



Investigating the effect of cottonseed bioactive peptides and organic zinc supplementation in the close-up diet on the immune status, blood metabolites and milk production of Holstein fresh cows

Zahra Hosseini Firoozkoobi^{1✉}, Hamid Amanlou², Fateme Ahmadi³,
Yasaman Amanlou⁴, Hojat Mazaheri⁵

1. Corresponding Author, PhD. Candidate, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: zahra.h.firozkoobi@gmail.com
2. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: amanlou@znu.ac.ir
3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: ahmadi.fatemeh@alumni.znu.ac.ir
3. Biosystem Engineering Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. E-mail: y.amanlou@yahoo.ie
- 5.

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	The aim of this research was to investigate the effects of cottonseed bioactive peptides and organic zinc supplementation in the prepartum diet on the immune response and milk production of Holstein fresh cows. A total of one hundred and eighty multiparous Holstein cows were divided into four experimental groups: 1) Basal diet (containing mineral zinc recommended in NRC (2001)) without Pe0Zn0 peptide; 2) Basal diet (containing mineral zinc recommended in NRC (2001)) with 300 g of bioactive peptide Pe1Zn0; 3) Basal diet (containing mineral zinc recommended in NRC (2001)) with 160 mg organic zinc per kg dry matter and without bioactive peptides Pe0Zn1 and 4) Basal diet (containing mineral zinc recommended in NRC (2001)) with 160 mg organic zinc per kg dry matter and 300 g bioactive peptide Pe1Zn1. Samples were collected from cows at various time points before and after calving, with milk production monitored daily from 1 to 21 days post-calving. Data analysis was carried out using SAS (2010) software in a completely randomized design. The results indicated that including peptides in the prepartum diets led to increased serum levels of calcium, albumin, total antioxidant capacity, and creatinine kinase while glucose levels decreased in the prepartum period ($P < 0.05$). Similarly, higher organic zinc levels in the prepartum diet resulted in elevated concentrations of calcium, antioxidant capacity, aspartate aminotransferase, and insulin, while glucose and malondialdehyde levels decreased ($P < 0.05$). The inclusion of peptides in the prepartum diets led to a notable increase in total antioxidant capacity and glutathione peroxidase concentrations, while simultaneously reducing insulin and Tendency to decrease glucose levels in the postpartum period ($P < 0.01$). Additionally, the introduction of organic zinc into the diets resulted in elevated levels of phosphorus, cholesterol, aspartate aminotransferase, total antioxidant capacity, along with decreased serum bilirubin concentrations postpartum ($P < 0.01$). The serum phosphorus levels postpartum were significantly influenced by both organic zinc and peptide supplementation ($P = 0.01$). Furthermore, the addition of cottonseed bioactive peptides ($P = 0.06$) and organic zinc ($P < 0.01$) to the experimental diet led to a substantial increase in milk production. Specifically, the incorporation of organic zinc into the prepartum diet resulted in a significant rise in milk fat, protein and lactose percent and milk solids content among fresh cows ($P < 0.01$). Overall, the supplementation of cottonseed bioactive peptides and organic zinc in the prepartum diets of cows proved to enhance the immune status and production of fresh cows.
Article history: Received: 10 March 2025 Received in revised form: 10 April 2025 Accepted: 19 April 2025 Published online: Autumn 2025	
Keywords: Bioactive peptide, Close-up period, Holstein, Organic Zinc.	
Cite this article: Hosseini Firoozkoobi, Z., Amanlou, H., Ahmadi, F., Amanlou, Y. & Mazaheri, H. (2025). Investigating the effect of cottonseed bioactive peptides and organic zinc supplementation in the close-up diet on the immune status, blood metabolites and milk production of Holstein fresh cows. <i>Iranian Journal of Animal Science</i> , 56 (3), 627-648. DOI: https://doi.org/10.22059/ijas.2025.391319.654067	



Extended Abstract

Introduction

Identifying management and nutritional strategies that enhance feed intake around calving is essential for the overall health and productivity of dairy cows. Trace minerals are crucial in supporting the proper function of damaged cells and tissues, promoting calf growth in utero, and facilitating milk secretion. Additionally, small peptides have been found to reduce the production of harmful oxidants in the small intestine, resulting in a decrease in oxidative stress. The objective of the current study is to examine the impact of supplementing organic zinc and bioactive peptides on the immune status and milk production of Holstein fresh cows. By improving the immune response and overall health of these cows, we aim to enhance their productivity and well-being during this critical period.

Material and method:

One hundred and eighty multiparous Holstein cows were assigned to one of four experimental groups for this study. The first group was fed a basal diet containing the mineral zinc as recommended in the NRC (2001) guidelines, but without the Pe0Zn0 peptide. The second group received the same basal diet, but with an additional 300g of the bioactive peptide Pe1Zn0. The third group was given the basal diet with 160mg of organic zinc per kg of dry matter, and no bioactive peptides (Pe0Zn1). The fourth group received the basal diet with 160mg of organic zinc per kg of dry matter, along with 300g of the bioactive peptide Pe1Zn1. Samples were collected from the cows at various time points throughout the experiment, including -21, -14, -7, 0, 3, 7, 14, 21, and 28 days after calving. Milk production was recorded daily from 1 to 21 days in milk (DIM), and then monthly for the following five months after calving. Data analysis was conducted using SAS (2010) software, with a 2x2 factorial array in a completely randomized design. This study aimed to explore the impact of different dietary treatments on milk production in Holstein cows, specifically focusing on the inclusion of organic zinc and bioactive peptides. The findings from this research will offer valuable insights into optimizing dairy cow nutrition to enhance milk production.

Result:

The study findings revealed that including peptides in prepartum diets led to a significant increase in serum levels of calcium, albumin, total antioxidant capacity, and creatinine kinase, while glucose levels decreased during the prepartum period ($P < 0.05$). Similarly, higher levels of organic zinc in prepartum diets resulted in elevated concentrations of calcium, antioxidant capacity, aspartate aminotransferase, and insulin, while glucose and malondialdehyde levels decreased ($P < 0.05$). The inclusion of peptides in prepartum diets led to a notable increase in total antioxidant capacity and glutathione peroxidase concentrations, while simultaneously reducing insulin levels and showing a tendency to decrease glucose levels in the postpartum period ($P < 0.01$). Additionally, the introduction of organic zinc into the diets resulted in elevated levels of phosphorus, cholesterol, aspartate aminotransferase, and total antioxidant capacity, along with decreased serum bilirubin concentrations postpartum ($P < 0.01$). Serum phosphorus levels postpartum were significantly influenced by both organic zinc and peptide supplementation ($P = 0.01$). Furthermore, the addition of cottonseed bioactive peptides ($P = 0.06$) and organic zinc ($P < 0.01$) to the experimental diet led to a substantial increase in milk production. Specifically, incorporating organic zinc into prepartum diets resulted in a significant rise in milk fat, protein, lactose percent, and milk solids content among fresh cows ($P < 0.01$). In conclusion, supplementing prepartum diets of cows with cottonseed bioactive peptides and organic zinc proved to enhance the immune status and production of fresh cows.

Conclusion:

Incorporating bioactive peptides from cottonseed and organic zinc into the diets of cows prior to calving resulted in a significant increase in milk production and improved milk quality based on a 3.5% milk fat content. Additionally, supplementing the diet with organic zinc during the pre-calving period led to an increase in milk fat percentage. Furthermore, the inclusion of organic zinc in pre-calving diets resulted in a reduction in milk somatic cells. Upon analyzing the metabolites and reported immune factors, it can be inferred that the overall health of the groups consuming organic zinc experienced notable improvements.

Author Contributions

zahra Hosseini firozkohi, hamid amanlou, fateme Ahmadi, yasaman amanlou and hojat mazaheri contributed to conception, design, data collection, statistical analysis, and drafting of the manuscript. All authors approved the final version for submission.

Data Availability Statement

This article contains part of the data that were created or evaluated during the research.

Acknowledgements

The authors would like to sincerely thank the members of the talise nemone dairy farm for the support of this research.

Ethical considerations

All of the protocols were approved by the Faculty of animal science Committee at zanjan University.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

بررسی اثر افزودن پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه و روی آلی در جیره دوره پابه ماه بر وضعیت ایمنی، متابولیت های خونی و تولید شیر گاوهای هلشتاین تازه ز

زهرا حسینی فیروزکوهی^۱ | حمید امانلو^۲ | فاطمه احمدی^۳ | یاسمن امانلو^۴ | حجت مظاهری^۵

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: zahra.h.firozkohi@gmail.com

۲. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: amanlou@znu.ac.ir

۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: ahmadi.fatemeh@alumni.znu.ac.ir

۴. گروه مهندسی بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: y.amanlou@yahoo.ie

۵. گروه دامپزشکی عمومی، دانشکده دامپزشکی شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، ایران، رایانامه: dr.mazaheri91mm@gmail.com

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر افزودن پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه و روی آلی به جیره دوره پیش از زایش بر وضعیت ایمنی، متابولیت های خونی و تولید شیر گاوهای هلشتاین تازه ز بود. صد و هشتاد راس گاو هلشتاین چندبار زایش کرده به یکی از ۴ تیمار آزمایشی شامل تیمار (۱) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) و بدون پیتید زیست فعال تخم پنبه (PeOZnO ; تیمار ۲) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۳۰۰ گرم پیتید زیست فعال تخم پنبه (Pe1ZnO ; تیمار ۳) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم روی آلی در هر کیلوگرم ماده خشک و بدون افزودن پیتید زیست فعال تخم پنبه (PeOZn1 و تیمار ۴) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم روی آلی در هر کیلوگرم ماده خشک به علاوه ۳۰۰ گرم پیتید زیست فعال تخم پنبه (Pe1Zn1 ، اختصاص یافتند. خون گیری از گاوها در شروع آزمایش (۲۱-، ۱۴-، ۷-، ۰-، ۳-، ۷-، ۱۴- و ۲۱ روز نسبت به زایش صورت گرفت. تولید شیر گاوها به صورت روزانه از ۱ تا ۲۱ روز پس از زایش ثبت شد. همه داده ها با استفاده از نرم افزار SAS (۲۰۱۰) به صورت آرایه فاکتوریل 2×2 در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند. در دوره پیش از زایش افزودن پیتید زیست فعال تخم پنبه به جیره ها باعث افزایش غلظت کلسیم، آلومین، ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل و کراتینین کیناز سرم و کاهش غلظت گلوکز در دوره پیش از زایش شد ($P < 0.05$). همچنین افزودن روی آلی در جیره پیش از زایش سبب افزایش مقدار کلسیم، ظرفیت آنتی اکسیدانتی، آسپاراتات آمینوترانسفراز و انسولین و کاهش گلوکز و مالون دی آلدهید در دوره پیش از زایش شد ($P < 0.05$). افزودن پیتید زیست فعال تخم پنبه به جیره ها در دوره پیش از زایش باعث افزایش غلظت ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل ($P < 0.01$) و گلوکاتایون پراکسیداز ($P = 0.03$) و کاهش غلظت انسولین ($P = 0.04$) در دوره پس از زایش شد. افزودن روی آلی به جیره ها در دوره پیش از زایش باعث افزایش فسفر، کلسترول، آسپاراتات آمینوترانسفراز، ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل و کاهش بیلی روبین سرم در دوره پس از زایش شد ($P < 0.01$). تولید شیر با افزودن پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه ($P = 0.06$) و روی آلی ($P < 0.01$) به جیره آزمایشی به طور معنی داری افزایش پیدا کرد. تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی با افزودن پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه ($P = 0.03$) و روی آلی ($P < 0.01$) به جیره آزمایشی به طور معنی داری افزایش پیدا کرد. همچنین، افزودن روی آلی به جیره پیش از زایش دامها سبب افزایش معنی دار در درصد چربی، درصد پروتئین، درصد لاکتوز و مواد جامد شیر در دامهای تازه ز شد ($P < 0.01$). در کل، افزودن پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه و روی آلی به جیره گاوها در دوره پیش از زایش در مقایسه با گروه شاهد، باعث بهبود وضعیت ایمنی و تولید شیر گاوهای تازه ز شد.

کلیدواژه ها:

پیتید زیست فعال، دوره پابه ماه، هلشتاین، روی آلی.

استاد: حسینی فیروزکوهی، زهرا؛ امانلو، حمید؛ احمدی، فاطمه؛ امانلو، یاسمن و مظاهری، حجت (۱۴۰۴). فراوانی آلودگی به انگل های خارجی در سگ های شهرستان ارومیه،

ایران: یک مطالعه مقطعی. نشریه علوم دامی ایران، ۵۶ (۳)، ۶۴۸-۶۲۷. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2025.391319.654067>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2025.391319.654067>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

دوره پیرامون زایش (۲۱ روز پیش از زایش تا ۲۸ روز پس از زایش) ممکن است بحرانی‌ترین زمان در چرخه تولید یک گاو شیری باشد. بهبود تغذیه گاو در این دوره ممکن است مویلیزه شدن بافت‌ها در دوره پیش از زایش را کاهش و سلامت، ماده خشک مصرفی و تولید شیر را افزایش دهد. انرژی و مواد مغذی ناکافی در طول دوره انتقال می‌تواند منجر به عدم توازن متابولیک، تنش اکسیداتیو و اختلال در عملکرد سیستم ایمنی شود (Sordillo and Aitken, 2009). در واقع، مقدار کاهش خوراک مصرفی در دوره پیش از زایش با سلامت و عملکرد ضعیف گاوهای شیری در دوره پس از زایش مرتبط است (Hall *et al.*, 2014). شناسایی راهکارهای مدیریتی و تغذیه‌ای که باعث افزایش مصرف خوراک در پیرامون زایش می‌شوند، مهم است. با وجود این که مواد معدنی کم مصرف، تنها بخش بسیار کمی از جیره گاو شیری در حال انتقال را تشکیل می‌دهند، نه تنها برای عملکرد مناسب سلول‌ها و بافت‌های آسیب دیده، بلکه برای رشد گوساله در رحم و ترشح شیر نیز بسیار مهم هستند (Price *et al.*, 2017).

علی‌رغم این که مواد معدنی کم مصرف کمتر از ۰/۱ درصد از کل وزن یک موجود زنده را تشکیل می‌دهند، برای تولید و سلامت گاوهای شیری حیاتی هستند (NRC, 2001). مقدار عناصر کم مصرف در بدن و فرآورده‌های حیوان تحت تأثیر خوراکی است که مصرف می‌کند (Goldman, 2010). مواد معدنی کم مصرف مانند روی (Zn)، مس و منگنز برای سنتز پروتئین، تشکیل بافت هم‌بند، پاسخ ایمنی و متابولیسم ویتامین‌ها (Miller *et al.*, 1988)، خواص آنتی‌اکسیدانتی، حفظ سلامت و افزایش تولید در گاوهای شیری ضروری هستند (Griffiths *et al.*, 2007; Faulkner and Weiss, 2017) و کمبود آن‌ها در گاو سبب بروز مشکلات سلامتی می‌شود. مواد معدنی آلی (کیلاته) مشابه آن‌هایی هستند که در بافت‌های طبیعی گیاهان و حیوانات یافت شده و به‌صورت انتخابی از روده جذب می‌شوند (Webb *et al.*, 2005). مواد معدنی آلی نسبت به مواد معدنی غیرآلی زیست‌فراهمی و ماندگاری بیشتری در دستگاه گوارش دارند (Formigoni *et al.*, 1993; Predieri *et al.*, 2003). روی، یک ماده معدنی کم مصرف است که برای ساخت DNA و RNA و همچنین تکثیر سلولی مورد نیاز است (Cortinhas *et al.*, 2012). NRC (۲۰۰۱) پیشنهاد کرد که گاوهای شیرده بایستی بین ۴۰ تا ۶۰ میلی‌گرم روی به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، در جیره خود دریافت کنند. در صورتی که، در ویرایش هشتم خود (NASEM, 2021) روی مورد نیاز گاوهای شیرده را ۶۱ تا ۶۶ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش نموده است. روی به‌عنوان جزئی از متالوآنزیم‌ها و متالوپروتئینازها، به‌طور گسترده در سراسر بدن پراکنده می‌باشد (Vallee and Falchuk, 1993) و همچنین به‌عنوان کوفاکتور در آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز نقش دارد. مصرف بالای روی در جیره به‌دلیل دفع بیش از حد روی در مدفوع، پتانسیل آلودگی محیط زیست را دارد و ممکن است بر نحوه هضم، جذب و استفاده از سایر مواد مغذی در جیره اثر بگذارد (Bao *et al.*, 2007; Mohanta and Garg, 2014). بر اساس افزایش زیست‌فراهمی روی در مقایسه با نمک‌های معدنی، فرموله کردن مواد معدنی آلی در مکمل‌های خوراک دام، به‌عنوان یک راهکار برای بهبود عملکرد و سلامت حیوانات مورد توجه دامپروران قرار گرفته است (Ammerman *et al.*, 1995; Spears, 2003).

پپتیدهای زیست فعال حاصل از پروتئین‌های هیدرولیز شده منابع حیوانی و گیاهی به تنهایی یا ترکیبی، بسته به نوع ساختار و عملکردشان در تغذیه حیوانات به خصوص برای مقابله با بروز مشکلات خاص (به‌عنوان مثال، تنش اکسیداتیو) به طور ویژه مورد توجه قرار گرفته‌اند (Karimzadeh *et al.*, 2017). این پپتیدها اجزای خاصی از پروتئین‌ها هستند که اثرات مثبت بر فعالیت‌های بدن دارند و در سلامت دام موثر هستند. امروزه بیش از ۱۵۰۰ نوع از آن‌ها شناخته شده است. پپتیدهای زیست فعال ترکیبات آلی هستند که در آن‌ها آمینواسیدها از طریق پیوندهای کووالانسی یا پپتیدی به هم متصل هستند (Li-*Chan*, 2015). پپتیدها نقش هورمونی و یا فعالیت‌های مشابه دارویی دارند و بر اساس نوع و فعالیت‌شان به عنوان ترکیبات

ضد میکروبی، ضد فشار خون، ضد انعقادی، تسکین دهنده، محرک‌های سیستم ایمنی، اتصال به املاح معدنی و خواص آنتی اکسیدانتی تقسیم‌بندی می‌شوند. ترکیب و توالی آمینواسیدهای آن‌ها، مشخص کننده نوع و فعالیت آن‌ها می‌باشد. معمولاً بین ۲ تا ۲۰ آمینواسید دارند و به طور معمول نسبت به هضم ناشی از پپتیدازها مقاوم‌ترند (Pomatto et al., 2018; Forman, 2016). وزن مولکولی کم، شرایط جذب یک پروتئین برای سرکوب رادیکال‌های آزاد را فراهم می‌کند. هیسیتیدین با خواص آنتی‌اکسیدانتی خود، باعث کیلانه شدن یون‌های فلزی، غیرفعال شدن اکسیژن فعال و دفع رادیکال‌های آزاد می‌شود (Kim et al., 2011; Sanjkuta and Rai, 2016). هیسیتیدین، پرولین، سیستئین، تریپتوفان، فنیل آلانین و متیونین باعث به تأخیر افتادن پراکسیداسیون لیپید شده و بنابراین اثر آنتی‌اکسیدانتی دارند. اما باید در نظر داشته باشیم که اثر آنتی‌اکسیدانتی یک واحد آمینواسید خیلی ضعیف‌تر از اثر جمعی آن‌ها است که با هم در یک توالی پپتید قرار می‌گیرند (Yang et al., 2012). بسیاری از پپتیدهای کوچک، عملکرد ضد اکسیداتیوی خود را از طریق حذف رادیکال‌های آزاد و یا مهار تولید اکسیدانت‌ها و سیتوکین‌های ضدالتهابی و پی‌آیند آن اثر بر شاخص‌هایی مانند آلبومین انجام می‌دهند. این پپتیدهای کوچک می‌توانند تولید اکسیدانت‌ها توسط روده کوچک را کاهش داده و حذف اکسیدانت‌ها، باعث کاهش غلظت داخل سلولی آن‌ها و کاهش تنش اکسیداتیو می‌شود. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر افزودن روی آلی و پپتیدهای زیست فعال تخم پنبه به جیره دوره پیش از زایش به منظور بهبود وضعیت سلامت و تولید شیر گاوهای هلشتاین تازه‌زا بود.

پیشینه پژوهش

مکمل روی در جیره غذایی برای فرایندهای فیزیولوژیکی پستان، عملکردهای بافتی و سنتز شیر مورد نیاز است (Lee and Kelleher, 2016). در موش‌های شیرده، مصرف پایین روی با ترشح کم‌تر شیر مرتبط است (Dempsey et al., 2012). در گاوهای شیری، منبع روی جیره بر عملکرد پستان تأثیر می‌گذارد. تغذیه کمپلکس روی-متیونین به گاوهای شیرده یکپارچگی اپیتلیوم پستان را در مقایسه با روی معدنی بهبود می‌بخشد و شواهد بیشتری را ارائه می‌دهد که نوع روی مصرفی (آلی یا غیر آلی) عملکرد پستان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Weng et al., 2018). تحقیقات پیشین نشان می‌دهد که گاوهای شیردهی که با کمپلکس روی-متیونین تغذیه شدند نسبت به گاوهایی که با روی معدنی تغذیه شده بودند، شمار سلول‌های پیکری (SCC) شیر کم‌تری داشتند، که نشان‌دهنده بهبود سلامت پستان است (Kellogg et al., 2004; Nayeri et al., 2014).

بهبود عملکرد گاوهای شیری تغذیه شده با مکمل روی بیش از مقدار توصیه شده NRC (۲۰۰۱) مشاهده شده است. یک خلاصه ۱۲ آزمایشی (Kellogg et al., 2004)، نشان داد که تغذیه (۱۸۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم روی در روز) باعث افزایش تولید شیر تصحیح شده بر اساس انرژی و کاهش SCC شیر نسبت به روی معدنی شد. در همه آن آزمایش‌ها کمپلکس روی-متیونین افزون بر روی معدنی بود، به استثنای ۳ آزمایش که در آن‌ها مقدار روی کل جیره غذایی گزارش نشده بود و با فرض این که ۳۰ میلی‌گرم روی در کل به ازای هر کیلوگرم از جیره غذایی تأمین شده بود، مقدار روی مکمل به طور متوسط ۴۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک بود. کاهش SCC شیر گزارش شده در این پژوهش هنگامی که روی به مقدار مساوی یا بیشتر از ۳۶۰ میلی‌گرم به ازای هر راس در روز (۷ مورد از ۱۲ آزمایش) از کمپلکس روی-متیونین تغذیه شد، افزایش یافت. پپتیدهای حاصل از تخم‌پنبه تخمیر شده در حالت جامد می‌توانند فعالیت ایمنی را تقویت کنند (Liu et al., 2018). جیره‌های غنی شده با افزودنی‌های فیتوژنیک خوراکی، از طریق تعدیل مسیر mTOR عضلانی و فرایندهای لیپولیتیک یا لیپوژنیک کبدی، سبب بهبود بازدهی خوراک می‌شود، بنابراین، از سنتز پروتئین عضلانی پشتیبانی کرده و لیپوژن کبدی را کاهش می‌دهند (Flees et al., 2021). پژوهشگران بیان کردند که پروتئین‌های تخم‌پنبه مجموعه‌ای از فعالیت‌های زیستی مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، ضد میکروبی، تعدیل‌کننده ایمنی و فعالیت‌های مهاری آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین را نشان می‌دهند (Yuan et al., 2020; de Oliveira Filho et al., 2021; Wang et al., 2021).

در پژوهشی (Moure et al., 2006) گزارش شد که پیتیدهای کوچک می‌توانند ظرفیت آنتی اکسیدانتی بدن حیوانات را تحریک و فعال کنند و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی را افزایش دهند. افزودن پروتئین هیدرولیز شده تخم پنبه سبب افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و کاهش مالون دی‌آلدهید در خرچنگ‌ها می‌شود (Cheng et al., 2020; Yuan et al., 2019, 2020). در پژوهشی دیگر (Liu et al., 2022)، افزایش فعالیت ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل در سرم و کبد و کاهش میزان مالون دی‌آلدهید و فعالیت‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در سرم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های حاوی پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه گزارش شد که نشان می‌دهد پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه می‌تواند سبب بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانتی حیوان شود. پژوهشگران (Wang et al., 2021) دریافتند که هیدرولیز و تخمیر پروتئین تخم پنبه، از طریق مکانیسم‌های مختلف ممکن است مهار رادیکال‌های آزاد را نشان دهند. پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه ممکن است حاوی دهنده‌های الکترون خاصی باشند و بنابراین می‌توانند با رادیکال‌های آزاد واکنش دهند و طی واکنش به یک محصول پایدارتر تبدیل شود تا زنجیره رادیکال‌های آزاد پایان یابد و سپس منجر به اثر آنتی اکسیدانتی شود. پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه تولید رادیکال‌های آزاد را مهار کرده و در نتیجه تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی را کاهش می‌دهند. در دسترس بودن مواد آنتی اکسیدانتی طبیعی در سیستم‌های بیولوژیکی می‌تواند تولید مالون دی‌آلدهید را محدود کند. بنابراین، میزان مالون دی‌آلدهید نیز با مصرف مقادیر بالاتر پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه کاهش یافت (Aslam et al., 2020).

روش‌شناسی پژوهش

پژوهش حاضر در دامپروری تلیسه نمونه واقع در شهریار، تهران، ایران در آذر ماه سال ۱۴۰۰ انجام گردید. صد و هشتاد راس گاو هلشتاین چند بار زایش کرده (زایش دوم به بالا) ۲۱ روز پیش از تاریخ زایش مورد انتظار در قالب طرح کاملاً تصادفی در آرایش فاکتوریل ۲×۲ (دو سطح روی آلی و دو سطح پیتید زیست فعال تخم پنبه) به یکی از ۴ تیمار آزمایشی شامل تیمار ۱) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) و بدون پیتید زیست فعال تخم پنبه (Pe0Zn0؛ تیمار ۲) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۳۰۰ گرم پیتید زیست فعال تخم پنبه (Pe1Zn0؛ تیمار ۳) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم روی آلی در هر کیلوگرم ماده خشک و بدون افزودن زیست فعال تخم پنبه (Pe0Zn1؛ تیمار ۴) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم روی آلی در هر کیلوگرم ماده خشک به علاوه ۳۰۰ گرم پیتید زیست فعال تخم پنبه (Pe1Zn1) اختصاص یافتند (جدول ۱).

جدول ۱. مقادیر روی آلی و پیتید زیست فعال تخم پنبه در تیمارهای آزمایشی

تیمارهای آزمایشی			
Pe1Zn1	Pe0Zn1	Pe1Zn0	Pe0Zn0
جیره پایه + پیتید زیست فعال تخم پنبه + روی آلی	جیره پایه + روی آلی	جیره پایه + پیتید زیست فعال تخم پنبه	جیره پایه
۳۰۰	-	۳۰۰	-
۱۶۰ + ۳۰ (آلی)	۱۶۰ + ۳۰ (آلی)	۳۰	۳۰

پیتید زیست فعال تخم پنبه و روی آلی به صورت سرک به جیره پایه افزوده شدند.

پیتیدهای زیست فعال مورد استفاده در پژوهش حاضر با نام تجاری فورتاید (Fortide) محصول کارخانه مایتک (Mytec) چین، حاصل از تخم پنبه با ساختار خاص دارای وظایف بیولوژیکی ویژه هستند که حاوی ۴۵ درصد پروتئین و ۲۸ درصد پیتید

با طول ۲ تا ۴ آمینواسید با قابلیت هضم ۹۶ درصد می‌باشند و به روش هیدرولیز چند آنزیمی به دست آمده است. در این فرآیند، مواد پروتئینی در پرتوی هیدرولیز آنزیمی در دما و pH خاص قرار می‌گیرند (Norris et al., 2013; eSilva et al., 2017). یک آنزیم پروتئولایติก خالص برای هیدرولیز پروتئین برای تولید هیدرولیزات حاوی توالی کوتاه پپتیدها استفاده می‌شود. اما، افزودن آنزیم‌ها بستگی به pH بهینه و دمای آنزیم‌ها دارد (Khiari et al., 2014; Sangsawad et al., 2017).

این محصول حاوی پپتیدهای تعدیل‌کننده ایمنی و آنتی‌اکسیدانتی می‌باشد که از طریق بهبود عملکرد ماکروفاژی و بهبود فعالیت فاکتورهای ایمنی باعث بهبود ایمنی سلولی و خونی می‌شود. این محصول حاوی ۱۸ آمینواسید و غنی از آمینواسیدهای هیستیدین، پرولین، لوسین، گلوتامین، گلیسین و فنیل‌آلانین می‌باشد. پپتید مورد استفاده به مقدار ۳۰۰ گرم به ازای هر راس گاو به صورت سرک پس از مخلوط کردن با بخشی از جیره کاملاً مخلوط (TMR) به خوراک وعده صبح گاو‌ها افزوده شد، منبع روی مورد استفاده، روی آلی (آمینو-روی، شرکت آریانا) بود که دارای ۵ درصد روی آلی بود. روی آلی مورد استفاده پس از مخلوط کردن با بخشی از TMR آزمایشی به صورت سرک به خوراک وعده صبح افزوده شد.

خوراک دو بار در روز در ساعات ۷:۳۰ و ۱۶:۳۰ و در حد اشتها توزیع شد و باقی‌مانده خوراک پیش از توزیع وعده اول در روز جمع‌آوری و توزین شد. تمام گروه‌ها در دوره تازه‌زا خوراک مشابه دریافت کردند. اقلام و ترکیبات جیره‌های آزمایشی به ترتیب در جدول ۲ و ۳ نشان داده شده است.

شیردوشی در ۳ وعده صبح، ظهر و عصر انجام شد. مقدار تولید شیر به صورت ۳ روز یک‌بار تا ۲۱ روز و ماهانه تا ۴ ماه پس از زایش ثبت شد. نمونه‌گیری از شیر در روزهای ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ انجام شد و نمونه‌ها برای اندازه‌گیری ترکیبات شیر شامل چربی، پروتئین، لاکتوز، نیتروژن اوره‌ای شیر، SCC، بخش جامد و بخش جامد بدون چربی به آزمایشگاه البرز ارسال و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

امتیاز وضعیت بدنی گاو‌ها در روز شروع آزمایش و طول دوره، توسط دو فرد مجرب با استفاده از سیستم ۵ امتیازی (Edmonson et al., 1989) امتیازدهی گردید و میانگین آن برای آنالیز آماری مورد استفاده قرار گرفت.

خون‌گیری از گاو‌ها در شروع آزمایش (۲۱-)، ۱۴-، ۷-، ۰، ۳، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز نسبت به زایش از ورید دمی توسط لوله‌های تحت خلا ژل‌دار (Grainer, Germany) با فاصله ۲ تا ۳ ساعت پس از خوراک‌ریزی وعده صبح انجام شد و به منظور اندازه‌گیری متابولیت‌های خونی (کلسیم، فسفر، منیزیم، گلوکز، انسولین، تری‌گلیسرید، پروتئین کل، آلبومین، کلسترول، بیلی-روبین و بتا-هیدروکسی بوتیرات (BHB))، آنزیم‌های کبدی (کراتینین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل، مالون‌دی‌آلدئید، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، کراتین کیناز) و گلوکاتایون پروکسیداز و شاخص عملکرد کبدی، بلافاصله پس از جمع‌آوری سانتریفیوژ (با ۳۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه) شدند و سرم نمونه‌ها به میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای آنالیزهای بعدی منجمد و در آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی تبریز مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار گرفتند.

همه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹.۴) به صورت آرایه فاکتوریل ۲×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی و با تعیین بهترین ساختار کوواریانس با توجه به کوچک‌ترین معیارهای اطلاعاتی آنالیز شدند. پیش از تجزیه و تحلیل داده‌ها، همه داده‌ها از نظر نرمال بودن و همگنی واریانس‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌هایی از قبیل، تولید و ترکیبات شیر، متابولیت‌های سرم، آنزیم‌های کبدی، شاخص وضعیت ایمنی و گلوکاتایون پراکسیداز به صورت داده‌های تکرار شده در زمان با استفاده از رویه MIXED نرم افزار SAS آنالیز شدند (Little et al., 2006). زمان به عنوان متغیر تکرار شده وارد مدل شد. ساختارهای کوواریانس تست شدند و مناسب‌ترین ساختار کوواریانس براساس کوچک‌ترین مقادیر برای معیار اطلاعاتی آکایک، معیار اطلاعاتی آکایک تصحیح شده و معیار اطلاعاتی بیزین برای هر آنالیز انتخاب شد. داده‌ها به صورت میانگین حداقل مربعات (LSM) گزارش شدند و سطح معنی‌داری در مساوی و کمتر از ۰/۰۵ و تمایل به معنی‌داری در سطح احتمال بزرگتر از ۰/۰۵ و کوچکتر مساوی ۰/۱ مشخص شد. اگر تست F اثرات ثابت و اثرات متقابل آن‌ها معنی‌دار بود، LSM ها به وسیله دستور

آزمون توکی برای مقایسه میانگین، آنالیز شدند. در صورتی که اثر متقابل جیره آزمایشی در زمان معنی دار بود، تفاوت بین تیمارهای جیره‌ای در هر نقطه از زمان با استفاده از گزینه SCLICE حاصل از رویه MIXED آنالیز شدند (Schabenberger)

جدول ۲. اجزای تشکیل دهنده جیره پایه گاوهای پایه ماه و تازه‌زا (بر اساس درصد ماده خشک)

جیره‌ها		
اقلام خوراکی	پایه ماه	تازه‌زا
یونجه	۱۶/۷۵	۲۱/۰۰
ذرت سیلو شده	۳۱/۳۷	۱۷/۵۰
کاه	۴/۵۰	۱/۰۰
تفاله چغندر قند	-	۶/۳۰
دانه جو آسیاب شده	۱۱/۰۰	۸/۸۴
دانه ذرت آسیاب شده	۱۲/۳	۱۵/۸۴
کنجاله سویا	۱/۹۶	۳/۶۲
کنجاله کلزا	۲/۶۲	۵/۰۰
پودر ضایعات کشتارگاهی طیور	۱/۷۶	۲/۲۳
پودر ماهی	۲/۲۰	۲/۹۸
کنجاله گلوتن ذرت	۱/۳۰	۲/۰۰
فول فت سویا	۱/۹۶	۲/۰۰
تخم پنبه	۴/۱۰	۴/۵۰
سبوس گندم	۲/۰۰	۱/۴۹
کربنات کلسیم	۱/۲۶	۰/۹۴
اکسید منیزیم	۰/۳۵	۰/۳۵
سولفات منیزیم	۰/۵۰	-
کلرید کلسیم	۰/۳۰	-
کلرید آمونیوم	۰/۳۰	-
بیکربنات سدیم	-	۰/۴۸
کیمیایاف ^۱	-	۰/۳۴
نمک	-	۰/۴۵
دی کلسیم فسفات	-	۰/۱۰
گلایتران ^۲	۰/۵۷	۰/۵۰
توکسین بایندر	۰/۱۳	۰/۱۰
لووسل ^۳	۰/۰۴	۰/۰۴
اوره	۰/۳۹	۰/۴۰
بتونیت	۱/۱۴	۰/۸۰
مکمل ویتامینه ^۴	۰/۶۰	۰/۶۰
مکمل معدنی ^۵	۰/۶۰	۰/۶۰

^۱ بافر (Kimia roshd Sepahan Co., Iran).

^۲ پیش ساز گلوز (Global Nutrition Co., France).

^۳ مخمر (Lallemand Co., France).

^۴ هر کیلوگرم مکمل ویتامینه دارای ۸۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۱۵۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3، ۱۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین E، ۱۲۵ میلی گرم بیوتین، ۷۰۰۰۰ میلی گرم کولین، ۴۰۰۰۰ میلی گرم نیاسین پوشش دار و ۱۸۵۰ میلی گرم مونسین بود.

^۵ هر کیلوگرم مکمل معدنی دوره انتقال دارای ۴۰۰۰ میلی گرم منگنز، ۵۰۰۰ میلی گرم روی، ۳۰۰۰ میلی گرم مس، ۵۰۰۰۰ میلی گرم کروم آلی، ۹۰ میلی گرم ید و ۵۰ میلی گرم سلنیوم بود.

(et al., 2000).

جدول ۳. ترکیب شیمیایی جیره‌های تغذیه شده در دوره پایه‌ماه و تازه‌زا گاوهای هلشتاین (بر اساس درصدی از ماده خشک غیر از موارد عنوان شده)

جیره‌ها		
پایه ماه	تازه زا	
۱/۵۸	۱/۶۵	انرژی خالص شیردهی (مگا کالری در کیلوگرم) ^۱
۱۵/۷۰	۱۸/۲۰	پروتئین خام
۱۰/۶۰	۱۱/۸۰	پروتئین قابل تجزیه در شکمبه
۵/۱۰	۶/۴۰	پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه
۹/۶۸	۱۰/۵۷	پروتئین قابل متابولیسم
۳۱/۵۰	۲۹/۱۰	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
۲۰/۱۰	۱۸/۹۰	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی
۲۳/۶۰	۱۷/۴۰	الیاف نامحلول در شوینده خنثی علوفه‌ای
۴/۹۰	۵/۶۰	کربوهیدرات محلول در آب
۲۷/۵	۲۳/۹	نشاسته
۱/۲۸	۱/۳۴	کلسیم
۰/۴۷	۰/۵۷	فسفر
۰/۱۰	۰/۵۱	سدیم
۱/۱۲	۱/۱۷	پتاسیم
-۲۱	+۲۱۸	تفاوت کاتیون-آنیون جیره (میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم)

^۱ بر اساس شورای تحقیقات ملی (NRC, 2001)

نتایج و بحث

امتیاز وضعیت بدنی گاوها تحت تاثیر افزودن پیتید ($P=0/18$) و روی آلی ($P=0/68$) و اثر متقابل روی در پیتید ($P=0/41$) قرار نگرفت (جدول ۴). مقدار ماده خشک مصرفی پیش از زایش در تیمارهای آزمایشی به صورت گروهی اندازه‌گیری شد و مقادیر میانگین آن در تیمار $Pe0Zn0$ برابر با $15/16$ ، تیمار $Pe0Zn1$ برابر با $15/50$ ، تیمار $Pe1Zn0$ برابر با $15/50$ و در تیمار $Pe1Zn1$ برابر با $15/70$ کیلوگرم در روز بود. در یک پژوهش (Chen et al., 2020) افزایش سطح مکمل روی آلی (متیونین) از صفر تا 60 میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک در جیره گاوها در دوره پیش از زایش، ماده خشک مصرفی را به صورت خطی افزایش داد، در این پژوهش، پژوهشگران بیان کردند که تغییرات در مصرف خوراک معمولاً با تغییر در رفتار تغذیه‌ای همراه است و دلیل افزایش ماده خشک مصرفی با افزودن مکمل روی به جیره می‌تواند به دلیل افزایش سطح لپتین در اثر افزایش سطح اینترلوکین-۲ باشد. هورمون لپتین با سطح اشتها مرتبط بوده و نقش بسیار مهمی در تنظیم ماده خشک مصرفی در گاوهای شیرده ایفا می‌کند (Liefers et al., 2003)، از این رو محققان بیان کردند که هرچند غلظت لپتین در پژوهش آن‌ها اندازه‌گیری نشد، اما افزایش ماده خشک مصرفی ممکن است نتیجه افزایش سطح اینترلوکین-۲ و لپتین به دنبال افزایش روی در جیره باشد. نتایج بررسی‌های دیگر نیز اثر روی آلی (روی-متیونین) را بر بهبود مصرف خوراک نشان می‌دهند (Mallaki et al., 2015).

داده‌های مربوط به تولید و ترکیبات شیر در جدول شماره ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول شماره ۵ مشاهده می‌گردد، تولید شیر در گروه‌های مختلف آزمایشی با افزودن پیتیدهای زیست فعال تخم‌پنبه ($P=0/06$) و روی آلی ($P<0/01$) به جیره آزمایشی به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. به طوری که بیشترین مقدار تولید شیر مربوط به گروه $Zn1Pe0$ و برابر با $37/51$ کیلوگرم در روز بود. مقدار شیر تصحیح شده بر اساس $3/5$ در صد چربی، به طور معنی‌داری با افزودن پیتید و روی آلی افزایش یافت، به طوری که کم‌ترین مقدار مربوط به گروه شاهد با مقدار $32/41$ کیلوگرم در روز و بیشترین مقدار در گروه $Zn1Pe1$ با میزان $38/38$ کیلوگرم در روز مشاهده شد. هم‌سو با نتایج پژوهش حاضر، در پژوهش‌های پیشین (Yue et al., 2023; Zhou et al., 2022) بیان شده است که افزودن تخم‌پنبه هیدرولیز شده باعث

افزایش چشم گیری در مقدار تولید شیر می شود. هم چنین در پژوهش دیگری (Liu et al., 2022) نیز، افزودن پیتیدهای کوچک باعث افزایش تولید شیر شد. با در نظر گرفتن این نتایج کنار یکدیگر احتمال می رود که افزودن پروتئین هیدرولیز شده آنزیمی می تواند تخمیر کربوهیدرات ها را بهبود و تولید پروپونات را که یک پیش ساز گلوکز است افزایش دهد. نتایج پژوهش دیگری (Ríus, 2019)، نیز این فرضیه را تایید می کند زیرا آن ها نتیجه گرفتند که قابلیت هضم الیاف حاصل از شوینده خنثی و الیاف حاصل از شوینده اسیدی در گاوهایی که مکمل پروتئین هیدرولیز شده آنزیمی دریافت کرده بودند بالاتر بود که می تواند اسیدهای چرب بیشتری شامل پروپونات تولید کند، از جمله عوامل تعیین کننده تولید شیر می توان به تعداد سلول های اپیتلیال غدد پستانی و ظرفیت سنتز شیر تک تک سلول های اپیتلیال اشاره کرد که در پژوهش اخیر انجام شده (Wang et al., 2021) که از منابع مختلف روی استفاده کرده بودند مشاهده شد که آپوتوزیس و تکثیر سلول های اپیتلیال تحت تاثیر منابع مختلف روی قرار گرفت و عنوان کردند که توازن بین آپوتوزیس و تکثیر سلول های اپیتلیال پستانی در رشد و ترن آور غدد پستانی و سنتز شیر حیاتی است. در یک پژوهش دیگر (Lee and Kelleher., 2016) نیز به نقش ضروری روی در بهبود فرآیندهای فیزیولوژیکی پستان، عملکرد غدد پستانی و سنتز شیر اشاره شده است. پژوهش ها بر روی گاوهای شیری نشان می دهد که تکثیر اپیتلیوم ترشعی در اوایل شیردهی (روزهای ۲ تا ۵) بالاترین میزان را دارد، درحالی که میزان تکثیر در ادامه دوره شیردهی به حداقل میزان خود می رسد (تقریباً ۰/۳ درصد از لاکتوسیت ها در روز تکثیر می شوند) که منجر به تجدید حدود ۵۰ درصد از لاکتوسیت ها در پایان دوره شیردهی می شود. نقش روی در رونویسی ژن، پیشرفت چرخه سلولی و آپوتوزیس، نشان می دهد که روی در تنظیم چرخه زندگی لاکتوسیت های ترشعی بسیار اهمیت دارد. بنابراین داده های زیادی مبنی بر نقش ضروری روی در عملکردهای کاتالیتیکی، ترشعی و ساختاری غدد پستانی در سنتز شیر وجود دارد (Lee and Kelleher., 2016).

جدول ۴. اثر افزودن روی آلی و پیتیدهای زیست فعال حاصل از تخم پنبه به جیره دوره پیش از زایش بر مقدار ماده خشک مصرفی پیش از زایش

صفات	Zn0		Zn1		SEM		سطح احتمال	
	P0	P1	P0	P1	Zn	P	Zn*P	
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم)	۱۵/۱۶	۱۵/۵۰	۱۵/۵۰	۱۵/۷۰	۰/۰۹	۰/۰۱	۰/۳۵	
امتیاز وضعیت بدنی	۳/۶۴	۳/۵۸	۳/۵۹	۳/۶۳	۰/۰۵	۰/۱۸	۰/۴۱	

تیمارهای آزمایشی شامل تیمار ۱) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) و بدون پیتید زیست فعال تخم پنبه $PeOZn0$ پیتید زیست فعال تخم پنبه ؛ تیمار ۲) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۳۰۰ گرم پیتید زیست فعال تخم پنبه $Pe1Zn0$ ؛ تیمار ۳) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم روی آلی در هر کیلوگرم ماده خشک و بدون افزودن پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه $PeOZn1$ ؛ تیمار ۴) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم روی آلی در هر کیلوگرم ماده خشک به علاوه ۳۰۰ گرم پیتید زیست فعال تخم پنبه

افزودن روی آلی به جیره پیش از زایش دامها باعث افزایش معنی دار در درصد چربی، درصد پروتئین، درصد لاکتوز و مواد جامد شیر دامهای تازه زاده شد ($P=0/01$). اما این عوامل با افزودن پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه تحت تاثیر قرار نگرفتند ($P>0/01$). برعکس، نتایج پژوهش حاضر، در پژوهش دیگری (Yue et al., 2023) گزارش کردند که مقدار چربی با افزودن روی به جیره تحت تاثیر قرار نگرفت. در برخی از پژوهش ها افزودن کی لیت روی-متیونین یا ترکیبات روی-آمینواسید تاثیری بر درصد چربی شیر نداشت (Kellogg et al., 2004; Rabiee et al., 2010). برعکس در پژوهشی دیگر (Nayeri et al., 2014) عنوان شد که جابگزینی مکمل آلی روی با روی غیر آلی باعث کاهش درصد چربی شیر نسبت به گروه شاهد شد. نتایج پژوهش های پیشین نشان می دهد که پیتیدهای کوچک، منبع نیتروژنی هستند که به سهولت در دسترس میکروبی های شکمبه قرار می گیرد و منجر به تولید استات و در نتیجه سنتز چربی شیر می شوند، عرضه پیتیدهای کوچک به

عنوان یک منبع به سهولت قابل تجزیه به عنوان منبع نیتروژن، قابلیت هضم نیتروژن بیشتری برای جمعیت‌های میکروبی دارد و اسیدهای چرب فرار بیشتری تولید می‌کند (Connelly et al., 2021). علت افزایش چربی شیر پس از افزودن پیتید می‌تواند مربوط به فرآیند سنتز اسید چرب و فرآیند متابولیسم لیپید شکمبه‌ای باشد. سنتز دنوو در غدد پستانی نیازمند پیش ماده‌هایی مانند استات و بوتیرات است که به صورت عمده در تخمیر شکمبه توسط مقادیر زیادی از میکروب‌های شکمبه و انتقال از طریق جریان خون برای تامین منابع چربی شیر تولید می‌شوند (Cai et al., 2018)، بنابراین افزایش در میکروبیوم‌های شکمبه به تولید استات کمک می‌کند. به طور خلاصه افزودن پیتیدهای کوچک به تکثیر جمعیت‌های باکتریایی شکمبه کمک می‌کنند که سوبسترای بیشتری مانند استات و بوتیرات برای ساخت چربی شیر در پستان فراهم می‌کنند. افزون بر آن، پیتیدهای کوچک سبب بهبود متابولیسم لیپید شکمبه‌ای شده و در نتیجه به صورت معنی‌داری مقدار چربی شیر را افزایش می‌دهند. از این‌رو، می‌توان نتیجه گرفت که افزودن پیتیدهای کوچک با هدایت متابولیسم چربی شکمبه‌ای، از طریق تکثیر جمعیت‌های باکتریایی شکمبه که استات و بوتیرات بیشتری برای سنتز چربی شیر فراهم می‌کنند منجر به افزایش مقدار چربی شیر می‌شوند. همان‌طوری که در یک پژوهش دیگر گزارش شده است باکتریوم‌های تولیدکننده استات مانند *Acetitomaculum* و *Bifidobacterium* به صورت معنی‌داری بعد از افزودن پیتیدهای کوچک افزایش یافت که می‌تواند منجر به افزایش مقدار استات شود (Kong et al., 2020). از طرف دیگر می‌توان عنوان کرد که پیتیدهای موجود در جیره دام به دلیل خاصیت قلیایی از کاهش pH شکمبه جلوگیری کرده و از این‌رو هضم الیاف ساختمانی را افزایش و منجر به افزایش تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه می‌گردد.

علاوه بر این استات یک تنظیم کننده مثبت در فرایند ساخت چربی شیر (Urrutia and Harvatine, 2017) و بهبوددهنده فعالیت آنزیم‌های سازنده لیپید شامل استیل کوانزیم‌آ کربوکسیلاز، اسید چرب سنتاز و آسیل کوانزیم‌آ کربوکسیلاز می‌باشد (Yadav et al., 2015; Ganguly et al., 2017; Lee et al., 2017). افزایش سوبسترا برای فرایند ساخت آنزیمی واکنش‌های تولیدی را کاتالیز کرده و پس از آن سبب بهبود مقدار چربی شیر در تیمارهای حاوی پیتیدهای کوچک می‌شود.

جدول ۵. اثر افزودن روی آلی و پیتیدهای زیست‌فعال حاصل از تخم‌پنبه به جیره دوره پیش از زایش بر تولید و ترکیبات شیر گاوهای هلشتاین تازه‌زا

صفات	Zn ₀		Zn ₁		SEM		سطح احتمال	
	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀	Zn	P
تولید شیر (کیلوگرم در روز)	۳۶/۴۳ ^a	۳۷/۵۱ ^a	۳۶/۵۰ ^a	۳۶/۵۰ ^a	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۰۱	۰/۰۶
شیر تصحیح شده براساس ۳/۵٪ چربی (کیلوگرم روز)	۳۵/۸۶ ^b	۳۷/۳۰ ^{ab}	۳۸/۳۸ ^a	۳۸/۳۸ ^a	۱/۱	۱/۱	۰/۰۱	۰/۰۳
چربی (درصد)	۳/۴۱	۳/۴۷	۳/۸۳	۳/۸۳	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۱۶
چربی (کیلوگرم در روز)	۱/۱۱	۱/۲۴	۱/۳۰	۱/۳۹	۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۲۵	۰/۱۵
پروتئین (درصد)	۳/۱۵	۳/۰۵	۳/۳۷	۳/۴۰	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۱	۰/۶۷
پروتئین (کیلوگرم در روز)	۱/۰۴	۱/۱۱	۱/۲۷	۱/۲۴	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۲۱	۰/۱۲
لاکتوز (درصد)	۴/۴۵	۴/۴۸	۴/۵۳	۴/۵۷	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۷۳
شمار سلول‌های پیکری (هزار در هر میلی‌لیتر)	۲۱۲/۲۰	۱۹۲/۶۲	۱۷۶/۴۰	۱۵۷/۷۰	۳۱/۹	۳۱/۹	۰/۲۴	۰/۵۲
مواد جامد (درصد)	۱۱/۸۳	۱۱/۸۶	۱۲/۳۳	۱۲/۷۳	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۱۰
مواد جامد بدون چربی (درصد)	۸/۶۹	۸/۶۴	۸/۸۵	۸/۸۹	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۱	۰/۹۵
نیتروژن اورهای شیر (میلی گرم بر دسی‌لیتر)	۱۳/۳۵	۱۳/۱۵	۱۳/۰۶	۱۲/۹۸	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۳	۰/۳۷

تیمارهای آزمایشی شامل تیمار ۱) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) و بدون پیتید زیست فعال تخم پنبه $PeOZn0$ پیتید زیست فعال تخم پنبه ؛ تیمار ۲) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۳۰۰ گرم پیتید زیست فعال تخم پنبه $Pe1Zn0$ ؛ تیمار ۳) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم روی آلی در هر کیلوگرم ماده خشک و بدون افزودن پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه $PeOZn1$ ؛ تیمار ۴) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم روی آلی در هر کیلوگرم ماده خشک به علاوه ۳۰۰ گرم پیتید زیست فعال تخم پنبه

با وجود این که افزودن پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه و روی آلی به جیره از لحاظ آماری باعث تغییر معنی داری در مقدار SCC شیر نشد اما از لحاظ عددی مقدار SCC در تیمار Zn1Pe1 نسبت به گروه شاهد ۵۵ هزار واحد کاهش یافت. در پژوهش های پیشین نیز تایید شده است که افزودن مکمل آلی روی به جیره گاو شیری باعث بهبود عملکرد غدد پستانی می شود به طوری که در پژوهش (Kellogg et al., 2004) عنوان شد که کی لیت روی-متیونین نسبت به منابع معدنی روی باعث کاهش SCC در شیر می شود. در پژوهشی دیگر که از منابع آلی و معدنی روی در جیره استفاده کردند، کاهش معنی داری در مقدار SCC شیر با افزایش مقدار منابع روی به جیره مشاهده شد. یکی از دلایل افزایش SCC در جیره هایی با روی کمتر می تواند به دلیل کاهش فعالیت لکوسیت ها باشد که منجر به افزایش حساسیت غدد پستانی به عفونت باکتریایی می شود (Sordillo et al., 1997).

غلظت نیتروژن اوره ای شیر با افزودن پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه ($P < 0/37$) و روی آلی ($P = 0/13$) تغییرات معنی داری را نشان نداد. اما، درصد لاکتوز شیر با افزودن مکمل روی آلی به جیره پیش از زایش افزایش یافت ($P < 0/01$)، در صورتی که تحت تاثیر پیتیدهای زیست فعال قرار نرفت ($P = 0/73$). بر خلاف نتایج پژوهش حاضر، پژوهشگران (Yue et al., 2023) بیان کردند که افزودن تخم پنبه هیدرولیز شده آنزیمی به جیره گاوها به صورت معنی داری تولید شیر و مقدار لاکتوز شیر را افزایش داد. لاکتوز از گلوکز ساخته می شود که یک عامل کلیدی در تنظیم فشار اسمزی غدد پستانی است (Cai et al., 2018). در پژوهش دیگری دریافتند که سطوح گلوکز خون در غدد پستانی تعیین کننده غلظت لاکتوز شیر است این در حالی است که سلول های پستان قادر به سنتز گلوکز نیستند (Ward et al., 2021). بنابراین، مقادیر بالاتر لاکتوز شیر با افزودن پروتئین هیدرولیز شده آنزیمی به جیره گاوه های شیری در پژوهش پیشین (Yue et al., 2023) مشخص کرد که افزودن پروتئین آنزیمی مقادیر مناسبی از گلوکز در خون را فراهم می کند که منجر به مقادیر بالاتر لاکتوز شیر می شود. و همچنین گزارش کردند که تامین پروتئین هیدرولیز شده آنزیمی برای عملکرد شیردهی گاوه های شیری از طریق بهبود مصرف نیتروژن و تامین گلوکز خون مفید است. افزودن روی آلی و پیتید زیست فعال تخم پنبه در دوره پیش از زایش سبب کاهش معنی دار ($P < 0/01$) غلظت گلوکز در این دوره شد و در دوره پس از زایش، غلظت گلوکز با افزودن روی آلی و پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه تمایل به کاهش داشت (به ترتیب $P = 0/06$ و $P = 0/07$) و بیشترین مقدار گلوکز در تیمار شاهد و کمترین مقدار در تیمار Pe1Zn1 مشاهده شد ($P < 0/01$).

مقدار انسولین در دوره پیش از زایش تحت تاثیر پیتید زیست فعال تخم پنبه جیره قرار نرفت ($P = 0/64$)، اما در دوره پس از زایش به صورت معنی داری کاهش یافت ($P = 0/45$) ولی روی آلی به صورت معنی داری سبب افزایش انسولین در دوره پیش از زایش شد ($P = 0/01$). گلوکز طبیعی سرم خون در گاوها ۴۵ تا ۷۵ میلی گرم در دسی لیتر است. تغذیه آمینواسید ممکن است بر وضعیت غدد درون ریز گاو شیری و نیز تولید شیر تاثیر بگذارد. به عنوان مثال تزریق مستقیم آرژنین به جریان خون گاوها در اواخر دوره آبستنی، سبب افزایش غلظت انسولین در گردش خون، هورمون رشد و پرولاکتین شد و تولید شیر را تا ۱۰ درصد در اوایل دوره شیردهی افزایش داد (Chew et al., 1984). افزایش غلظت انسولین، همراه با تغییرات در عرضه آمینواسید، می تواند لیپولیز بافت چربی را کاهش داده و مانع از افزایش غلظت اسیدهای چرب استریفه نشده (NEFA) پلاسما شود، که معمولاً در گاو شیری حین زایش مشاهده می شود (Mallaki et al., 2015; Cao et al., 2000). به همین ترتیب، انتشار گلوکاگون از پانکراس توسط آمینواسید خاص (Assan et al., 1977) تحریک می شود که ممکن است بر تولید گلوکز کبدی اثرگذار باشد. در پژوهشی دیگر (Greenfield et al., 2000) که گاوها جیره با دو سطح پروتئین ۱۴ و ۱۶ درصد دریافت کرده بودند گلوکز پلاسما تحت تاثیر تیمار پیش از زایش قرار نرفت، اما در گاوهایی که با جیره ۱۶/۲ درصد پروتئین خام (CP) تغذیه شده بودند، کمترین میزان و در گاوهایی که پس از زایش با جیره ۱۴/۷ درصد CP تغذیه شدند، دارای بیشترین مقدار بود ($P < 0/05$). برخلاف نتایج پژوهش حاضر، در پژوهش دیگر (Gorlov et al., 2015) گروهی از گاوها که جیره حاوی ۱۰۰ درصد روی غیر آلی و جیره حاوی روی آلی (کی لیت) دریافت کردند، غلظت گلوکز به مقدار ناچیزی در طول ۱۸۰

روز شیردهی نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد. همچنین، سایر پژوهشگران (Bakhshizadeh et al., 2019; Sobhanirad et al., 2010) اثر قابل توجهی از افزودن روی به جیره بر غلظت گلوکز مشاهده نکردند. غلظت BHB با افزودن روی آلی یا پیتید زیست فعال تخم پنبه تحت تاثیر قرار نگرفت ($P > 0.01$). نتایج حاضر نشان می‌دهد که مکمل مواد معدنی آلی می‌تواند به مقدار متوسطی به مصرف خوراک بیشتر در طول دوره انتقال کمک کند، در نتیجه توازن انرژی را بهبود بخشیده و سطوح NEFA در گردش را کاهش دهد (Ospina et al., 2010; Chapinal et al., 2012).

افزودن پیتید زیست فعال تخم پنبه به جیره‌های آزمایشی سبب افزایش عددی غلظت کلسترول سرم در دوره پیش از زایش شد ($P = 0.08$). اما افزودن روی آلی باعث افزایش معنی‌دار در غلظت کلسترول سرم در دوره پس از زایش شد ($P = 0.02$). غلظت تری‌گلیسرید سرم با تیمارهای آزمایشی تحت تاثیر قرار نگرفت ($P > 0.01$). تفاوت معنی‌داری از افزودن پیتید زیست فعال تخم پنبه و روی آلی بر غلظت تری‌گلیسرید سرم در دوره پیش و پس از زایش مشاهده نشد ($P > 0.01$). هم‌سو با نتایج پژوهش حاضر، در پژوهشی دیگر که گاوها جیره‌ای با دو سطح پروتئین خام ۱۴ و ۱۶ درصد مصرف کرده بودند، تری‌گلیسرید کل پلاسما در بین تیمارهای پیش و پس از زایش مشابه بود (Hosseini et al., 2018).

افزودن پیتید زیست فعال تخم پنبه سبب افزایش آلبومین در دوره پیش از زایش در تیمارهای آزمایشی شد ($P < 0.01$). اما، هیچ یک از تیمارهای آزمایشی اثری بر پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین در دوره پس از زایش نداشتند ($P > 0.01$). آلبومین یک پروتئین فاز حاد منفی است به این معنی که ساخت کبدی آن طی التهاب کاهش می‌یابد، درحالی‌که گلوبولین بخشی از پروتئین‌های فاز حاد مثبت اصلی است (Ceciliani et al., 2018). آلبومین نیمه عمر ۱۶/۵ روز در پلاسمای گاوی دارد (Cornelius, 2018)؛ بنابراین هر گونه تغییر در سرعت ساخت کبدی نیازمند چندین روز برای بروز است. یک دیدگاه رایج در عمل، اندازه‌گیری پروتئین کل، آلبومین و نیتروژن اوره‌ای خون در نمونه‌های خون به عنوان شاخصی از عملکرد مناسب کبد، چرخه منابع آمینواسید ناپایدار و مقدار پروتئین مصرفی جیره است. گرچه یک تعریف جامع از بیوشیمی متابولیسم پروتئین طی دوره انتقال کم است، اما مقادیر بالای آلبومین نشان دهنده توانایی حفظ بالای ذخایر آمینواسید ناپایدار در جریان خون با حداقل ترن‌آور پروتئین میوفیبریلی عضلات طی دوره انتقال است. پژوهشگران دریافته‌اند که مقدار بالای آلبومین در خون به احتمال با افزایش فعالیت پروتئین و تبادل آن در حیوانات در حال رشد مرتبط باشد که امری معمول است. در پژوهشی دیگر، در گوساله‌های تیمار شده، میزان پروتئین و آلبومین به ترتیب ۷/۷ تا ۷/۸ و ۳/۴ درصد در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بود (Gorlov et al., 2015). همبستگی مثبتی بین اختلاف آلبومین از پروتئین کل پیش از زایش که بخش گلوبولین را معرفی می‌کند و کیفیت آغوز بر اساس رفرکتومتري بریکس (Immler et al., 2021) و بین آلبومین پیش از زایش و مقدار ایمونوگلوبولین G (Costa et al., 2021) گزارش شده است. اگرچه یک پژوهش (Megahed et al., 2019) به صورت معنی داری سطوح پایین‌تر آلبومین در گاوهای یک بار زایش کرده نسبت به گاوهای چندبار زایش کرده را گزارش کرد. با نظر این نویسندگان که این موضوع را به بروز بالاتر متریت در گاوهای یک بار زایش کرده نسبت می‌دادند، به نظر می‌رسد که آزادسازی آمینواسید حاصل از کاتابولیسم پروتئین عضلات که حفظ بالای ذخایر عضلانی طی دوره انتقال را فراهم می‌کنند، سبب کوتاه شدن فاصله زمانی زایش تا اولین تلقیح شده و به نفع عملکرد تولیدمثلی عمل می‌کند. سطوح بالای آلبومین و نیتروژن اوره‌ای خون بر مصرف پروتئین کافی و فراوانی توده عضلانی که باید حفظ شود دلالت دارد.

مقدار بیلی‌روبین با افزودن روی آلی و پیتید زیست فعال تخم پنبه به تیمارهای آزمایشی در دوره پیش از زایش تحت تاثیر قرار نگرفت ($P > 0.01$) اما افزودن روی آلی به تیمارهای آزمایشی سبب کاهش بیلی‌روبین در دوره پس از زایش شد ($P = 0.05$) ولی هم‌چنان در دامنه طبیعی خود بود. در حالت معمول، میزان طبیعی انواع بیلی‌روبین سرم خون گاو عبارت بود از بیلی‌روبین مستقیم: ۰/۴ تا ۰/۴۴ میلی‌گرم در دسی‌لیتر با میانگین ۰/۱۸؛ بیلی‌روبین غیر مستقیم ۰/۳ تا ۱ میلی‌گرم در

دسی لیتر و بیلی روبین تام ۰/۰۱ تا ۱/۴ میلی گرم در دسی لیتر با میانگین ۰/۳۱؛ بیلی روبین سرم خون گاو نسبت به بیماری های کبدی از حساسیت کمی برخوردار است.

افزودن روی آلی به تیمارهای آزمایشی سبب کاهش مقدار کراتینین سرم در دوره پیش از زایش شد ($P=0/06$)، اما در دوره پس از زایش مقدار کراتینین تحت تاثیر هیچ یک از تیمارها قرار نگرفت ($P>0/1$). در پژوهشی دیگر (Zurek et al., 1995) که گاوها جیره با دو سطح ۱۴ و ۱۶ درصد CP مصرف کرده بودند غلظت کراتینین ادرار پیش از زایش بین جیره ها تفاوت معنی داری نداشت، اما در گاوهایی که با ۱۶/۲ درصد CP تغذیه شده بودند، کم تر بود.

افزودن روی آلی و پیتید زیست فعال تخم پنبه باعث افزایش معنی دار در ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل بدن به ترتیب در هر دو دوره پیش از زایش ($P<0/01$ و $P<0/05$) و پس از زایش ($P<0/01$ و $P<0/05$) شد. افزودن ریزمغذی ها با خواص آنتی اکسیدانتی مانند روی در جیره های پیش از زایش به عنوان یک راهبرد به منظور مقابله با قطعات واکنش دهنده اکسیژن تولید شده در اواخر آبستنی و پیامدهای مثبت آن برای گاوها و نوزادان، پیشنهاد شده است (Sordillo and Aitken., 2009; Abuelo et al., 2019). مواد معدنی کم مصرف، ریزمغذی هایی هستند که نقش فعالی در فرآیندهای فیزیولوژیکی متعدد مانند متابولیسم اکسیداتیو داشته و برای عملکرد بهینه سلول ها و بافت ها حیاتی هستند (Spears and Weiss, 2008).

اگرچه افزودن روی آلی اثر معنی داری بر غلظت کراتینین در دوره پیش از زایش نداشت ($P=0/4$)، اما با افزودن پیتید به جیره ها مقدار کراتینین نیاز به طور معنی داری افزایش یافت ($P=0/02$). در حالی که، مقدار کراتینین نیاز در دوره پس از زایش تحت تاثیر افزودن روی آلی ($P=0/91$) یا پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه ($P=0/14$) قرار نگرفت.

با افزودن روی آلی به جیره های آزمایشی غلظت AST در دوره پیش ($P<0/01$) و پس از زایش ($P=0/03$) به طور معنی داری افزایش یافت. غلظت طبیعی فعالیت این آنزیم در سرم خون گاوها ۸۰ تا ۱۳۰ واحد بین المللی در لیتر است. در پژوهشی دیگر که گاوها با جیره حاوی دو سطح پروتئین ۱۴ و ۱۶ درصد مصرف کرده بودند، AST برای ارزیابی وضعیت پروتئین در گاوه های شیری مورد استفاده قرار گرفت (Zurek et al., 1995) و به افزایش مصرف پروتئین و کاتابولیسم پروتئین بافتی پاسخ داد. فعالیت AST پلاسما در همه گاوها به استثنا گاوهایی که با جیره ۱۶/۲ درصد CP تغذیه شده بودند، از الگوی مشابهی با نیتروژن آلفا آمینو به کل پلاسما و مصرف پروتئین پیروی کرد. اثری از افزودن پیتید زیست فعال تخم پنبه و روی آلی در جیره ها بر مقدار ALT در دوره پیش و پس از زایش مشاهده نشد ($P>0/1$). میزان طبیعی ALT در سرم گاوها بین ۱۴ تا ۳۸ واحد بین المللی در لیتر است. مقدار آلکالین فسفاتاز با افزودن پیتید زیست فعال تخم پنبه و روی آلی در جیره های آزمایشی در دوره پیش و پس از زایش تحت تاثیر قرار نگرفت ($P>0/1$). میزان فعالیت طبیعی این آنزیم در سرم خون گاو محدوده ای بین ۰ تا ۴۹۰ واحد بین المللی در لیتر دارد. افزودن پیتید زیست فعال تخم پنبه سبب افزایش معنی دار غلظت گلوکاتایون پراکسیداز سرم در دوره پس از زایش شد ($P<0/05$) و در سایر تیمارها معنی دار نبود ($P>0/1$).

مقدار کلسیم سرم در دوره پیش از زایش با افزودن پیتید زیست فعال تخم پنبه ($P<0/01$) و روی آلی ($P=0/02$) در جیره ها به صورت معنی داری افزایش یافت. اما در دوره پس از زایش تحت تاثیر قرار نگرفت ($P>0/1$). غلظت کلسیم در خون به شدت در محدوده ۸/۵ تا ۱۰ میلی گرم در دسی لیتر تنظیم می شود (Goff, 2008, 2014). غلظت کلسیم کم تر از ۸/۵ میلی گرم در دسی لیتر، که نشان دهنده هیپوکلسیمی تحت درمانگاهی است (Oetzel, 2013)، می تواند ماده خشک مصرفی، تولید شیر و عملکرد سیستم ایمنی را کاهش دهد (Kimura et al., 2006; Mulligan et al., 2006; Goff, 2008). غلظت کم تر از ۵/۵ میلی گرم در دسی لیتر نشان دهنده هیپوکلسیمی درمانگاهی یا تب شیر می باشد (DeGaris and Lean, 2008). هم سو با نتایج پژوهش حاضر، در پژوهش دیگری نیز، افزودن پیتیدهای زیست فعال تاثیری بر مقدار کلسیم در دوره پس از زایش نداشت.

(Mirbagheri Marvili et al., 2024). افزایش کلسیم در گروه های مصرف کننده روی و پیتید را می توان اینگونه تفسیر

کرد که به دلیل مصرف بالاتر خوراک مصرفی در این گروه‌ها، مقدار کلسیم دریافتی از طریق جیره توسط حیوان بالاتر بوده است که می‌تواند بر غلظت کلسیم سرم تاثیر مثبت داشته باشد.

افزودن پیتید زیست فعال تخم پنبه به جیره‌های آزمایشی تاثیر معنی‌داری بر غلظت فسفر سرم در دوره پیش و پس از زایش نداشت. اما، با افزودن روی آلی مقدار فسفر سرم در دوره پس از زایش به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.01$). در بیشتر شرایط، غلظت فسفر بازتابی از مصرف خوراک است (Goff, 2000; Hall et al., 2014). در راستای نتایج پژوهش‌های عنوان شده، مقدار فسفر در گروه‌های دریافت کننده روی آلی افزایش داشته است که می‌توان دلیل آن را افزایش خوراک مصرفی در این گروه دانست.

جدول ۶. اثر افزودن روی آلی و پیتیدهای زیست فعال حاصل از تخم‌پنبه در جیره دوره پیش از زایش بر وضعیت متابولیت‌های خونی و ایمنی گاوهای هلشتاین پابه‌ماه

صفات	Zn ₀		Zn ₁		SEM	سطح احتمال		
	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀		Zn	P	Zn*P زمان
کلسیم (میلی گرم بر دسی لیتر)	۹/۸۷	۱۰/۲۹	۱۰/۲۱	۱۰/۲۶	۰/۱۳	۰/۰۲	<۰/۰۱	۰/۹۹
فسفر (میلی گرم بر دسی لیتر)	۶/۲۴ ^c	۶/۹۷ ^a	۶/۷۱ ^{ab}	۶/۵۹ ^b	۰/۱۷	۰/۸۰	۰/۰۹	۰/۰۲
منیزیم (میلی گرم بر دسی لیتر)	۲/۷۹	۲/۸۲	۲/۷۳	۲/۸۱	۲/۰۴	۰/۵۲	۰/۲۶	۰/۷۱
روی (میلی گرم بر دسی لیتر)	۷۳/۹۱	۷۵/۴۱	۸۷/۳۳	۶۶/۱۶	۸/۳۵	۰/۳۶	۰/۲۹	۰/۰۹
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)	۶۱/۸۱	۵۴/۲۰	۵۵/۲۷	۵۰/۷۲	۱/۲۸	<۰/۰۱	<۰/۰۱	۰/۲۸
انسولین (واحد بین‌المللی بر میلی لیتر)	۱۲/۶۵	۱۲/۵۲	۱۵/۶۷	۱۴/۹۰	۰/۹۲	<۰/۰۱	۰/۶۴	۰/۷۵
تری گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر)	۲۰/۹۹	۲۲/۹۳	۲۲/۸۵	۲۳/۰۴	۱/۰۴	۰/۳۷	۰/۳۳	۰/۴۳
کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۰۱/۴۴	۱۰۳/۷۳	۹۲/۴۰	۱۰۸/۶۰	۵/۲۸	۰/۶۹	۰/۰۸	۰/۱۹
پروتئین کل (گرم بر دسی لیتر)	۷/۷۸	۸/۲۷	۸/۲۲	۸/۲۹	۰/۱۸	۰/۲۱	۰/۱۴	۰/۲۶
آلبومین (گرم بر دسی لیتر)	۳/۸۹	۴/۰۸	۳/۹۸	۴/۰۴	۰/۰۵	۰/۶۰	۰/۰۲	۰/۲۵
گلوبولین (گرم بر دسی لیتر)	۳/۹۱	۴/۱۸	۴/۲۳	۴/۲۵	۰/۲۰	۰/۳۳	۰/۴۷	۰/۵۳
بیلی روبین (میلی گرم بر دسی لیتر)	۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۲۰	۰/۱۸	۰/۰۱	۰/۵۱	۰/۱۴	۰/۸۹
کراتینین (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱/۰۵	۱/۰۹	۱/۰۳	۰/۹۴	۰/۰۴	۰/۰۶	۰/۵۸	۰/۱۴
ظرفیت آنتی اکسیدانتی کل (میلی مول بر دسی لیتر)	۰/۲۸	۰/۲۹	۰/۳۱	۰/۳۴	۰/۰۱	<۰/۰۱	۰/۰۴	۰/۴۷
مالون دی‌الدهید (نانومول بر میلی لیتر)	۱/۵۶	۱/۷۰	۱/۴۹	۱/۴۱	۰/۰۸	۰/۰۴	۰/۷۳	۰/۲۴
آسپاراتات آمینوترنسفرز (واحد بین‌المللی بر لیتر)	۵۹/۷۲	۶۰/۷۰	۶۵/۸۹	۷۵/۰۰	۳/۷۸	<۰/۰۱	۰/۱۸	۰/۲۸
آلانین آمینوترنسفرز (واحد بین‌المللی بر لیتر)	۲۵/۵۸	۲۵/۳۳	۲۵/۹۰	۲۸/۷۶	۱/۴۳	۰/۱۸	۰/۳۵	۰/۲۷
آلکالین فسفاتاز (واحد بین‌المللی بر لیتر)	۱۰۱/۶۰	۹۰/۵۳	۱۰۱/۶۰	۱۰۷/۴۶	۸/۶۸	۰/۳۲	۰/۷۶	۰/۳۳
کراتین کیناز (واحد بین‌المللی بر لیتر)	۱۱۴/۶۰	۱۸۸/۶۰	۱۱۲/۳۰	۱۶۳/۸۰	۲۶/۱۴	۰/۶۶	۰/۰۲	۰/۶۹

تیمارهای آزمایشی شامل تیمار ۱) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) و بدون پیتید زیست فعال تخم پنبه (Pe0Zn0؛ تیمار ۲) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۳۰۰ گرم پیتید زیست فعال تخم پنبه (Pe1Zn0؛ تیمار ۳) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم روی آلی در هر کیلوگرم ماده خشک و بدون افزودن پیتیدهای زیست فعال تخم پنبه (Pe0Zn1؛ تیمار ۴) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم روی آلی در هر کیلوگرم ماده خشک به علاوه ۳۰۰ گرم پیتید زیست فعال تخم پنبه

همچنین، افزودن روی آلی و پیتید زیست فعال تخم پنبه به جیره‌های آزمایشی تاثیر معنی داری بر غلظت منیزیم سرم در دوره پیش و پس از زایش نداشت. غلظت منیزیم کمتر از ۱/۸ میلی گرم در دسی لیتر، نشان دهنده هیپومنیزیمی است و می تواند ماده خشک مصرفی را کاهش داده و هیپوکلسیمی را القا کند (Goff, 2008). افزودن روی آلی به جیره‌های آزمایشی سبب افزایش عددی غلظت روی سرم در دوره پس از زایش در تیمارهای آزمایشی شد ($P=0/09$) و افزودن پیتید زیست فعال تخم پنبه بر آن بی اثر بود ($P>0/1$). اثری از افزودن روی آلی و پیتید زیست فعال تخم پنبه بر شاخص عملکرد کبدی مشاهده نشد ($P>0/1$). شاخص عملکرد کبد (LFI) ارزیابی سلامت متابولیک گاو دوره انتقال را با اندازه گیری تغییرات در بیومارکرهای مرتبط با سنتز پروتئین پلاسمای کبد (آلبومین)، سنتز لیپوپروتئین (کلسترول)، و کاتابولیسم هم (بیلی روبین) را نشان می دهد. در واقع، نتایج حاصل از پژوهش های پیشین، کاربرد LFI را برای ارزیابی وضعیت ایمنی و التهابی و همچنین پروفایل های متابولیک در دوره پیش از زایش نشان داده است (Calamari et al., 2014; Zhou et al., 2016b). به عنوان مثال، LFI پایین (LLFI) نشان دهنده یک پاسخ التهابی مشخص و آمینواسید کمتر در گردش خون است، که در کنار هم انتقال دشوارتر از آبستنی به شیردهی را نشان می دهد. در مقابل، LFI بالا (HLFI) حاکی از یک انتقال مناسب از دوره آبستنی به دوره شیردهی است (Trevisi et al., 2012).

نتیجه گیری

افزودن پیتیدهای زیست فعال حاصل از تخم پنبه و روی آلی به جیره گاوها در دوره پیش از زایش سبب افزایش تولید شیر و تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۳/۵ درصد چربی شیر شد. افزودن روی آلی به جیره دوره پیش از زایش، سبب افزایش درصد چربی شیر شد. افزودن روی آلی به جیره های پیش از زایش سبب کاهش سلول های پیکری شیر شد. با توجه به متابولیت های خونی و فاکتورهای ایمنی گزارش شده، نتیجه می گیریم که وضعیت سلامت در گروه های مصرف کننده روی آلی بهبود یافته است.

جدول ۷. اثر افزودن روی آلی و پیتیدهای زیست فعال حاصل از تخم پنبه در جیره دوره پیش از زایش بر وضعیت متابولیت های خونی و ایمنی گاوهای

هلشتاین تازهزا

پارامتر	Zn ₀		Zn ₁		SEM	سطح احتمال		
	P ₁	P ₀	P ₁	P ₀		Zn	P	Zn*P
کلسیم (میلی گرم بر دسی لیتر)	۸/۸۴	۸/۷۱	۸/۵۴	۸/۵۴	۰/۱۹	۰/۲۳	۰/۷۳	۰/۷۴
فسفر (میلی گرم بر دسی لیتر)	۴/۷۱ ^b	۴/۲۶ ^c	۵/۰۷ ^a	۴/۸۹ ^{ab}	۰/۱۳	<۰/۰۱	۰/۲۸	۰/۰۱
منیزیم (میلی گرم بر دسی لیتر)	۲/۳۵	۲/۲۴	۲/۳۶	۲/۳۴	۰/۰۵	۰/۲۸	۰/۲۶	۰/۱۹
روی (میلی گرم بر دسی لیتر)	۶۵/۹۶	۶۲/۷۵	۷۹/۵۸	۶۵/۷۷	۴/۸۴	۰/۰۹	۰/۲۶	۰/۰۸
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)	۵۳/۱۲	۵۹/۰۳	۵۲/۹۴	۵۰/۶۶	۲/۲۹	۰/۰۶	۰/۰۷	۰/۴۳
انسولین (واحد بین المللی بر میلی لیتر)	۷/۲۱	۹/۱۷	۱۰/۰۶	۷/۲۶	۱/۱۶	۰/۷۲	۰/۰۴	۰/۶۹
بتا هیدروکسی بوتیریک اسید (میلی مول بر لیتر)	۰/۷۵	۰/۷۶	۰/۷۷	۰/۸۲	۰/۰۹	۰/۷۰	۰/۸۲	۰/۷۶
تری گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۰/۸۳	۱۰/۶۵	۱۱/۳۵	۱۱/۴۶	۰/۵۳	۰/۲۱	۰/۷۹	۰/۹۵
کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر)	۸۷/۱۲	۹۵/۶۷	۱۰۵/۱۴	۱۰۷/۱۵	۶/۵۱	۰/۰۲	۰/۶۲	۰/۴۲
پروتئین کل (گرم بر دسی لیتر)	۷/۲۲	۷/۰۴	۷/۰۴	۷/۰۱	۰/۱۳	۰/۴۴	۰/۶۱	۰/۴۶
آلبومین (گرم بر دسی لیتر)	۳/۴۵	۳/۳۷	۳/۳۶	۳/۴۰	۰/۰۷	۰/۶۷	۰/۳۷	۰/۷۴
گلوبولین (گرم بر دسی لیتر)	۳/۷۶	۳/۶۷	۳/۶۸	۳/۶۰	۰/۱۵	۰/۶۳	۰/۹۹	۰/۶۱
بیلی روبین (میلی گرم بر لیتر)	۰/۵۶	۰/۴۸	۰/۴۲	۰/۴۱	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۴۳	۰/۴۲
کراتینین (میلی گرم بر دسی لیتر)	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۸۷	۰/۰۳	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۰

1. Low LFI
2. High LFI

ادامه جدول ۷.

سطح احتمال				SEM	Zn ₁		Zn ₀		پارامتر
Zn*P	زمان	P	Zn		P ₁	P ₀	P ₀	P ₀	
۰/۹۰	<۰/۰۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۴۸	۰/۴۴	۰/۴۱	۰/۳۷	ظرفیت آنتی اکسیداتی کل (میلی مول بر لیتر)
۰/۶۱	<۰/۰۱	۰/۴۲	۰/۹۲	۰/۰۶	۱/۵۳	۱/۵۱	۱/۵۵	۱/۴۷	مالونین دی آلدئید (نانو مول بر میلی لیتر)
۰/۶۰	<۰/۰۱	۰/۲۱	۰/۰۳	۳/۰۶	۸۴/۵۶	۹۰/۰۴	۷۹/۴۹	۸۱/۷۶	آسپارات آمینوترانسفراز (واحد بین المللی بر لیتر)
۰/۹۱	<۰/۰۱	۰/۶۴	۰/۲۴	۱/۰۵	۲۷/۰۵	۲۶/۴۳	۲۵/۶۸	۲۵/۳۰	آلانین آمینوترانسفراز (واحد بین المللی بر لیتر)
۰/۷۲	<۰/۰۱	۰/۸۳	۰/۵۱	۷/۵۶	۹۰/۳۸	۹۱/۵۳	۹۸/۰۲	۹۳/۷۹	آلکالین فسفاتاز (واحد بین المللی بر لیتر)
۰/۹۵	<۰/۰۱	۰/۱۴	۰/۹۲	۱۴/۲۹	۱۵۱/۸۰	۱۷۱/۹۰	۱۴۹/۶۰	۱۷۱/۴۰	کراتین کیناز (واحد بین المللی بر لیتر)
۰/۶۰	۰/۰۸	۰/۰۳	۰/۷۶	۲/۷۳	۹۱/۴۱	۸۷/۰۰	۹۲/۰۰	۸۴/۷۵	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد بین المللی بر گرم)
-	-	۰/۲۱	۰/۲۶	۰/۷۶	-۰/۵۲	-۲/۲۴	-۱/۶۶	-۱/۵۴	شاخص عملکرد کبد

تیمارهای آزمایشی شامل تیمار (۱) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) و بدون پیتید PeOZn0؛ تیمار (۲) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم روی آلی در هر کیلوگرم ماده خشک و بدون افزودن پیتیدهای زیست فعال PeOZn1؛ تیمار (۳) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم پیتید زیست فعال و بدون افزودن پیتیدهای زیست فعال PeOZn1؛ تیمار (۴) جیره پایه (حاوی روی معدنی توصیه شده در NRC (۲۰۰۱)) به علاوه ۱۶۰ میلی گرم روی آلی در هر کیلوگرم ماده خشک به علاوه ۳۰۰ گرم پیتید زیست فعال

REFERENCES

- Abuelo, A., Hernández, J., Benedito, J. L., & Castillo, C. (2019). Redox biology in transition periods of dairy cattle: Role in the health of periparturient and neonatal animals. *Antioxidants*, 8(1), 20.
- Acosta-Estrada, B. A., Reyes, A., Rosell, C. M., Rodrigo, D., & Ibarra-Herrera, C. C. (2021). Benefits and challenges in the incorporation of insects in food products. *Frontiers in nutrition*, 8, 687712.
- Ammerman, C. B., Baker, D. P., & Lewis, A. J. (Eds.). (1995). *Bioavailability of nutrients for animals: Amino acids, minerals, vitamins*. Elsevier.
- Aslam, S., Shukat, R., Khan, M. I., & Shahid, M. (2020). Effect of dietary supplementation of bioactive peptides on antioxidant potential of broiler breast meat and physicochemical characteristics of nuggets. *Food Science of Animal Resources*, 40(1), 55.
- Assan, R., Attali, J. R., Ballerio, G., Boillot, J., & Girard, J. R. (1977). Glucagon secretion induced by natural and artificial amino acids in the perfused rat pancreas. *Diabetes*, 26(4), 300-307.
- Bakhshizadeh, S., Aghjehgheshlagh, F. M., Taghizadeh, A., Seifdavati, J., & Navidshad, B. (2019). Effect of zinc sources on milk yield, milk composition and plasma concentration of metabolites in dairy cows. *South African Journal of Animal Science*, 49(5), 884-891.
- Bao, Y. M., Choct, M., Iji, P. A., & Bruerton, K. (2007). Effect of organically complexed copper, iron, manganese, and zinc on broiler performance, mineral excretion, and accumulation in tissues. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(3), 448-455.
- Cai, J., Wang, D., & Liu, J. (2018). Regulation of fluid flow through the mammary gland of dairy cows and its effect on milk production: a systematic review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(4), 1261-1270.
- Cao, J., Henry, P. R., Guo, R., Holwerda, R. A., Toth, J. P., Littell, R. C., ... & Ammerman, C. B. (2000). Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *Journal of Animal Science*, 78(8), 2039-2054.
- Cecilian, F., Ceron, J. J., Eckersall, P. D., & Sauerwein, H. (2012). Acute phase proteins in ruminants. *Journal of proteomics*, 75(14), 4207-4231.

- Chapinal, N., Carson, M. E., LeBlanc, S. J., Leslie, K. E., Godden, S., Capel, M., ... & Duffield, T. F. (2012). The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of Dairy Science*, 95(3), 1301-1309.
- Chen, F., Li, Y., Shen, Y., Guo, Y., Zhao, X., Li, Q., ... & Li, J. (2020). Effects of prepartum zinc-methionine supplementation on feed digestibility, rumen fermentation patterns, immunity status, and passive transfer of immunity in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(10), 8976-8985.
- Cheng, H., Liu, W., Yuan, X., Jia, E., Zhang, D., & Jiang, G. (2020). Effects of dietary cottonseed meal protein hydrolysate on growth, antioxidants and immunity of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*. *Journal of Oceanology and Limnology*, 38, 869-882.
- Chew, B. P., Eisenman, J. R., & Tanaka, T. S. (1984). Arginine infusion stimulates prolactin, growth hormone, insulin, and subsequent lactation in pregnant dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 67(11), 2507-2518.
- Connelly, M. K., Weaver, S. R., Kuehn, J. M., Fricke, H. P., Klister, M., & Hernandez, L. (2021). Elevated serotonin coordinates mammary metabolism in dairy cows. *Physiological Reports*, 9(7), e14798.
- Cornelius, D. C. (2018). Preeclampsia: from inflammation to immunoregulation. *Clinical medicine insights: Blood disorders*, 11, 1179545X17752325.
- Cortinhas, C. S., Freitas Júnior, J. E. D., Naves, J. D. R., Porcionato, M. A. D. F., Rennó, F. P., & Santos, M. V. D. (2012). Organic and inorganic sources of zinc, copper and selenium in diets for dairy cows: intake, blood metabolic profile, milk yield and composition. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41, 1477-1483.
- de Oliveira Filho, J. G., Rodrigues, J. M., Valadares, A. C. F., de Almeida, A. B., Valencia-Mejia, E., Fernandes, K. F., ... & Dyszy, F. H. (2021). Bioactive properties of protein hydrolysate of cottonseed byproduct: antioxidant, antimicrobial, and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activities. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 1395-1404.
- DeGaris, P. J., & Lean, I. J. (2008). Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *The veterinary journal*, 176(1), 58-69.
- Dempsey, C., McCormick, N. H., Croxford, T. P., Seo, Y. A., Grider, A., & Kelleher, S. L. (2012). Marginal maternal zinc deficiency in lactating mice reduces secretory capacity and alters milk composition. *The Journal of Nutrition*, 142(4), 655-660.
- de Silva, F. G. D., Hernández-Ledesma, B., Amigo, L., Netto, F. M., & Miralles, B. (2017). Identification of peptides released from flaxseed (*Linum usitatissimum*) protein by Alcalase® hydrolysis: Antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 76, 140-146.
- Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T., & Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 72(1), 68-78.
- Faulkner, M. J., & Weiss, W. P. (2017). Effect of source of trace minerals in either forage-or by-product-based diets fed to dairy cows: 1. Production and macronutrient digestibility. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5358-5367.
- Flees, J. J., Ganguly, B., & Dridi, S. (2021). Phytogetic feed additives improve broiler feed efficiency via modulation of intermediary lipid and protein metabolism-related signaling pathways. *Poultry Science*, 100(3), 100963.
- Forman, H. J. (2016). Redox signaling: An evolution from free radicals to aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 97, 398-407.
- Formigoni, A., Parisini, P., & Corradi, F. (1993). The use of amino acid chelates in high production milk cows. *The Roles of Amino Acid Chelates in Animal Nutrition*. Ashmead HD, ed. Noyes Publ., Park Ridge, NJ, 170-186.
- Goff, J. P. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176(1), 50-57.
- Goff, J. P., Liesegang, A., & Horst, R. L. (2014). Diet-induced pseudohypoparathyroidism: A hypocalcemia and milk fever risk factor. *Journal of Dairy Science*, 97(3), 1520-1528.

- Goldman, C. R. (2010). Micronutrient elements (Co, Mo, Mn, Zn, Cu). *Biogeochemistry of inland waters*, 378-382.
- Gorlov, I. F., Levakhin, V. I., Radchikov, V. F., Tsai, V. P., & Bozhkova, S. E. (2015). Effect of feeding with organic microelement complex on blood composition and beef production of young cattle. *Modern Applied Science*, 9(10), 8.
- Greenfield, R. B., Cecava, M. J., Johnson, T. R., & Donkin, S. S. (2000). Impact of dietary protein amount and rumen undegradability on intake, peripartum liver triglyceride, plasma metabolites, and milk production in transition dairy cattle. *Journal of dairy science*, 83(4), 703-710.
- Griffiths, L. M., Loeffler, S. H., Socha, M. T., Tomlinson, D. J., & Johnson, A. B. (2007). Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. *Animal Feed Science and Technology*, 137(1-2), 69-83.
- Hall, J. A., Bobe, G., Vorachek, W. R., Estill, C. T., Mosher, W. D., Pirelli, G. J., & Gamroth, M. (2014). Effect of supranutritional maternal and colostral selenium supplementation on passive absorption of immunoglobulin G in selenium-replete dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 97(7), 4379-4391.
- Hosseini, Z. F., Amanlou, H., Amirabadi Farahani, T. and Eslamian Farsouni, N. (2016). Effects of crude protein levels in the shortened close-up period on health and milk production of Holstein cows. *Iranian Journal of Animal Science*, 47(1), 123-133. (In Persian)
- Immler, M., K. Buttner, T., Gartner, A., Wehrend, & Donat, K. (2021). Maternal Impact on Serum Immunoglobulin and Total Protein Concentration in Dairy Calves. *Animals* 12(6), 755.
- Karimzadeh, S., Rezaei, M., & Yansari, A. T. (2017). Effects of different levels of canola meal peptides on growth performance and blood metabolites in broiler chickens. *Livestock Science*, 203, 37-40.
- Kellogg, D. W., Tomlinson, D. J., Socha, M. T., & Johnson, A. B. (2004). Effects of zinc methionine complex on milk production and somatic cell count of dairy cows: Twelve-trial summary. *The Professional Animal Scientist*, 20(4), 295-301.
- Khiari, Z., Ndagijimana, M., & Betti, M. (2014). Low molecular weight bioactive peptides derived from the enzymatic hydrolysis of collagen after isoelectric solubilization/precipitation process of turkey by-products. *Poultry Science*, 93(9), 2347-2362.
- Kim, S.K., Wijesekara, I., Park, E.Y., Matsumura, Y., Nakamura, Y & Kenji, S. (2011). Bioactive proteins and peptides, in: N.S. Hettiarachchy, S. Sato, M.R. Marshall, A. Kannan (Eds.), Bioact. Food Proteins Pept. Appl. Hum. Heal. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 97e116.
- Kimura, K. A. Y. O. K. O., Reinhardt, T. A., & Goff, J. P. (2006). Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89(7), 2588-2595.
- Kong, X., Song, W., Hua, Y., Li, X., Chen, Y., Zhang, C., & Chen, Y. (2020). Insights into the antibacterial activity of cottonseed protein-derived peptide against Escherichia coli. *Food & Function*, 11(11), 10047-10057.
- Lee, S., & Kelleher, S. L. (2016). Molecular regulation of lactation: The complex and requisite roles for zinc. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 611, 86-92.
- Li-Chan, E. C. (2015). Bioactive peptides and protein hydrolysates: research trends and challenges for application as nutraceuticals and functional food ingredients. *Current Opinion in Food Science*, 1, 28-37.
- Liefers, S. C., Veerkamp, R. F., Te Pas, M. F. W., Delavaud, C., Chilliard, Y., & Van der Lende, T. (2003). Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight, and estrus in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86(3), 799-807.
- 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.
- Liu, Z., Ren, Z., Zhang, J., Chuang, C. C., Kandaswamy, E., Zhou, T., & Zuo, L. (2018). Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. *Frontiers in Physiology*, 9, 360203.

- Mallaki, M., Norouzian, M. A., & Khadem, A. A. (2015). Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization, and plasma zinc status in lambs. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 39(1), 75-80.
- Megahed, A. A., Hiew, M. H., & Constable, P. D. (2015, September). The effects of sample temperature on the concentrations of glucose and β -OH butyrate measured by the Precision Xtra meter in plasma from periparturient dairy cattle. In *American Association of Bovine Practitioners Conference Proceedings* (pp. 214-214).
- Miller, J. K., Ramsey, N. & Madsen, F. C. (1988). The trace elements In: Church D.C. The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition. PrenticeHall, Englewood Cliffs, NJ 988: 342-400.
- Mirbagheri Marvili, Z., Amanlou, H., & Eslamian Farsuni, N. (2024). The Effect of Feeding Top-Dress Cottonseed Bioactive Peptide and Organic Selenium on Milk Production, Liver Function, Metabolic, and Immunity Responses during the Prepartum of Holstein Dairy Cattle. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 14(2).
- Mohanta, R. K., & Garg, A. K. (2014). Organic trace minerals: immunity, health, production and reproduction in farm animals. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 31(3), 203-212.
- Moure, A., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2006). Antioxidant properties of ultrafiltration-recovered soy protein fractions from industrial effluents and their hydrolysates. *Process Biochemistry*, 41(2), 447-456.
- Mulligan, F., O'Grady, L., Rice, D., & Doherty, M. (2006). Production diseases of the transition cow: milk fever and subclinical hypocalcaemia. *Irish Veterinary Journal*, 59(12), 697-702.
- National Academies of Sciences Engineering and Medicine. (2021). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 8th rev. ed. The National Academies Press, Washington, DC.
- National Research Council, Committee on Animal Nutrition, & Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition. (2001). *Nutrient requirements of dairy cattle: 2001*. National Academies Press.
- Nayeri, A., Upah, N. C., Sucu, E. K. İ. N., Sanz-Fernandez, M. V., DeFrain, J. M., Gorden, P. J., & Baumgard, L. H. (2014). Effect of the ratio of zinc amino acid complex to zinc sulfate on the performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 97(7), 4392-4404.
- Norris, R., Harnedy, P. A., & FitzGerald, R. J. (2013). Antihypertensive peptides from marine sources. *Bioactive compounds from marine foods: Plant and Animal Sources*, 27-56.
- Ospina, P. A., Nydam, D. V., Stokol, T., & Overton, T. R. (2010). Associations of elevated nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1596-1603.
- Pomatto, L. C., & Davies, K. J. (2018). Adaptive homeostasis and the free radical theory of ageing. *Free Radical Biology and Medicine*, 124, 420-430.
- Predieri, G., Tegoni, M., Cinti, E., Leonardi, G., & Ferruzza, S. (2003). Metal chelates of 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid in animal feeding: preliminary investigations on stability and bioavailability. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 95(2-3), 221-224.
- Price, D. M., Arellano, K. K., Irsik, M., Rae, D. O., Yelich, J. V., Mjoun, K., & Hersom, M. J. (2017). Effects of trace mineral supplement source during gestation and lactation in Angus and Brangus cows and subsequent calf immunoglobulin concentrations, growth, and development. *The Professional Animal Scientist*, 33(2), 194-204.
- Rabiee, A. R., Lean, I. J., Stevenson, M. A., & Socha, M. T. (2010). Effects of feeding organic trace minerals on milk production and reproductive performance in lactating dairy cows: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 93(9), 4239-4251.
- Ríus, A. G. (2019). Invited Review: Adaptations of protein and amino acid metabolism to heat stress in dairy cows and other livestock species. *Applied Animal Science*, 35(1), 39-48.
- Samurailatpam Sanjukta, S. S., & Rai, A. K. (2016). Production of bioactive peptides during soybean fermentation and their potential health benefits. *Trends in Food Science & Technology*, 50, 1-10.
- Sangsawad, P., Roytrakul, S., & Yongsawatdigul, J. (2017). Angiotensin converting enzyme (ACE)

- inhibitory peptides derived from the simulated in vitro gastrointestinal digestion of cooked chicken breast. *Journal of Functional Foods*, 29, 77-83.
- Schabenberger, O., Gregoire, T. G., & Kong, F. (2000). Collections of simple effects and their relationship to main effects and interactions in factorials. *The American Statistician*, 54(3), 210-214.
- Sobhanirad, S., Carlson, D., & Bahari Kashani, R. (2010). Effect of zinc methionine or zinc sulfate supplementation on milk production and composition of milk in lactating dairy cows. *Biological Trace Element Research*, 136, 48-54.
- 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., Shafer-Weaver, K., & DeRosa, D. (1997). Immunobiology of the mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 80(8), 1851-1865.
- Spears, J. W. (2003). Trace mineral bioavailability in ruminants. *The Journal of Nutrition*, 133(5), 1506S-1509S.
- Spears, J. W., & Weiss, W. P. (2008). Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176(1), 70-76.
- Vallee, B. L., & Falchuk, K. H. (1993). The biochemical basis of zinc physiology. *Physiological Reviews*, 73(1), 79-118.
- Wang, L., Ma, M., Yu, Z., & Du, S. K. (2021). Preparation and identification of antioxidant peptides from cottonseed proteins. *Food Chemistry*, 352, 129399.
- Ward, E., Yang, N., Muhlhausler, B. S., Leghi, G. E., Netting, M. J., Elmes, M. J., & Langley-Evans, S. C. (2021). Acute changes to breast milk composition following consumption of high-fat and high-sugar meals. *Maternal & Child Nutrition*, 17(3), e13168.
- Webb, K. J., Wong, E. A., Pan, Y. X., Chen, H., Poole, C. A., Van, L., & Klang, J. E. (2005). The role of peptides in absorption pathways. 197-225.
- Weng, X., Monteiro, A. P. A., Guo, J., Li, C., Orellana, R. M., Marins, T. N., ... & Tao, S. (2018). Effects of heat stress and dietary zinc source on performance and mammary epithelial integrity of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 2617-2630.
- Yang, X., Sun, J. Y., Guo, J. L., & Weng, X. Y. (2012). Identification and proteomic analysis of a novel gossypol-degrading fungal strain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(4), 943-951.
- Yuan, X. Y., Liu, M. Y., Cheng, H. H., Huang, Y. Y., Dai, Y. J., Liu, W. B., & Jiang, G. Z. (2019). Replacing fish meal with cottonseed meal protein hydrolysate affects amino acid metabolism via AMPK/SIRT1 and TOR signaling pathway of *Megalobrama amblycephala*. *Aquaculture*, 510, 225-233.
- Yuan, X. Y., Liu, W. B., Wang, C. C., Huang, Y. Y., Dai, Y. J., Cheng, H. H., & Jiang, G. Z. (2020). Evaluation of antioxidant capacity and immunomodulatory effects of cottonseed meal protein hydrolysate and its derivative peptides for hepatocytes of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Fish & Shellfish Immunology*, 98, 10-18.
- Yue, S., Li, X., Qian, J., Du, J., Liu, X., Xu, H., ... & Chen, X. (2023). Impact of Enzymatic Hydrolyzed Protein Feeding on Rumen Microbial Population, Blood Metabolites and Performance Parameters of Lactating Dairy Cows. *Pakistan Veterinary Journal*, 43(4).
- Zhou, J., Ding, Z., Pu, Q., Xue, B., Yue, S., Guan, S., Xue, B. (2022). Rumen fermentation and microbiome responses to enzymatic hydrolysate of cottonseed protein supplementation in continuous in vitro culture. *Animals*, 12(16), 2113.
- Zurek, E., Foxcroft, G. R., & Kennelly, J. J. (1995). Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 78(9), 1909-1920.