



دانشگاه کیلان

تحقیقات تولیدات دامی

سال هشتم/شماره اول/بهار ۱۳۹۸ (۱-۱۵)



مقاله پژوهشی

اثر مصرف کمپلکس‌های آلی منگنز، روی و مس (پیوند شده با گلایسین - یا متیونین -) به جای شکل‌های سولفات (برابر یا دو برابر توصیه NRC) بر سلامت، باروری و متابولیت‌های خون گاو شیری و گوساله

حبیب اله روشن ضمیر^۱، جواد رضائی^{۲*}، حسن فضائی^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- استادیار تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۳- استاد تغذیه نشخوارکنندگان، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۶/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۸/۰۹)

چکیده

اثر مصرف کمپلکس‌های آلی منگنز، روی و مس (پیوند شده با گلایسین - یا متیونین -) به جای شکل‌های سولفات (برابر یا دو برابر توصیه NRC) بر سلامت، باروری و متابولیت‌های خون گاو شیری و گوساله بررسی شد. دو ماه پیش از زایش، ۶۰ رأس گاو آبستن هلشتاین در شش گروه آزمایشی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی تقسیم شدند. شش جیره حاوی ۱- سولفات منگنز، روی و مس، برابر توصیه NRC، ۲- گلایسین منگنز، روی و مس، برابر توصیه NRC، ۳- متیونین منگنز، روی و مس، برابر توصیه NRC، ۴- سولفات منگنز، روی و مس، دو برابر توصیه NRC، ۵- گلایسین منگنز، روی و مس، دو برابر توصیه NRC، ۶- متیونین منگنز، روی و مس، دو برابر توصیه NRC آزادانه تغذیه شدند. غلظت ایمونوگلوبولین G در آغوز و خون، عفونت رحم، ورم پستان، جفت‌ماندگی، لنگش، کتوز، کیست تخمدانی، مرگ گوساله، باروری و غلظت گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول خون (پنج بار خونگیری؛ از ۶۰ روز پیش تا ۱۰۰ روز پس از زایش) تعیین شد. تغذیه کمپلکس‌های آلی عناصر به جای شکل سولفات اثری بر ایمونوگلوبولین G، صفات باروری و متابولیت‌های خون گاو و گوساله نداشت، اما سبب کاهش ورم پستان و لنگش شد. افزایش سطح عناصر نیز وقوع ورم پستان و لنگش را کاهش، و غلظت عددی ایمونوگلوبولین G آغوز را افزایش داد، اما تأثیری بر سایر صفات نداشت. در مجموع، تغذیه کمپلکس‌های آلی گلایسین - یا متیونین - منگنز، روی و مس و همچنین افزایش سطح این عناصر در جیره گاوهای خشک و شیرده دارای آثار مثبت بر سلامت حیوانات، بدون تغییر در صفات باروری بود.

واژه‌های کلیدی: ایمنی، باروری، سطح عنصر معدنی، گاو، مکمل‌های آلی منگنز-روی-مس

* نویسنده مسئول: rezaei.j@modares.ac.ir

مقدمه

فعال ویژه عناصر معدنی به وسیله مکانیسم جذب پپتیدی رخ می‌دهد، هر چند این موضوع نیازمند بررسی‌های بیشتری است (McDonald *et al.*, 2011). از سوی دیگر، عناصر کم‌نیاز آلی پایداری زیادی دارند و برعکس یون‌های ساده، به آسانی با سایر یون‌ها، ویتامین‌ها و حتی میکروبوها و اجزای جیره مانند الیاف تداخل ندارند. عناصر آلی نه تنها با ویتامین‌ها در دستگاه گوارش واکنش نمی‌دهند، بلکه با ویتامین‌های داخل پرمیکس هم واکنشی ندارند. از سوی دیگر، یک عنصر در شکل کمپلکس آلی کمتر تحت تأثیر pH و شرایط داخل شکمبه و شیردان قرار می‌گیرد و در نتیجه بهتر به محل‌های جذب در روده کوچک می‌رسد. بنابراین، به نظر می‌رسد این کمپلکس‌ها کمتر درگیر روابط متقابل مختلف در دستگاه گوارش شوند و بهتر به وسیله حیوانات جذب و استفاده شوند (McDowell, 2003; Gressley, 2009; Goff, 2017).

به هر حال، مصرف منابع آلی عناصر کم‌نیاز بجای منابع معدنی در دام‌های مختلف نتایج متناقضی (مثبت، منفی یا عدم تأثیر) داشته است (Siciliano-Jones *et al.*, 2008; Formigoni *et al.*, 2011; Alimohamady *et al.*, 2019). هر چند دید مثبتی نسبت به تغذیه عناصر آلی در دام وجود دارد، اما گفته شده که سطح مصرف شکل آلی عناصر کم‌نیاز در بیشتر پژوهش‌ها به میزان قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با توصیه NRC بیشتر بوده (Formigoni *et al.*, 2011) و این امر بر نتایج پژوهش‌ها مؤثر بوده است (Suttle, 2010). همچنین، نتیجه‌گیری نهایی درباره تأثیر شکل آلی عناصر بر دام مشکل است که این موضوع به عواملی مانند سطح عنصر در جیره پایه، وجود یا عدم وجود تنش و شرایط غیرمعمول در پژوهش‌های مختلف، تفاوت در میزان خلوص منابع معدنی، استفاده از دزهای متفاوت عنصر در مقایسه با توصیه‌های NRC، نوع دام و فصل مربوط بوده است. در نتیجه، لازم است تحقیقات تکمیلی درباره سودمندی احتمالی منابع آلی عناصر نسبت به منابع غیر آلی برای دام ادامه یابد (Suttle, 2010; Overton and Yasui, 2014; Alimohamady *et al.*, 2019).

از سوی دیگر، پژوهشگران هنوز درباره کافی یا ناکافی بودن سطوح توصیه NRC برای عناصر کم‌نیاز مانند منگنز، روی و

تأمین سطح و شکل شیمیایی مناسب عناصر کم‌نیاز برای دام اهمیت فراوانی دارد، زیرا علاوه بر کمک به تولید مناسب، دارای ارزش تشخیصی در روند بیماری‌های متابولیکی و تغذیه‌ای است. سه عنصر منگنز، روی و مس تأثیر زیادی در سلامت و باروری حیوانات دارند و دارای وظایف مشترکی در ساخت و فعالیت سلول‌های ایمنی، آنزیم‌های دخیل در سیستم ایمنی (مانند سوپراکسیددسموتاز)، فعالیت آنتی‌اکسیدانته بدن و توسعه و رشد مناسب جنین هستند. بعلاوه، وجود برخی روابط متقابل به ویژه بین مس و روی به اثبات رسیده است (Wu, 2018). انتخاب منبع مناسب (معدنی یا آلی) سه عنصر منگنز، روی و مس، و گنجاندن سطح مطلوب آنها در جیره (برابر با توصیه NRC یا بیشتر) اهمیت زیادی در بهینه‌سازی تولید، تولیدمثل و شاخص‌های ایمنی و سلامت در مادر و نوزاد دارد (Suttle, 2010; Formigoni *et al.*, 2011; Wu, 2018). بنابراین، لازم است منبع و غلظت مناسب عناصر کم‌نیاز در جیره گنجانده شود، به طوری که بهره‌وری اقتصادی مناسب و همچنین حداقل دفع و آلودگی زیست‌محیطی حاصل آید.

عموماً نیازمندی حیوانات به عناصر معدنی با استفاده از منابع غیر آلی تأمین می‌شود، اما به عقیده برخی پژوهشگران، زیست‌فراهمی منابع معدنی عناصر کمتر از شکل آلی آنها است (Ao *et al.*, 2006; McDonald *et al.*, 2011) و بنابراین سطح بیشتری از آنها باید در جیره گنجانده شود تا از کفایت عناصر برای دام مطمئن بود. اما مکمل‌سازی بیش از حد با یک عنصر ممکن است در جذب و سوخت و ساز دیگر عناصر تداخل ایجاد کند و باعث کاهش بازده مصرف سایر عناصر شود (NRC, 2001; Ao *et al.*, 2006). این موضوع علاوه بر ضرر اقتصادی، باعث افزایش آلودگی زیست‌محیطی نیز خواهد شد. بنابراین، استفاده از کمپلکس‌های آلی عناصر مطرح شده است که کمتر در روابط متقابل درگیر می‌شوند (Ao *et al.*, 2009) و زیست‌فراهمی بیشتری دارند (Formigoni *et al.*, 2011). کلات‌های آمینواسیدی و پپتیدی بازده جذب زیادی دارند، که شاید به این دلیل باشد که جذب آنها بجای روش انتقال

بررسی شد. توصیه NRC برای غلظت عناصر منگنز، روی و مس کل جیره برای مرحله ۶۰ تا ۲۲ روز پیش از زایش به ترتیب ۱۶، ۲۱ و ۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک، برای مرحله ۲۱ روزه انتقال پیش از زایش به ترتیب ۱۸، ۲۲ و ۱۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک، برای مرحله ۲۱ روزه انتقال پس از زایش به ترتیب ۱۸، ۶۲ و ۱۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک، و برای مرحله از ۲۲ روز پس از زایش به بعد به ترتیب ۱۴، ۵۲ و ۱۱ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره است (NRC, 2001). در پژوهش حاضر، سطح اول مواد معدنی آزمایشی در جیره برابر توصیه NRC در نظر گرفته شد. قابل توضیح است که در تیمارهای در سطح NRC، بیشترین بخش عناصر از خوراکی‌های مورد استفاده در جیره فراهم شد و بخش اندکی از عناصر به وسیله مکمل‌ها تأمین شد و البته غلظت عناصر در این تیمارها قدری بیشتر از توصیه NRC بود (جدول ۲)، زیرا به هر حال خوراکی‌های مختلف به خودی خود حاوی مقادیر قابل توجهی از این عناصر هستند. سطح دوم مواد معدنی آزمایشی دو برابر توصیه NRC در نظر گرفته شد؛ یعنی در سطح دو برابر NRC، غلظت منگنز روی و مس کل جیره برای مرحله ۶۰ تا ۲۲ روز پیش از زایش به ترتیب ۳۵/۴، ۴۴/۷ و ۲۶/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک، برای مرحله ۲۱ روزه انتقال پیش از زایش به ترتیب ۳۷/۹، ۴۵/۴ و ۲۶/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک، برای مرحله ۲۱ روزه پس از زایش به ترتیب ۳۵/۷، ۱۲۴ و ۲۶/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک و برای مرحله ۲۲ تا ۱۰۰ روز پس از زایش به ترتیب ۲۷/۶، ۱۰۴ و ۲۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره بود.

برای هر یک از مراحل تغذیه‌ای پیش و پس از زایش (ذکر شده در بخش بالا) یک جیره ویژه فرموله شد و تفاوت آن جیره در بین شش گروه آزمایشی صرفاً در سطح و شکل شیمیایی عناصر منگنز، روی و مس بود. جیره‌های آزمایشی (تیمارها) عبارت بودند از: ۱- جیره حاوی سولفات- منگنز، روی و مس، در سطوح توصیه NRC (شاهد)، ۲- جیره حاوی گلاسیسین- منگنز، روی و مس، در سطوح توصیه NRC، ۳- جیره حاوی متیونین- منگنز، روی و مس، در سطوح توصیه NRC، ۴- جیره حاوی سولفات- منگنز، روی

مس اختلاف نظر دارند و برخی از محققان سطوحی بیشتر از جداول NRC را توصیه می‌کنند (Genther, 2014; Nayeri et al., 2014). برخی نیز تغذیه سطوح بالای عناصر را صرفاً در شرایط تنش سودمند دانسته‌اند (Gressley, 2009; Li et al., 2016; Mielcarz-Skalska and Smolińska, 2017).

بر اساس نتایج متناقض ذکر شده در بالا، هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر جایگزینی منابع سولفات منگنز، روی و مس با سطوح مختلف (برابر یا دو برابر توصیه NRC) کمپلکس‌های آلی (متیونین- یا گلاسیسین-) عناصر مذکور در جیره دوره‌های خشک و شیردهی بر وضعیت سلامت، متغیرهای باروری و برخی متابولیت‌های خون در گاو شیری و گوساله نوزاد بود.

مواد و روش‌ها

مکان اجرای طرح، دام‌ها و طول دوره آزمایش: نگهداری و پرورش گاوهای آزمایشی و جمع‌آوری نمونه در این پژوهش در شرکت سهامی زراعی شهرستان گلپایگان (اصفهان) انجام شد. تجزیه آزمایشگاهی نمونه‌ها و تحلیل داده‌ها در تهران صورت گرفت. در این پژوهش از ۶۰ رأس گاو هلشتاین آبستن خشک (در دوره آبستنی دوم یا سوم) با میانگین وزن $775 \pm 54/1$ کیلوگرم استفاده شد. در شروع آزمایش، تمامی دام‌ها به وسیله باسکول دیجیتال توزین شدند (به دلیل آبستن بودن دام‌ها با احتیاط کامل انجام شد). دام‌ها بر اساس دوره آبستنی در قالب دو بلوک در جایگاه‌ها مستقر شدند و سپس تیمارهای آزمایشی به واحدهای آزمایشی (گاوهای شیری) اختصاص یافت. مطالعه به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی با ۶ تیمار (سه شکل شیمیایی عناصر منگنز، روی و مس \times دو سطح تغذیه عناصر) و ۱۰ تکرار اجرا شد. جیره‌های غذایی بر اساس توصیه انجمن ملی تحقیقات (NRC, 2001) برای چهار مرحله: ۱- روز ۶۰ تا ۲۲ پیش از زایش، ۲- ۲۱ روز انتقال پیش از زایش، ۳- ۲۱ روز انتقال پس از زایش (گاو تازه‌زا) و ۴- از روز ۲۲ پس از زایش به بعد تنظیم شد.

تیمارهای آزمایشی و خوراکدهی: در این مطالعه، سه شکل شیمیایی (سولفات، گلاسیسین و متیونین) عناصر منگنز، روی و مس در دو سطح تغذیه‌ای برابر یا دو برابر توصیه NRC

جدول ۱) غلظت عناصر معدنی متوازن شد. غلظت منگنز، روی، مس، کلسیم و منیزیم جیره‌های آزمایشی به وسیله دستگاه جذب اتمی تعیین شد و برای تعیین فسفر از روش اسپکتروفتومتری استفاده گردید (AOAC, 2002).

تغذیه به صورت جیره کامل مخلوط در دو وعده (۰۷:۰۰ و ۱۹:۰۰) انجام شد. میزان خوراکدهی به صورتی بود که روزانه حدود ۱۰ درصد آن (بر اساس As-fed) در آخور باقی بماند. مصرف روزانه خوراک از کسر میزان جیره توزیع شده در آخور و باقیمانده خوراک روزانه محاسبه شد. گاوها طی دوره آزمایشی دسترسی آزاد به آب داشتند.

ثبات صفات تولید مثل: عملکرد تولیدمثل گاو شیرده شامل تعداد آبستنی، تعداد روز تا اولین فحلی، روزها تا اولین سرویس (تلقیح)، تعداد سرویس به ازای آبستنی گاو و روزهای باز کنترل و ثبت شد.

ثبات وضعیت سلامت گاو و تلفات گوساله: شاخص‌های سلامت دام به صورت روزانه رکوردگیری شد. همچنین میزان جفت‌ماندگی (عدم خروج جفت طی ۲۴ ساعت پس از زایش) تعیین شد (Formigoni et al., 2011). کیست‌های تخمدانی، تب شیر، عفونت رحم، عفونت پستان و برگشتگی شیردان با بررسی‌های دامپزشکی به وسیله دامپزشک مجرب تعیین شد. عفونت رحم به وسیله کنترل ترشحات چرکی واژن و تپش رکتومی بررسی شد. ورم پستان از راه بازرسی و لمس پستان و همچنین تغییرات فیزیکی شیر به وسیله دامپزشک تعیین شد. جابجایی شیردان با ضربه زدن در سمت چپ و راست دام کنترل شد و وقوع یا عدم وقوع آن پس از آزمایش به وسیله دامپزشک مجرب تأیید شد. کتوز با تعیین غلظت اجسام کتون در شیر مورد بررسی قرار گرفت. میزان مرگ و میر گوساله نیز در بدو تولد و پس از آن ثبت شد (Formigoni et al., 2011).

تعیین متابولیت‌های بیوشیمیایی خون گاو و گوساله‌های شیرخوار: برای تعیین تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت فراسنجه‌های خون گاو خشک و شیرده، نمونه‌گیری از خون سیاهرگ دمی (به میزان ۱۰ میلی‌لیتر، به وسیله لوله‌های ونوجکت) سه ساعت پس از تغذیه صبحگاهی انجام پذیرفت. نمونه‌گیری در روزهای ۲۲ و ۵ پیش از زایش، و همچنین در روزهای ۱، ۲۱ و ۵۰ پس از زایش صورت گرفت. سرم از خون جدا شد

و مس، دو برابر توصیه NRC، ۵- جیره حاوی گلاپسین- منگنز، روی و مس، دو برابر توصیه NRC، ۶- جیره حاوی متیونین- منگنز، روی و مس، دو برابر توصیه NRC (جدول ۱).

منبع معدنی (سولفات منگنز، سولفات روی و سولفات مس)، کمپلکس آلی گلاپسین (گلاپسین منگنز، گلاپسین روی و گلاپسین مس) و کمپلکس متیونین (متیونین منگنز، متیونین روی و متیونین مس) با همکاری شرکت کانی دام فراهم شد. سپس، پرمیکس‌های معدنی مصرفی برای متوازن کردن عناصر در جیره‌های آزمایشی به صورت زیر تهیه شد: الف. هر کیلوگرم از پرمیکس‌های معدنی مصرفی در مرحله ۶۰ تا ۲۲ روز پیش از زایش حاوی ۱۵، ۱۲۰ و ۷۰ میلی‌گرم کبالت، ید و سلنیم بود. غلظت منگنز، روی و مس در این پرمیکس‌ها به ترتیب برابر ۶۰۰، ۱۷۰۰ و ۲۲۵۰ میلی‌گرم (برای تأمین مواد معدنی جیره در سطح NRC) و ۳۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۴۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (برای تأمین مواد معدنی جیره در سطح دو برابر NRC) بود.

ب. هر کیلوگرم از پرمیکس‌های معدنی مصرفی در مرحله ۲۱ روزه انتقال پیش از زایش حاوی ۱۰، ۱۵۰ و ۹۰ میلی‌گرم کبالت، ید و سلنیم بود. غلظت منگنز، روی و مس در این پرمیکس‌ها به ترتیب برابر ۴۵۰، ۱۲۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم (در سطح NRC) و ۵۰۰۰ و ۷۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (دو برابر NRC) بود.

ج. هر کیلوگرم از پرمیکس‌های معدنی مصرفی در مرحله ۲۱ روزه انتقال پس از زایش حاوی ۱۵، ۲۰۰ و ۸۰ میلی‌گرم کبالت، ید و سلنیم بود. غلظت منگنز، روی و مس در این پرمیکس‌ها به ترتیب برابر ۶۰۰، ۸۰۰۰ و ۲۱۰۰ میلی‌گرم (در سطح NRC) و ۳۶۵۰، ۲۸۵۰۰ و ۶۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (دو برابر NRC) بود.

د. هر کیلوگرم از پرمیکس‌های معدنی مصرفی در مرحله ۲۲ تا ۱۰۰ روز پس از زایش حاوی ۱۰، ۱۱۰ و ۷۰ میلی‌گرم کبالت، ید و سلنیم بود. غلظت منگنز، روی و مس در این پرمیکس‌ها به ترتیب برابر ۵۰۰، ۵۶۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم (در سطح NRC) و ۱۷۰۰، ۲۲۰۰۰ و ۴۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (دو برابر NRC) بود. با استفاده از درصد مناسبی از این پرمیکس‌ها در هر کیلوگرم جیره (درصد پرمیکس‌ها در

تعیین ایمنوگلوبولین G (IgG) در آغوز و خون مادر و نوزاد: نمونه آغوز هر گاو از دو دوشش اول بدست آمد و دو نمونه مذکور با هم مخلوط شد. نمونه‌ای از خون نیز مانند قبل برای تعیین غلظت IgG گرفته شد. غلظت IgG در نمونه‌های آغوز و خون مادر و گوساله شیرخوار با استفاده از کیت‌های ویژه (Cusabio Technology LLC; Wuhan, Hubei)، طبق روش الایزا به وسیله دستگاه microplate reader و بر اساس دستورالعمل شرکت تولیدکننده تعیین شد.

و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. به منظور بررسی تأثیر تغذیه مکمل‌های معدنی به گاوهای مادر بر الگوی متابولیت‌های خون گوساله نوزاد، نمونه خون در روز سه پس از تولد از سیاهرگ و داج گردن گوساله جمع‌آوری شد و همانند توضیحات بالا، سرم برای آزمایش نگهداری شد. پس از خارج نمودن سرم از حالت انجماد، غلظت گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول با استفاده از کیت‌های شرکت پارس‌آزمون (Pars Azmun Diagnostics, Tehran, Iran) بر اساس روش‌های آنزیمی و نورسنجی به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Genway, UK) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده (گرم در صد گرم ماده خشک) جیره‌های پایه تنظیم شده برای دو مرحله تغذیه پیش و دو مرحله تغذیه پس از زایش

Table 1. Ingredients (g/100 g DM) of the basal diets formulated for two feeding stages before- and two feeding stages after-calving¹

Feeding stage	Days before calving		Days after calving	
	-60 to -22	-21 to calving	+1 to +21	+22 to +100
Corn silage	29.77	28.33	20.07	19.35
Chopped alfalfa	16.41	27.52	19.12	18.05
Wheat straw	30.53	-	-	0.67
Sugar beet pulp	-	-	6.67	8.13
Ground barley grain	-	15.57	10.72	8.31
Ground corn grain	12.67	12.20	17.36	16.37
Wheat bran	2.27	-	-	4.29
Soybean meal	7.15	4.95	12.49	9.43
Canola meal	-	5.91	2.18	-
Cottonseed meal	-	-	-	5.46
Full-fat soybean	-	0.89	4.43	3.14
Fish meal	-	0.97	2.81	1.72
Fat	-	-	1.35	1.14
Sodium bicarbonate	-	-	1.07	1.20
Salt	-	0.10	0.17	0.51
Di-calcium phosphate	0.18	0.05	-	0.20
Calcium carbonate	-	0.29	0.17	0.63
Magnesium oxide	0.02	0.25	0.09	0.10
Calcium sulphate	-	0.59	-	-
Magnesium chloride	-	0.49	-	-
Calcium Chloride	-	0.59	-	-
Vitamin premix ²	0.50	1.0	1.0	1.0
Mineral premix ³	0.50	0.30	0.30	0.30

1. Based on the six experimental treatments (*i.e.*, organic or inorganic sources of the trace minerals), at each feeding stage the supplementary Zn was provided as ZnSO₄.2H₂O, Zn-methionine or Zn-glycine, the supplementary Mn was provided as MnSO₄.1H₂O, Mn-methionine or Mn-glycine, and the supplementary Cu was provided as CuSO₄.7H₂O, Cu-methionine or Cu-glycine. These trace minerals were supplied at two levels (equal to or twice NRC-recommended levels; see Table 3). Accordingly, there were six diets containing three chemical forms of Mn, Zn and Cu at two levels (2×3), for each feeding stage.
2. Contained (per kg) 3,000,000 IU of vitamin A, 700,000 IU of vitamin D3 and 10,000 IU of vitamin E. 3. See the Materials and Methods.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی پیش و پس از زایش
Table 2. Chemical analysis of the pre- and post-partum experimental diets

Minerals level	Mn, Zn and Cu at NRC levels				Mn, Zn and Cu twice NRC levels			
	Days before calving		Days after calving		Days before calving		Days after calving	
	60-22	21-0	1-21	22-100	60-22	21-0	1-21	22-100
(g/100 g DM)								
Crude protein	11.0	13.7	17.8	16.9	11.0	13.7	17.8	16.9
Ash-free NDF ¹	47.5	32.9	28.5	31.9	47.5	32.9	28.5	31.9
Ash	7.43	9.36	8.05	9.09	7.43	9.36	8.05	9.09
Ether extract	2.56	2.90	3.65	4.48	2.56	2.90	3.65	4.48
Ca	0.53	1.0	0.71	0.82	0.53	1.0	0.71	0.82
P	0.27	0.37	0.41	0.43	0.27	0.37	0.41	0.43
Mg	0.23	0.39	0.26	0.27	0.23	0.39	0.26	0.27
NE _L (Mcal/kg DM) ¹	1.27	1.57	1.85	1.64	1.27	1.57	1.85	1.64
(mg/kg DM)								
Co	0.21	0.33	0.23	0.24	0.21	0.33	0.23	0.24
I	0.65	0.45	0.75	0.47	0.65	0.45	0.75	0.47
Se	0.48	0.50	0.47	0.42	0.48	0.50	0.47	0.42
Total diet Mn	20.7	23.5	25.5	23.4	35.4	37.9	35.7	27.6
Mn supplied by mineral premix ²	0.80	0.75	1.93	1.51	15.5	15.1	12.1	5.4
Total diet Zn	24.6	28.6	64.2	54.0	44.7	45.4	124	104
Zn supplied by mineral premix ²	5.0	3.80	25.5	16.8	25.1	20.6	85.3	66.8
Total diet Cu	13.5	15.0	14.9	11.5	26.6	26.7	26.8	22.5
Cu supplied by mineral premix ²	7.94	8.91	6.59	2.85	21.0	20.6	18.5	13.9

1. NDF = neutral detergent fiber; NE_L = net energy for lactation. 2. Based on the six experimental treatments (*i.e.*, organic or inorganic sources of the trace minerals), the supplementary Zn was provided as ZnSO₄.2H₂O, Zn-methionine or Zn-glycine, the supplementary Mn was provided as MnSO₄.H₂O, Mn-methionine or Mn-glycine, and the supplementary Cu was provided as CuSO₄.7H₂O, Cu-methionine or Cu-glycine.

عناصر، (AB)_{ij} اثر متقابل عامل اول و عامل دوم، R_k اثر بلوک (شکم آبستنی)، e_{ijk} خطای آزمایشی و e_{ijkl} خطای نمونه‌برداری بود. تأثیر تیمارهای مختلف بر صفات باروری با استفاده از آزمون مربع کای در قالب آزمایش فاکتوریل به وسیله رویه catmod نرم‌افزار SAS تجزیه شد. متابولیت‌های خون گاوهای هلشتاین به‌صورت مشاهدات تکرار شده در زمان تجزیه شد. تیمار، روز نمونه‌گیری و اثر متقابل تیمار و روز به عنوان اثرات ثابت و دام به عنوان اثر تصادفی در نظر گرفته شد. برای تعیین اثر تیمار بر فراسنجه‌های مذکور، میانگین‌ها با استفاده از دستور LSMEANS همراه با گزینه tdiff مقایسه شدند. ساختار کواریانس متقارن مرکب در مدل استفاده شد. در نهایت، از مقایسات مستقل یا ارتوگونال برای مقایسه گروه‌های تیماری با هم استفاده شد.

تجزیه آماری: تحقیق در قالب شش تیمار (جیره‌های آزمایشی) و ۱۰ تکرار با استفاده از یک آزمایش فاکتوریل دو عاملی ۲×۳ بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی انجام شد. عامل اول سطح تغذیه (دو سطح منگنز، روی و مس در جیره؛ برابر یا بیشتر از توصیه NRC) و عامل دوم شکل شیمیایی عناصر مذکور (سه شکل؛ سولفات، گلایسین - یا متیونین -) بود. اطلاعات بدست آمده در این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (SAS Institute) تجزیه شد. داده‌های مربوط به IgG آغوز و خون گاو و گوساله، و متابولیت‌های خون گوساله با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی و با استفاده از مدل آماری $Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + R_k + e_{ijk} + e_{ijkl}$ تجزیه شد، که در آن Y_{ijkl} مشاهده مربوط به تیمار ij (سطح i از عامل A و سطح j از عامل B)، μ میانگین، A_i اثر عامل اول (سطح تغذیه عناصر)، B_j اثر عامل دوم (شکل شیمیایی

نتایج و بحث

ایمونوگلوبولین G در آغوز و خون گاوهای مادر و گوساله‌های شیرخوار: طبق جدول ۳، غلظت IgG در آغوز و خون ماده گاو و گوساله‌ها تحت تأثیر نوع منبع و سطح منگنز، روی و مس قرار نگرفت ($P > 0.05$). به هر حال، افزایش سطح عناصر در جیره موجب بهبود عددی در غلظت IgG آغوز شد. در مورد تأثیر مکمل عناصر بر صفات ایمنی نتایج متفاوتی گزارش شده است. در تأیید نتایج پژوهش حاضر، برخی محققان عدم تأثیر قابل توجه منبع متیونین عناصر (Droke et al., 1998) و سطح عنصر (Droke and Spears, 1993) را بر صفات ایمنی بره‌های در حال رشد گزارش کردند. برعکس، محققان دیگری بهبود ایمنی در پاسخ به مکمل متیونین (Nassiri Moghaddam and Jahanian, 2009) و پروتئینات (Nagalakshmi et al., 2016) را مشاهده نمودند. برخی پژوهشگران گزارش کردند مکمل آلی عناصر باعث افزایش غلظت ایمونوگلوبولین‌های آغوز در مادر و سرم خون گوساله‌های نوزاد می‌شود (Li et al., 2016). در پژوهش دیگری، مکمل آلی مس، روی و منگنز حتی موجب کاهش اندکی در سطح ایمونوگلوبولین‌های آغوز شده است (Kinal et al., 2007). محققان دیگری گزارش کردند که غلظت IgG آغوز در گاوهای تغذیه شده با مکمل آلی عنصر روی بیشتر شده است و به نظر می‌رسد روی نقش مهمی در ساخت IgG بازی کند (Nayeri et al., 2014). در مطالعه‌ای محققان نشان دادند که بهبود ایمنی به وسیله مکمل متیونین روی به زیست‌فراهمی بیشتر این منبع و در نتیجه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بهتر مربوط بوده است (Nassiri Moghaddam and Jahanian, 2009). علت این نتایج متناقض بین مطالعات مختلف شاید به سطح روی در جیره پایه، دز مصرفی مکمل روی، شرایط فیزیولوژیکی حیوان، وضعیت تغذیه حیوان، نوع حیوان و دیگر عوامل مرتبط باشد (Suttle, 2010).

شاخص‌های سلامت گاو و تلفات گوساله: همان‌گونه که از جدول ۴ مشهود است، میزان جفت‌ماندگی، تب شیر، کیست‌های تخمدانی، برگشتگی شیردان و کتوز بالینی گاو پس از زایش صفر بود و هیچ موردی از این شاخص‌ها در تیمارهای مختلف مشاهده نشد. افزایش سطح سه عنصر

مورد بررسی در جیره گاو شیری موجب کاهش میزان بروز ورم پستان و همچنین میزان ثبت لنگش شد که این موضوع می‌تواند دارای آثار مثبت بر تولید شیر باشد (Siciliano-Jones et al., 2008). استفاده از شکل آلی عناصر بجای شکل معدنی نیز در مجموع یک روند کاهشی را برای ورم پستان و لنگش نشان داد. تأثیر شکل شیمیایی و سطح عناصر بر شاخص‌های سلامت را می‌توان تا حدی در تطابق با بهبود عددی رخ داده در غلظت IgG گاوها دانست (جدول ۳)، زیرا وجود همبستگی بین غلظت ایمونوگلوبولین‌ها و سلامت حیوان اثبات شده است (Wells et al., 1996). همچنین، مشخص شده که عناصر کم‌نیاز مس، منگنز و روی موجب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش رادیکال‌های آزاد و آسیب اکسیداتیو در بدن حیوان می‌شوند (Wu, 2018). افزایش سطح عناصر و مصرف کمپلکس آلی عنصر نیز در برخی مطالعات موجب بهبود قدرت دفاعی آنتی‌اکسیدانی شده است (Gressley, 2009). این موارد می‌تواند یک دلیل احتمالی برای مشاهده کمتر ورم پستان و لنگش در پژوهش حاضر باشد. همچنین، مشخص شده که عناصری مانند روی در کراتینه شدن (Tomlinson et al., 2004) و بسته شدن مجرای شیر (Formigoni et al., 2011) نقش دارند. در پژوهش حاضر نیز احتمالاً مصرف شکل آلی و افزایش سطح روی در جیره ممکن است باعث بهتر بسته شدن مجرای پستانک‌ها پس از شیردوشی و در نتیجه عفونت کمتر شده باشد. در پژوهش دیگری نیز تغذیه شکل آلی عناصر موجب کاهش ورم پستان و لنگش و بهبود سلامت سم در گاو شیری شده است (Siciliano-Jones et al., 2008). اما، محققان دیگر گزارش نمودند مصرف منبع آلی مس، روی و منگنز تأثیری بر تب شیر، کتوز، جفت‌ماندگی، جابجایی شیردان و کیست‌های تخمدانی نداشته است (Formigoni et al., 2011).

سطح و شکل شیمیایی منگنز، روی و مس در جیره تأثیری بر مرگ گوساله در بدو تولد یا پس از آن نداشت و از این نظر منابع آلی بر شکل معدنی برتری نداشتند. این مسأله نشان می‌دهد که تغذیه منگنز، روی و مس به شکل معدنی (سولفات) در سطح توصیه NRC برای رشد جنین و سلامت گوساله متولد شده کافی بوده و استفاده از منابع آلی و یا

جدول ۳- اثر سطح و شکل شیمیایی مکمل‌های منگنز، روی و مس در جیره بر ایمونوگلوبولین G (g/L) در آغوز و خون گاوها و گوساله‌های شیرخوار

Table 3. Effect of chemical form and level of dietary Mn, Zn and Cu on immunoglobulin G of the colostrum and blood of cows and suckling calves

	Cow			Calves
	Colostrum	Blood, d 1 after calving	Blood, d 21 after calving	Blood, d 3 after birth
NRC recommended levels ¹				
RSUL	48.87	17.24	19.48	18.64
RGLY	53.43	15.79	17.63	20.91
RMET	51.89	17.24	19.64	19.15
Twice NRC levels ¹				
HSUL	55.51	21.66	22.50	19.21
HGLY	56.41	18.92	23.00	18.26
HMET	59.45	20.71	19.99	18.52
SEM ²	4.12	2.35	2.98	1.60
P value ³				
CF	0.83	0.85	0.91	0.84
ML	0.75	0.73	0.82	0.86
Contrasts; CF				
SUL vs. Organic	0.80	0.84	0.91	0.83
GLY vs. MET	0.86	0.89	0.94	0.87
Contrasts; ML				
SUL vs. Organic	0.47	0.70	0.79	0.95
RGLY and RMET vs. HGLY and HMET	0.81	0.73	0.83	0.82

1. Diets contained: RSUL = recommended daily levels of inorganic (sulphate) Mn, Zn and Cu; RGLY = recommended daily levels of glycine-Mn, Zn and Cu; RMET = recommended daily levels of methionine-Mn, Zn and Cu; HSUL = high daily levels of inorganic (sulphate) Mn, Zn and Cu; HGLY = high daily levels of glycine-Mn, Zn and Cu; HMET = high daily levels of methionine-Mn, Zn and Cu. 2. SEM = standard error of the means. 3. CF = effect of chemical form of Mn, Zn and Cu; ML = effect of levels of Mn, Zn and Cu. The interaction between chemical form and level of Mn, Zn and Cu (CF×ML), for all the variables, were not significant, and thus were not reported.

جدول ۴- اثر سطح و شکل شیمیایی مکمل‌های منگنز، روی و مس در جیره بر بروز وقایع بیماری‌زایی در گاوهای هلشتاین

Table 4. Effect of chemical form and level of dietary Mn, Zn and Cu on incidence of the pathologic events in Holstein cows

Minerals level Chemical form	Recommended level by NRC ¹			Twice NRC level ¹		
	RSUL	RGLY	RMET	HSUL	HGLY	HMET
Retained placenta	0	0	0	0	0	0
Milk fever	0	0	0	0	0	0
Ovarian cysts	0	0	0	0	0	0
Metritis	2	2	3	3	4	3
Displaced abomasum	0	0	0	0	0	0
Clinical ketosis	0	0	0	0	0	0
Mastitis	5	2	1	2	0	1
Lameness	2	1	1	1	0	0
Calf mortality at calving	0	0	0	0	0	0
Calf mortality after birth	0	0	0	0	0	0

1. Diets contained: RSUL = recommended daily levels of inorganic (sulphate) Mn, Zn and Cu; RGLY = recommended daily levels of glycine-Mn, Zn and Cu; RMET = recommended daily levels of methionine-Mn, Zn and Cu; HSUL = high daily levels of inorganic (sulphate) Mn, Zn and Cu; HGLY = high daily levels of glycine-Mn, Zn and Cu; HMET = high daily levels of methionine-Mn, Zn and Cu.

میزان مرگ گوساله در زمان تولد را در گاوهای چند شکم‌زا کاهش داده، هر چند تأثیری بر مرگ گوساله در زمان تولد در گاوهای شکم اول و مرگ گوساله پس از تولد در گاوهای

افزایش دادن سطح این سه عنصر به بالاتر از توصیه NRC اثر مثبتی نداشته است. در پژوهش دیگری، مصرف شکل آلی عناصر بجای شکل معدنی در جیره گاو شیری مادر،

مس تأثیر محسوسی بر غلظت گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول خون (برخی شاخص‌های انرژی) در گاوهای خشک آبستن و گاوهای شیرده نداشت ($P > 0.05$). در کل، می‌توان بیان کرد این عدم تفاوت در غلظت متابولیت‌های خون ممکن است به یکسانی مصرف خوراک و همچنین احتمالاً گوارش‌پذیری مشابه جیره بین دام‌های آزمایشی و در نتیجه عدم تفاوت احتمالی در فراسنجه‌های تخمیری شکمبه در تیمارهای مختلف مرتبط باشد (McDonald *et al.*, 2011). عدم تأثیر منبع آلی و سطح مصرف عناصر کم‌نیاز بر غلظت گلوکز خون در پژوهش حاضر با نتایج محققان دیگر (Sobhanirad and Naserian, 2012) مطابقت داشت. گزارش شده که عناصری مانند روی در فعالیت انسولین و در کاهش گلوکز خون مؤثر هستند (فرزانی و همکاران، ۱۳۸۳؛ McDowell, 2003). به نظر می‌رسد در آزمایش حاضر، تغذیه شکل سولفات‌ها عناصر کم‌نیاز در سطح توصیه NRC برای گاوهای شیری کافی بوده و جایگزینی سولفات با کمپلکس‌های آلی تأثیری بر متابولیسم گلوکز نداشته است. همچنین، باید اشاره کرد که یکی از علل اصلی یکسان بودن گلوکز خون بین دام‌های آزمایشی ممکن است وجود نسبت‌های مولی مشابه پروپیونات (پیش‌ساز اصلی گلوکز خون در نشخوارکنندگان) در شکمبه حیوانات باشد (Wu, 2018). غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول سرم شاخصی از وضعیت انرژی بدن است و عدم تفاوت آن بین گاوهای آزمایشی در پژوهش حاضر احتمالاً حاکی از وضعیت نسبتاً یکسان انرژی در حیوانات مذکور است (Radostits *et al.*, 2007). همچنین، عدم تأثیر تغذیه منابع مختلف و سطح منگنز، مس و روی در جیره بر غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول سرم در پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تیمارهای مذکور احتمالاً تأثیری بر متابولیسم و انتقال لیپیدها در بدن حیوانات آزمایشی نداشته است. بر خلاف نتایج تحقیق حاضر، برخی محققان مشاهده کردند مصرف مکمل آلی روی، غلظت تری‌گلیسرید خون گاو‌میش را در اواخر آبستنی و پس از زایش افزایش داده است (Zeedan *et al.*, 2009). اما، در تحقیق دیگری مشاهده شد که شکل آلی و سطح مصرف عنصر روی تأثیری بر غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول خون در گوساله نداشت است (عبدالهی، ۱۳۹۶).

شکم اول یا چند شکم‌زا نداشته است (Formigoni *et al.*, 2011).

شاخص‌های باروری: بر اساس جدول ۵، استفاده از منابع آلی منگنز، روی و مس بجای شکل سولفات‌ها و افزایش دادن غلظت عناصر در جیره‌های پیش و پس از زایش تأثیری بر شاخص‌های باروری نداشت ($P > 0.05$). عدم تأثیر شکل آلی عناصر بر روزهای باز، روز تا اولین فحلی و اولین سرویس در پژوهش حاضر با نتایج گزارش شده به وسیله سایر محققان موافق بود (Formigoni *et al.*, 2011). حتی، در پژوهش محققان دیگر، تعداد سرویس به ازای آبستنی با مصرف شکل آلی عناصر منگنز، روی و مس افزایش یافته بود که یک رخداد منفی است. اما برخی پژوهشگران دیگر اثر مکمل‌های آلی را بر عملکرد تولیدمثل بهتر از مکمل‌های معدنی دانسته‌اند (Cope *et al.*, 2009). آنها بیان کردند که شواهدی دال بر نقش روی در تولیدمثل گاوهای شیری وجود دارد و عنصر مذکور باعث کاهش سقط جنین و کاهش فحلی‌های نامنظم می‌شود. همچنین، بیان کردند که عنصر روی تعداد روز تا اولین فحلی را کاهش می‌دهد. نکته دیگر آن بوده که مس و منگنز نیز دارای آثار مثبت بر باروری و فعالیت جنسی و تحرک اسپرم هستند و بنابراین، استفاده از شکل آلی عناصر باید موجب بهبود صفات تولیدمثلی در دام شود (Cope *et al.*, 2009; Formigoni *et al.*, 2011). به هر حال، چنین بهبودی در پژوهشی در گاو شیری مشاهده نشد (Formigoni *et al.*, 2011). به نظر می‌رسد این تفاوت نتایج و پاسخ‌دهی دام در تحقیقات مختلف به عواملی مانند وضعیت تغذیه قبلی دام، خلوص منابع معدنی مورد استفاده در جیره، میزان تولید دام، فصل، ذخایر بدنی عناصر، نوع جیره دام، وضعیت انرژی و پروتئین بدن و وضعیت رفاهی دام (وجود یا عدم وجود تنش و عوامل تنش‌زا)، بهداشت و سایر عوامل وابسته باشد (Gressley, 2009; Suttle, 2010; Alimohamady *et al.*, 2019).

متابولیت‌های خون گاو شیری: غلظت متابولیت‌های خون شاخصی از بسنده بودن تأمین مواد مغذی در بدن است که به وضعیت تغذیه‌ای در یک زمان خاص اشاره دارد (Pambu-Gollah *et al.*, 2000). بر اساس نتایج گزارش شده در جدول ۶، سطوح مختلف و نوع منبع عناصر منگنز، روی و

در این پژوهش هم‌راستا و مطابق با غلظت یکسان متابولیت‌های مذکور در خون گاوهای مادر باشد. به نظر می‌رسد غلظت یکسان متابولیت‌های خون گوساله‌های سه روزه در پژوهش حاضر به همراه عدم تغییر در نرخ مرگ آنها مؤید کافی بودن تأمین عناصر منگنز، روی و مس در حد توصیه NRC از منبع سولفات‌ها در جیره گاوهای مادر برای تأمین نیاز گوساله‌های نوزاد و سلامت آنها باشد.

متابولیت‌های خون گوساله نوزاد: بر اساس جدول ۷، تغذیه گاو مادر با سطوح مختلف کمپلکس‌های گلايسين یا متيونين منگنز، روی و مس به جای شکل سولفات‌ها تأثیر معنی‌داری بر غلظت گلوکز، تری‌گلیسریدها و کلسترول خون گوساله‌های شیرخوار در سن سه روزگی نداشت ($P > 0.05$). بدیهی است که گوساله نوزاد (سه روزه در پژوهش حاضر) برای تغذیه کاملاً به آغوز و شیر مادر وابسته است و هنوز تحت تأثیر ذخایر بدنی دوره جنینی خود قرار دارد (Drackley, 2008). بر این اساس، منطقی به نظر می‌رسد که عدم تغییر غلظت متابولیت‌های خون گوساله‌های نوزاد

جدول ۵- اثر سطح و شکل شیمیایی مکمل‌های منگنز، روی و مس در جیره بر عملکرد تولیدمثلی در گاوهای هلشتاین

Table 5. Effect of chemical form and level of dietary Mn, Zn and Cu on the reproductive performance of Holstein cows

	Days open ⁴	Days to first oestrus ⁵	Days to first oestrus ⁴	Days to first service ⁵	Days to first service ⁴	Cows pregnant before d 100	Service/Conception ⁴
NRC recommended levels ¹							
RSUL	81.1	37.3	23.6	72.8	58.0	6	2.0
RGLY	78.8	42.7	24.7	79.4	58.0	5	1.5
RMET	87.1	38.8	24.8	73.3	60.2	6	2.0
Twice NRC levels ¹							
HSUL	85.0	42.7	28.0	75.0	62.0	6	2.1
HGLY	87.5	45.4	29.0	74.4	62.3	7	1.6
HMET	80.2	38.4	28.4	68.7	61.7	7	1.8
SEM ²	7.65	6.22	3.43	8.21	4.52	-	0.27
<i>P</i> value ³							
CF	0.99	0.73	0.84	0.98	0.82	-	0.99
ML	0.86	0.48	0.94	0.83	0.94	-	0.77
Contrasts; CF							
SUL vs. Organic	0.92	0.66	0.69	0.95	0.93	-	0.91
GLY vs. MET	0.95	0.67	0.75	0.91	0.90	-	0.86
Contrasts; ML							
SUL vs. Organic	0.76	0.48	0.67	0.86	0.89	-	0.73
RGLY and RMET vs. HGLY and HMET	0.73	0.47	0.70	0.81	0.92	-	0.80

1. Diets contained: RSUL = recommended daily levels of inorganic (sulphate) Mn, Zn and Cu; RGLY = recommended daily levels of glycine-Mn, Zn and Cu; RMET = recommended daily levels of methionine-Mn, Zn and Cu; HSUL = high daily levels of inorganic (sulphate) Mn, Zn and Cu; HGLY = high daily levels of glycine-Mn, Zn and Cu; HMET = high daily levels of methionine-Mn, Zn and Cu. 2. SEM = standard error of the means. 3. CF = effect of chemical form of Mn, Zn and Cu; ML = effect of levels of Mn, Zn and Cu. The interaction between chemical form and level of Mn, Zn and Cu (CF×ML), for all the variables, were not significant, and thus were not reported. 4- Calculated for the cows pregnant up to day 100 of the lactation (d). 5. Calculated for all the cows (d).

جدول ۶- اثر سطح و شکل شیمیایی مکمل‌های منگنز، روی و مس در جیره بر متابولیت‌های خون (mg/dL) در گاوهای هلشتاین

Table 6. Effect of chemical form and level of dietary Mn, Zn and Cu on the blood metabolites (mg/dL) of Holstein cows

Minerals' level	Recommended level by NRC ¹			Twice NRC level ¹			SEM ²	P value ³		Contrasts			
	RSUL	RGLY	RMET	HSUL	HGLY	HMET				CF		ML	
Chemical form	RSUL	RGLY	RMET	HSUL	HGLY	HMET	CF	ML	SUL vs. Organic	GLY vs. MET	SUL vs. Organic	RGLY and RMET vs. HGLY and HMET	
Glucose													
d 23 before calving	67.4	69.4	69.0	65.7	72.5	73.0	7.15	0.77	0.75	0.64	0.80	0.55	0.61
d 6 before calving	77.7	75.5	79.9	79.8	78.1	77.6	5.11	0.86	0.92	0.83	0.82	0.93	0.96
d 1 after calving	69.2	68.1	71.9	74.4	67.3	68.1	7.51	0.97	0.87	0.92	0.90	0.96	0.90
d 21 after calving	64.7	63.3	66.7	60.9	58.2	60.3	5.52	0.28	0.88	0.43	0.62	0.94	0.73
d 50 after calving	65.6	68.8	63.5	65.2	65.9	64.8	4.88	0.87	0.81	0.95	0.86	0.94	0.83
Triglyceride													
d 23 before calving	18.5	21.3	18.4	19.0	23.1	21.3	1.65	0.13	0.10	0.26	0.30	0.12	0.19
d 6 before calving	21.5	22.9	16.0	19.6	17.0	17.4	2.58	0.32	0.27	0.25	0.32	0.15	0.20
d 1 after calving	16.0	15.7	17.1	18.5	16.8	16.4	2.62	0.66	0.93	0.42	0.87	0.96	0.89
d 21 after calving	24.7	26.0	26.0	27.7	24.4	25.6	5.09	0.96	0.89	0.98	0.94	0.93	0.88
d 50 after calving	27.6	25.0	31.4	24.0	25.5	26.4	5.50	0.55	0.77	0.73	0.67	0.80	0.80
Cholesterol													
d 23 before calving	85.4	83.7	82.7	88.9	85.2	84.6	4.20	0.45	0.74	0.39	0.76	0.91	0.90
d 6 before calving	83.0	85.9	81.1	84.0	80.2	83.0	4.22	0.79	0.93	0.79	0.83	0.96	0.93
d 1 after calving	84.7	80.3	81.2	80.7	82.2	82.6	11.4	0.98	0.99	0.82	0.97	0.94	0.98
d 21 after calving	102	114	106	100	102	109	10.1	0.68	0.76	0.46	0.78	0.81	0.80
d 50 after calving	129	129	122	126	118	120	12.9	0.63	0.87	0.60	0.77	0.82	0.75

1. Diets contained: RSUL = recommended daily levels of inorganic (sulphate) Mn, Zn and Cu; RGLY = recommended daily levels of glycine-Mn, Zn and Cu; RMET = recommended daily levels of methionine-Mn, Zn and Cu; HSUL = high daily levels of inorganic (sulphate) Mn, Zn and Cu; HGLY = high daily levels of glycine-Mn, Zn and Cu; HMET = high daily levels of methionine-Mn, Zn and Cu. 2. SEM = standard error of the means. 3. CF = effect of chemical form of Mn, Zn and Cu; ML = effect of levels of Mn, Zn and Cu. The interaction between chemical form and level of Mn, Zn and Cu (CF×ML), for all the variables, were not significant, and thus were not reported.

جدول ۷- اثر سطح و شکل شیمیایی مکمل‌های منگنز، روی و مس در جیره گاوهای مادر بر متابولیت‌های خون (mg/dL) گوساله‌های شیرخوار در سه روزگی

Table 7. Effect of chemical form and level of Mn, Zn and Cu in the diet of mother cows on the blood metabolites (mg/dL) of suckling calves, at three days after the birth

	Glucose	Triglyceride	Cholesterol
NRC recommended levels ¹			
RSUL	85.0	28.9	89.0
RGLY	84.5	27.9	85.7
RMET	83.5	28.3	78.5
Twice NRC levels ¹			
HSUL	84.6	32.3	80.9
HGLY	89.1	31.8	81.4
HMET	80.9	28.7	80.6
SEM ²	9.77	0.20	5.48
P value ³			
CF	0.95	0.53	0.88
ML	0.91	0.88	0.94
Contrasts; CF			
SUL vs. Organic	0.96	0.66	0.89
GLY vs. MET	0.95	0.71	0.84
Contrasts; ML			
SUL vs. Organic	0.97	0.91	0.90
RGLY and RMET vs. HGLY and HMET	0.92	0.85	0.91

1. Diets contained: RSUL = recommended daily levels of inorganic (sulphate) Mn, Zn and Cu; RGLY = recommended daily levels of glycine-Mn, Zn and Cu; RMET = recommended daily levels of methionine-Mn, Zn and Cu; HSUL = high daily levels of inorganic (sulphate) Mn, Zn and Cu; HGLY = high daily levels of glycine-Mn, Zn and Cu; HMET = high daily levels of methionine-Mn, Zn and Cu. 2. SEM = standard error of the means. 3. CF = effect of chemical form of Mn, Zn and Cu; ML = effect of levels of Mn, Zn and Cu. The interaction between chemical form and level of Mn, Zn and Cu (CF×ML), for all the variables, were not significant, and thus were not reported.

آلی و یا غلظت بیشتر آنها اثربخشی بیشتری بر مصرف خوراک نخواهد داشت.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، استفاده از کمپلکس‌های آلی ترکیبی گلایسین- منگنز، روی و مس یا متیونین- منگنز، روی و مس در جیره به جای شکل سولفات‌ها تأثیری بر ایمونوگلوبولین G، متغیرهای باروری و متابولیت‌های خون گاو و گوساله نداشت، اما سبب کاهش ورم پستان و لنگش (بهبود سلامت) شد. از سوی دیگر، افزایش سطح عناصر مذکور در جیره به دو برابر توصیه NRC، میزان وقوع ورم پستان و لنگش را کاهش داد و موجب افزایش عددی در غلظت ایمونوگلوبولین G آغوز شد. به هر حال، بهتر است مطالعاتی با استفاده از تعداد حیوانات بیشتر برای بررسی صحیح‌تر متغیرهای تولیدمثلی انجام شود.

مصرف خوراک در گاوهای شیری: نقش مثبت عناصر کم‌نیاز مانند روی بر میزان اشتها قبلاً ذکر شده است، به طوری که کمبود عنصری مانند روی موجب کاهش اشتها و مصرف خوراک در دام می‌شود (NRC, 2001; Wu, 2018). به هر حال، طبق نتایج ارائه شده در جدول ۸، شکل آلی یا معدنی عناصر تأثیری بر مصرف خوراک گاوها در دوره پیش و پس از زایش نداشت ($P > 0.05$). از سوی دیگر، تغذیه منگنز، مس و روی در سطح دو برابر توصیه NRC نیز تأثیر مثبتی بر مصرف خوراک نداشت ($P > 0.05$). این یافته نشان می‌دهد که نوع منبع (شکل شیمیایی) و سطح عناصر مذکور احتمالاً تأثیر خاصی بر خوش‌خوراکی جیره یا تخمیر شکمبه نداشته و بنابراین مصرف خوراک ثابت مانده است، یعنی با توجه به کافی بودن سطح عنصر در تمامی جیره‌ها، شکل

جدول ۸- اثر سطح و شکل شیمیایی مکمل‌های منگنز، روی و مس در جیره بر مصرف خوراک گاوهای خشک و شیرده

Table 8. Effect of chemical form and level of Mn, Zn and Cu in diet on feed intake of dry and lactating cows

	DMI, before calving	DMI, After calving
NRC recommended levels ¹		
RSUL	12.1	26.0
RGLY	12.1	25.9
RMET	11.8	25.9
Twice NRC levels ¹		
HSUL	12.5	25.6
HGLY	12.7	25.3
HMET	12.9	25.7
SEM ²	0.391	0.702
P value ³		
CF	0.95	0.90
ML	0.90	0.89
Contrasts; CF		
SUL vs. Organic	0.98	0.93
GLY vs. MET	0.95	0.92
Contrasts; ML		
SUL vs. Organic	0.96	0.90
RGLY and RMET vs. HGLY and HMET	0.89	0.89

1. Diets contained: RSUL = recommended daily levels of inorganic (sulphate) Mn, Zn and Cu; RGLY = recommended daily levels of glycine-Mn, Zn and Cu; RMET = recommended daily levels of methionine-Mn, Zn and Cu; HSUL = high daily levels of inorganic (sulphate) Mn, Zn and Cu; HGLY = high daily levels of glycine-Mn, Zn and Cu; HMET = high daily levels of methionine-Mn, Zn and Cu. 2. SEM = standard error of the means. 3. CF = effect of chemical form of Mn, Zn and Cu; ML = effect of levels of Mn, Zn and Cu. The interaction between chemical form and level of Mn, Zn and Cu (CF×ML), for all the variables, were not significant, and thus were not reported.

فهرست منابع

- عبدالهی م. ۱۳۹۶. تأثیر تغذیه سطوح مختلف اکسید روی، متیونین روی و نانو اکسید روی بر عملکرد، وضعیت سلامت و ایمنی گوساله. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
- فرزانی ب.، گلستانی ا. و عجمی خیایوی ا. ۱۳۸۳. بررسی اثر کاتیون‌های فلزی Zn^{2+} ، W^{6+} و W^{5+} بر میزان ترشح انسولین و فعالیت آنزیم گلوکوکیناز در جزایر لانگرهانس جدا شده از موش صحرایی سالم و دیابتی. دیابت و لیپید ایران، ۳(۲): ۹۷-۱۰۵.
- Alimohamady R., Aliarabi H., Bruckmaier R. M. and Christensen R. G. 2019. Effect of different sources of supplemental zinc on performance, nutrient digestibility, and antioxidant enzyme activities in lambs. *Biological Trace Element Research*, 189(1): 75-84.
- Ao T., Pierce J. L., Power R., Dawson K. A., Pescatore A. J., Cantor A. H. and Ford M. J. 2006. Evaluation of Bilex Zn as an organic zinc source for chicks. *International Journal of Poultry Science*, 5: 808-811.
- Ao T., Pierce J. L., Power R., Pescatore A. J., Cantor A. H., Dawson K. A. and Ford M. J. 2009. Effect of different forms of zinc and copper on the performance and tissue mineral content of chicks. *Poultry Science*, 88: 2171-2175.
- AOAC. 2002. *Official Methods of Analysis of AOAC International* (17th Ed., 1st rev.). Gaithersburg (MD): Association of Official Analytical Chemists.
- Cope C. M., Mackenzie A. M., Wilde D. and Sinclair L. A. 2009. Effects of level and form of dietary zinc on dairy cow performance and health. *Journal of Dairy Science*, 92: 2128-2135.
- Drackley J. K. 2008. Calf nutrition from birth to breeding. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1): 55-86.
- Droke E. A. and Spears J. W. 1993. *In vitro* and *in vivo* immunological measurements in growing lambs fed diets deficient, marginal or adequate in zinc. *Journal of Nutritional Immunology*, 2(1): 71-90.
- Droke E. A., Gengelbach G. P. and 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: 139-144.

- Formigoni A., Fustini M., Archetti L., Emanuele S., Sniffen C. and Biagia G. 2011. Effects of an organic source of copper, manganese and zinc on dairy cattle productive performance, health status and fertility. *Animal Feed Science and Technology*, 164: 191-198.
- Genther O. N. 2014. Trace mineral supplementation in feedlot cattle: implications for the inflammatory response, growth, and carcass characteristics. Ph.D. Dissertation, Iowa State University, USA.
- Goff J. P. 2017. Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid-base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. *Journal of Dairy Science*, 101(4): 2763-2813.
- Gressley T. F. 2009. Zinc, copper, manganese, and selenium in dairy cattle rations, In: Proceedings of the 7th Annual Mid-Atlantic Nutrition Conference. Zimmermann, N. G. (Ed.). University of Maryland, College Park, MD, USA. pp. 65-71.
- Kinal S., Korniewicz A., Slupczynska M., Bodarski R., Korniewicz D. and Cermak B. 2007. Effect of the application of bioplexes of zinc, copper and manganese on milk quality and composition of milk and colostrum and some indices of the blood metabolic profile of cows. *Czech Journal of Animal Science*, 52(12): 423-429.
- Li M. Z., Huang J. T., Tsai Y. H., Mao S. Y., Fu C. M. and Lien T. F. 2016. Nanosize of zinc oxide and the effects on zinc digestibility, growth performances, immune response and serum parameters of weanling piglets. *Animal Science Journal*, 87(11): 1379-1385.
- McDonald P., Edwards R. A., Greenhalgh J. F. D., Morgan C. A., Sinclair L. A. and Wilkinson R. G. 2011. *Animal Nutrition* (7th Ed.). UK: Prentice Hall, Essex.
- McDowell L. R. 2003. *Minerals in Animal and Human Nutrition* (2nd Ed.). Netherlands: Elsevier Science B. V., Amsterdam.
- Mielcarz-Skalska L. and Smolińska B. 2017. Zinc and nano-ZnO – influence on living organisms. *Biotechnology and Food Science*, 81(2): 93-102.
- Nagalakshmi D., Rao K. S., Kumari G. A., Sridhar K. and Satyanarayana M. 2016. Comparative evaluation of organic zinc supplementation as proteinate with inorganic zinc in buffalo heifers on health and immunity. *Indian Journal of Animal Science*, 86(3): 322-328.
- Nassiri Moghaddam H. and Jahanian R. 2009. Immunological responses of broiler chicks can be modulated by dietary supplementation of zinc-methionine in place of inorganic zinc sources. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 22: 396-403.
- Nayeri A., Upah N. C., Sucu E., Sanz-Fernandez M. V., DeFrain J. M., Gorden P. J. and Baumgard L. H. 2014. Effect of the ratio of zinc amino acid complex to zinc sulfate on the performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 97(7): 4392-4404.
- NRC. 2001. *Nutrient Requirements for Dairy Cattle* (7th rev. Ed.). USA: National Academy Press. Washington, DC.
- Overton T. R. and Yasui T. 2014. Practical applications of trace minerals for dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 92: 416-426.
- Pambu-Gollah R., Cronjé P. B. and Casey N. H. 2000. An evaluation of the use of blood metabolite concentrations as indicators of nutritional status in free-ranging indigenous goats. *South African Journal of Animal Science*, 30: 115-120.
- Radostits O. M., Gay C. C., Blood D. C. and Hinchliffe K. W. 2007. *Veterinary Medicine. A text book of the diseases of cattle, sheep, goats and horses* (10th Ed.). UK: Saunders, W. B. Ltd., London.
- Siciliano-Jones J. L., Socha M. T., Tomlinson D. J. and DeFrain J. M. 2008. Effect of trace mineral source on lactation performance, claw integrity, and fertility of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 91(5): 1985-1995.
- Sobhanirad S. and 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: 242-246.
- Suttle N. F. 2010. *Mineral Nutrition of Livestock* (4th Ed.). USA: CABI, Cambridge.
- Tomlinson D. J., Mulling C. H. and Fakler T. M. 2004. Invited review: formation of keratins in the bovine claw: roles of hormones, minerals and vitamins in functional claw integrity. *Journal of Dairy Science*, 87: 797-809.
- Wells S. J., Dargatz D. A. and Ott S. L. 1996. Factors associated with mortality to 22 days of life in dairy herds in the United States. *Preventive Veterinary Medicine*, 29: 9-19.
- Wu G. 2018. *Principles of Animal Nutrition* (1th Ed.). USA: Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL.
- Zeedan Kh., El-Malky O. M. and Komonna O. F. 2009. Productive and reproductive performance of buffaloes fed on rations supplemented with Biogen-Zinc at late pregnancy period, In: Proceedings of 2nd Scientific Conference of Animal Wealth Research in the Middle East and North Africa. Cairo International Convention Center, Massive Conferences and Trade Fairs, Cairo, Egypt, pp. 237-249.



Research paper

Effect of using organic complexes of Mn, Zn and Cu (compound with glycine- or methionine-) instead of sulphate forms (equal to or twice NRC recommendation) on health, fertility and blood metabolites of dairy cows and calves

H. Roshanzamir¹, J. Rezaei^{2*}, H. Fazaeli³

1. Graduated student of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3. Professor of Ruminant Nutrition, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

(Received: 12-09-2018 – Accepted: 31-10-2018)

Abstract

Effect of supplementing organic complexes (compound with glycine or methionine) of Mn, Zn and Cu compared with sulphate forms (equal to or twice NRC recommendation) on health, fertility and blood metabolites of dairy cows and suckling calves was assessed. Two months before calving, 60 pregnant Holstein cows were divided to six experimental groups in a randomized complete block design. Six diets containing 1. Mn, Zn and Cu-sulphate at NRC levels, 2. Mn, Zn and Cu-glycine at NRC levels, 3. Mn, Zn and Cu-methionine at NRC levels, 4. Mn, Zn and Cu-sulphate twice NRC, 5. Mn, Zn and Cu-glycine twice NRC, and 6. Mn, Zn and Cu-methionine twice NRC, were fed *ad libitum*. Immunoglobulin G (IgG) of colostrum and blood, metritis, mastitis, retained placenta, lameness, ketosis, ovarian cysts, calf mortality, fertility and blood glucose, triglyceride and cholesterol (five blood sampling; from day 60 before calving to day 100 after calving) were determined. Feeding organic mineral complexes instead of sulphate form had no effects on IgG, fertility and blood metabolites of cows and calves, but decreased mastitis and lameness. Also, increasing dietary levels of the trace minerals led to the decrease in incidence of mastitis and lameness, and numerical increase in IgG of colostrum, but had no effect on other variables. Overall, feeding organic complexes (methionine- or glycine-) of Mn, Zn and Cu and also increasing the minerals levels in diets of pre- and post-partum cows had positive effects on the health of the animals, without changes in fertility.

Keywords: Immunity, Fertility, Mineral level, Cow, Organic Mn/Zn/Cu supplements

*Corresponding author: rezaei.j@modares.ac.ir