

The effect of using different forms of chromium on hematological parameters and antioxidant status of *Afshar* ewes in the transition period and their lambs under the influence of heat stress

Abstract

The present study aims to investigate the effect of different forms of chromium (inorganic chromium, chromium-methionine and chromium nanoparticles) on blood parameters, antioxidant status and immunoglobulin of *Afshar* ewes during the transition period and lambs. They were done under the influence of heat stress. 40 pregnant *Afshar* ewes from 42 ± 2 days before the expected parturition in a completely randomized design. Four experimental treatments were assigned with ten replications. Experimental treatments include basic diet without chromium supplement (control), basic diet containing 3 mg of chromium in mineral form per kg of dry matter, basic diet containing 3 mg of chromium in the form of chromium-methionine per kg of dry matter and The basic diet contained 3 mg of chromium in the form of chromium nanoparticles per kilogram of dry matter. The results showed that the addition of different forms of chromium to the ewes' diet caused a significant increase in the concentration of red blood cells, hemoglobin and blood hematocrit compared to the control group ($P < 0.05$). Adding chromium to the diet of ewes caused a significant decrease in white blood cells ($P < 0.05$). In experimental treatments, no significant difference was observed in terms of platelets, average volume of red blood cells, average concentration of red blood cells, neutrophils, lymphocytes, monocytes, and eosinophils. The concentration of superoxide desmutase, glutathione peroxidase, catalase, triiodothyronine and tetraiodothyronine in the blood in the treatments receiving different forms of chromium also increased compared to the control group ($P < 0.05$). The results showed that the concentration of malondialdehyde and total antioxidant capacity in ewes and lambs receiving chromium supplementation was lower than the control treatment ($P < 0.05$). However, there was no significant difference between different experimental treatments in terms of ceruloplasmin concentration and the ratio of T4 to T3 ($P < 0.05$). The concentration of IgG and IgM in lambs receiving different forms of chromium also increased compared to the control group ($P < 0.05$). In general, the use of chromium, especially in the form of chromium-methionine and chromium nanoparticles, is recommended during the transition period of ewes under the influence of heat stress.

Keywords: *Afshari Ewe, Antioxidant Status, Chromium, Heat Stress, Transition Period.*

تأثیر استفاده از شکل‌های مختلف کروم بر فراسنجه‌های هماتولوژی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی میش‌های افشار در دوره‌ی انتقال و بره‌های آن‌ها تحت تأثیر تنش گرمایی

چکیده

پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر استفاده از شکل‌های مختلف کروم (کروم معدنی، کروم-متیونین و نانو ذرات کروم) بر فراسنجه‌های خونی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و ایمونوگلوبین میش‌های افشار در دوره‌ی انتقال و بره‌های آن‌ها تحت تأثیر تنش گرمایی انجام شد. چهل رأس میش افشاری آبستن از 42 ± 2 روز پیش از زایش مورد انتظار در قالب طرح کاملاً تصادفی به چهار تیمار آزمایشی با ده تکرار اختصاص یافتند. تیمارهای آزمایشی شامل جیره پایه بدون مکمل کروم (شاهد)، جیره پایه حاوی ۳ میلی‌گرم کروم به شکل معدنی به ازای هر کیلوگرم ماده خشک، جیره پایه حاوی ۳ میلی‌گرم کروم به شکل کروم-متیونین به ازای هر کیلوگرم ماده خشک و جیره پایه حاوی ۳ میلی‌گرم کروم به شکل نانو ذرات کروم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک بودند. نتایج نشان داد که، افزودن شکل‌های مختلف کروم به جیره میش‌ها سبب افزایش معنی‌دار غلظت گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت خون نسبت به گروه شاهد شده است ($P < 0.05$). افزودن شکل‌های مختلف کروم به جیره میش‌ها سبب کاهش معنی‌دار گلبول‌های سفید شد ($P < 0.05$). در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری از نظر پلاکت، حجم متوسط گلبول قرمز خون، میانگین غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل خون مشاهده نشد. غلظت سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز، تری‌یدوتیرونین و تترا‌یدوتیرونین خون در تیمارهای دریافت‌کننده شکل‌های مختلف کروم نسبت به گروه شاهد نیز افزایش یافت ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که، غلظت مالون دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در میش و بره‌های دریافت‌کننده مکمل کروم کمتر از تیمار شاهد بوده است ($P < 0.05$). هرچند اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف آزمایشی از نظر غلظت سرولولپلاسمین و نسبت T_4 به T_3 وجود نداشت ($P > 0.05$). غلظت IgM و IgG در بره‌های دریافت‌کننده شکل‌های مختلف کروم نسبت به گروه شاهد نیز افزایش یافت ($P < 0.05$). به‌طور کلی دریافت کروم به‌ویژه به شکل‌های کروم-متیونین و نانوذرات کروم در دوره‌ی انتقال میش‌ها تحت تأثیر تنش گرمایی قابل توصیه می‌باشد.

کلمات کلیدی: تنش گرمایی، دوره‌ی انتقال، کروم، وضعیت آنتی‌اکسیدانی، میش افشاری.

مقدمه

در زمان پیرامون زایش، دام‌ها، تنظیمات متابولیکی بسیاری برای پشتیبانی انتقال از دوره بارداری به شیردهی انجام می‌دهند (Arruda *et al.*, 2013). علاوه بر این دام‌های شیری بیش از توانایی خود برای مصرف انرژی، شیر تولید می‌کنند در نتیجه در اوایل شیردهی در بالانس منفی انرژی قرار می‌گیرند (Duffield *et al.*, 2012)، که ممکن است موجب کاهش ماندگاری دام در گله شده و در افزایش نرخ

حذف دام شیری مؤثر باشد (Meyer et al., 2011). تنش‌های گرمایی در اواخر آبستنی با محدودیت انرژی تشدید می‌شوند. شرایط محیطی و تغذیه نامناسب همراه با تغییرات فیزیولوژیک در اواخر آبستنی و نزدیک به زایش، مثل تغییر در ترشح پروژسترون، لاکتوفرین و استرادیول ۱۷-بتا، سبب القای مقاومت انسولینی در مادر می‌شود (Moezzi et al., 2012). از آنجایی که دو ماه آخر آبستنی (اواخر آبستنی) ۷۵ درصد رشد جنین را تشکیل می‌دهد (Robinson et al., 1977) غنی‌سازی رژیم غذایی مادر، می‌تواند پیامدهای مثبتی بر سلامت و عملکرد کلی مادر و فرزندان داشته باشد (Harvey et al., 2021). در چنین شرایطی بکارگیری روش‌های مدیریتی و تغذیه‌ای سبب کاهش مشکلات در دوره انتقال و تنش‌های گرمایی می‌شود (Kargar et al., 2018). یکی از راهکارهای بهینه‌سازی شرایط تولیدی و تولیدمثلی دام، از طریق بهبود متابولیسم مواد مغذی و رفع یا کاهش شرایط تنش، استفاده از کروم به‌عنوان بهبوددهنده‌های متابولیسی می‌باشد (Meyer et al., 2011).

پیشینه پژوهش

مکمل کروم ممکن است باعث کاهش لیپولیز در گاوهای انتقال از آبستنی به شیردهی شود، از این رو مصرف خوراک، سلامت و تولید را بهبود می‌بخشد (Yari et al., 2011; Pantelić et al., 2018; Kargar et al., 2018). بررسی‌ها نشان می‌دهند که افزودن کروم به جیره گاوهای شیری، موجب بهبود تولیدمثل و جلوگیری از کاهش وزن بعد از زایش (Stahlhut et al., 2006) و در تلیسه‌ها موجب افزایش رشد آنها می‌شود (Spears, 2019). مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که مصرف کروم در خوراک گوساله‌های تحت استرس گرمایی موجب افزایش وزن آنها و بهبود ضریب تبدیل در شرایط استرس از شیرگیری می‌شود (Uyanik, 2001). در پژوهشی که بر روی بزها با جیره حاوی کروم انجام گرفت آمده‌است که مصرف کروم سبب افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک می‌شود (Abdelnour et al., 2019). لذا کروم باید به‌عنوان یک عنصر ضروری و مهم در شرایط استرس از طریق مکمل‌های خوراکی تأمین شود (Lashkari et al., 2018; Mousavi et al., 2019). منابع علمی میزان کروم مورد نیاز برای گوسفند ۳ تا ۵ میلی‌گرم در روز و برای گاو شیری ۱۵ تا ۵۰ میلی‌گرم در روز پیشنهاد کردند (Mousaie et al., 2014; Arruda et al., 2013; Phan et al., 2019). کروم معدنی زیست‌فراهمی در حدود ۰/۵ درصد دارد (Ohh & Lee, 2005) در حالیکه کروم آلی بیش از ۲۵ درصد جذب روده‌ای دارد (Moreira et al., 2020) و از این رو مصرف کروم معدنی به‌دلیل زیست‌فراهمی پایین و اثرات سمی آن، توصیه نمی‌شود. بسیاری از پژوهشگران معتقدند که زیست‌فراهمی منابع معدنی عناصر معمولاً کمتر از شکل‌های نانو و کمپلکس‌های آلی است (Phan et al., 2017; Hill & Li, 2019) به دلیل فراهمی زیستی، احتمالاً از نانوذرات آلی برای افزایش ارزش غذایی سیستم‌های خوراکی استفاده خواهد شد (Travan et al., 2009; Hassan et al., 2017; Kargar et al., 2018). علاوه بر این مواد معدنی نانو اثرات مفید قابل توجه خود را حتی در دوزهای کمتر از منابع معدنی معمولی نشان داده‌اند (Yari et al., 2010; Choi et al., 2010). بیشتر پژوهشگران بر این باورند که اثرات مثبت کروم بر عملکرد رشد، بیشتر در شرایط تنش خود را نشان می‌دهد (Besong et al., 2001).

روش شناسی پژوهش

این پژوهش در یک واحد گوسفندداری صنعتی واقع در شهرستان بندرگز و در تابستان ۱۴۰۰ انجام گرفت. چهل رأس میش افشاری آبستن با میانگین وزنی $53 \pm 2/7$ از 42 ± 5 روز پیش از زایش مورد انتظار در قالب طرح کاملاً تصادفی به چهار تیمار آزمایشی با ده تکرار اختصاص یافتند. تیمارهای آزمایشی شامل جیره پایه بدون مکمل کروم (شاهد)، جیره پایه حاوی ۳ میلی‌گرم کروم به شکل معدنی به ازای هر کیلوگرم ماده خشک، جیره پایه حاوی ۳ میلی‌گرم کروم به شکل کروم-متیونین به ازای هر کیلوگرم ماده خشک و جیره پایه حاوی ۳ میلی‌گرم کروم به شکل نانو ذرات کروم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک بودند. جیره پایه بر اساس جداول انجمن ملی تحقیقات گوسفند (NRC, 2007) تنظیم شد که در جدول ۱ آمده‌است و مکمل‌ها روزانه به صورت سرک به جیره پایه اضافه شد (Kargar et al., 2018). میش‌ها همگی از نظر سن، تعداد جنین، وزن، تاریخ زایش مورد انتظار و رنگ متعادل بودند. صحت آبستنی و زمان احتمالی زایش از طریق همزمان سازی آبستنی و سونوگرافی میش‌ها قبل از آزمایش به تایید رسید. آزمایش از ۴۲ روز قبل زایش شروع شد و به مدت ۸۴ روز بطول انجامید. آزمایش از ۴۲ روز قبل زایش شروع شد و به مدت ۸۴ روز بطول انجامید.

جدول ۱. مواد تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره میش‌ها

اجزای تشکیل جیره قبل از زایش (درصد ماده خشک)		اجزای تشکیل جیره بعد از زایش (درصد ماده خشک)	
کاه گندم	۵/۷	کاه گندم	۳۴
یونجه	۳۲	یونجه	۳۰
سیلوی ذرت	۳۰	دانه ذرت	۱۹/۷۵
دانه ذرت	۱۸/۵	کنجاله سویا	۷/۷۵
کنجاله سویا	۷/۲	تقاله چغندر قند	۲
تقاله چغندر قند	۱	سبوس گندم	۲/۷
سبوس گندم	۲/۹	پودر چربی	۲/۸
پودر چربی	۱/۵	کربنات کلسیم	۰/۴۲
کربنات کلسیم	۰/۷	نمک	۰/۳۳
نمک	۰/۳	مکمل معدنی-ویتامینی	۰/۲۵
مکمل معدنی-ویتامینی*	۰/۲		

ترکیب شیمیایی		ترکیب شیمیایی	
مقدار	مواد مغذی جیره	مقدار	مواد مغذی جیره
۲/۵۴	انرژی متابولیسی (کیلوکالری/کیلوگرم)	۲/۴۴	انرژی متابولیسی (کیلوکالری/کیلوگرم)
۱۴/۴۰	پروتئین خام (درصد)	۱۴/۴۰	پروتئین خام (درصد)
۵/۲۰	چربی خام (درصد)	۴/۱۰	چربی خام (درصد)
۳۲/۱۰	کربوهیدرات‌های غیر فیبری (درصد)	۳۲/۸۰	کربوهیدرات‌های غیر فیبری (درصد)
۴۰/۹۰	فیبر نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	۴۴/۲۰	فیبر نامحلول در شوینده خنثی (درصد)
۲۵/۰۰	نشاسته (درصد)	۲۱/۶۰	نشاسته (درصد)
۸/۴۰	خاکستر (درصد)	۷/۸۸	خاکستر (درصد)
۰/۸۹	کلسیم (درصد)	۱/۴۲	کلسیم (درصد)
۰/۵۲	فسفر (درصد)	۰/۷۱	فسفر (درصد)
۰/۸۲	کروم (میلی‌گرم/کیلوگرم)	۰/۷۹	کروم (میلی‌گرم/کیلوگرم)

* هر کیلوگرم حاوی: ۱۴۰ گرم کلسیم، ۲۰ گرم فسفر، ۳۵ گرم منیزیم، ۴۰ گرم گوگرد، ۱۲۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۸۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰ میلی‌گرم منیزیم، ۴۰۰ میلی‌گرم آهن، ۱۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم نیاسین و ۳۵۰۰۰۰، ۶۰۰۰۰ و ۴۰۰۰ واحد بین المللی A، D و E به ترتیب و ۶۵۰ گرم نمک آبیونی.

خونگیری

از میش‌ها در روز ۷ قبل از زایش، و از بره‌ها در روز ۷ پس از تولد، سه ساعت پس از تغذیه صبح از سیاه‌رگ گردنی (وداج) نمونه خون گرفته شد. عمل خون‌گیری با استفاده از لوله‌های ونوجکت هپارین‌دار و بدون هپارین صورت گرفت و بلافاصله نمونه‌ها به منظور جداسازی پلاسما در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و تا روز آزمایش در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پارامترهای خون‌شناختی از جمله گلبول‌های سفید خون، نوتروفیل، ائوزینوفیل، لمفوسیت و مونوسیت اندازه‌گیری شد و گلبول‌های قرمز خون، هموگلوبین، هماتوکریت، حجم متوسط گلبول‌های قرمز، میانگین هموگلوبین سلولی و میانگین غلظت هموگلوبین سلولی نیز با استفاده از روش شمارش سلولی خودکار (Automatic Syfmex model NKX-21) تعیین گردید. برای اندازه‌گیری متابولیت‌های خون شامل سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز، مالون دی‌آلدئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، سروپلاسمین، تری‌یدوتیرونین و تترا‌یدوتیرونین با استفاده از کیت‌های ساخت شرکت پارس آزمون (پارس آزمون، ایران)، با استفاده از طیف‌سنج فتومتریک (UV-Vis model 365 LAMBDA, PerkinElmer, NY, USA) با طول موج تابش خاص برای هر عنصر اندازه‌گیری شدند. پارامترهای ایمونولوژیک شامل ایمونوگلوبولین G و ایمونوگلوبولین M سرم خون توسط کیت شرکت پارس آزمون (پارس آزمون، ایران) و دستگاه الیزا (ELX808. TEX-Bio, BioTek Instruments, Frankfurt, Germany) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در نهایت اطلاعات حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۱۰ تکرار بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS ویرایش ۹/۱ صورت گرفت. مدل آماری و فرضیات آزمایش به صورت زیر بود و مقایسات میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد.

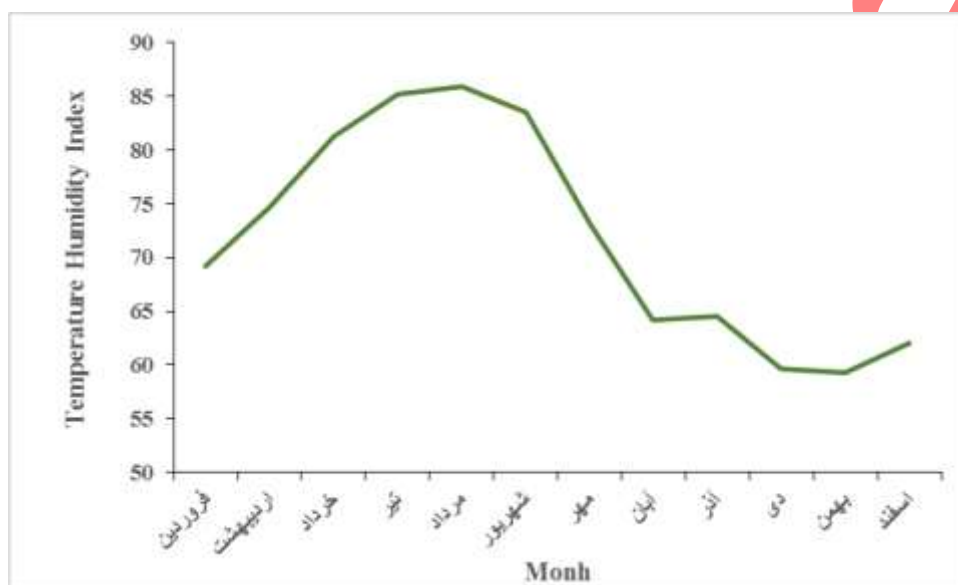
$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Y_{ij} = مقدار مشاهده تیمار i ام در تکرار j ام، μ = اثر میانگین، T_i = اثر تیمار i ام، e_{ij} = اثر خطای آزمایشی مربوط به تیمار i ام در تکرار j ام

شاخص دمایی-رطوبتی (THI)

جهت محاسبه شاخص دمایی-رطوبتی از داده‌های اداره هواشناسی شهرستان بندرگز استفاده شد. پژوهش حاضر بین ماه‌های جولای تا سپتامبر انجام شد که در شکل ۱ آمده است. داده‌های بدست آمده شامل حداکثر، حداقل و میانگین دما و درصد رطوبت نسبی روزانه بود که بر اساس فرمول آلفانو محاسبه گردید:

$$THI = 46/4 + (14/4 - \text{بیشینه دما}) \times (100 / \text{کمینه رطوبت نسبی}) + 0/8 \times \text{دما}$$



شکل ۱. شاخص دمایی-رطوبتی شهرستان بندرگز

یافته های پژوهش

اطلاعات حاصل از نتایج تاثیر شکل‌های مختلف کروم بر فراسنجه‌های هماتولوژی میش‌های آبستن و بره‌های آن‌ها در جدول ۲ و ۳ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد افزودن شکل‌های مختلف کروم به جیره سبب افزایش معنی‌دار گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت میش و بره‌ها نسبت به گروه شاهد شده است ($P < 0/05$). از طرفی دیگر افزودن کروم معدنی، کروم-متیونین و نانو ذرات کروم به جیره میش‌ها سبب کاهش معنی‌دار گلبول‌های سفید شد ($P < 0/05$) که بیشترین و کمترین میزان مربوط به تیمار شاهد و نانو ذرات کروم بوده است. در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری از نظر پلاکت، حجم متوسط گلبول قرمز خون، میانگین غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل خون مشاهده نشد. همچنین شکل‌های مختلف کروم سبب افزایش میانگین هموگلوبین سلولی و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز بره‌ها شده است ($P < 0/05$).

جدول ۲. تاثیر شکل‌های مختلف کروم بر فراسنجه‌های هماتولوژی میش‌های آبستن

P-value	SEM	شکل‌های مختلف کروم			شاهد	فراسنجه‌های هماتولوژی (میش‌های آبستن)
		نانو ذرات کروم	کروم-متیونین	کروم معدنی		
0/0001	2/007	15/44 ^a	15/00 ^a	12/85 ^b	11/09 ^c	گلبول‌های قرمز (T/L)
0/0001	1/109	9/83 ^a	9/75 ^a	8/41 ^a	7/55 ^b	هموگلوبین (میلی‌مول/لیتر)

۰/۰۰۰۱	۰/۰۳۹	۰/۴۷ ^a	۰/۴۴ ^a	۰/۴۵ ^a	۰/۳۳ ^b	هماتوکریت (L/L)
۰/۶۸۴۹	۵۱/۲۴۲	۷۶۹/۹۹	۷۸۴/۵۵	۷۵۶/۶۹	۷۴۸/۴۴	پلاکت (G/L)
۰/۵۶۵۶	۲/۶۴۴	۳۰/۲۱	۲۹/۹۴	۳۱/۴۶	۲۹/۰۲	حجم متوسط گلبول قرمز (فمتولیترا)
۰/۴۱۰۱	۰/۰۹۹	۰/۸۵	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۸۰	میانگین هموگلوبین سلولی (فمتومول)
۰/۰۰۴۴	۰/۹۹۵	۲۱/۳۳	۲۰/۹۸	۲۱/۴۴	۲۰/۵۱	میانگین غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز (میلی‌مول/لیتر)
۰/۰۱۱۷	۱/۰۱۵	۹/۱۵ ^c	۹/۴۳ ^c	۱۰/۸۶ ^b	۱۲/۰۰ ^a	گلبول‌های سفید (G/L)
۰/۵۴۲۸	۰/۶۶۶	۹/۰۰	۸/۹۵	۸/۶۱	۸/۸۷	نوتروفیل (درصد)
۰/۴۹۹۲	۰/۰۴۹	۲/۳۴	۲/۳۳	۲/۴۰	۲/۴۱	لنفوسیت (درصد)
۰/۶۴۱۲	۵/۰۲۲	۵۵/۷۸	۵۴/۰۱	۵۴/۶۶	۵۴/۸۴	مونوسیت (درصد)
۰/۷۴۰۳	۲/۲۸۹	۳۵/۰۱	۳۳/۷۸	۳۴/۸۷	۳۵/۲۰	اوتوزینوفیل (درصد)

^{a-b}: حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

جدول ۳. تاثیر شکل‌های مختلف کروم بر فراسنجه‌های هماتولوژی بره‌های تازه متولد شده

P-value	SEM	شکل‌های مختلف کروم			شاهد	فراسنجه‌های هماتولوژی (بره‌های تازه متولد شده)
		نانو ذرات کروم	کروم-متیونین	کروم معدنی		
۰/۰۰۰۱	۱/۷۱۵	۱۲/۸۵ ^a	۱۳/۰۱ ^a	۱۱/۱۵ ^b	۸/۸۳ ^c	گلبول‌های قرمز (T/L)
۰/۰۳۰۱	۰/۷۲۹	۹/۱۳ ^a	۹/۰۵ ^a	۸/۱۱ ^a	۶/۶۷ ^b	هموگلوبین (میلی‌مول/لیتر)
۰/۰۲۱۱	۰/۰۶۶	۰/۴۱ ^a	۰/۴۰ ^a	۰/۳۵ ^a	۰/۲۱ ^b	هماتوکریت (L/L)
۰/۴۱۲۴	۴۵/۶۷۷	۸۰۷/۶۲	۸۱۷/۵۵	۷۹۹/۱۷	۸۲۴/۱۲	پلاکت (G/L)
۰/۴۱۷۹	۲/۰۱۵	۳۰/۶۵	۲۹/۷۶	۲۹/۱۱	۲۸/۵۷	حجم متوسط گلبول قرمز (فمتولیترا)
۰/۰۰۰۱	۰/۱۷۵	۰/۸۵ ^a	۰/۸۳ ^a	۰/۸۴ ^a	۰/۷۵ ^b	میانگین هموگلوبین سلولی (فمتومول)
۰/۰۰۴۴	۱/۸۸۷	۲۴/۰۱ ^a	۲۳/۸۸ ^a	۲۲/۷۶ ^a	۱۹/۵۸ ^b	میانگین غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز (میلی‌مول/لیتر)
۰/۵۶۵۱	۰/۷۲۵	۹/۰۸	۹/۲۱	۹/۱۵	۹/۰۲	گلبول‌های سفید (G/L)
۰/۷۶۵۵	۰/۸۱۷	۹/۲۶	۹/۲۵	۹/۲۱	۹/۱۶	نوتروفیل (درصد)
۰/۶۱۶۱	۰/۰۵۵	۲/۳۰	۲/۲۸	۲/۳۱	۲/۲۵	لنفوسیت (درصد)
۰/۵۷۷۳	۴/۱۹۹	۵۴/۸۸	۵۵/۰۱	۵۴/۶۶	۵۵/۴۷	مونوسیت (درصد)
۰/۸۸۰۲	۲/۳۱۳	۳۴/۰۱	۳۳/۶۵	۳۲/۱۷	۳۴/۱۱	اوتوزینوفیل (درصد)

^{a-b}: حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

اطلاعات مربوط به تاثیر شکل‌های مختلف کروم بر فراسنجه‌های هماتولوژی خون میش‌های آبستن و بره‌های تازه متولد شده در جدول ۴ و ۵ ارائه شده است. باتوجه به نتایج بدست آمده، غلظت سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز، تری‌یدوتیرونین و تترا‌یدوتیرونین خون در تیمارهای دریافت‌کننده شکل‌های مختلف کروم نسبت به گروه شاهد نیز افزایش یافت ($P < 0.05$). هرچند غلظت مالون دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در میش و بره‌های دریافت‌کننده مکمل کروم کمتر از تیمار شاهد بوده است ($P < 0.05$). در صورتیکه اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف آزمایشی از نظر غلظت سرولوپلاسمین و نسبت T₄ به T₃ وجود نداشت ($P > 0.05$).

جدول ۴. تاثیر شکل‌های مختلف کروم بر فراسنجه‌های خونی میش‌های آبستن

P-value	SEM	شکل‌های مختلف کروم			شاهد	فراسنجه‌های خونی (میش‌های آبستن)
		نانو ذرات کروم	کروم-متیونین	کروم معدنی		
۰/۰۰۰۱	۴/۰۰۱	۳۱/۸۵ ^a	۳۰/۴۱ ^a	۲۱/۶۶ ^b	۱۸/۰۴ ^c	سوپراکسید دسموتاز (واحد/میلی‌گرم پروتئین)
۰/۰۰۰۱	۰/۹۲۱	۸/۱۷ ^a	۸/۰۸ ^a	۷/۴۱ ^a	۶/۴۷ ^b	گلوتاتیون پراکسیداز (nmol NADPH ox/mg)
۰/۰۰۱۱	۰/۰۴۶	۰/۵۱ ^a	۰/۵۰ ^a	۰/۵۵ ^a	۰/۴۱ ^b	کاتالاز (واحد/میلی‌گرم پروتئین)
۰/۰۰۲۴	۰/۰۴۷	۱/۲۳ ^b	۱/۲۵ ^b	۱/۲۷ ^b	۱/۴۴ ^a	مالون دی‌آلدئید (نانومول/میلی‌لیتر)
۰/۰۰۰۱	۰/۱۵۲	۱/۰۳ ^c	۱/۱۰ ^c	۱/۲۶ ^b	۱/۵۳ ^a	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (میلی‌مول/لیتر)
۰/۳۳۳۱	۰/۳۳۳	۱۹/۸۴	۲۰/۰۱	۱۹/۵۵	۱۹/۶۱	سرولوپلاسمین (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)

۰/۰۰۴۱	۰/۸۱۱	۱۱/۸۱ ^a	۱۱/۸۵ ^a	۱۰/۱۹ ^{ab}	۹/۷۵ ^b	تری یدوتیرونین (نانومول/میلی لیتر)
۰/۰۰۱۱	۱۲/۰۰۷	۱۲۴/۵۱ ^a	۱۲۳/۸۹ ^a	۱۱۴/۰۶ ^{ab}	۱۰۰/۵۸ ^b	تترا یدوتیرونین (نانومول/میلی لیتر)
۰/۷۴۸۱	۰/۶۶۲	۱۰/۵۲	۱۰/۴۵	۱۱/۱۹	۱۰/۳۱	نسبت T ₃ به T ₄

^{a-b}: حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد (P < ۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

جدول ۵. تاثیر شکل های مختلف کروم بر فراسنجه های خونی بره های تازه متولد شده

P-value	SEM	شکل های مختلف کروم			شاهد	فراسنجه های خونی (بره های تازه متولد شده)
		نانو ذرات کروم	کروم-متیونین	کروم معدنی		
۰/۰۲۲۱	۲/۶۲۵	۲۲/۸۶ ^a	۲۱/۴۲ ^a	۱۷/۰۱ ^b	۱۴/۷۷ ^c	سوپراکسید دسموتاز (واحد/میلی گرم پروتئین)
۰/۰۰۰۱	۱/۰۲۳	۸/۵۶ ^a	۸/۴۱ ^a	۸/۲۶ ^a	۷/۰۷ ^b	گلوتاتیون پراکسیداز (nmol NADPH ox/mg)
۰/۰۰۲۲	۰/۰۳۳	۰/۴۲ ^a	۰/۴۱ ^a	۰/۳۷ ^a	۰/۲۶ ^b	کاتالاز (واحد/میلی گرم پروتئین)
۰/۰۰۰۱	۰/۲۰۱	۱/۱۱ ^b	۱/۱۳ ^b	۱/۱۶ ^b	۱/۲۶ ^a	مالون دی آلدئید (نانومول/میلی لیتر)
۰/۰۰۰۱	۰/۱۷۸	۱/۰۰ ^c	۱/۰۸ ^c	۱/۲۱ ^b	۱/۴۰ ^a	ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (میلی مول/لیتر)
۰/۴۰۲۱	۰/۴۱۱	۱۸/۷۵	۱۹/۰۰	۱۹/۰۵	۱۸/۷۱	سرولوپلاسمین (میلی گرم/دسی لیتر)
۰/۰۰۰۱	۰/۷۶۹	۱۰/۹۱ ^a	۱۰/۷۵ ^a	۱۰/۰۹ ^{ab}	۹/۸۲ ^b	تری یدوتیرونین (نانومول/میلی لیتر)
۰/۰۰۰۱	۸/۹۷۲	۱۰۴/۵۹ ^a	۱۰۳/۹۳ ^a	۱۰۴/۲۳ ^a	۹۸/۵۱ ^b	تترا یدوتیرونین (نانومول/میلی لیتر)
۰/۵۰۲۱	۰/۴۹۱	۹/۵۸	۹/۶۶	۹/۶۹	۹/۷۶	نسبت T ₃ به T ₄

^{a-b}: حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد (P < ۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

اطلاعات مربوط به تاثیر شکل های مختلف کروم بر ایمونوگلوبولین سرم خون بره های تازه متولد شده در جدول ۶ ارائه شده است. باتوجه به نتایج بدست آمده، غلظت ایمونوگلوبولین جی (IgG) و ایمونوگلوبولین ام (IgM) در بره های دریافت کننده شکل های مختلف کروم نسبت به گروه شاهد نیز افزایش یافت (P < ۰/۰۵). بیشترین و کمترین غلظت ایمونوگلوبولین در تیمار دریافت کننده نانو ذرات کروم و شاهد بوده است.

جدول ۶. تاثیر شکل های مختلف کروم بر ایمونوگلوبولین سرم خون بره های تازه متولد شده

P-value	SEM	شکل های مختلف کروم			شاهد	ایمونوگلوبولین سرم خون (بره های تازه متولد شده)
		نانو ذرات کروم	کروم-متیونین	کروم معدنی		
۰/۰۰۰۱	۱/۵۲۱	۱۴/۹۱ ^a	۱۴/۴۹ ^a	۱۲/۷۲ ^b	۱۱/۸۴ ^c	IgG (میلی گرم/میلی لیتر)
۰/۰۰۰۱	۰/۰۴۰	۱/۰۱ ^a	۰/۹۵ ^a	۰/۹۱ ^a	۰/۷۷ ^b	IgM (میلی گرم/میلی لیتر)

^{a-b}: حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد (P < ۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

بحث

استرس گرمایی با جلوگیری از تکثیر لنفوسیت ها، فعال شدن فاکتورهای لنفوسیت ها و تولید فاکتورهای رشد سلول T منجر به کاهش سیستم ایمنی می شود (Munck et al., 1984). به همین منظور پارامترهای خونی را می توان برای ارزیابی رفاه حیوانات استفاده کرد. هماتوکریت درصد گلبول های قرمز خون را نشان می دهد که سلول های غنی از هموگلوبین هستند، متالوپروتئینی که مسئول انتقال اکسیژن به بافت های بدن است. طبق Broucek et al (2009)، حیوانات در مواجهه با استرس گرمایی مزمن، واسطه های متابولیک خون را از دست می دهند و در نتیجه غلظت هموگلوبین و هماتوکریت کاهش می یابد. گلبول های قرمز مسئول اکسیژن رسانی بافت هستند، بنابراین هر چه تعداد گلبول های قرمز بیشتر باشد به طور مستقیم بر ظرفیت اکسیژن رسانی بافت تأثیر می گذارد. نتایج نشان می دهد

فعالیت ایمنولوژیکی مکمل کروم سبب کاهش تأثیر منفی استرس حرارتی و بهبود سیستم ایمنی در نشخوارکنندگان می‌شود (Qi et al., 2018). پژوهشگران گزارش کردند که افزودن ۱ میلی‌گرم در هر کیلوگرم ماده خشک جیره مکمل کروم، تأثیرات مثبتی بر ایمنی سلولی و ایمنی هومورال در گوساله‌های گاو میش تحت استرس حرارتی در پی دارد (Kumar et al., 2015). آن‌ها گزارش کردند که تیمار افزودن ۱ میلی‌گرم کروم در طی مراحل آزمایش بالاترین مقادیر پاسخ ایمنی را نشان داد. مشخص شد که گوساله‌های گاو میش دریافت‌کننده کروم نسبت به تیمار شاهد تکثیر مقادیر نفوسیت B و T، فعالیت فاگوسیتوز نوتروفیل‌ها و ایمنوگلوبولین پلاسما را افزایش می‌دهند. همچنین محققان متعددی گزارش کرده‌اند که مصرف کروم سبب افزایش قابل توجهی در تکثیر نفوسیت‌ها می‌شود (Chang & Kumar et al., 2015; Mowat, 1992; Burton et al., 1993; Kumar et al., 2015). کروم ممکن است با افزایش ایمنوگلوبولین (IgM) و کاهش سطح کورتیزول خون در گوساله‌های گاو میش در مقایسه با گروه شاهد، وضعیت ایمنی را بهبود بخشد (Kumar et al., 2015; Abdelnour et al., 2019). همچنین، مطالعات بر روی گوساله‌های تحت استرس‌های قطع شیر، حمل و نقل و محدودیت مصرف نیز نشان داد که استفاده از کروم در خوراک آنها موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی و کاهش ابتلا به بیماری‌های تنفسی می‌شود (Spears, 2000). گزارش شده است که ایمنی با واسطه سلولی گاوهای اواخر آبستنی و اوایل شیردهی به مکمل کروم پاسخ می‌دهد، که نشان دهنده پاسخ بلاستوژنیک بالاتر نفوسیت‌های خون به فیتوماگلوآنتی‌جین است (Gentry et al., 1999). مطالعه‌ای اثر مکمل‌سازی کروم بر روی گاوها را بررسی و گزارش کردند که مکمل کروم باعث کاهش مونسیت می‌شود (Keshri et al., 2021). گزارش شده است که شمارش خون کل لکوسیت‌ها و نفوسیت‌ها و نسبت نوتروفیل به نفوسیت در بزهای تغذیه شده با مکمل کروم افزایش یافته است (Haldar et al., 2009). به طور مشابه، گزارش شده است که نفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها در گوساله‌هایی که از مکمل کروم تغذیه می‌کنند، افزایش یافته است (Arthington et al., 1997). بطور کلی نتایج پژوهشگران نشان می‌دهند که استفاده از کروم سبب بهبود ایمنی می‌شود (Burton et al., 1993; Moonsie-Shageer & Mowat, 1993; Kegley & Spears, 1995)؛ در حالی که برخی دیگر اثر مکمل کروم را بر پاسخ ایمنی در نشخوارکنندگان مطالعه کرده‌اند و گزارش کرده‌اند که مکمل کروم هیچ تأثیری بر پاسخ‌های ایمنی و عملکرد نوتروفیل نداشته است (Yuan et al., 2014; Kegley & Spears, 1995; Chang et al., 1996; Faldyna et al., 2003; Domínguez-Vara et al., 2012; Kafilzadeh et al., 2012; Bernhard et al., 2009). پژوهشگران گزارش کردند که پاسخ غلظت گلوکز و انسولین به مکمل کروم ممکن است تا حدی به کاهش سطح کورتیزول خون نسبت داده شود. استرس و کورتیزول سرکوب کننده‌های سیستم ایمنی شناخته شده‌ای هستند (Munck et al., 1984; Khansari et al., 1990). اگرچه مسیر خاصی که کروم سیستم ایمنی را بهبود می‌بخشد هنوز مشخص نشده است، مطالعات نشان داد که کروم باعث سطوح سرم کورتیزول می‌شود (Depew et al., 1998; Besong et al., 2012; Kafilzadeh et al., 2001). مشخص شده است که کورتیزول بالاتر با مهار تولید و عملکرد آنتی‌بادی‌ها و کاهش تعداد و فعالیت نفوسیت‌ها، سرکوب کننده سیستم ایمنی است (Sordillo & Aitken, 2009). همچنین، انسولین و کورتیزول به طور متضاد بر متابولیسم عمل می‌کنند و به خوبی ثابت شده است که مکمل کروم پتانسیل افزایش سطح انسولین را دارد. بنابراین، این آنتاگونیست و تغییر متابولیسم عمومی بدن توسط کروم فرآیندهای تولید، تکثیر و فعال سازی سلول‌های ایمنی و همچنین مقاومت بدن در برابر بیماری‌ها شود. تناقض بین مطالعات انجام شده به نظر می‌رسد به عوامل دیگری مانند نوع و شدت موقعیت استرس‌زا که حیوان در آن قرار می‌گیرد، جیره پایه، نوع دام و شکل شیمیایی مکمل کروم در تعدیل پاسخ ایمنی هومورال دخیل است.

از طرفی دیگر افزایش دما باعث استرس گرمایی می‌شود که عملکرد فیزیولوژیکی حیوانات را تغییر می‌دهد و بر پایداری تولید دام تأثیر می‌گذارد (Das et al., 2016; Bagath et al., 2019; Keshri et al., 2021). در شرایط عادی، رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط بدن توسط سیستم آنتی‌اکسیدانی خنثی می‌شوند (Sun et al., 2019). استرس گرمایی باعث افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود، تولید پراکسیدهای لیپیدی را در غشای سلولی تقویت می‌کند و عملکرد دفاعی آنتی‌اکسیدانی را تضعیف می‌کند و در نتیجه باعث استرس اکسیداتیو می‌شود (Marcén et al., 2017). مطالعات نشان می‌دهد که پرورش گاو در یک محیط گرم منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود (Bernabucci et al., 2002). زمانی که استرس اکسیداتیو رخ می‌دهد، گونه‌های اکسیژن فعال (ROS^2) بیش از حد تولید و انباشته می‌

² Reactive Oxygen Species

شوند، که ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی را که حیوانات را مستعد بیماری‌های متابولیک می‌کند، تحت تأثیر قرار می‌دهد (Gong & Xiao, 2016). خوشبختانه، بدن دارای آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند سوپراکسید دسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز است که می‌تواند از اثرات منفی ROS محافظت کند (Das et al., 2015). سوپراکسید دسموتاز یکی از نشانگرهای مهمی است که وضعیت آنتی‌اکسیدانی حیوانات را نشان می‌دهد (Gong & Xiao, 2016). این ماده اولیه برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد است و می‌تواند در برابر آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن مقاومت کرده و آن‌ها را مسدود کند و سلول‌های آسیب‌دیده را به موقع ترمیم کند (Sun et al., 2017). گلووتاتیون پراکسیداز دارای قابلیت از بین بردن رادیکال‌های آزاد است (Gong & Xiao, 2016). علاوه بر این، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام یک شاخص جامع از وضعیت عملکردی سیستم آنتی‌اکسیدانی معمولی است (Cao et al., 2014). در مقابل، مالون دی‌آلدئید نشانگر پراکسیداسیون لیپیدی است که عمدتاً بسته به در دسترس بودن اسیدهای چرب غیراشباع چندانگانه و دفاع آنتی‌اکسیدانی تغییر می‌کند (Kargar et al., 2018). پژوهشگران دریافته‌اند که مکمل کروم برای گوساله‌های شیری از شیر گرفته شده در تابستان به طور موثری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را بهبود می‌بخشد و از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری می‌کند (Mousavi et al., 2019). در مطالعه حاضر، فعالیت‌های سوپراکسید دسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در سرم افزایش یافت، اما غلظت مالون دی‌آلدئید کاهش یافت، که نشان می‌دهد مکمل کروم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میشل‌های تحت استرس گرمایی را بهبود می‌بخشد. گزارش شده است که، ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی سرم خون در تیمارهای دریافت‌کننده سیاهدانه و کروم متیونین، بهبود قابل ملاحظه‌ای را در غلظت مالون دی‌آلدئید نشان داد و سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم گردید (Moeini et al., 2018). در یک پژوهش دیگر بره‌های تحت استرس حمل و نقل زمانی که با کروم-متیونین تغذیه شدند، غلظت مالون دی‌آلدئید کاهش یافت و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی سرم خون افزایش یافت که همسو با نتایج پژوهش حاضر بوده است (Mousaie et al., 2014). افزایش میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، باعث کاهش رادیکال‌های آزاد میگردد (Regoli & Principato, 1995; Sahin et al., 2003; Kumar et al., 2009; Wang et al., 2011; Gehrig et al., 2012; Mousaie et al., 2014)؛ که در این پژوهش نیز نتیجه مشابه به دست آمد. همچنین نتایج نشان می‌دهد، افزودن ۰/۸ میلی‌گرم مکمل کروم به صورت کرم معدنی، آلی و نانو کروم سبب کاهش میزان آنزیم مالون دی‌آلدئید و افزایش میزان فعالیت گلووتاتیون پراکسیداز بره‌های پرواری نژاد مهربان شده است (Ghasemi Kasmaei & Safari Manjehg Tappeh, 2022). پروتئین شوک حرارتی ۷۲ (Hsp72³) برای مهار گسترش واسطه‌های التهابی در شرایط استرس پیشنهاد شده است (Gehrig et al., 2012). گزارش شده است که مکمل کروم منجر به افزایش سطح سرمی Hsp72 و اینترلوکین-۱۰ (یک واسطه ضد التهابی) در گاوهای شیری پرورش یافته تحت استرس گرمایی شد اما هیچ تغییری در سطح سرمی فاکتور نکروز تومور-آلفا ایجاد نکرد (Yan et al., 2002). Hsp72 ممکن است عمدتاً توسط استرس اکسیداتیو تنظیم شود و افزایش بیان Hsp72 ممکن است نشان‌دهنده افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال یا اکسیداسیون پروتئین میتوکندری باشد (Zhang et al., 2014). بنابراین، این امکان وجود دارد که افزایش سطح سرمی Hsp72 منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شود. با این حال تحقیقاتی بیشتری برای مشخص شدن اثر کروم بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی در نشخوارکنندگان مورد نیاز است.

هورمون‌های تیروئیدی نقش مهمی در رشد، تقسیم سلولی و تنظیم متابولیسم پایه بدن دارند. به همین ترتیب، گزارش کردند که مصرف مکمل کروم (۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) هیچ تأثیری بر میزان سرمی T3، T4 و کورتیزول هنگام اندازه‌گیری در قبل و بعد از از شیر گرفتن گوساله‌ها ندارد (Kargar et al., 2018). گوساله‌هایی که ۰/۰۴ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم وزن بدن تغذیه شده بودند، هیچ تفاوتی در غلظت T3 و T4 خون نشان ندادند. همین نتایج در گوساله‌های گاو میش مشاهده شد (Kumar et al., 2015). با این حال، مکمل کردن با کروم به میزان ۰/۰۳ میلی‌گرم کروم بر کیلوگرم وزن بدن باعث افزایش غلظت T4 خون و کاهش نسبت T3 به T4 در گوساله‌های شیری می‌شود (Ghorbani et al., 2012). از طرف دیگر، گزارش شده است که افزایش سطح کروم (از ۰ به ۰/۰۲ و ۰/۰۴ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن) منجر به کاهش T4 سرم می‌شود، در حالی که T3 خون فقط با مصرف سطح بالاتر کروم در گوساله‌های شیری کاهش می‌یابد (Yari et al., 2010).

³ Heat shock protein 72

عملکرد سیستم ایمنی تحت تأثیر عوامل محیطی و تغذیه‌ای مانند دمای محیط و خوراک است (Caroprese *et al.*, 2011). کروم ممکن است با افزایش ایمونوگلوبولین (IgM) و کاهش سطح کورتیزول خون در گوساله‌های گاو میش در مقایسه با گروه شاهد، وضعیت ایمنی را بهبود بخشد (Kumar *et al.*, 2015; Abdelnour *et al.*, 2019). همچنین افزودن ۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم مکمل مخمر کروم به گاوهای نر در حال رشد باعث افزایش سطح IgG سرم و Ig کل می‌شود (Chang & Mowat, 1992). در مطالعات انجام شده روی گوساله‌ها مشخص شد که افزودن کروم به جیره، می‌تواند سطح کورتیزول ناشی از استرس‌ها را کاهش دهد و عملکرد سیستم ایمنی را بهبود بخشد (Moonsie-Shageer & Mowat, 1993). همچنین، مطالعات بر روی گوساله‌های تحت استرس‌های قطع شیر، حمل و نقل و محدودیت مصرف نیز نشان داد که استفاده از کروم در خوراک آنها موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی و کاهش ابتلا به بیماری‌های تنفسی می‌شود (Spears, 2000). در پژوهشی بیان داشتند که کروم باعث افزایش سطح سرمی IgG و IgM در خوک‌ها می‌شود (Wang *et al.*, 2007) و همین نتایج در گوساله را گزارش نمودند (Burton *et al.*, 1993; Bach *et al.*, 2000). در تضاد با این نتایج دریافتند که کروم برای گوساله‌های تحت استرس حرارتی هیچ تاثیری بر میزان کل IgM ندارد (Kegley & Spears, 1995). مطالعات نشان می‌دهد که تأمین ۰/۵ میلی‌گرم کروم آلی در هر کیلوگرم جیره باعث کاهش کورتیزول خون در گاوهای تازه‌زا می‌شود (Subiyatno *et al.*, 1996).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از کروم در میش‌های آبستن در دوره‌ی انتقال باعث افزایش گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و کاهش معنی‌دار گلبول‌های سفید میش و بره‌ها شده است. مکمل کروم سبب افزایش غلظت سوپراکسید دسموتاز، گلوکوتایون پراکسیداز، کاتالاز، تری‌یدوتیرونین و تترا‌یدوتیرونین خون شد. همچنین غلظت مالون دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در میش و بره‌های دریافت‌کننده شکل‌های مختلف مکمل کروم کمتر از تیمار شاهد بوده است. از طرفی دیگر افزودن مکمل کروم به جیره بره‌ها سبب افزایش غلظت IgM و IgG شد. در مجموع با توجه به نتایج حاضر استفاده از کروم به‌ویژه به شکل‌های کروم-متیونین و نانوذرات کروم در دوره‌ی انتقال میش‌ها تحت تاثیر تنش گرمایی جهت بهبود سیستم ایمنی دام توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌واسطه فراهم نمودن امکانات مرزعه‌ای و آزمایشگاهی این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

معینی، م. م. کاکای سومار، س. هژبری، ف و نیکوصفت، ز. (۱۳۹۷). اثر مخلوط مکمل آلی کروم و روی با سیاهدانه بر فراسنجه‌های خونی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد بره‌های سنجابی تحت استرس حمل و نقل. پژوهش در نشخوارکنندگان. ۱۰۰-۸۵: (۱): ۶.

REFERENSES

- Abdelnour, S. A., Abd El-Hack, M. E., Khafaga, A. F., Arif, M., Taha, A. E., & Noreldin, A. E. (2019). Stress biomarkers and proteomics alteration to thermal stress in ruminants: A review. *Journal of thermal biology*, 79, 120-134.
- Arthington, J. D., Corah, L. R., Minton, J. E., Elsasser, T. H., & Blecha, F. (1997). Supplemental dietary chromium does not influence ACTH, cortisol, or immune responses in young calves inoculated with bovine herpesvirus-1. *Journal of Animal Science*, 75(1), 217-223.
- Bach, A., Huntington, G. B., Calsamiglia, S., & Stern, M. D. (2000). Nitrogen metabolism of early lactation cows fed diets with two different levels of protein and different amino acid profiles. *Journal of Dairy Science*, 83(11), 2585-2595.
- Bagath, M., Krishnan, G., Devaraj, C., Rashamol, V. P., Pragna, P., Lees, A. M., & Sejian, V. (2019). The impact of heat stress on the immune system in dairy cattle: A review. *Research in Veterinary Science*, 126, 94-102.

- Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., & Nardone, A. (2002). Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *Journal of Dairy Science*, 85(9), 2173-2179.
- Bernhard, B. C., Burdick, N. C., Rounds, W., Rathmann, R. J., Carroll, J. A., Finck, D. N., & Johnson, B. J. (2012). Chromium supplementation alters the performance and health of feedlot cattle during the receiving period and enhances their metabolic response to a lipopolysaccharide challenge-. *Journal of Animal Science*, 90(11), 3879-3888.
- Besong, S., Jackson, J. A., Trammell, D. S., & Akay, V. (2001). Influence of supplemental chromium on concentrations of liver triglyceride, blood metabolites and rumen VFA profile in steers fed a moderately high fat diet. *Journal of Dairy Science*, 84(7), 1679-1685.
- Broucek, J., Kisac, P., & Uhrincat, M. (2009). Effect of hot temperatures on the hematological parameters, health and performance of calves. *International Journal of Biometeorology*, 53, 201-208.
- Burton, J. L., Mallard, B. A., & Mowat, D. N. (1993). Effects of supplemental chromium on immune responses of periparturient and early lactation dairy cows. *Journal of Animal Science*, 71(6), 1532-1539.
- Cao, J., Guo, F., Zhang, L., Dong, B., & Gong, L. (2014). Effects of dietary Selenomethionine supplementation on growth performance, antioxidant status, plasma selenium concentration, and immune function in weaning pigs. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 5(1), 1-7.
- Caroprese, M., Marzano, A., Entrican, G., Wattegedera, S., Albenzio, M., & Sevi, A. (2009). Immune response of cows fed polyunsaturated fatty acids under high ambient temperatures. *Journal of Dairy Science*, 92(6), 2796-2803.
- Chang, X., Mallard, B. A., & Mowat, D. N. (1996). Effects of chromium on health status, blood neutrophil phagocytosis and in vitro lymphocyte blastogenesis of dairy cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 52(1-2), 37-52.
- Chang, X., & Mowat, D. N. (1992). Supplemental chromium for stressed and growing feeder calves. *Journal of Animal Science*, 70(2), 559-565.
- Choi, S. J., Oh, J. M., & Choy, J. H. (2010). Biocompatible nanoparticles intercalated with anticancer drug for target delivery: pharmacokinetic and biodistribution study. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 10(4), 2913-2916.
- Das, R., Sailo, L., Verma, N., Bharti, P., Saikia, J., & Kumar, R. (2016). Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: a review. *Vet World* 9: 260–268.
- Depew, C. L., Bunting, L. D., Fernandez, J. M., Thompson Jr, D. L., & Adkinson, R. W. (1998). Performance and metabolic responses of young dairy calves fed diets supplemented with chromium tripicolinate. *Journal of Dairy Science*, 81(11), 2916-2923.
- Domínguez-Vara, I. A., González-Muñoz, S. S., Pinos-Rodríguez, J. M., Bórquez-Gastelum, J. L., Bárcena-Gama, R., Mendoza-Martínez, G. & Landois-Palencia, L. L. (2009). Effects of feeding selenium-yeast and chromium-yeast to finishing lambs on growth, carcass characteristics, and blood hormones and metabolites. *Animal Feed Science and Technology*, 152(1-2), 42-49.
- Duffield, T. F., Merrill, J. K., & Bagg, R. N. (2012). Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *Journal of Animal Science*, 90(12), 4583-4592.
- Faldyna, M., Pechova, A., & Krejci, J. (2003). Chromium supplementation enhances antibody response to vaccination with tetanus toxoid in cattle. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 50(7), 326-331.
- Gehrig, S. M., van der Poel, C., Sayer, T. A., Schertzer, J. D., Henstridge, D. C., Church, J. E., ... & Lynch, G. S. (2012). Hsp72 preserves muscle function and slows progression of severe muscular dystrophy. *Nature*, 484(7394), 394-398.
- Gentry, L. R., Fernandez, J. M., Ward, T. L., White, T. W., Southern, L. L., Bidner, T. D. & Sahl, T. (1999). Dietary protein and chromium tripicolinate in Suffolk wether lambs: effects on production characteristics, metabolic and hormonal responses, and immune status. *Journal of Animal Science*, 77(5), 1284-1294.
- Ghasemi Kasmaei, F., & Safari Manjehg Tappeh, S. (2022). Comparison of the effect of organic, inorganic and nano-chromium supplements on growth performance and blood parameters of Mehraban fattening lambs. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Science*, 14(3), 95-102.
- Ghorbani, A., Sadri, H., Alizadeh, A. R., & Bruckmaier, R. M. (2012). Performance and metabolic responses of Holstein calves to supplemental chromium in colostrum and milk. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 5760-5769.
- Gong, J., & Xiao, M. (2016). Selenium and antioxidant status in dairy cows at different stages of lactation. *Biological Trace Element Research*, 171, 89-93.
- Haldar, S., Mondal, S., Samanta, S., & Ghosh, T. K. (2009). Effects of dietary chromium

supplementation on glucose tolerance and primary antibody response against pestedespetitsruminants in dwarf Bengal goats (*Capra hircus*). *Animal*, 3(2), 209-217.

Harvey, K. M., Cooke, R. F., & Marques, R. D. S. (2021). Supplementing trace minerals to beef cows during gestation to enhance productive and health responses of the offspring. *Animals*, 11(4), 1159.

Hassan, F. A., Mahmoud, R., & El-Araby, I. E. (2017). Growth performance, serum biochemical, economic evaluation and IL6 gene expression in growing rabbits fed diets supplemented with zinc nanoparticles. *Zagazig Veterinary Journal*, 45(3), 238-249.

Hill, E. K., & Li, J. (2017). Current and future prospects for nanotechnology in animal production. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(1), 1-13.

Kafilzadeh, F., Shabankareh, H. K., & Targhibi, M. R. (2012). Effect of chromium supplementation on productive and reproductive performances and some metabolic parameters in late gestation and early lactation of dairy cows. *Biological Trace Element Research*, 149, 42-49.

Kargar, S., Mousavi, F., & Karimi-Dehkordi, S. (2018). Effects of chromium supplementation on weight gain, feeding behaviour, health and metabolic criteria of environmentally heat-loaded Holstein dairy calves from birth to weaning. *Archives of Animal Nutrition*, 72(6), 443-457.

Kargar, S., Mousavi, F., Karimi-Dehkordi, S., & Ghaffari, M. H. (2018). Growth performance, feeding behavior, health status, and blood metabolites of environmentally heat-loaded Holstein dairy calves fed diets supplemented with chromium. *Journal of Dairy Science*, 101(11), 9876-9887.

Kegley, E. B., Spears, J. W., & Brown Jr, T. T. (1996). Immune response and disease resistance of calves fed chromium nicotinic acid complex or chromium chloride. *Journal of Dairy Science*, 79(7), 1278-1283.

Kegley, E. B., Spears, J. W., & Brown Jr, T. T. (1997). Effect of shipping and chromium supplementation on performance, immune response, and disease resistance of steers. *Journal of Animal Science*, 75(7), 1956-1964.

Kegley, E. B., & Spears, J. W. (1995). Immune response, glucose metabolism, and performance of stressed feeder calves fed inorganic or organic chromium. *Journal of Animal Science*, 73(9), 2721-2726.

Keshri, A., Roy, D., Kumar, V., Kumar, M., Kushwaha, R., Vaswani, S. & Choudhury, S. (2021). Effect of chromium supplementation on rhythmic alterations in growth performance and nutrient utilization of growing cattle during heat stress. *Biological Rhythm Research*, 52(7), 1064-1072.

Khansari, D. N., Murgo, A. J., & Faith, R. E. (1990). Effects of stress on the immune system. *Immunology Today*, 11, 170-175.

Kumar, M., Kaur, H., Deka, R. S., Mani, V., Tyagi, A. K., & Chandra, G. (2015). Dietary inorganic chromium in summer-exposed buffalo calves (*Bubalus bubalis*): effects on biomarkers of heat stress, immune status, and endocrine variables. *Biological Trace Element Research*, 167, 18-27.

Kumar, N., Garg, A. K., Dass, R. S., Chaturvedi, V. K., Mudgal, V., & Varshney, V. P. (2009). Selenium supplementation influences growth performance, antioxidant status and immune response in lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 153(1-2), 77-87.

Lashkari, S., Habibian, M., & Jensen, S. K. (2018). A review on the role of chromium supplementation in ruminant nutrition—effects on productive performance, blood metabolites, antioxidant status, and immunocompetence. *Biological Trace Element Research*, 186, 305-321.

Marcén, M., Ruiz, V., Serrano, M. J., Condón, S., & Mañas, P. (2017). Oxidative stress in *E. coli* cells upon exposure to heat treatments. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 198-205.

Meyer, A. M., Reed, J. J., Neville, T. L., Thorson, J. F., Maddock-Carlin, K. R., Taylor, J. B., ... & Caton, J. S. (2011). Nutritional plane and selenium supply during gestation affect yield and nutrient composition of colostrum and milk in primiparous ewes. *Journal of animal science*, 89(5), 1627-1639.

Moeini, M. M., Kaki Soumar, S., Hozhabri, F., & Nikousefat, Z. (2018). The effect of black seed with chromium-methionine or zinc-methionine on the blood parameters, antioxidant capacity and performance of Sanjabi lambs under transport stress. *Journal Ruminat Research*, 6(1), 85-100. (In Persian).

Moezzi, A., McDonagh, A. M., & Cortie, M. B. (2012). Zinc oxide particles: Synthesis, properties and applications. *Chemical Engineering Journal*, 185, 1-22.

Moonsie-Shageer, S., & Mowat, D. N. (1993). Effect of level of supplemental chromium on performance, serum constituents, and immune status of stressed feeder calves. *Journal of Animal Science*, 71(1), 232-238.

Moreira, P. S. A., Palhari, C., & Berber, R. C. A. (2020). Dietary chromium and growth performance animals: a review. *Scientific Electronic Archives*, 13(7), 59-66.

Mousaie, A., Valizadeh, R., Naserian, A. A., Heidarpour, M., & Mehrjerdi, H. K. (2014). Impacts of

feeding selenium-methionine and chromium-methionine on performance, serum components, antioxidant status, and physiological responses to transportation stress of Baluchi ewe lambs. *Biological Trace Element Research*, 162, 113-123.

Mousavi, F., Karimi-Dehkordi, S., Kargar, S., & Ghaffari, M. H. (2019). Effect of chromium supplementation on growth performance, meal pattern, metabolic and antioxidant status and insulin sensitivity of summer-exposed weaned dairy calves. *Animal*, 13(5), 968-974.

Mousavi, F., Karimi-Dehkordi, S., Kargar, S., & Khosravi-Bakhtiari, M. (2019). Effects of dietary chromium supplementation on calf performance, metabolic hormones, oxidative status, and susceptibility to diarrhea and pneumonia. *Animal Feed Science and Technology*, 248, 95-105.

Arruda, A. G., Godden, S., Rapnicki, P., Gorden, P., Timms, L., Aly, S. S & Champagne, J. (2013). Randomized noninferiority clinical trial evaluating 3 commercial dry cow mastitis preparations: I. Quarter-level outcomes. *Journal of Dairy Science*, 96(7), 4419-4435.

Munck, A., Guyre, P. M., & Holbrook, N. J. (1984). Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrine Reviews*, 5(1), 25-44.

National Research Council. (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants. Sheep, goats, cervide and new world camelids. Washington, DC: National Academy Press.

Ohh, S. J., & Lee, J. Y. (2005). Dietary chromium-methionine chelate supplementation and animal performance. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18(6), 898-907.

Pantelić, M., Jovanović, L. J., Prodanović, R., Vujanac, I., Đurić, M., Čulafić, T. & Kirovski, D. (2018). The impact of the chromium supplementation on insulin signalling pathway in different tissues and milk yield in dairy cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(1), 41-55.

Phan, T. T. V., Huynh, T. C., Manivasagan, P., Mondal, S., & Oh, J. (2019). An up-to-date review on biomedical applications of palladium nanoparticles. *Nanomaterials*, 10(1), 66.

Qi, Z., Gao, J., Zhao, C., Zhang, Y., Liu, Y., Wang, X., & Li, H. (2018). PSXVII-30 Effects of dietary supplementation of yeast chromium and dihydropyridine on serum biochemical indices and HSP70 mRNA expression of lactating dairy cows in summer. *Journal of Animal Science*, 96(suppl_3), 448-449.

Regoli, F., & Principato, G. (1995). Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 31(2), 143-164.

Robinson, J. J., McDonald, I., Fraser, C., & Crofts, R. M. J. (1977). Studies on reproduction in prolific ewes: I. Growth of the products of conception. *The Journal of Agricultural Science*, 88(3), 539-552.

Sahin, K., Sahin, N., & Kucuk, O. (2003). Effects of chromium, and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high ambient temperature (32 C). *Nutrition Research*, 23(2), 225-238.

SAS. (2004). Institute. User's Guide. Version 9.1: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.

Sordillo, L. M., & Aitken, S. L. (2009). Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128(1-3), 104-109.

Spears, J. W. (2019). Boron, chromium, manganese, and nickel in agricultural animal production. *Biological Trace Element Research*, 188(1), 35-44.

Spears, J. W. (2000). Micronutrients and immune function in cattle. *Proceedings of the nutrition society*, 59(4), 587-594.

Stahlhut, H. S., Whisnant, C. S., Lloyd, K. E., Baird, E. J., Legleiter, L. R., Hansen, S. L., & Spears, J. W. (2006). Effect of chromium supplementation and copper status on glucose and lipid metabolism in Angus and Simmental beef cows. *Animal Feed Science and Technology*, 128(3-4), 253-265.

Subiyatno, A., Mowat, D. N., & Yang, W. Z. (1996). Metabolite and hormonal responses to glucose or propionate infusions in periparturient dairy cows supplemented with chromium. *Journal of Dairy Science*, 79(8), 1436-1445.

Sun, L. L., Gao, S. T., Wang, K., Xu, J. C., Sanz-Fernandez, M. V., Baumgard, L. H., & Bu, D. P. (2019). Effects of source on bioavailability of selenium, antioxidant status, and performance in lactating dairy cows during oxidative stress-inducing conditions. *Journal of Dairy Science*, 102(1), 311-319.

Sun, P., Wang, J., Liu, W., Bu, D. P., Liu, S. J., & Zhang, K. Z. (2017). Hydroxy-selenomethionine: A novel organic selenium source that improves antioxidant status and selenium concentrations in milk and plasma of mid-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9602-9610.

Travan, A., Pelillo, C., Donati, I., Marsich, E., Benincasa, M., Scarpa, T. & Paoletti, S. (2009). Non-cytotoxic silver nanoparticle-polysaccharide nanocomposites with antimicrobial activity. *Biomacromolecules*, 10(6), 1429-1435.

- Uyanik, F. (2001). The effects of dietary chromium supplementation on some blood parameters in sheep. *Biological Trace Element Research*, 84, 93-101.
- WANG, H. F., YANG, W. R., WANG, Y. X., YANG, Z. B., & CUI, Y. H. (2011). The study on the effects of Chinese herbal mixtures on growth, activity of post-ruminal digestive enzymes and serum antioxidant status of beef cattle. *Agricultural Sciences in China*, 10(3), 448-455.
- Wang, M. Q., Xu, Z. R., Zha, L. Y., & Lindemann, M. D. (2007). Effects of chromium nanocomposite supplementation on blood metabolites, endocrine parameters and immune traits in finishing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 139(1-2), 69-80.
- Yan, L. J., Christians, E. S., Liu, L., Xiao, X., Sohal, R. S., & Benjamin, I. J. (2002). Mouse heat shock transcription factor 1 deficiency alters cardiac redox homeostasis and increases mitochondrial oxidative damage. *The EMBO Journal*, 21(19), 5164-5172.
- Yari, M., Nikkhah, A., Alikhani, M., Khorvash, M., Rahmani, H., & Ghorbani, G. R. (2010). Physiological calf responses to increased chromium supply in summer. *Journal of Dairy Science*, 93(9), 4111-4120.
- Yuan, K., Vargas-Rodriguez, C. F., Mamedova, L. K., Muckey, M. B., Vaughn, M. A., Burnett, D. D., ... & Bradford, B. J. (2014). Effects of supplemental chromium propionate and rumen-protected amino acids on nutrient metabolism, neutrophil activation, and adipocyte size in dairy cows during peak lactation. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3822-3831.
- Zhang, F. J., Weng, X. G., Wang, J. F., Zhou, D., Zhang, W., Zhai, C. C., ... & Zhu, Y. H. (2014). Effects of temperature–humidity index and chromium supplementation on antioxidant capacity, heat shock protein 72, and cytokine responses of lactating cows. *Journal of Animal Science*, 92(7), 3026-3034.

The effect of using different forms of chromium on hematological parameters and antioxidant status of *Afshar* ewes in the transition period and their lambs under the influence of heat stress

Extended Abstract

Introduction

It is very important to choose the appropriate form of chromium in the ration of ewes in the transition period and under the influence of heat stress in order to improve the performance of ewes and newborn lambs and reduce the negative effects of stress in these conditions. The present study is to investigate the effect of using different forms of chromium (inorganic chromium, chromium-methionine and chromium nanoparticles) on blood parameters, antioxidant status and immunoglobulin of *Afshar* ewes during the transition period and their lambs under the influence of heat stress. Done.

Materials and Methods: In the summer of 1401, 40 pregnant *Afshari* ewes were assigned to four experimental treatments with ten replications in a completely random design from 42 ± 2 days before the expected birth. The experimental treatments include the basic diet without chromium supplementation (control), the basic diet containing 3 mg of chromium in mineral form per kg of dry matter, the basic diet containing 3 mg of chromium in the form of chromium-methionine per kg of dry matter, and the basic diet containing 3 milligrams of chromium in the form of chromium nanoparticles per kilogram of dry matter. The basic ration was adjusted according to the tables of the National Sheep Research Association and supplements were added to the basic ration daily. The ewes were all balanced for age, number of embryos, weight, expected calving date and color. The accuracy of pregnancy and the possible time of delivery were confirmed through pregnancy synchronization and ultrasound of the ewes before the experiment. The experiment started 42 days before calving and lasted for 84 days.

Results: The results showed that the addition of different forms of chromium to the diet of ewes caused a significant increase in the concentration of red blood cells, hemoglobin and blood hematocrit compared to the control group ($P < 0.05$). Adding different forms of chromium to the diet of ewes caused a significant decrease in white blood cells ($P < 0.05$). In experimental treatments, no significant difference was observed in platelet, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin concentration, neutrophil, lymphocyte, monocyte and eosinophil blood. The concentration of superoxide desmutase, glutathione peroxidase, catalase, triiodothyronine and tetraiodothyronine in the blood in the treatments receiving different forms of chromium also increased compared to the control group ($P < 0.05$). The results showed that the concentration of malondialdehyde and total antioxidant capacity in ewes and lambs receiving chromium supplementation was lower than the control treatment ($P < 0.05$). However, there was no significant difference between different experimental treatments in terms of ceruloplasmin concentration and the ratio of T4 to T3 ($P < 0.05$). The concentration of IgG and IgM in lambs receiving different forms of chromium also increased compared to the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSIONS: In general, it is recommended to receive chromium, especially in the form of chromium-methionine and chromium nanoparticles during the period of transfer of ewes under the influence of heat stress.

غیر قابل استناد