



## Effect of iron removal from mineral premix and whole cotton seed supplementation as iron chelator on productive performance and health status of Holstein dairy cows during transition period and their calves

Mohsen Khalili<sup>1</sup>, Hamid Amanlou<sup>2✉</sup>, Tahere Amirabadi Farahani<sup>3</sup>,  
Najme Eslamian Farsuni<sup>4</sup>

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: [m\\_khalili1362@yahoo.com](mailto:m_khalili1362@yahoo.com)
2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: [amanlou@znu.ac.ir](mailto:amanlou@znu.ac.ir)
3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. E-mail: [amirabadi@sku.ac.ir](mailto:amirabadi@sku.ac.ir)
4. Department of Animal Sciences, Agriculture and Natural Resources Research Center, Shahrekord, Iran. E-mail: [n.e.farsuni@areeo.ac.ir](mailto:n.e.farsuni@areeo.ac.ir)

نویسنده سوم کد ا رکید ندارند

Article Info	ABSTRACT
<b>Article type:</b> Research Article	<p>The aim of this study was to evaluate the effect of removing iron from mineral premix before calving on the productive performance and health status of Holstein dairy cows during transition period. The ninety multiparous Holstein dairy cows entered the experiment -21 days before the expected calving and were randomly assigned to 3 experimental treatments. Treatments included: 1) control treatment: recipient of mineral supplement with iron (to supply iron requirement in the amount of 15 mg/kg; n = 30); 2) treatment without iron: recipient of mineral supplement without iron (n=30); 3) without supplemental iron treatment with cottonseed: recipient of mineral supplement without iron and 4.6% of cottonseed in the diet (n=30). Removing iron from mineral supplements with and without cottonseed had no significant effect on milk production, percentage and amount of milk fat, as well as the amount of milk protein. The somatic cell count (SCC) in the control treatments, without supplemental iron and without supplemental iron with cottonseed, were 471.48, 338.80 and 155.77 (10<sup>3</sup> per ml), respectively, which significantly decreased in the treatment without supplemental iron with cottonseed. Body weight changes after calving were also affected by experimental treatments. Removing iron from the mineral supplement along with cottonseed reduces the incidence of hypocalcemia. Total birth weight of both male and female calves, body length, hearth girth and days of diarrhea showed a significant difference between the treatments. Overall, the removal of supplemental iron along with cottonseed reduced the SCC and also improved the health status of cows and their calves.</p>
<b>Article history:</b> Received: 28 August 2023 Received in revised form: 13 October 2023 Accepted: 18 October 2023 Published online: 21 June 2024	
<b>Keywords:</b> <i>Trace minerals,</i> <i>cottonseed,</i> <i>body weight,</i> <i>somatic cell count,</i> <i>metabolic disorder,</i> <i>calf diarrhea.</i>	

**Cite this article:** Khalili, M., Amanlou, H., Amirabadi Farahani, T. & Eslamian Farsuni, N. (2024). Effect of iron removal from mineral premix and whole cotton seed supplementation as iron chelator on productive performance and health status of Holstein dairy cows during transition period and their calves. *Iranian Journal of Animal Science*, 55 (2), 383-400. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.364195.653964>



© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.364195.653964>

### Extended Abstract

#### Introduction

The aim of this study was to evaluate the effect of removing iron from mineral premix before calving on the productive performance and health status of Holstein dairy cows during transition period.

#### Material and method

The ninety multiparous Holstein dairy cows entered the experiment -21 days before the expected calving

and were randomly assigned to 3 experimental treatments. Treatments include; 1) control treatment: recipient of mineral supplement with iron (to supply iron requirement in the amount of 15 mg/kg; n = 30); 2) treatment without iron: recipient of mineral supplement without iron (n=30); 3) without supplemental iron treatment with cottonseed: recipient of mineral supplement without iron and 4.6% of cottonseed in the diet (n=30).

### Result

The removal of supplemental iron, with and without cottonseed, resulted in a significant ( $P < 0.01$ ) increase in serum glucose levels (55.40 vs. 57.17 and 59.80 mg/dL, respectively). Total protein concentration was similar between treatments ( $P = 0.97$ ), but serum albumin tended to increase in experimental treatments ( $P = 0.09$ ). The removal of supplemental iron, with and without cottonseed, did not affect serum iron, calcium, and magnesium concentrations ( $P < 0.05$ ), but caused a significant decrease ( $P < 0.01$ ) in serum ALT concentrations. Removing iron from mineral supplements with and without cottonseed had no significant effect ( $P < 0.05$ ) on milk production, percentage and amount of milk fat, as well as the amount of milk protein. However, milk protein percentage tended to decrease by 0.21 and 0.22% in the treatments without supplemental iron and without supplemental iron with cottonseed compared to the control treatment ( $P = 0.07$ ). The somatic cell count (SCC) in the control treatments, without supplemental iron and without supplemental iron with cottonseed, were 471.48, 338.80 and 155.77 ( $10^3$  per ml), respectively, which significantly decreased in the treatment without supplemental iron with cottonseed ( $P = 0.04$ ). Body weight changes after calving were also affected by experimental treatments ( $P < 0.01$ ). Removing iron from the mineral supplement along with cottonseed reduces the incidence of hypocalcemia ( $P = 0.01$ ). The control treatment showed a significantly ( $P = 0.01$ ) 5.00 times higher incidence rate of hyperketonemia than the cottonseed. Total birth weight of both male and female calves, body length and hearth girth showed a significant difference between the treatments ( $P = 0.01$ ). The withers height was significantly higher ( $P < 0.01$ ) in the treatment without iron added with cottonseed. Also, in calves, 5.09 times more days of diarrhea were observed in the control treatment ( $P = 0.01$ ) and the treatment without supplemental iron ( $P = 0.05$ ) compared to cottonseed.

### Conclusion

Overall, the removal of supplemental iron along with cottonseed reduced the SCC and also improved the health status of cows and their calves.



## اثر حذف آهن از پیش مخلوط معدنی و افزودن تخم‌پنبه به عنوان کی‌لیت‌کننده آهن بر توان تولیدی و وضعیت سلامت گاوهای شیری دوره انتقال و گوساله‌های آن‌ها

محسن خلیلی<sup>۱</sup> | حمید امانلو<sup>۲</sup> | طاهره امیرآبادی فراهانی<sup>۳</sup> | نجمه اسلامیان فارسونی<sup>۴</sup>

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: [m\\_khalili1362@yahoo.com](mailto:m_khalili1362@yahoo.com)
۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: [amanlou@znu.ac.ir](mailto:amanlou@znu.ac.ir)
۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. رایانامه: [amirabadi@sku.ac.ir](mailto:amirabadi@sku.ac.ir)
۴. گروه علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی شهرکرد، شهرکرد، ایران. رایانامه: [n.e.farsuni@areco.ac.ir](mailto:n.e.farsuni@areco.ac.ir)

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر حذف آهن از پیش مخلوط معدنی پیش از زایش بر توان تولیدی و وضعیت سلامت گاوها بود. تعداد ۹۰ رأس گاو هلشتاین چند بار زایش ۲۱- روز پیش از زایش مورد انتظار وارد آزمایش شده و به‌طور تصادفی به ۳ تیمار آزمایشی اختصاص یافتند. تیمارها شامل: (۱) تیمار شاهد: حاوی مکمل معدنی دارای آهن (جهت تامین آهن مورد نیاز به میزان ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به شکل سولفات آهن؛ $n=30$ )؛ (۲) تیمار بدون آهن: حاوی مکمل معدنی بدون آهن ( $n=30$ )؛ (۳) تیمار بدون آهن با تخم‌پنبه: حاوی مکمل معدنی بدون آهن و ۴/۶ درصد تخم‌پنبه ( $n=30$ ) بودند. حذف آهن از مکمل معدنی با و بدون تخم‌پنبه اثر معنی‌داری بر تولید شیر و درصد و مقدار چربی شیر و هم‌چنین مقدار پروتئین شیر نداشت. شمار سلول‌های پیکری (SCC) در تیمارهای شاهد، بدون آهن و بدون آهن با تخم‌پنبه، به‌ترتیب، ۴۷۱/۴۸، ۳۳۸/۸۰ و ۱۵۵/۷۷ ( $10^3$ ) در هر میلی‌لیتر) بود که در تیمار بدون آهن افزوده با تخم‌پنبه کاهش معنی‌داری داشت. تغییرات وزن بدن پس از زایش نیز تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. حذف آهن از مکمل معدنی به همراه تخم‌پنبه سبب کاهش نسبت بروز هیپوکلسیمی شد. وزن تولد مجموع هر دو جنس نر و ماده گوساله‌ها، طول بدن، دور سینه و نسبت روز اسهال تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان داد. در کل، حذف آهن افزوده شده به همراه تخم‌پنبه سبب کاهش SCC و هم‌چنین بهبود وضعیت سلامت دام و گوساله‌های متولد شده از آن‌ها شد.
مقاله پژوهشی	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۰۶	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۷/۲۱	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۶	
تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۴/۰۱	
کلیدواژه‌ها:	
مواد معدنی، تخم‌پنبه، وزن بدن، شمار سلول‌های پیکری، ناهنجاری متابولیکی، اسهال گوساله.	

**استناد:** خلیلی، محسن؛ امانلو، حمید؛ امیرآبادی فراهانی، طاهره و اسلامیان فارسونی، نجمه (۱۴۰۳). اثر حذف آهن از پیش مخلوط معدنی و افزودن تخم‌پنبه به عنوان کی‌لیت‌کننده آهن بر توان تولیدی و وضعیت سلامت گاوهای شیری دوره انتقال و گوساله‌های آن‌ها. *نشریه علوم دامی ایران*، ۵۵ (۲)، ۳۸۳-۴۰۰. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.364195.653964>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.364195.653964>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

## مقدمه

دوره انتقال، با تغییرات شدید در وظایف متابولیکی، غدد درون‌ریز و ایمنی مشخص می‌شود (Drackley, 1999). کاهش ماده خشک مصرفی (DMI) و به دنبال آن، دریافت ناکافی مواد مغذی در طول دوره پیش از زایش و افزایش تقاضای مواد مغذی برای رشد جنین و بافت پستانی در اواخر دوره آبستنی و سنتز آغوز و تولید شیر در شروع دوره شیردهی به‌طور معمول منجر به توازن منفی مواد مغذی، به ویژه توازن منفی انرژی و پروتئین می‌شود (Hayirli et al., 2002; Kuhla et al., 2011; Sadri et al., 2023).

افزایش قابل توجه در نیازهای تغذیه‌ای برای حمایت از سنتز شیر، با افزایش سه برابری در تقاضا برای گلوکز، دو برابری برای آمینواسیدها و پنج برابری برای اسیدهای چرب رخ می‌دهد (Overton and Waldron, 2004). در نتیجه، افزایش قابل توجه در فعالیت متابولیکی منجر به تنش اکسیداتیو از طریق افزایش تنفس سلولی و بتا-اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراستریفیه (NEFA) برای تامین انرژی در بافت‌های محیطی می‌شود (Abuelo et al., 2015).

تنش اکسیداتیو به تجمع قطعات واکنش‌دهنده اکسیژن (ROS) زمانی که تولید آن‌ها بیش از ظرفیت خنثی‌سازی مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانت باشد، اشاره دارد و به‌عنوان یک عامل بسیار مهم در کاهش قدرت ایمنی پیرامون زایش به دنبال تنش متابولیکی شناسایی شده است (Abuelo et al., 2015; Rossi et al., 2023; Sordillo, 2016; Sordillo et al., 2009). سطح معینی از تولید ROS درون بدن برای پاسخ ایمنی ضروری است، زیرا آن‌ها به‌طور قابل توجهی در انفجار اکسیداتیو پاتوژن‌هایی که به‌وسیله نوتروفیل‌ها یا ماکروفاژها افزون بر سایر مکانیسم‌های ایمنی فاگوسیتوز شده‌اند، سهیم هستند. متأسفانه، ROS در صورت تجمع می‌تواند منجر به تخریب سلول‌های حیوان میزبان نیز شود (Sordillo, 2013). تنش اکسیداتیو عامل اصلی قابل توجهی در پاسخ‌های ایمنی و التهابی ناکارآمد میزبان است که می‌تواند حساسیت گاوهای شیری را به انواع اختلالات سلامتی، به‌ویژه در دوره انتقال افزایش دهد (Allison and Laven, 2000; Bernabucci et al., 2005; Castillo et al., 2005; Wilde, 2006).

آهن و مس می‌توانند با  $O_2^-$  و  $H_2O_2$ ، که بخشی از ROS هستند، ارتباط برقرار کنند تا حتی رادیکال هیدروکسیل واکنش‌پذیرتر ( $OH^\cdot$ ) در واکنش کاتالیز شده یون فلز هابر-ویس و واکنش فنتون، به‌ترتیب تشکیل شود (Halliwell and Gutteridge, 2007; Sorg, 2004). کاتالیزوری آهن آزاد می‌تواند به‌طور قابل توجهی در تولید ROS نقش داشته باشد و در شرایط فیزیولوژیکی طبیعی، به‌طور موثری توسط پروتئین‌های مختلف متصل‌شونده به فلز متوقف می‌شود (Kakhlon and Cabantchik, 2002). با وجود این، گاوهای شیری در پرتو شماری از اختلالات از جمله فساد مواد خوراکی، نامتوازن بودن جیره و شرایط محیطی نامناسب و بیماری‌های عفونی قرار دارند که می‌توانند آزادسازی آهن برای استفاده در واکنش فنتون تولیدکننده ROS را تسهیل سازند (Miller et al., 1993). رادیکال هیدروکسیل بسیار واکنش‌پذیر تشکیل شده توسط واکنش فنتون یا واکنش هابر-ویس می‌تواند منجر به پراکسیداسیون لیپید غشایی، به‌ویژه غشای لنفوسیت‌ها و تولید ROS اضافی شود (Sordillo and Aitken, 2009).

آهن مورد نیاز گاو در هشتمین ویرایش نیازهای غذایی گاوهای شیری (NASEM, 2021)، ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش شده است. جیره‌های فرموله شده در ایران برای گاوهای شیری با مواد خوراکی مرسوم از جمله علف خشک یونجه، ذرت سیلو شده، تفاله چغندر قند، دانه جو، دانه ذرت و هم‌چنین مکمل‌های پروتئینه، غلظت آهن بالایی را دیکته می‌کند. انتقال آهن از خون به شیر کم است در حالی که انتقال کلسیم زیاد است به همین دلیل امکان افزایش غلظت آهن خون در زمان زایش وجود دارد که مشکلات مختلفی را ایجاد می‌کند. با وجود این‌که، مورد استفاده قرار گرفتن آهن اضافی مورد بحث است ولی وجود آهن اضافی در این دوره یکی از احتمالاتی است که ممکن است باعث بیماری‌های متابولیکی و بیماری‌های عفونی گاو در دوره انتقال، از جمله جفت‌ماندگی، کبد چرب، کتوزیس، متريت و ورم‌پستان شود. باکتریوم‌های بیماری‌زا نیاز غذایی

شدیدی به آهن دارند. رقابت بر سر آهن بین میزبان و باکتریومها عامل مهمی در تعیین روند عفونت باکتریایی است (Aisen and Leiman, 1972; Litwin and Calderwood, 1993). لذا در این پژوهش، آهن مکمل از تیمار شاهد که به طور معمول حاوی مکمل سولفات آهن می‌باشد حذف شده است و در گروه دیگر تخم‌پنبه به عنوان کی‌لیت‌کننده آهن و کم کردن فراهمی برای حیوان مورد استفاده قرار گرفته است. در نتیجه، فرضیه این پژوهش، نیافزودن مکمل آهن و حتی استفاده از تخم‌پنبه به عنوان کاهنده فراهمی آهن مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در مزرعه گاو شیری دشت گلستان شرق سها واقع در استان اصفهان (دارای تعداد ۷۰۰ راس گاو مولد) از زمستان ۱۴۰۰ تا بهار ۱۴۰۱ انجام شد. تعداد ۹۰ رأس گاو هلشتاین چند بار زایش (دوره شیردهی دوم و بالاتر) در ۲۱-روز پیش از زایش مورد انتظار وارد آزمایش شدند و به‌طور تصادفی به ۳ تیمار آزمایشی اختصاص یافتند. تیمارها شامل: (۱) تیمار شاهد: حاوی مکمل معدنی دارای آهن (جهت تامین آهن مورد نیاز به میزان ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به شکل سولفات آهن؛  $n=30$ )؛ (۲) تیمار بدون آهن: حاوی مکمل معدنی بدون آهن ( $n=30$ )؛ (۳) تیمار بدون آهن با تخم‌پنبه: حاوی مکمل معدنی بدون آهن و  $4/6$  درصد تخم‌پنبه ( $n=30$ ).

گاوهای طی اوایل دوره خشکی، در یک بهار بند نگه‌داری شدند و همه گاوها با یک جیره دوره خشکی یکسان از نظر مواد خوراکی و آنالیز شیمیایی (جدول ۱ و ۲) روزانه ۲ بار (ساعت‌های ۰۹:۰۰ و ۱۵:۰۰) در حد اشتها با هدف دستیابی به ۵ تا ۱۰ درصد بقایا تغذیه شدند. با نزدیک شدن به ۲۱-روز پیش از زایش، گاوها به‌طور تصادفی به سه گروه کلوزآپ متوازن از لحاظ فاصله از زایش، وزن بدن (BW)، امتیاز وضعیت بدنی (BCS) و تراکم حیوان اختصاص یافتند. زمانی که گاوها علایم اولیه زایش را نشان دادند، به زایشگاه منتقل شدند. پس از زایش، گاوهای هر سه تیمار به یک جایگاه گاوهای تازه‌زا انتقال داده شدند و تا ۲۱ روز پس از زایش با دسترسی آزاد به آب در آن‌جا نگه‌داری شدند. گاوهای هر سه تیمار جیره‌های گاوهای تازه‌زا با مواد خوراکی و آنالیز شیمیایی یکسانی را در حد اشتها روزانه ۳ بار (ساعت‌های ۰۷:۰۰، ۱۵:۰۰ و ۲۳:۰۰) دریافت کردند (جدول ۱-۲ و ۲-۲). شیردوشی از گاوها نیز ۳ بار در روز (ساعت‌های ۰۶:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۲۲:۰۰) انجام شد. از نرم‌افزار NRC (۲۰۰۱) برای متوازن کردن جیره‌ها استفاده شد.

تولید شیر و ترکیبات آن به طور ماهانه ثبت شد و نمونه‌گیری از شیر جهت تعیین ترکیبات شیر (چربی، پروتئین) و شمار سلول‌های پیکری (SCC) با استفاده از دستگاه میکرواسکن (Combi Scope-600Hp) تجزیه شدند. شیر تصحیح‌شده بر اساس ۴ درصد چربی (FCM) مطابق با روش گینز و اورمن (۱۹۳۸) محاسبه شدند.

نمره وضعیت بدنی گاوها توسط دو کارشناس مجرب ۲۱-روز پیش از زایش و روز زایش و ۲۱ روز پس از زایش در مقیاس ۱ تا ۵ مطابق با روش ویلدمن و همکاران (۱۹۸۲) ثبت شد و از میانگین BCS برای آنالیز استفاده شد. هم‌چنین گاوها در ۲۱-روز پیش از زایش و روز پس از زایش وزن کشی شدند.

از کل گاوها، ۴ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح و از ورید دمی با استفاده از لوله‌های تحت خلأ بدون ماده ضد انعقاد (Vacumed® no additive, FL medical, Italy) در روزهای صفر، ۵ و ۲۱ پس از زایش خونگیری صورت گرفت. نمونه‌های سرم پس از سانتریفیوژ در  $3000\text{ g}$  به مدت ۱۵ دقیقه جمع‌آوری شدند و در  $-20$  درجه سلسیوس برای انجام تجزیه‌های شیمیایی بعدی منجمد شدند. نمونه‌های سرم روزهای صفر و ۲۱ پس از زایش برای اندازه‌گیری غلظت‌های گلوکز (Sacks, 1999)، آلومین (Johnson et al., 1999)، پروتئین کل (Thomas, 1998)، آهن (Virgil et al., 1999)، آلانین آمینوترانسفراز (Moss and Henderson, 1999; ALT)، کلسیم (Endrs and Rude, 1999) و منیزیم (Endrs and Rude, 1999) با استفاده از کیت‌های تجاری (Pars Azmoon Laboratory, Tehran, Iran) و با دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICCO, 2100, Zistchemi)

Co., Tehran, Iran) تجزیه شدند. هم‌چنین، سرم روز ۵ پس از زایش جهت تعیین هایپرکتونومیا برای اندازه‌گیری غلظت بتا-هیدروکسی بوتیریک اسید (McMurray et al., 1984; BHBA) با استفاده از کیت تجاری رندوکس (Randox Laboratories Ltd., Crumlin, County Antrim UK) تجزیه شد.

جدول ۱. اجزای تشکیل دهنده جیره‌های آزمایشی دوره پیش از زایش و شیردهی گاوهای هلشتاین

شیردهی	انتظار زایش			خشک	مواد خوراکی
	بدون آهن با تخم پنبه	بدون آهن	شاهد		
۹/۸۱	۸/۷۰	۹/۰۷	۹/۰۷	۲۱/۶۰	علف خشک یونجه
۲۱/۴۶	۳۴/۶۶	۳۶/۲۵	۳۶/۲۵	۳۰/۹۳	ذرت سیلو شده
۱/۴۵	۳/۴۴	۳/۵۹	۳/۵۹	۲۳/۸۸	کاه گندم
۹/۱۳	-	-	-	-	تفاله چغندر قند
۶/۳۶	۷/۹۱	۸/۲۳	۸/۲۳	۱۱/۸۳	دانه جو آسیاب شده
۲۳/۱۷	۲۱/۳۲	۲۲/۲۳	۲۲/۲۳	-	دانه ذرت آسیاب شده
۱۱/۴۷	۶/۹۴	۷/۲۴	۷/۲۴	۲/۲۸	کنجاله سویا، حالالی
۴/۱۳	۲/۷۸	۲/۸۸	۲/۸۸	-	پودر ماهی
۴/۸۴	۱/۱۵	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۷۱	پودر گوشت
-	۳/۶۸	۳/۸۷	۳/۸۷	-	کنجاله گلوتن ذرت
۲/۸۸	۴/۲۲	-	-	-	تخم پنبه
-	-	-	-	۶/۷۷	سبوس گندم
-	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۲۹	اوره آهسته رهش
۰/۶۴	-	-	-	۰/۰۷	نمک
۰/۳۲	۰/۳۰	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۱۴	منیزیم اکسید
-	۰/۷۲	۰/۷۹	۰/۷۹	-	کلسیم کلرید
۰/۷۷	۲/۳۳	۲/۳۲	۲/۳۲	۰/۲۹	کلسیم کربنات
-	۱/۰۳	۱/۰۵	۱/۰۵	-	منیزیم سولفات
-	۰/۱۸	۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۰۷	دی کلسیم فسفات
۱/۶۰	-	-	-	-	سدیم بیکربنات
۰/۴۰	-	-	-	-	بنتونیت
-	-	-	-	۰/۱۴	مکمل ویتامینه معدنی گاو خشک <sup>۱</sup>
-	۰/۶۰	۰/۶۰	۰/۶۰	-	مکمل ویتامینه معدنی انتظار زایش <sup>۲</sup>
۰/۶۲	-	-	-	-	مکمل ویتامینه شیرده <sup>۳</sup>
۰/۶۲	-	-	-	-	مکمل معدنی شیرده <sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> هر کیلوگرم مکمل ویتامینه معدنی گاو خشک، حاوی ۷۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۲۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۶۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۸۵۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۷۰۰ میلی‌گرم مس، ۳۰ میلی‌گرم کبالت، ۸۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۸۰ میلی‌گرم ید، ۱۰۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدانت.

<sup>۲</sup> هر کیلوگرم مکمل ویتامینه معدنی انتظار زایش حاوی ۱۶۶۶۷۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۳۶۶۷۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۳۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۴۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۵۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۳۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۹ میلی‌گرم کبالت، ۵۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۸۴ میلی‌گرم ید، ۲۵۳۵ میلی‌گرم آهن (موجود در جیره حاوی آهن)، ۱۰۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدانت.

<sup>۳</sup> هر کیلوگرم مکمل ویتامینه گاو شیرده حاوی ۱۴۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۳۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۰۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدانت.

<sup>۴</sup> هر کیلوگرم مکمل معدنی گاو شیرده حاوی ۷۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۶۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۳۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۵۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۶۰ میلی‌گرم ید، ۳۰۰۰ میلی‌گرم مونسین.

جدول ۲. ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی دوره پیش از زایش و شیردهی گاوهای هلشتاین

مواد مغذی	انتظار زایش			خشک	شیردهی
	بدون آهن با تخم پنبه	بدون آهن	شاهد		
انرژی خالص شیردهی، مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک	۱/۶۰	۱/۶۷	۱/۶۷	۱/۴۳	۱۲/۰۰
پروتئین خام، درصد	۱۸/۳	۱۵/۴۰	۱۵/۳۰	۱۲/۰۰	۸/۵۰
پروتئین قابل تجزیه شکمبه‌ای، درصد	۱۰/۷	۹/۷۰	۹/۴۰	۹/۴۰	۳/۴۰
پروتئین غیر قابل تجزیه شکمبه‌ای، درصد	۷/۶	۵/۸	۵/۹۰	۵/۹۰	۴۵/۵۰
الیاف نامحلول در شوینده خنثی، درصد	۲۷/۶۰	۳۱/۳۰	۳۱/۱۰	۳۱/۱۰	۲۹/۴۰
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، درصد	۱۵/۱۰	۱۶/۹۰	۱۷/۹۰	۱۷/۹۰	۴۰/۲۰
الیاف نامحلول در شوینده خنثی علوفه‌ای، درصد	۱۸/۱۰	۲۴/۶۰	۲۵/۷۰	۲۵/۷۰	۳۵/۲۰
کربوهیدرات غیر الیافی، درصد	۴۷/۰۰	۴۲/۲۰	۴۲/۱۰	۴۲/۱۰	۲/۴۰
عصاره اتری، درصد	۴/۱۰	۳/۵۰	۲/۸۰	۲/۸۰	۰/۷۳
کلسیم، درصد	۱/۲۴	۱/۶۰	۱/۶۶	۱/۶۶	۰/۴۰
فسفر، درصد	۰/۶۰	۰/۴۷	۰/۴۶	۰/۴۶	۰/۲۹
منیزیم، درصد	۰/۳۷	۰/۵۲	۰/۵۱	۰/۵۱	۰/۰۸
سدیم، درصد	۰/۸۰	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۱/۴۷
پتاسیم، درصد	۱/۰۸	۱/۰۶	۱/۰۶	۱/۰۶	۰/۴۲
کلر، درصد	۰/۶۱	۰/۵۹	۰/۶۳	۰/۶۳	۰/۱۷
گوگرد، درصد	۰/۲۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۱۰
مس، میلی گرم در کیلوگرم	۲۶	۲۴	۲۵	۲۵	۱۷۳
آهن، میلی گرم در کیلوگرم	۲۰۹	۱۴۹	۱۵۵	۱۷۲	۵۸
منگنز، میلی گرم در کیلوگرم	۷۳	۵۸	۶۰	۶۰	۴۲
روی، میلی گرم در کیلوگرم	۱۳۲	۶۱	۶۳	۶۳	
تفاوت کاتیون-آنیون جیره، میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم	+۳۰۵	-۱۳۶	-۱۴۷	-۱۴۷	+۱۹۱

بروز ناهنجاری‌های متابولیکی از قبیل هیپوکلسیمی تحت درمانگاهی (کلسیم سرم کوچک‌تر یا مساوی ۸/۵ میلی گرم در دسی لیتر؛ Oetzel and Eastridge, 2013)، هیپومنیزیمی (منیزیم سرم کم‌تر از ۱/۷ میلی گرم در دسی لیتر؛ Martin-Tereso and Martens, 2014)، متریت درمانگاهی (وجود ترشحات آبکی، قرمز-قهوه‌ای و بدبو در واژن و دمای بدن بالای ۳۹/۵ درجه سلسیوس راست‌روده؛ Sheldon et al., 2006)، متریت تحت درمانگاهی (وجود ترشحات چرکی یا موکوزی چرکی در واژن بدون تب و بوی زننده)، هایپرکتونومیا (غلظت BHBA بزرگ‌تر یا مساوی ۱/۲ میلی مول در لیتر؛ McArt et al., 2015) و ورم‌پستان (داشتن دلمه، لخته و سروز در شیر، مستقل از بیماری‌های سیستمیک و علائم التهاب تشخیص؛ Jamali et al., 2018) ثبت شد.

گوساله‌ها بلافاصله پس از تولد وزن‌کشی شدند و ارتفاع از جدوگاه، طول بدن و دور سینه آن‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد. تعداد گوساله‌های اسهال و میانگین روزهای اسهال نیز ثبت شد.

داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. داده‌های تکرار شده در زمان از قبیل تولید شیر و ترکیبات آن با رویه Mixed، نرم‌افزار SAS (version 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC) تجزیه و تحلیل آماری شدند. برای تجزیه آماری تولید شیر، تولید شیر دوره شیردهی پیشین به عنوان عامل کوواریت وارد مدل شدند. مدل شامل اثر ثابت تیمار، زمان و

اثر متقابل تیمار در زمان بود. برای داده‌های تکرار شده در زمان، ساختار کوواریانس با کوچک‌ترین معیار اطلاعاتی آکایک انتخاب شد. داده‌ها به صورت میانگین حداقل مربعات (LSM) گزارش شدند و تفاوت‌های آماری در  $P \leq 0.05$ ، معنی‌داری و در  $0.05 < P \leq 0.10$  تمایل به معنی‌داری تلقی شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی انجام شد. داده‌ها از قبیل درصد بروز ناهنجاری‌های متابولیکی و عفونی با رگرسیون لجستیک با استفاده از رویه GLIMMIX نرم‌افزار SAS تجزیه آماری شدند.

## نتایج و بحث

نتایج مربوط به متابولیت‌های خونی گاوها پس از زایش در جدول ۱ نشان داده شده است. حذف آهن افزوده شده، با و بدون تخم‌پنبه منجر به افزایش معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) سطح گلوکز سرم شد ( $55/40$  در مقابل  $57/17$  و  $59/80$  میلی‌گرم در دسی‌لیتر، به ترتیب). غلظت پروتئین کل، بین تیمارها مشابه بود ( $P = 0.97$ ) اما، آلبومین سرم در تیمارهای آزمایشی تمایل به افزایش داشت ( $P = 0.09$ ). حذف آهن افزوده شده، با و بدون تخم‌پنبه، غلظت آهن، کلسیم و منیزیم سرم را تحت تاثیر قرار نداد ( $P > 0.05$ ) اما سبب کاهش معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) غلظت ALT سرم شد.

پژوهشگران (Barraza et al., 1991)، ۱۵ درصد تخم‌پنبه را با و بدون ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آهن سولفات با جیره حاوی ۱۸/۷ درصد سویا با و بدون همان میزان آهن مقایسه کردند و تفاوتی از نظر آلبومین سرم و آنزیم‌های کبدی [آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT)] مشاهده نکردند. طی یک پژوهش (Mena et al., 2004)، اثری از افزودن تخم‌پنبه به جیره گاوهای شیری بر غلظت آلبومین سرم، پروتئین کل، گلوکز و آنزیم‌های کبدی آلکالین فسفاتاز و GGT به جز AST مشاهده نکردند. غلظت این آنزیم در تیمار حاوی تخم‌پنبه بالاتر و سطح آهن پایین‌تر که سطح گوسپول بالاتری داشت افزایش یافت. افزایش آنزیم‌های کبدی نشانگر آسیب کبدی می‌باشند. به نظر می‌رسد حذف آهن افزوده شده به همراه افزودن تخم‌پنبه آسیب کبدی دوره انتقال گاو شیری را کاهش داده است. نتایج برخی از پژوهش‌های پیشین (Coppock et al., 1985; Belibasakis and Tsirgogiannib, 1995) اثری از مصرف تخم‌پنبه بر غلظت پروتئین کل، کلسیم و منیزیم سرم خون نشان ندادند که در راستای نتایج پژوهش حاضر بودند. در واقع میزان آلبومین سرم خون دام متاثر از جیره و وضعیت سلامت حیوان می‌باشد. تغییرات در غلظت آلبومین می‌تواند نشان دهنده اختلال در عملکرد کبد به دلیل شرایط التهابی باشد (Bertoni et al., 2008). آلبومین که توسط کبد سنتز می‌شود، در آغاز دوره شیردهی به دلیل توازن منفی انرژی کم‌تر می‌باشد و با بهبود وضعیت متابولیک پس از زایش و در طول دوره شیردهی، با یک روند درجه دوم افزایش می‌یابد (Bobbo et al., 2017). بهبود وضعیت سلامت دام و محدودیت پایین‌تر گلوکز طی دوره پس از زایش سبب استفاده کم‌تر از آمینواسیدها در مسیر تولید گلوکز می‌شود و همان‌طور که مشاهده شد در پژوهش حاضر تیمارهای آزمایشی سطح گلوکز بالاتری دارند و تخریب کبدی کم‌تری نیز نشان دادند. به احتمال، کاهش سطح آهن سبب کاهش تنش و آسیب کبدی کم‌تر و در نتیجه بهبود وضعیت سلامت دام شده است.



جدول ۳. اثر حذف آهن از مکمل معدنی، با و بدون تخم‌پنبه بر متابولیت‌های خونی پس از زایش گاوهای هلشتاین

سطح احتمال	تیمار	SEM	تیمارهای آزمایشی		صفات	
			بدون آهن با تخم‌پنبه	بدون آهن		شاهد
<۰/۰۱		۰/۴۸	۵۹/۸۰ <sup>a</sup>	۵۷/۱۷ <sup>b</sup>	۵۵/۴۰ <sup>c</sup>	گلوکز، میلی گرم در دسی لیتر
۰/۰۹		۰/۱۸	۳/۱۳	۲/۷۳	۲/۵۶	آلبومین، گرم در دسی لیتر
۰/۹۷		۰/۴۲	۷/۰۹	۷/۲۲	۷/۱۲	پروتئین کل، گرم در دسی لیتر
۰/۲۵		۷/۷۱	۱۲۰/۴۵	۱۳۸/۱۹	۱۳۴/۰۰	آهن، میکروگرم در دسی لیتر
<۰/۰۱		۰/۵۴	۶۶/۲۹ <sup>b</sup>	۶۷/۱۲ <sup>b</sup>	۶۹/۱۰ <sup>a</sup>	آلآنین آمینو ترانسفراز، واحد در لیتر
۰/۸۲		۰/۳۹	۸/۳۴	۸/۱۰	۸/۰۱	کلسیم، میلی گرم در دسی لیتر
۰/۱۱		۰/۲۴	۳/۲۵	۳/۵۲	۲/۸۰	منیزیم، میلی گرم در دسی لیتر

<sup>a, b, c</sup> در هر سطر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها را نشان می‌دهد ( $P \leq 0.05$ ).

نتایج مربوط به تولید شیر و ترکیبات آن در جدول ۲ نشان داده شده است. تولید شیر، تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $P = 0.43$ )، اما اثر زمان ( $P < 0.01$ ) برخلاف اثر متقابل تیمار در زمان ( $P = 0.65$ ) برای تولید شیر معنی‌دار شد. اثر زمان نشان داد که پس از زایش در گاوهای تازه‌زا تولید شیر با پیشرفت شیردهی افزایش یافت. تولید شیر تصحیح‌شده بر اساس ۴ درصد چربی شیر در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P = 0.69$ )، اما یک اثر از زمان ( $P < 0.01$ ) برای FCM وجود داشت، بدین صورت که با پیشرفت دوره شیردهی افزایش داشت در صورتی که اثر متقابل تیمار در زمان ( $P = 0.86$ ) برای FCM مشاهده نشد. هم‌چنین، درصد چربی شیر و مقدار آن تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ( $P > 0.05$ ). در صورتی که زمان اثر معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0.01$ )، اما برای هیچ‌کدام اثر متقابل تیمار در زمان مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). درصد پروتئین شیر، تمایل به کاهش ۰/۲۱ و ۰/۲۲ درصدی در تیمارهای بدون آهن افزوده شده و بدون آهن افزوده شده با تخم‌پنبه نسبت به تیمار شاهد داشت ( $P = 0.07$ )، درحالی که مقدار پروتئین شیر بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد ( $P = 0.45$ ). اثر زمان ( $P < 0.01$ ) برای درصد و مقدار پروتئین شیر و اثر متقابل تیمار در زمان برای درصد پروتئین شیر ( $P < 0.01$ ) و نه مقدار آن ( $P = 0.77$ ) سطح معنی‌داری را نشان داد. شمار سلول‌های پیکری در تیمارهای شاهد، بدون آهن و بدون آهن با تخم‌پنبه، به ترتیب، ۴۷۱/۴۸، ۳۳۸/۸۰ و ۱۵۵/۷۷ ( $10^3$  در هر میلی لیتر) بود که در تیمار بدون آهن افزوده با تخم‌پنبه کاهش معنی‌داری داشت ( $P = 0.04$ ). اثر زمان برای شمار سلول‌های پیکری تمایل به معنی‌داری ( $P = 0.07$ ) نشان داد اما، اثر متقابل تیمار در زمان مشاهده نشد ( $P = 0.74$ ).

در پژوهش حاضر، حذف آهن از پیش مخلوط معدنی، با و بدون تخم‌پنبه اثری بر تولید شیر و ترکیبات آن به جز درصد پروتئین شیر نشان نداد. اما، به صورت عددی افزودن تخم‌پنبه سبب افزایش ۲/۱۲ کیلوگرم شیر شد. هم‌سو با نتایج پژوهش حاضر، گزارش شد که تزریق درون شیری آهن (هر گاو با صفر، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۲۵۰ میلی گرم آهن در روز به شکل محلول فروس لاکتات) اثری بر ماده خشک مصرفی، تولید شیر و ترکیبات آن نداشت (Feng et al., 2013). گنجاندن تخم‌پنبه در جیره پروتئین شیر را نزدیک به ۰/۱۰ درصد کاهش داد (Smith et al., 1981).

پژوهشگران (Feng et al., 2013) گزارش کردند که افزایش دوزهای تزریق آهن بر SCC شیر تأثیری نداشت. آن‌ها بیان کردند که تا ۱۲۵۰ میلی گرم آهن (فروس) در روز برای گاوهای شیری اوایل دوره شیردهی بی‌خطر است. در پژوهشی دیگر (Weiss et al., 2010)، گاوهایی که مکمل آهن (۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) دریافت می‌کردند، لگاریتم SCC کم‌تری نسبت به گروه شاهد داشتند (۴/۳۷ در مقابل ۴/۶۲)، اما میزان پاسخ آنقدر کم بود که اهمیت اقتصادی کمی داشت. درحالی که در پژوهش حاضر حذف آهن افزوده شده سبب کاهش SCC به میزان  $10^3 \times 133/12$  در هر میلی لیتر نسبت به تیمار شاهد شد ولی به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. درحالی که حذف آهن افزوده شده به همراه افزودن تخم‌پنبه به جیره سبب کاهش

معنی‌دار SCC شیر شد. به نظر می‌رسد کاهش آهن قابل دسترس میکروپها و پاتوژن‌ها و تشدید اثر آن با افزودن تخم‌پنبه سبب وضعیت سلامت پستان و کاهش عفونت به استافیلوکوکوس اورئوس و در نتیجه کاهش SCC شده باشد. طی یک پژوهش (Thompson *et al.*, 1991)، به موضوع مسمومیت مزمن با آهن در گاو بالغ پرداخته شد و نتیجه گرفته شد که تزریق آهن فریک در دوزهای ۱۵، ۳۰ و ۶۰ گرم در روز به مدت ۱۰ روز می‌تواند سبب کاهش BW، تولید شیر و چربی شیر شود. مصرف بیش از حد آهن بر سلامت گاو تأثیر می‌گذارد که عمدتاً به دلیل تداخل با جذب سایر مواد معدنی و تشکیل یک محیط اکسیداسیون است (Hansen *et al.*, 2010).

جدول ۴. اثر حذف آهن از مکمل معدنی، با و بدون تخم‌پنبه بر تولید و ترکیبات شیر گاوهای هلشتاین

صفات	تیمارهای آزمایشی			SEM	سطح احتمال		تیمار × زمان
	شاهد	بدون آهن	بدون آهن با تخم‌پنبه		تیمار	زمان	
تولید شیر، کیلوگرم	۴۷/۸۱	۴۷/۹۳	۴۹/۹۳	۱/۳۰	۰/۴۳	<۰/۰۱	۰/۶۵
چربی شیر، درصد	۳/۳۴	۳/۳۰	۳/۲۰	۰/۰۸۶	۰/۴۹	<۰/۰۱	۰/۷۴
پروتئین شیر، درصد	۳/۲۲	۳/۰۱	۳/۰۰	۰/۰۷۶	۰/۰۷	<۰/۰۱	<۰/۰۱
تولید شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی شیر، کیلوگرم	۴۱/۴۰	۴۱/۹۴	۴۲/۸۶	۱/۲۲	۰/۶۹	<۰/۰۱	۰/۸۶
چربی شیر، کیلوگرم	۱/۴۹	۱/۵۱	۱/۵۲	۰/۰۵۵	۰/۹۱	<۰/۰۱	۰/۹۲
پروتئین شیر، کیلوگرم	۱/۳۸	۱/۳۹	۱/۴۴	۰/۰۳۷	۰/۴۵	<۰/۰۱	۰/۷۷
شمار سلول‌های پیکری، ۱۰ <sup>۳</sup> در هر میلی‌لیتر	۴۷۱/۶۸ <sup>a</sup>	۳۳۸/۸۰ <sup>ab</sup>	۱۵۵/۷۷ <sup>b</sup>	۹۲/۰۶	۰/۰۴	۰/۰۷	۰/۷۴

<sup>a,b</sup> در هر سطر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها را نشان می‌دهد ( $P \leq 0.05$ ).

به دلیل این که گاوها به صورت گروهی تغذیه شدند، مقادیر ماده خشک مصرفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار نگرفت. میانگین ماده خشک مصرفی تیمارهای شاهد، بدون آهن افزوده شده و بدون آهن افزوده با تخم‌پنبه به ترتیب، ۱۱/۸۸، ۱۲/۹۳ و ۱۳/۴۰ کیلوگرم در روز بود (جدول ۳). وزن بدن پیش از زایش در تیمارهای بدون آهن افزوده شده (۷۴۳/۴۰ کیلوگرم) و بدون آهن افزوده همراه با تخم‌پنبه (۷۵۰/۵۰ کیلوگرم) به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) پایین‌تر از تیمار شاهد (۷۶۱/۱۰ کیلوگرم) بود. همچنین پس از زایش گاوهای مصرف‌کننده آهن، به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.01$ )، BW بالاتری در مقایسه با گاوهای مصرف‌کننده جیره بدون مکمل آهن و حاوی تخم‌پنبه داشتند (۷۰۰/۰۰ در مقابل ۶۸۵/۵۰ و ۶۷۰/۳۰ کیلوگرم، به ترتیب). تغییرات BW نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ( $P < 0.01$ ). امتیاز وضعیت بدنی پیش از زایش (۰/۶۰) ( $P = 0.31$ ) و روز اول ( $P = 0.71$ ) پس از زایش تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. خوراندن ۳۰ تا ۶۰ گرم آهن در روز به شکل هیدروکسید آهن به گاوهای شیری سبب از دست دادن BW شد (Coup and Campbell, 1964). در پژوهش دیگر (Weiss *et al.*, 2010)، از نظر آماری افزودن آهن آلی به میزان ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره گاوها طی دوره خشکی تا اوایل دوره شیردهی اثری بر BW طی دوره خشکی، ۱۴ روز پیش از زایش و روزهای ۳ و ۶۰ شیردهی نداشت، اما این پژوهشگران گزارش کردند به‌طور متوسط BW در اواخر دوره آبستنی افزایش (۰/۲۵ کیلوگرم در روز؛ داده‌ها نشان داده نشدند) و در اوایل دوره شیردهی کاهش (۰/۷۱- کیلوگرم در روز) یافت. همان‌طور که در پژوهشی (Santos *et al.*, 2005) گزارش شد که خوراندن جیره‌های حاوی ۱۵ درصد تخم‌پنبه به مدت ۵ ماه به گوساله‌های نر اخته هلشتاین ۵ ماهه منجر به سمیت گوسیپول نشد. هنگامی که مکمل آهن به عنوان سولفات آهن تا ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به جیره اضافه شد، ماده خشک مصرفی و گوسیپول و غلظت گوسیپول پلاسما به صورت خطی کاهش یافت، بدون

این که تأثیری بر میانگین افزایش وزن روزانه یا بازده خوراک داشته باشد. کاهش غلظت گوسیپول پلاسما با مکمل آهن علی‌رغم مصرف کم‌تر گوسیپول مشاهده شد که نشان می‌دهد مکمل آهن سبب کاهش در دسترس بودن گوسیپول در دستگاه گوارش می‌شود که توسط غلظت‌های پایین‌تر گوسیپول پلاسما منعکس می‌شود.

تخم پنبه در اوایل دوره شیردهی، لیپولیتیک است و در نتیجه سبب کاهش BW می‌شود. اما، در نیمه دوم دوره شیردهی بستگی به این دارد که در چه جیره‌ای به کار رود، به همان وضعیت کمک خواهد کرد. اگر با جیره لیپوژنیک به کار رود سبب تشدید شرایط لیپوژنیک خواهد شد. ولیکن، نحوه اثر آن در دوره انتقال ناشناخته است. درحالی‌که در پژوهش حاضر سبب کاهش BW شده است. می‌توان گفت که در دوره انتقال اگر در قسمتی از بدن میکروب و پاتوژن باشد، تخم پنبه می‌تواند سبب کاهش وقوع بیماری عفونی شود و از این طریق به بهبود BW کمک کند. برخلاف آن، آهن در چنین شرایطی به نفع میکروب و پاتوژن کار می‌کند و سبب تشدید التهاب و عفونت می‌شود.

جدول ۵. اثر حذف آهن از مکمل معدنی، با و بدون تخم پنبه بر ماده خشک مصرفی و وزن بدن و امتیاز وضعیت بدنی گاوهای هلشتاین

سطح احتمال	SEM	تیمارهای آزمایشی			صفات
		بدون آهن با تخم پنبه	بدون آهن	شاهد	
-	-	۱۳/۴۰	۱۲/۹۳	۱۱/۸۸	ماده خشک مصرفی <sup>۱</sup> ، کیلوگرم در روز
<۰/۰۱	۰/۶۳	۷۵۰/۵۰ <sup>b</sup>	۷۴۳/۴۰ <sup>c</sup>	۷۶۱/۱۰ <sup>a</sup>	وزن بدن پیش از زایش <sup>۲</sup> ، کیلوگرم
<۰/۰۱	۰/۶۹	۶۷۰/۳۰ <sup>c</sup>	۶۸۵/۵۰ <sup>b</sup>	۷۰۰/۰۰ <sup>a</sup>	وزن بدن پس از زایش <sup>۳</sup> ، کیلوگرم
<۰/۰۱	۰/۶۲	-۷۰/۶۰ <sup>a</sup>	-۵۸/۹۰ <sup>c</sup>	-۶۱/۵۰ <sup>b</sup>	تغییر وزن بدن <sup>۴</sup>
۰/۶۰	۰/۱۲	۳/۲۴	۳/۴۰	۳/۴۰	امتیاز وضعیت بدنی پیش از زایش <sup>۲</sup>
۰/۳۱	۰/۱۱	۳/۲۹	۳/۰۳	۳/۱۸	امتیاز وضعیت بدنی پس از زایش <sup>۳</sup>
۰/۷۱	۰/۱۹	۲/۹۶	۳/۰۳	۲/۸۱	امتیاز وضعیت بدنی در روز ۲۱ پس از زایش

۱ ماده خشک مصرفی، به دلیل تغذیه گروهی به‌طور میانگین و بدون تجزیه و تحلیل آماری گزارش شده است.

۲ وزن بدن و امتیاز وضعیت بدنی اندازه‌گیری شده در روز ۲۱- پیش از زایش

۳ وزن بدن و امتیاز وضعیت بدنی اندازه‌گیری شده در روز زایش

۴ تغییر وزن بدن در روز زایش نسبت به قبل از زایش

نسبت بروز و تعداد موارد بروز ناهنجاری‌های متابولیکی در جداول ۶ و ۷ نشان داده شده‌اند. تیمار شاهد نسبت به بدون آهن افزوده شده با تخم پنبه به‌طور معنی‌دار ( $P= ۰/۰۱$ )،  $۶/۸۸$  برابر نسبت بروز بیشتری از هیپوکلسیمی را نشان داد. این نسبت برای تیمار بدون آهن نسبت به تخم پنبه  $۲/۲۴$  برابر بود که تمایل به معنی‌داری داشت ( $P= ۰/۰۶$ ) و برای تیمار بدون آهن افزوده شده نسبت به شاهد معنی‌دار نبود ( $P= ۰/۳۵$ ;  $OR= ۰/۳۲$ ). نسبت بروز هیپومیزیمی در بین تیمارها مشابه بود (برای همه؛  $P= ۰/۹۰$ ). نسبت بروز متریت و اندومتريت در تیمار شاهد نسبت به بدون آهن افزوده شده با تخم پنبه به‌ترتیب،  $۳/۵۰$  و  $۴/۰۰$  برابر بود اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ( $P> ۰/۰۵$ ). در صورتی‌که، نسبت بروز اندومتريت در تیمار بدون آهن افزوده شده نسبت به بدون آهن افزوده با تخم پنبه به‌طور معنی‌داری ( $P= ۰/۰۴$ )،  $۲/۳۱$  برابر بیشتر بود. تیمار شاهد نسبت به تخم پنبه، به‌طور معنی‌دار ( $P= ۰/۰۱$ )،  $۵/۰۰$  برابر و تیمار بدون آهن افزوده شده نسبت به تخم پنبه ( $P= ۰/۳۵$ )،  $۱/۸۱$  برابر و همچنین تیمار بدون آهن افزوده شده نسبت به شاهد ( $P= ۰/۰۶$ )،  $۰/۳۶$  برابر نسبت بروز بیشتری از هایپرکتونومیا را نشان دادند. نسبت بروز ورم‌پستان درمانگاهی در تیمار شاهد،  $۴/۵$  برابر تمایل ( $P= ۰/۰۶$ ) به بروز بیشتر نسبت به تیمار بدون آهن افزوده همراه با تخم پنبه داشت.

تنش متابولیکی خوشه‌ای از عوامل خطر در گاوهای پیرامون زایش است که منتهی به حساسیت افزایش یافته به برخی ناهنجاری‌های سلامتی نظیر متریت و ورم‌پستان می‌باشد (Sordillo and Mavangira, 2014). تنش متابولیکی گاوهای پیرامون زایش شبیه سندروم متابولیکی در انسان می‌باشد که حاصل ترکیبی از متابولیسم ناقص مواد مغذی است که منجر به دیس‌لیپیدی، التهاب مزمن و تنش اکسیداتیو می‌شود (Sordillo et al., 2009; Sordillo and Mavangira, 2014; Mbata et al., 2017). آهن بیش از حد می‌تواند تنش اکسیداتیو را القا کند، تعادل ردوکس سلولی را مختل کند، ایمنی را با آزادسازی سیتوکین‌های التهابی مختل کند، آپوپتوز هپاتوسیت را تسریع کند و آسیب‌های ساختاری و عملکردی جدی به کبد، قلب یا روده‌ها وارد کند (Galaris et al., 2019; Luo et al., 2021; Zhang et al., 2020). آهن اضافی ارتباط نزدیکی با تولید ROS و اکسیداسیون لیپوپروتئین دارد (Marques et al., 2019; Wan et al., 2021). افزایش آهن سبب کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیداتیو کل و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز کبدی می‌شود (Han et al., 2022).

غلظت گوسیپول جیره هیچ تأثیری بر بروز بیماری‌ها (ورم‌پستان، لنگش، اسهال، پنومونی، جابه‌جایی شیردان، تب) یا بر حذف و میزان مرگ و میر نداشت و هم‌چنین هیچ ارتباطی بین غلظت پلاسمایی گوسیپول و بروز اختلالات سلامتی مشاهده نشد (Willard et al., 1995; Santos et al., 2003).

بخش‌های پروتئین هیدرولیز شده تخم‌پنبه به احتمال حاوی سوپستراهایی می‌باشند که دهنده‌های الکترون هستند و می‌توانند با رادیکال‌های آزاد برای تبدیل آن‌ها به فرآورده‌های پایدارتر واکنش نشان دهند، در نتیجه واکنش زنجیره‌ای رادیکال خاتمه می‌یابد (Gao et al., 2010). یون‌های فلزی، مانند  $Fe^{2+}$ ، نقش بسیار مهمی در تولید رادیکال‌های هیدروکسیل طی واکنش فنتون ایفا می‌کنند (Nordberg and Arnér, 2001). پپتیدهای تخم‌پنبه فعالیت آنتی‌اکسیداتیو، تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی، ضد میکروبی و کی‌لیت‌کنندگی  $Fe^{2+}$  را دارند. آهن بیش از حد در جیره گاو می‌تواند منجر به کاهش ایمنی و افزایش موارد عفونت‌های باکتریایی، ورم‌پستان و باقی ماندن غشای جنینی شود (Standish et al., 1971; Bullen et al., 1978). استافیلوکوکوس اورئوس یکی از شایع‌ترین علل ورم‌پستان گاوی است که یک بیماری مسئول خسارت‌های مهم اقتصادی در پرورش گاو شیری است (National Mastitis Council, 2000). باکتریوم‌های بیماری‌زا نیاز غذایی شدیدی به آهن دارند. استافیلوکوکوس اورئوس قادر است در حضور غلظت آهن بسیار کم (۰/۰۴ میکرومول) رشد کند (Trivier and Courcol, 1996). از این‌رو، آهن مازاد جیره می‌تواند سبب ورم‌پستان در گاو شیری شود. به احتمال، افزودن تخم‌پنبه به جیره سبب بهبود وضعیت کبدی و کاهش عفونت و التهاب و در نتیجه احتمال بروز کم‌تر ناهنجاری‌های سلامتی شده است.

وزن تولد گوساله‌های نر در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۴-۵؛  $P=0/12$ )، اما وزن تولد ماده‌ها بین تیمارها متفاوت بود (جدول ۴-۵؛  $P=0/04$ ). هم‌چنین، وزن تولد مجموع هر دو جنس نر و ماده تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان داد (جدول ۴-۵؛  $P=0/01$ ). ارتفاع از جدوگاه، به‌طور معنی‌داری ( $P < 0/01$ ) در تیمار بدون آهن افزوده شده با تخم‌پنبه بالاتر بود (جدول ۴-۵). هم‌چنین، طول بدن (جدول ۵؛  $P=0/01$ ) و دور سینه (جدول ۵؛  $P=0/01$ ) تفاوت معنی‌داری داشتند. بدین صورت که در تیمار بدون آهن با تخم‌پنبه بالاتر بودند. گوساله‌های متولد شده در تیمار شاهد ۴/۳۳ برابر اسهال بیشتری نشان دادند (جدول ۶؛  $P=0/01$ ). هم‌چنین، ۵/۰۹ برابر روز اسهال بیشتری، در تیمار شاهد ( $P=0/01$ ) و تیمار بدون آهن افزوده شده ( $P=0/05$ ) نسبت به تخم‌پنبه مشاهده شد (جدول ۶).

رشد و نمو جنین یک فرآیند فیزیولوژیکی خاص است (Gao et al., 2008). سرعت رشد جنین به تغذیه مادر بستگی دارد که آمینواسیدها، گلوکز و NEFA را از طریق گردش خون به جنین می‌رساند (Zhu et al., 2007; Zhang et al., 2010). حذف آهن از مکمل معدنی اثری بر وزن تولد، ارتفاع از جدوگاه، دور سینه و طول بدن گوساله‌ها نشان نداد.

جدول ۶. نسبت بروز ناهنجاری‌های متابولیکی بین تیمارهای شاهد، بدون آهن افزوده شده و بدون آهن با تخم پنبه در گاوهای هلشتاین پس از زایش

اثر	Odds Ratio	Confidence Limits 95%	سطح احتمال
<b>هیپوکلسمی تحت درمانگاهی<sup>۱</sup></b>			
شاهد نسبت به تخم پنبه	۶/۸۸	۱/۷۰- ۲۷/۷۳	۰/۰۱
بدون آهن افزوده نسبت به تخم پنبه	۲/۲۴	۰/۵۰- ۹/۹۸	۰/۰۶
بدون آهن افزوده نسبت به شاهد	۰/۳۲	۰/۱۰- ۱/۰۳	۰/۳۵
<b>هیپومنیزیمی<sup>۲</sup></b>			
شاهد نسبت به تخم پنبه	۱/۰۰	۰/۰۶- ۱۶/۷۶	۰/۹۰
بدون آهن افزوده نسبت به تخم پنبه	۱/۰۰	۰/۰۶- ۱۶/۷۶	۰/۹۰
بدون آهن افزوده نسبت به شاهد	۱/۰۰	۰/۰۶- ۱۶/۷۶	۰/۹۰
<b>متریت درمانگاهی<sup>۳</sup></b>			
شاهد نسبت به تخم پنبه	۳/۵۰	۰/۶۴- ۱۸/۹۷	۰/۲۸
بدون آهن افزوده نسبت به تخم پنبه	۱/۵۵	۰/۲۴- ۱۰/۰۴	۰/۲۷
بدون آهن افزوده نسبت به شاهد	۰/۴۴	۰/۱۰- ۱/۹۷	۰/۶۴
<b>متریت تحت درمانگاهی<sup>۴</sup></b>			
شاهد نسبت به تخم پنبه	۴/۰۰	۱/۲۷- ۱۲/۵۰	۰/۲۹
بدون آهن افزوده نسبت به تخم پنبه	۲/۳۱	۰/۷۲- ۷/۴۰	۰/۰۴
بدون آهن افزوده نسبت به شاهد	۰/۵۷	۰/۲۰- ۱/۶۲	۰/۱۵
<b>هایپرکتونومیا<sup>۵</sup></b>			
شاهد نسبت به تخم پنبه	۵/۰۰	۱/۵۱- ۱۶/۵۶	۰/۰۱
بدون آهن افزوده نسبت به تخم پنبه	۱/۸۱	۰/۵۱- ۶/۳۸	۰/۳۵
بدون آهن افزوده نسبت به شاهد	۰/۳۶	۰/۱۲- ۱/۰۷	۰/۰۶
<b>ورم‌پستان درمانگاهی<sup>۶</sup></b>			
شاهد نسبت به تخم پنبه	۴/۵۰	۰/۰۵- ۰/۹۱	۰/۰۶
بدون آهن افزوده نسبت به تخم پنبه	۱/۸۰	۰/۳۸- ۸/۳۲	۰/۱۴
بدون آهن افزوده نسبت به شاهد	۰/۴۰	۰/۱۱- ۱/۳۶	۰/۴۵

۱ غلظت کلسیم سرم کوچک‌تر یا مساوی ۸/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر

۲ غلظت منیزیم سرم کم‌تر از ۱/۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر

۳ وجود ترشحات آبکی، قرمز-قهوه‌ای و بدبو در واژن و دمای بالای ۳۹/۵ درجه سلسیوس راست‌رونده

۴ وجود ترشحات چرکی یا موکوزی چرکی در واژن بدون تب و بوی زننده

۵ غلظت بتا هیدروکسی بوتیریک اسید بزرگ‌تر یا مساوی ۱/۲ میلی‌مول در لیتر

۶ داشتن دل‌مه، لخته و سرروز در شیر، مستقل از بیماری‌های سیستمیک و علائم التهاب تشخیص

جدول ۷. تعداد موارد بروز ناهنجاری‌های متابولیکی در تیمارهای شاهد، بدون آهن افزوده شده و بدون آهن با تخم پنبه در گاوهای هلشتاین پس از زایش

ناهنجاری‌های متابولیکی	تیمارهای آزمایشی		
	شاهد تعداد (درصد)	بدون آهن تعداد (درصد)	بدون آهن با تخم پنبه تعداد (درصد)
هیپوکلسمی درمانگاهی	۲	۲	۰
هیپوکلسمی تحت درمانگاهی	۱۳	۶	۳
هیپومنیزیمی	۱	۱	۱
متریت درمانگاهی	۶	۳	۲
متریت تحت درمانگاهی	۱۵	۱۰	۶
هایپرکتونومیا	۱۵	۸	۵
ورم‌پستان درمانگاهی	۱۰	۵	۳

افزودن آهن طی دوره ۵۶ روزه به گوساله‌های هلشتاین سبب کاهش در وزن بدن نهایی و افزایش وزن روزانه پایین تر به دنبال کاهش در خوراک مصرفی شد (Hansen *et al.*, 2010). اثری از افزودن تخم‌پنبه به عنوان منبع گوسیپول به جیره گاوهای نژاد برهمن پیش از زایش بر وزن تولد گوساله‌های آن‌ها و افزایش وزن طی ۱۱۲ و ۲۰۵ روزگی مشاهده نشد (Willard *et al.*, 1995). تفاوت در نژاد و سایر ترکیبات مواد مغذی در آن پژوهش را می‌توان علت این تناقض دانست. در تضاد با نتایج پژوهش حاضر، پژوهشگران (Fiems *et al.*, 1986) افزایش وزن روزانه کندتری را بلافاصله پس از شیرگیری در گوساله‌هایی که کنجاله تخم‌پنبه دریافت کرده بودند در مقایسه با گوساله‌های دریافت کننده کنجاله سویا در جیره استارتر، گزارش کردند، اما در طول دوره پرورش ۲۰ هفته‌ای افزایش وزن روزانه بین گروه‌ها مشابه بود. هم‌چنین، پروتئین هیدرولیز شده تخم‌پنبه به میزان ۶ درصد در استارتر گوساله‌های هلشتاین سبب افزایش وزن روزانه کلی و وزن بدن نهایی یا پارامترهای رشد اسکلتی کم‌تری شد (Dolatkhah *et al.*, 2020) که به دلیل کاهش مصرف استارتر بود. این پژوهش‌ها اثر خوراندن مستقیم به گوساله را بررسی کرده‌اند اما در پژوهش حاضر اثر تغذیه مادری بر وضعیت گوساله بررسی شده است. همان‌طوری که بیان شد، گاوهای دریافت کننده تخم‌پنبه BW کم‌تری در زمان زایش و تغییرات BW بیشتری پس از زایش داشتند که با وزن تولد بالاتر گوساله‌ها هم‌خوانی دارد. وضعیت تغذیه مادر در دوران آبستنی یک عامل اصلی در رویدادهای برنامه‌ریزی رشد و در نهایت سلامت فرزندان است (Reynolds and Caton, 2012). تغذیه مادر می‌تواند اپی‌ژنوم و ترنسکرپتوم جنین و پس از تولد را تغییر دهد و اغلب منجر به تغییرات قابل اندازه‌گیری در متابولیسم و رشد می‌شود (Elolimy *et al.*, 2019). هم‌چنین، عملکرد جفت برای تطبیق رشد جنین با قابلیت خط تغذیه مادر (مواد مغذی محدود یا بیش از حد) برای تخصیص منابع به جنین تغییر می‌کند، در نتیجه باعث تغییر مواد مغذی در دسترس جنین می‌شود و بر رشد جنین و در درازمدت سلامت نتاج تأثیر می‌گذارد. قسمتی از سیستم ایمنی تقویت شده گوساله تازه متولد شده با تغذیه مادری در دوران جنینی گوساله بستگی دارد. تقویت سیستم ایمنی گوساله سبب کاهش بروز اسهال می‌شود. از طرفی، جیره پپتیدهای زیست فعال کنجاله تخم‌پنبه سبب افزایش میزان IL-6، IgG و IgM در سرم جوجه‌های گوشتی شد (Liu *et al.*, 2022). افزودن تخم‌پنبه به جیره گاوها در اواخر دوره آبستنی سبب تقویت سیستم ایمنی گوساله و در نتیجه کاهش بروز اسهال شده است.

جدول ۷. اثر حذف آهن از مکمل معدنی، با و بدون تخم‌پنبه بر صفات گوساله‌های متولدشده هلشتاین

سطح احتمال	تیمارهای آزمایشی			SEM	شاهد		صفات	
	تیمار	بلوک	تیمار × بلوک		بدون آهن	بدون آهن با تخم‌پنبه		
-	۰/۰۱	<۰/۰۱	۰/۳۸	۰/۴۵	۴۱/۱۶ <sup>a</sup>	۳۹/۶۵ <sup>ab</sup>	۳۹/۳۳ <sup>b</sup>	وزن تولد نر و ماده، کیلوگرم
-	۰/۱۲	-	-	۰/۶۶	۴۳/۰۲	۴۱/۰۷	۴۱/۶۴	وزن تولد نرها، کیلوگرم
-	۰/۰۴	-	-	۰/۶۳	۳۹/۳۱ <sup>a</sup>	۳۸/۲۳ <sup>ab</sup>	۳۷/۰۰ <sup>b</sup>	وزن تولد ماده‌ها، کیلوگرم
-	<۰/۰۱	-	-	۰/۵۵	۷۶/۴۱ <sup>a</sup>	۷۴/۳۵ <sup>b</sup>	۷۴/۰۱ <sup>b</sup>	ارتفاع از جدوگاه، سانتی‌متر
-	۰/۰۱	-	-	۰/۶۱	۷۵/۳۱ <sup>a</sup>	۷۳/۱۶ <sup>ab</sup>	۷۲/۹۰ <sup>b</sup>	طول بدن، سانتی‌متر
-	۰/۰۳	-	-	۰/۶۶	۸۶/۳۱ <sup>a</sup>	۸۴/۰۸ <sup>b</sup>	۸۴/۰۰ <sup>b</sup>	دور سینه، سانتی‌متر

<sup>a</sup> و <sup>b</sup> در هر سطر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها را نشان می‌دهد ( $P \leq 0.05$ ).

## نتیجه‌گیری

حذف آهن افزوده شده به همراه تخم‌پنبه سبب کاهش شمار سلول‌های پیکری شیر شد. استفاده از تخم‌پنبه و هم‌چنین حذف آهن افزوده شده سبب بهبود وضعیت سلامت دام از طریق کاهش بروز برخی ناهنجاری‌های متابولیکی از جمله

هیپوکلسیمی تحت درمانگاهی، هایپرکتونومیا و ورم‌پستان درمانگاهی شد. هم‌چنین، گوساله‌های متولد شده از دام‌های دریافت کننده تخم پنبه، وزن تولد، ارتفاع از جدوگاه، طول بدن و دور سینه بالاتری داشتند. حذف آهن افزوده شده با و بدون تخم پنبه سبب کاهش وزن بدن گاو پس از زایش شد.

## تشکر و قدردانی

از مدیریت گاو‌داری دشت گلستان شرق سها و مدیر تولید وقت، آقای مجید فرهمند جهت همکاری بی‌دریغ‌شان تقدیر و تشکر می‌گردد.

## REFERENCES

- Abuelo, A., Hernández, J., Benedito, J. L., & Castillo, C. (2015). The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: revisiting antioxidant supplementation. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 99(6), 1003-1016.
- Aisen, P., & Leibman, A. (1972). Lactoferrin and transferrin: a comparative study. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*, 257(2), 314-323.
- Allison, R. D., & Laven, R. A. (2000). Effect of vitamin E supplementation on the health and fertility of dairy cows: a review. *Veterinary Record*, 147(25), 703-708.
- Barraza, M. L., Coppock, C. E., Brooks, K. N., Wilks, D. L., Saunders, R. G., & Latimer Jr, G. W. (1991). Iron sulfate and feed pelleting to detoxify free gossypol in cottonseed diets for dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3457-3467.
- Belibasakis, N. G., & Tsirgogianni, D. (1995). Effects of whole cottonseeds on milk yield, milk composition, and blood components of dairy cows in hot weather. *Animal Feed Science and Technology*, 52(3-4), 227-235.
- Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., & Nardone, A. (2005). Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *Journal of dairy science*, 88(6), 2017-2026.
- Bertoni, G., Trevisi, E. R. M. I. N. I. O., Han, X., & Bionaz, M. (2008). Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. *Journal of dairy science*, 91(9), 3300-3310.
- Bobbo, T., Fiore, E., Gianesella, M., Morgante, M., Gallo, L., Ruegg, P. L., Bittante, G., & Cecchinato, A. (2017). Variation in blood serum proteins and association with somatic cell count in dairy cattle from multi-breed herds. *Animal*, 11(12), 2309-2319.
- Bullen, J. J., Rogers, H. J., & Griffiths, E. (1978). *Role of iron in bacterial infection* (pp. 1-35). Springer Berlin Heidelberg.
- Castillo, C., Hernandez, J., Bravo, A., Lopez-Alonso, M., Pereira, V., & Benedito, J. L. (2005). Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 169(2), 286-292.
- Coppock, C. E., Moya, J. R., West, J. W., Nave, D. H., Labore, J. M., & Gates, C. E. (1985). Effect of lint on whole cottonseed passage and digestibility and diet choice on intake of whole cottonseed by Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 68(5), 1198-1206.
- Coup, M. R., & Campbell, A. G. (1964). The effect of excessive iron intake upon the health and production of dairy cows. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 7(4), 624-638.
- Dolatkhah, B., Ghorbani, G. R., Alikhani, M., Hashemzadeh, F., Mahdavi, A. H., Sadeghi-Sefidmazgi, A., Erfani, H. & Rezamand, P. (2020). Effects of hydrolyzed cottonseed protein supplementation on performance, blood metabolites, gastrointestinal development, and intestinal microbial colonization in neonatal calves. *Journal of dairy science*, 103(6), 5102-5117.
- Drackley, J. K. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier?.

- Journal of dairy science*, 82(11), 2259-2273.
- Endres D. B., & Rude, R. K. (1999). Mineral and bone metabolism. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company*, 1395-1457.
- Elolimy, A., Vailati-Riboni, M., Liang, Y., & Loor, J. J. (2019). Cellular mechanisms and epigenetic changes: role of nutrition in livestock. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 35(2), 249-263.
- Feng, X., Knowlton, K. F., Dietrich, A. D., & Duncan, S. (2013). Effect of abomasal ferrous lactate infusion on phosphorus absorption in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 96(7), 4586-4591.
- Fiems, L. O., Boucqué, V., Cottyn, B. G., & Buysse, F. X. (1986). Cottonseed meal and maize gluten feed versus soybean meal as protein supplements in calf starters. *Archives of Animal Nutrition*, 36(8), 731-740.
- Gaines, W. L., & Overman, O. R. (1938). Interrelations of milk-fat, milk-protein and milk-energy yield. *Journal of Dairy Science*, 21, 261-271.
- Galaris, D., Barbouti, A., & Pantopoulos, K. (2019). Iron homeostasis and oxidative stress: An intimate relationship. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1866(12), 118535.
- Gao, D., Cao, Y., & Li, H. (2010). Antioxidant activity of peptide fractions derived from cottonseed protein hydrolysate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(11), 1855-1860.
- Gao, F., Hou, X. Z., Liu, Y. C., Wu, S. Q., & Ao, C. J. (2008). Effect of maternal under-nutrition during late pregnancy on lamb birth weight. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21(3), 371-375.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4th ed. Oxford University Press.
- Han, M., Fu, X., Xin, X., Dong, Y., Miao, Z., & Li, J. (2022). High dietary organic iron supplementation decreases growth performance and induces oxidative stress in broilers. *Animals*, 12(13), 1604.
- Hansen, S. L., Ashwell, M. S., Moeser, A. J., Fry, R. S., Knutson, M. D., & Spears, J. W. (2010). High dietary iron reduces transporters involved in iron and manganese metabolism and increases intestinal permeability in calves. *Journal of dairy science*, 93(2), 656-665.
- Hayirli, A., Grummer, R. R., Nordheim, E. V., & Crump, P. M. (2002). Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. *Journal of dairy science*, 85(12), 3430-3443.
- Jamali, H., Barkema, H. W., Jacques, M., Lavallée-Bourget, E. M., Malouin, F., Saini, V., Stryhn, H., & Dufour, S. (2018). Invited review: Incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101(6), 4729-4746.
- Kakhlon, O. R., & Cabantchik, Z. I. (2002). The labile iron pool: characterization, measurement, and participation in cellular processes. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(8), 1037-1046.
- Kuhla, B., Nürnberg, G., Albrecht, D., Görs, S., Hammon, H. M., & Metges, C. C. (2011). Involvement of skeletal muscle protein, glycogen, and fat metabolism in the adaptation on early lactation of dairy cows. *Journal of Proteome Research*, 10(9), 4252-4262.
- Litwin, C. M., & Calderwood, S. (1993). Role of iron in regulation of virulence genes. *Clinical microbiology reviews*, 6(2), 137-149.
- Liu, J., Luo, Y., Zhang, X., Gao, Y., & Zhang, W. (2022). Effects of bioactive peptides derived from cottonseed meal solid-state fermentation on the growth, metabolism, and immunity of yellow-feathered broilers. *Animal Science Journal*, 93(1), e13781.
- Luo, Q., Lao, C., Huang, C., Xia, Y., Ma, W., Liu, W., & Chen, Z. (2021). Iron overload resulting from the chronic oral administration of ferric citrate impairs intestinal immune and barrier in mice. *Biological Trace Element Research*, 199, 1027-1036.
- Marques, V. B., Leal, M. A. S., Mageski, J. G. A., Fidelis, H. G., Nogueira, B. V., Vasquez, E. C.,



- dos Santos Meyrelles, S., Simões, M. R., & Dos Santos, L. (2019). Chronic iron overload intensifies atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice: Role of oxidative stress and endothelial dysfunction. *Life sciences*, 233, 116702.
- Martín-Tereso, J., & Martens, H. (2014). Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease). *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 30(3), 643-670.
- Mbata, O., El-Magd, N. F. A., & El-Remessy, A. B. (2017). Obesity, metabolic syndrome and diabetic retinopathy: Beyond hyperglycemia. *World journal of diabetes*, 8(7), 317.
- Mena, H., Santos, J. E. P., Huber, J. T., Tarazon, M., & Calhoun, M. C. (2004). The effects of varying gossypol intake from whole cottonseed and cottonseed meal on lactation and blood parameters in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87(8), 2506-2518.
- McArt, J. A. A., Nydam, D. V. & Overton, M. W. (2015). Hyperketonemia in early lactation dairy cattle: A deterministic estimate of component and total cost per case. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 2043-2054.22.
- Moss, D. W., & Henderson, A. R. (1999). Clinical enzymology. p: 617-721. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. WB Saunders Company, Philadelphia.
- NASEM (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine). 2021. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 8th rev. ed. The National Academies Press.
- National Mastitis Council. 2000. Mastitis: An economic consideration. Pages 3-47 in Natl. Reg. Proc., Atlanta, GA. Natl. Mastitis Council, Inc., Madison, WI.
- Nordberg, J., & Arnér, E. S. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free radical biology and medicine*, 31(11), 1287-1312.
- Overton, T. R., & Waldron, M. R. (2004). Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. *Journal of dairy science*, 87, E105-E119.
- Reynolds, L. P., & Caton, J. S. (2012). Role of the pre-and post-natal environment in developmental programming of health and productivity. *Molecular and cellular endocrinology*, 354(1-2), 54-59.
- Sacks, D. B. (1999). Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company, 750-808.
- Sadri, H., Ghaffari, M. H., & Sauerwein, H. (2023). Invited review: Muscle protein breakdown and its assessment in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 106(1), 822-842.
- Santos, J. E. P., Mena, H., Huber, J. T., & Tarazon, M. (2005). Effects of source of gossypol and supplemental iron on plasma gossypol in Holstein steers. *Journal of dairy science*, 88(10), 3563-3574.
- Santos, J. E. P., Villasenor, M., Robinson, P. H., DePeters, E. J., & Holmberg, C. A. (2003). Type of cottonseed and level of gossypol in diets of lactating dairy cows: plasma gossypol, health, and reproductive performance. *Journal of dairy science*, 86(3), 892-905.
- Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S., & Gilbert, R. O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8), 1516-1530.
- Smith, N. E., Collar, L. S., Bath, D. L., Dunkley, W. L., & Franke, A. A. (1981). Digestibility and effects of whole cottonseed fed to lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 64(11), 2209-2215.
- Sordillo, L. M. (2016). Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. *Journal of dairy science*, 99(6), 4967-4982.
- Sordillo, L. M. (2013). Selenium-dependent regulation of oxidative stress and immunity in periparturient dairy cattle. *Veterinary medicine international*, 2013.
- Sordillo, L. M., & Aitken, S. L. (2009). Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary immunology and immunopathology*, 128(1-3), 104-109.
- Sordillo, L. M., & Mavangira, V. (2014). The nexus between nutrient metabolism, oxidative stress and inflammation in transition cows. *Animal Production Science*, 54(9), 1204-1214.
- Sordillo, L. M., Contreras, G. A., & Aitken, S. L. (2009). Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. *Animal health research reviews*, 10(1), 53-

63.

- Sorg, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *Comptes rendus biologiques*, 327(7), 649-662.
- Standish, J. F., Ammerman, C. B., Palmer, A. Z., & Simpson, C. F. (1971). Influence of dietary iron and phosphorus on performance, tissue mineral composition and mineral absorption in steers. *Journal of Animal Science*, 33(1), 171-178.
- Thompson, L. J., Hall, J. O., & Meerdink, G. L. (1991). Toxic effects of trace element excess. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 7(1), 277-306.
- Trivier, D., & Courcol, R. J. (1996). Iron depletion and virulence in *Staphylococcus aureus*. *FEMS microbiology letters*, 141(2-3), 117-127.
- Virgil, F., Fairbanks, V. F., & Klee, G. G. (1999). Biochemical aspects of hematology. *Textbook of clinical chemistry*, 3, 1642-1711.
- Wan, Q., Yang, M., Liu, Z., & Wu, J. (2021). Ambient fine particulate matter aggravates atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice by iron overload via the hepcidin-ferroportin axis. *Life sciences*, 264, 118715.
- Weiss, W. P., Pinos-Rodriguez, J. M., & Socha, M. T. (2010). Effects of feeding supplemental organic iron to late gestation and early lactation dairy cows. *Journal of dairy science*, 93(5), 2153-2160.
- Wilde, D. (2006). Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. *Animal reproduction science*, 96(3-4), 240-249.
- Wildman, E. E., Jones, G. M., Wagner, P. E., Boman, R. L., Troutt Jr, H. F., & Lesch, T. N. (1982). A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of dairy science*, 65(3), 495-501.
- Willard, S. T., Neuendorff, D. A., Lewis, A. W., & Randel, R. D. (1995). Effects of free gossypol in the diet of pregnant and postpartum Brahman cows on calf development and cow performance. *Journal of Animal Science*, 73(2), 496-507.
- Zhang, R., DIAO, Q. Y., ZHANG, N. F., Yan, T. U., & JIANG, C. G. (2010). Effects of different energy levels on nutrient utilization and serum biochemical parameters of early-weaned calves. *Agricultural Sciences in China*, 9(5), 729-735.
- Zhang, Y., Zhang, G., Liang, Y., Wang, H., Wang, Q., Zhang, Y., Zhang, X., Zhang, J., & Chu, L. (2020). Potential Mechanisms Underlying the Hepatic-Protective Effects of Danshensu on Iron Overload Mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 43(6), 968-975.
- Zhu, M. J., Du, M., Hess, B. W., Means, W. J., Nathanielsz, P. W., & Ford, S. P. (2007). Maternal nutrient restriction upregulates growth signaling pathways in the cotyledonary artery of cow placentomes. *Placenta*, 28(4), 361-368.