابل تیمار $\times$ زمان بر غلظت $\text{TNF-}\alpha$ معنی‌دار بود ($P < 0.01$)، که نشان‌دهنده متفاوت بودن الگوی تغییرات این شاخص در طول زمان در بین تیمارهای آزمایشی است. غلظت اینترلوکین-۱ بتا ($\text{IL-1}\beta$) نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار قرار گرفت ($P < 0.05$)، اما زمان و اثر متقابل تیمار $\times$ زمان تأثیر معنی‌داری بر این شاخص نداشتند. کمترین میانگین غلظت $\text{IL-1}\beta$ در گاوهای تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی غلات مرطوب همراه با ال-کارنیتین ($105/47$ نانوگرم در لیتر) مشاهده شد. غلظت هاپتوگلوبین به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$)، اما اثر زمان و اثر متقابل تیمار $\times$ زمان معنی‌دار نبود. میانگین غلظت هاپتوگلوبین در تیمارهای حاوی غلات مرطوب کمتر از تیمارهای حاوی غلات آردی بود و کمترین مقدار در تیمار غلات مرطوب همراه با ال-کارنیتین ($77/30$ میکروگرم در میلی‌لیتر) مشاهده شد. همچنین، غلظت سرم آمیلوئید A به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار قرار گرفت ($P < 0.05$)، در حالی که زمان و اثر متقابل تیمار $\times$ زمان بر این شاخص اثر معنی‌داری نداشتند. تیمارهای حاوی غلات مرطوب، به‌ویژه همراه با ال-کارنیتین، پایین‌ترین غلظت سرم آمیلوئید A را نشان دادند.

دوره انتقال در گاوهای شیری با فعال شدن گذرای پاسخ فاز حاد همراه است که در نتیجه مجموعه‌ای از تغییرات فیزیولوژیک و متابولیکی شامل موازنه منفی انرژی، بسیج گسترده ذخایر چربی، تغییرات ناگهانی جیره در حوالی زایمان، افزایش نفوذپذیری شکمبه و روده و تحریک سیستم ایمنی ذاتی ایجاد می‌شود. در این شرایط، سیتوکین‌های پیش‌التهابی نظیر فاکتور نکروز توموری آلفا ($\text{TNF-}\alpha$) و اینترلوکین-۱ بتا ($\text{IL-1}\beta$) به‌عنوان نخستین میانجی‌های پاسخ التهابی عمل کرده و از طریق فعال‌سازی مسیر رونویسی NF- κ B، سنتز پروتئین‌های فاز حاد کبدی از جمله هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A (SAA) را تحریک می‌کنند (Baumann, 1994; Pannen, 1995; Contreras and Sordillo, 2011; Sordillo and Raphael, 2013) بنابراین، تغییرات این شاخص‌ها می‌تواند بازتابی از شدت التهاب زیربالبینی و وضعیت متابولیکی گاوهای دوره انتقال باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نوع فرآوری غلات و مکمل‌سازی با ال-کارنیتین عبوری تأثیر معنی‌داری بر وضعیت التهابی گاوهای شیری داشت، به‌طوری‌که کمترین غلظت $\text{TNF-}\alpha$ ، $\text{IL-1}\beta$ ، هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A در گاوهای دریافت‌کننده تیمار غلات مرطوب همراه با ال-کارنیتین (Wet+LC) مشاهده شد. این یافته نشان می‌دهد که بهبود هم‌زمان وضعیت انرژی و متابولیسم چربی می‌تواند شدت پاسخ التهابی سیستمیک را در دوره انتقال کاهش دهد. کاهش غلظت هاپتوگلوبین و SAA در تیمارهای حاوی غلات مرطوب، به‌ویژه در ترکیب با ال-کارنیتین، با نتایج دانش مسگران و همکاران (Danesh Mesgaran et al. 2021) همخوانی دارد که کاهش معنی‌دار هاپتوگلوبین را در گاوهای دریافت‌کننده ال-کارنیتین عبوری گزارش کرده و آن را به بهبود وضعیت متابولیکی و عملکرد کبد نسبت داده‌اند. همچنین از آنجا که هاپتوگلوبین و SAA به‌عنوان حساس‌ترین شاخص‌های التهاب سیستمیک در گاو شناخته می‌شوند (Humblert, 2006; El-Deeb, 2017)، کاهش غلظت آن‌ها در تیمار Wet+LC نشان‌دهنده حفظ بهتر هموستاز و کاهش شدت التهاب زیربالبینی در این گروه است؛ موضوعی که می‌تواند در نهایت به بهبود سلامت و عملکرد تولیدی گاوهای شیری منجر شود (Loch, 2023).

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین غلظت فراسنجه‌های التهابی در گاوهای شیرده هلشتاین

Table 5- Effects of dietary treatments on blood inflammatory parameters in lactating Holstein cows

موارد Parameter	تیمارهای آزمایشی Experiment treatment				SEM	سطح معنی داری P value		
	Dry-LC	Dry+LC	Wet-LC	Wet+LC		TRT	Time	Trt×Time
فاکتور نکروز توموری آلفا، ng/L TNF- α (ng/L)	349.60 ^a	335.43 ^{ab}	274.97 ^b	243.03 ^b	25.13	0.01	0.50	0.01
اینترلوکین-۱ بتا، ng/L IL-1 β (ng/L)	128.90 ^a	125.50 ^{ab}	106.40 ^b	105.47 ^b	7.03	0.01	0.54	0.22
هپتوگلوبین، g/mL μ Haptoglobin (μ g/mL)	111.53 ^{ab}	120.80 ^a	84.53 ^b	77.30 ^c	6.83	<0.01	0.64	0.08
سرم آمیلوئید A، g/mL μ Serum amyloid A (μ g/mL)	33.50 ^a	33.33 ^a	25.40 ^b	22.33 ^c	2.45	<0.01	0.71	0.14

Dry-LC: جیره حاوی دانه‌های جو و ذرت آسیاب‌شده بدون مکمل ال-کارنیتین عبوری؛ Dry+LC: جیره حاوی دانه‌های جو و ذرت آسیاب‌شده همراه با مکمل ال-کارنیتین عبوری؛ Wet-LC: جیره حاوی دانه‌های جو و ذرت مرطوب‌شده بدون مکمل ال-کارنیتین عبوری و Wet+LC: جیره حاوی دانه‌های جو و ذرت مرطوب‌شده همراه با مکمل ال-کارنیتین عبوری

نتیجه گیری کلی

نتایج نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی در برخی صفات تولید شیر، ترکیب شیر و فراسنجه‌های متابولیکی و التهابی تفاوت وجود داشت. تیمار LC+Wet در برخی صفات تولیدی و شاخص‌های التهابی، از جمله TNF- α ، IL-1 β ، هپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A، پاسخ متفاوتی نشان داد. همچنین، فعالیت ALT و غلظت VLDL در تیمارهای LC+Dry و LC+Wet کمتر بود. در مقابل، اسیدهای چرب شیر عمدتاً تحت تأثیر زمان و برهم‌کنش تیمار × زمان قرار گرفتند و شمارش سلول‌های سوماتیک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. با وجود این، تفاوت در الگوی پاسخ شاخص‌های مورد بررسی نشان می‌دهد که این اثرات به نوع صفت و شرایط ارزیابی وابسته است. بنابراین، استفاده از LC+Wet می‌تواند به‌عنوان یک راهکار تغذیه‌ای بالقوه مورد توجه قرار گیرد، هرچند تعیین پیامدهای آن بر متابولیسم کبدی و سازوکارهای فیزیولوژیک مرتبط، به مطالعات بیشتر با ارزیابی مستقیم نیاز دارد.

Reference

- Atabai, K., Sheppard, D., & Werb, Z. (2007). Roles of the innate immune system in mammary gland remodeling during involution. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 12(1), 37–45. <https://doi.org/10.1007/s10911-007-9036-6>
- Beauchemin, K. A., McAllister, T. A., Dong, Y., Farr, B. I., & Cheng, K. J. (1994). Effects of mastication on digestion of whole cereal grains by cattle. *Journal of Animal Science*, 72(1), 236–246. <https://doi.org/10.2527/1994.721236x>
- Bionaz, M., Trevisi, E., Calamari, L., Librandi, F., Ferrari, A., & Berton, G. (2007). Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(4), 1740–1750. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-445>
- Carlson, D. B., Litherland, N. B., Dann, H. M., Woodworth, J. C., & Drackley, J. K. (2007). Metabolic effects of abomasal L-carnitine infusion and feed restriction in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 90(7), 3422–3441. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-811>

5. Carlson, D. B., McFadden, J. W., D'Angelo, A., Woodworth, J. C., & Drackley, J. K. (2007). Dietary L-carnitine affects periparturient nutrient metabolism and lactation in multiparous cows. *Journal of Dairy Science*, 90(7), 3422–3441. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-811>
6. Contreras, G. A., & Sordillo, L. M. (2011). Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 34(3), 281–289. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.01.004>
7. Danesh Mesgaran, M., Kargar, H., Danesh Mesgaran, S., & Javadmanesh, A. (2021). Periparturient rumen-protected L-carnitine manipulates the productive and blood metabolic responses in high-producing Holstein dairy cows. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, Article 769837. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.769837>
8. Drackley, J. K. (1999). ADSA Foundation Scholar Award: Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *Journal of Dairy Science*, 82(11), 2259–2273. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75474-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75474-3)
9. Eastridge, M. L., Bucholtz, H. F., Slater, A. L., & Hall, C. S. (1990). Corn grain particle size regulates in situ disappearance and digestion of five endpoints in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 73(11), 3413–3419.
10. El-Deeb, W., & El-Bahr, S. (2017). Biomarkers of ketosis in dairy cows at postparturient period: Acute phase proteins and pro-inflammatory cytokines. *Veterinarski Arhiv*, 87(4), 431–440.
11. Foley, A. E., Hristov, A. N., Melgar, A., Ropp, J. K., Etter, R. P., Zaman, S., Hunt, C. W., Huber, K., & Price, W. J. (2006). Effect of barley and its amylopectin content on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89(11), 4321–4335.
12. Gärtner, T., Gernand, E., Gottschalk, J., & Donat, K. (2019). Relationships between body condition, body condition loss, and serum metabolites during the transition period in primiparous and multiparous cows. *Journal of Dairy Science*, 102(10), 9187–9199. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15462>
13. Guo, J., Chang, G., Zhang, K., Xu, L., Jin, D., Bilal, M., & Shen, X. (2017). Rumen-derived lipopolysaccharide provoked inflammatory injury in the liver of dairy cows fed a high-concentrate diet. *Oncotarget*, 8(29), 46769–46780. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17212>
14. Humblet, M. F., Guyot, H., Boudry, B., Mbayahi, F., Hanzen, C., Rollin, F., & Godeau, J. M. (2006). Relationship between haptoglobin, serum amyloid A, and clinical status in a survey of dairy herds. *Veterinary Clinical Pathology*, 35(2), 188–193.
15. Huntington, G. B. (1997). Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. *Journal of Animal Science*, 75(3), 852–867.
16. Janovick Guretzky, N. A., Bertics, S. J., Piepenbrink, M. S., & Overton, T. R. (2006). Lipid metabolite profiles and milk production for Holstein and Jersey cows fed rumen-protected choline during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 89(1), 188–200.
17. Khafipour, E., Krause, D. O., & Plaizier, J. C. (2009). A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation. *Journal of Dairy Science*, 92(3), 1060–1070.
18. Khorasani, G. R., Okine, E. K., & Kennelly, J. J. (2001). Effects of substituting barley grain with corn on ruminal fermentation characteristics, milk yield, and milk composition of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 84(12), 2760–2769.
19. Kononov, S. U., Meyer, J., Frahm, J., Kersten, S., Kluess, J., Bühler, S., Wegerich, A., Rehage, J., Meyer, U., Huber, K., & Dänicke, S. (2022). Dietary L-carnitine affects leukocyte count

- and function in dairy cows around parturition. *Frontiers in Immunology*, 13, Article 784046. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.784046>
20. Li, P., Yin, Y. L., Li, D., Kim, S. W., & Wu, G. (2007). Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*, 98(2), 237–252. <https://doi.org/10.1017/S000711450769936X>
 21. Malekkhahi, M., Naserian, A. A., Rahimi, A., Bazgir, A., Vyas, D., & Razzaghi, A. (2021). Effects of ground, steam-flaked, and super-conditioned corn grain on production performance and total-tract digestibility of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 8851–8866. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19953>
 22. Meyer, J., Daniels, S. U., Grindler, S., Tröscher-Mußotter, J., Alaedin, M., Frahm, J., Hüther, L., Kluess, J., Kersten, S., von Soosten, D., Meyer, U., Most, E., Eder, K., Sauerwein, H., Seifert, J., Huber, K., Rehage, J., & Dänicke, S. (2020). Effects of a dietary L-carnitine supplementation on performance, energy metabolism and recovery from calving in dairy cows. *Animals*, 10(2), Article 342. <https://doi.org/10.3390/ani10020342>
 23. Meyer, J., Kononov, S. U., Grindler, S., Tröscher-Mußotter, J., Alaedin, M. T., Frahm, J., Hüther, L., Kluess, J., Kersten, S., von Soosten, D., Meyer, U., Most, E., Eder, K., Sauerwein, H., Seifert, J., Huber, K., Wegerich, A., Rehage, J., & Dänicke, S. (2021). Dietary L-carnitine supplementation modifies the lipopolysaccharide-induced acute phase reaction in dairy cows. *Animals*, 11(1), Article 136. <https://doi.org/10.3390/ani11010136>
 24. Mulligan, F. J., & Doherty, M. L. (2008). Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal*, 176(1), 3–9. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.018>
 25. Nocek, J. E., & Tamminga, S. (1991). Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3598–3629. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78552-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78552-4)
 26. Offner, A., Bach, A., & Sauvant, D. (2003). Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, 106(1–4), 81–93. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(03\)00038-5](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00038-5)
 27. Overton, T. R., & Waldron, M. R. (2004). Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. *Journal of Dairy Science*, 87(E. Suppl.), E105–E119.
 28. Owens, F. N., Zinn, R. A., & Kim, Y. K. (1986). Influence of grain diets on ruminal fermentation and ruminal disorders in beef cattle: A review. *Journal of Animal Science*, 63(5), 1634–1648.
 29. Pannen, B. H., & Robotham, J. L. (1995). The acute-phase response. *New Horizons*, 3(2), 183–197.
 30. Piepenbrink, M. S., & Overton, T. R. (2003). Liver metabolism and production of cows fed increasing amounts of rumen-protected choline during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 86(5), 1722–1733.
 31. Pirestani, A., & Aghakhani, M. (2018). The effects of rumen-protected choline and L-carnitine supplementation in the transition period on reproduction, production, and some metabolic diseases of dairy cattle. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1), 435–440. <https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1332632>
 32. Safaei, K., et al. (2017). Response of lactating dairy cows to degree of steam-flaked barley grain in low-forage diets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 101(6), 1305–1314.
 33. Sheldon, I. M., Cronin, J. G., & Bromfield, J. J. (2019). Tolerance and innate immunity shape the development of postpartum uterine disease and the impact of endometritis in dairy cattle.

Annual Review of Animal Biosciences, 7, 361–384. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-020518-115227>

34. Silvestre, F., Carvalho, T., Crawford, P. C., Santos, J., Staples, C., Jenkins, T., & Thatcher, W. (2011). Effects of differential supplementation of fatty acids during the peripartum and breeding periods of Holstein cows: II. Neutrophil fatty acids and function, and acute phase proteins. *Journal of Dairy Science*, 94(5), 2285–2295.
35. Sordillo, L. M., & Raphael, W. (2013). Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 29(2), 267–278. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.03.002>
36. Theurer, C. B., Huber, J. T., Delgado-Elorduy, A., & Wanderley, R. (1999). Summary of steam-flaking corn or sorghum grain for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82(8), 1950–1959.
37. Vels, L., Røntved, C., Bjerring, M., & Ingvarsen, K. (2009). Cytokine and acute phase protein gene expression in repeated liver biopsies of dairy cows with a lipopolysaccharide-induced mastitis. *Journal of Dairy Science*, 92(3), 922–932.
38. Xu, W., Grindler, S., Dänicke, S., Frahm, J., Kenéz, Á., & Huber, K. (2021). Increased plasma and milk short-chain acylcarnitine concentrations reflect systemic LPS response in mid-lactation dairy cows. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 321(3), R429–R440. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00072.2021>
39. Yang, W. Z., Beauchemin, K. A., & Rode, L. M. (2000). Effects of barley grain processing on extent of digestion and milk production of lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 83(3), 554–568.
40. Yang, W. Z., Beauchemin, K. A., & Rode, L. M. (2001). Effects of grain processing, forage to concentrate ratio, and forage particle size on rumen pH and digestion by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84(10), 2203–2216.
41. Zhang, Y., Li, X., Zhang, H., Zhao, Z., Peng, Z., Wang, Z., Liu, G., & Li, X. (2018). Non-esterified fatty acids over-activate the TLR2/4-NF- κ B signaling pathway to increase inflammatory cytokine synthesis in neutrophils from ketotic cows. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 48(2), 827–837.
42. Zhao, C., Liu, G., Li, X., Guan, Y., Wang, Y., Yuan, X., Sun, G., Wang, Z., & Li, X. (2018). Inflammatory mechanism of rumenitis in dairy cows with subacute ruminal acidosis. *BMC Veterinary Research*, 14(1), Article 135.
43. Zinn, R. A. (1990). Influence of steaming time on site of digestion of flaked corn in steers. *Journal of Animal Science*, 68(3), 776–781.
44. Zinn, R. A. (1993). Influence of processing on the comparative feeding value of barley for feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 71(1), 3–10