Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Ruminant Research

Print ISSN: 2345 - 4261
Online ISSN: 2345 - 4253

Effect of supplementation with glycinate form of some trace minerals on antioxidant and inflammatory status, immune response, and health in suckling calves

Mohammad Hossein Moazeni Zadeh[1], Armin Towhidi[2]*, Mahdi Zhandi[3], Kamran Rezayazdi[4]

[1] Department of Animal Science, faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: moazeni.mh@ut.ac.ir

[2] Corresponding Author, Department of Animal Science, faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, Email: atowhidi@ut.ac.ir

[3] Department of Animal Science, faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: mzhandi@ut.ac.ir

[4] Department of Animal Science, faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: rezayazdi@ut.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received:
Revised:
Accepted:

Keywords:
Organic supplementation
Suckling calves
Trace elements

ABSTRACT

Background and objectives: After birth, neonatal dairy calves are exposured to challenges such as an imbalance between oxidants and antioxidants and immature immune system. Trace minerals are micronutrients that play an important role in many physiological processes, such as oxidative metabolism and immunity, and are essential for the proper function of cells and tissues and also the health of animals. Source and bioavailability of trace minerals may also lead to improved growth performance and health status in livestock. Here, the effects of supplementation of copper, iron, zinc and manganese glycinate on antioxidant and inflammatory status, immune response, hematological and hormonal parameters and Health status in Holstein suckling calves were investigated.

Materials and methods: Twenty three-day-old Holstein calves (10 males and 10 females with average birth weight of 40 ± 5 kg) were randomly assigned to 2 treatments with 10 calves per treatment. Treatments were as follows: control group receiving milk and basal starter diet + whey protein (as a carrier of trace elements) and organic treatment group receiving milk containing 1.5, 15, 6 and 6 ppm of copper, iron, zinc and manganese respectively + basal starter diet containing 10, 100, 40 and 40 ppm of copper, iron, zinc and manganese from glycinate form. Calves were weaned on day 63. In order to evaluate antioxidant status (superoxide dismutase enzyme concentration, catalase enzyme activity, total antioxidant capacity and malondialdehyde concentration), inflammatory status (serum amyloid A and haptoglobin concentration), humoral immune response (serum immunoglobulin G concentration against ovalbumin), hematological parameters, and hormonal parameters (T3, T4 and cortisol concentration), blood samples were collected on days 0, 21, 42 and 63 through the jugular vein. The cellular immune response was measured by changes in skinfold thickness of the phytohemagglutinin injection site at the end of the experiment. Health status, eye score, nasal score

PROOF

and fecal score were recorded daily and rectal temperature were measured at the end of the experiment.

Results: Results showed that organic trace mineral supplemented calves had higher red blood cells, hemoglobin, hematocrit and neutrophil percentage, higher superoxide dismutase activity and rectal temperature and lower lymphocyte, lower malondialdehyde concentration and lower eye score than control calves ($P<0.05$). Calves receiving glycinate trace mineral tended to have lower serum amyloid A than control group calves. In addition, organic trace mineral supplemented calves had higher total antioxidant capacity and catalase activity at d 21 of the study compared to control calves ($P<0.05$). in the current study glycinate trace mineral supplementation could not change immune response and hormonal parameters in suckling calves.

Conclusion: In general, the supplemental feeding of copper, iron, zinc and manganese glycinate form in mentioned levels improved antioxidant status and some hematological parameters in suckling calves.

Cite this article: Moazeni Zadeh, M.H., Towhidi, A., Zhandi, M., Rezayazdi, K. (2025). Effect of supplementation with glycinate form of some trace minerals on antioxidant and inflammatory status, immune response, and health in suckling calves. *Journal of Ruminant Research*, 13(1), .

© The Author(s).
DOI:
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

PROOF

پژوهش در نشخوارکنندگان
شاپا چاپی: ۴۲۶۱-۲۳۴۵
شاپا الکترونیکی: ۴۲۵۳-۲۳۴۵

تاثیر مکمل‌سازی شکل گلایسینات برخی از عناصر کم‌مصرف بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی و التهابی، پاسخ ایمنی و سلامت گوساله‌های شیرخوار

محمدحسین موذنی‌زاده[۱]، آرمین توحیدی[۲*]، مهدی ژندی[۳]، کامران رضایزدی[۴]

[۱] گروه علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، رایانامه: moazeni.mh@ut.ac.ir
[۲] نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، رایانامه: atowhidi@ut.ac.ir
[۳] گروه علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، رایانامه: mzhandi@ut.ac.ir
[۴] گروه علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، رایانامه: rezayazdi@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت:
تاریخ ویرایش:
تاریخ پذیرش:

واژه‌های کلیدی:
عناصر کم‌نیاز
گوساله شیرخوار
مکمل آلی

چکیده

سابقه و هدف: گوساله‌های شیرخوار در بدو تولد با چالش‌هایی نظیر عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها و همچنین سامانه ایمنی تکامل نیافته مواجه هستند. مواد معدنی کم‌مصرف ریز مغذی‌هایی هستند که در فرآیندهای فیزیولوژیکی متعدد مانند سوخت و ساز اکسیداتیو و سامانه ایمنی نقش فعالی داشته و برای عملکرد بهینه سلول‌ها و بافت‌ها و سلامت حیوانات ضروری هستند. نوع منبع و فرآهمی زیستی مواد معدنی کم‌مصرف ممکن است منجر به بهبود عملکرد رشد و سلامت حیوانات شود. در پژوهش حاضر اثر مکمل‌سازی شکل گلایسینات عناصر کم‌مصرف مس، آهن، روی و منگنز بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی و التهابی، پاسخ ایمنی، فراسنجه‌های خونی و سلامت گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بررسی شد.

مواد و روش: تعداد ۲۰ رأس گوساله سه روزه نژاد هلشتاین (۱۰ رأس نر، ۱۰ رأس ماده) با میانگین وزن تولد ۵ ± ۴۰ کیلوگرم به‌طور تصادفی به دو گروه تیماری و ۱۰ رأس گوساله در هر تیمار تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد دریافت کننده شیر و خوراک آغازین پایه به‌همراه پروتئین آب پنیر (به‌عنوان حامل عناصر کم‌مصرف) و گروه تیمار دریافت کننده شیر حاوی ۶، ۱/۵، ۱۵ و ۶ قسمت در میلیون روی، مس، آهن و منگنز به ترتیب + جیره آغازین پایه حاوی ۴۰، ۱۰، ۱۰۰ و ۴۰ قسمت در میلیون روی، مس، آهن و منگنز به شکل کمپلکس گلایسینات بود. گوساله‌ها در۶۳ روزگی از شیر گرفته شدند. جهت ارزیابی وضعیت آنتی‌اکسیدانی (غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، فعالیت آنزیم کاتالاز، ظرفیت تام آنتی-اکسیدانی و غلظت مالوندی‌آلدیید) و التهابی (غلظت سرم آمیلویید A و هاپتوگلوبین)، پاسخ ایمنی خونی (غلظت ایمونوگلوبولین G سرم علیه آلبومین سفیده تخم‌مرغ) و فراسنجه‌های خونی (فراسنجه‌های خون‌شناسی و غلظت هورمون‌های تری‌یدوتایرونین، تیروکسین و کورتیزول)، نمونه‌های خون در روزهای صفر، ۲۱، ۴۲ و ۶۳ از طریق سیاهرگ گردنی جمع-آوری شدند. پاسخ ایمنی سلولی با تغییرات ضخامت پوست ناحیه تزریق فایتوهماگلوتنین در انتهای آزمایش اندازه‌گیری شد. ارزیابی وضعیت سلامت، نمره چشم، نمره بینی و نمره مدفوع

PROOF

به صورت روزانه و دمای مقعد در انتهای آزمایش اندازه‌گیری و ثبت شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در گوساله‌های دریافت کننده شکل آلی عناصر کم‌مصرف تعداد گلبول‌های قرمز، مقدار هموگلوبین، درصد هماتوکریت و نوتروفیل، غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و دمای مقعد نسبت به گروه شاهد بالاتر و درصد لنفوسیت، غلظت مالوندی‌آلدیید و امتیاز چشم پایین‌تر بود ($P<0/05$). گوساله‌هایی که مکمل گلایسینات عناصر کم‌مصرف را دریافت کردند، نسبت به گوساله‌های گروه شاهد تمایل به کاهش غلظت سرم آمیلوییدA داشتند. علاوه‌بر این گوساله‌های دریافت کننده شکل آلی عناصر کم‌مصرف در روز ۲۱ مطالعه در مقایسه با گوساله‌های گروه شاهد فعالیت آنزیم کاتالاز و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بالاتری داشتند ($P<0/05$). طی این آزمایش، مکمل گلایسینات عناصر کم‌مصرف تغییری در پاسخ سامانه ایمنی و فراسنجه‌های هورمونی گوساله‌های شیرخوار ایجاد نکرد.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، افزودن شکل گلایسینات عناصر کم‌مصرف مس، آهن، روی و منگنز در مقادیر مذکور به شیر و جیره آغازین سبب بهبود برخی فراسنجه‌های خونی و وضعیت آنتی-اکسیدانی گوساله‌های شیرخوار شد.

استناد: موذنی‌زاده، محمدحسین توحیدی، آرمین؛ ژندی، مهدی؛ رضایزدی، کامران. (۱٤۰٤). تاثیر مکمل‌سازی شکل گلایسینات برخی از عناصر کم‌مصرف بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی و التهابی، پاسخ ایمنی و سلامت گوساله‌های شیرخوار. *پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۱۳(۱)،

DOI:

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

PROOF

مقدمه

عناصر کم‌نیاز برای رشد، ایمنی و سلامت حیوانات اهمیت دارند. مشخص شده که واکنش‌های بیش از حد اکسیداسیون، سامانه ایمنی حیوانات را تضعیف می‌کند (Richards و همکاران، ۲۰۱۰). بهترین راه برای جلوگیری از آسیب اکسیداتیو و محافظت از حیوانات، بهبود جیره با مکمل‌سازی مواد معدنی کمک‌کننده به وضعیت آنتی‌اکسیدانی است. روی، مس، آهن و منگنز از عناصر کمنیاز اصلی خوراک دام بوده و تأثیرات آنتی‌اکسیدانی عمده‌ای دارند (Spears، ۲۰۰۸). عنصر روی جزء ساختاری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بوده که رادیکال‌های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل و از آسیب به غشای گلبول‌های سفید جلوگیری می‌کند (Bonaventura و همکاران، ۲۰۱۵). همچنین، گزارش شده است که مکمل عنصر روی باعث کاهش پروکسیداسیون چربی‌ها و پاسخ ایمنی هومورال و با واسطه سلولی در گوساله‌ها می‌شود (Parashuramulu و همکاران، ۲۰۱۵).

عنصر مس جزئی از ساختار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز است. کمبود عنصر مس احتمالا با کاهش ایمنی ذاتی، شکست انتقال غیرفعال، کاهش تولید آنتی‌بادی و اختلال در ایمنی سلولی (Bonham و همکاران، ۲۰۰۲) باعث کاهش سلامت و عملکرد گوساله‌ها می‌شود (Enjalbert و همکاران، ۲۰۰۶). عنصر منگنز جزء ساختاری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز میتوکندریایی بوده و عملکرد مهمی در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط سلول‌های فاگوسیتی دارد (Tomlinson و همکاران، ۲۰۰۸). کمبود منگنز جیره باعث اختلال در پاسخ ایمنی هومورال می‌شود (Bazhora و همکاران، ۱۹۷٤).

آهن یک عنصر ضروری برای رشد طبیعی گوساله‌های تازه متولد شده بوده و شیر منبع فقیر آهن محسوب می‌شود (Atyabi و همکاران، ۲۰۰٦). عنصر آهن با سلامت و ایمنی گوساله‌ها مرتبط است (Heidarpour Bami و همکاران، ۲۰۰۸). کمبود عنصر آهن منجر به کم خونی و افزایش حساسیت به عفونت‌ها می‌شود (Harvey، ۲۰۱۱). در شرایط سوخت و ساز طبیعی، مقدار کمی از مواد معدنی کم‌نیاز توسط بدن جذب شده و مابقی به محیط دفع و منجر به تجمع زیستی این عناصر در خاک و تهدید بالقوه منابع آب می‌شود (Dove و Ewan، ۱۹۹۰). راه حل کاهش دفع مواد معدنی کم‌نیاز، استفاده از منابع با زیست‌فراهمی بالاتر این عناصر است. برخی مطالعات نشان می‌دهند که منابع معدنی کم‌نیاز آلی بهتر از منابع معدنی غیرآلی جذب می‌شوند (Spears، ۱۹۹٦). ترکیب آمینواسیدی عناصر کم‌مصرف (روی، مس، منگنز و کبالت) عملکرد رشد گوساله‌ها را بهبود بخشید (Kegly و همکاران، ۲۰۱۲ Dorton و همکاران، ۲۰۰٦). مکمل آلی عناصر کم‌مصرف روی، مس، آهن، منگنز، سلنیوم، کبالت و کروم سبب بهبود عملکرد رشد و سلامت گوساله‌های شیرخوار شد (Mousavi-Haghshenas و همکاران، ۲۰۲۲).

لیگاندهای کوچک مانند گلایسین ترکیبات بسیار پایداری با مواد معدنی ایجاد می‌کنند. این ترکیبات به اندازه کافی کوچک بوده و توسط گیرنده‌های پروتئینی در دستگاه گوارش شناسایی و جذب می‌شوند. این ویژگی یک نقطه کلیدی برای افزایش زیست‌فرآهمی این شکل از مواد معدنی کم‌مصرف در مقایسه با سایر مواردی است که مواد معدنی به اسیدهای آمینه، پپتیدها، کربوهیدرات‌ها یا اسیدها متصل می‌شوند (Kulkarni و همکاران، ۲۰۱۱). در مقایسه با متیونین، گلایسین پایداری و همگنی شیمیایی و فیزیکی بیشتری داشته و بنابراین عناصر کم‌مصرف در ترکیب

با اسیدآمینه گلایسین از دیواره روده بهتر جذب می‌شوند (Ao و همکاران، ۲۰۱۱؛ Feng و همکاران، ۲۰۱۰). با توجه به اینکه در بسیاری از مطالعات پیشین تأثیر کاربرد جداگانه شکل آلی عناصر کم‌نیاز بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی، عملکرد سلامت و رشد گوساله‌های شیرخوار اثبات شده است، به‌نظر می‌رسد مکمل‌سازی همزمان شکل گلایسینات عناصر کم‌نیاز مس، آهن، روی و منگنز باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد سلامت گوساله‌های شیرخوار خواهد شد. لذا، هدف از این تحقیق مکمل‌سازی شکل آلی عناصر مذکور شامل مس، آهن، روی و منگنز بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی و التهابی، پاسخ ایمنی، فراسنجه‌های خونی و سلامت گوساله‌های شیرخوار هلشتاین است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گاوداری تلیسه نمونه، شعبه حسن آباد، واقع در حسن آباد فشافویه استان تهران به مدت ٦۳ روز از بهمن ماه ۱۳۹۷ انجام شد. کلیه روش‌های آزمایشی بکار رفته در این مطالعه توسط کمیته رفاه حیوانات گروه علوم دامی دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران تأیید و تمام شیوه‌های پرورش با در نظر گرفتن کامل رفاه حیوانات انجام شد. تعداد ۲۰ راس گوساله سه روزه نژاد هلشتاین (۱۰ رأس نر، ۱۰ رأس ماده) با میانگین وزنی ٥±٤۰ کیلوگرم در قالب یک طرح کاملا تصادفی به مدت ٦۳ روز تا زمان از شیرگیری به دو گروه مساوی از مخلوط هر دو جنس تقسیم شدند. گوساله‌ها بلافاصله پس از تولد از مادرهای خود جدا شده و در جایگاه‌های انفرادی با بستر پوشیده از کلش نگهداری شدند. گوساله‌ها در ساعات اولیه پس از تولد ۲ کیلوگرم به ازای هر رأس و سپس دو بار در روز برای ٤۸ ساعت با آغوز تغذیه شدند. سپس گوساله‌ها با شیر کامل برای کل دوره آزمایش تغذیه شدند. شیر کامل تا دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شده و سپس تا دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد سرد و به گوساله‌ها خورانده شد. گوساله‌ها طی هفته اول زندگی روزانه چهار کیلوگرم طی دو وعده، هفته دوم پنج کیلوگرم طی دو وعده، هفته سوم شش کیلوگرم طی دو وعده، هفته چهارم تا ششم نه کیلوگرم طی دو وعده، هفته هفتم شش کیلوگرم طی دو وعده، هفته هشتم چهارکیلوگرم طی دو وعده و هفته نهم دو کیلوگرم طی یک وعده با شیر تغذیه شدند. گوساله‌ها از هفته اول زندگی تا پایان آزمایش دسترسی آزاد به آب و جیره آغازین (جدول ۱) داشتند. سلامت گوساله‌ها به صورت روزانه بررسی شد و گوساله‌های بیمار در صورت نیاز توسط دامپزشک تحت درمان قرار گرفتند. گوساله‌های هر دو جنس به یکی از دو گروه تیماری (۱۰ راس گوساله در هر تیمار) به شرح زیر اختصاص یافتند.

گروه شاهد: دریافت کننده شیر کامل به‌همراه پروتئین آب پنیر (۲ گرم پروتئین آب پنیر به ازای هر کیلوگرم شیر مصرفی) و جیره آغازین پایه به‌همراه ۳ درصد پروتئین آب پنیر به‌عنوان حامل مواد معدنی کم‌نیاز.

گروه تیمار: شیر به‌همراه ٦ قسمت در میلیون عنصر روی،۱/٥ قسمت در میلیون عنصر مس، ۱٥ قسمت در میلیون عنصر آهن و ٦ قسمت در میلیون عنصر منگنز و جیره آغازین پایه به‌همراه٤۰ قسمت در میلیون عنصر روی، ۱۰ قسمت در میلیون عنصر مس، ۱۰۰ قسمت در میلیون عنصر آهن و ٤۰ قسمت در میلیون عنصر منگز به شکل کیلات متصل به اسیدآمینه گلایسین. جیره آغازین پایه و اجزای تشکیل دهنده آن در جدول شماره ۱ آمده است:

جدول ۱- اجزای خوراک آغازین پایه [بر اساس درصد ماده خشک*

Table 1- Ingredients of basal starter feed (based on dry matter %)

Ingredients اجزا	percent درصد
Corn grain دانه ذرت	43.7
Soybean meal کنجاله سویا	30.0
Barley grain دانه جو	15.0
Corn gluten meal کنجاله گلوتن ذرت	1.0
Fish meal پودر ماهی	2.0
Wheat bran سبوس گندم	3.0
Full fat soy دانه سویای پرچرب اکسترود شده	2.0
Salt نمک	0.5
Sodium bicarbonate بیکربنات سدیم	1.0
Dicalcium phosphate دی‌کلسیم فسفات	0.5
Calcium carbonate کربنات کلسیم	0.5
Mineral premix* پیش مخلوط مواد معدنی	0.3
Vitamin premix* پیش مخلوط مواد ویتامینی	0.5
Chemical component ترکیبات شیمیایی (درصد)	
Dry matter ماده خشک	88.63
Crude protein پروتئین خام	22.00
ME (Mcal/kg) انرژی قابل متابولیسم	2.88
NDF الیاف محلول در شوینده خنثی	29.29
ADF الیاف محلول در شوینده اسیدی	11.62
Ether Extract عصاره اتری	3.85
Ash خاکستر	7.29

*: پیش مخلوط مواد معدنی شامل ۱۳۵۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۸۰۰۰ میلی‌گرم روی، ٤٥۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۷۲ میلی‌گرم سلنیوم و ۲۰۰ میلی‌گرم ید در هر کیلوگرم است.

Mineral premix contained per Kg: 13500 mg manganese, 18000 mg zinc, 4500 mg copper, 100 mg cobalt, 72 mg selenium, 200 mg iodine.

*: پیش مخلوط ویتامینی شامل ۱۰۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۲۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3 و ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E در هر کیلوگرم است.

Vitamin premix contained per Kg: 1000000 IU Vitamin A, 250000 IU Vitamin D3, 5000 IU Vitamin E.

خون‌گیری: جهت ارزیابی فراسنجه‌های خونی نمونه خون در روزهای صفر، ۲۱، ٤۲ و ٦۳ پس از تولد از طریق ورید گردنی با لوله‌های تحت خلا حاوی ماده ضد انعقاد هپارین جمع‌آوری شد. برای جداسازی سرم، نمونه‌های خون در g* ۱۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و سپس مایع رویی در لوله‌های ۲ میلی‌لیتری جداسازی و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند.

وضعیت آنتی‌اکسیدانی: فعالیت آنزیم کاتالاز، غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و مالون‌دی‌آلدئید و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت نوند سلامت و دستگاه میکروپلیت ریدر اتومات EON-BIOTEK, America اندازه‌گیری شد.

وضعیت التهابی: غلظت سرمی هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A با استفاده از کیت‌های اختصاصی الایزا (آزمایشگاه فناوری سنجش‌زیستی، شانگهای، چین) و

دستگاه میکروپلیت ریدر اتومات ,EON-BIOTEK America اندازه‌گیری شد.

ارزیابی پاسخ ایمنی سلولی: در پایان آزمایش (روز ٦۳)، پاسخ ایمنی سلولی با اندازه‌گیری تغییرات ضخامت پوست در پاسخ به تزریق داخل جلدی ۱ میلی‌گرم فیتوهماگلوتینین (شرکت سیگما، آمریکا)حل شده در ۱ میلی‌لیتر نرمال سالین تعیین شد (George و همکاران ۱۹۹۷).

ارزیابی پاسخ ایمنی هومورل (تیتر آنتی‌بادی علیه آلبومین سفیده تخم‌مرغ): پاسخ ایمنی هومورال با استفاده از آنتی‌ژن آلبومین سفیده تخم‌مرغ ارزیابی شد (Ward و همکاران، ۱۹۹۳). در روز ٤۲ آزمایش، ۲ میلی‌گرم آلبومین سفیده تخم‌مرغ (شرکت سیگما)، محلول در ۱ میلی‌لیتر محلول نرمال سالین و ۱ میلی‌لیتر ادجوانت ناقص فروند (مؤسسه سرم سازی رازی)، به صورت زیرجلدی به هر دو شانه گوساله‌ها تزریق شد. پانزده روز بعد ۲ میلی‌گرم آلبومین سفیده تخم‌مرغ محلول در نرمال سالین بدون ادجوانت مجدد تزریق شد. تیتر IgG علیه آلبومین سفیده تخم‌مرغ با روش الایزا در روزهای ٤۱، ٤۹ و ٦۳ تعیین شد.

ارزیابی خون‌شناسی:تعداد گلبول‌های سفید و گلبول-های قرمز، غلظت هموگلوبین، درصد هماتوکریت، حجم فشرده سلولی و درصد پلاکت، درصد لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و بازوفیل توسط دستگاه آنالایزر خون‌شناسی دامپزشکی (Exigo H400, Sweden) اندازه‌گیری شد.

فراسنجه‌های هورمونی: غلظت پلاسمایی هورمون‌های کورتیزول، تری یدوتیرونین (T3) و تیروکسین (T4) با استفاده از کیت‌های الایزا (شرکت پیشتاز طب) و دستگاه میکروپلیت ریدر اتومات EON-BIOTEK, America اندازه‌گیری شد.

وضعیت سلامت: نمره عمومی سلامت با استفاده از معادله Timmerman و همکاران، (۲۰۰۵) و امتیاز چشم، بینی و مدفوع روزانه در ساعت ۰۷:۳۰ با استفاده از روش سامانه امتیازدهی سلامت گوساله دانشگاه ویسکانسین-مدیسون ثبت شد (McGuirk و Peek، ۲۰۱٤). دمای مقعد بین ساعت ۱٤:۰۰ تا ۱۵:۰۰ با دماسنج دیجیتال استاندارد (Qingdao Dacon Trading Co. Ltd., Shandong, China) با دقت اندازه‌گیری ۰/۱ درجه سانتی‌گراد ثبت شد.

نمره عمومی سلامت= تعداد روزهای دوره − (۱× تعداد کل روزهای اسهالی) − (۲× تعداد درمان‌های فردی برای بیماری‌های گوارشی) − (۳× تعداد درمان‌های فردی برای بیماری‌های تنفسی) − (۲× تعداد درمان‌های فردی برای عفونت‌های دیگر غیر از گوارشی یا تنفسی) − (۲× تعداد درمان‌های آنتی‌بیوتیکی برای گله).

آنالیز آماری

پس از آزمون توزیع نرمال باقی‌مانده‌ها با استفاده از رویه Univariate در نرم‌افزار (SAS 9.1 (Inc., Cary, NC, USA 2001, Institute یک طرح کاملا تصادفی برای تجزیه و تحلیل داده‌های تکرار شونده در زمان با استفاده از رویه MIXED استفاده شد. از آزمون توکی برای مقایسه میانگین‌ها در سطح معنی-داری ۵ درصد استفاده و نتایج به صورت میانگین حداقل مربعات بیان شدند. مدل آماری و اجزای آن مطابق زیر بود:

$$Y_{ijkl}= \mu \pm A_i + B_j + b(W_i-W)_k + \delta(A)_{il} + (AB)_{ij} + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} متغیر وابسته، μ میانگین جمعیت، A_i اثر ثابت تیمار، B_j j مین روز نمونه‌گیری به‌عنوان عامل تکرار شونده، $b(W_i-W)_k$ اثر کواریت، $\delta(A)_{il}$ اثر تصادفی هر حیوان درون تیمار،$(AB)_{ij}$ اثر متقابل تیمار در زمان نمونه‌گیری، e_{ijkl} اثر باقی‌مانده‌ها با توزیع نرمال.

نتایج و بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد مکمل گلایسینات عناصر کم‌مصرف روی، مس، آهن و منگنز باعث افزایش معنی‌دار غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدیید سرم گوساله‌های شیرخوار شد (جدول ۲)، در حالی‌که فعالیت آنزیم کاتالاز و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی این گوساله‌ها روز ۲۱ آزمایش به شکل معنی‌داری نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (P< ۰/۰۵) (داده‌های منتشر نشده).

پراکسیداسیون بیش از حد چربی و تنش اکسیداتیو اثرات نامطلوبی بر پایداری سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی دارند. مالون‌دی‌آلدئید محصول نهایی فرآیندهای اکسیداسیون بوده و مقدار مالون‌دی‌آلدئید در بدن میزان پراکسیداسیون چربی‌ها را نشان می‌دهد (Li و همکاران، ۲۰۱۹). به‌طور کلی، مالون‌دی‌آلدئید به‌دنبال پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع تولید شده و نشانگر خوبی برای تنش اکسیداتیو و وضعیت آنتی‌اکسیدانی است (Samuel و همکاران، ۲۰۱۹). ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی شاخصی مهم و بیانگر حالات اکسیداسیون و احیای بدن است (Liu و همکاران، ۲۰۱۹) و رایج‌ترین نشانگر زیستی آنتی‌اکسیدانی بوده و نشان‌دهنده تمایل به حذف رادیکال‌های آزاد است (Aktas و همکاران، ۲۰۱۷). آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز آنزیم‌های مهمی هستند که محصولات پراکسیداسیون چربی مانند مالون‌دی‌آلدئید و گونه‌های فعال اکسیژن را از بین برده و از آسیب اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند (Bai و همکاران، ۲۰۱۷). سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان آنزیم اصلی آنتی‌اکسیدانی آنیون‌های سوپراکسید را به اکسیژن و H_2O_2 تبدیل کرده و آنزیم کاتالاز H_2O_2 را به آب تبدیل می‌کند (Wang و همکاران، ۲۰۱۹). عناصر روی، مس، آهن و منگنز کوفاکتورهای این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند. مطالعات قبلی گزارش کردند که عنصر روی در خوراک، غلظت مالون-دی‌آلدئید سرم نشخوارکنندگان را کاهش و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد (Alimohamady و همکاران، ۲۰۱۹؛ Wei و همکاران، ۲۰۱۹؛ Liu و همکاران، ۲۰۲۳). با افزودن روی متیونین به جیره غلظت مالون‌دی‌آلدئید سرم به‌طور خطی کاهش و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت (Li و همکاران، ۲۰۱۹). مکمل آلی عنصر منگنز سبب بهبود آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز سرم و وضعیت سلامت میش‌ها و بره‌های شیرخوار شد (Asadi و همکاران، ۲۰۲٤؛ Toghdory و همکاران، ۲۰۲۳). افزودن مکمل آلی عنصر آهن به شیر باعث افزایش غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پروکسیداز سرم بره‌های شیرخوار شد (Asadi و همکاران، ۲۰۲۲). مشخص شده که شکل آلی عناصر روی و مس باعث افزایش ساخت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌شوند (Sun و همکاران، ۲۰۱۲؛ Sahin و همکاران، ۲۰۰۵) مکمل عنصر روی سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم گوساله‌ها شد (Dresler و همکاران، ۲۰۱٦؛ Singh و Singha ۲۰۰۳).

جدول ۲: میانگین حداقل مربعات وضعیت آنتی‌اکسیدانی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 2- least square means of plasma antioxidant status in Holstein suckling calves

	تیمار		P-Value			SEM
	شاهد	آلی	تیمار	روز	تیمار*روز	
سوپراکسید دیسموتاز Superoxide Dismutase (Uml^{-1})	260.75^{b}	284.82^{a}	0.0031	0.3038	0.1050	4.321
کاتالاز Catalase ($nmol\ min^{-1}\ mL^{-1}$)	0.25	0.28	0.6002	0.0082	0.0269	0.027
ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی Total Antioxidant Capacity ($nmol\ ml^{-1}$)	1.93	2.08	0.1844	0.0001	0.0139	0.076
مالون‌دی‌آلدیید Malondialdehyde ($nmol\ ml^{-1}$)	0.112^{a}	0.095^{b}	<.0001	0.6213	0.0002	0.001

a-b حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است.

مکمل گلایسینات عناصر کم‌مصرف سبب کاهش قابل‌توجه غلظت سرم آمیلوییید A گوساله‌های شیرخوار شد (P=۰/۰۵) در حالی‌که غلظت هاپتوگلوبین پلاسما تحت تأثیر تیمار شکل آلی عناصر کم‌مصرف قرار نگرفت (جدول ۳).

سرم آمیلوئید A یکی از پروتئین‌های اصلی فاز حاد است که در کبد بیان شده و عمدتاً در پلاسما به بخش سوم لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا متصل می‌شود (Malle و De Beer، ۱۹۹٦). محرک‌های التهابی مانند عفونت و آسیب بافتی به‌طور چشمگیری بیان کبدی آن را افزایش می‌دهند (McAdam و Sipe، ۱۹۷٦؛ De Beer و همکاران، ۱۹۸۲). کمبود عنصر روی تولید سرم آمیلوئید A را افزایش می‌دهد (Liu و همکاران، ۲۰۱٤).

عناصر کم‌مصرف مانند روی، مس، آهن و منگنز در حفظ هموستاز اکسیداسیون و احیا و عملکرد سامانه ایمنی نقش مهمی داشته و تغییر در وضعیت این عناصر منجر به پاسخ‌های التهابی و تنش اکسیداتیو می‌شود (Nair و همکاران، ۲۰۱۰). کمبود و بیش از حد عنصر مس باعث تنش اکسیداتیو و التهاب مزمن می‌شود (Spee و همکاران، ۲۰۰۵). اختلال در هموستاز عناصر کم‌مصرف پلاسما بر وضعیت تنش اکسیداتیو، التهاب و پاسخ‌های ایمنی تأثیر می‌گذارد. وضعیت تحت بهینه عنصر روی به‌طور معمول با بسیاری از بیماری‌های التهابی همراه است (Devirgiliis و همکاران، ۲۰۰۷). افزایش تنش اکسیداتیو باعث شروع و تقویت التهاب شده و نقش مهمی در بیماری‌های التهابی دارد. عنصر روی نقش پیشگیرانه‌ای در برابر تشکیل رادیکال‌های آزاد داشته و از ساختارهای زیستی در برابر آسیب طی فرآیندهای التهابی محافظت می‌کند (Powell، ۲۰۰۰؛ Tapiero و Tew، ۲۰۰۳؛ Stefanidou و همکاران، ۲۰۰٦؛ Chasapis و همکاران، ۲۰۱۲). عناصر کم مصرف باعث افزایش مقدار ایمونوگلوبولین و سیتوکین‌های ضد التهابی در پاسخ التهابی بدن و کاهش سطح بیان سیتوکین‌های التهابی در بافت شده و نقش مهمی در تثبیت سامانه دفاعی ایمنی ایفا می‌کند (Manangi و همکاران، ۲۰۱۵؛ Jarosz و همکاران، ۲۰۱۷؛ Pan و همکاران، ۲۰۱۸).

Caramalac و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که تزریق عناصر کم‌مصرف روی، منگنز، مس و سلنیوم به تلیسه‌ها نسبت به گروه شاهد سبب تغییر در غلظت هاپتوگلوبین پلاسما نشد در حالی‌که Arthington و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که ۷ روز پس از تزریق عناصر کم‌مصرف به تلیسه‌ها نسبت به گروه شاهد غلظت هاپتوگلوبین پلاسما افزایش یافت.

جدول ۳- میانگین حداقل مربعات وضعیت التهابی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 3- least square means of plasma antioxidant status in Holstein suckling calves

	تیمار		P-Value			SEM
	شاهد	آلی	تیمار	روز	تیمار*روز	
سرم آمیلوییدA Serum amyloid A (µg/ml)	13.54	11.51	0.0551	0.0306	0.1732	0.459
هاپتوگلوبین Haptoglobin (µg/ml)	63.66	64.54	0.8329	0.7316	0.7944	2.641

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مکمل گلایسینات عناصر کم‌مصرف بر پاسخ ایمنی سلولی و هومورال تأثیری نداشت (جدول ٤). عناصر کم‌مصرف عملکردهای ویژه‌ای در پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی حیوان داشته (Smart و همکاران، ۱۹۸۱) و مکمل کافی این عناصر به‌ویژه در حیوانات تحت تنش، برای ایجاد ایمنی محافظتی حیاتی است. نیازهای متابولیکی حیوانات طی تنش افزایش یافته و منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود. تنش اکسیداتیو باعث عدم تعادل بین تولید و حذف مواد پیش‌اکسیدانی معروف به گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. رادیکال‌های آزاد با پراکسیداسیون چربی‌های غشا (Spears و Weiss، ۲۰۰۸) آسیب سلولی قابل توجهی ایجاد می‌کنند. غشای پلاسمایی گلبول‌های سفید حاوی اسیدهای چرب فراوانی بوده و به تنش اکسیداتیو حساس است. این فرآیند عملکرد سامانه ایمنی را مختل کرده و حساسیت حیوان به بیماری‌ها را افزایش می‌دهد. عناصر کم‌مصرف نظیر روی، مس، آهن و منگنز اجزای ساختاری آنزیم‌هایی هستند که گونه‌های فعال اکسیژن را خنثی کرده و مکمل این عناصر آثار منفی تنش بر سامانه ایمنی را به حداقل می‌رساند. مطابق با نتایج تحقیق حاضر برخی مطالعات گزارش دادند که مکمل آلی و غیرآلی عنصر روی باعث بهبود وضعیت ایمنی گوساله‌ها و تلیسه‌ها نشد (Kincaid و همکاران ۱۹۹۷؛ Spears و Kegley، ۲۰۰۲). Palomares و همکاران (۲۰۱٦) افزایش تیتر آنتی‌بادی علیه هرپس ویروس ۱ گاوی[1] در گوساله‌های دریافت کننده عناصر کم‌مصرف نسبت به گروه شاهد مشاهده نکردند. برخی مطالعات اثر مثبت مکمل عناصر روی و مس بر پاسخ ایمنی بره‌ها و گاوها را گزارش کردند (Droke و همکاران، ۱۹۹۸؛ Dang و همکاران، ۲۰۱۳). Dresler و همکاران (۲۰۱٦) گزارش دادند که مکمل روی متیونین سبب افزایش غلظت ایمونوگلوبولین‌های سرم گوساله‌ها شد. میزان تیتر آنتی بادی (به ترتیب علیه گلبول قرمز خوک و هرپس ویروس ۱ گاوی) در تلیسه‌های دریافت کننده عناصر کم‌مصرف مس، روی، منگنز و سلنیوم نسبت به گروه شاهدافزایش یافت (Arthington و همکاران، ۲۰۱٤؛ Arthington و Havenga، ۲۰۱۲). ترکیب و منبع متفاوت عناصر مورد استفاده و آزمایش‌های متفاوت پاسخ ایمنی و سن متفاوت دام‌ها می‌تواند علت احتمالی نتایج متناقض نسبت به پژوهش حاضر باشد.

[1] Bovine Herpesvirus 1

جدول ٤- میانگین حداقل مربعات عملکرد ایمنی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 4- least square means of immune performance in Holstein suckling calves

	تیمار		P-Value			SEM
	شاهد	آلی	تیمار	روز	تیمار*روز	
فیتوهماگلوتنین Phytohemagglutinin (mm)	7.87	7.82	0.9028	<.0001	0.9507	0.321
اووآلبومین Ovo albumin (OD)	0.47	0.51	0.4009	<.0001	0.9270	0.027

در گوساله‌های دریافت کننده مکمل گلایسینات عناصر کم‌مصرف در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز، مقدار هموگلوبین، درصد هماتوکریت و نوتروفیل و کاهش درصد لنفوسیت مشاهده شد (جدول ۵).

پیش‌سازهای گلبول قرمز در مغز استخوان برای ساخت هموگلوبین نیاز به استفاده از مقادیر زیادی آهن از خون دارند تا نیازهای رشد سریع حیوانات را برآورده کنند (Lipiński و همکاران، ۲۰۱۰). Xie و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند که حدود شصت تا هشتاد درصد آهن موجود در بدن حیوانات برای ساخت هموگلوبین و گلبول‌های قرمز استفاده می‌شود. بنابراین، محققان معمولاً از سطح هموگلوبین به‌عنوان یک شاخص قابل اعتماد برای انعکاس وضعیت آهن موجود در بدن حیوانات استفاده می‌کنند (Shi و همکاران، ۲۰۱۵). علاوه‌بر این، هماتوکریت و گلبول‌های قرمز خون ارتباط نزدیکی با هموگلوبین داشته و به‌عنوان نشانگر برای ارزیابی پاسخ‌های زیستی به آهن استفاده می‌شوند (Tako و همکاران، ۲۰۱۰). Toghdory و همکاران (۲۰۲۳) مشاهده کردند مکمل آلی عنصر منگنز باعث بهبود فراسنجه‌های خون‌شناسی میش‌ها و بره‌های شیرخوار شد. عنصر مس برای تولید گلبول‌های قرمز ضروری است. کمبود مس با کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین همراه است (Sharma و همکاران، ۲۰۰۵). احتمالاً در این مورد کمبود آهن نسبت به کمبود مس عامل ثانویه است، زیرا جذب روده‌ای و انتقال کبدی آهن به آنزیم‌های حاوی مس وابسته است (Meyer و همکاران، ۲۰۰۱). کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گلبول‌های قرمز نیز در ایجاد تغییرات خونی مؤثر است (Sharma و همکاران، ۲۰۰۵). کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز باعث آسیب اکسیداتیو به گلبول‌های قرمز شده و نیمه عمر آنها را کاهش می‌دهد (Razavi و همکاران، ۲۰۱۱) و حتی فعالیت بیگانه خواری و هضم و تعداد گلبول‌های سفید را کاهش می‌دهد (Sharma و همکاران، ۲۰۰۵). Sharma و همکاران (۲۰۰۳) در خون حیوانات با کمبود مواد معدنی سطح پایین هموگلوبین را گزارش کردند. Saba و همکاران (۱۹۹۹) پس از کاربرد مکمل‌های معدنی افزایش قابل‌توجه در سطح هموگلوبین خون گوساله‌ها را گزارش کردند. مطالعات متعددی نشان دادند که مکمل آهن باعث بهبود فراسنجه‌های خونی گوساله‌ها می‌شود (Mohri و همکاران، ۲۰۰٤). Männer و همکاران (۲۰۰٦) گزارش کردند که مکمل گلایسینات عناصر روی، مس، آهن و منگنز نسبت به گروه شاهد باعث افزایش غلظت هموگلوبین خون خوک‌ها شد.

بخش بزرگی از گلبول‌های سفید در پستانداران را نوتروفیل‌ها تشکیل می‌دهند. نوتروفیل‌ها اولین سلول‌های ایمنی هستند که در محل‌های عفونت و یا

التهاب به کار گرفته می‌شوند. نوتروفیل‌ها اولین خط دفاعی در برابر عفونت‌ها، آسیب بافتی و حمله انگل‌ها و پاسخ التهابی در برابر اجسام خارجی هستند. تیمولین یک هورمون وابسته به عنصر روی است که برای بلوغ لنفوسیت‌های T ضروری بوده (Dardenne، ۲۰۰۰) و کمبود روی باعث مرگ برنامه ریزی شده سلول‌های لنفوئیدی و کاهش تعداد کل گلبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها می‌شود (Someya و همکاران ۲۰۰۷). Akbari و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند که افزودن عنصر روی به جیره پایه سبب افزایش لنفوسیت‌های طیور شد.

جدول ۵- میانگین حداقل مربعات فراسنجه‌های خون‌شناسی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 5- least square means of hematological parameters in Holstein suckling calves

	تیمار		P-Value		SEM
	شاهد	آلی	تیمار	روز	تیمار*روز
گلبول‌های قرمز Red blood cells ($10^{12}mL^{-1}$)	8.11^{b}	9.05^{a}	0.0227	<.0001	0.0998	0.238
هموگلوبین Hemoglobin (gdL^{-1})	10.74^{b}	12.54^{a}	0.0004	<.0001	0.0004	0.241
هماتوکریت Hematocrit (%)	36.19^{b}	42.18^{a}	<.0001	0.0068	0.0002	0.678
گلبول‌های سفید White blood cells ($10^{13}mL^{-1}$)	9.27	9.03	0.6416	0.4298	0.6111	0.3466
پلاکت Platelet ($10^{3}mL^{-1}$)	207.13	206.59	0.8503	<.0001	0.3824	1.8261
حجم فشرده سلولی Packed cell volume (%)	32.03	31.45	0.4785	0.2461	0.8317	0.517
لنفوسیت Lymphocyte (%)	34.06^{a}	30.43^{b}	0.0001	<.0001	0.0002	0.425
مونوسیت Monocyte (%)	0.66	0.60	0.2586	<.0001	0.4712	0.036
نوتروفیل Neutrophil (%)	65.17^{b}	67.43^{a}	0.0171	<.0001	0.0813	0.540
ائوزینوفیل Eosinophil (%)	0.50	0.48	0.7716	<.0001	0.3750	0.024

a-bحروف غیرمشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مکمل گلایسینات عناصر کم‌مصرف سبب افزایش قابل‌توجه غلظت تری‌یدوتایرونین پلاسمای گوساله‌های شیرخوار شد (جدول ٦). تری‌یدوتایرونین فعال‌ترین هورمون تیروییدی است. تولید و متابولیسم هورمون‌های تیروییدی به عناصری نظیر آهن، مس و روی وابسته است. سوخت و ساز اسیدآمینه تایروزین برای تولید هورمون‌های تیروییدی وابسته به عنصر مس بوده و همچنین کمبود این عنصر باعث مهار ساخت فاکتور آزادکننده هورمون‌های تیروییدی می‌شود (Hess و Zimmermann، ۲۰۰٤). مکمل خوراکی آهن غلظت هورمون تری‌یدوتایرونین خون گوساله‌ها را افزایش داد (Eisa و Elgebaly، ۲۰۱۰). کمبود عنصر آهن با تغییر فعالیت آنزیم دیودیناز ۵

PROOF

کبدی تبدیل تیروکسین به تری‌یدوتایرونین را مختل می‌کند (Zimmermann، ۲۰۰٦) همچنین تیروییدپروکسیداز آنزیم حاوی هم بوده و دو مرحله ابتدایی ساخت هورمون‌های تیروییدی را تسریع می‌کند.

جدول ٦- میانگین حداقل مربعات غلظت هورمونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 6- least square means of plasma hormones concentration in Holstein suckling calves

SEM	P-Value			تیمار		
	تیمار*روز	روز	تیمار	آلی	شاهد	
0.081	0.7814	<.0001	0.1195	2.28	2.09	تری‌یدوتایرونین Triiodothyronine (ng ml^{-1})
0.419	0.5950	<.0001	0.6729	10.45	10.19	تیروکسین Thyroxine (ng ml^{-1})
0.122	0.646	<.0001	0.8987	2.18	2.21	کورتیزول (قسمت در میلیون) Cortisol (ppm)

جدول ۷- میانگین حداقل مربعات وضعیت سلامت در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 7- least square means of health status in Holstein suckling calves

SEM	P-value	تیمار	شاهد	
0.713	0.6475	18.50	18.03	نمره سلامت عمومی General health score
0.005	0.0117	0.02^{b}	0.09^{a}	امتیاز چشم Eye score
0.017	0.4418	0.42	0.49	امتیاز بینی Nasal score
0.013	0.6215	0.21	0.18	امتیاز مدفوع Fecal score
0.025	0.0044	39.32^{a}	39.14^{b}	دمای مقعد (°C) Rectal temperature (°C)

a-b حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است.

مکمل مواد معدنی کم‌مصرف آلی با کاهش امتیاز چشم، وضعیت سلامت گوساله‌های شیرخوار را بهبود بخشید (جدول ۷). Mousavi-Haghshenas و همکاران (۲۰۲۲) گزارش دادند که مکمل آلی عناصر کم‌مصرف روی، مس، آهن، منگنز، سلنیوم، کبالت و کروم سبب کاهش نمره چشم گوساله‌های شیرخوار شد. تغذیه شکل آلی عنصر روی وضعیت ایمنی (غلظت ایمونوگلوبولین‌های A و G و M سرم) گوساله‌ها را بهبود بخشید (Chang و همکاران، ۲۰۲۰). اثرات بالقوه بهبود وضعیت سلامت عناصر کم‌مصرف آلی به زیست‌فرآهمی بالاتر این عناصر و اثرات مثبت آن بر پاسخ ایمنی از طریق مسیرهای آنتی‌اکسیدانی و حفظ یکپارچگی ساختاری اپیتلیوم در برابر عفونت‌ها ارتباط دارد (Nemec و همکاران، ۲۰۱۲؛ Prasad، ۲۰۱٤). Ma و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که مکمل روی-متیونین یکپارچگی سد مخاطی روده را بهبود می‌بخشد.

مکمل گلایسینات عناصر کم‌مصرف در مقایسه با گروه شاهد سبب افزایش دمای مقعدی گوساله‌های شیرخوار شد (جدول ۷). دمای مقعد به‌عنوان شاخص

PROOF

دمای مرکزی بدن استفاده می‌شود (Cummins و Rosenquist، ۱۹۸۰). هورمون‌های تیروئیدی برای سوخت و ساز، تکامل و تنظیم تولید گرما در بدن اهمیت دارند. احتمالا مکمل گلایسینات عناصر کم‌مصرف با افزایش قابل توجه هورمون تری‌یدوتایرونین باعث افزایش سوخت و ساز پایه و فعالیت ترموژنیک، و دمای بالاتر مقعدی در گوساله‌های شیرخوار شد. Ebrahimi و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که مکمل عالی عناصر کم‌مصرف سبب افزایش غلظت تری‌یدوتایرونین و دمای مقعدی گوساله‌های شیرخوار شد.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مکمل گلایسینات عناصر کم‌مصرف مس، آهن، روی و منگنز سبب بهبود برخی فراسنجه‌های مرتبط با خون‌شناسی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما، امتیاز چشم و دمای مقعدی و همچنین کاهش قابل‌توجه غلظت سرم آمیلویید در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین شد که بیانگر بهبود وضعیت اکسیژن رسانی، تعادل اکسیدانی-آنتی‌اکسیدانی، وضعیت التهابی و سلامت حیوانات تحت آزمایش است.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در قالب طرح تحقیقاتی با شماره ٦/٤٥ /۷۱۰۸۰۱۷ و تحت قرارداد شماره ۹۷-٦٥٨٣٢٥٧ مورخ ۱۳۹۷/۰۹/۲۵ با شرکت بیوشم آلمان انجام شد.

منابع

Akbari, M. R., Kermanshahi, H., Moghaddam, H. N., Moussavi, A. H., & Afshari, J. T. (2008). Effects of wheat-soybean meal based diet supplementation with vitamin A, vitamin E and zinc on blood cells, organ weights and humoral immune response in broiler chickens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, *7*(3): 297-304.

Aksu, D. S., Aksu, T., Ozsoy, B., & Baytok, E. (2010). The effects of replacing inorganic with a lower level of organically complexed minerals (Cu, Zn and Mn) in broiler diets on lipid peroxidation and antioxidant defense systems. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,* 23(8), 1066-1072.

Aktas, M. S., Kandemir, F. M., Kirbas, A., Hanedan, B., & Aydin, M. A. (2017). Evaluation of oxidative stress in sheep infected with using total antioxidant capacity, total oxidant status, and malondialdehyde level. *Journal of Veterinary Research*, 61(2): 197-201.

Alimohamady, R., Aliarabi, H., Bruckmaier, R. M., & Christensen, R. G. (2019). Effect of different sources of supplemental zinc on performance, nutrient digestibility, and antioxidant enzyme activities in lambs. *Biological Trace Element Research,* 189: 75-84.

Ao, T., Pierce, J. L., Pescatore, A. J., Cantor, A. H., Dawson, K. A., Ford, M. J., & Paul, M. (2011). Effects of feeding different concentration and forms of zinc on the performance and tissue mineral status of broiler chicks. *British Poultry Science,* 52(4): 466-471.

Arthington, J. D., & Havenga, L. J. (2012). Effect of injectable trace minerals on the humoral immune response to multivalent vaccine administration in beef calves. *Journal of Animal Science,* 90(6): 1966-1971.

Arthington, J. D., Moriel, P., Martins, P. G. M. A., Lamb, G. C., & Havenga, L. J. (2014). Effects of trace mineral injections on measures of performance and trace mineral status of pre-and postweaned beef calves. *Journal of Animal Science,* 92(6): 2630-2640.

Asadi, M., Toghdory, A., Ghoorchi, T., & Hatami, M. (2024). The effect of maternal organic manganese supplementation on performance, immunological status, blood biochemical and antioxidant status of Afshari ewes and their newborn lambs in transition period. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 108(2), 493-499.

Asadi, M., Toghdory, A., Hatami, M., & Ghassemi Nejad, J. (2022). Milk supplemented with organic iron improves performance, blood hematology, iron metabolism parameters, biochemical and immunological parameters in suckling Dalagh lambs. *Animals*, 12(4), 510.

Atyabi, N., Gharagozloo, F., & Nassiri, S. M. (2006). The necessity of iron supplementation for normal development of commercially reared suckling calves. *Comparative Clinical Pathology,* 15: 165-168.

Bai, K., Huang, Q., Zhang, J., He, J., Zhang, L., & Wang, T. (2017). Supplemental effects of probiotic Bacillus subtilis fmbJ on growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens. *Poultry Science,* 96(1): 74-82.

Bazhora, I. I., Shtefan, E. E., & Timoshevskiĭ, V. N. (1974). The effect of microelements--copper, manganese and cobalt--on the antibody forming function of lymphoid tissue. *Mikrobiolohichnyi zhurnal,* 36(6): 771-776.

Bonaventura, P., Benedetti, G., Albarède, F., & Miossec, P. (2015). Zinc and its role in immunity and inflammation. *Autoimmunity reviews,* 14(4): 277-285.

Bonham, M., O'Connor, J. M., Hannigan, B. M., & Strain, J. J. (2002). The immune system as a physiological indicator of marginal copper status? *British Journal of Nutrition,* 87(5): 393-403.

Burkett, J. L., K. J. Stalder, W. J. Powers, K. Bregendahl, J. L. Pierce, T. J. Baas, T. Bailey, &.Shafer, B. L. (2009). Effect of inorganic and organic trace mineral supplementation on the performance, carcass characteristics, and fecal mineral excretion of phase-fed, grow-finish swine. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,* 22(9), 1279-1287.

Caramalac, L. S., Moriel, P., Ranches, J., Silva, G. M., & Arthington, J. D. (2021). Comparison of injectable trace minerals vs. adjuvant on measures of innate and humoral immune responses of beef heifers. *Livestock Science,* 251: 104665.

Chang, M. N., Wei, J. Y., Hao, L. Y., Ma, F. T., Li, H. Y., Zhao, S. G., & Sun, P. (2020). Effects of different types of zinc supplement on the growth, incidence of diarrhea, immune function, and rectal microbiota of newborn dairy calves. *Journal of Dairy Science,* 103(7): 6100-6113.

Chasapis, C. T., Loutsidou, A. C., Spiliopoulou, C. A., & Stefanidou, M. E. (2012). Zinc and human health: an update. *Archives of Toxicology,* 86: 521-534.

Cummins, J. M., & Rosenquist, B. D. (1980). Protection of calves against rhinovirus infection by nasal secretion interferon induced by infectious bovine rhinotracheitis virus. *American Journal of Veterinary Research,* 41(2): 161-165.

Dang, A.K., Prasad, S., De, K., Pal, S., Mukherjee, J., Sandeep, I.V.R., Mutoni, G., Pathan, M.M., Jamwal, M., Kapila, S. and Kapila, R. (2013). Effect of supplementation of vitamin E, copper and zinc on the in vitro phagocytic activity and lymphocyte proliferation index of peripartum Sahiwal (Bos indicus) cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,* 97(2): 315-321.

Dardenne, M. (2002). Zinc and immune function. *European Journal of Clinical Nutrition,* 56(3): S20-S23.

De Beer, F. C., Fagan, E., Hughes, G. R. V., Mallya, R. K., Lanham, J. G., & Pepys, M. B. (1982). Serum amyloid-A protein concentration in inflammatory diseases and its relationship to the incidence of reactive systemic amyloidosis. *The Lancet,* 320(8292): 231-234.

Devirgiliis, C., Zalewski, P. D., Perozzi, G., & Murgia, C. (2007). Zinc fluxes and zinc transporter genes in chronic diseases. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 622(1-2): 84-93.

Dorton, K. L., Engle, T. E., & Enns, R. M. (2006). Effects of trace mineral supplementation and source, 30 days post-weaning and 28 days post receiving, on performance and health of feeder cattle. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 19(10), 1450-1454.

Dove, C. R., & Ewan, R. C. (1990). Effect of excess dietary copper, iron or zinc on the tocopherol and selenium status of growing pigs. *Journal of Animal Science,* 68(8): 2407-2413.

Dresler, S., Illek, J., & Zeman, L. (2016). Effects of organic zinc supplementation in weaned calves. *Acta Veterinaria Brno,* 85(1): 49-54.

Droke, E. A., Gengelbach, G. P., & Spears, J. W. (1998). Influence of level and source (inorganic vs organic) of zinc supplementation on immune function in growing lambs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 11(2), 139-144.

Ebrahimi, M., Towhidi, A., & Nikkhah, A. (2009). Effect of organic selenium (Sel-Plex) on thermometabolism, blood chemical composition and weight gain in Holstein suckling calves. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 22(7), 984-992.

Eisa, A. M., & Elgebaly, L. S. (2010). Effect of ferrous sulphate on haematological, biochemical and immunological parameters in neonatal calves. *Veterinaria Italiana*, 46(3), 329-335.

Enjalbert, F., Lebreton, P., & Salat, O. (2006). Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: retrospective study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90(11-12), 459-466.

Feng, J. W. Q. M., Ma, W. Q., Niu, H. H., Wu, X. M., Wang, Y., & Feng, J. (2010). Effects of zinc glycine chelate on growth, hematological, and immunological characteristics in broilers. *Biological Trace Element Research*, 133, 203-211.

George, M. H., Nockels, C. F., Stanton, T. L., Johnson, B., Cole, N. A., & Brown, M. A. (1997). Effect of source and amount of zinc, copper, manganese, and cobalt fed to stressed heifers on feedlot performance and immune function. *The Professional Animal Scientist*, 13(2), 84-89.

Harvey, J. W. (2011). Veterinary hematology: a diagnostic guide and color atlas. *Elsevier Health Sciences*.

Heidarpour Bami, M., Mohri, M., Seifi, H. A., & Alavi Tabatabaee, A. A. (2008). Effects of parenteral supply of iron and copper on hematology, weight gain, and health in neonatal dairy calves. *Veterinary Research Communications*, 32, 553-561.

Hess, & Zimmermann. (2004). The effect of micronutrient deficiencies on iodine nutrition and thyroid metabolism. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 74(2), 103-115.

Jarosz, Ł., Marek, A., Grądzki, Z., Kwiecień, M., & Kalinowski, M. (2017). The effect of feed supplementation with zinc chelate and zinc sulphate on selected humoral and cell-mediated immune parameters and cytokine concentration in broiler chickens. *Research in Veterinary Science*, 112, 59-65.

Kegley, E. B., Pass, M. R., Moore, J. C., & Larson, C. K. (2012). Supplemental trace minerals (zinc, copper, manganese, and cobalt) as Availa-4 or inorganic sources for shipping-stressed beef cattle. *The Professional Animal Scientist*, 28(3), 313-318.

Kincaid, R. L., Chew, B. P., & Cronrath, J. D. (1997). Zinc oxide and amino acids as sources of dietary zinc for calves: effects on uptake and immunity. *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1381-1388.

Kulkarni, R. C., Shrivastava, H. P., Mandal, A. B., Deo, C., Deshpande, K. Y., Singh, R., & Bhanja, S. K. (2011). Assessment of growth performance, immune response and mineral retention in colour broilers as influenced by dietary iron. *Animal Nutrition and Feed Technology* (India).

Leeson, S., & Caston, L. (2008). Using minimal supplements of trace minerals as a method of reducing trace mineral content of poultry manure. *Animal Feed Science and Technology*, 142(3-4), 339-347.

Li, L. L., Gong, Y. J., Zhan, H. Q., Zheng, Y. X., & Zou, X. T. (2019). Effects of dietary Zn-methionine supplementation on the laying performance, egg quality, antioxidant capacity, and serum parameters of laying hens. *Poultry Science*, 98(2), 923-931.

Lipiński, P., Starzyński, R. R., Canonne-Hergaux, F., Tudek, B., Oliński, R., Kowalczyk, P., ... & Zabielski, R. (2010). Benefits and risks of iron supplementation in anemic neonatal pigs. *The American Journal of Pathology*, 177(3), 1233-1243.

Liu, B., Jiang, J., Lin, G., Yu, D., & Xiong, Y. L. (2019). Upregulation of antioxidant enzymes by organic mineral co-factors to improve oxidative stability and quality attributes of muscle from laying hens. *Food Research International*, 125, 108575.

Liu, J., Ma, F., Degen, A., & Sun, P. (2023). The effects of zinc supplementation on growth, diarrhea, antioxidant capacity, and immune function in Holstein dairy calves. *Animals*, 13(15), 2493.

Liu, M. J., Bao, S., Napolitano, J. R., Burris, D. L., Yu, L., Tridandapani, S., & Knoell, D. L. (2014). Zinc regulates the acute phase response and serum amyloid A production in response to sepsis through JAK-STAT3 signaling. *PloS one*, 9(4), e94934.

Ma, F. T., Wo, Y. Q. L., Shan, Q., Wei, J. Y., Zhao, S. G., & Sun, P. (2020). Zinc-methionine acts as an anti-diarrheal agent by protecting the intestinal epithelial barrier in postnatal Holstein dairy calves. *Animal Feed Science and Technology*, 270, 114686.

Ma, Y., Huang, Q., Lv, M., Wu, Z., Xie, Z., Han, X., & Wang, Y. (2014). Chitosan-Zn chelate increases antioxidant enzyme activity and improves immune function in weaned piglets. *Biological Trace Element Research*, 158, 45-50.

Ma, W. Q., Sun, H., Zhou, Y., Wu, J., & Feng, J. (2012). Effects of iron glycine chelate on growth, tissue mineral concentrations, fecal mineral excretion, and liver antioxidant enzyme activities in broilers. *Biological Trace Element Research*, 149, 204-211.

Malle, E. D. B. F., & De Beer, F. C. (1996). Human serum amyloid A (SAA) protein: a prominent acute-phase reactant for clinical practice. *European Journal of Clinical Investigation*, 26(6), 427-435.

Manangi, M. K., Vazques-Anon, M., Richards, J. D., Carter, S., & Knight, C. D. (2015). The impact of feeding supplemental chelated trace minerals on shell quality, tibia breaking strength, and immune response in laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 24(3), 316-326.

McAdam, K. P., & Sipe, J. D. (1976). Murine model for human secondary amyloidosis: genetic variability of the acute-phase serum protein SAA response to endotoxins and casein. *The Journal of Experimental Medicine*, 144(4), 1121-1127.

McGuirk, S. M., & Peek, S. F. (2014). Timely diagnosis of dairy calf respiratory disease using a standardized scoring system. *Animal Health Research Reviews*, 15(2), 145-147.

Meyer, L. A., Durley, A. P., Prohaska, J. R., & Harris, Z. L. (2001). Copper transport and metabolism are normal in aceruloplasminemic mice. Journal of Biological Chemistry, 276(39), 36857-36861.

Mohri, M., Sarrafzadeh, F., Seifi, H. A., & Farzaneh, N. (2004). Effects of oral iron supplementation on some haematological parameters and iron biochemistry in neonatal dairy calves. *Comparative Clinical Pathology*, 13, 39-42.

Mousavi-Haghshenas, M. A., Hashemzadeh, F., Ghorbani, G. R., Ghasemi, E., Rafiee, H., & Ghaffari, M. H. (2022). Trace minerals source in calf starters interacts with birth weights to affect growth performance. *Scientific Reports*, 12(1), 18763.

Nair, H. B., Sung, B., Yadav, V. R., Kannappan, R., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Delivery of antiinflammatory nutraceuticals by nanoparticles for the prevention and treatment of cancer. *Biochemical Pharmacology*, 80(12), 1833-1843.

Nemec, L. M., Richards, J. D., Atwell, C. A., Diaz, D. E., Zanton, G. I., & Gressley, T. F. (2012). Immune responses in lactating Holstein cows supplemented with Cu, Mn, and Zn as sulfates or methionine hydroxy analogue chelates. *Journal of Dairy Science*, 95(8), 4568-4577.

Palomares, R.A., Hurley, D.J., Bittar, J.H.J., Saliki, J.T., Woolums, A.R., Moliere, F., Havenga, L.J., Norton, N.A., Clifton, S.J., Sigmund, A.B. & Barber, C.E. (2016). Effects of injectable trace minerals on humoral and cell-mediated immune responses to Bovine viral diarrhea virus, Bovine herpes virus 1 and Bovine respiratory syncytial virus following administration of a modified-live virus vaccine in dairy calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 178, 88-98.

Pan, S., Zhang, K., Ding, X., Wang, J., Peng, H., Zeng, Q., Xuan, Y., Su, Z., Wu, B. & Bai, S. (2018). Effect of high dietary manganese on the immune responses of broilers following oral Salmonella typhimurium inoculation. *Biological Trace Element Research*, 181, 347-360.

Parashuramulu, S., Nagalakshmi, D., Rao, D. S., Kumar, M. K., & Swain, P. S. (2015). Effect of zinc supplementation on antioxidant status and immune response in buffalo calves. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 15(2), 179-188.

Peters, J. C., & Mahan, D. C. (2008). Effects of dietary organic and inorganic trace mineral levels on sow reproductive performances and daily mineral intakes over six parities. *Journal of Animal Science*, 86(9), 2247-2260.

Powell, S. R. (2000). Zinc and health: Current status and future directions. *Journal of Nutrition*, 130, 1447-1454.

Prasad, A. S. (2014). Zinc: an antioxidant and anti-inflammatory agent: role of zinc in degenerative disorders of aging. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(4), 364-371.

Razavi, S. M., Nazifi, S., Bateni, M., & Rakhshandehroo, E. (2011). Alterations of erythrocyte antioxidant mechanisms: antioxidant enzymes, lipid peroxidation and serum trace elements associated with anemia in bovine tropical theileriosis. *Veterinary Parasitology*, 180(3-4), 209-214.

Richards, J. D., Zhao, J., Harrell, R. J., Atwell, C. A., & Dibner, J. J. (2010). Trace mineral nutrition in poultry and swine. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(11), 1527-1534.

Sahin, K., Smith, M. O., Onderci, M., Sahin, N., Gursu, M. F., & Kucuk, O. (2005). Supplementation of zinc from organic or inorganic source improves performance and antioxidant status of heat-distressed quail. *Poultry Science*, 84(6), 882-887.

Samuel, K. G., Wang, J., Yue, H. Y., Wu, S. G., Zhang, H. J., Duan, Z. Y., & Qi, G. H. (2017). Effects of dietary gallic acid supplementation on performance, antioxidant status, and jejunum intestinal morphology in broiler chicks. *Poultry Science*, 96(8), 2768-2775.

Sharma, M. C., Joshi, C., Pathak, N. N., & Kaur, H. (2005). Copper status and enzyme, hormone, vitamin and immune function in heifers. *Research in Veterinary Science*, 79(2), 113-123.

Sharma, M. C., Raju, S., Joshi, C., Kaur, H., & Varshney, V. P. (2003). Studies on serum micro-mineral, hormone and vitamin profile and its effect on production and therapeutic management of buffaloes in Haryana State of India. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 16(4), 519-528.

Shi, R., Liu, D., Sun, J., Jia, Y., & Zhang, P. (2015). Effect of replacing dietary FeSO4 with equal Fe-levelled iron glycine chelate on broiler chickens. *Czech Journal of Animal Sciences*, 60(2015), 5.

Singh, C., & Singha, S. P. S. (2003). Effect of zinc administration on the activities of some Zn-metallo enzymes in pre-ruminant buffalo calves. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 73(1).

Smart, M. E., Gudmundson, J., & Christensen, D. A. (1981). Trace mineral deficiencies in cattle: a review. *The Canadian Veterinary Journal*, 22(12), 372.

Someya, Y., Ichinose, T., Nomura, S., Kawashima, Y. U., Sugiyama, M., Tachiyashiki, K., & Imaizumi, K. (2007). Effects of zinc deficiency on the number of white blood cells in rats. A719-A719

Spears, J. W. (1989). Zinc methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers. *Journal of Animal Science*, 67(3), 835-843.

Spears, J. W. (1996). Organic trace minerals in ruminant nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, 58(1-2), 151-163.

Spears, J. W., & Kegley, E. B. (2002). Effect of zinc source (zinc oxide vs zinc proteinate) and level on performance, carcass characteristics, and immune response of growing and finishing steers. *Journal of Animal Science*, 80(10), 2747-2752.

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.

Spee, B., Mandigers, P.J., Arends, B., Bode, P., van den Ingh, T.S., Hoffmann, G., Rothuizen, J. & Penning, L.C. (2005). Differential expression of copper-associated and oxidative stress related proteins in a new variant of copper toxicosis in Doberman pinschers. *Comparative Hepatology*, 4, 1-13.

Stefanidou, M., Maravelias, C., Dona, A., & Spiliopoulou, C. (2006). Zinc: a multipurpose trace element. *Archives of Toxicology*, 80, 1-9.

Sun, Q., Guo, Y., Ma, S., Yuan, J., An, S., & Li, J. (2012). Dietary mineral sources altered lipid and antioxidant profiles in broiler breeders and posthatch growth of their offsprings. *Biological Trace Element Research*, 145, 318-324.

Tako, E. L. A. D., Rutzke, M. A., & Glahn, R. P. (2010). Using the domestic chicken (Gallus gallus) as an in vivo model for iron bioavailability. *Poultry Science*, 89(3), 514-521.

Tapiero, H., & Tew, K. D. (2003). Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57(9), 399-411.

Timmerman, H. M., Mulder, L., Everts, H., Van Espen, D. C., Van Der Wal, E., Klaassen, G., ... & Beynen, A. C. (2005). Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *Journal of Dairy Science*, 88(6), 2154-2165.

Toghdory, A., Asadi, M., Ghoorchi, T., & Hatami, M. (2023). Impacts of organic manganese supplementation on blood mineral, biochemical, and hematology in Afshari Ewes and their newborn lambs in the transition period. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 79, 127215.

Tomlinson, D. J., Socha, M. T., & DeFrain, J. M. (2008). Role of trace minerals in the immune system. In Proc. *Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop*. Grantville, PA (pp. 39-52).

Uhlar, C. M., & Whitehead, A. S. (1999). Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *European Journal of Biochemistry*, 265(2), 501-523.

Veum, T. L., Carlson, M. S., Wu, C. W., Bollinger, D. W., & Ellersieck, M. R. (2004). Copper proteinate in weanling pig diets for enhancing growth performance and reducing fecal copper excretion compared with copper sulfate. *Journal of Animal Science*, 82(4), 1062-1070.

Wang, G., Liu, L. J., Tao, W. J., Xiao, Z. P., Pei, X., Liu, B. J., ... & Ao, T. Y. (2019). Effects of replacing inorganic trace minerals with organic trace minerals on the production performance, blood profiles, and antioxidant status of broiler breeders. *Poultry Science*, 98(7), 2888-2895.

Ward, J.D., Spears, J.W., Kegley, E.B., 1993. Effect of copper level and source (copper lysine vs. copper sulfate) on copper status, performance, and immune response in growing steers fed diets with or without supplemental molybdenum and sulfur. *Journal of Animal Science*. 71, 2748–2755.

Wei, J., Ma, F., Hao, L., Shan, Q., & Sun, P. (2019). Effect of differing amounts of zinc oxide supplementation on the antioxidant status and zinc metabolism in newborn dairy calves. *Livestock Science*, 230, 103819.

Xie, D., Wen, M., Wu, B., Zhang, Z., Zhao, H., Liu, G., Chen, X., Tian, G., Cai, J. & Jia, G. (2019). Effect of iron supplementation on growth performance, hematological parameters, nutrient utilization, organ development, and Fe-containing enzyme activity in Pekin ducks. *Biological Trace Element Research*, 189, 538-547.

Zimmermann, M. B. (2006). The influence of iron status on iodine utilization and thyroid function. *Annual Review of Nutrition*., 26: 367-389.