



## Effect of different levels of zinc oxide in diets containing sodium selenite on growth performance and some immune indices of suckling Holstein calves

M. Nobakht<sup>1</sup>, M. D. Shakouri<sup>2\*</sup>

1. Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran  
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

(Received: 26-08-2024 – Revised: 27-11-2024 – Accepted: 28-11-2024)

**Introduction:** Microelements in organisms have several structural, catalytic, and regulatory functions and play an important role in the functioning of the immune system. The trace mineral content of colostrum and milk is not optimal and in suckling calves, the inclusion of trace mineral supplements in the diet is necessary. Selenium (Se) is a basic mineral for humans and animals and has now been identified as an integral component of more than 35 selenoproteins which are involved in enzymatic, structural, or as yet unidentified functions. In livestock, Se is important for fertility and the prevention of diseases. Sufficient intake of Se increases fertility and enhances antioxidant protection systems and immunological potential. Se deficiency in cattle is associated with several problems, including delayed conception, muscular degenerative disease in calves, myocardial necrosis, heart failure, impaired immune function, increased risk of mastitis, abortion, perinatal mortality, and growth retardation in young calves. Based on the recommendation of the National Research Council, the daily requirements for Se and vitamin E in growing calves are 0.30 mg and 40 IU, respectively. To avoid Se deficiency and to promote animal health, inorganic sources of Se (sodium selenite and selenium) are routinely used as a supplement to the diet of farm animals. Zinc is involved in over 300 enzymes either as a component or as an activator. Zinc (Zn) is involved in immunity, metabolism, growth, and reproduction. It plays a role in the structure and function of antioxidant enzymes. Due to mineral interactions, the inorganic forms are less bioavailable in the gastrointestinal tract. The aim of this study was therefore to assess the effects of supplementation with sodium selenite and Zn oxide on growth performance, immune response, blood parameters, and antioxidant status in Holstein calves.

**Materials and methods:** The calves were kept in well-ventilated sheds with concrete floors and with individual feeding and watering facilities. The basal diet was prepared from locally available feed ingredients to meet the nutritional requirements of calves growing except for Zn and Se. Calves are fed milk at 10% of body weight in the morning and evening. The experiment started at four days of age and the calves were kept in individual pens for up to 42 days. The study used 36 Holstein calves with an average weight of 34.5±2 kg over 42 days in a completely randomized design. The basal diet (containing 40 mg Zn and 0.15 mg Se) was without Zn and Se supplementation (diet 1). Diet 2 contained 0.3 mg sodium selenite, diet 3 contained 40 mg Zn oxide, diet 4 contained 55 mg Zn oxide, diet 5 contained 0.3 mg sodium selenite + 40 mg Zn oxide, and diet 6 contained 0.3 mg sodium selenite + 55 mg Zn oxide. Feed intake was calculated daily, and calves were weighed weekly to calculate the feed conversion ratio and average daily gain. Blood samples were taken on days 20 and 42 to determine trace mineral levels in plasma and biochemical, enzymatic, hormonal, antioxidant, and hematological parameters. Data on growth and blood parameters were analyzed using the GLM procedure of the SAS program. Significant difference between treatments was determined by Duncan's test and the results were considered significant if the *P*-value was less than 0.05.

\* Corresponding author: mdshakouri@uma.ac.ir



**Results and discussion:** The results showed that the use of sodium selenite and different levels of Zn oxide did not have a significant effect on feed intake, final weight, body weight gain, growth performance, and immune response ( $P>0.05$ ). No significant differences in blood metabolite concentrations were observed between treatments ( $P>0.05$ ). Supplementing milk with 0.3 mg sodium selenite and 40 and 55 mg Zn oxide significantly increased the activity of superoxide dismutase and decreased the levels of malondialdehyde and aspartate aminotransferase ( $P<0.05$ ). Se plays a role in the defense against the accumulation of hydroperoxides from cellular metabolism. This biological function is mediated by selenoproteins such as glutathione peroxidase (GPx), iodothyronine deiodinases, and thioredoxin reductases, of which selenium is a structural component. Se also acts on enzymes involved in the production and regulation of thyroid hormones and is recognized as a factor in immunological function. The role of Zn as an antioxidant and its role in cell replication and proliferation are the two most directly related links between Zn and the immune system.

**Conclusions:** Supplementing milk with Zn oxide and sodium selenite improved the antioxidant status and helped to relieve the stress experienced by suckling calves.

**Keywords:** Zinc oxide, Immune response, Growth performance, Sodium selenite, Holstein calf

**Conflicts of interest:** The authors declare no conflicts of interest.

**Funding:** The authors received no specific funding for this project.

#### How to cite this article:

Nobakht, M., & Shakouri, M. D. (2024). Effect of different levels of zinc oxide in diets containing sodium selenite on growth performance and some immune indices of suckling Holstein calves. *Animal Production Research*, 13(4), 95-104. doi: 10.22124/ar.2024.28264.1845



## اثر سطوح مختلف اکسید روی در جیره‌های حاوی سلنیت سدیم بر عملکرد رشد و برخی شاخص‌های ایمنی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

مریم نوبخت<sup>۱</sup>، میر داریوش شکوری<sup>۲\*</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۰۵ - تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۹/۰۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۰۸)

### چکیده

به منظور بررسی تاثیر سطوح مختلف اکسید روی در جیره‌های حاوی سلنیت سدیم بر عملکرد رشد و برخی شاخص‌های ایمنی گوساله‌های هلشتاین، آزمایشی با ۳۶ راس گوساله هلشتاین (با میانگین وزنی برابر با ۳۴/۵ کیلوگرم) با شش تیمار و شش تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارها شامل: ۱- شاهد (۴۰ میلی‌گرم روی و ۰/۱۵ میلی‌گرم سلنیوم)، ۲- ۰/۳ میلی‌گرم سلنیت سدیم، ۳- ۴۰ میلی‌گرم اکسید روی، ۴- ۵۵ میلی‌گرم اکسید روی، ۵- ۰/۳ میلی‌گرم سلنیت سدیم و ۴۰ میلی‌گرم اکسید روی، ۶- ۰/۳ میلی‌گرم سلنیت سدیم و ۵۵ میلی‌گرم اکسید روی بودند. طی آزمایش، گوساله‌ها دسترسی آزاد به جیره آغازین و آب داشتند. مصرف خوراک به صورت روزانه و وزن بدن در روزهای ۲۰ و ۴۲ پرورش اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید، پروتئین کل، اوره، آهن، روی، سلنیوم، کلسیم، فسفر، سوپراکسید دیسموتاز، مالون‌دی‌آلدئید، آسپاراتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز، لنفوسیت، نوتروفیل، مونوسیت و ایمنوگلوبولین G در روزهای ۲۰ و ۴۲ پرورش از گوساله‌ها خون‌گیری انجام شد. نتایج نشان داد که مکمل کردن شیر با سلنیوم و روی معدنی، تاثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد، مصرف خوراک و پاسخ ایمنی نداشت ( $P>0/05$ ). همچنین، اختلاف معنی‌داری بین متابولیت‌های خونی نسبت به گروه شاهد مشاهده نشد ( $P>0/05$ ). افزودن همزمان سلنیوم و روی باعث کاهش معنی‌دار آسپاراتات آمینو ترانسفراز، مالون‌دی‌آلدئید و افزایش معنی‌دار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد ( $P<0/05$ ). به طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده همزمان سلنیوم و اکسید روی در سطوح ۴۰ و ۵۵ میلی‌گرم می‌تواند سبب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم و کاهش تنش اکسیداتیو گوساله‌های هلشتاین شود.

**واژه‌های کلیدی:** اکسید روی، پاسخ ایمنی، عملکرد رشد، سلنیت سدیم، گوساله هلشتاین

\* نویسنده مسئول: mdshakouri@uma.ac.ir

## مقدمه

بر پاسخ ایمنی سلولی و هومورال تأثیر می‌گذارد. از آنجایی که بیشتر گوساله‌ها با کمبود سلنیوم متولد می‌شوند، تغذیه سلنیوم، یک روش مهم جهت توسعه سیستم ایمنی است (Kamada *et al.*, 2007). در یک پژوهش، تغذیه مکمل معدنی روی و سلنیوم تأثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد و فراسنجه‌های خونی نشان نداد (Pal *et al.*, 2010; Ryan *et al.*, 2015). در مطالعه‌ای دیگر، استفاده از روی موجب بهبود رشد گوساله‌ها و کاهش ابتلا به بیماری اسهال در گوساله‌ها شد (Fengtao *et al.*, 2020). به هر حال، روی باعث افزایش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کاهش سطح مالون دی‌آلدئید و افزایش ایمنی گوساله‌های شیرخوار شده است (Wei *et al.*, 2019). با توجه به نقش عناصر معدنی کم مصرف در عملکرد رشد، ایمنی و سلامت حیوان، در بیشتر موارد، مقدار آن در شیر، بهینه نیست و استفاده از آن در دوره شیرخوارگی ضروری است. مطالعات اندکی با نتایج متفاوت در مورد استفاده همزمان عناصر معدنی عملکرد رشد و فراسنجه‌های بیوشیمیایی گوساله‌های شیرخوار وجود دارد. بنابراین، در این مطالعه، آثار استفاده همزمان سلنیت سدیم و سطوح مختلف اکسید روی بر عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی سرم گوساله‌های هلشتاین مورد مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در مجتمع دامپروری کشت و صنعت و دامپروری مغان اجرا شد. بدین منظور، تعداد ۳۶ راس گوساله هلشتاین نر و ماده با میانگین وزن ۳۴/۵ کیلوگرم و سن پنج روز در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و شش تکرار به مدت ۴۲ روز انجام شد. تیمارها شامل: ۱- جیره پایه فاقد مکمل روی و سلنیوم (گروه شاهد، ۴۰ میلی‌گرم گرم روی و ۰/۱۵ میلی‌گرم سلنیوم)، ۲- جیره حاوی ۰/۳ میلی‌گرم سلنیت سدیم، ۳- جیره حاوی ۴۰ میلی‌گرم اکسید روی، ۴- جیره حاوی ۵۵ میلی‌گرم اکسید روی، ۵- جیره حاوی ۰/۳ میلی‌گرم سلنیت سدیم و ۴۰ میلی‌گرم اکسید روی، ۶- جیره حاوی ۰/۳ میلی‌گرم سلنیت سدیم و ۵۵ میلی‌گرم اکسید روی بودند. گوساله‌ها در روز چهارم پس از تولد به جایگاه‌های انفرادی بتونی به ابعاد  $1/0 \times 1/9$  متر با بستر کلس در محل گوساله‌دانی منتقل شدند. جیره استارتر و آب از روز پنجم پس از تولد به صورت آزاد در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. تغذیه شیر به میزان ۱۰ درصد

روی یک ماده معدنی کمیاب و ضروری برای بدن است و در ساختار بیش از ۳۰۰ متالوپروتئین، به‌ویژه در متالوآنزیم‌ها، وجود دارد (Livingstone, 2015). عنصر روی در ساخت و یا تجزیه کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها نقش دارد. نقش این عنصر در تمامی گروه‌های آنزیمی، به‌ویژه آنزیم‌های موثر در هضم و جذب غذا، حائز اهمیت است (Hou *et al.*, 2021). همچنین، روی بر عملکرد طبیعی سیستم ایمنی از راه افزایش تکثیر و کاهش آپوپتوز در لنفوسیت‌ها و بیان ژن‌های سیتوکینی نقش دارد (Haase *et al.*, 2014). روی برای فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکوتاتیون پراکسیداز ضروری است و کمبود آن سبب افزایش تنش اکسیداتیو می‌شود (Marreiro *et al.*, 2017). زیست‌فراهمی این عنصر در بسیاری از مواد خوراکی با منشأ گیاهی کم است، زیرا در دام فیتات افتاده و قابلیت جذب آن کم می‌شود (Della *et al.*, 2014). در رابطه با نقش در تقویت سیستم ایمنی، گزارش‌هایی مبنی بر اثر عنصر روی در بیان ژن‌های سیتوکینی و مقدار آنتی‌بادی وجود دارد (Guyot *et al.*, 2007; Richards *et al.*, 2011). همچنین، طی فصل گرما، نیاز به عنصر روی که نقش آنتی‌اکسیدانی در بدن دارد افزایش می‌یابد (Marreiro *et al.*, 2017). نیاز روزانه گوساله مطابق با استانداردهای تغذیه ای حدود ۳۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره است که سه تا پنج میلی‌گرم آن از راه شیر تامین می‌شود و همین امر می‌تواند منجر به کاهش رشد شود. بنابراین، استفاده از آن در تغذیه یک ضرورت محسوب می‌شود (Suttle, 2010). شکل فعال اکسیژن (ROS) یکی از انواع رادیکال‌های آزاد است که در شرایط نامتعادل واکنش‌های اکسیداسیون و احیای درون سلولی تولید می‌شود که قدرت اکسیدکنندگی بالا و توانایی زیادی جهت آسیب زدن به اجزای حیاتی سلول از قبیل لیپید، پروتئین، DNA و آنزیم‌ها دارند (Agarwal and Sekhon, 2010). سلنیوم به‌عنوان جزء ضروری آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز است که پراکسید نیتروژن را از بین می‌برد. این عنصر، نقش آنتی‌اکسیدانی نیز دارد و تیوردوکسین ردوکتاز، سلنو آنزیم دیگری است که تنش اکسیداتیو را از بین می‌برد (Spears *et al.*, 2012). سلنیوم به‌عنوان یک عنصر کم‌مصرف از راه افزایش فعالیت فاگوسیتوزی نوتروفیل‌ها و تولید لنفوسیت‌ها و آنتی‌بادی‌ها

افزایش وزن و مصرف خوراک نداشت ( $P > 0.05$ ). مطالعات نشان می‌دهند تداخل جذب روی به شکل غیرآلی با یون-های دیگر از جمله آهن و مس، علت اصلی کاهش جذب آن از دستگاه گوارش است و همچنین، افزایش گوگرد خوراک باعث کاهش جذب روی در فرم غیرآلی می‌شود (Mills *et al.*, 1967). در مطابقت با نتایج آزمایش حاضر، محققین دیگر نیز گزارش کردند استفاده از سطوح ۴۰ و ۵۰ میلی گرم اکسید روی، اثر معنی‌داری بر عملکرد رشد گوساله‌های هلشتاین نشان نداد که این نتیجه به وجود بار الکتریکی در عناصر معدنی، که موجب ایجاد رقابت در جذب این عناصر در دستگاه گوارش می‌شود، نسبت داده شد (Ryan *et al.*, 2015). همچنین، در تحقیق دیگری، استفاده از ۸۰ میلی گرم اکسید روی، اثر معنی‌داری بر افزایش وزن بدن، میانگین رشد روزانه و مصرف خوراک گوساله‌ها نداشت، ولی از نظر عددی بالاتر از گروه شاهد بود (Chang *et al.*, 2020).

جدول ۱- ترکیبات مواد خوراکی و تجزیه شیمیایی جیره استارتر

Table 1. The chemical composition and components of the starter diet\*

| Feed ingredients               | (%)  |
|--------------------------------|------|
| Corn, grain                    | 41.5 |
| Barley, grain                  | 11.5 |
| Wheat bran                     | 10.5 |
| Soybean meal                   | 34   |
| Salt                           | 5.0  |
| Oyster shell                   | 1    |
| Chemical composition           |      |
| Metabolizable energy (Mcal/kg) | 2.9  |
| Dry matter                     | 89.6 |
| Crude Protein                  | 19.1 |
| Ash                            | 6.3  |
| Ether extract (Crude fat)      | 2.1  |
| Neutral detergent fiber        | 16.1 |
| Acid detergent fiber           | 7.1  |
| Calcium                        | 0.5  |
| Phosphorus                     | 0.2  |
| Zn (Mg/kg DM)                  | 40   |
| Se (Mg/kg DM)                  | 0.15 |

\* 10% alfalfa was added to the starter on day 20. The basal diet (containing 40 mg zinc and 0.15 mg selenium) was without zinc and selenium supplementation (treatment 1). Treatment 2 contained 0.3 mg sodium selenite; treatment 3 contained 40 mg zinc oxide; treatment 4 contained 55 mg zinc oxide; treatment 5 contained 0.3 mg sodium selenite + 40 mg zinc oxide; treatment 6 contained 0.3 mg sodium selenite + 55 mg zinc oxide. FCR: Feed conversion ratio.

وزن بدن طی دو وعده صورت گرفت. مقدار ۱۰ درصد یونجه خشک خرد شده از روز ۲۰ پس از تولد به استارتر گوساله‌ها اضافه شد. ترکیب جیره استارتر گوساله‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. در طول دوره آزمایشی، جیره‌های غذایی پس از توزین روزانه در اختیار گوساله‌ها قرار گرفتند. برای تعیین میزان مصرف خوراک، قبل از ریختن خوراک وعده صبح، باقیمانده خوراک روز قبل جمع-آوری و ثبت شد. گوساله‌ها در روزهای ۲۰ و ۴۲ پرورش با اعمال محرومیت غذایی ۱۲ ساعتی، وزن کشتی شدند. در روزهای ۲۰ و ۴۲ آزمایش، چهار تا پنج ساعت پس از وعده غذایی صبح از سیاهرگ وداج تمامی گوساله‌ها خون‌گیری صورت گرفت. نمونه‌های خونی در لوله‌های ونوجکت جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌های سرمی جمع‌آوری شده و سپس، به مدت ۲۰ دقیقه (با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ شدند و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. در این پژوهش، تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از دستگاه شمارشگر سلولی (EXIGO, Sweden) و شمارش تفریقی گلبول‌های سفید با استفاده از روش دستی رنگ‌آمیزی رایت گیمسا با آزمایش میکروسکوپی انجام شد. سنجش گلوکز، کلسترول، تری-گلیسیرید، پروتئین کل، اوره، آهن، روی، کلسیم، فسفر، آسپارات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون) و روش فتومتریک با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر اتومات و اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و ایمنو-گلوبولین G با استفاده از کیت RANSEL بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. غلظت عنصر سلنیوم سرم به روش جذب اتمی (شرکت analytikjena مدل Nov AA 400P) و همچنین، مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از روش تیوبایوتیک اسید اندازه‌گیری شد (Draper and Hadley, 1990).

تجزیه و تحلیل آماری به کار گرفته شده در این تحقیق بر مبنای طرح کاملاً تصادفی بود و داده‌های آزمایش با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS تجزیه شدند.

## نتایج و بحث

مصرف خوراک و افزایش وزن گوساله‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود استفاده از سلنیت سدیم و سطوح مختلف روی تاثیر معنی‌داری بر

جدول ۲- اثر افزودن سطوح مختلف سلنیت سدیم و اکسید روی در جیره بر عملکرد رشد گوساله‌های هلشتاین

Table 2. Effect of adding different levels of sodium selenite and zinc oxide to the diet on growth performance of Holstein calves

| Studied traits                | Treatments <sup>1</sup> |       |       |       |       |       | SEM   | P-value |
|-------------------------------|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
|                               | 1                       | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     |       |         |
| Initial body weight (kg)      | 34.3                    | 34.3  | 34.5  | 34.7  | 34.8  | 34.2  | 2.1   | 0.99    |
| Final body weight (kg)        | 53.4                    | 53.5  | 53.8  | 54.2  | 54.7  | 53.9  | 2.33  | 0.99    |
| Average daily gain (g)        | 477.8                   | 480   | 483   | 488.3 | 491.6 | 493.3 | 5.4   | 0.25    |
| Starter dry matter intake (g) | 435                     | 434.3 | 437.8 | 452.1 | 452.5 | 451.8 | 5.7   | 0.04    |
| FCR                           | 0.91                    | 0.9   | 0.9   | 0.93  | 0.92  | 0.9   | 0.009 | 0.84    |
| Fecal consistency             | 1.63                    | 1.64  | 1.62  | 1.66  | 1.58  | 1.61  | 0.009 | 0.79    |

<sup>1</sup> The basal diet (containing 40 mg zinc and 0.15 mg selenium) was without zinc and selenium supplementation (treatment 1). Treatment 2 contained 0.3 mg sodium selenite; treatment 3 contained 40 mg zinc oxide; treatment 4 contained 55 mg zinc oxide; treatment 5 contained 0.3 mg sodium selenite + 40 mg zinc oxide; treatment 6 contained 0.3 mg sodium selenite + 55 mg zinc oxide. FCR: Feed conversion ratio; SEM: Standard error of the means

در پژوهشی، استفاده از شکل آلی روی (روی-متیونین) در مقایسه با شکل معدنی باعث افزایش وزن گوساله‌ها شد (Fengtao *et al.*, 2020). در یک مطالعه، افزودن ۰/۳ و ۰/۴۵ میلی‌گرم سلنیت سدیم، تاثیر معنی‌داری بر عملکرد نشان نداد (Vingola *et al.*, 2009). در تضاد با نتایج مطالعه حاضر، مصرف سلنیوم باعث بهبود مصرف خوراک و افزایش وزن بزها شد که به بیشتر بودن سلنیوم جیره پایه یا افزایش جذب سلنیوم ارتباط داده شد (Shi *et al.*, 2011). در پژوهشی دیگر، استفاده از سلنیت سدیم و سلنیوم آلی باعث بهبود افزایش وزن گوساله‌ها شد (Guyot *et al.*, 2007). با این حال، برخی محققین، اثر سلنیوم غنی شده با مخمر و سلنیت سدیم بر عملکرد رشدی گوساله‌های هلشتاین را تایید نکردند (Richards *et al.*, 2011). نتایج مربوط به سطوح مختلف عنصر روی و سلنیوم بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۳ ارائه شده است. در این آزمایش، استفاده از مکمل روی و سلنیوم، اثر معنی‌داری بر غلظت فراسنجه‌هایی نظیر گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین کل، آلبومین، آهن، روی، سلنیوم، فسفر، کلسیم و نیتروژن اوره‌ای نداشتند ( $P > 0.05$ ). در مطابقت با نتایج آزمایش حاضر، گزارش شده است که استفاده از سلنیت سدیم، اثر معنی‌داری بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون گوساله‌های هلشتاین نداشت (Slavik *et al.*, 2008). در مطالعه‌ای دیگر، استفاده از سلنیوم به شکل سلنیت سدیم باعث افزایش معنی‌داری گلوکز سرم خون گوساله‌ها شد، البته تغییر در گلوکز به عواملی مانند فصل یا تغییرات هورمونی نسبت داده می‌شود (Joniper *et al.*, 2008). بر خلاف نتایج حاضر، استفاده از سلنیت سدیم در یک مطالعه موجب کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید شد که به افزایش فعالیت گلوکوتائون پراکسیداز نسبت داده شد

(Qin *et al.*, 2007). آلبومین، پروتئین کبدی فاز حاد منفی محسوب می‌شود که سطح آن در عفونت کاهش می‌یابد که می‌توان این کاهش را به اختلال سلول‌های کبدی ناشی از التهاب نسبت داد (Tóthová *et al.*, 2014). در آزمایش حاضر، غلظت آلبومین پلاسما افزایش غیرمعنی‌دار نشان داد که مطابق با نتایج پژوهش دیگری بود که افزایش سطح آلبومین در اثر مصرف مواد معدنی را گزارش نمودند (Vaghoubi *et al.*, 2007). در مطابقت با نتایج آزمایش حاضر، تزریق سلنیوم تاثیری در غلظت سلنیوم سرم گوساله‌ها نداشت که به عواملی مثل محتوای اولیه سلنیوم بدن و میزان سلنیوم جیره نسبت داده شد (Moeini *et al.*, 2011). همچنین، غلظت سرمی روی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. عنصر روی دارای قابلیت ذخیره شدن در بدن نیست و مدام باید از راه جیره تامین شود (Pal *et al.*, 2010) که می‌توان عدم تفاوت معنی‌دار در غلظت روی در سرم گوساله را به این عامل نسبت داد. غلظت نیتروژن اوره‌ای نتیجه توازن بین تولید اوره در کبد و خروج آن از ادرار است که عدم تفاوت معنی‌دار در تیمارها نشان می‌دهد که تولید و دفع آن تحت تاثیر سطوح مختلف سلنیوم قرار نگرفته است (Wu, 2018). بر اساس نتایج، غلظت عناصر آهن، کلسیم و فسفر نیز تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت که مشابه یافته‌های سایر محققین است (Azizzadeh *et al.*, 2005). نتایج مربوط به اثر سلنیوم و سطوح مختلف عنصر روی در جیره بر وضعیت اکسیداتیو سرم گوساله‌های هلشتاین در جدول ۴ ارائه شده است. استفاده همزمان از سطوح مختلف سلنیت سدیم در کنار اکسید روی موجب افزایش معنی‌دار سوپراکسید دیسموتاز و کاهش معنی‌دار مالون دی‌آلدئید شد ( $P < 0.05$ ).

جدول ۳- اثر افزودن سطوح مختلف سلنیت سدیم و اکسید روی بر فراسنجه‌های سرم خون گوساله هلشتاین

Table 3. Effect of adding different levels of sodium selenite and zinc oxide on blood serum parameters of Holstein calves

| Studied traits        | Treatments <sup>1</sup> |       |       |       |       |       | SEM   | P-value |
|-----------------------|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
|                       | 1                       | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     |       |         |
| Glucose (mg/dL)       |                         |       |       |       |       |       |       |         |
| Day 20                | 84.50                   | 85.00 | 84.33 | 85.50 | 85.83 | 86.66 | 4.21  | 0.38    |
| Day 42                | 87.50                   | 87.66 | 87.33 | 88.33 | 88.16 | 89.66 | 9.65  | 0.80    |
| Cholesterol (mg/dL)   |                         |       |       |       |       |       |       |         |
| Day 20                | 87.16                   | 87.5  | 87.66 | 90.33 | 89.16 | 90.66 | 9.30  | 0.22    |
| Day 42                | 93.16                   | 91.16 | 90.33 | 94.16 | 93.50 | 93.16 | 10.35 | 0.26    |
| Triglycerides (mg/dL) |                         |       |       |       |       |       |       |         |
| Day 20                | 27.33                   | 27.50 | 26.66 | 28.33 | 28.50 | 26.16 | 3.86  | 0.29    |
| Day 42                | 27.66                   | 28.16 | 27.16 | 28.66 | 28.83 | 26.33 | 5.21  | 0.41    |
| Total protein (g/dL)  |                         |       |       |       |       |       |       |         |
| Day 20                | 6.50                    | 6.55  | 6.51  | 6.85  | 6.76  | 6.81  | 0.09  | 0.16    |
| Day 42                | 6.68                    | 6.68  | 6.76  | 7.03  | 6.90  | 7.01  | 0.06  | 0.09    |
| Albumin (g/dL)        |                         |       |       |       |       |       |       |         |
| Day 20                | 3.20                    | 3.31  | 3.13  | 3.36  | 3.23  | 3.41  | 0.10  | 0.64    |
| Day 42                | 3.41                    | 3.55  | 3.51  | 3.68  | 3.75  | 3.76  | 0.07  | 0.21    |
| Fe (µg/dL)            |                         |       |       |       |       |       |       |         |
| Day 20                | 109.3                   | 110.2 | 110.3 | 108.6 | 110.6 | 108.1 | 4.50  | 0.27    |
| Day 42                | 109.6                   | 109.1 | 109.6 | 108.0 | 110.2 | 107.8 | 5.28  | 0.45    |
| Zn (µg/dL)            |                         |       |       |       |       |       |       |         |
| Day 20                | 142.5                   | 142.8 | 142.0 | 141.3 | 140.3 | 140.1 | 5.19  | 0.24    |
| Day 42                | 141.1                   | 141.6 | 141.8 | 139.8 | 141.3 | 139.6 | 4.88  | 0.39    |
| Se (µg/L)             |                         |       |       |       |       |       |       |         |
| Day 20                | 40.8                    | 41.6  | 43.8  | 43.1  | 42.5  | 43.3  | 5.6   | 0.3     |
| Day 42                | 42.5                    | 42.8  | 43.6  | 43.8  | 43.0  | 44.3  | 3.2   | 0.5     |
| P (mg/dL)             |                         |       |       |       |       |       |       |         |
| Day 20                | 7.28                    | 7.38  | 7.41  | 7.30  | 7.10  | 7.03  | 0.29  | 0.78    |
| Day 42                | 7.36                    | 7.20  | 7.38  | 7.01  | 6.91  | 6.81  | 0.31  | 0.39    |
| Ca (mg/dL)            |                         |       |       |       |       |       |       |         |
| Day 20                | 10.28                   | 10.05 | 10.11 | 9.55  | 9.60  | 9.83  | 0.42  | 0.31    |
| Day 42                | 10.40                   | 10.46 | 10.50 | 9.91  | 9.96  | 9.71  | 0.43  | 0.20    |
| BUN (mg/dL)           |                         |       |       |       |       |       |       |         |
| Day 20                | 13.50                   | 13.33 | 14.16 | 12.33 | 13.16 | 13.50 | 4.04  | 0.75    |
| Day 42                | 13.66                   | 13.33 | 13.83 | 13.16 | 13.33 | 14.16 | 2.61  | 0.78    |

<sup>1</sup> The basal diet (containing 40 mg zinc and 0.15 mg selenium) was without zinc and selenium supplementation (treatment 1). Treatment 2 contained 0.3 mg sodium selenite; treatment 3 contained 40 mg zinc oxide; treatment 4 contained 55 mg zinc oxide; treatment 5 contained 0.3 mg sodium selenite + 40 mg zinc oxide; treatment 6 contained 0.3 mg sodium selenite + 55 mg zinc oxide. SEM: Standard error of the means; BUN: Blood urea nitrogen

جدول ۴- اثر افزودن سطوح مختلف اکسید روی بر فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو سرم گوساله‌های هلشتاین

Table 4. Effect of adding different levels of sodium selenite and zinc oxide on serum oxidative enzymes' activity of Holstein calves

| Studied traits               | Treatments <sup>1</sup> |                    |                    |                     |                    |                    | SEM   | P-value |
|------------------------------|-------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-------|---------|
|                              | 1                       | 2                  | 3                  | 4                   | 5                  | 6                  |       |         |
| Superoxide dismutase (IU/mL) | 0.451 <sup>b</sup>      | 0.456 <sup>b</sup> | 0.46 <sup>b</sup>  | 0.491 <sup>ab</sup> | 0.51 <sup>a</sup>  | 0.518 <sup>a</sup> | 0.001 | 0.006   |
| Malondialdehyde (nmol/mL)    | 2.35 <sup>a</sup>       | 2.25 <sup>a</sup>  | 2.01 <sup>ab</sup> | 2.23 <sup>a</sup>   | 2.18 <sup>a</sup>  | 1.75 <sup>b</sup>  | 0.11  | 0.05    |
| AST (UL <sup>-1</sup> )      | 43.3 <sup>a</sup>       | 39.6 <sup>ab</sup> | 38.6 <sup>ab</sup> | 38.1 <sup>ab</sup>  | 35.8 <sup>ab</sup> | 33.3 <sup>b</sup>  | 2.14  | 0.05    |
| ALT (UL <sup>-1</sup> )      | 14.8                    | 14.5               | 14.2               | 13.6                | 12.8               | 13                 | 0.67  | 0.23    |

<sup>a-b</sup> Means with different superscripts in the same row differ significantly ( $P < 0.05$ ).

The basal diet (containing 40 mg zinc and 0.15 mg selenium) was without zinc and selenium <sup>1</sup> The basal diet (containing 40 mg zinc and 0.15 mg selenium) was without zinc and selenium supplementation (treatment 1). Treatment 2 contained 0.3 mg sodium selenite; treatment 3 contained 40 mg zinc oxide; treatment 4 contained 55 mg zinc oxide; treatment 5 contained 0.3 mg sodium selenite + 40 mg zinc oxide; treatment 6 contained 0.3 mg sodium selenite + 55 mg zinc oxide. AST: Aspartate Transferase; ALT: Alanine aminotransferase; SEM: Standard error of the means

خون می‌شوند، اندازه‌گیری می‌شود (Dadras *et al.*, 2016). برخی محققین گزارش کردند که فعالیت آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز در بره‌های دریافت‌کننده مکمل سلنیوم مشابه با بره‌های گروه شاهد است. میزان این آنزیم تحت تأثیر آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز قرار می‌گیرد به گونه‌ای که با افزایش فعالیت این آنزیم، مقدار آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز کاهش می‌یابد (Kumar *et al.*, 2009). نتایج مربوط به اثر سطوح مختلف عنصر روی و سلنیوم بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی و غلظت ایمونوگلوبولین G در خون گوساله‌های هلشتاین در جدول ۵ ارائه شده است. برای ارزیابی عفونت‌ها و التهاب، بررسی ناهنجاری‌های خونی و یا تشخیص واکنش‌های آلرژیک و عفونت‌ها، نسبت انواع گلبولهای سفید در خون تعیین می‌شود. نتایج حاصل از شمارش افتراقی سلول‌های خونی در این تحقیق نشان داد اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در تعداد کل گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، بازوفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها و همچنین، تعداد گلبول‌های قرمز و ایمونوگلوبولین G مشاهده نشد و مقادیر مربوطه در حدود طبیعی قرار داشت ( $P > 0.05$ ), که مطابق با گزارش عدم تأثیر معنی‌دار تزریق ویتامین E و سلنیوم بر تعداد نوتروفیل و لنفوسیت در گوساله‌های هلشتاین بود (Mohri *et al.*, 2005). در حالی که در تضاد با نتایج حاضر، استفاده از مکمل معدنی حاوی روی، سلنیوم و مس موجب تقویت سیستم ایمنی شد (Vedovatto *et al.*, 2019). همچنین، عنصر روی با بهبود عملکرد سیستم ایمنی بدن موجب کاهش تنش اکسیداتیو می‌شود (Suttle, 2010).

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، افزایش معنی‌دار سوپراکسید دیسموتاز را می‌توان به وابستگی این متالوآنزیم مهم آنتی-اکسیدانی به عناصر سلنیوم و روی نسبت داد. عنصر روی جزئی از سوپراکسید دیسموتاز است که در سیتوزول، رادیکال‌های سوپراکسید را به هیدروژن پراکسید تبدیل می‌کند (Halliwell *et al.*, 2015). در یک پژوهش، مشخص شد که عنصر روی باعث افزایش سوپراکسید دیسموتاز و کاهش سطح مالون دی‌آلدئید گوساله‌های شیرخوار می‌شود (Wei *et al.*, 2019)، که مطابق با یافته آزمایش حاضر است. همچنین، گزارش شده است که تزریق عناصر روی، مس و منگنز در زمان از شیرگیری باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و ایمنی گوساله‌ها می‌شود. در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که تزریق عناصر روی، سلنیوم و منگنز، تأثیر معنی‌داری بر سوپراکسید دیسموتاز ندارد (Teixeira *et al.*, 2014).

گزارش شده است که عنصر سلنیوم باعث افزایش غلظت گلوکوتاتیون پراکسیداز، از بین رفتن اشکال مختلف اکسیژن فعال و کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید می‌شود که شاخصی از توان آنتی‌اکسیدانی بدن محسوب می‌شود (Shi *et al.*, 2011). محققین گزارش کردند که استفاده از مخمر سلنیوم موجب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت آنزیم‌های گلوکوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در سرم گاوهای شیری نسبت به سایر انواع این عناصر می‌شود (Shuang *et al.*, 2012). فعالیت آنزیم‌های آسپارات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز در سرم به‌منظور بررسی آسیب‌های بافتی ناشی از تنش، عفونت و کمبود مواد معدنی نظیر سلنیوم و روی که موجب افزایش مقدار این آنزیم‌ها در

جدول ۵- اثر افزودن سلنیت سدیم و سطوح مختلف اکسید روی بر برخی شاخص‌های ایمنی گوساله هلشتاین

Table 5. Effect of adding different levels of sodium selenite and zinc oxide on some immunity indices of Holstein calves

| Studied traits          | Treatments |       |       |       |       |       | SEM   | P-value |
|-------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
|                         | 1          | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     |       |         |
| RBC ( $10^9/L$ )        | 01.7       | 03.7  | 05.7  | 5.7   | 48.7  | 8.7   | 49.0  | 29.0    |
| WBC ( $10^9/L$ )        | 8.43       | 8.66  | 8.06  | 8.60  | 8.26  | 8.71  | 0.16  | 0.06    |
| Lymphocyte ( $10^9/L$ ) | 4.59       | 4.6   | 4.69  | 4.85  | 4.83  | 5.09  | 0.16  | 0.30    |
| Neutrophil ( $10^9/L$ ) | 2.37       | 2.42  | 2.35  | 2.62  | 2.64  | 2.7   | 0.27  | 0.76    |
| Basophil (%)            | 0.47       | 0.51  | 0.46  | 0.45  | 0.48  | 0.49  | 0.003 | 0.62    |
| Eosinophil (%)          | 0.48       | 0.51  | 0.49  | 0.53  | 0.50  | 0.51  | 0.002 | 0.77    |
| IgG (mg/dL)             | 412.1      | 410.6 | 411.3 | 412.5 | 411.6 | 411.4 | 8.17  | 0.90    |

<sup>1</sup> The basal diet (containing 40 mg zinc and 0.15 mg selenium) was without zinc and selenium supplementation (treatment 1). Treatment 2 contained 0.3 mg sodium selenite; treatment 3 contained 40 mg zinc oxide; treatment 4 contained 55 mg zinc oxide; treatment 5 contained 0.3 mg sodium selenite + 40 mg zinc oxide; treatment 6 contained 0.3 mg sodium selenite + 55 mg zinc oxide. SEM: Standard error of the means. RBC: Red blood cell; WBC: White blood cell



## نتیجه‌گیری کلی

مقابل تنش دارد. به‌نظر می‌رسد استفاده همزمان این دو عنصر در پرورش گوساله می‌تواند مفید و مقرون به‌صرفه باشد. با این وجود، در صورت بررسی بیشتر توصیه می‌شود استفاده همزمان منابع مختلف این دو عنصر مدنظر قرار گیرد.

استفاده همزمان سلنیت سدیم و اکسید روی در هر دو سطح ۴۰ و ۵۵ میلی‌گرم موجب تقویت سیستم آنتی-اکسیدانی و کاهش التهاب در گوساله‌های هلشتاین می‌شود که ارتباط مستقیمی با سلامت حیوان و مقاومت آن در

## فهرست منابع

- Agarwal, A., & Sekhon, L. (2010). The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. *Human Fertility*, 13(2), 217-225. doi: 10.3109/14647273.2010.532279
- Azizzadeh, M., Mohri, M., & Seifi, H. A. (2005). Effect of oral zinc supplementation on hematology, serum biochemistry, performance, and health in neonatal dairy calves. *Comparative Clinical Pathology*, 14(1), 67-71. doi: 10.1007/s00580-005-0559-1
- Chang, M. N., Wei, J. Y., Hao, L. Y., Ma, F. T., Li, H. Y., Zhao, S. G., & Sun, P. (2020). Effects of different types of zinc supplement on the growth, incidence of diarrhea, immune function, and rectal microbiota of newborn dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 6100-6113. doi: 10.3168/jds.2019-17610
- Dadras, H., Hayatbakhsh, M. R., Shelton, W. L., & Golpour, A. (2016). Effects of dietary administration of Rose hip and Safflower on growth performance, haematological, biochemical parameters and innate immune response of Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *Fish and Shellfish Immunology*, 59(1), 109-114. doi: 10.1016/j.fsi.2016.10.033
- Della, C. M., Santos, L. L., Rodrigues, K. C., Rodrigues, V. C., Martino, H. S., & Pinheiro, H. M. (2014). Bioavailability of zinc in Wistar rats fed with rice fortified with zinc oxide. *Nutrients*, 6(6), 2279-89. doi: 10.3390/nu6062279
- Draper, H. H., & Hadley, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Methods in Enzymology*, 186(2), 421-431. doi: 10.1016/0076-6879(90)86135-i
- Juniper, D. T., Phipps, R. H., Ramos- Morales, E., & Bertin, G. (2008). Selenium persistency and speciation in the tissues of lambs following the withdrawal of dietary highdose selenium-enriched yeast. *Animal*, 2(3), 75- 380. doi: 10.1017/S1751731107001395
- Eryavuz, A., & Dehority, B. A. (2009). Effects of supplemental zinc concentration on cellulose digestion and cellulolytic and total bacterial numbers in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 151(3), 175-183. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2009.01.008
- Fengtao, M., Yeqianli, W., Hongyang, L., Meinan, W., & Peng, S. (2020). Effect of the source of zinc on the tissue accumulation of source of zinc and jejunal mucosal zinc transporter in Holstein dairy calves. *Journal of Animal Science*, 10(2), 12-46. doi: 10.3390/ani10081246
- Gong, J., & Xiao, M. (2016). Selenium and antioxidant status in dairy cows at different stages of lactation. *Biological Trace Elements Research*, 171(2), 89-93.
- Guyot, H., Spring, P., Andrieu, S., & Rollin, F. (2007). Comparative responses to sodium selenite and organic selenium supplements in Belgian Blue cows and calves. *ELives Sciences*, 111(2), 259-263. doi: 10.1016/j.livsci.2007.04.018
- Haase, H., & Rink, L. (2014). Zinc signals and immune function. *Biofactors*, 40(1), 27-40. doi: 10.1002/biof.1114
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). Free radicals in biology and medicine. *Oxford University Press*, USA. doi: 10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001
- Hou, R., He, Y., Yan, G., Hou, S., Xie, Z., & Liao, C. (2021). Zinc enzymes in medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 226, 113877. doi: 10.1016/j.ejmech.2021.113877
- Kamada, H., Nonaka, I., Ueda, Y., & Murai, M. (2007). Selenium addition to colostrum increase immunoglobulin G absorption by newborn calves. *Journal of Dairy Science*, 90(2), 5665-5670. doi: 10.3168/jds.2007-0348
- Kumar, M., 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. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 153(2), 77-87. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2009.06.007
- Livingstone, C. (2015). Zinc: physiology, deficiency and parenteral nutrition. *Nutrition in Clinical Practice*, 30(3), 371-82. doi: 10.1177/0884533615570376
- Maggini, S., Wintergerst, E. S., Beveridge, S., & Hornig, D. H. (2007). Selected vitamins and trace elements support immune function by strengthening epithelial barriers and cellular and humoral immune responses. *British Journal of Nutrition*, 98(1), 29-35. doi: 10.1017/s0007114507832971

- Mandal, G. P., Dass, R. S., Isore, D. P., Garg, A. K., & Ram, G. C. (2007). Effect of zinc supplementation from two sources on growth, nutrient utilization and immune response in male crossbred cattle (*Bos indicus* × *Bos taurus*) bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 138(1), 1-12. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.09.014
- Mills, C. F., Dalgarno, A. C., Williams, R. B., & Quarterman, J. (1967). Zinc deficiency and the zinc requirements of calves and lambs. *British Journal of Nutrition*, 21(03), 751-768. doi: 10.1079/bjn19670076
- Mohri, M., Seifi, H. A., & Khodadadi, J. (2005). Effects of preweaning parenteral supplementation of vitamin E and selenium on hematology, serum proteins, and weight gain in dairy calves. *Comparative Clinical Pathology*, 14(1), 149-154. doi: 10.1007/s00580-005-0581-3
- Moeini, M. M., Kiani, A., Karami, H., & Mikaeili, E. (2011). The Effect of selenium administration on the selenium, copper, iron and zinc status of pregnant heifers and their newborn calves. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13, 53-59. [In Persian]
- Marreiro, D. D., Cruz, K. J., Morais, J. B., Beserra, J. B., Severo, J. S., & DeOliveira, A. R. (2017). Zinc and oxidative stress: current mechanisms. *Antioxidants*, 6(2), 24-8. doi: 10.3390/antiox6020024
- Pal, D. T., Gowda, N. K. S., Prasad, C. S., Amarnath, R., Bharadwaj, U., SureshBabu, G., & Sampath, K. T. (2010). Effect of copper- and zinc-methionine supplementation on bioavailability, mineral status and tissue concentrations of copper and zinc in ewes. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24(2), 89-94. doi: 10.1016/j.jtemb.2009.11.007
- Qin, S., Gao, J., & Huang, K. (2007). Effects of different selenium sources on tissue selenium concentrations, blood GSH-Px activities and plasma interleukin levels in finishing lambs. *Biological Trace Element Research*, 116(1), 91-102. doi: 10.1007/bf02685922
- Richards, C., Blalock, H., Jacques, K., & Loveday, H. (2011). Efficacy of feeding selenium-enriched yeast to finishing beef cattle. *Professional Animal Scientist*, 27(1), 1-8. doi: 10.15232/S1080-7446(15)30437-X
- Ryan, A. W., Kegley, E. B., Hawley, J., Powell, J. G., Hornsby, J. A., Reynolds, J. L., & Laudert, S. B. (2015). Supplemental trace minerals (zinc, copper, and manganese) as sulfates, organic amino acid complexes, or hydroxy trace-mineral sources for shipping-stressed calves. *The Professional Animal Scientist*, 31(4), 333-341. doi: 10.15232/pas.2014-01383
- Shi, L. G., Xun, W. J., Yue, W. B., Zhang, C. X., Ren, Y. S., Liu, Wang, Q., & Shi, L. (2011). Effect of elemental nano-selenium on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 163(2), 136-142. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2010.10.016
- Shuang, Y. B., Zhu, W. Q., Sheng, H. X., Jun, F. L., Jing-ji, L., & Yong-zhen, C. (2012). Effect of Se-yeast on Anti-oxidation ability in blood and milk secretion Performance of Dairy Cows. *Asian Pacific Conference on Environmental Science and Technology Advances in Biomedical Engineering*. doi: 10.5713/ajas.2013.13181
- Slavik, P., Illek, J., Brix, M., Hlavicova, J., Rajmon, R., & Jilek, F. (2008). Influence of organic versus inorganic dietary selenium supplementation on the concentration of selenium in colostrum, milk and blood of beef cows. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 50(1), 43. doi: 10.1186/1751-0147-50-43
- Sobhanirad, S., & Naserian, A. A. (2012). Effects of high dietary zinc concentration and zinc sources on hematology and biochemistry of blood serum in Holstein dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 177(2), 242-24. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2012.06.007
- Suttle, N. F. (2010). Mineral nutrition of livestock. 4<sup>th</sup> ed. *CABI Publishing*, New York.
- Teixeira, A. G. V., Lima, F. S., Bicalho, M. L. S., Kussler, A., Lima, S. F., Felipe, M. J., & Bicalho, R. C. (2014). Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on immunity, health, and growth of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 97(7), 4216-4226. doi: 10.3168/jds.2013-7625
- Vignola, G., Lambertini, L., Mazzone, G., Giammarco, M., Tassinari, M., & Martelli, G. (2009). Effects of selenium source and level of supplementation on the performance and meat quality of lambs. *Meat Science*, 81(4), 678-685. doi: 10.1016/j.meatsci.2008.11.009
- Vedovatto, M., Moriel, P., Cooke, R. F., Costa, D. S., Faria, F. J. C., Neto, I. M. C., & Franco, G. L. (2019). Effects of a single trace mineral injection on body parameters, ovarian structures, pregnancy rate and components of the innate immune system of grazing Nellore cows synchronized to a fixed-time AI protocol. *Livestock Science*, 225(3), 123-128. doi: 10.1016/j.livsci.2019.05.011
- Wei, J., Ma, F., Hao, L., Shan, Q., & Sun, P. (2019). Effect of differing amounts of zinc oxide supplementation on the antioxidant status and zinc metabolism in newborn dairy calves. *Livestock Science*, 230(4), 103819. doi: 10.1016/j.livsci.2019.103819
- Wu, G. (2018). Principles of Animal Nutrition, 1<sup>st</sup> ed. Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL, USA. doi: 10.1201/9781315120065