Iranian Journal of Animal Science
Vol 49, No 2, Summer 2018 (267-284)
DOI: 10.22059/ijas.2018.250904.653610

علوم دامی ایران
دورۀ ۴۹، شمارۀ ۲، تابستان ۱۳۹۷ (ص ۲۸۴-۲۶۷)

تأثیر افزودن روی و مس به جیرۀ میش‌های آبستن در اواخر دورۀ آبستنی بر پروفیل مواد کانی خون و شیر، عملکرد رشد بره‌ها و برخی فراسنجه‌های خونی

لیلا چراغی مشعوف[۱]، حسن علی عربی[۲*]، عباس فرح آور[۳]، پویا زمانی[۲] و رضا علیمحمدی[٤]
۱، ۲، ۳ و ٤. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار، استادیار و دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۱۱/۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۳۰)

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی تأثیر افزودن روی و مس به جیرۀ میش‌های آبستن نژاد مهربان در اواخر دورۀ آبستنی بر رخ‌نمای (پروفیل) مواد کانی خون و شیر میش‌ها، عملکرد رشد بره‌های آن‌ها و برخی فراسنجه‌های سوخت‌وسازی (متابولیکی) و خون‌شناختی (هماتولوژی) بود. هفده رأس میش۳-٤ ساله، ٤٥روز پیش از زایمان به سه گروه تقسیم شدند. تیمارها شامل: ۱) جیرۀ پایۀ بدون مکمل روی و مس (حاوی ۱۸/۹۸ قسمت در میلیون یا پی‌پی‌ام روی و ۷/۵۱ پی‌پی‌ام مس)؛ ۲) جیرۀ پایه افزون بر ۳۰پی‌پی‌ام روی به‌صورت سولفات روی و ۳) جیرۀ پایه افزون بر ۳۰پی‌پی‌ام روی به‌صورت سولفات روی و ۸ پی‌پی‌ام مس به‌صورت سولفات مس بود. وزن تولد و وزن ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روزگی بره‌ها ثبت شد. در این مدت بره‌ها به همراه مادر نگهداری می‌شدند. خون‌گیری از میش‌ها در روزهای ٤٥-، ۰ و ۳۰+ زایش و از بره‌ها در سن ۱۰ و۲۰ روزگی به‌عمل آمد. نمونۀ شیر در روزهای ۰، ۱۵و ۳۰ پس از زایش گردآوری شد. افزودن روی و مس به جیره سبب افزایش غلظت روی و مس پلاسما(میش‌ها و بره‌ها) و شیر شد (P<۰/۰۵) اما غلظت آهن شیر و همچنین کلسیم، فسفر سرم بره‌ها تحت تأثیر قرار نگرفت (P>۰/۰۵). در بره‌های تیمار ۲ و ۳ نسبت به گروه شاهد، وزن بدن، افزایش وزن روزانه، شمار گلبول‌های قرمز خون، غلظت هموگلوبین، غلظت سرمی هورمون T_3، عنصر روی و آنزیم ALP افزایش یافت (P<۰/۰۵). غلظت گلوکز، کراتینین، پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، لاکتات دهیدروژناز، تری‌گلیسرید و کلسترول پلاسمای بره‌ها تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت (P>۰/۰۵). نتایج نشان داد، افزودن۳۰پی‌پی‌ام روی به جیرۀ میش‌های آبستن سبب افزایش غلظت روی پلاسما و شیر و درنهایت عملکرد رشد بره‌ها می‌شود.

واژه‌های کلیدی: سولفات روی و مس، فراسنجه‌های خونی، میش آبستن.

The effect of adding zinc and copper to diet of late-pregnant ewes on blood and milk minerals profile, lambs growth performance and some blood parameters

Leyla Cheraghi Mashoof[1], Hasan Aliarab[2*], Abbas Farahavar[3], Pouya Zamani[2] and Reza Alimohamady[4]
1, 2, 3, 4. Former M. Sc. Student, Associate Professor, Asistant Professor and Ph. D. Candidate, Department of Animal Science, Faculty of Agricultur, Bu-Ali sina University, Hamedan, Iran
(Received: Jan. 27, 2018 - Accepted: May 20, 2018)

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of zinc and copper adding to diet of late-pregnant Mehraban breed ewes, on blood and milk minerals profile, lambs growth performance and some blood parameters. Seventeen ewes with 3-4 years old, 45 days before delivery were divided into 3 groups. Treatments includes: treat1) basal diet without supplement (containing 18.98 ppm Zn and 7.51 ppm Cu); 2) basal diet+30 ppm Zn as zinc sulfate, and 3) basal diet+30 ppm zinc as zinc sulfate and 8 ppm Cu as copper sulfate. Lambs were weighed at birth and at 10, 20 and 30 days of age. Lambs were raised with their dams during the experimental period. Blood samples of ewes were collected at -45, 0 and +30 days of delivery and lambs at 10 and 20 days of age. Milk sample was collected at 0, 15, 30 days after delivery. Dietary supplementation of zinc and copper significantly increased plasma (ewes and lambs) and milk zinc and copper concentrations (P<0.05), however, milk iron and also serum Calcium and Phosphorus concentrations were not affected (P>0.05). In treat-2 and 3, lambs body weight, daily gain, red blood cells count, hemoglobin concentration, plasma T_3, zinc and ALP concentrations were significantly higher than control group (P<0.05). The concentrations of glucose, creatinine, total protein, albumin, globulin, lactate dehydrogenase, triglycerides, cholesterol were not affected by treatments (P>0.05). The results showed that adding 30 ppm zinc to pregnant ewes' diet result in increase plasma and milk zinc concentrations and finally lambs growth performance.

Keywords: Blood parameters, pregnant ewes, Zinc and Copper Sulfate.

* Corresponding author E-mail: h_aliarabi@yahoo.com

مقدمه

وضعیت عنصرهای کانی کمیاب در دام‌های تازه متولدشده به انتقال این عنصرها از مادر به جنین از طریق جفت در دوران جنینی و از طریق شیر و آغوز پس از تولد بستگی دارد (Kundu *et al*., 2014). تأمین ناکافی این عنصرها در فرایند آبستنی منجر به کمبود آن‌ها در جنین می‌شود و نتیجهٔ آن اختلال در رشد، تکامل شبکهٔ عصبی مرکزی، قلب و عروق، کالبد (اسکلت)، سوخت‌وساز (متابولیسم) جنین و کاهش توان سامانهٔ ایمنی پس از تولد است (Hostetler *et al*., 2003).

روی از جمله عنصرهای کمیابی است که برای رشد، تکامل و تمایز یاخته‌ای ضروری است. روی عامل کمکی (کوفاکتور) بیش از ۳۰۰ آنزیم بوده و در رشد، ساخت DNA، سامانهٔ ایمنی و دیگر کنش‌های یاخته‌ای دخالت دارد (Cole & Lifshitz, 2008). در بررسی‌های پیشین نشان داده شده است، کمبود روی در مادر هنگام آبستنی موجب عقب افتادن رشد درون رحمی جنین، افزایش احتمال سقط‌جنین، مرده‌زایی، زایمان زودرس و نقص در تکامل لولهٔ عصبی در جنین می‌شود (Graham *et al*., 1994). در نتایج پژوهشی، بهبود افزایش وزن و وزن نهایی در بزغاله‌هایی که مادر آن‌ها با روی تیمار شده بود مشاهده شد (Kundu *et al*., 2014). به‌طور همسان، گزارش‌هایی مبنی بر بهبود عملکرد دام‌ها در پاسخ به مکمل کردن جیره با عنصر روی وجود دارد (Mallaki *et al*., 2015; Aliarabi *et al*., 2015; Sobhanirad *et al*., 2015).

مس یک عنصر کمیاب ضروری در انسان و حیوان است که عامل کمکی بسیاری از آنزیم‌های اکسایش، احیاء (Redox) است. به‌عنوان مثال سرلوپلاسمین فراوان‌ترین آنزیم حاوی مس است که فعالیت اکسایشی (اکسیدانی) وابسته به مس دارد. مس به کمک سرلوپلاسمین، در جذب آهن از مخاط روده‌ای، برداشت آن از بافت‌ها و استفاده از آن در ساخت (سنتز) هموگلوبین و درنهایت خونسازی نقش مهمی ایفا می‌کند (Frieden, 1971). همچنین مس نقش مهمی در فرایندهای زیستی (بیولوژیکی) دیگری مانند تکامل سامانهٔ عصبی، قلبی-عروقی، سوخت‌وساز هورمون‌های تیروئیدی، سوخت‌وساز چربی، سامانهٔ ایمنی و توان پاداکسندگی (آنتی‌کسیدانی) دارد (Cerone *et al*., 2000). در نتایج بررسی‌های دیگری گزارش شده است، کمبود مس تأثیر منفی بسیار زیادی بر سلامت و رشد حیوان‌های جوان و در حال رشد می‌گذارد (Carlson, 2015). کمبود مس در حیوان آبستن ممکن است منجر به اختلال در تکامل سامانهٔ قلبی-عروقی و رخداد ناهنجاری‌های اسکلتی، عصبی و ایمنی در جنین درون رحم شود (Gambling *et al*., 2004).

روی اضافی جیره از جذب روده‌ای مس و انباشت آن در کبد جلوگیری کرده و انتقال آن را از جفت به جنین کاهش می‌دهد و منجر به بروز نشانه‌های بالینی می‌شود (Gonzalez *et al*., 2005). سازوکار پیشنهادی تأثیر روی بر سوخت‌وساز مس از طریق القاء ساخت متالوتیونین و مهار جذب مس است (Yuzbasiyan-Gurkan *et al*., 1992; Hatfield *et al*., 2001). غلظت بالای روی در جیرهٔ ساخت متالوتیونین را در یاخته‌های آنتروسیت روده تحریک می‌کند و میل ترکیبی شدید روی و مس با این پروتئین سبب کاهش غلظت این دو عنصر در خون می‌شود (NRC, 2001). بنابراین هنگام کاربرد میزان بالای روی در جیره توجه به رابطهٔ ناهمسازی (آنتاگونیستی) آن‌ها برای جلوگیری از بروز کمبود حاشیه‌ای یا شدید مس در گوسفند ضرورت دارد. در آزمایشی افزودن ۱۰ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) مس و ۲۰ و ۴۰ پی‌پی‌ام روی در جیرهٔ بره‌های نر مهربان سبب افزایش معنی‌داری در غلظت روی و مس پلاسما و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز شد (Aliarabi *et al*., 2011).

کمبود روی در خاک نواحی مختلف ایران گزارش شده است (Malakouti *et al*., 2002). در نتایج بررسی نشان داده شد، ۴۳ درصد از خاک‌های مورد بررسی در استان همدان از لحاظ روی و ۳ درصد از لحاظ مس کمبود دارند (Khavazi *et al*., 2006). گزارش‌هایی مبنی بر نشانه‌های بالینی کمبود مس از جمله عارضهٔ چشم عینکی در گوسفندان نژاد مهربان همدان وجود دارد (Aliarabi *et al*., 2011). همچنین، محققان در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، جیرهٔ پایهٔ

بره‌های مهربان که از علوفه‌های منطقهٔ همدان تهیه شده بود نیاز دام به عنصر روی را بنا بر جدول نیازهای غذایی NRC (2007) تأمین نمی‌کند و مکمل‌سازی این عنصر در جیره منجر به افزایش غلظت این عنصر در خون و بهبود عملکرد دام می‌شود (Fadayifar *et al*., 2012; Aliarabi *et al*., 2011). با توجه به اهمیت روی و مس در دورهٔ آبستنی و همچنین وجود رابطهٔ ناهمسازی بین این عنصرها، این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر افزودن همزمان عنصرهای روی و مس به جیرهٔ میش‌های در اواخر دورهٔ آبستنی بر رشد بره‌ها، رخ‌نمای (پروفیل) مواد کانی خون و شیر میش‌ها، فراسنجه‌های خون‌شناختی (هماتولوژی) و سوخت‌وسازی (متابولیکی) بره‌های متولدشدهٔ آن‌ها طراحی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در ایستگاه تحقیقاتی گروه علوم دامی دانشگاه بوعلی سینای همدان انجام شد. برای انجام این تحقیق از ۱۷ رأس میش آبستن نژاد مهربان با سن ۳ تا ۴ سال و شکم زایش ۲ و ۳ استفاده شد. به‌منظور کنترل زمان زایش، در فصل جفت‌گیری، چرخهٔ تولیدمثلی میش‌ها با استفاده از اسفنج پروژسترونی (گناسر، اسپانیا) و eCG[1] (گناسر، اسپانیا) همزمان شد و تا پایان ماه سوم آبستنی با یک جیرهٔ همسان تغذیه شد. در پایان ماه سوم آبستنی میش‌ها به جایگاه انفرادی (به ابعاد ۱۸۰×۱۱۰ سانتی‌متر) منتقل و تا ۳۰ روز پس از زایش با جیرهٔ پایه تغذیه شدند. ۴۵ روز پیش از زایش میش‌ها به‌صورت تصادفی در سه تیمار قرار گرفتند. تیمار شاهد ۵ رأس و تیمارهای مکمل‌سازی‌شده هرکدام ۶ رأس میش آبستن اختصاص یافت. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) جیرهٔ پایهٔ بدون افزودن مکمل روی و مس (حاوی ۱۸/۹۸ میلی‌گرم در کیلوگرم روی و ۷/۵۱ میلی‌گرم در کیلوگرم مس)؛ ۲) جیرهٔ پایه افزون بر میزان ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی به‌صورت سولفات روی و ۳) جیرهٔ پایه افزون بر میزان ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی به‌صورت سولفات روی و ۸ میلی‌گرم در کیلوگرم مس به‌صورت سولفات مس بود. خوراک روزانه در دو وعده (ساعت ۰۹:۰۰ و ۱۷:۰۰) در اختیار میش‌ها قرار می‌گرفت. اجزاء و ترکیب شیمیایی جیرهٔ پایه (جدول ۱) شامل یونجهٔ خشک (۳۳ درصد)، کاه گندم (۲۳ درصد)، دانهٔ جو (۳۹ درصد) و سبوس (۵ درصد) بود که بنابر جدول‌های نیازهای غذایی NRC (2007) تنظیم شد. دو هفته دورهٔ عادت‌پذیری در نظر گرفته شد. مکمل‌های مورد نظر به‌صورت محلول تهیه و روزانه همراه با بخشی از کنسانتره پیش از خوراک‌دهی نوبت صبح به مصرف دام می‌رسید. مصرف مکمل‌ها تا زمان زایش ادامه داشت، اما پس از زایش میش‌ها با همان ترکیب جیرهٔ پایه به مدت ۳۰ روز بدون دریافت مکمل تغذیه شدند. به‌طورکلی از ۱۷ رأس میش، ۲۲ رأس بره متولد شد که در گروه شاهد شش بره، در گروه روی به‌تنهایی هشت رأس، گروه مس به همراه روی هشت رأس، در گروه شاهد از شش برهٔ متولدشده چهار برهٔ نر و دو برهٔ ماده بود. در دو گروه دیگر شمار نر و ماده باهم برابر بودند. در گروه شاهد یک مورد از زایمان‌ها و در گروه روی به‌تنهایی و روی به همراه مس دو مورد از زایمان‌ها دوقلویی بودند. بره‌های متولدشده به همراه مادر درون محفظه‌های انفرادی نگهداری و به‌صورت آزاد به شیر مادر دسترسی داشتند.

خون‌گیری از میش‌ها ۴۵ روز پیش از زایش (۴۵-)، روز زایش (۰) و یک ماه پس از زایش (۳۰+) از طریق سیاهرگ وداج صورت گرفت. برای بررسی تغییرهای وزنی بره‌ها، افزون بر وزن روز تولد، در روزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰، با جدا کردن ۶ تا ۷ ساعته از مادر، وزن‌کشی شدند. خون‌گیری از بره‌ها نیز در روزهای ۱۰ و ۲۰ پس از زایش با جدا کردن ۶ تا ۷ ساعت از مادر انجام شد. خون‌گرفته شده در دو لولهٔ جداگانه یکی حاوی هپارین برای به دست آوردن پلاسما و دیگری بدون هپارین برای به دست آوردن سرم ریخته شد. پس از آن نمونه‌های خون به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ rpm سانتریفوژ شده، سپس پلاسما و سرم آن‌ها جدا شد. نمونه‌های شیر نیز در روز زایش، ۱۵ و ۳۰ پس از زایش از هر دو کاریته تهیه شد.

---

۱. گونادوتروپین جفت اسب‌سانان

نمونه‌های پلاسما، سرم و شیر تا زمان اندازه‌گیری فراسنجه‌ها، در دمای منفی ۲۰ درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند. از نمونه‌های پلاسما برای اندازه‌گیری غلظت برخی مواد کانی پلاسما (روی، مس، آهن) و از نمونه‌های سرم برای اندازه‌گیری غلظت کلسیم (Ca)، فسفر (P)، تری‌گلیسیرید (TG)، کلسترول (CHOL)، گلوکز، کراتینین، پروتئین کل، آلبومین، فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، کراتین فسفوکیناز (CPK)، لاکتات دهیدوژناز (LDH) و غلظت هورمون‌های تری‌یدوتیرونین (T_3) و تترایدوتیرونین (T_4) استفاده شد.

جدول ۱. اجزا و ترکیب شیمیایی جیرهٔ پایه

Table 1. Ingredients and nutrient composition of the basal diet

Nutrients	Feedstuff				Basal diet
	Alfalfa hay	Barley grain	Wheat bran	Wheat straw	
	33%	39%	5%	23%	
DM (%)	89.63	91.3	87.75	92.3	90.80
OM (%DM)	90.3	92.2	93.2	93.6	91.95
CP (%DM)	14.91	11.41	16.04	4.61	11.23
NDF (%DM)	48.8	21	52.2	57.8	40.19
ADF (%DM)	34.6	11.4	12.6	50.23	28.05
Calcium (ppm)	1.7	0.08	0.13	0.05	0.61
Phosphorus (ppm)	0.25	0.33	0.75	0.06	0.26
Zinc (ppm)	22	18.2	55.09	8.12	18.98
Copper (ppm)	10.38	5.06	15.1	5.90	7.51
Iron (ppm)	305	90.34	151.1	141.6	176.00
ME (Mcal/kg)	2.1	3	2.5	1.5	2.33

Metabolizable energy was calculated based on NRC (2007).

غلظت عنصرهای روی، مس و آهن پلاسمای خون به روش Rimbach *et al.* (1998) تعیین شد. به‌طور خلاصه در آغاز ۰/۴ میلی‌لیتر پلاسما با ۸ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۰/۳ نرمال هضم و غلظت عنصرهای مورد نظر با دستگاه جذب اتمی مدل (spectrAA220 Variant ساخت استرالیا) تعیین شد. غلظت عنصرهای کانی شیر و آغوز نیز به روش Westterma & Constabel (1982) تعیین شد. برای این منظور در آغاز ۴۰ میلی‌لیتر نمونه درون لوله‌های هضمی در دمای ۶۵ درجهٔ سلسیوس درون آون قرار داده شد تا آب آن به‌طور کامل تبخیر شود. سپس۱۰میلی‌لیتر اسید نیتریک ۱:۱ (به نسبت مساوی آب و اسید) به آن اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در آب با دمای ۹۵ درجهٔ سلسیوس گرما داده شدند. سپس به نمونهٔ سردشده ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ اضافه شد و ۳۰ دقیقه گرما داده شد. در ادامه ۲ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر و ۴ میلی‌لیتر آب‌اکسیژنهٔ ۳۰ درصد به لوله‌های آزمایش اضافه شد. پس از سرد شدن لوله‌های آزمایش ۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک غلیظ و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به لوله‌ها اضافه شد. پس از صاف کردن نمونه به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس غلظت عنصرهای مورد نظر با دستگاه جذب اتمی تعیین شد. غلظت Ca، P، TG، CHOL، گلوکز، کراتینین، پروتئین کل، آلبومین، فعالیت آنزیم‌های AST، ALP، ALT، CPK و LDH توسط کیت‌های ساخت شرکت پارس آزمون (پارس آزمون، ایران) بنابر دستورکار سازندهٔ کیت و توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر، مدل Varincary100) اندازه‌گیری شد. همچنین غلظت هورمون‌های تری‌یدوتیرونین (T_3) و تترایدوتیرونین (T_4) سرم با دستورکار کیت شرکت پیشتاز طب (ایران) به روش الایزا و به کمک دستگاه الایزا خوان (Bio-Tek ELX 808) اندازه‌گیری شد. کمترین غلظت قابل اندازه‌گیری برای T_4 (nmol/L) ۵/۱۵ بود. درصد ضریب تغییرها میان سنجش و درون سنجش برای T_4 به ترتیب کمتر از۷/۷ و۵/۸ درصد بود. کمترین غلظت قابل اندازه‌گیری برای T_3 (nmol/L) ۰/۱۵ بود. درصد ضریب تغییرات میان سنجش و درون سنجش برای T_3 به ترتیب کمتر از ۳/۸ و۸/۸ درصد بود.

به‌منظور اندازه‌گیری فراسنجه‌های خون‌شناختی (شمار گلبول‌های سفید، شمار گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، حجم میانگین گلبول قرمز، غلظت میانگین هموگلوبین در هر گلبول قرمز و وزن میانگین هموگلوبین در هر گلبول قرمز) خون گرفته‌شده در سن ۲۰ روزگی در لوله حاوی هپارین، بی‌درنگ به آزمایشگاه تشخیص پزشکی آراد همدان ارسال و به کمک دستگاه یاخته‌شمار خودکار (اتوماتیک Syfmex مدل NKX-21) شمار یاخته‌های خونی تعیین شد (Dezfoulian & Aliarabi, 2016).

آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی اجرا شد. فراسنجه‌های خونی، رخ‌نمای مواد کانی خون و عملکرد بره‌ها به‌صورت اندازه‌های تکرارشده در زمان به کمک مدل آماری زیر تجزیه شدند:

$Y_{ijkl} = \mu + T_i + S_j + D_k + T_i\times S_j + T_i\times D_k + S_j\times D_k + T_i\times S_j\times D_k + r(T_i\times S_j) + e_{ijkl}$

که Y_{ijkl}= هر یک از مشاهده‌ها؛ μ= اثر میانگین کلی؛ T_i= اثر تیمار iام؛ S_j= اثر جنس jام؛ D_k= اثر روز kام؛ $T_i\times S_j$= برهمکنش تیمار iام و جنس jام؛ $S_j\times D_k$= برهمکنش جنس jام و روز kام؛ $T_i\times S_j\times D_k$= برهمکنش تیمار iام، جنس jام و روز kام؛ $r(T_i\times S_j)$= اثر تکرار مرتب‌شده در تیمار i و جنس j، به‌عنوان خطای اصلی و e_{ijkl}= اثر باقی‌مانده هستند. داده‌های این صفات در روزهای مختلف به‌صورت جداگانه نیز با استفاده از مدل زیر تجزیه شدند:

$Y_{ijk} = \mu + T_i + S_j + T_i\times S_j + e_{ijk}$

که Y_{ijk}= هر یک از مشاهده‌ها؛ μ= اثر میانگین کلی؛ T_i= اثر تیمار iام؛ S_j= اثر جنس jام؛ $T_i\times S_j$= برهمکنش تیمار iام و جنس jام و e_{ijk}= اثر خطای آزمایشی هستند.

رخ‌نمای مواد کانی شیر و پلاسمای خون میش‌ها به‌صورت اندازه‌های تکرارشده در زمان توسط مدل آماری زیر تجزیه شدند.

$Y_{ijk} = \mu + T_i + D_j + T_i\times D_j + r(T_i) + e_{ijk}$

در رابطهٔ بالا Y_{ijk}= هر یک از مشاهده‌ها؛ μ= اثر میانگین کلی؛ T_i= اثر تیمار iام؛ D_j= اثر روز jام؛ $T_i\times D_j$= برهمکنش تیمار iام و جنس jام؛ $r(T_i)$= اثر تکرار مرتب‌شده در تیمار i به‌عنوان خطای اصلی و e_{ijk}= اثر باقی‌مانده یا خطای فرعی هستند. همچنین داده‌های این صفات در روزهای مختلف نیز به‌صورت جداگانه با استفاده از مدل زیر تجزیه شدند:

$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$

که Y_{ijkl}= هر یک از مشاهده‌ها؛ μ= اثر میانگین کلی؛ T_i= اثر تیمار iام؛ e_{ij}= اثر خطای آزمایشی هستند.

میانگین‌های کمترین مربعات (Least Square Means) با آزمون توکی-کرامر با سطح خطای ۰/۰۵ مقایسه شدند. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ویرایش ۹/۲ صورت گرفت، به‌گونه‌ای که اندازه‌های تکرارشده با رویهٔ Mixed و داده‌های زمان‌های مختلف با رویهٔ GLM تجزیه شدند.

نتایج و بحث

در کل دورهٔ آزمایش، وزن بدن بره‌های متولدشده از میش‌های گروه روی به‌تنهایی نسبت به گروه روی به همراه مس و گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (P<۰/۰۵). میانگین وزن تولد بره‌هایی که مادر آن‌ها روی به‌تنهایی و روی به همراه مس دریافت کرده بودند به ترتیب ۴/۲۸ و ۴/۲۰ کیلوگرم بود اگرچه نسبت به گروه شاهد (۳/۸۰ کیلوگرم) بالاتر بود، اما این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲). وزن ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روزگی بره‌ها در گروه‌های دریافت‌کنندهٔ مکمل، به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (P<۰/۰۵) اما بین تیمار روی به‌تنهایی با روی به همراه مس اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین افزایش وزن روزانهٔ بره‌های متولدشده در تیمارهای روی و مس (به غیر از افزایش وزن ۱۰ روز دوم) نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (جدول ۲؛ P<۰/۰۵).

در تأیید نتایج این تحقیق، در بررسی دیگری افزودن ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام اکسید روی به جیرهٔ پایهٔ بزهای آبستن (که حاوی ۲۲/۴ پی‌پی‌ام روی بود)، سبب بهبود افزایش وزن روزانه و وزن نهایی در بزغاله‌های آن‌ها شد (Kundu *et al*., 2014). به‌طور همسان، افزودن روی-متیونین (۴ گرم به ازای هر رأس در هر روز) به جیرهٔ پایهٔ میش‌ها در دورهٔ انتقال (که حاوی ۲۴ پی‌پی‌ام روی بود) باعث افزایش وزن روزانه و وزن از شیرگیری بره‌ها نسبت به گروه شاهد شد اگرچه تفاوت معنی‌داری در وزن تولد بره‌ها وجود نداشت (El-Nour *et al*., 2010). از سوی دیگر با اضافه کردن میزان ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام روی به جیرهٔ میش‌ها، وزن تولد بره‌ها آن‌ها تحت تأثیر مکمل قرار نگرفت اما وزن از شیرگیری بره‌ها در گروه‌های تیمارشده نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Abdel-Monem & El-Shahat, 2011). مشخص شده است، تأمین عنصر روی به میزان نیاز در تولید و ترشح هورمون‌های مؤثر در رشد بدن مانند هورمون رشد و عامل رشد و عامل رشد شبه انسولینی نوع-۱ (IGF-I) اثرگذار است (MacDonald, 2000). همچنین روی می‌تواند هورمون‌های تیروئیدی را که

نقش مهمی در رشد و نمو بدن دارند، تحت تأثیر قرار دهد. کمبود روی با کاهش کارایی گیرنده‌های T_3 همراه است و منجر به کاهش تأثیر هورمون‌های تیروئیدی می‌شود (Freake *et al*., 2001). منبع اصلی تأمین نیازهای روی بره‌های تازه متولدشده، روی موجود در شیر است که از جیرهٔ مادر تأمین می‌شود (Hermansen *et al*., 1995). در این تحقیق مصرف مکمل روی، سبب افزایش غلظت این عنصر در پلاسمای خون (جدول ۴) و شیر (جدول ۷) میش‌ها و درنهایت در پلاسمای خون بره‌ها (جدول ۲) شد. افزون بر آن، غلظت هورمون‌های تیروئیدی در سرم خون بره‌ها افزایش یافت (جدول ۳). افزودن روی به جیرهٔ مادر با انتقال به جنین (از طریق جفت) و نوزاد (از طریق شیر) بهبود عملکرد رشد بره‌ها را به همراه داشته است (Kundu *et al*., 2014). بنابراین، بهبود رشد بره‌های متولدشده از میش‌های دریافت‌کنندهٔ مکمل روی، قابل توجیه به نظر می‌رسد.

گوسفند به افزایش سطح مس در جیره بسیار حساس است و ایجاد مسمومیت می‌کند. به‌رغم این حساسیت، گوسفند به کمبود مس نیز حساس است (Hefnawy & El-khaiat, 2015). نتایج تحقیقات نشان داده است، روی اضافی جیرهٔ جذب روده‌ای مس را کاهش داده و از انباشت آن در کبد جلوگیری و انتقال مس را از جفت به جنین کاهش می‌دهد و منجر به بروز نشانه‌های بالینی می‌شود (Gonzalez *et al*., 2005). سازوکار پیشنهادی تأثیر روی بر سوخت‌وساز مس از طریق القاء ساخت متالوتیونین و مهار جذب مس است (Yuzbasiyan-Gurkan *et al*., 1992; Hatfield *et al*., 2001). غلظت بالای روی در جیره ساخت متالوتیونین را در یاخته‌های آنتروسیت روده تحریک می‌کند و میل ترکیبی شدید روی و مس با این پروتئین سبب کاهش غلظت این دو عنصر در خون می‌شود (NRC, 2001). بنابراین ممکن است هنگام افزودن مکمل روی به جیره کمبود مس رخ دهد. با توجه به اینکه روی با مس رابطهٔ ناهمسازی دارد، ممکن بود افزودن روی به جیره سبب کاهش جذب مس شود و تأثیر احتمالی مثبت روی را خنثی کند. بنابراین، در این پژوهش در تیمار سوم به همراه روی، به جیرهٔ مس نیز اضافه شد. در ضمن، افزودن روی به همراه مس و یا روی به‌تنهایی به جیرهٔ میش‌ها نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری سبب بهبود عملکرد رشد بره‌ها شد، اما افزودن روی به همراه مس به جیرهٔ میش‌ها نسبت به تیمار روی به‌تنهایی تأثیر معنی‌داری بر وزن تولد و عملکرد رشد بره‌های آن‌ها تا ۳۰ روزگی نداشت (جدول ۲).

شمار گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین در خون بره‌های که مادر آن‌ها مکمل‌های روی و مس دریافت کرده بودند، نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (P<۰/۰۵). اما تفاوت آماری معنی‌داری در بین تیمار روی و تیمار روی به همراه مس وجود نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۲. مقایسهٔ عملکرد رشد بره‌ها در تیمارهای مختلف تا سن ۳۰ روزگی[۱]

Table 2. Performance growth comparison for lambs in different treatments until 30 days of age

Item	Treatment			SEM	P-value[2]		
	Control	Zn	Zn + Cu		T	D	T×D
Birth weight (kg)	3.80	4.28	4.20	0.16	0.13		
Daily gain day 1-10 (g)	199.53[b]	231.37[a]	237.25[a]	9.41	0.03		
Body weight 10 day (kg)	5.79[b]	6.59[a]	6.58[a]	0.17	0.01		
Daily gain day 11-20 (g)	189.85	226.75	215.25	13.30	0.18		
Body weight day 20 (kg)	8.73[b]	8.86[a]	8.73[a]	0.21	<0.01		
Daily gain day 21-30 (g)	163.50[b]	192.12[a]	193.25[a]	6.67	0.01		
Body weight 30 day (kg)	9.33[b]	10.78[a]	10.66[a]	0.22	<0.01		
Total test daily gain (g)	185.77[b]	221.21[a]	214.01[a]	7.71	<0.01	<0.01	0.93
Total test body weight (kg)	5.77[a]	7.97[b]	6.12[a]	0.26	<0.01	<0.01	0.55

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۱. حرف‌های همسان در هر ستون از هر بخش نشان‌دهندهٔ تفاوت آماری غیر معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

۲. T: تیمار، D: روز، T×D: تیمار در روز.

SEM: Standard error of mean

1. Means with different lowercase letters in rows are significantly different (P<0/05).

2. T: treatment; D: day; T×D: Treatment×Day.

میانگین غلظت میانگین هموگلوبین در هر گلبول قرمز در تیمار روی به همراه مس نسبت به گروه شاهد از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت اما گرایش به افزایش مشاهده شد (P=۰/۱۰). افزودن روی و مس به جیرهٔ میش‌های آبستن تأثیر معنی‌داری بر دیگر فراسنجه‌های خون‌شناختی بره‌های آن‌ها نداشت (جدول ۳). همسان با این نتایج، افزایش معنی‌داری در غلظت هموگلوبین و شمار گلبول‌های قرمز در خوک‌های پرواری دریافت‌کنندهٔ ۸۴/۳ و ۴۰/۹ پی‌پی‌ام روی به‌صورت سولفات و روی- متیونین مشاهده نشد (Rupic *et al*., 1998). همچنین، در نتیجهٔ افزودن ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام روی به جیرهٔ بره‌های بلوچی، غلظت و میانگین هموگلوبین در هر گلبول قرمز به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (Sobhanirad *et al*., 2014). برخلاف نتایج این پژوهش، در بررسی دیگری به‌کار بردن میزان ۵۰۰ پی‌پی‌ام روی به‌صورت سولفات روی در جیرهٔ گاوهای هلشتاین تفاوت معنی‌داری در غلظت هموگلوبین خون و میانگین حجم هموگلوبین در هر گلبول قرمز نسبت به تیمار شاهد ایجاد نکرد (Sobhanirad & Naserian, 2012). همچنین، تفاوت معنی‌داری در غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت خون بره‌های دریافت‌کنندهٔ روی گزارش نشد (Aliarabi *et al*., 2015). افزون بر این، در بزغاله‌های در حال رشد (با سن ۳-۴ ماه) دریافت‌کنندهٔ ۴۰ پی‌پی‌ام روی به‌صورت سولفات روی و روی-متیونین تفاوتی در میزان هموگلوبین در گروه شاهد با سولفات روی مشاهده نشد. همچنین، تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه شاهد و روی-متیونین وجود داشت (Chavan *et al*., 2016). بنابراین، می‌توان علت تفاوت را به سن کمتر بره‌ها در این پژوهش (۲۰ روز)، نوع جیرهٔ دریافتی و میزان دریافت عنصرهای یادشده و نوع مکمل استفاده شده نسبت داد. در ارتباط با عنصر مس، پژوهشگران نیز در تحقیقی با تأمین دو سطح ۱۰ و ۲۰ پی‌پی‌ام مس به‌صورت سولفات مس در بره‌های پرواری، تغییری در شمار گلبول‌های قرمز مشاهده نکردند (Dezfoulian *et al*., 2012) که با نتایج این تحقیق (جدول ۳) همخوانی ندارد. همچنین این پژوهشگران در سطح ۱۰ پی‌پی‌ام مس تفاوت معنی‌داری را در غلظت هموگلوبین گزارش کردند که با نتایج ما همسو است. افزایش شمار گلبول‌های قرمز و به دنبال آن هموگلوبین در تیمارهای دریافت‌کنندهٔ مکمل می‌تواند به نقش روی و مس در ساخت و محافظت (نقش پاداکسندگی) از گلبول‌های قرمز و هموگلوبین مربوط باشد (Frieden, 1971; Akhtar *et al*., 2003).

جدول ۳. فراسنجه‌های خون‌شناختی خون و هورمون‌های تیروئیدی سرم بره‌ها در سن ۲۰ روزگی[1]

Table 3. Blood hematological parameters and serum thyroid hormones of lambs in 20 days of age

Item	Treatments				
	Control	Zn	Zn + Cu	SEM	P-value
RBC (10^6/ µL)	9.66^b	10.25^a	10.11^a	0.12	0.01
HGB (gr/dL)	9.63^b	10.08^a	10.07^a	0.33	0.03
HCT (%)	38.63	39.98	38.92	0.60	0.27
MCV (fL)	41.82	39.98	38.92	0.34	0.27
MCH (pg)	10.97	10.85	11.22	0.19	0.39
MCHC (g/dL)	25.52	25.47	26.60	0.39	0.10
T_3 (nmol/L)	10.71^b	11.24^{ab}	11.41^a	0.16	0.03
T_4 (nmol/L)	102.46	107.58	105.10	1.90	0.19
T_3/T_4	0.104	0.104	0.108	0.002	0.33

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۱. حرف‌های همسان در هر ستون از هر بخش نشان‌دهندهٔ تفاوت آماری غیر معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: Standard error of mean.

1. Means with different lowercase letters in rows are significantly different (P<0/05).

در بین تیمارها تفاوت آماری معنی‌داری از نظر غلظت T_4 و نسبت T_3 به T_4 در سرم خون ۲۰ روزگی بره‌ها مشاهده نشد (P>۰/۰۵؛ جدول ۳). اما بهبود معنی‌داری در غلظت T_3 در تیمار روی به همراه مس وجود داشت (p<۰/۰۵). آنزیم کربوکسی پپتیداز که وابسته به روی است در فرایند پس از ترجمهٔ هورمون آزادکنندهٔ تیروتروپین (TRH) دخالت دارد (Pekary *et al*., 1991). مشخص شده است، مس نیز نقش مهمی در سوخت‌وساز به‌ویژه تولید و جذب هورمون‌های تیروئیدی دارد به‌گونه‌ای که کمبود این عنصر به‌طور غیرمستقیم سبب اختلال در سوخت‌وساز ید شده و در نتیجهٔ آن تولید پروتئین‌های متصل شونده به ید (T_3 و T_4) در غدهٔ تیروئید کاهش می‌یابد (Aihara *et al*., 1984). همچنین کمبود مس باعث کاهش ترشح هیدروکسیلاز تیروزین و بتادوپامین در هیپوتالاموس می‌شود که منجر به مهار ساخت عامل

آزادکنندهٔ هورمون تیروئید می‌شود (Yatoo *et al*., 2013). بنابراین، می‌توان این‌گونه بیان کرد که افزودن روی و مس به جیرهٔ میش‌های آبستن سبب افزایش غلظت هورمون‌های تیروئیدی در بره‌های آن‌ها شد. اگرچه با تزریق ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ پی‌پی‌ام روی به موش‌های نر در حال رشد کاهش فعالیت هورمون‌های تیروئید در روز سوم پس از تزریق گزارش شد (Valipour Cheharda Cheric & Rafierad, 2015). همچنین، کاهش معنی‌داری در غلظت کل هورمون‌های تیروئیدی در بره‌های آنقوره و بره‌های نر مرینوس دریافت‌کنندهٔ ۲۵۰ پی‌پی‌ام روی به شکل سولفات روی به جیرهٔ پایه مشاهده شد (Kececi & Keskin, 2002) که با این تحقیق همسو نیست.

افزودن روی و مس به جیرهٔ میش‌ها در مدت ۴۵ روز آخر آبستنی افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) غلظت این عنصرها را در پلاسمای خون میش‌ها و بره‌ها به همراه داشت (جدول ۴). اگرچه غلظت مس پلاسمای میش‌ها در ۳۰ روز پس از زایش در تیمار روی به همراه مس تمایل به معنی‌داری داشت (P=۰/۰۵۷) همچنین غلظت روی پلاسما در کل دورهٔ آزمایش در تیمارهای دریافت‌کنندهٔ مکمل گرایش به معنی‌داری داشت (P=۰/۰۶). در بره‌ها نیز بیشترین میزان غلظت روی پلاسما در تیمار روی به‌تنهایی و کمترین میزان آن در گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). از سوی دیگر غلظت مس پلاسمای بره‌ها در تیمار دریافت‌کنندهٔ روی به همراه مس نسبت به تیمار روی به‌تنهایی و شاهد افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). با این حال تفاوت معنی‌داری در غلظت آهن پلاسما، کلسیم و فسفر سرم خون بره‌ها در بین تیمارها مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نتایج این پژوهش با نتایج بررسی دیگری در مورد بره‌های نر مهربان در حال رشد دریافت‌کنندهٔ مکمل روی (Fadayifar *et al*., 2012) و دریافت‌کنندهٔ مکمل مس همسو است (Dezfoulian *et al*., 2012). در نتایج تحقیق دیگری نیز افزایش غلظت روی سرم و عدم تغییر در مس سرم در بره‌های پرواری دریافت‌کنندهٔ روی گزارش شد (Garg *et al*., 2008). افزودن میزان ۲۰ و ۴۰ پی‌پی‌ام روی در جیرهٔ بزهای آنقوره تأثیری بر غلظت فسفر و کلسیم سرم نداشت (Zaboli *et al*., 2013). همچنین، در تحقیق دیگری، غلظت فسفر و کلسیم پلاسما تحت تأثیر مکمل روی و مس در جیره قرار نگرفت (Aliarabi *et al*., 2011) که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. بر پایهٔ جدول‌های نیازهای غذایی NRC (2007) میزان روی و مس مورد نیاز در اواخر دورهٔ آبستنی برای یک میش با وزن ۶۰ کیلوگرم و جنین تک قلو به ترتیب ۴۲ و ۸ میلی‌گرم در روز است. میش‌های گروه شاهد در این پژوهش حدود ۲۷/۴۷ میلی‌گرم در روز روی را دریافت کردند که کمتر از سطح نیاز دام بود. لذا مکمل کردن آن در جیره سبب افزایش معنی‌دار این عنصر در پلاسمای خون شد. با توجه به اینکه گوسفند به سمیت مس حساس است و از سوی دیگر میزان مس در گروه روی به همراه مس بیشتر از سطح پیشنهادی NRC بود. بنابراین، می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که افزایش غلظت مس در پلاسمای خون میش‌ها به علت حساسیت گوسفند به مس بوده است. روی و مس از طریق جفت و شیر به بره‌ها انتقال پیدا کرده سبب افزایش غلظت این عنصرها در پلاسمای بره‌ها در این تحقیق شده است.

غلظت پروتئین کل، آلبومین و گلبولین سرم خون بره‌ها تحت تأثیر مکمل‌ها قرار نگرفت (P>۰/۰۵؛ جدول۵). در تحقیق دیگری بر گوساله‌های آبردین آنگوس، مصرف ۴۳۰ پی‌پی‌ام عنصر روی از طریق کلرید روی در جیره تأثیری بر پروتئین کل سرم خون نداشت (Arelovich *et al*., 2008) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. همچنین، تفاوت آماری معنی‌داری در غلظت آلبومین در بره‌های بلوچی دریافت‌کنندهٔ روی مشاهده نشد (Sobhanirad *et al*., 2014). در مقابل در بررسی دیگری گزارش شد که غلظت آلبومین در موش‌های تیمارشده با ۳/۸ پی‌پی‌ام به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد بالاتر بود (El Hendy *et al*., 2001). بنابراین می‌توان گفت که سطح روی و مس پایه برای حفظ غلظت گلبولین و آلبومین در سرم خون بره‌ها کافی بوده است و افزودن ۳۰ پی‌پی‌ام روی و ۸ پی‌پی‌ام مس تفاوت معنی‌داری در غلظت این پروتئین‌ها نسبت به شاهد ایجاد نکرده است.

جدول ۴. غلظت روی، آهن، مس، کلسیم و فسفر خون میش‌ها و بره‌ها در تیمارهای مختلف[1]

Table 4. Blood concentration zinc, copper, Iron, Calcium and Phosphorus ewes in different treatments

Item	Treatments			SEM	P-value[4]		
	Control	Zn	Zn + Cu		T	D	T×D
EWE[2]							
Zinc (mg/L)							
-45	0.78	0.79	0.79	0.04	0.98		
0	0.88[b]	1.14[a]	1.17[a]	0.04	0.00		
+30	0.84	1.02	0.95	0.06	0.16		
Total test	0.85	0.97	0.96	0.04	0.06	<0.01	0.03
Copper (mg/L)							
-45	0.83	0.82	0.82	0.05	0.96		
0	0.70[b]	0.79[b]	1.10[a]	0.03	<0.01		
+30	0.84	0.86	0.97	0.03	0.05		
Total test	0.79[b]	0.82[b]	0.96[a]	0.02	<0.01	0.15	<0.01
LAMB[3]							
Zinc (mg/L)							
10	0.89[b]	0.98[a]	0.97[a]	0.03	0.04		
20	0.88[b]	0.98[a]	0.98[a]	0.02	0.03		
Total test	0.89[b]	0.98[a]	0.97[a]	0.02	0.01	0.44	0.43
Copper (mg/L)							
10	0.86[b]	0.85[b]	0.96[a]	0.02	0.12		
20	0.87[b]	0.85[b]	0.95[a]	0.02	<0.01		
Total test	0.86[b]	0.85[b]	0.96[a]	0.01	<0.01	0.99	0.67
Iron (mg/L)							
10	1.23	1.28	1.23	0.04	0.56		
20	1.23	1.25	1.27	0.03	0.68		
Total test	1.24	1.27	1.25	0.02	0.72	0.81	0.58
Calcium (mg/dL)							
10	9.26	9.05	9.14	0.16	0.69		
20	9.23	8.94	9.10	0.12	0.32		
Total test	9.24	8.97	9.11	0.13	0. 40	0.61	0.95
Phosphorus (mg/dL)							
10	7.35	7.41	7.59	0.11	0.34		
20	7.22	7.08	7.16	0.11	0.66		
Total test	7.29	7.25	7.38	0.08	0.45	<0.01	0.45

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۱. حرف‌های همسان در هر ردیف ازهر بخش نشان‌دهندهٔ تفاوت غیر معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

۲. اعداد ۴۵-، ۰ و ۳۰+ نشان‌دهندهٔ به ترتیب ۴۵ روز پیش از زایمان، روز زایمان و ۳۰ روز پس از زایمان است.

۳. اعداد ۱۰ و ۲۰ در این ستون نشان‌دهندهٔ ۱۰ روز و ۲۰ روز پس از تولد بره‌ها است.

۴. T: تیمار، D: روز، T×D: تیمار در روز

SEM: Standard error of mean.

1. Means with different lowercase letters in rows are significantly different (P<0/05).
2. Values of -45, 0 and +30 indicate 45 day before parturition, day of delivery and 30 day after parturition respectively.
3. Values of 10 and 20 in this column indicate 10 and 20 days after lambs' birth.
4. T: treatment; D: Day; T×D: Treatment×Day

مکمل کردن جیرهٔ پایهٔ میش‌ها با روی و مس تأثیر بر غلظت کراتینین و گلوگز بره‌ها نداشت (P>۰/۰۵). کراتینین از کراتین فسفات که منبع اصلی تولید انرژی در عضله است به‌دست‌آمده که از مسیر کلیه‌ها دفع می‌شود (Murniati *et al*., 2013). ترشح کراتینین در جریان خون تنها توسط کلیه‌ها صورت می‌گیرد. بنابراین، شاخص خوبی برای ارزیابی عملکرد کلیه‌هاست (Acomolafa *et al*., 2014). اگر کلیه‌ها به هر دلیلی دچار مشکل شوند، کراتینین در خون بالا می‌رود. از سوی دیگر ماهیچه‌ها مخزن اصلی روی هستند. همچنین، این عنصر در ساخت DNA، اسید نوکلئیک و سوخت‌وساز پروتئین نقش دارد (El Hendy *et al*., 2001). افزون بر این، گوسفند به سمیت مس بسیار حساس است که احتمال دارد اندام‌هایی مانند کلیه را درگیر کند (Mendel *et al*., 2008). اما در این پژوهش روی و مس افزوده‌شده به جیرهٔ میش‌ها (با غلظت‌های مورد استفاده در این پژوهش) تأثیر معنی‌داری بر غلظت کراتینین سرم خون بره‌ها نداشت (P>۰/۰۵؛ جدول ۵). بنابر نتایج این تحقیق، در پژوهشی بر بره‌های مکمل‌شده با ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰

پی‌پی‌ام روی تفاوتی در غلظت گلوکز پلاسما مشاهده نشد (Runlian *et al*., 2006). همچنین، نتایج همسانی در بره‌های بلوچی دریافت‌کنندهٔ مکمل روی گزارش شد (Sobhanirad *et al*., 2014). در تحقیقی مصرف ۲۵ پی‌پی‌ام روی از سولفات روی و ۱۵ و ۲۵ پی‌پی‌ام روی از-متیونین روی، تأثیری بر میزان کراتینین پلاسما نداشت (Hassan *et al*., 2011). در مقابل نتایج این پژوهش، Mozaffari *et al*. (2009) در تحقیقی که در گوسفندان چراکننده در اطراف کارخانهٔ ذوب مس کرمان انجام دادند (میزان مس در گیاه مرتع مورد آزمایش ۶۲۰۸±۵۸/۶۹ پی‌پی‌ام) میزان کراتینین را به‌طور معنی‌داری بالاتر از سطح طبیعی گزارش کردند. همچنین، در تحقیقی دیگر در گوساله‌های تازه متولدشده غلظت گلوکز پلاسما به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های دریافت‌کنندهٔ سولفات روی (۵۰ پی‌پی‌ام روی) بالاتر بود اما تفاوت معنی‌داری با گروه دریافت‌کنندهٔ سولفات روی (۱۰۰ پی‌پی‌ام روی) نشان نداد (Azizzadeh *et al*., 2005). در نتایج بررسی دیگری پیشنهادشده، تأثیر روی بر غلظت گلوکز ممکن است وابسته به سطح روی جیره باشد (Azizzadeh *et al*., 2005). بنابراین، می‌توان اظهار کرد، در این پژوهش غلظت روی افزوده‌شده به جیرهٔ پایهٔ میش‌های آبستن به‌اندازه‌ای زیاد نبود که بتواند سطح گلوکز و کراتینین خون را در بره‌های آن‌ها تحت تأثیر قرار دهد.

اختلاف معنی‌داری در بین تیمارها برای غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول سرم بره‌ها نبود ($P>0/05$؛ جدول ۵). همسو با این نتایج، مکمل‌سازی جیرهٔ پایهٔ بره‌های بلوچی با روی، تأثیر معنی‌داری بر غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید سرم نداشت (Sobhanirad *et al*., 2014). که با نتایج پژوهش دیگری در جوجه‌های گوشتی همسان بود (Karamuz *et al*., 2010). هرچند القای کمبود روی (۱۹ و ۳/۸ پی‌پی‌ام) بسته به سطح کمبود نسبت به شاهد (۳۸ پی‌پی‌ام) غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون موش‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش داشت (El Hendy *et al*., 2001). بنابراین، می‌توان گفت که میزان روی در جیرهٔ پایه به‌اندازه‌ای کم نبوده که بتواند تأثیری بر فراسنجه‌های چربی القا کند. نظریهٔ تأثیر مس بر سوخت‌وساز کلسترول و ارتباط آن با روی در آغاز توسط Klevay (1982) گزارش شد. برابر این نظریه کمبود نسبی یا مطلق مس و نسبت بالای روی به مس (Zn/Cu) یکی از عامل‌های بیماری‌های عروق کرونر قلب است. تحقیقات دیگری در موش صحرایی نشان داد، افزایش نسبت Zn/Cu باعث افزایش کلسترول پلاسما می‌شود و تغییرهای بیشتر در این نسبت منجر به افزایش بیشتر کلسترول می‌شود. این نشان‌دهندهٔ این است که کمبود مس بیشتر از تغییر نسبت Zn/Cu باعث افزایش سطح کلسترول می‌شود (Petering *et al*., 1977). با این وجود نقش مس در سوخت‌وساز کلسترول هنوز بحث‌انگیز است. همسو با نتایج این پژوهش، در نتایج بررسی دیگری با افزودن ۱۰۰ یا ۲۰۰ میلی‌گرم مس در هر روز به جیرهٔ پایهٔ بزغاله‌ها، تأثیری بر غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید در روزهای ۱۴ و ۱۲۰ آزمایش مشاهده نشد (Solaiman *et al*., 2006). در مقابل، در نتایج تحقیقی دیگر بیان شد، صرفه نظر از منبع مس افزودن ۲۰ یا ۴۰ پی‌پی‌ام مس به جیرهٔ پایه که حاوی ۹/۴۷ پی‌پی‌ام مس بود در روزهای ۵۶ و ۸۴ آزمایش غلظت کلسترول سرم خون کاهش می‌یابد (Datta *et al*., 2007). همچنین، در نتایج پژوهش دیگری کاهش معنی‌داری برای غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون بره‌ها در تیمارهای دریافت‌کنندهٔ ۱۰ و ۲۰ پی‌پی‌ام مس را مشاهده نشد (Cheng *et al*., 2008). بود یا نبود ناهمسازهای این عنصر کمیاب، شرایط فیزیولوژیک دام، سن دام، محیط آزمایش، میزان مس جیره ممکن است، سبب اختلاف در پاسخ سوخت‌وساز چربی‌ها به مس شود (Engle, 2011). در نتایج بررسی دیگری گزارش شده است، در موش کمبود مس از طریق افزایش فعالیت آنزیم ۳-هیدروکسیل ۳- متیل گلوتاریل کوانزیم آ (HMG–CoA) که در ساخت دنووایی کلسترول نقش دارد، منجر به افزایش کلسترول خون می‌شود (Kim *et al*., 1992; Spears & Engle, 2000). بنابراین به نظر می‌رسد که در این بررسی میزان مس جیرهٔ پایه برای جلوگیری از اختلال در سوخت‌وساز کلسترول و تری‌گلیسرید کافی بوده است.

جدول ۵. غلظت متابولیت‌های سرم بره‌ها در تیمارهای مختلف[1]

Table 5. Serum of metabolic parameters lambs in different treatments

Item	Treatment			SEM	P-value[2]		
	Control	Zn	Zn + Cu		T	D	T×D
Total protein (mg/dL)							
10	70.60	71.25	71.48	0.90	0.78		
20	69.90	68.58	68.63	2.07	0.88		
Total test	70.25	69.92	70.06	1.08	0.97	0.11	0.77
Albumin (mg/dL)							
10	46.45	46.45	46.36	0.51	0.98		
20	45.07	45.25	45.20	0.57	0.97		
Total test	45.75	46.00	45.56	0.61	0.88	<0.01	0.97
Globulin (mg/dL)							
10	24.27	24.79	25.12	0.46	0.76		
20	23.47	25.58	25.30	0.94	0.28		
Total test	23.87	25.19	25.21	0.62	0.26	0.94	0.67
Glucose (mg/dL)							
10	85.02	86.20	86.32	1.38	0.78		
20	86.12	87.00	86.62	1.27	0.89		
Total test	85.57	86.60	86.47	0.94	0.72	0.49	0.95
Creatinine (mg/dL)							
10	0.79	0.87	0.89	0.03	0.15		
20	0.80	0.78	0.81	0.02	0.30		
Total test	0.77	0.84	0.80	0.03	0.34	0.01	0.10
Triglycerides (mg/dL)							
10	83.86	84.62	84.80	2.38	0.95		
20	76.39	78.43	76.26	1.36	0.53		
Total test	80.02	81.52	80.53	1.40	0.73	<0.01	0.80
Cholesterol (mg/dL)							
10	65.65	68.55	66.25	1.97	0.53		
20	70.86	71.93	70.76	2.24	0.90		
Total test	68.50	70.24	68.50	1.46	0.58	<0.01	0.78

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۱. حرف‌های همسان در هر ستون از هر بخش نشان‌دهندهٔ تفاوت آماری غیر معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

۲. T: تیمار، D: روز، T×D: تیمار در روز.

SEM: Standard error of mean.

1. Means with different lowercase letters in rows are significantly different (P<0/05).

2. T: treatment; D: day; T×D: Treatment×Day

در سن ده روزگی در بره‌ها اختلاف معنی‌داری بین تیمارها برای فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین‌آمینو ترانسفراز (ALT) مشاهده نشد (P>۰/۰۵؛ جدول ۶). اما فعالیت آنزیم AST در کل دورهٔ آزمایش در گروه‌های مکمل‌سازی شده به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کمتر بود (P<۰/۰۵) هرچند فعالیت این آنزیم در سن ۲۰ روزگی در تیمار مصرف‌کنندهٔ روی به همراه مس به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد پایین‌تر بود (P<۰/۰۵). فعالیت ALT نیز در ۲۰ روزگی در بره‌های گروه روی به همراه مس نسبت به بره‌های گروه شاهد تمایل به معنی‌دار شدن داشت (P=۰/۰۹). آنزیم AST و ALT از جمله آنزیم‌های مهم در فرایندهای بیوشیمیایی هستند که در تبدیل‌شدن اسیدهای آمینه به کتواسید که برای کامل شدن سوخت‌وساز چرخهٔ کربس و زنجیرهٔ انتقال الکترون لازم است. از سوی دیگر، غلظت این آنزیم‌ها در سرم خون را به‌عنوان شاخصی برای آسیب و اختلال‌های کبدی و بافتی در نظر می‌گیرند (Yousef *et al*., 2002). مشخص شده است که در دام در معرض با کمبود عنصرهای مؤثر در سامانهٔ ایمنی و پاداکسندگی مانند روی و مس، حساسیت فسفولیپیدهای غشاء به پراکسیداسیون‌ها افزایش پیدا کرده که آسیب به غشای یاخته‌ای را به همراه دارد و در نتیجه ترکیب‌های سیستوزولی مانند AST و ALT به درون سرم آزاد می‌شوند (Ajayi & Odutuga, 2004). اما در بره‌های تازه متولدشده باید به این نکته توجه کرد که افزایش سطح آنزیم‌های AST و ALP ناشی از دریافت آغوز بوده و با آسیب یاخته‌ای ارتباطی ندارد. نتایج تحقیقات نشان داده‌اند، بین گاماگلوبولین‌های جذب‌شده از آغوز و سطح آلکالین فسفاتاز (ALP) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) در سرم خون بره‌ها یک همبستگی مثبت وجود دارد. با افزایش جذب گاماگلوبولین‌های آغوز، سطح ALP و AST در سرم خون برها افزایش می‌یابد

با گذشت زمان سطح ALP سرم خون بره‌ها به‌تدریج کاهش می‌یابد اما همچنان تا ۴۵ روزگی بالا باقی می‌ماند (Pauli, 1983). در نتایج این تحقیق نیز این روند کاهشی از روز ۱۰ تا روز ۲۰ مشاهده شد. اما تفاوت بین تیمارها در روز ۲۰ احتمال دارد مربوط به تأثیر تیمار باشد، به‌طوری‌که احتمال دارد سطح گاماگلوبولین‌ها در تیمارهای دریافت‌کنندهٔ روی به‌تنهایی و یا روی به همراه مس آغوز بالاتر بوده و بره‌ها سطح بیشتری از آن را دریافت کنند و این موضوع سبب شده است ALP در روز ۲۰ بالاتر از گروه شاهد باشد. سطح AST دو تا سه روز بعد به سطح طبیعی افراد بالغ بر می‌شود و تفاوت مشاهده‌شده در محدودهٔ طبیعی فیزیولوژیک قرار دارد.

در تحقیق Mokhtari *et al.* (2005) در موش‌های دریافت‌کنندهٔ ۲۰ پی‌پی‌ام سولفات روی فعالیت AST و ALT به‌طور معنی‌داری افزایش و در گروهی که ۴۰ و ۸۰ پی‌پی‌ام سولفات روی دریافت کرده بود نسبت به گروه شاهد کاهش داشت. این محققان نتیجه گرفتند، در مرحله‌های اولیه آسیب کبدی، غلظت این آنزیم‌ها افزایش پیدا می‌کند و آسیب جدی کبد سبب کاهش ناگهانی در سطح این آنزیم‌ها می‌شود. زیرا فعالیت آنزیمی کمی باقی‌مانده است (Ajayi & Odutuga, 2004). با در نظر گرفتن این نکته و نتایج این پژوهش می‌توان این‌گونه بیان کرد، افزودن ۳۰ پی‌پی‌ام روی به جیرهٔ میش‌ها در ۴۵ روز آخر آبستنی به‌اندازه‌ای بالا نبوده که سبب آسیب کبدی و تغییرهای معنی‌داری در فعالیت این دو آنزیم (AST و ALT) در سرم خون بره‌های آن‌ها شود.

فعالیت آنزیم الکالین فسفاتاز (ALP) در ۲۰ روزگی و کل دورهٔ آزمایش در بره‌هایی که مادر آن‌ها روی به‌تنهایی دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵؛ جدول ۶) اما با تیمار روی به همراه مس تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). همچنین، در سن ۱۰ روزگی فعالیت ALP سرم خون تمایل به معنی‌داری داشت (P=۰/۰۵۶). با افزایش روی در خون، میزان فعالیت ALP افزایش و در صورت کمبود روی، فعالیت ALP کاهش می‌یابد (Suttle, 2010; Jia *et al.*, 2009).

جدول ۶. غلظت آنزیم‌های سرم خون بره‌ها در تیمارهای مختلف[۱]

Table 6. Serum enzyme concentrations of lambs in different treatments

Item	Treatment			SEM	P-value[2]		
	Control	Zn	Zn + Cu		T	D	T×D
AST (u/L)							
10	53.12	52.00	54.16	1.27	0.43		
20	75.47[a]	66.05[ab]	63.81[b]	2.85	0.03		
Total test	64.78[a]	59.02[b]	58.99[b]	1.56	0.02	<0.01	0.03
ALT (u/L)							
10	12.90	13.34	12.50	0.75	0.70		
20	20.89	16.30	15.30	1.62	0.09		
Total test	16.12	15.56	13.76	1.09	0.29	<0.01	0.12
ALP (u/L)							
10	207.11	250.68	245.96	12.38	0.05		
20	187.49[b]	211.15[a]	203.59[a]	6.02	0.04		
Total test	198.76[b]	230.92[a]	224.89[a]	6.98	<0.01	<0.01	0.48
LDH (u/L)							
10	217.09	210.14	210.14	14.40	0.92		
20	316.30	264.34	284.34	19.51	0.20		
Total test	240.36	203.51	239.09	19.31	0.34	<0.01	0.24
CPK (u/L)							
10	56.07	59.23	59.23	1.8	0.77		
20	74.23	63.76	63.76	3.66	0.13		
Total test	60.40	56.53	57.90	2.37	0.51	<0.01	0.16

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۱. حرف‌های همسان در هر ستون از هر بخش نشان‌دهندهٔ تفاوت آماری غیر معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

۲. T: تیمار، D: روز، T×D: تیمار در روز.

SEM: Standard error of mean.

1. Means with different lowercase letters in rows are significantly different (P<0/05).

2. T: treatment; D: day; T×D: Treatment×Day

در نتایج بررسی دیگری مشخص شده است که ALP آنزیمی با دو یون روی و یک یون منگنز است. اگر یون روی در هر سه جایگاه آنزیم قرار بگیرد ALP بیشترین فعالیت را خواهد داشت (Yousef *et al.*, 2002). بنابراین، می‌توان چنین نتیجه گرفت، این افزایش فعالیت به کاربرد روی به‌صورت مکمل مرتبط است. همسو با این نتایج، فعالیت بیشتر ALP را در کبد بره‌هایی که مادر آن‌ها روی بیشتری دریافت کردند، نسبت به بره‌هایی که مادر آن‌ها مواجه با کمبود روی بود را گزارش شد (David & Moir, 1982). این نتایج با نتایج بررسی‌های پیشین در بره‌های پرواری همسو بود (Fadayifar *et al.*, 2012; Nagalakshmi *et al.*, 2009). این در حالی است که کاربرد ۲۵ پی‌پی‌ام عنصر روی با کاربرد دو نوع مکمل اکسید روی و روی-متیونین در جیرهٔ بره‌های پرواری تفاوتی در فعالیت آنزیم ALP سرم خون ایجاد نکرد (Droke *et al.*, 1998). در بررسی‌های Arelovich *et al.* (2008) نیز نتایج همسانی به دست آمد.

آنزیم LDH در همهٔ یاخته‌های بدن یافت می‌شود. عمده‌ترین جایگاه یاخته‌ای این آنزیم در سیتوپلاسم است. فعالیت آنزیم LDH در یاخته ۵۰۰ برابر فعالیت آن در سرم است و ازآنجا که LDH یک آنزیم سیتوپلاسمیی است، می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر (مارکر) حساس در آسیب‌های بافتی باشد. آنزیم لاکتات‌دهیدروژناز ۵ ایزوآنزیم دارد که این ایزوآنزیم‌ها در ویژگی‌های زیستی، فیزیکی و شیمیائی با هم تفاوت دارند. در بیماری عضلانی و بیماری‌های کبدی میزان LD4 وLD5 افزایش می‌یابد. در این پژوهش تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها برای غلظت LDH (P>۰/۰۵، جدول ۶) مشاهده نشد که همسو با نتایج بررسی‌های Najafzadeh *et al.* (2012) در بره‌های پرواری دریافت‌کنندهٔ نانو اکسید روی به میزان ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن زنده به مدت ۲۵ روز است. همچنین در جوجه‌های گوشتی تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها برای این آنزیم مشاهده نشد (Karamuz *et al.*, 2012).

مشخص شده است، کراتین فسفوکیناز آنزیمی درون‌یاخته‌ای است و افزایش آن به میزان زیادی با آسیب بافت‌های ماهیچه‌ای ناشی از رادیکال‌های آزاد به‌ویژه پراکسید هیدروژن، در ارتباط است. از سوی دیگر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رادیکال‌های آزاد را به آب بی‌ضرر تبدیل می‌کند (Tauler, 2006). بنابراین روند کاهش غلظت CPK در سن ۲۰ روزگی بره‌ها در تیمارهای دریافت‌کنندهٔ روی و مس نسبت به شاهد (P=۰/۱۳) در این پژوهش (جدول۶)، را می‌توان به تأمین پیش‌سازهای SOD (روی و مس) و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد نسبت داد.

مکمل روی تأثیر معنی‌داری بر غلظت روی موجود در شیر داشت، به‌گونه‌ای که بیشترین میانگین غلظت این عنصر در ۳۰ روز پس از زایش در تیمار روی به‌تنهایی و کمترین میزان آن در گروه شاهد بود (P<۰/۰۵)، هرچند تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه روی به‌تنهایی با گروه روی به همراه مس نبود (P>۰/۰۵). دریافت مس باعث افزایش معنی‌دار میانگین غلظت مس شیر شد (P<۰/۰۵)، اگرچه تفاوت در روز ۳۰ نمونه‌برداری شیر در بین گروه‌های آزمایشی معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری در غلظت آهن شیر در طول آزمایش مشاهده نشد (P>۰/۰۵؛ جدول ۷). همسو با این نتایج، افزودن میزانهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ پی‌پی‌ام روی به شکل سولفات روی به جیرهٔ پایه‌ای با ۱۵ پی‌پی‌ام روی در مدت ۷۰ روز، غلظت روی شیر میش‌ها را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد، اما غلظت آهن و مس در این آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشت (Zali & Ganjkhanlou, 2009). این نتیجه با نتایج به‌دست‌آمده از گاوهای که ۹۰ پی‌پی‌ام روی دریافت کرده بودند، همسان بود (Hermansen *et al.*, 1995). در تأیید نتایج بالا، کاربرد ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام روی به شکل اکسید روی به مدت شش هفته غلظت این عنصر را در شیر گاوهای شیری نسبت به گروه شاهد افزایش داد (Miller *et al.*, 1965). همچنین در تحقیق دیگری مصرف قرص‌های روی و آهن به صورتی که روزانه ۱۰ میلی‌گرم روی آزاد می‌کردند، غلظت روی در شیر میش‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (White *et al.*, 1991). بنابراین می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد، افزودن روی به جیره سبب افزایش غلظت این عنصر در شیر می‌شود (Hermansen *et al.*, 1995).

جدول ۷. غلظت روی، آهن و مس در شیر میش‌ها در تیمارهای مختلف[۱]

Table 7. Milk concentration zinc and copper ewes in different treatments

Item	Treatment			SEM	P-value[2]		
	Control	Zn	Zn + Cu		T	D	T×D
Zinc (mg/L)							
0	3.98[b]	6.14[a]	6.22[a]	0.26	<0.01		
15	2.95[b]	4.31[a]	4.15[a]	0.21	<0.01		
30	3.04[b]	3.99[a]	3.90[a]	0.15	<0.01		
Total test	3.32[b]	4.81[a]	4.76[a]	0.13	<0.01	<0.01	0.02
Copper (µg/L)							
0	475.00[b]	483.33[b]	643.00[a]	27.46	<0.01		
15	376.40[b]	441.66[b]	530.83[a]	28.66	<0.01		
30	414.00	410.66	463.33	26.44	0.29		
Total test	415.80[b]	445.22[b]	545.72[a]	15.95	<0.01	<0.01	0.03
Iron (µg/L)							
0	797.00	780.66	750.66	26.54	0.46		
15	510.00	499.50	486.83	22.87	0.77		
30	552.80	542.46	542.16	27.31	0.95		
Total test	619.93	607.61	593.22	14.95	0.44	<0.01	0.96

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۱. حرف‌های همسان در هر ستون از هر بخش نشان‌دهندهٔ تفاوت آماری غیر معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

۲. T: تیمار، D: روز، T×D: تیمار در روز.

SEM: Standard error of mean.

1. Means with different lowercase letters in rows are significantly different (P<0/05).

2. T: treatment; D: day; T×D: Treatment×Day

در ارتباط با عنصر مس نیز محققان درنتیجهٔ افزودن ۰/۵ و ۰/۸ گرم مس به ازای هر دام در روز گزارش کردند، به‌طور معنی‌داری غلظت مس شیر نسبت به شاهد افزایش می‌یابد (Dunkley *et al.*, 1968). همچنین Dunkley *et al.* (1963) در نتایج بررسی‌های خود مشاهده کردند، تزریق زیر جلدی ۳۰۰ میلی‌گرم مس به‌صورت گلایسینات مس، غلظت این عنصر در شیر و خون به مدت چهار هفته به‌ویژه ۲۴ ساعت پس از تزریق بالا بود اما بر عنصر روی در شیر تأثیری نداشت. این محققان در بررسی‌های خود نتیجه گرفتند، مس ذخیره‌شده در کبد به‌تدریج آزاد می‌شود و به شیر انتقال می‌یابد. با در نظر گرفتن این نکته به نظر می‌رسد که تداوم بالاتر بودن غلظت مس در شیر تولیدشده از میش‌های دریافت‌کنندهٔ مکمل مس تا ۳۰ روز پس از زایش، به انباشت بالاتر مس کبد این میش‌ها مرتبط بوده است.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد، جیرهٔ پایه از لحاظ روی (۱۸/۹۸) کمبود دارد و افزودن روی به جیرهٔ میش‌های آبستن نژاد مهربان در اواخر دورهٔ آبستنی سبب افزایش معنی‌دار غلظت روی پلاسما (در میش‌ها و بره‌ها) و شیر شد و عملکرد بره‌ها بهبود یافت. از سوی دیگر افزودن مس به جیرهٔ حاوی روی هرچند سبب افزایش غلظت مس در پلاسما (بره‌ها و میش‌ها) و شیر شد، اما غلظت عنصر روی در پلاسما (میش‌ها و بره‌ها) و شیر و همچنین عملکرد بره‌ها بین تیمار روی به‌تنهایی با روی به همراه مس تفاوت معنی‌داری نداشت. به‌احتمال رابطهٔ ناهمسازی مس افزوده‌شده به جیره در این پژوهش با روی به‌اندازه‌ای نبود که بتواند با کاهش جذب روی سبب کاهش غلظت روی پلاسما و شیر و درنهایت عملکرد رشد بره‌ها شود. همچنین مکمل‌سازی روی و مس نیز سبب بهبود سوخت‌وساز هورمون‌های تیروئیدی، افزایش سطح آنزیم‌های ALP و AST، افزایش شمار گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین خون بره‌ها شد.

REFERENCES

1. Abdel-Monem, U. M. & El-Shahat, K. H. (2011). Effect of different dietary levels of inorganic zinc oxide on ovarian activities, reproductive performance of Egyptian Baladi ewes and growth of their lambs. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 14(2), 116-123.
2. Aihara, K., Nishi, Y., Hatano, S., Kihara, M., Yoshimitsu, K., Takeichi, N. & Usui, T. (1984). Zinc, copper, manganese, and selenium metabolism in thyroid disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *40*(1), 26-35.

3. Ajayi, O. B. & Odutuga, A. (2004). Effect of low-zinc status and essential fatty acids deficiency on the activities of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in liver and serum of albino rats. *Food/Nahrung*, 48(2), 88-90.
4. Akhtar, N., Ahsan, R., Waki, A., Mostafa, C.G.M., Chowdhury, S., Hai, M.A. (2003). Relationship between zinc and anaemia in chronic haemodialysis patients. *TAJ: Journal of Teachers Association*, 16 (1), 12-14.
5. Akomolafe., R. O., Olukiran, O. S., Lmafidon., C. E., Ayannuga, O. A., Oyekunle, J. A., Akanji, B. O. & Oladele, A. A. (2014). A study of two weeks administration of copper sulphate on markers of renal function and feeding pattern of Wistar rats. *African Journal of Biochemistry Research*, 8(9), 158-165.
6. Aliarabi, H., Fadayifar, A., Tabatabaei, M. M., Zamani, P., Bahari, A., Farahavar, A. & Dezfoulian, A. H. (2015*).* Effect of Zinc Source on Hematological, Metabolic Parameters and Mineral Balance in Lambs. *Biological Trace Element Research*, 168 (1), 82-90.
7. Aliarabi, H., MTabatabaei, M., Fadayifar, A., Torkashvan, S., Bahari, A. A., Zamani, P., Alipour, D. & Dezfoulian, A. H. (2011). Effects of Supplementing OrganicZ, with or Without Copper, on performance, Plasma Minerals and Some Enzymes activities in Mehraban Male Lambs. *Iranian Journal Animal Science Research*, 21(3), 111-121. (in Farsi)
8. Arelovich, H. M., Labord, H. E., Amela, M. I. & Torrea, M. F. (2008). Effects of dietary addition of zinc and (or) monensin on performance, and digesta kinetics in beef cattle. *Spanish journal of Agricultural Research*, 6(3), 362-372.
9. Azizzadeh, M., Mohri, M. & Seifi, H. A. (2005). Effect of oral zinc supplementation on hematology, serum biochemistry, performance, and health in neonatal dairy calves. *Comparative Clinical Pathology*, 14, 67-71.
10. Carlson, G. P. (2015). Copper deficiency. Page 1068 in Large Animal Internal Medicine. B. P. Smith, ed. Mosby, St. Louis, MO.
11. Cerone, S. I., Sansinanea, A. S., Streitenberger, S. A., Garcia, M. C. & Auza, N. J. (2000). Cytochrome c oxidase, Cu, Zn-superoxide dismutase, and ceruloplasmin activities in copper-deficient bovines. *Biological Trace Element Research*, 73, 269-278.
12. Chavan, S. J Dildeep, V., Bhramare, K. S., Ravishankar, C., Babitha, V. & Sunanda, C. (2016). The effect of organic and inorganic supplementation on blood hemoglobin and serum cortisol concentration in malabari goat kids. *International Journal of Science and Nature*, 7 (3), 611-613.
13. Cheng, J., Fan, C., Zhang, W., Zhu, X., Yan, X., Wang, R. & Jia, Z. (2008). Effects of dietary copper source and level on performance, carcass characteristics and lipid metabolism in lambs. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, *21*(5), 685.
14. Cole, C. & Lifshitz, F. (2008). Zinc nutrition and growth retardation. *Pediatr Endocrinol Reviews*, 5(4), 889-896.
15. Datta, C., Mondal, M. K. & Biswas, P. (2007). Influence of dietary inorganic and organic form of copper salt on performance, plasma lipids and nutrient utilization of Black Bengal (*Capra hircus*) goat kids. *Animal Feed Science and Technology*, 135(3), 191-209.
16. David, G.M. &. Moir, R.J. (1982). Effect of zinc deficiency on the pregnant ewe and developing foetus. *The Journal of Nutrition*, 49, 365-372.
17. Dezfoulian, A. H. & Aliarabi, H. (2016). *The effect of different sources and levels of cobalt on performance and some blood parameters and rumen bacterial cellulolytic activity of male goat kids.* Ph. D. thesis. Faculty of Agricultur Bu-Ali sina University, Hamedan, Iran.
18. Dezfoulian, A. H., Aliarabi, H., Tabatabaei, M. M., Zamani, P., Alipour, D., Bahari, A. & Fadayifar, A. (2012). Influence of different levels and sources of copper supplementation on performance, some blood parameters, nutrient digestibility and mineral balance in lambs. *Livestock Science*, 147(1), 9-19.
19. 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 Science*, 11, 139-149.
20. Dunkley, W. L., Franke, A. A., Robb, J. & Ronning, M. (1968). Influence of dietary copper and ethylenediaminetetraacetate on copper concentration and oxidative stability of milk. *Journal of dairy Science*, 51(6), 863-866.
21. Dunkley, W. L., Ronning, M. & Voth, J. (1963). Influence of injection of cows with copper glycinate on blood and milk copper and oxidized flavor in milk. *Journal of Dairy Science*, 46(10), 1059-1063.
22. El Hendy, H.A., Yousef, M. I. & Abo El-Naga, N. I. (2001). Effect of dietary zinc deficiency on hematological and biochemical parameters and concentrations of zinc, copper, and iron in growing rats. *Toxicology*, 167, 163-170.
23. El-Nour, H. H. M., Rahman, H. M. A. A. & El-Wakeel, S. A. (2010). Effect of zinc-methionine supplementation on reproductive performance, kid's performance, minerals profile and milk quality in early lactating Baladi goats. *World Applied Sciences Journal*, 9(3), 275-282.

24. Engle, T. E. (2011). Copper and lipid metabolism in beef cattle: A review. *Journal of Animal Science*, 89(2), 591-596.
25. Engle, T. E. & Spears, J. W., (2000). Dietary copper effects on lipid metabolism performance, and ruminal fermentation in finishing steers. *Journal of Animal Sciences*, 78, 2452-2458.
26. Fadayifar, A., Aliarabi, H., Tabatabaei, M. M., Zamani, P., Bahari, A. & Malecki, M. (2012). Improvement in lamb performance on barley based diet supplemented with zinc. *Livestock Science*, 144, 285-289
27. Freake, H. C., Govoni, K. E., Guda, K., Huang, C. & Zinn, S. A. (2001). Actions and interactions of thyroid hormone and zinc status in growing rats. *The Journal of Nutrition*, 131(4), 1135-1141.
28. Frieden, E. (1971). Caeruloplasmin a link between copper and iron metabolism. *Advances in Chem Series*, 100, 292-321.
29. Gambling, L. & McArdle, H. J. (2004). Iron, copper and fetal development. In: Proceedings of *the Nutrition Society*, 63(4), 553-562.
30. Garg, A. K. & Vishal Mudgal, R. S. (2008). Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization and mineral profile in lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 144, 82-96.
31. Gonzalez, B. P. E., Fong, R. N., Gibson, C. J., Fuentealba, I. C. & Cherian, M. G. (2005). Zinc supplementation decreases hepatic copper accumulation in LEC rat. *Biological Trace Element Research*, 105(1-3), 117-134.
32. Graham, T. W., Thurmond, M. C., Gershwin, M. E., Picanso, J. P., Garvey, J. S. & Keen, C. L. (1994). Serum zinc and copper concentrations in relation to spontaneous abortion in cows: implications for human fetal loss. *Journal of Reproduction and Fertility*, 102(1), 253-262.
33. Hassan, A. A., El Ashry, G. M. & Soliman, S. M. (2011). Effect of supplementation of chelated zinc on milk production in ewes. *Food and Nutrition Sciences*, 2(7), 706.
34. Hatfield, P. G., Snowder, G. D., Head Jr, W. A., Glimp, H. A., Stobart, R. H. & Besser, T. (1995). Production by ewes rearing single or twin lambs: effects of dietary crude protein percentage and supplemental zinc methionine. *Journal of Animal Science*, 73, 1227-1238.
35. Hatfield, P. G., Swenson C. K., Kott, R. W., Ansotegui, R. P., Roth, N. J. & Robinson B. L. (2001). Zinc and copper status in ewes supplemented with sulfate- and amino acid-complexed forms of zinc and copper. *Journal of Animal Sciences*, 79, 261-266.
36. Hefnawy, A. E. & El-khaiat, H. M. (2015). Copper and animal health: Importance, maternal fetal, immunity and DNA relationship, deficiency and toxicit. *International Journal for Agro Veterinary and Medical Sciences*, 9(5), 195-211.
37. Hermansen, J. E., Larsen, T. & Andersen, J. O. (1995). Does Zinc Play a Role in the Resistance of Milk to Spontaneous Lipolysis? *Int. Dairy Journal*, 5, 473-481.
38. Hidiroglou, M. & Knipfel, J. E. (1981). Maternal fetal relationships of copper, manganese and sulfur in ruminants. A review: *Journal of Dairy Science*, 64, 1637-1647.
39. Hostetler, C. E., Kincaid, R. L. & Mirando, M. A. (2003). The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. *The Veterinary Journal*, 166, 125-139.
40. Jia, W., Xiaoping Z. H., Wei, Z. H., Jianbo, C. H., Cuihua, G. & Zhihai, J. (2009). Effects of Source of Supplemental Zinc on Performance, Nutrient Digestibility and Plasma Mineral Profile in Cashmere goat. *Asian Australion Journal of Animal Science*, 22(12), 1648-1653.
41. Karamuz, H., Agdam Shariyar, H., Gorbani, A., Maheri-Sis, N. & Ghaleh-kandi, J. G. (2010). Effect of zinc oxide supplementation on some serume biochemical values in male broilers. *Global Veterinaria*, 4(2), 108-111.
42. Kececi, T. & Keskin, E. (2002). Zinc supplementation decreases total thyroid hormone concentration in small ruminants. *Acta Veterinaria Hungarica*, 50(1), 93-100.
43. Khavazi, K., rahimian, H. A., malakooti, M., Saleh Rastin, N. & afshari, M. (2006). Investigation the status of food element in alfalfa soils in hamedan province. *Journal of Agricultural Science and Natural Resources*, 4(2), 1-4.
44. Kim, S., Chao, P. Y. & Allen, G. D. (1992). Inhibition of elevated hepatic glutathione abolishes copper deficiency cholesterolemia. *Federation of American Societies for Experimental Biolog Journal*, 6, 2467-2471
45. Klein, J. (1990). *Immunology*. Blackwell Scientific Publications. Inc
46. Klevay, L. M. (1973). Hypercholesterolemia in rats produced by an increase in the ratio of zinc to copper ingested. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 26(10), 1060-1068.
47. Kundu, M. S., De, A. K., Jeyakumar, S., Sunder, J., Kundu, A. & Sujatha, T. (2014). Effect of zinc supplementation on reproductive performance of Teressa goat. *Vet World*, 7, 380-383.
48. MacDonald, R. S. (2000). The role of zinc in growth and cell proliferation. *Journal of Nutrition*, 130, 1500-1508.

49. Malakouti Rad, M. Saleh Rastin, J. N. & Afshari. M. (2002). *Forgotten of zinc deficiency within the life cycle of plants, animals and human*. Publications Senate, Tehran, Iran
50. Mallaki, M., Noruzian, M. A. & Khadem, A. A. (2015). Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization, and plasma zinc status in lambs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39, 75-80
51. Mendel, M., Chłopecka M. & Dziekan, N. (2007). Haemolytic crisis in sheep as a result of chronic exposure to copper. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 10, 51-56.
52. Miller, W. J., Blackmon, D. M., Gentry, R. P. & Pate, F. M. (1991). Zinc Absorption, Metabolism, and Endogenous Excretion in Zinc-Deficient and Normal Calves over an Extended Time1. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3535-3543.
53. Mokhtari, M., Shareati, M. & Gashmardi, N. (2005). Effect Zinc on Thyroid Hormones concentration and liver enzymes in Adult male rat. *Scientific-Researcher Journal Medical Zanjan University*, 13(51), 7-14. (in Farsi)
54. Mozaffari, A. A., Derakhshanfar, A. & Amoli, J. S. (2009). Industrial copper intoxication of Iranian fat-tailed sheep in Kerman province, Iran. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 33(2), 113-119.
55. Murniati, T., Idrus, M., Rahardja, D. P., Toleng, A. L. & Ako, A. (2015). Effect of maternal nutrition a different stages of pregnancy in goats (Etawa Cross and Kacang) on Performance of Does and Goat Kids. *International Journal of Science and Research*, 4(9), 210-215.
56. Nagalakshmi, D., Dhanalakshmi, K. & Himabindu, D. (2009). Effect of dose and source of supplemental zinc on immune response and oxidative enzymes in lambs. *Veterinary Research Communications*, 33, 631-644.
57. Najafzadeh, H., Ghoreishi, S. M., Mohammadian, B., Rahimi, E., Afzalzadeh, M. R., Kazemi varnamkhasti, M. & Ganjealidarani, H. (2013). Serum biochemical and histopathological changes in liver and kidney in lambs after zinc oxide nanoparticles administration. *Veterinary World*, 6(8), 534-537.
58. National Research Council. (2007). *Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids*. National Academy Press, Washington, DC.
59. National Research Council. (2001). Nutrient Requirements of Dairy Animals. (7th Ed). National Research Council/National Academy Press, Washington, DC, USA.
60. Pauli, J. V. (1983). Colostral transfer of gamma glutamyl transferase in lambs. *New Zealand Veterinary Journal*, 31(9), 150-151.
61. Pekary, A. E., Lukaski, H. C., Mena, I. & Hershman, J. M. (1991). Processing of TRH precursor peptides in rat brain and pituitary is zinc dependent. *Peptides*, 12(5), 1025-1032.
62. Petering, H. G., Murthy, L. & O'Flaherty, E. (1977). Influence of dietary copper and zinc on rat lipid metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(5), 1105-1109.
63. Rimbach, G., Walter, A., Most, E. & Pallauf, J. (1998). Effect of microbial phytase on zinc bioavailability and cadmium and lead accumulation in growing rats. *Food and Chemical Toxicology*, 36(1), 7-12.
64. Rink, L. & Kirchner, H. (2000). Zinc-altered immime function and cytokine production. *Journal of Nutrition*, 130, 14078-141. IS.
65. Runlian, W., Zhu, X., Guo, F., Zhang, W. & Jia, Z. (2006). Influence of Different Dietary Levels of Zinc on Performance, Vitamin B12, and Blood Parameters in Lambs. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 76 (6), 353-358.
66. Rupic, V., Ivandija, L., Luterotti, S., Dominis-Kramaric, M. & Bozac, R. (1998). Plasma proteins and haematological parameter in fattening pigs fed different source of dietary zinc. *Acta Veterinary Hung*, 46, 111-126.
67. Sobhanirad, S. & Naserian, A. A. (2012). Effects of high dietary zinc concentration and zinc sources on hematology and biochemistry of blood serum in Holstein dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 177(3), 242-246
68. Sobhanirad, S., Mashhadi, M. H. & Kashani, R. B. (2014). Effects of source and level of zinc on haematological and biochemical parameters in Baluchi lambs. *Research Opinions in Animal & Veterinary Sciences*, 4(7), 389-393.
69. Solaiman, S. G., Shoemaker, C. E. & D'Andrea, G. H. (2006). The effect of high dietary Cu on health, growth performance, and Cu status in young goats. *Small Ruminant Research*, 66, 85-91.
70. Spears, J. W. & Weiss, W. P. (2008). Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *Veterinary Journal*, 176, 70-76.
71. Suttle, N. (2010). *Mineral nutrition of livestock*. (4th Ed.). Midlothian Eh26.
72. Tauler, P., Sureda, A., Cases, N., Aguiló, A., Rodríguez-Marroyo, J. A., Villa, G. & Pons, A. (2006). Increased lymphocyte antioxidant defences in response to exhaustive exercise do not prevent oxidative damage. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 17(10), 665-671.

73. Valipour Cheharda Cheric, S. & Rafierad, M. (2015). The effect of acute prescription of zinc oxide nanofarices on thyroid hormone in adult male rats. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 4(9), 5906-5914.
74. Westterma, L. R. & Constabel, F. (1982). *Plant tissue culture metbods*. 2deev. (Ed). Sasatoon: National Research Council of Canada, Prairie Regional Laboratory.
75. White, C. L., Chandler, B. S. & Peter, D. W. (1991). Zinc supplementation of lactating ewes and weaned lambs grazing improved mediterranean pastures. *Animal Production Science*, 31(2), 183-189.
76. Yatoo, M. I., Saxena, A., Deepa, P. M., Habeab, B. P., Devi, S., Jatav, R. S. & Dimri, U. (2013). Role of trace elements in animals: a review. *Veterinary World*, 6(12), 963-967.
77. Yousef, M. I., El Hendy, H. A., El-Demerdash, F. M. & Elagamy, E. I. (2002). Dietary zinc deficiency induced-changes in the activity of enzymes and the levels of free radicals, lipids and protein electrophoretic behavior in growing rats. *Toxicology*, 175(1), 223-234.
78. Yuzbasiyan-Gurkan, V., Grider, A., Nostrant, T., Cousins, R. J. & Brewer, G. J. (1992). Treatment of Wilson's disease with zinc: X. Intestinal metallothionein induction. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 120(3), 380-386.
79. Zaboli, K., Aliarabi, H., Bahari, A. A. & Abbasalipourkabir, R. (2013). Role of dietary nano-zinc oxide on growth performance and blood levels of mineral: A study on in Iranian Angora (Markhoz) goat kids. Int Advis. *Journal of Pharmaceutical and Health Sciences*, *2*(1), 19-26.
80. Zali, A. & Ganjkhanlou, M. (2009). Effect of zinc from zinc sulfate on trace mineral concentrations of milk in Varamini ewes. *African Journal of Biotechnology*, 8(22), 6464-6469.