نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۱، زمستان ۱۳۹۷
ص‌ص: ۱۷۳~۱۹۲

اثر برخی ویتامین‌ها و مواد معدنی قابل تزریق بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون و بروز ناهنجاری‌های متابولیکی در گاوهای شیری دوره انتقال

- **سیدرضا موسوی**
  دانشجو دکتری تغذیه دام گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام
- **فرشید فتاح‌نیا** (نویسنده مسئول)
  دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام.
- **گلناز تأسلی**
  استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام
- **یحیی محمدی**
  استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

تاریخ دریافت : دی ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش : اسفند ۱۳۹۶

شماره تماس نویسنده مسئول: ۹۱۸۳۴۱۶۷۰۰
Email: ffatahnia@yahoo.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.120081.1604

چکیده

در این مطالعه اثر تزریق ویتامین E و سلنیوم و ویتامین B_{12} و آهن بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی و تعداد سلول‌های سفید خون، غلظت ایمونوگلبولین G آغوز و بروز ناهنجاری‌های متابولیکی در گاوهای شیری طی دوره انتقال بررسی شد. ٤٠ رأس گاو شیری هلشتاین شامل ٢٠ رأس یک و ٢٠ رأس دو نوبت زایش‌کرده به ترتیب با میانگین وزن بدن ٦٠/٢٦± ٦٠٧/٠٩ و ٥٥/٥٤ ±٧١٢ کیلوگرم به ٤ گروه متعادل تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل ١) تزریق ٧ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک ٠/٩ درصد (شاهد)، ٢) تزریق ٦٠ میلی‌لیتر ویتامین E و سلنیوم، ٣) تزریق ٧ میلی‌لیتر ویتامین B_{12} وآهن و ٤) تزریق ٦٠ میلی‌لیتر ویتامین E و سلنیوم و ٧ میلی‌لیتر ویتامین B_{12} وآهن بودند. تزریق محلول‌ها در روزهای ٢١ و ٧ پیش و روز ٧ پس از زایش و نمونه‌گیری از خون در روزهای ٢١ و ٧ قبل از زایش، روز زایش و روزهای ٧، ١٤ و ٢١ پس از زایش انجام شد. هر میلی‌لیتر محلول تزریقی ویتامین E و سلنیوم حاوی ٥٠ میلی‌گرم ویتامین E (دی‌ال آلفا توکوفرول‌استات؛ معادل ٥٠ واحد بین‌المللی ویتامین E) و ٠/٥ میلی‌گرم سلنیوم (سدیم سلنیت) و هر میلی‌لیتر محلول تزریقی ویتامین B_{12} و آهن شامل ١٠٠ میلی‌گرم دکستران آهن و ١٠٠ میکروگرم سیانوکوبالامین بود. تزریق ویتامین E و سلنیوم در گاوها باعث افزایش معنی‌دار غلظت ویتامین E و کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم (در روزهای زایش و ٧ و ١٤ پس از زایش)، سلنیوم و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز سرم (در روزهای زایش و ١٤ پس از زایش) و تعداد نوتروفیل‌های خون (در روز زایش) شد (٠/٠٥ > P). گاوهای دریافت کننده ویتامین B_{12} و آهن، غلظت ویتامین B_{12} سرم (در روزهای ٧ قبل از زایش، زایش، ٧، ١٤ و ٢١ بعد از زایش)، غلظت آهن و فعالیت آنزیم کاتالاز سرم (در روز زایش) و کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم (در روزهای زایش، ٧ و ١٤ بعد از زایش) بالاتری داشتند (٠/٠٥ > P). بیشترین وقوع جفت‌ماندگی و ورم پستان در گاوهای تیمار شاهد مشاهده شد. در کل سه بار تزریق ویتامین E و سلنیوم یا ویتامین B_{12} و آهن در روزهای ٢١ و ٧ قبل از زایش و ٧ پس از زایش در گاوهای شیری دوره انتقال، با بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی خون و سیستم ایمنی، باعث کاهش وقوع جفت‌ماندگی و ورم پستان شد.

واژه‌های کلیدی: گاو شیری – دوره انتقال – ویتامین E و سلنیوم – ویتامین B12 و آهن – وضعیت آنتی‌اکسیدان

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 121 pp: 173-192

Effect of some injectable trace minerals and vitamins on blood antioxidant status and metabolic disorders in transition dairy cows

1- Seied Reza Mousavi- PhD Student- Department of Animal Science- Faculty of Agriculture- Ilam University
2- Farshid Fatahnia- Associate Professor- Department of Animal Science- Faculty of Agriculture- Ilam University (Corresponding Author)
3- Golnaz Taasoli- Assistant Professor- Department of Animal Science- Faculty of Agriculture- Ilam University
4- Yahya Mohammadi- Assistant Professor- Department of Animal Science- Faculty of Agriculture- Ilam University

Received: January 2018 **Accepted: March 2018**

In this experiment, the effect of vitamin E (VE) and selenium (Se) and vitamin B_{12} (VB_{12}) and iron (Fe) injection on blood antioxidant status and metabolic disorders of transition dairy cows was investigated. Forty Holstein dairy cows include twenty primiparous and twenty multiparous (parity = 2) with average body weight 607.09± 60.26 and 712±55.54 kg were allocated to 4 balanced groups. Experimental treatments consisted of 1) injection of 7 ml of NaCl % 0.9 (Control), 2) injection of 60 ml of VE and Se, 3) injection of 7 ml of VB_{12} and Fe and 4) injection of 60 ml of VE and Se with 7 ml VB_{12} and Fe. Solutions injectied on 21 and 7 day prepartum and 7 day postpartum and blood samples were collected at 21 and 7 day prepartum, parturition day and 7, 14 and 21 day postpartum. One milliliter of injectable solotion of VE and Se contains 50 mg VE (d,l-alpha-tocopheryl acetate; equal to 50 IU) and 0.50 mg Se (as sodium selenite) and one milliliter of injectable solotion of vitamin VB_{12} and Fe contains 700 mg iron dextran and 700 µg cyanocobalamin. Injection of VE and Se increased serum VE concentration and total antioxidant capacity (TAC) (at parturition day, 7 and 14 days postpartum), serum Se concentration and glutathione peroxidase activity (at parturition day and 14 day postpartum) and blood neutrophils counts (at parturition day) ($P<0.05$). Cows received VB_{12} and Fe, had higher serum VB_{12} concentration (at 7 day prepartum, parturition day, 7, 14 and 21 days postpartum), serum Fe concentration and catalase activity (at parturition day) and serum TAC (at parturition day, 7 and 14 days postpartum) ($P<0.05$). The greatest incidence of retained placenta and mastitis were observed in control group. Overally, three times injection of VE and Se or VB_{12} and Fe at 21 and 7 day prepartum and 7 day postpartum to transition dairy cows, with improvement of blood antioxidant status and immune system, decreased incidence of retained placenta and mastitis.

Key words: Dairy cow - Transition period - Vitamin E and selenium - Vitamin B12 and Fe – Antioxidant status

مقدمه

دوره انتقال، شامل انتقال فیزیولوژیک از وضعیت آبستنی و غیرشیرده به زایش و تولید شیر، یک تجربه پر تنش برای گاوهای شیری است که با افزایش تقاضا برای انرژی، پروتئین و مواد معدنی همراه است. تأمین نامناسب احتیاجات همراه با تنش زایش، سیستم ایمنی حیوان شامل عملکرد نوتروفیل‌ها و پاسخ لنفوسیت‌ها را دچار تغییر می‌کند (Kehril و همکاران، ۲۰۰۶؛ Sordillo and Raphael, 2013). از طرفی کاهش مصرف خوراک در دوره انتقال، شرایط تنش‌زای حیوان را تشدید می‌کند (Khati و همکاران، ۲۰۱۷). بنابراین، حیوان با انواع ناهنجاری‌های متابولیکی و عفونی مانند جفت ماندگی، ورم پستان و غیره مواجه می‌شود (Roche و همکاران، ۲۰۱۳). از دیگر عوامل تأثیرگذار بر کاهش توان ایمنی گاوهای دوره انتقال، بروز تنش اکسیداتیو است.

افزایش احتیاجات متابولیکی برای آبستنی، زایش و تولید شیر نه تنها احتمال تأمین نیازهای متابولیکی سلول‌های ایمنی حیوان را کاهش می‌دهد، بلکه باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در بدن نیز می‌شود. اگر سرعت تولید رادیکال‌های آزاد در بدن بیشتر از مکانیسم‌های دفاعی مانند آنتی‌اکسیدان‌ها باشد، حیوان دچار تنش اکسیداتیو می‌شود. خروج آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بدن از طریق آغوز و شیر، زمینه را برای بروز تنش اکسیداتیو در اوایل زایش تشدید می‌کند (Spears and Weiss, 2008; Sordillo, 2005). تنش اکسیداتیو باعث آسیب به سلول‌های ایمنی (Spears and Weiss, 2008)، DNA و پراکسیداسیون لیپیدی (Dargel, 1992)، اختلال در عملکرد تولیدمثل (Khati و همکاران، ۲۰۱۷) و متابولیسم لیپیدها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها و فیزیولوژی طبیعی بدن (Calamari و همکاران، ۲۰۱۱؛ Trevisan و همکاران، ۲۰۰۱)، تخلیه انرژی سلول‌ها (Khati و همکاران، ۲۰۱۷؛ Ray و همکاران، ۲۰۰۴) و کاهش کیفیت شیر با افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک شیر (Jin و همکاران، ۲۰۱۴) می‌شود. تنش اکسیداتیو بیشترین اثر منفی را بر سلول‌های ایمنی حیوان دارد، زیرا غشای سلول‌های ایمنی حاوی اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد که در مقابل پراکسیداسیون لیپیدی حساس هستند و همچنین سلول‌های ایمنی در هنگام تنش، تحریک می‌شوند و مقادیر زیادی رادیکال آزاد تولید می‌کنند (Spears and Weiss, 2008). بنابراین کاهش تنش اکسیداتیو، بر عملکرد ایمنی، سلامت گاوها، تولید مثل، تولید و کیفیت شیر و در نتیجه موفقیت اقتصادی واحد پرورش گاو شیری اثر مثبت دارد. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با حفاظت از سلول‌های ایمنی در مقابل صدمه اکسیداتیو به حفظ و تقویت سیستم ایمنی حیوان کمک می‌کنند (Sordillo, 2005). ویتامین E، علیه پراکسیداسیون لیپیدی ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد، عمل می‌کند و باعث حفاظت و افزایش عملکرد سلول‌های ایمنی مانند نوتروفیل‌ها می‌شود (Bradford و همکاران، ۲۰۱۵؛ Weiss and Spears, 2006; Spears and Weiss, 2008). سلنیوم با شرکت در ساختمان آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و تیوردوکسین ردوکتاز، باعث از بین بردن رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از تنش اکسیداتیو می‌شود (McKenzie و همکاران، ۲۰۰۲؛ Mustacich and Powis, 2000). مصرف ویتامین E یا سلنیوم، بیشتر از مقدار مورد نیاز برای رشد و فیزیولوژی طبیعی در گاوها، بر سیستم ایمنی اثر مثبت دارد (Surai, 2006). آهن نیز با شرکت در ساختمان آنزیم کاتالاز، باعث تبدیل پراکسیدهیدروژن به آب و کاهش تنش اکسیداتیو (Tomlinsonو همکاران، ۲۰۰۸؛ Campbel and Miller, 1998) و با شرکت در زنجیره انتقال الکترون و تولید انرژی، می‌تواند در تأمین انرژی مورد نیاز سلول‌های ایمنی نقش داشته باشد (Hunt, 1990; Goff and Horst, 1997). ویتامین B_{12} نیز با کمک به تأمین انرژی، در بهبود تعادل انرژی در اوایل زایش و تقویت سیستم ایمنی گاوها موثر است (Kreipe و همکاران، ۲۰۱۱؛ Girard and Matte, 2005). غلظت مواد معدنی و ویتامین‌های خون گاوهای شیری دوره انتقال، به دلیل تقاضای زیاد برای انرژی، کاهش مصرف خوراک و تضعیف سیستم ایمنی، کم است. غلظت ویتامین E سرم، از یک هفته قبل تا ۲ هفته بعد از زایش (Weiss و همکاران، ۱۹۹۷؛ Lean و همکاران، ۲۰۱۳؛ Spears and Weiss, 2008)، سلنیوم خون در اواخر آبستنی (Abdelrahman and Kincaid, 1995) و ویتامین B_{12} سرم گاوها در اوایل شیردهی (Weiss and Ferreira, 2006; Girard and Matte, 1999) به شدت افت می‌کند. اگر چه NRC (۲۰۰۱)، نیاز گاوهای دوره انتقال به مواد معدنی و ویتامین‌ها را از طریق جیره برآورد کرده است اما تأمین نیاز ماده خشک مصرفی بستگی دارد. همزمان با افزایش تنش اکسیداتیو در زمان نزدیک زایمان (Castillo و همکاران، ۲۰۰۵؛ NRC, 2001)، مصرف ماده خشک کاهش می‌یابد (Grummer و همکاران، ۲۰۰۴). با توجه به محدودیت‌های دوره انتقال مانند کاهش مصرف خوراک، تعادل منفی انرژی و تنش زایش، ضرورت تجویز مکمل مواد معدنی و ویتامین‌ها از طریق تزریق روشن می‌شود. همچنین به دلیل قابلیت دسترسی پایین و اثرات متقابل مواد معدنی و ویتامین‌ها در جیره، احتمالاً تجویز از طریق تزریق، راهکار مناسب‌تری باشد. اطلاعاتی درباره اثر همزمان تزریق ویتامین E و سلنیوم و ویتامین B_{12} و آهن

به عنوان مواد مغذی آنتی‌اکسیدان و انرژی‌زا بر سیستم ایمنی گاوهای شیری دوره انتقال، وجود ندارد. در پژوهش حاضر فرض شد که تزریق همزمان ویتامین E و سلنیوم و ویتامین B_{12} و آهن می‌تواند غلظت ویتامین‌ها و عناصر معدنی آنتی‌اکسیدان سرم و توان ایمنی گاوهای دوره انتقال را افزایش دهد. بنابراین هدف این پژوهش بررسی اثر تزریق ویتامین E و سلنیوم و ویتامین B_{12} و آهن بر برخی فراسنجه‌های سیستم ایمنی و بروز ناهنجاری‌های گاوهای شیری دوره انتقال بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات، مدیریت و تیمارهای آزمایشی

در این پژوهش از ۲۰ رأس گاو یک نوبت زایش کرده (میانگین وزن ۶۰/۲۶± ۶۰۷/۰۹ کیلوگرم) و ۲۰ رأس گاو دو نوبت زایش‌کرده (میانگین وزن ۵۵/۵۴ ±۷۱۲ کیلوگرم) هلشتاین از ۲۱ روز قبل از زمان مورد انتظار زایش تا ۲۱ روز پس از زایش استفاده شد. حیوانات در جایگاه‌های فری‌استال قرار داشتند و با شروع علائم زایش به زایشگاه منتقل و تا ۲۴ ساعت پس از گوساله‌زایی در آنجا نگهداری شدند. گاوها با جیره‌های کامل مخلوط شده تغذیه شدند (NRC, 2001). مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره قبل و پس از زایش در جدول ۱ آمده است. گاوها در طول آزمایش به طور آزاد به آب دسترسی داشتند. گاوها بر اساس شکم زایش به ۴ گروه تیماری تقسیم شدند، به طوری که به هر گروه تیماری ۱۰ رأس گاو شامل ۵ رأس گاو شکم اول و ۵ رأس گاو شکم دوم اختصاص یافت. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار ۱) گاوهای گروه شاهد (کنترل) که به آن‌ها فقط ۷ میلی‌لیتر محلول نمکی سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد تزریق شد، تیمار ۲) گاوهایی که به آن‌ها ۶۰ میلی‌لیتر (معادل ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E) محلول تزریقی ویتامین E و سلنیوم (ویتی‌سل، کارخانه داروسازی نصر) تزریق شد، تیمار ۳) گاوهایی که به آن‌ها ۷ میلی‌لیتر محلول تزریقی ویتامین B_{12} و آهن (سیانوفرین، کارخانه داروسازی نصر) تزریق شد و تیمار ۴) گاوهایی که به آن‌ها ۶۰ میلی‌لیتر محلول تزریقی ویتامین E و سلنیوم و ۷ میلی‌لیتر محلول تزریقی ویتامین B_{12} و آهن با هم تزریق شد. هر میلی‌لیتر محلول تزریقی ویتامین E و سلنیوم حاوی ۵۰ میلی‌گرم ویتامین E (دی‌ال آلفا توکوفرول‌استات؛ معادل ۵۰ واحد بین‌المللی ویتامین E) و ۰/۵ میلی‌گرم سدیم سلنیت و هر میلی‌لیتر محلول تزریقی ویتامین B_{12} و آهن شامل ۱۰۰ میکروگرم سیانوکوبالامین و ۱۰۰ میلی‌گرم دکستران آهن بود. مقدار تجویز محلول تزریقی ویتامین B_{12} و آهن (سیانوفرین) بر اساس توصیه کارخانه سازنده و مقدار تجویز ویتامین E و سلنیوم (ویتی‌سل) بر اساس مطالعات مختلف انجام شده در این زمینه انتخاب شد. در مطالعات مختلف از دامنه ۱۰۰۰ تا ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E و در برخی مطالعات بیشتر از مقدار ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی نیز استفاده شد که در بیشتر این مطالعات مقدار ۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E تأثیر معنی‌داری به همراه نداشت و مقادیر بیشتر پیشنهاد شد (Pontes و همکاران، ۲۰۱۵؛ Bourne و همکاران، ۲۰۰۸؛ Bicalho و همکاران، ۲۰۱۴؛ Khatti و همکاران، ۲۰۱۷؛ Machado و همکاران، ۲۰۱۳؛ Moeini و همکاران، ۲۰۰۹؛ LeBlanc و همکاران، ۲۰۰۲). بنابراین در مطالعه حاضر با در نظر گرفتن توصیه کارخانه سازنده و مطالعات انجام شده، مقدار ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی برای ویتامین E و ۳۰ میلی‌گرم برای سلنیوم انتخاب شد. محلول ویتامین E و سلنیوم به صورت زیر جلدی و محلول ویتامین B_{12} و آهن به صورت داخل عضلانی تزریق شدند. زمان‌های تزریق شامل ۲۱ و ۷ روز قبل از زمان مورد انتظار زایش، زمان زایش و ۷ روز بعد از زایش بود. نمونه‌هایی از جیره‌های قبل و پس از زایش به طور هفتگی جمع‌آوری و ماده خشک آنها در آون با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. سپس نمونه-های خشک شده قبل و پس از زایش با هم مخلوط شدند به گونه-ای که یک نمونه برای قبل و یک نمونه برای پس از زایش حاصل شد. ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و عصاره اتری (AOAC, 2000)، الیاف شوینده خنثی (Van Soest و همکاران، ۱۹۹۱) و کلسیم، فسفر، پتاسیم، منیزیم، مس، آهن، سلنیوم، روی و منگنز (دستگاه جذب اتمی کمپانی Analytikjena مدل nov AA 400P) جیره‌ها اندازه‌گیری شد.

جمع‌آوری و آنالیز نمونه‌های خون و آغوز

در روزهای ۲۱ و ۷ قبل از زایش، روز زایش و روزهای ۷، ۱۴و۲۱ پس از زایش قبل از مصرف خوراک نوبت صبح و قبل از هر نوع تزریقی از ناحیه ورید دمی دو سری نمونه خون از هر گاو جمع‌آوری شد. سری اول نمونه‌های خون هر حیوان در لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد و سری دوم در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد هپارین ریخته شد. نمونه‌های خون در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل و سرم نمونه‌های بدون ماده ضد انعقاد پس از جداسازی تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی سرم از روش الایزا (دستگاه الایزا ریدر کمپانی BioTek مدل ELX800) و کیت‌های شرکت زل‌بیو (ZellBio) استفاده شد. غلظت عناصر معدنی آهن و سلنیوم سرم به ترتیب با استفاده از دستگاه اتوآنالایزور (کمپانی Biotecnica Instruments مدل BT1500) و جذب اتمی (کمپانی analytikjena مدل nov AA 400P)، غلظت ویتامین E سرم با استفاده از روش الایزا (دستگاه الایزا ریدر کمپانی BioTek مدل ELX800) و کیت شرکت زل‌بیو (ZellBio) و غلظت ویتامین B_{12} سرم با استفاده از دستگاه HPLC (کمپانی KNAUER) اندازه‌گیری شد. از خون لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد برای شمارش تفریقی سلول‌های سفید خون با استفاده از دستگاه سل‌کانتر (کمپانی BOULE MEDICAL AB مدل exigo Vet) استفاده شد. نمونه‌های آغوز بعد از زایش گاو و قبل از اولین تغذیه گوساله جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظت ایمونوگلوبین G آغوز با استفاده از کیت شرکت بیوکس (Bio-X) با روش الایزا اندازه‌گیری شد.

ناهنجاری‌های متابولیکی

وقوع ناهنجاری‌های متابولیکی شامل جفت‌ماندگی و ورم‌پستان بالینی توسط کارکنان گاوداری و با تأیید دامپزشک به دقت رصد و ثبت شد. جفت‌ماندگی به عنوان ناهنجاری که در آن گاو در طی ۲۴ ساعت بعد از گوساله‌زایی قادر به آزادسازی جفت نباشد تعریف شد. تغییرات غیرطبیعی در پستان یا شیر به عنوان ورم‌پستان بالینی در نظر گرفته شد (Machado و همکاران، ۲۰۱۴؛ LeBlanc و همکاران، ۲۰۱۳).

آنالیز آماری

نتایج با استفاده از رویه مختلط (MIXED) نرم افزار آماری SAS (۲۰۱۲) و روش فاکتوریل ۲×۲ (تزریق ویتامین B_{12} و آهن به عنوان عامل اول و تزریق ویتامین E و سلنیوم به عنوان عامل دوم) در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند (SAS, 2012). شکم زایش به عنوان کواریانس برای سایر روزها در نظر گرفته شد. داده‌های مربوط به نمونه‌های خون گاوها به صورت اندازه‌گیری‌های تکرار شده در زمان (Repeated Measurement) انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها با روش توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

مدل آماری مورد استفاده برای داده‌های مربوط به خون گاوها که در طول زمان تکرار شدند، به صورت زیر می‌باشد:

$$X_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + P_k + T_m + ABT_{ijm} + e_{ijkm}$$

μ = میانگین جمعیت

A_i = اثر فاکتور A

B_j = اثر فاکتور B

AB_{ij} = اثر متقابل دو فاکتور

P_k = اثر شکم زایش

T_m = اثر زمان (روزهای نمونه‌گیری)

e_{ijkm} = اثر خطای آزمایشی

مدل آماری مورد استفاده برای غلظت ایمونوگلبولین G آغوز که در طول زمان تکرار نشد، به صورت زیر می‌باشد:

$$X_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$$

μ = میانگین جمعیت

A_i = اثر فاکتور A

B_j = اثر فاکتور B

AB_{ij} = اثر متقابل دو فاکتور

e_{ijk} = اثر خطای آزمایشی

نتایج و بحث

غلظت ویتامین‌ها و مواد معدنی سرم

اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت ویتامین‌ها و مواد معدنی سرم گاوها در جدول ۲ آمده است. غلظت ویتامین E سرم گاوها در روزهای ۷ قبل از زایش، زایش، ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از زایش تحت تأثیر تزریق ویتامین B_{12} و آهن قرار نگرفت ($P > ۰/۰۵$). تزریق ویتامین E و سلنیوم در مقایسه با عدم تزریق باعث افزایش معنی‌دار غلظت ویتامین E سرم گاوها در روز زایش (۴/۷۳ در مقایسه با ۳/۰۱، $P < ۰/۰۰۰۰۵$)، روز ۷ (۳/۷۶ در مقایسه با ۲/۹۳، $P < ۰/۰۰۱$) و ۱۴ (۳/۸۶ در مقایسه با ۲/۸۱، $P < ۰/۰۰۰۶$) پس از زایش شد. وضعیت ویتامین E سرم گاوهای دوره انتقال بر سلامت و عملکرد آن‌ها در این دوره می‌تواند اثر مهمی داشته باشد (Pontes و همکاران، ۲۰۱۵). مطابق با نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه LeBlanc و همکاران (۲۰۰۲) تزریق ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E یک هفته قبل از زایش باعث افزایش غلظت ویتامین E در روزهای ۷ و ۱۴ بعد از زایش شد اما بر غلظت آن در روز ۲۱ بعد از زایش اثر معنی‌داری نداشت. اما در مطالعه Pontes و همکاران (۲۰۱۵) سه بار تزریق ۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E در روزهای ۱۹، ۱۳ و ۶ قبل از زایش بر غلظت ویتامین E سرم گاوها در سه هفته آخر آبستنی اثر معنی‌داری نداشت که با توجه به نتایج مطالعه حاضر، احتمالاً بتوان دلیل آن را به پایین بودن مقدار استفاده شده ویتامین E ارتباط داد. با توجه به این که ویتامین E و سلنیوم تا ۲ هفته بعد از تزریق باعث افزایش غلظت ویتامین E سرم گاوها می‌شود، به طوری که در هفته اول بعد از تزریق در بالاترین سطح قرار می‌گیرد و در هفته دوم پایین می‌آید (Pontes و همکاران، ۲۰۱۵؛ Erskine و همکاران، ۱۹۹۷) احتمالاً بتوان دلیل معنی‌دار شدن غلظت ویتامین E سرم در هفته‌های اول بعد از تزریق (روزهای زایش، ۷ و ۱۴ بعد از زایش) در مقایسه با هفته‌های دوم بعد از تزریق (روزهای ۷ قبل از زایش و ۲۱ بعد از زایش) را به نزدیک بودن به زمان تزریق ارتباط داد. سطح ویتامین E (آلفاتوکوفرول) پلاسمای گاوهای شیری، به طور فیزیولوژیک از ۱۰ روز قبل از زایش تا حدود ۲ هفته بعد از زایش، به دلیل اختلال در انتقال ویتامین E در پلاسما و افزایش تجمع چربی در کبد در این دوره کاهش می‌یابد (Hogan و همکاران، ۱۹۹۳). در واقع به دلیل این که انتقال ویتامین E در پلاسما بیشتر از طریق لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی پایین (VLDL) انجام می‌شود (Dutta-Roy و همکاران، ۱۹۹۴) و همچنین کبد نشخوارکنندگان در ترشح سریع لیپوپروتئین‌ها به خصوص در اوایل شیردهی دارای محدودیت است، خطر افت ویتامین E پلاسما در این دوره بیشتر مشاهده می‌شود (Baldi و همکاران، ۲۰۰۰؛ Van Den Top و همکاران، ۱۹۹۵). بنابراین تزریق ویتامین E در دوره انتقال، به خصوص نزدیک زمان زایمان، ضروری به نظر می‌رسد. نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق ویتامین E و سلنیوم در روزهای ۲۱ و ۷ قبل از زایش و ۷ روز بعد از زایش باعث افزایش غلظت ویتامین E در روزهای بحرانی دوره انتقال یعنی روزهای زایش، ۷ و ۱۴ بعد از زایش شد که بیانگر بالا بودن غلظت ویتامین E سرم گاوها از زمان زایش تا ۲ هفته بعد از زایش می‌باشد و می‌تواند برای سلامت گاوها بسیار مفید باشد. تزریق ویتامین B_{12} و آهن در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها باعث افزایش غلظت ویتامین B_{12} سرم در روز ۷ قبل از زایش (۳۱۹/۱۲ در مقایسه با ۲۳۹/۱۲، $P < ۰/۰۰۰۳$)، روز زایش (۳۶۴/۱۲ در مقایسه با ۲۳۰/۳۷، $P < ۰/۰۰۰۱$)، روز ۷ پس از زایش (۲۵۵/۶۲ در مقایسه با ۱۹۷/۳۷، $P < ۰/۰۰۰۲$)، روز ۱۴ پس از زایش (۲۹۱/۸۷ در مقایسه با ۱۸۷/۸۷، $P < ۰/۰۰۰۳$) و روز ۲۱ بعد از زایش (۲۴۳/۶۲ در مقایسه با ۱۹۸/۷۵، $P < ۰/۰۱$) شد. همسو با نتایج پژوهش حاضر، در مطالعه Akins و همکاران (۲۰۱۳) نیز تزریق هفتگی ۱۰ میلی‌گرم ویتامین B_{12} درون عضلانی از ۶۰ روز قبل از زایش تا ۱۵۰ روز بعد از زایش در گاوهای شیری باعث افزایش غلظت ویتامین B_{12} پلاسما در مقایسه با گاوهای گروه شاهد شد. در مطالعه Girard و Matte (۲۰۰۵) تزریق ۱۰ میلی‌گرم ویتامین B_{12} باعث افزایش غلظت ویتامین B_{12} سرم شد. غلظت ویتامین B_{12} سرم گاوها در اوایل شیردهی احتمالاً به دلیل افزایش تخلیه ویتامین B_{12} به درون آغوز و شیر و افزایش متابولیسم حیوان به خصوص در حمایت از تقاضای بالا برای

انرژی از طریق چرخه کربس، افت شدیدی می‌کند (Akins و همکاران، ۲۰۱۳). با توجه به نتایج مطالعه حاضر تزریق ویتامین B_{12} و آهن در دوره انتقال از افت شدید غلظت ویتامین B_{12} سرم گاوها در اوایل شیردهی جلوگیری کرد.

تزریق ویتامین B_{12} و آهن بر غلظت سلنیوم سرم گاوها اثر معنی‌داری نداشت ($P > ۰/۰۵$). غلظت سلنیوم سرم گاوهای دریافت‌کننده ویتامین E و سلنیوم در روز زایش (به ترتیب ۹۳/۹۳ در مقایسه با ۷۰/۷۷، $P < ۰/۰۰۱$) و ۱۴روز بعد از آن (به ترتیب ۹۹/۴۶ در مقایسه با ۸۰/۹۶، $P < ۰/۰۰۲$) در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها بالاتر بود. غلظت سلنیوم سرم در گاوها در طی ۸ هفته پایانی آبستنی کاهش می‌یابد که بیانگر اهمیت تجویز سلنیوم در دوره انتقال می‌باشد (Moeini و همکاران، ۲۰۰۹؛ Abdelrahman and Kincaid, 1995). در مطالعه Ganda و همکاران (۲۰۱۶) تجویز زیرجلدی ۲۵ میلی‌گرم سلنیوم در روز زایش در گاوهای شیری، بر غلظت سلنیوم سرم در ۳۰ روز بعد از تزریق، اثر معنی‌داری نداشت، اما Pogge و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که تزریق ۲۵ میلی‌گرم محلول تزریقی سلنیوم در گوساله‌های نر باعث افزایش غلظت کبدی سلنیوم تا یک دوره ۱۵ روزه بعد از تزریق شد. همچنین در مطالعه Moeini و همکاران (۲۰۰۹) تزریق ۲۰ و ۴۰ میلی‌لیتر محلول ویتامین E و سلنیوم در ۴ و ۲ هفته قبل از زمان مورد انتظار زایش، باعث افزایش غلظت سلنیوم سرم گاوها در روز زایش شد. به نظر می‌رسد که تزریق سلنیوم در گاوها باعث افزایش غلظت سلنیوم سرم در فاصله زمانی ۱ یا ۲ هفته بعد از تزریق می‌شود. در مطالعه حاضر، با توجه به این که روزهای زایش و ۱۴ بعد از زایش در مقایسه با روزهای ۷ و ۲۱ بعد از زایش فاصله کوتاه‌تری با زمان تزریق داشتند، دلیل بالا بودن غلظت سلنیوم در این روزها، می‌تواند نزدیکی به زمان تزریق باشد.

غلظت آهن سرم گاوها در روزهای ۷ قبل از زایش، زایش و روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از زایش، تحت تأثیر تزریق ویتامین E و سلنیوم قرار نگرفت ($P > ۰/۰۵$). اما تزریق ویتامین B_{12} و آهن در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها سبب افزایش غلظت آهن سرم گاوها در روز زایش شد (۱۲۷/۷۵ در مقایسه با ۱۰۴/۵۷، $P < ۰/۰۴$). کمبود آهن در گاوهای بالغ به ندرت اتفاق می‌افتد (Underwood, 1999) اما در دوره انتقال به دلیل تعادل منفی انرژی، تنش زایمان و قابلیت دسترسی پایین آهن در گاوهای مبتلا به ورم پستان می‌تواند دلایلی برای اهمیت تجویز آهن در دوره انتقال باشد (Todhunter و همکاران، ۱۹۹۰). در مطالعه Mohri و همکاران (۲۰۱۰) تزریق ۱ گرم آهن (به شکل دکستران آهن) در گوساله‌های هلشتاین بر غلظت آهن سرم در روزهای ۱۴، ۲۸ و ۴۲ بعد از تزریق اثری نداشت. در مطالعه Weiss و همکاران (۲۰۱۰) مصرف مکمل آهن (۳۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره) از ۶۰ روز قبل از زایش تا روز ۶۳ شیردهی بر غلظت آهن سرم گاوها در روزهای ۷ قبل از زایش، ۷ و ۶۰ شیردهی اثری نداشت. تفاوت در نتایج این آزمایش با آزمایش حاضر را می‌توان به روش مصرف آهن ارتباط داد. در آزمایش Weiss و همکاران (۲۰۱۰) مکمل آهن به جیره اضافه شد که قابلیت دسترسی آن ممکن است به وسیله سایر عوامل جیره‌ای تحت تأثیر قرار گیرد، اما در زمان تزریق (مانند آزمایش حاضر) این مشکلات وجود نخواهد داشت. در مطالعه حاضر دلیل عدم تأثیر تزریق ویتامین B_{12} و آهن بر غلظت آهن سرم در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از زایش را احتمالاً بتوان به افزایش متابولیسم حیوان در اوایل شیردهی و خروج آهن از بدن از طریق جنین و جفت، آغوز و شیر (Miltenburg و همکاران، ۱۹۹۱) ارتباط داد. بالا بودن غلظت آهن در روز زایش (قبل از گوساله‌زایی) را می‌توان به فاصله کوتاه زمان بین تزریق ویتامین B_{12} و آهن در ۷ روز قبل از زایش و نمونه‌گیری خون در روز زایش ارتباط داد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم گاوها در جدول ۳ ارائه شده است. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز سرم در روزهای ۷ قبل از زایش، زایش و روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از زایش تحت تأثیر تزریق ویتامین B_{12} و آهن قرار نگرفت ($P > ۰/۰۵$). اما تزریق ویتامین E و سلنیوم در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها سبب افزایش

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز سرم در روز زایش (به ترتیب ۸۴/۶۳ در مقایسه با ۴۵/۴۷، $P < ۰/۰۰۰۳$) و ۱۴ پس از آن (به ترتیب ۶۴/۲۳ در مقایسه با ۳۹/۱۵، $P < ۰/۰۱$) شد. در مطالعه Bourne و همکاران (۲۰۰۸) دو بار تزریق درون عضلانی ویتامین E و سلنیوم (شامل ۲۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E و ۷ گرم سدیم سلنیت) در دو هفته قبل از گوساله‌زایی و روز گوساله‌زایی در گاوهای شیری بر غلظت ویتامین E پلاسما و فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز خون در هفته ۲ و ۸ بعد از زایش، اثری نداشت. در مطالعه Bicalho و همکاران (۲۰۱۴) نیز اثر تجویز مکمل عناصر معدنی شامل ۲۵ میلی‌گرم سلنیوم در روزهای ۲۳۰ و ۲۶۰ آبستنی بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز سرم در روز ۶ قبل از زایش و روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۵ بعد از زایش اثر معنی‌داری نداشت، که احتمالاً دلیل آن فاصله طولانی بین زمان تزریق و نمونه‌گیری باشد. مطابق با نتایج آزمایش حاضر، در مطالعه Lacetera و همکاران (۱۹۹۶) اثر تزریق ویتامین E (۲۵ واحد بین‌المللی به ازای هر ۱۰۰ کیلوگرم وزن بدن) و سلنیوم (۵ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ کیلوگرم وزن بدن) در ۲۲ و ۱۱ روز قبل از زایش در گاوهای شیری باعث افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز خون در روزهای زایش، ۴، ۸ و ۱۲ بعد از آن شد. بین غلظت ویتامین E و سلنیوم سرم با افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز سرم رابطه مستقیم وجود دارد (Harrison و همکاران، ۱۹۸۴). سلنیوم جز ساختمان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز می‌باشد (McKenzie و همکاران، ۲۰۰۲)، بنابراین می‌توان دلیل بالا بودن غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز سرم در آزمایش حاضر در روزهای زایش و ۱۴ بعد از زایش را به بالا بودن غلظت ویتامین E یا سلنیوم سرم در این روزها ارتباط داد (جدول ۲). تزریق ویتامین E و سلنیوم بر فعالیت آنزیم کاتالاز سرم در روزهای ۷ قبل از زایش و ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از آن اثر نداشتند ($P > ۰/۰۵$) اما تزریق ویتامین B_{12} و آهن در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها به طور معنی‌داری باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز سرم در روز زایش شد (۶/۱۱ در مقایسه با ۴/۹۴، $P < ۰/۰۳$) که دلیل آن را می‌توان به افزایش معنی‌دار غلظت آهن سرم در زمان زایش ارتباط داد (جدول ۲). کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم گاوها تحت تأثیر تزریق همزمان محلول ویتامین E و سلنیوم و محلول ویتامین B_{12} و آهن قرار نگرفت ($P > ۰/۰۵$). در صورتی که در روز زایش، تزریق ویتامین E و سلنیوم در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها (۰/۸۰۳ در مقایسه با ۰/۵۳۰، $P < ۰/۰۰۸$) و تزریق ویتامین B_{12} و آهن در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها (۰/۷۷۴ در مقایسه با ۰/۵۵۹، $P < ۰/۰۳$)، در روز ۷ بعد از زایش، تزریق ویتامین E و سلنیوم در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها (۰/۶۴۱ در مقایسه با ۰/۴۱۹، $P < ۰/۰۱$) و تزریق ویتامین B_{12} و آهن در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها (۰/۶۳۹ در مقایسه با ۰/۴۲۱، $P < ۰/۰۱$) و در روز ۱۴ بعد از زایش، تزریق ویتامین E و سلنیوم در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها (۱/۰۹ در مقایسه با ۰/۸۱۵، $P < ۰/۰۲$) و تزریق ویتامین B_{12} و آهن در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها (۱/۰۹۵ در مقایسه با ۰/۸۱۶، $P < ۰/۰۴$) باعث افزایش کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم گاوها شد. در مطالعه Khatti و همکاران (۲۰۱۷) مصرف مکمل ویتامین E (۸۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ماده خشک) و سلنیوم (۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) در جیره غنی از انرژی، در مقایسه با جیره شاهد از ۴ هفته قبل تا ۸ هفته بعد از زایش باعث افزایش کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم گاوها شد. هر چند افزایش کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در روزهای زایش و ۱۴ بعد از زایش را می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری شده در این مطالعه ارتباط داد اما باید توجه داشت که کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده در این مطالعه با توجه به توضیحات شرکت تولید کننده کیت (ZellBio) شامل فعالیت مجموعه‌ای از آنتی‌اکسیدان‌ها مانند آنزیم‌های گلوتاتیون‌پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیدسموتاز و گلوتاتیون S-ترانسفراز و مولکول‌های دخیل در سیستم دفاعی بدن مانند ویتامین E و C، کاروتن، ترانسفرین، سرولوپلاسمین، لاکتوفرین و غیره می‌باشد که ممکن است سایر آنتی‌اکسیدان‌های اندازه‌گیری نشده در این آزمایش تحت تأثیر تزریق‌ها قرار گرفته باشند و باعث افزایش ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی در روز ۷ بعد از زایش شده باشد.

سلول‌های خونی و ایمونوگلوبولین G آغوز

جدول ۴ نتایج اثر تیمارهای آزمایشی بر تعداد سلول‌های سفید خون و ایمونوگلوبولین G آغوز گاوها را نشان می‌دهد. تزریق ویتامین B_{12} و آهن بر تعداد گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌های خون گاوها اثری نداشت ($P > ۰/۰۵$). تزریق ویتامین E و سلنیوم در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها نیز بر تعداد گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌های خون گاوها اثری نداشت ($P > ۰/۰۵$). اما تعداد نوتروفیل‌های خون در روز زایش در گاوهای دریافت‌کننده ویتامین E و سلنیوم در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها به طور معنی‌داری بالاتر بود (۶/۶۰ در مقایسه با ۳/۹۶، $P < ۰/۰۴$). در مطالعه Calamari و همکاران (۲۰۱۱) مصرف سطوح مختلف سلنیوم در جیره (۰/۳۱ و ۰/۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) بر تعداد گلبول‌های سفید و درصد نوتروفیل‌های خون اثر معنی‌داری نداشت. همسو با داده‌های آزمایش حاضر، در مطالعه Machado و همکاران (۲۰۱۴) نیز سه بار تزریق محلول مواد معدنی آنتی‌اکسیدان (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ترتیب سلنیوم، منگنز، مس و روی) در روزهای ۲۳۰ و ۲۶۰ آبستنی و ۳۵ بعد از زایش بر فعالیت لوکوسیت‌های خون در روز ۱۰ بعد از زایش، اثر معنی‌داری نداشت. اما، در مطالعه Weiss و همکاران (۱۹۹۲) تزریق ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E در روزهای ۱۰ و ۵ قبل از زایش باعث افزایش غلظت آلفاتوکوفرول در نوتروفیل‌های خون در روز ۵ قبل از زایش و روز زایش شد. مشخص شده است که فعالیت نوتروفیل‌ها در گاوهایی که مکمل ویتامین E دریافت کردند، در مقایسه با گاوهای گروه شاهد بیشتر بود (Hogan و همکاران، ۱۹۹۲). در مطالعه Weiss و همکاران (۱۹۹۲) فرض شد که غلظت آلفاتوکوفرول در نوتروفیل‌های خون احتمالاً با فعالیت نوتروفیل‌ها رابطه مستقیم دارد. در مطالعه حاضر غلظت آلفاتوکوفرول در نوتروفیل‌های خون اندازه‌گیری نشد، اما می‌توان تعداد نوتروفیل‌ها خون را به عنوان شاخصی برای افزایش فعالیت آن‌ها در نظر گرفت. هر چند اثر تزریق ویتامین E و سلنیوم فقط بر تعداد نوتروفیل‌های خون در روز زایش معنی‌دار بود اما تعداد نوتروفیل‌ها و سایر سلول‌های سفید خون در گاوهای تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی در سایر روزهای نمونه‌گیری تمایل به افزایش داشت. برای مثال تعداد نوتروفیل‌ها خون در گاوهای دریافت کننده ویتامین E و سلنیوم در روزهای ۷ قبل از زایش و ۷ و ۱۴ بعد از زایش در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها، شدیداً تمایل به افزایش داشت (به ترتیب $P < ۰/۰۷$، $P < ۰/۰۹$ و $P < ۰/۰۶$). افزایش تعداد نوتروفیل‌ها در گاوهای دریافت کننده ویتامین E و سلنیوم را احتمالاً بتوان به افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز و کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم این گاوها در روز زایش ارتباط داد (جدول ۲). آنتی‌اکسیدان‌ها با کاهش تنش اکسیداتیو، سلول‌های ایمنی حیوان را در مقابل صدمه اکسیداتیو محافظت می‌کنند (Spears and Weiss, 2008). برای مثال ویتامین E از طریق حفاظت نوتروفیل‌ها در مقابل صدمه اکسیداتیو باعث افزایش فعالیت آن‌ها می‌شود (Herdt and Stowe, 1991). در مطالعه Khatti و همکاران (۲۰۱۷) مصرف مکمل ویتامین E و سلنیوم، در جیره غنی از انرژی در مقایسه با جیره کنترل باعث افزایش فعالیت فاگوسیتوزی در ۱ روز قبل از زایش، روز زایش و ۳ تا ۸ هفته بعد از زایش و افزایش تحریک شاخص تکثیر لنفوسیت[1] در روز زایش و هفته ۴ و ۸ بعد از زایش شد که یکی از دلایل آن بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شد. مطابق با نتایج ما، در مطالعه Gengelbach و همکاران (۱۹۹۷) مصرف مکمل سولفات‌آهن (۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در گاوها بر فعالیت باکتری‌کشی نوتروفیل‌ها اثر معنی‌داری نداشت اما، تمایل به افزایش فعالیت آن‌ها داشت. در مطالعه Moosavian و همکاران (۲۰۱۰) نیز اثر تزریق ۵۰۰ میلی‌گرم آهن در گوساله‌های هلشتاین بر تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌های خون روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ بعد از تزریق اثری نداشت.

غلظت ایمونوگلبولین G آغوز گاوها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > ۰/۰۵$). اگرچه غلظت آن در آغوز گاوهای دریافت‌کننده هر ۲ محلول تزریقی از نظر عددی در مقایسه با سایر گروه‌ها بالاتر بود. مشابه با این نتایج، در پژوهش Lacetera و همکاران (۱۹۹۶) اثر تزریق ویتامین E (۲۵ واحد

1- Lymphocyte proliferation assay

بین‌المللی به ازای هر ۱۰۰ کیلوگرم وزن بدن) و سلنیوم (۵ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ کیلوگرم وزن بدن) در ۲۲ و ۱۱ روز قبل از زایش در گاوهای شیری بر غلظت ایمونوگلوبولین G آغوز اثری نداشت.

ناهنجاری‌های متابولیکی

درصد و تعداد گاوهای مبتلا به جفت ماندگی و ورم پستان در جدول ۵ آمده است. در گاوهای گروه شاهد درصد ابتلا به جفت‌ماندگی و ورم پستان به ترتیب ۲۰ و ۳۰ درصد بود. در گاوهایی که ویتامین E و سلنیوم یا ویتامین B_{12} و آهن دریافت کردند هیچ موردی از جفت‌ماندگی مشاهده نشد، اما یک مورد ورم پستان در گاوهای تزریق شده با ویتامین E و سلنیوم یا ویتامین B_{12} و آهن مشاهده شد. گاوهای دریافت کننده ۲ محلول تزریقی با هم هیچ گونه جفت ماندگی و ورم پستانی را نشان ندادند. ورم پستان به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گاوهای شیری بالغ محسوب می‌شود که تولید، کیفیت و سلامت شیر را تحت تأثیر قرار می‌دهد و ضررهای اقتصادی هنگفتی برای پرورش‌دهندگان گاو شیری به همراه دارد، بنابراین جلوگیری و درمان آن از نگرانی‌های مهم صنعت پرورش گاوهای شیری می‌باشد (National Mastitis Council, 2005). جفت ماندگی نیز از طریق ایجاد کیست‌های فولیکولی، افزایش فاصله گوساله‌زایی، التهاب رحم و احتمالاً نازایی و کاهش تولید شیر، باعث ضررهای اقتصادی قابل‌توجهی خواهد شد (Kimura و همکاران، ۲۰۰۲؛ Campbell and Miller, 1998). مطالعات مختلف بیانگر اثر مثبت تجویز ویتامین E و سلنیوم بر سلامت گاوهای دوره انتقال می‌باشد. در مطالعه Bourne و همکاران (۲۰۰۸) دو بار تزریق درون عضلانی ویتامین E و سلنیوم (شامل ۲۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E و ۷ گرم سدیم سلنیت) در ۲ هفته قبل از گوساله‌زایی و روز گوساله‌زایی در گاوهای شیری باعث کاهش درصد وقوع ورم پستان و جفت‌ماندگی در مقایسه با گاوهای گروه کنترل شد اما در جلوگیری از وقوع التهاب رحم اثری نداشت. در مطالعه Machado و همکاران (۲۰۱۳) سه بار تزریق محلول مواد معدنی آنتی‌اکسیدان (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ترتیب سلنیوم، منگنز، مس و روی) در روزهای ۲۳۰ و ۲۶۰ آبستنی و ۳۵ بعد از زایش بر سلامت پستانک، کاهش ورم پستان بالینی و غیر بالینی و التهاب رحم اثر مثبتی داشت. اما همین تزریق یک بار در روز زایش در مطالعه Ganda و همکاران (۲۰۱۶) فقط باعث تمایل به کاهش وقوع ورم پستان بالینی در گاوهای شیری شد. در مطالعه Pirestani و همکاران (۲۰۱۴) تزریق روزانه ویتامین E و سلنیوم از ۱ هفته قبل تا ۱ هفته بعد از زایش در گاوهای شیری باعث کاهش تعداد سلول‌های سوماتیک شیر در روزهای ۳، ۷، ۱۱ و ۱۴ شیردهی شد. در گاوهای شیری مصرف سلنیوم و ویتامین E با فعالیت بهتر نوتروفیل‌ها (Ibeagha و همکاران، ۲۰۰۹)، بهبود وضعیت سیستم ایمنی حیوان (Hall و همکاران، ۲۰۱۴) و در نتیجه کاهش وقوع آلودگی‌های پستانی و جفت‌ماندگی (Ganda و همکاران، ۲۰۱۶؛ LeBlanc و همکاران، ۲۰۰۲؛ Jukola و همکاران، ۱۹۹۶) همراه بود. در مطالعه حاضر دلیل کاهش وقوع جفت‌ماندگی و ورم پستان در گاوهای تزریق شده با ویتامین E و سلنیوم را می‌توان به افزایش غلظت ویتامین E و سلنیوم سرم و افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز و کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم گاوها (جداول ۲ و ۳) در ۲ هفته اول پس از زایش و همچنین افزایش تعداد نوتروفیل‌های خون در روز زایش (جدول ۴) ارتباط داد. مطالعات نشان می‌دهد که افزایش تنش اکسیداتیو در زمان نزدیک شدن به زایمان با افزایش وقوع ورم پستان (Bouwstra و همکاران، ۲۰۱۰) و جفت‌ماندگی همراه است به طوری که افزایش وضعیت آنتی‌اکسیدانی گاوها با بهبود وضعیت ایمنی حیوان و بنابراین دفع غشاهای جنینی به عنوان عامل ضد ایمنی ارتباط دارد (Pontes و همکاران، ۲۰۱۵؛ Kimura و همکاران، ۲۰۰۲). سلنیوم یک عنصر اساسی در فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون‌پراکسیداز و تیوردوکسین‌ردوکتاز می‌باشد و نقش مهمی در مقاومت سلول‌های حیوان به رادیکال‌های آزاد دارد (McKenzie و همکاران، ۲۰۰۲). ویتامین E نیز به عنوان یک مولکول قابل‌حل در چربی که بیشتر در غشاهای سلولی یافت می‌شود از طریق مهار پراکسیداسیون لیپیدی ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها

می‌شود (Wagner و همکاران، ۱۹۹۶). رادیکال‌های آزاد اثرات مضری بر نوتروفیل‌ها دارند و آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند گلوتاتیون‌پراکسیداز و ویتامین E با تبدیل رادیکال‌های آزاد مضر به ترکیبات غیرسمی از صدمه نوتروفیل‌ها جلوگیری و باعث تقویت سیستم ایمنی حیوان در مقابل بیمارها می‌شوند (Salman و همکاران، ۲۰۰۹). در واقع گلوتاتیون‌پراکسیداز و ویتامین E باعث حفاظت اسیدهای چرب غیراشباع غشای سلول‌ها مانند اسید آراشیدونیک در مقابل پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند. اسید آراشیدونیک برای عملکرد نوتروفیل‌های چند هسته‌ای و تقویت پاسخ‌های التهابی به دنبال حمله پاتوژن‌ها به بافت‌ها مانند غدد پستانی دارای اهمیت است و لذا ممکن است از این طریق در کاهش وقوع ورم پستان تأثیرگذار باشند (Pirestani و همکاران، ۲۰۱۴). Kimura و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که فعالیت نوتروفیل‌های خون گاوهای شیری مبتلا به جفت‌ماندگی، از قبل از گوساله‌زایی تا ۱ الی ۲ هفته بعد از گوساله‌زایی پایین بود. آن‌ها گزارش کردند که کاهش فعالیت نوتروفیل‌ها از طریق تضعیف سیستم ایمنی باعث بروز جفت ماندگی شد، نه این که جفت ماندگی باعث کاهش فعالیت نوتروفیل‌ها شده باشد. در مطالعه حاضر تعداد نوتروفیل‌های خون گاوهای دریافت کننده ویتامین E و سلنیوم در مقایسه با عدم تزریق آنها در روز زایش بالاتر بود که می‌تواند دلیلی برای تقویت سیستم ایمنی حیوان قبل از زایش و هنگام زایش و در نتیجه کاهش وقوع جفت‌ماندگی باشد. در مطالعه Weiss و همکاران (۲۰۱۰) مصرف جیره‌ای مکمل آهن باعث کاهش سلول‌های سوماتیک شیر و در مطالعه Rollin و همکاران (۲۰۱۰) تزریق فسفر و سیانوکوبالامین (۱/۲۵ میلی‌گرم سیانوکوبالامین) در روز زایش و یک روز بعد از زایش وقوع جفت‌ماندگی در گاوهای شیری را کاهش داد. کاهش وقوع جفت‌ماندگی و ورم پستان در مطالعه حاضر در اثر تزریق ویتامین B_{12} و آهن را احتمالاً می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در روز زایش و بهبود وضعیت انرژی و در نتیجه تقویت سیستم ایمنی حیوان ارتباط داد. آهن از طریق افزایش آنزیم کاتالاز خون و تبدیل پراکسیدهیدروژن به آب در کاهش تنش اکسیداتیو می‌تواند مؤثر باشد (Andrieu, 2008). مطالعات نشان می‌دهد که ارتباط قوی بین کاهش وقوع جفت‌ماندگی با بهبود وضعیت انرژی و در نتیجه تقویت سیستم ایمنی حیوان وجود دارد (Rollin و همکاران، ۲۰۱۰؛ Kimura و همکاران، ۲۰۱۰). اگر چه آهن یکی از مواد مغذی مورد نیاز برای گاوهای شیری بالغ محسوب می‌شود اما، تحقیقات اندکی در مورد تأثیر آهن در گاوهای شیری وجود دارد. یکی از دلایل این است که علوفه‌ها که بخش زیادی از جیره نشخوارکنندگان را تشکیل می‌دهند به دلیل آلودگی با خاک یکی از منابع عمده آهن جیره محسوب می‌شوند (Underwood and Suttle, 1999) اما، قابلیت دسترسی آهن خاک برای حیوان خیلی پایین است (Hansen and Spears, 2009). دلیل دیگر وجود تحقیقات اندک در این مورد احتمالاً وجود اثرات منفی مصرف آهن اضافی بر تولید و سلامت گاوها باشد (Weiss و همکاران، ۲۰۱۰). با توجه به نتایج مطالعه حاضر تجویز ۷ میلی‌لیتر محلول تزریقی آهن و B_{12} در گاوهای شیری دوره انتقال نه تنها بر سلامت گاوها اثر منفی نداشت بلکه باعث کاهش تنش اکسیداتیو از طریق افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش جفت‌ماندگی و ورم پستان نیز شد. هنگامی که در گاوها ویتامین E و سلنیوم و ویتامین B_{12} و آهن با هم تزریق شد هیچ ناهنجاری در گاوها مشاهده نشد، بنابراین می‌توان تزریق همزمان آن‌ها را نیز پیشنهاد داد.

نتیجه‌گیری

گاوهای دوره انتقال به دلیل مواجه شدن با چالش‌هایی از قبیل تنش زایش، آلودگی‌های عفونی بالا و افزایش تقاضا برای تولید شیر، بیشترین تولید رادیکال‌های آزاد در بدن در هر زمانی را دارند بنابراین با نزدیک شدن به زمان زایش بیشتر از هر زمان دیگری به مکمل‌های آنتی‌اکسیدان نیاز دارند. تزریق همزمان ویتامین E و سلنیوم و ویتامین B_{12} و آهن در گاوهای شیری دوره انتقال در روزهای ۲۱ و ۷ قبل از زایش و ۷ بعد از زایش باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و تقویت سیستم ایمنی و در نتیجه کاهش درصد ناهنجاری‌های دوره انتقال شد.

جدول ۱- مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های تغذیه شده به گاوهای انتظار زایش و تازه‌زا

	جیره[1]	
	انتظار زایش	تازه‌زا
ماده خوراکی (درصد از ماده خشک جیره)		
علوفه خشک یونجه	۱۱/۷۶	۱۳/۹۰
علوفه ذرت سیلوشده	۶۲/۷۵	۵۴/۱۷
کاه جو	۱/۹۶	۰/۸۳
دانه جو آسیاب شده	۱/۹۰	۳/۱۱
دانه ذرت آسیاب شده	۱۱/۲۸	۱۴/۳۴
سبوس گندم	۲/۴۶	۰/۹۳
کنجاله کلزا	۱/۹۰	۲/۱۷
کنجاله سویا	۲/۸۲	۶/۸۴
پودر گوشت	–	۰/۹۳
پودر چربی	–	۰/۹۳
کربنات کلسیم	۰/۴۷	۰/۳۱
نمک	۰	۰/۲۱
جوش شیرین	۰/۴۷	۰/۶۲
مکمل مواد معدنی و ویتامین	۲/۲۳[2]	۰/۷۱[3]
ترکیب شیمیایی		
پروتئین خام (درصد از ماده خشک)	۱۴/۶۲	۱۷/۶۸
عصاره اتری (درصد از ماده خشک)	۳/۱۰	۴/۱۵
خاکستر (درصد از ماده خشک)	۹/۸۰	۸/۵۲
الیاف شوینده خنثی (درصد از ماده خشک)	۳۸/۲۷	۳۲/۵۰
انرژی خالص شیردهی (مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک)	۱/۵۹	۱/۶۸
کلسیم (درصد از ماده خشک)	۱/۲۵	۰/۸۵
فسفر (درصد از ماده خشک)	۰/۳۶	۰/۴۴
منیزیم (درصد از ماده خشک)	۰/۳۶	۰/۳۳
پتاسیم (درصد از ماده خشک)	۱	۱/۱۲
سلنیوم (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)	۰/۳۹	۰/۴۲
آهن (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)	۱۸۵	۱۵۵
روی (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)	۵۹	۸۸
مس (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)	۱۵	۱۸

۱ - جیره انتظار زایش از ۳ هفته قبل از زایش تا زمان زایش و جیره تازه‌زا از زمان زایش تا ۳ هفته بعد از زایش در اختیار گاوها قرار گرفت.

۲- هر کیلوگرم شامل ۱۴۰ گرم کلسیم، ۲۰ گرم فسفر، ۳۵ گرم منیزیم، ۴۰ میلی‌گرم کروم آلی، ۴۰ گرم گوگرد، ۱۲۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۸۰۰ میلی‌گرم مس، ۸ میلی‌گرم کبالت، ۱۰ میلی‌گرم ید، ۴۰۰ میلی‌گرم آهن، ۱۵ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم نیاسین و به ترتیب ۳۵۰۰۰۰، ۶۰۰۰۰ و ۴۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، D و E و ۶۵۰ گرم مجموع نمک‌های آنیونی

۳- ۱۶۰ گرم کلسیم، ۲۰ گرم فسفر، ۴۰ گرم منیزیم، ۳۰ گرم سدیم، ۲۰ گرم گوگرد، ۵۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۷۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۳۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۵۰ میلی‌گرم کبالت، ۸۰ میلی‌گرم ید، ۱۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۴۵ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۲۵ میلی‌گرم بیوتین و به ترتیب ۸۰۰۰۰۰، ۱۵۰۰۰۰ و ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، D و E

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت ویتامین‌های E و B_{12} و سلنیوم و آهن سرم گاوهای دوره انتقال

فراسنجه	تیمارهای آزمایشی [1]					اثرات اصلی و اثر متقابل [2]		
	-ESe		+ESe		SEM	سطح معنی‌داری		
	-BFe	+BFe	-BFe	+BFe		BFe	ESe	BFe*ESe
ویتامین **E** (میکروگرم در میلی‌لیتر)								
۷ روز پیش از زایش	۳/۲۱	۳/۴۱	۳/۳۶	۴/۰۳	۰/۳۷	۰/۲۶	۰/۳۲	۰/۵۳
زمان زایش	۲/۸۶	۳/۱۶	۴/۸۸	۴/۵۹	۰/۳۶	۰/۹۸	۰/۰۰۰۵	۰/۴۳
۷ روز پس از زایش	۳/۱۶	۲/۷۰	۳/۹۴	۳/۵۹	۰/۲۰	۰/۰۷	۰/۰۰۱	۰/۸۰
۱۴ روز پس از زایش	۲/۶۱	۳/۰۲	۴/۱۲	۳/۶۰	۰/۲۲	۰/۸۰	۰/۰۰۰۶	۰/۰۶
۲۱ روز پس از زایش	۲/۹۳	۲/۶۲	۳/۱۸	۳/۳۵	۰/۳۴	۰/۸۴	۰/۱۸	۰/۵۰
ویتامین B_{12} (پیکوگرم در میلی‌لیتر)								
۷ روز پیش از زایش	۲۴۳/۲۵	۳۲۲/۷۵	۲۳۵	۳۱۵/۵۰	۱۵/۸۰	۰/۰۰۰۳	۰/۶۳	۰/۹۷
زمان زایش	۲۲۸/۷۵	۳۵۶/۵۰	۲۳۲	۳۷۱/۷۵	۱۴/۷۶	<۰/۰۰۰۱	۰/۵۴	۰/۶۹
۷ روز پس از زایش	۱۸۹/۵۰^{c}	۲۷۳/۲۵^{a}	۲۰۵/۲۵^{bc}	۲۳۸^{b}	۱۰/۹۸	۰/۰۰۰۲	۰/۳۹	۰/۰۳
۱۴ روز پس از زایش	۱۶۵/۵۰	۳۰۰	۲۱۰/۲۵	۲۸۳/۷۵	۲۰/۴۶	۰/۰۰۰۳	۰/۴۹	۰/۱۶
۲۱ روز پس از زایش	۱۹۵/۵۰	۲۴۰/۲۵	۲۰۲	۲۴۷	۱۵/۰۶	۰/۰۱	۰/۶۵	۰/۹۹
سلنیوم (میکروگرم در لیتر)								
۷ روز پیش از زایش	۷۱/۷۶	۷۵/۳۲	۸۲/۲۹	۸۴/۷۷	۵/۴۵	۰/۵۹	۰/۰۹	۰/۹۲
زمان زایش	۶۹	۷۲/۵۵	۹۷/۱۲	۹۰/۷۴	۵/۸۴	۰/۸۱	۰/۰۰۱	۰/۴۱
۷ روز پس از زایش	۷۲/۰۹	۷۱/۱۶	۷۷/۰۳	۸۷/۹۷	۵/۳۰	۰/۳۶	۰/۰۶	۰/۲۸
۱۴ روز پس از زایش	۷۹/۴۷	۸۲/۴۶	۱۰۱/۵۸	۹۷/۳۴	۴/۸۸	۰/۹۰	۰/۰۰۲	۰/۴۷
۲۱ روز پس از زایش	۶۶/۶۲	۷۱/۲۴	۷۹/۸۰	۸۴/۴۰	۶/۳۷	۰/۴۸	۰/۰۶	۰/۹۹
آهن (میکروگرم در دسی‌لیتر)								
۷ روز پیش از زایش	۱۳۴/۱۳	۱۴۳/۸۸	۱۲۸/۸۸	۱۴۴/۷۷	۵/۹۳	۰/۰۹	۰/۷۵	۰/۶۵
زمان زایش	۱۰۶	۱۴۰/۳۳	۱۰۳/۱۷	۱۱۵/۱۷	۱۰/۸۹	۰/۰۴	۰/۲۱	۰/۳۱
۷ روز پس از زایش	۱۱۴/۵۳	۱۳۶/۷۷	۱۱۴/۹۵	۱۵۳/۶۱	۱۴/۷۱	۰/۰۶	۰/۵۵	۰/۵۸
۱۴ روز پس از زایش	۹۲/۱۸	۱۰۳/۶۷	۹۵/۶۲	۱۱۲/۸۶	۸/۴	۰/۱۲	۰/۴۵	۰/۷۲
۲۱ روز پس از زایش	۹۴/۵۰	۱۰۵/۸۳	۱۰۳/۳۳	۱۱۳/۱۷	۶/۲۰	۰/۱۰	۰/۲۰	۰/۹۰

[a,b,c] میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ردیف زمانی استفاده شد که اثر متقابل (BFe*ESe) در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود.

۱- ESe - : عدم تزریق ویتامین E و سلنیوم، ESe+ : تزریق ویتامین ویتامین E و سلنیوم ، BFe- : عدم تزریق ویتامین B_{12} و آهن و BFe+ : تزریق ویتامین B_{12} و آهن.

۲- BFe : مقایسه تزریق ویتامین B_{12} و آهن در مقابل عدم تزریق آنها، ESe: تزریق ویتامین ویتامین E و سلنیوم در مقابل عدم تزریق آنها و BFe*Ese: اثرات متقابل .

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم گاوهای دوره انتقال

فراسنجه	تیمارهای آزمایشی [۱]				SEM	اثرات اصلی و اثر متقابل [۲]		
	-ESe		+ESe			سطح معنی‌داری		
	-BFe	+BFe	-BFe	+BFe		BFe	ESe	BFe*ESe
آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (واحد / میلی‌لیتر) [۳]								
۷ روز قبل از زایش	۲۷/۷۸	۳۰/۳۱	۳۵/۳۶	۳۰/۳۱	۸/۲۳	۰/۸۸	۰/۶۵	۰/۶۵
زمان زایش	۴۸	۴۲/۹۴	۸۸/۴۲	۸۰/۸۴	۸/۶۱	۰/۴۷	۰/۰۰۰۳	۰/۸۸
۷ روز بعد از زایش	۴۵/۴۷	۴۰/۴۲	۵۸/۱۰	۵۵/۵۸	۸/۰۳	۰/۸۷	۰/۱۰	۰/۶۴
۱۴ روز بعد از زایش	۳۵/۳۶	۴۲/۹۴	۶۰/۶۳	۶۸/۲۱	۸/۹۳	۰/۴۰	۰/۰۱	۰/۹۹
۲۱ روز بعد از زایش	۳۷/۸۹	۳۷/۰۹	۴۵/۴۷	۴۸	۶/۹۱	۰/۸۵	۰/۲۱	۰/۸۵
آنزیم کاتالاز (واحد / میلی‌لیتر) [۴]								
۷ روز قبل از زایش	۴/۴۳	۴/۸۲	۳/۹۶	۴/۸۱	۰/۶۶	۰/۳۶	۰/۷۲	۰/۷۳
زمان زایش	۵/۰۹	۶/۱۷	۴/۷۹	۶/۰۵	۰/۴۹	۰/۰۳	۰/۶۸	۰/۸۵
۷ روز بعد از زایش	۴/۶۶	۵/۱۲	۴/۶۷	۵/۲۶	۰/۶۸	۰/۴۵	۰/۹۰	۰/۹۲
۱۴ روز بعد از زایش	۴/۱۳	۵/۲۴	۳/۸۲	۵/۰۷	۰/۷۲	۰/۱۲	۰/۷۴	۰/۹۲
۲۱ روز بعد از زایش	۴/۲۲	۴/۹۵	۳/۶۴	۴/۹۸	۰/۵۹	۰/۱۰	۰/۶۵	۰/۶۱
کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (میلی‌مول / لیتر) [۵]								
۷ روز قبل از زایش	۰/۷۶۳	۰/۸۳۸	۰/۸۳۰	۱/۰۵	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۱۱	۰/۳۹
زمان زایش	۰/۳۷۳	۰/۶۸۸	۰/۷۴۶	۰/۸۶۱	۰/۰۹	۰/۰۳	۰/۰۰۸	۰/۲۸
۷ روز بعد از زایش	۰/۳۴۰	۰/۴۹۸	۰/۵۰۲	۰/۷۸۰	۰/۰۷	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۴۷
۱۴ روز بعد از زایش	۰/۶۶۱	۰/۹۷۰	۰/۹۷۱	۱/۲۲	۰/۱۲	۰/۰۴	۰/۰۲	۰/۹۱
۲۱ روز بعد از زایش	۰/۹۴۶	۰/۹۵۸	۰/۹۰۵	۱/۰۶	۰/۰۹	۰/۷۲	۰/۳۶	۰/۴۳

۱- ESe - : عدم تزریق ویتامین E و سلنیوم، ESe+ : تزریق ویتامین ویتامین E و سلنیوم ، BFe- : عدم تزریق ویتامین B_{12} و آهن و BFe+ : تزریق ویتامین B_{12} و آهن.

۲- BFe : مقایسه تزریق ویتامین B_{12} و آهن در مقابل عدم تزریق آنها، ESe: تزریق ویتامین ویتامین E و سلنیوم در مقابل عدم تزریق آنها و BFe*Ese: اثرات متقابل .

۳- واحد فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز به عنوان مقداری از نمونه که ۱ میکرومول گلوتاتیون پراکسیداز را به گلوتاتیون دی‌سولفید اکسید شده در ۱ دقیقه تبدیل می‌کند، در نظر گرفته شد.

۴- واحد فعالیت کاتالاز به عنوان مقداری از نمونه که ۱ میکرومول H2O2 را به آب و اکسیژن در ۱ دقیقه تبدیل می‌کند، در نظر گرفته شد.

۵- مقدار کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان مقدار آنتی‌اکسیدان در نمونه که با فعالیت اسید آسکوربیک به عنوان استاندارد مقایسه شد، در نظر گرفته شد.

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت ایمونوگلبولین G آغوز (گرم در لیتر) و تعداد سلول‌های سفید خون (10^3 در میلی‌متر مکعب) گاوهای دوره انتقال

فراسنجه	تیمارهای آزمایشی[1]				SEM	اثرات اصلی و اثر متقابل[2]		
	-ESe		+ESe			سطح معنی‌داری		
	-BFe	+BFe	-BFe	+BFe		BFe	ESe	BFe*ESe
ایمونوگلوبولین G آغوز	۶۱/۶۱	۶۲/۹۱	۶۲/۹۴	۶۵	۱/۸۱	۰/۳۶	۰/۳۵	۰/۸۳
تعداد گلبول‌های سفید								
۷ روز قبل از زایش	۸/۲۶	۱۳/۰۱	۱۲/۴۸	۱۱/۳۰	۱/۷۷	۰/۳۲	۰/۴۸	۰/۱۱
زمان زایش	۱۱/۴۱	۱۳/۹۳	۱۵/۲۳	۱۴/۷۵	۱/۵۵	۰/۵۱	۰/۱۵	۰/۳۴
۷ روز بعد از زایش	۷/۸۵	۱۱/۲۸	۱۱/۳۸	۱۱/۰۶	۲/۲۷	۰/۵۰	۰/۴۷	۰/۴۲
۱۴ روز بعد از زایش	۹/۶۶	۱۲/۳۸	۱۲/۱۱	۱۲/۷۳	۲/۰۱	۰/۴۱	۰/۴۹	۰/۶۰
۲۱ روز بعد از زایش	۱۰/۶۳	۱۲/۷۸	۱۱/۷۸	۱۳/۸۷	۲/۱۹	۰/۳۵	۰/۶۲	۰/۹۷
تعداد لنفوسیت‌ها								
۷ روز قبل از زایش	۴/۵۶	۵/۰۱	۵/۹۱	۶/۳۰	۰/۹۷	۰/۶۷	۰/۱۹	۰/۹۷
زمان زایش	۴/۸۱	۵/۲۳	۵/۸۱	۵/۱۸	۱/۳۳	۰/۹۳	۰/۷۲	۰/۶۹
۷ روز بعد از زایش	۴/۴۳	۵/۰۳	۴/۷۵	۵/۰۵	۱/۱۹	۰/۷۱	۰/۸۹	۰/۹۰
۱۴ روز بعد از زایش	۵/۸۸	۶/۴۸	۵/۸۳	۵/۶۴	۱/۸۲	۰/۹۱	۰/۸۱	۰/۸۳
۲۱ روز بعد از زایش	۵/۵۳	۳/۵۵	۵/۴۱	۵/۵۱	۰/۸۸	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۲۵
تعداد مونوسیت‌ها								
۷ روز قبل از زایش	۰/۶۵	۰/۷۶	۰/۷۸	۰/۸۱	۰/۱۲	۰/۵۴	۰/۴۶	۰/۷۳
زمان زایش	۰/۹۶	۱/۰۱	۱/۰۵	۱	۰/۱۶	۱	۰/۸۴	۰/۷۶
۷ روز بعد از زایش	۰/۶۱	۰/۷۱	۰/۹۱	۰/۷۵	۰/۱۸	۰/۸۶	۰/۳۸	۰/۴۸
۱۴ روز بعد از زایش	۰/۶۶	۰/۷۶	۰/۷۵	۰/۷۶	۰/۱۵	۰/۷۵	۰/۷۰	۰/۷۸
۲۱ روز بعد از زایش	۰/۷۰	۰/۶۵	۰/۷۵	۰/۷۱	۰/۱۲	۰/۷۳	۰/۶۴	۰/۹۴
تعداد نوتروفیل‌ها								
۷ روز قبل از زایش	۳/۴۱	۳/۴۸	۴/۴۸	۴/۲۱	۰/۴۷	۰/۸۳	۰/۰۷	۰/۷۲
زمان زایش	۳	۴/۹۳	۶/۸۱	۶/۴۰	۱/۲۶	۰/۵۵	۰/۰۴	۰/۳۶
۷ روز بعد از زایش	۲/۸۰	۳/۷۶	۴/۹۰	۵/۰۳	۰/۹۷	۰/۵۷	۰/۰۹	۰/۶۷
۱۴ روز بعد از زایش	۳/۴۶	۴/۲۰	۶/۶۱	۴/۷۰	۰/۹۳	۰/۵۳	۰/۰۶	۰/۱۷
۲۱ روز بعد از زایش	۳/۳۱	۳/۴۸	۴/۲۰	۳/۹۰	۰/۶۸	۰/۹۲	۰/۳۵	۰/۷۳

۱- ESe - : عدم تزریق ویتامین E و سلنیوم، ESe+ : تزریق ویتامین ویتامین E و سلنیوم ، BFe- : عدم تزریق ویتامین B_{12} و آهن و BFe+ : تزریق ویتامین B_{12} و آهن.

۲- BFe : مقایسه تزریق ویتامین B_{12} و آهن در مقابل عدم تزریق آنها، ESe: تزریق ویتامین ویتامین E و سلنیوم در مقابل عدم تزریق آنها و BFe*Ese: اثرات متقابل .

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر بروز جفت ماندگی و ورم پستان بالینی (درصد، تعداد / تعداد کل) در گاوهای دوره انتقال

ناهنجاری	تیمارهای آزمایشی[1]			
	-ESe		+ESe	
	-BFe	+BFe	-BFe	+BFe
جفت ماندگی (درصد)	۲۰ (۱۰/۲)	۰ (۱۰/۰)	۰ (۱۰/۰)	۰ (۱۰/۰)
ورم پستان بالینی (درصد)	۳۰ (۱۰/۳)	۱۰ (۱۰/۱)	۱۰ (۱۰/۱)	۰ (۱۰/۰)

۱- ESe - : عدم تزریق ویتامین E و سلنیوم، ESe+: تزریق ویتامین ویتامین E و سلنیوم ، BFe-: عدم تزریق ویتامین B_{12} و آهن و BFe+: تزریق ویتامین B_{12} و آهن.

منابع

Abdelrahman, M.M. and Kincaid, R.L. (1995). Effect of selenium supplementation on maternal transfer of selenium in the bovine. *Journal of Dairy Science*. 78: 625-630.

Akins, M.S., Bertics, S.J., Socha, M.T. and Shaver, R.D. (2013). Effects of cobalt supplementation and vitamin B_{12} injections on lactation performance and metabolism of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Scienc*. 96 :1755–1768.

Andrieu, S. (2008). Is there a role for organic trace element supplements in transition cow health? *The Veterinary Journal*. 176: 77–83.

AOAC. (2000). Official methods of analysis, 17th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.

Baldi, A., Savoini, G., Pinotti, L., Monfardini, E., Cheli, F. and DellOrto, V. (2000). Effects of vitamin E and different energy sources on vitamin E status, milk quality and reproduction in transition cows. *Journal* of *Veterinary Medicine*. 47: 599-608.

Bicalho, M.L.S., Lima, F.S., Ganda, E.K., Foditsch, C., Meira, E.B.S., Machado, V.S., Teixeira, A.G.V., Oikonomou, G., Gilbert, R.O. and Bicalho, R.C. (2014). Effect of trace mineral supplementation on selected minerals, energy metabolites, oxidative stress, and immune parameters and its association with uterine diseases in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 97: 1–15.

Bourne, N., Wathes, D.C., Lawrence, K.E., McGowan, M. and Laven, R.A. (2008). The effect of parenteral supplementation of vitamin E with selenium on the health and productivity of dairy cattle in the UK. *The Veterinary Journal*. 177: 381–387.

Bouwstra, R.J., Nielen, M., Newbold, J.R., Jansen, E.H., Jelinek, H.F and VanWerven, T. (2010). Vitamin E supplementation during the dry period in dairy cattle. Part II: Oxidative stress following vitamin E supplementation may increase clinical mastitis incidence postpartum. *Journal of Dairy Science*. 93: 5696–5706.

Bradford, B.J., Yuan, K., Farney, J.K., Mamedova, L.K. and Carpenter, A.J. (2015). Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. *Journal of Dairy Science*. 98: 6631–6650.

Burton, J.L., Kehrli, M.E., Kapil, Jr,S. and Horst, R.L. (1995). Regulation of L-selectin and CD18 on bovine neutrophils by glucocorticoids: effects of cortisol and dexamethasone. *Journal of Leukocyte Biology*. 57: 317-325.

Calamari, L., Petrera, F., Abeni, F. and Bertin, G. (2011). Metabolic and hematological profiles in heat stressed lactating dairy cows fed diets supplemented with different selenium sources and doses. *Livestock Science*. 142: 128–137.

Campbell, M.H. and Miller, J.K. (1998). Effect of supplemental dietary vitamin E and zinc on reproductive performance of dairy cows and heifers fed excess iron. *Journal of Dairy Science*. 81: 2693–2699.

Castillo, C., Hernandez, J., Bravo, A., Lopez-Alonso, M., Pereira, V. and Benedito, J.L. (2005). Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *The Veterinary Journal*. 169: 286–292.

Dargel, R. (1992). Lipid peroxidation - a common pathogenetic mechanism? *Experimental and Toxicologic Pathology*. 44: 169–181.

Dutta-Roy, A.K., Gordon, M.J., Campbell, F.M., Duthie, G.G. and James, W.P.T. (1994). Vitamin E requirements, transport, and metabolism: Role of a-tocopherol-binding proteins. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 5: 562-570.

Erskine, R.J., Bartlett, P.C., Herdt, T. and Gaston, P. (1997). Effects of parenteral administration of vitamin E on health of periparturient dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 211: 466–469.

Ganda, E.K., Bisinotto, R.S. Vasquez, A.K., Teixeira, A.G.V., Machado, V.S. and Foditsch, C., et al (2016). Effects of injectable trace mineral supplementation in lactating dairy cows with elevated somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*. 99: 1–11.

Gengelbach, G.P., Ward, J.D., Spears, J.W. and Brown Jr. T.T. (1997). Effects of copper deficiency and copper deficiency coupled with high dietary iron or molybdenum on phagocytic cell function and response of calves to a respiratory disease challenge. *Journal of Animal Science*. 75: 1112–1118.

Girad, C.L. and Matte, J.J. (1999). Changes in serum concentrations of folates, pyridoxal, pyridoxal-5-phosphate and vitamin B_{12} during lactation of dairy cows fed dietary supplements of folic acid. *Canadian Journal of Animal Science*. 79: 107-114.

Girad, C.L. and Matte, J.J. (2005). Effects of intramuscular injections of vitamin B_{12} on lactation performance of dairy cows fed dietary supplements of folic acid and rumen-protected methionine. *Journal of Dairy Science*. 88: 671–676.

Goff, J.P. and Horst, R.L. (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*. 80: 1260–1268.

Grummer, R.R., Mashek, D.G. and Hayırlı, A. (2004). Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*. 20: 447–470.

Hall, J.A., Bobe, G., Vorachek, W.R., Kasper, K., Traber, M.G., Mosher, W.D., Pirelli, G.J. and Gamroth, M. (2014). Effect of supranutritional organic selenium supplementation on postpartum blood micronutrients, antioxidants, metabolites, and inflammation biomarkers in selenium-replete dairy cows. *Biological Trace Element Research*. 161: 272–287.

Hansen, S.L. and Spears, J.W. (2009). Bioaccessibility of iron from soil is increased by silage fermentation. *Journal of Dairy Science*. 92: 2896–2905.

Harrison, J.H., Hancock, D.D. and Conard, H.R. (1984). Vitamin E and selenium for reproduction of dairy cow. *Journal of Dairy Science*. 67: 123-132.

Herdt, T.H. and Stowe H.D. (1991). Fat-soluble vitamin nutrition for dairy cattle. *Veterinary Clinics* of *North America*: *Food Animal Practice*. 7: 391–415.

Hogan, I.S., Weiss, W.P., Smith, K.L. and Schoenberger, P.S. (1992). Bovine neutrophil responses to parenteral vitamin E. *Journal of Dairy Science*. 65: 399- 405.

Hogan, J.S., Weiss, W.P. and Smith, K.L. (1993). Role of vitamin E and selenium in host defence against mastitis. *Journal of Dairy Science*. 76: 2795-2803.

Hunt, S.M. and Groff, J.L. (1990). *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. West Publishing Co. St. Paul, MN.

Ibeagha, A.E., Ibeagha-Awemu, E.M., Mehrzad, J., Baurhoo, B., Kgwatalala, P. and Zhao, X. (2009). The effect of selenium sources and supplementation on neutrophil functions in dairy cows. *Animal*. 3: 1037–1043.

Jin, L., Yan, S., Shi, B., Bao, H., Gong, J., Guo, X. and Li, J. (2014). Effects of vitamin A on the milk performance, antioxidantfunctions and immune functions of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*. 192: 15–23.

Jukola, E., Hakkarainen, J., Saloniemi, H. and Sankari, S. (1996). Blood selenium, vitamin E, vitamin A, and beta-carotene concentrations and udder health, fertility treatments, and fertility. *Journal of Dairy Science*. 79: 838–845.

Khatti, A,. Mehrotra, S., Patel, P.K., Singh, G., Maurya, V.P. and Mahla, A.S. et al. (2017). Supplementation of vitamin E, selenium and increased energy allowance mitigates transition stress and improves postpartum reproductive performance in crossbred cow. *Theriogenology*. 104: 142-148.

Kimura, K., Reinhardt, T.T., Kehrli Jr.M.E. and Reinhardt, T.A. (2002). Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 85: 544–550.

Kreipe, L., Deniz, A., Bruckmaier, R.M. and Van Dorland, H.A. (2011). First report about the mode of action of combined butafosfan and cyanocobalamin on hepatic metabolism in nonketotic early lactating cows. *Journal of Dairy Science*. 94: 4904–4914.

Lacetera, N., Bernabucci, U., Ronchi. B. and Nardone, A. (1996). Effect of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk production in dairy cows, and on passive immunity and growth of their offspring. *American Journal of Veterinary Research*. 57: 1776-1780.

Lean, I.J., Saun R.V. and DeGaris, P.J. (2013). Mineral and antioxidant management of transition dairy cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 29: 367–386.

LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., TenHag, J. and Walton, J.W. (2002). The effect of prepartum injection of vitamin E on health in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 85: 1416–1426.

Machado, V.S., Bicalho, M.L.S., Pereira, R.V., Caixeta, L.S., Knauer, W.A., Oikonomou, G., Gilbert, M.R.O. and Bicalho, R.C. (2013). Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactating Holstein cows. *Veterinary Journal*. 197: 451–456.

Machado, V.S., Oikonomou, G., Lima, S.F., Bicalhoa, M.L.S. Kacar, C. and Foditsch, C. et al. (2014). The effect of injectable trace minerals (selenium, copper, zinc, and manganese) on peripheral blood leukocyte activity and serum superoxide dismutase activity of lactating holstein cows. *Veterinary Journal*. 200: 299–304.

McKenzie, R.C., Arthur, J.R. and Beckett. G.J. (2002). Selenium and the regulation of cell signaling, growth, and survival: Molecular and mechanistic aspects. *Antioxidants and Redox Signaling*. 4: 339–351.

Miltenburg, G.A.J., Wending, T., VanVliet, J.P.M., Schuijt, G., VanDeBroek, J. and Breukink, H.J. (1991). Blood hemoglobin, plasma iron, and tissue iron in dams in late gestation, at calving, and in veal calves at delivery and later. *Journal of Dairy Science*. 74: 308 -3094.

Moeini, M.M., Karami, H. and Mikaeili, E. (2009). Effect of selenium and vitamin E supplementation during the late pregnancy on reproductive indices and milk production in heifers. *Animal Reproduction Science*. 114: 109–114.

Mohri, M., Poorsina, Sh. and Sedaghat, R. (2010). Effects of parenteral supply of iron on RBC parameters, performance, and health in neonatal dairy calves. *Biological Trace Element Research*. 136: 33–39.

Moosavian, H.R., Mohri, M. and Seifi, H.A. (2010). Effects of parenteral over-supplementation of vitamin A and iron on hematology, iron biochemistry, weight gain, and health of neonatal dairy calves. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 1316–1320.

Mustacich, D. and Powis, G. (2000). Thioredoxin reductase. *Biochemistry Journal*. 346: 1–8.

National Mastitis Council. (2005). NE-1009, USDA multistate research project, questions and comments: whurley@uiuc. edu.

National Research Council. (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci. Washington, D.C.

Pirestani, A., Bagheri, M.J., Hashemi, S.M. and Asgarishahi, A.H. (2014). The effect of selenium, vitamin E and copper injection on the somatic cell count and milk compositions in dairy cows. *Journal of Farm Animal Nutrition and Physiology*. 9: 41-49.

Pogge, D.J., Richter, E.L., Drewnoski, M.E. and Hansen, S.L. (2012). Mineral concentrations of plasma and liver after injection with a trace mineral complex differ among angus and simmental cattle. *Journal of Animal Science*. 90: 2692–2698.

Pontes, G.C., Monteiro, P.L.Jr., Prata, A.B., Guardieiro, M.M., Pinto, D.A.M. and Fernandes, G.O. et al. (2015). Effect of injectable vitamin E on incidence of retained fetal membranes and reproductive performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 98: 2437–2449.

Ray, S.D., Lam, T.S., Rotollo, J.A., Phadke, S., Patel, C., Dontabhaktuni, A., et al. (2004). Oxidative stress is the master operator of drug and chemically-induced programmed and unprogrammed cell death: Implications of natural antioxidants *in vivo*. *Biofactors*. 21: 223-232.

Roche, J.R., Bell, A.W., Overton, T.R. and Loor, J.J. (2013). Nutritional management of the transition cow in the 21st century–a paradigm shift in thinking. *Animal Production Science*. 53: 1000–1023.

Rollin, E., Berghaus, R.D. Rapnicki, P., Godden, S.M. and Overton, M.W. (2010). The effect of injectable butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum serum β-hydroxybutyrate, calcium, and phosphorus concentrations in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 93 :978–987.

Salman, S., Khol-Parisini, A., Schafft, H., Lahrssen-Wiederholt, M., Hulan, H.W., Dinse, D. and Zentek, J. (2009). The role of dietary selenium in bovine mammary gland health and immune function. *Animal Health Research Reviews*. 10: 21–34.

SAS. (2012). Statistical Analysis System. SAS Inc.,Cary, NC.

Sordillo, L.M. and Raphael. W. (2013). Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal*. 29: 267–278.

Sordillo, L.M. (2005). Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Livestock Science*. 98: 89–99.

Spears J.W. and Weiss, W.P. (2008). Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *Veterinary Journal*. 176: 70–76.

Surai, P.F. (2006). Selenium and immunity, In: *Selenium in nutrition and health*, nottingham, UK: Nottingham University Press, pp. 232–233.

Todhunter, D., Smith, K.L. and Hogan, J.S. (1990). Growth of gram-negative bacteria in dry cow secretion. *Journal of Dairy Science*. 73: 363–372.

Tomlinson, D.J., Socha, M.T. and Defrain, J.M. (2008). Role of trace minerals in the immune system. Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop.

Trevisan, M., Browne, R., Ram, M., Muti, P., Freudenheim, J. and Carosella, A.N. et al. (2001). Correlates of markers of oxidative status in the general population. *American Journal of Epidemiology*. 154: 348–356.

Underwood, E.J. and Suttle, N.F. (1999). *The mineral nutrition of livestock*. 3rd ed. CABI Publishing, New York, NY.

Van Den Top, A.M., Veensing, T., Geelen, M.J.H., Wentink, G.H., Van't Klooster, G.H. and Beynen, A.C. (1995). Time trends of plasma lipids and enzymes synthesizing hepatic triacylglycerol during postpartum development of fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 78: 2208-2220.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74: 3593-3597.

Wagner, B.A., Buettner, G.R. and Burns, C.P. (1996). Vitamin E slows the rate of free radical-mediated lipid peroxidation in cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 334: 261–267.

Weiss, W.P. and Ferreira. G. (2006). Water soluble vitamins for dairy cattle. In: Proceedings Tristate Dairy Nutrition Conference, Ft Wayne, IN. pp. 51–63.

Weiss, W.P. and Spears, J.W. (2006). Vitamin and trace mineral effects on immune function of ruminants. In: Sejrsen, K., Hvelplund, T., Nielsen, M.O. (Eds.), *Ruminant Physiology*. Wageningen Academic Publishers, Utrecht, The Netherlands, pp. 473–496.

Weiss, W.P., Hogan, J.S., Smith, K.L., Todhunter, D.A. and Willams, S.N. (1992). Effect of supplementing periparturient cows with vitamin E on distribution of a-Tocopherolin blood. *Journal of Dairy Science*. 75: 3479-3485.

Weiss, W.P., Hogan, J.S., Todhunter, D.A. and Smith, K.L. (1997). Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 80: 1728–1737.

Weiss, W.P., Pinos-Rodríguez, J.M. and Socha, M.T. (2010). Effects of feeding supplemental organic iron to late gestation and early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 93: 2153–2160.