

The effect of fat-soluble vitamins (A, D, E) and flaxseed oil on blood parameters and immune system of suckling calves

Mehrdad Movahednasab¹, Abdolmansour Tahmasbi², Seyed Alireza Vakili², Abbas Ali Naserian²

1- M.Sc. Student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

2- Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

*Corresponding Author's Email: tahmasbi@um.ac.ir

Introduction: One of the most important factors in the profitability of dairy farms is effective management methods in keeping and feeding infant calves. Several factors such as underdeveloped immune system and environmental stress can increase the survival power of the animal. Researchers suggest different factors can improve the immune system of neonatal calves, including the use of fat-soluble vitamins and unsaturated fatty acids. While these vitamins play a major role in the immune system of animals, the supply of fat-soluble vitamins in the calf's diet is essential for promotion the normal growth of muscles and the skeleton of the body. Common symptoms of a deficiency in fat-soluble vitamins in neonatal calves include retardation of growth, and susceptibility to infectious diseases.

Materials and Methods: This experiment was performed in the farm of Ferdowsi University of Mashhad Research Center in Khorasan Razavi province in 2020/7/14. twenty eight Holstein female calves with an average bodyweight of 37.74 kg (\pm 4/76) were used from birth to 56 days of age. After birth calves were separated from their dam and follow weighing, they transferred to individual pen. On the fourth day, the calves were randomly assigned to one of four treatments. All calves received colostrum for the first 3 d and then whole milk at 8% of bodyweight in the two equal part in the morning (4.00 A.M) and evening (16 P.M) until weaning. The experimental treatments included: 1) control: whole milk with starter 2) control diet supplemented with flax seed oil (0.3ml per kilogram of body weight) 3) control diet and weekly injection of 7 cc of fat-soluble vitamins (A, D3, E) 4) The control diet which supplemented with flaxseed oil (0.3ml per kilogram of body weight) plus weekly injection of 7 cc of fat-soluble vitamins (A, D3, E). Flax seed oil was mixed into milk (morning feeding) until weaning. During the experiment period, calves had ad libitum access to chopped alfalfa hay and starter diet. Water from a plastic bucket (7 liters), filled twice a day, and was provided throughout the study. Composition of starter did not change throughout the experiment. Blood sample were harvested from jugular vein for collection of full blood for Complete blood count (CBC) test and blood serum metabolites. To collect serum, blood samples were transferred to sterile flocculation tubes and after clotting at room temperature, centrifuged (for 15 minutes at 3000 rpm (1509 xg)) and their serum was collected And transferred to sterile microtubes. Serum was stored in -20 centigrade until further analysis. Complete blood count (CBC) test was performed to determine the number of blood cells (white blood cells, red blood cells, lymphocytes, monocytes, eosinophils, granulocytes, hemoglobin and hematocrit) in the laboratory. Serum blood metabolites, total protein, creatinine, beta-hydroxybutyric acid, albumin, liver enzymes (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase), antioxidant capacity (malondialdehyde and total antioxidant capacity) were analyzed using commercially available colorimetric and enzymatic assay kits, with Alpha Classic model autoanalyzer to determine blood parameters and according to the manufacturer's instructions. Data were analyzed using SAS version 9.4 as a completely randomized design experiment. For all results, significant differences between treatments were declared at $P \leq 0.05$ and tendencies were declared at $0.05 < P \leq 0.10$. Least square means for each treatment are reported in the tables and were separated using Tukey-kramer test.

Results and Discussion: The results of this study showed that the use of flaxseed oil and injection of fat-soluble vitamins during preweaning had no significant effect on the Serum concentrations of total protein, creatinine, beta-hydroxybutyric acid, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, malondialdehyde and total antioxidant capacity on calves. Calves received flax seed oil and fat soluble vitamins injection had the highest Red blood cells, White blood cells, Hematocrit, Lymphocytes, Monocytes, Eosinophils and hemoglobin concentration.

Conclusion: The results of this study indicated that inclusion of flaxseed oil and injection of fat-soluble vitamins (A, D, E) had no significant effect on blood serum parameters such as total protein, creatinine, albumin, beta-hydroxybutyric acid, malondialdehyde and total antioxidant capacity, but partially improved the immune system(white blood cells, monocytes, eosinophils) and reduces liver enzymes such as aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase, which indicates an increase in animal health

Keywords: Holstein calves, Flaxseed oil, Fat-soluble vitamins, Immune system, Blood parameters.

مجله علمی پژوهشی
پایه علمی
پایه علمی

تأثیر ویتامین‌های محلول در چربی (A,D₃,E) و روغن بذر کتان بر فراسنجه‌های خونی و سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار

مهرداد موحدنسب^۱، عبدالمنصور طهماسبی^۲، سید علیرضا وکیلی^۲، عباسعلی ناصریان^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

(Email:tahmasbi@um.ac.ir)

(*- نویسنده مسئول)

چکیده:

این آزمایش به منظور بررسی افزودن روغن کتان و ویتامین‌های محلول در چربی (E و A, D₃) بر سیستم ایمنی، آنزیم‌های کبدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های خونی با استفاده از گوساله‌های شیرخوار در سن سه روزگی (میانگین وزن ۳۷/۷(±۴/۸) کیلوگرم) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۷ تکرار به مدت ۵۶ روز انجام شد. تیمارهای مورد آزمایش عبارتند از: ۱- شیر کامل همراه با خوراک آغازین (شاهد) ۲- جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن کتان به صورت گاوآژه همراه شیر (۰/۳ میلی‌لیتر به ازای هر کیلو وزن بدن) ۳- جیره شاهد و تزریق هفته‌ای ۷ سی‌سی ویتامین محلول در چربی (A, D₃, E) و ۴- جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن کتان (۰/۳ میلی‌لیتر به ازای هر کیلو وزن بدن) همراه تزریق هفته‌ای ۷ سی‌سی ویتامین محلول در چربی. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر افزایش وزن، میزان مصرف خوراک، دمای رکتوم، میزان پروتئین تام، کراتینین، بتا‌هیدروکسی بوتیریک اسید، آلومین، درصد لنفوسیت‌ها، درصد گرانولیت‌ها، آنزیم‌های کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز، آسپاراتات آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (میزان مالون در آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام) تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$)، در حالی که سطح کلسترول خون گوساله‌های شیری به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$) و بیشترین مقدار کلسترول در تیمار حاوی روغن کتان+ویتامین و کمترین آن در گروه شاهد و حاوی ویتامین مشاهده شد. میزان گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، درصد مونوسیت‌ها، درصد ائوزینوفیل و هموگلوبین گوساله‌های شیری به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$). به طوریکه مقدار گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در تیمار حاوی روغن کتان+ویتامین بیشترین و در گروه شاهد و تیمار حاوی روغن کتان کمترین مقدار دیده شد و بیشترین و کمترین میزان گلبول‌های سفید خون گوساله‌های شیری در تیمارهای حاوی روغن کتان+ویتامین و ویتامین و در گروه شاهد و تیمار حاوی روغن کتان مشاهده شد. درصد مونوسیت‌ها به ترتیب در گروه شاهد و تیمار حاوی روغن کتان+ویتامین کمترین و بیشترین میزان را به خود اختصاص دادند. در خون گوساله‌های شیری درصد ائوزینوفیل در گروه شاهد کمترین و تیمارهای حاوی روغن کتان+ویتامین و روغن کتان بیشترین مقدار بودند. از طرفی در تیمار حاوی روغن کتان+ویتامین نسبت به سایر تیمارها بیشترین میزان هموگلوبین مشاهده شد. نتایج بدست آمده نشان داد که افزودن روغن کتان و ویتامین‌های محلول در چربی احتمالاً باعث بهبود نسبی سیستم ایمنی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین می‌گردد.

کلیدواژه: گوساله شیرخوار هلشتاین، روغن بذر کتان، ویتامین‌های محلول در چربی، سیستم ایمنی، فراسنجه‌های خونی

مقدمه

در صنعت دامپروری تولید گوساله‌های سالم جایگزین نقش مهمی در عملکرد اقتصادی واحد دامپروری خواهد داشت (۴۵). مدیریت و تغذیه صحیح گوساله‌های شیرخوار می‌تواند در فرآیند سلامت و تندرستی گوساله‌های شیری و بهره‌وری کلی گله مؤثر واقع شود (۷). در مراحل اولیه زندگی گوساله، شکمبه توسعه کامل نیافته و حیوان قادر به مصرف خوراک جامد به مقدار کافی نیست، لذا شیر به عنوان مهمترین منبع غذایی که می‌تواند انرژی، پروتئین و سایر مواد مغذی را برای گوساله‌ها تأمین کند، مورد توجه قرار دارد (۹). از طرفی فقدان یا کمبود برخی از مواد مغذی و نیز مواد معدنی می‌تواند گوساله را به چالش‌های متعدد مواجه کند و سبب بروز مشکلاتی در رشد و

سلامتی گوساله‌های شیرخوار شود (۹). تغذیه گوساله‌ها در طول دوره ابتدای زندگی می‌تواند تاثیر بسزایی در روند تولید و چرخه زندگی گله گاوه‌های شیری داشته باشد (۴۲). عواملی همچون نوع و نژاد گاو، فصل، میزان حجم تولیدی آغوز، رژیم غذایی مورد استفاده و نهایتاً مدیریت، بر ترکیبات شیر تاثیر میگذارد (۸، ۲۷ و ۲۸). ویتامین‌ها بخشی از ترکیبات آلی بوده که به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم تأثیر زیادی بر سلامت و تندرستی بدن دارند. نحوه جذب، ذخیره و حذف ویتامین‌ها در بدن بسته به نوع محلول بودن آنها در آب و یا چربی است (۳۷). ویتامین‌های محلول در چربی (FSV) نقش‌های بیولوژیکی زیادی در حفظ سلامت بدن، عملکرد سیستم ایمنی (۳۹)، عملکرد عضلات و همچنین سلامت چشم دارند (۳۷). بذر کتان حاوی بسیاری از ترکیبات زیست فعال منجمله آلفالینولئیک اسید (ALA)، لیگنان، پروتئین، موسیلاژ، مواد معدنی، فیبرهای غذایی، ترکیبات فنلی و غیره است (۶، ۱۷، ۴۱) و به‌عنوان یک ماده غذایی مهم در نظر گرفته می‌شود. از طرفی روغن بذر کتان به‌عنوان یکی از کاربردی‌ترین ترکیبات بذر کتان، که می‌تواند تاثیرات مثبتی مانند محافظت از قلب و عروق، ضد تومور، ضد التهاب، درمان دیابت و غیره بر سلامت داشته باشد (۴۱). سطح ALA در روغن بذر کتان بین ۴۸ تا ۶۲ درصد است (۵، ۱۸ و ۲۹). سایر ترکیبات موجود در روغن بذر کتان مانند ترکیبات فرار، ترکیبات فنلی، توکوفرول، فیتواسترول‌ها و غیره شناسایی شده‌اند (۴۱). همچنین اسیدهای چرب روغن بذر کتان عمدتاً از اسید لینولئیک، اسید لینولئیک، اسید اولئیک، اسید استئاریک و اسید پالمیتیک تشکیل شده است (۴۶). با توجه به تأثیر مهم ویتامین‌های محلول در چربی و همچنین روغن بذر کتان بر فرآیند متابولیسمی و سلامتی حیوان، هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر انفرادی و تجمعی روغن کتان و ویتامین‌های محلول در چربی (A, D, E) بر سیستم ایمنی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین می‌باشد.

مواد و روش‌ها:

این آزمایش در مرکز تحقیقات گاوه‌های شیری دانشگاه فردوسی مشهد در تیر ماه سال ۱۳۹۹ انجام شد. جهت اجرای این مطالعه از ۲۸ رأس گوساله ماده هلشتاین سه روزه با میانگین وزنی $(\pm 4/8)$ ۳۷/۷ کیلوگرم استفاده شد. گوساله تا سن ۵۶ روزگی (زمان قطع شیر) تحت تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۷ تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- شیر کامل همراه با خوراک آغازین (شاهد) ۲- جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن بذر کتان به‌صورت گاوآژه (۰/۳ میلی لیتر به ازای هر کیلو وزن بدن)، ۳- جیره شاهد و تزریق هفته‌ای ۷ سی‌سی ویتامین محلول در چربی (A, D, E) ۴- جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن بذر کتان به‌صورت گاوآژه (۰/۳ میلی لیتر به ازای هر کیلو وزن بدن) و تزریق هفته‌ای ۷ سی‌سی ویتامین محلول در چربی بود.

گوساله‌های تازه متولد شده بعد از ۳۰ دقیقه، از مادر جدا و به قفس‌های انفرادی دارای بستر کاه منتقل شدند. در یک ساعت اول بعد از زایمان به تمامی گوساله‌ها ۴ لیتر کلستروم داده شد. قفس‌ها هر روز تمیز و هر هفته بستر آنها به صورت کامل تخلیه و تعویض می‌گردید. در سن ۴ روزگی (تغذیه با کلستروم)، گوساله تحت تیمار آزمایشی قرار گرفتند و در طی دوره آزمایش دسترسی آزاد به مخلوط یونجه و استارتر (با نسبت‌های ۳ به ۹۷) و آب تازه داشتند. همچنین روزانه ۴ لیتر شیر کامل با استفاده از سطل در دو وعده در ساعات ۵ صبح و ۱۷ بعدازظهر در اختیار آنان قرار می‌گرفت. شاخ سوزی با استفاده از پماد شاخ سوز بین ساعات ۱۰ تا ۱۳ در فاصله دو تا سه هفتگی عمر صورت گرفت. مصرف خوراک، افزایش وزن و دمای رکتوم حیوانات هر دو هفته مورد ارزیابی قرار می‌گرفت و ثبت می‌شد.

از محلول ویتامینی استریل تزریقی آدویت شرکت رازک (حاوی ماده مؤثره در هر میلی‌لیتر محلول شامل: IU, Vitamin A ۵۰۰۰۰ IU, Vitamin E ۲۰ mg, Vitamin D3 ۱۰۰۰۰) برای اجرای آزمایش استفاده شد. اقلام و ترکیبات شیمیایی جیره پایه در جدول ۱ و ترکیب اسیدهای چرب روغن کتان در جدول ۲ نشان داده شده است.

فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده:

خونگیری در روزهای ۱، ۱۴، ۲۸ و ۵۶ قبل از تغذیه شیر وعده صبح، به‌وسیله سرنگ از سیاهرگ و داج گوساله‌ها انجام شد و سپس خون به داخل لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد (K3-EDTA) ریخته و به آزمایشگاه انتقال یافت. تست CBC برای تعیین تعداد سلول‌های خونی (گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، ائوزینوفیل، گرانولوسیت، هموگلوبین و هماتوکریت) در آزمایشگاه صورت گرفت. به‌منظور تعیین فراسنجه‌های خونی (بتا‌هیدروکسی بوتیریک اسید، کلسترول، پروتئین تام، آلومین و کراتین) و آنزیم‌های کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP)) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مالون دی‌آلدهید و

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام) از سرم تهیه شده استفاده گردید. به‌منظور تهیه سرم ، نمونه‌های خونی به لوله‌های استریل لخته‌ساز منتقل و پس از لخته شدن در درجه حرارت اتاق، سانتریفوژ (به‌مدت ۱۵ دقیقه، با دور ۳۰۰۰ در دقیقه (۱۵۰۹ xg)) گردید و سرم آنها جمع‌آوری و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌منظور آزمایشات بعدی نگهداری شد. به‌منظور تعیین فراسنجه‌های خونی از کیت‌های شرکت پارس آزمون و رندکس، با دستگاه اتوآنالایزر مدل Alpha Classic و طبق دستورالعمل کارخانه سازنده، استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS ۹/۴ و به روش GLM آنالیز شد و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون توکی - کرامر در سطح آماری ۹۵ درصد مقایسه گردید.

جدول ۱- اقلام تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره آغازین آزمایش

Table 1- Ingredients and chemical compounds of the initial test diet

اقلام خوراکی Ingredients(%DM)	
ذرت آسیاب شده Ground corn	45
جو آسیاب شده Milled barley	15
کنجاله سویا Soybean meal	29
سیوس گندم Wheat bran	9
مکمل ویتامینی Mineral-vitamin premix	1
سنگ آهک Limestone	1
ترکیب شیمیایی Chemical composition	
(%) پروتئین خام Crude protein (%)	20.1
(%) ماده خشک Dry mater (%)	90.5
NFC	57.7
(%) عصاره اتری Ether extract (EE)(%)	3.1
(%) فسفر Phosphorus (%)	0.6
(%) کلسیم Calcium (%)	0.7
(%) خاکستر Ash (%)	5.29
(%) ماده آلی Organic matter (%)	94.71
(%) فیبر نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber (%)	57.7
(%) فیبر نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber (%)	6.9

اقلام تشکیل دهنده مکمل ویتامینی در جیره آغازین: ویتامین D3 300000(IU/Kg)، ویتامین E 3000(IU/Kg)، کلسیم 7011(mg/kg)، فسفر 30000(mg/kg)، منیزیم 20700(mg/kg)، سدیم 40000(mg/kg)، منگنز 5000(mg/kg)، روی 10000(mg/kg)، مس 3000(mg/kg)، سلنیوم 100(mg/kg)، ید 120(mg/kg)، سلنیوم آلی 2(mg/kg)، کبالت 100(mg/kg)، آنتی‌اکسیدان 1000(mg/kg).

جدول ۲- ترکیب اسیدهای چرب روغن بذر کتان (% از کل اسیدهای چرب) (۲۶)

Table 2 - Fatty acid profile of flaxseed oil (% of total fatty acids)

اسیدهای چرب	
C16:0	7.05
C18:0	4.23
Total SFA	11.28
Total MUFA	26.85
Total PUFA	61.86

نتایج و بحث:

همانطور که در جداول ۳، ۴ و ۵ مشاهده می‌شود، مصرف خوراک، افزایش وزن و دمای رکتوم تحت تأثیر تیمارهای مورد آزمایش قرار نگرفت، داده‌های بدست آمده همسو با نتایج گزارش شده با سایر محققین می‌باشد (۲۰، ۲۳). در حالیکه کریمی و همکاران (۱۵) تأثیر معنی‌داری در استارتر مصرفی گوساله‌های شیر خوار تغذیه شده با منابع مختلف چربی گزارش کردند. مطالعات نشان می‌دهد که خوراک مصرفی می‌تواند متأثر از سن، میزان چربی کل جیره، نوع چربی و نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع جیره باشد (۱۰، ۱۶، ۲۰).

محققین گزارش نمودند که افزودن اسیدهای چرب غیر اشباع C18:2 و C18:3 در خوراک گوساله‌ها شیر خوار تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن نداشته است (۲۳) حال آنکه گوساله‌های تغذیه شده با نمک‌های کلسیمی روغن کتان وزن نهایی بیشتری را نشان دادند (۴۳). این تفاوت در نتیجه، ممکن است بدلیل، مصرفی ویتامین و یا شرایط آزمایش باشد. از طرفی محققین بیان کردند که استفاده از روغن‌های C18:3 (لینولنیک اسید) در جیره‌های استارتر گوساله‌های شیرخوار منجر به بالا رفتن افزایش وزن می‌گردد (۱۴ و ۱۹).

افزودن چربی بویژه اسیدهای چرب تأثیری بر دمای رکتوم نداشته است که همسود با نتایج بدست آمده از آزمایشات سایر محققین می‌باشد (۱۶ و ۲۰)

دمای رکتوم به‌منظور تعیین سلامتی حیوان، که نشان دهنده بیماری‌هایی همچون اسهال، نفخ، سرماخوردگی، افسردگی و کاهش اشتها است، تعیین می‌گردد. در گوساله‌هایی که دمای رکتوم آنها بیش از ۳۹/۵ درجه سلسیوس باشد بعنوان گوساله‌های تب دار شناسایی می‌گردند. همانگونه که در جدول ۵ مشخص است دمای رکتوم تمامی گوساله زیر ۳۹ درجه می‌باشد که در دامنه طبیعی درجه حرارت گوساله سالم (۳۸-۳۹ درجه سلسیوس) می‌باشد.

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین مصرف خوراک گوساله ها در طول آزمایش (گرم در روز)

Table 3- The effect of experimental treatments on the average feed intake of calves during the experiment (g / day)

	تیمارهای آزمایشی				SEM	P value
	شاهد Control	روغن کتان Flax Seed Oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان+ویتامین Flax Seed Oil+Vitamin		
دو هفته اول (g/day) The first two weeks	63.0	59.8	62.3	60.2	4.507	0.949
دو هفته دوم (g/day) The second two weeks	274.4	274.7	300.9	255.8	27.880	0.426
دو هفته سوم (g/day) The third two weeks	430.1	415.2	446.9	398.8	15.050	0.163
دو هفته چهارم (g/day) The fourth two weeks	932.7	929.4	953.7	923.3	8.353	0.084

^{a, b} تفاوت ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه معنی دار است ($P < 0.05$).

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر افزایش وزن روزانه گوساله ها در طول آزمایش (گرم در روز)

Table 4- The effect of experimental treatments on daily weight gain of calves during the experiment (g / day)

	تیمارهای آزمایشی				SEM	P value
	شاهد Control	روغن کتان Flax Seed Oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان+ویتامین Flax Seed Oil+Vitamin		
دو هفته اول (g/day) The first two weeks	138.8	153.1	188.8	133.7	34.67	0.671
دو هفته دوم (g/day) The second two weeks	425.5	406.1	419.4	423.5	71.46	0.997
دو هفته سوم (g/day) The third two weeks	565.3	654.1	629.6	576.5	73.98	0.805
دو هفته چهارم (g/day) The fourth two weeks	644.9	673.5	734.7	736.7	62.03	0.658

^{a, b} تفاوت ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه معنی دار است ($P < 0.05$).

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین دمای رکتوم گوساله ها در طول آزمایش (درجه سانتی گراد)

Table 5- The effect of experimental treatments on the average rectal temperature of calves during the experiment ($^{\circ}$ C)

	تیمارهای آزمایشی				SEM	P value
	شاهد Control	روغن کتان Flax Seed Oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان+ویتامین Flax Seed Oil+Vitamin		
دو هفته اول (g/day) The first two weeks	38.71	38.69	38.86	38.87	0.143	0.724
دو هفته دوم (g/day) The second two weeks	38.63	38.70	38.57	38.64	0.144	0.940
دو هفته سوم (g/day) The third two weeks	38.54	38.73	38.47	38.66	0.101	0.306
دو هفته چهارم (g/day) The fourth two weeks	38.49	38.53	38.63	38.77	0.163	0.620

^{a, b} تفاوت ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه معنی دار است ($P < 0.05$).

اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۶ گزارش شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، سطح پروتئین تام، کراتینین، بتا‌هیدروکسی بوتیریک اسید و آلومین تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$). در حالیکه سطح کلسترول خون گوساله‌های شیری به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$) به طوریکه بیشترین مقدار کلسترول در تیمار حاوی روغن کتان+ویتامین و کمترین آن در گروه شاهد و حاوی ویتامین مشاهده شد.

تحقیقات نشان داد که افزودن ویتامین محلول در چربی (ویتامین E) به همراه سلنیوم در جیره گوساله‌های نر شیرخوار هلشتاین بر پروتئین کل و آلومین تأثیر معنی‌داری نداشت (۴). روند تغییرات غلظت کلسترول در دوره‌های مختلف در نمودار شماره ۱ آورده شده است. در مطالعه‌ی دیگری محققین با بررسی اثرات مکمل روغن بذر کتان به عنوان منبع اسیدهای چرب امگا ۳ بر روی گاو نر فریزین نشان دادند که سطح سرمی آلومین در حیوانات دریافت کننده مکمل روغن بذر کتان تفاوتی معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (۱). به علاوه اسید-لینولئیک و ویتامین C تأثیر معنی‌داری بر پروتئین کل و آلومین گوساله هلشتاین تازه متولد شده در سن ۱ تا ۸ روز نداشته است (۳۶). با توجه به اینکه مصرف اسید چرب با چند پیوند دوگانه، نقش مهمی در استریفه کردن استرهای کلسترول دارد، میزان کلسترول افزایش می‌کند. همسو با این آزمایش، برخی از محققین در آزمایشات خود نشان دادند که افزودن اسیدهای چرب غیراشباع منجر به افزایش کلسترول خون گوساله‌ها شده است (۲۱ و ۲۲). همچنین در تحقیق دیگری گزارش شد که ویتامین E و مکمل سلنیوم غلظت کلسترول سرم گاوهای هلشتاین-فریزین (HF) را به طور قابل توجهی بالاتر برد (۴۰). بر خلاف نتایج این آزمایش، آهنگرانی و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند افزودن روغن دانه کتان به شیر گوساله‌های ماده هلشتاین در ماه اول بعد از تولد باعث کاهش کلسترول خون نسبت به تیمار شاهد شده است (۳). افزودن ۰/۲ میلی لیتر در کیلوگرم وزن بدن روغن کتان به شیر گوساله‌ها سبب افزایش معنی‌دار غلظت کل پروتئین، آلومین و گلوبولین در پلاسما و کاهش معنی‌دار غلظت کل لیپیدها گردید (۱۳). به علاوه افزودن مکمل روغن بذر کتان باعث کاهش معنی‌دار سطح کلسترول تام در گاوهای نر دریافت کننده مکمل نسبت به گروه شاهد شد و همچنین روغن بذر کتان اثر معنی‌داری بر سطوح سرمی پروتئین کل، گلوبولین، گلوکز، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) و تری گلیسیرید در حیوانات دریافت کننده این روغن در مقایسه با گروه شاهد شد (۱). می‌توان چنین بیان کرد که تفاوت نتیجه‌ی این آزمایشی با یافته‌های دیگر یعنی افزایش کلسترول سرمی گوساله‌های مورد آزمایش ممکن است به دلیل وجود ۹۶ درصد تری‌آسیل گلیسرید (TAG)، ۱/۴ درصد لیپید قطبی، گلیکو و فسفولیپید در روغن بذر کتان باشد (۱۱).

متابولیسم کلسترول به دو مسیر برون‌زایی و درون‌زایی تقسیم می‌شود. در مسیر درون‌زایی، کلسترول توسط سلول کبد و بافت‌های خارج کبدی سنتز می‌شود و به عنوان جزئی از لیپوپروتئین‌ها وارد گردش خون می‌شود یا به صفر ترشح می‌شود. در مسیر آگروژن یا برون‌زایی، کلسترول از منابع غذایی و صفراوی در روده جذب شده و در نهایت وارد گردش خون می‌شود. نقش دو اسید چرب امگا ۳ ایکوزاپنتانویک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانویک اسید (DHA) در تجزیه آپوپروتئین‌ها بویژه آپوپروتئین B-100 کاملاً به اثبات رسیده است.

تناقض در نتایج بدست آمده از گزارشات مختلف نشان دهنده عدم نتیجه‌گیری خاص در خصوص متابولیسم کلسترول و لیپو پروتئین‌ها می‌باشد. با توجه به این واقعیت که متابولیسم هر لیپوپروتئین (LDL، HDL، VLDL) و نیز کلسترول و اسیدهای صفراوی، متأثر از شرایط فیزیولوژیکی، ژنتیکی و تغذیه‌ای قرار دارد و در حیوانات مختلف متفاوت است، لذا چنانچه پاسخ متفاوت برای این ترکیبات حادث گردد، ممکن است متأثر از رژیم غذایی و نسبت متفاوت اسیدهای چرب در اینگونه مواد خوراکی باشد. از طرفی بیان می‌شود مصرف اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه به دلیل نقش آنها در استریفیکاسیون استرهای کلسترول، باعث افزایش میزان کلسترول خون می‌شود. گزارش گردیده است که روغن‌های مانند کتان و سویا به دلیل تأثیرات مثبتی که بر روی بهبود فعالیت سلول‌های کبدی دارند، باعث افزایش در سنتز آلومین در خون می‌شوند (۳). مشخص گردیده است که کم بودن نسبت پروتئین تام به آلومین نشان دهنده کاهش اثرات عوامل استرس‌زا است، پس می‌توان نتیجه گرفت که اسید لینولئیک با کم کردن نسبت این دو فراسنجه خونی باعث کاهش استرس و بهبود سیستم ایمنی خواهد شد (۳۶). روند تغییرات بتا هیروکسی بوترات در زمانهای مختلف در نمودار ۲ گزارش شده است.

جدول ۶- اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار

Table 6 - The effect of experimental treatments on blood parameters of suckling calves

	تیمار Treatment				SEM	P value
	شاهد Control	روغن کتان Flax Seed Oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان+ویتامین Flaxseed Oil+Vitamin		
کلسترول mg/dl Cholesterol mg / dl	84.43 ^b	97.13 ^{ab}	91.65 ^b	109.83 ^a	4.503	0.00
پروتئین تام g/dl Total protein g / dl	5.66	5.77	5.42	5.45	0.117	0.10
کراتینین mg/dl Creatinine mg / dl	1.17	1.14	1.15	1.16	0.062	0.98
بتا هیدروکسی بوتیریک اسید nmol/l Beta-hydroxybutyric acid nmol / l	0.17	0.16	0.16	0.18	0.017	0.77
آلبومین g/dl Albumin g / dl	3.38	3.35	3.26	3.29	0.042	0.199

^a و ^b تفاوت ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه معنی دار است ($P < 0.05$).

SEM خطای استاندارد میانگین‌ها

اثر تیمارهای آزمایشی بر آنزیم‌های کبدی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۷ و نمودارها ۳ و ۴ گزارش شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی بر آنزیم‌های کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP)) گوساله‌های شیرخوار مشاهده نمی‌شود ($P > 0.05$).

عدم تأثیر روغن بذر کتان و به عبارتی اسیدهای چرب امگا ۳ بر آنزیم‌های کبدی در آزمایشات متعددی گزارش گردیده است (۱۳ و ۳۲). در مطالعه دیگری بیان شد که افزودن روغن کتان و ماهی به نسبت ۱:۱ به عنوان منبع اسیدهای چرب n-3 به آغوز گوساله نر و ماده هلشتاین تأثیری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نخواهد داشت (۳۵). مرادیان و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه خود که تزریق ویتامین‌های E (۳۰۰ واحد بین المللی) و A (۲۰۰۰۰ واحد بین المللی) به گوساله‌های ماده هلشتاین نر بود، تأثیر معنی‌داری بر میزان آنزیم AST تأثیر مشاهده نکردند (۳۱). اومور و همکاران (۲۰۱۶) نیز بیان کردند که ویتامین‌های محلول در چربی (A، E و D) و عناصر کمیاب (مس، منگنز، سلنیوم و روی) در جیره گاوهای براون سوییس تأثیر معنی‌داری بر آنزیم‌های کبدی (ALT، AST، ALP) نداشت (۳۴).

جدول ۷- اثر تیمارهای آزمایشی بر آنزیم‌های کبدی گوساله‌های شیرخوار

Table 7 - The effect of experimental treatments on liver enzymes in suckling calves

	تیمار Treatment				SEM	P value
	شاهد Control	روغن کتان Flax Seed Oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان+ویتامین Flaxseed Oil+Vitamin		
اسپاراتات ترانس آمیناز u/l Spartate transaminase u/l	66.30	68.96	67.74	60.74	3.213	0.288
آلانین آمینوترانسفراز u/l alanine aminotransferase u/l	16.13	20.39	16.61	15.26	1.384	0.052
آلکالین فسفاتاز u/l alkaline phosphatase u/l	469.50	515.00	456.80	456.70	32.62	0.543

SEM خطای استاندارد میانگین‌ها

اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۸ گزارش شده است. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر میزان مالون دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام گوساله‌های شیرخوار تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$).

جدول ۸- اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوساله‌های شیرخوار

Table 8 - The effect of experimental treatments on the antioxidant activity of infant calves

	تیمار Treatment				SEM	P value
	شاهد Control	روغن کتان Flax Seed Oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان+ویتامین Flaxseed Oil+Vitamin		
مالون دی‌آلدئید nmol/ml Malondialdehyde nmol / ml	2.048	1.974	1.965	2.335	0.1594	0.320
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام mmol/l Total antioxidant capacity mmol / l	0.539	0.549	0.504	0.528	0.0148	0.181

SEM خطای استاندارد میانگین‌ها

اثر تیمارهای آزمایشی بر سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۹ و نمودارهای ۵ و ۶ گزارش شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، درصد لنفوسیت‌ها و گرانولوسیت‌های پلاسمای خون گوساله‌های شیرخوار تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$)، اما میزان گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، درصد مونوسیت‌ها، درصد ائوزینوفیل و هموگلوبین گوساله‌های شیرخوار به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$). مقدار گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در تیمار حاوی روغن کتان+ویتامین بیشترین و در گروه شاهد و تیمار حاوی روغن کتان کمترین میزان را دارا بودن و تعداد گلبول‌های سفید نیز در تیمارهای حاوی روغن کتان+ویتامین و ویتامین و در گروه شاهد و تیمار حاوی روغن کتان کمترین مشاهده شد. درصد مونوسیت‌ها به ترتیب در گروه شاهد و تیمار حاوی روغن کتان+ویتامین کمترین و بیشترین میزان را نشان دادند. درصد ائوزینوفیل در گروه شاهد کمترین و تیمارهای حاوی روغن کتان+ویتامین و روغن کتان بیشترین میزان را به خود اختصاص دادند. همچنین در تیمار حاوی روغن کتان+ویتامین بیشترین میزان هموگلوبین نسبت به تیمارهای دیگر قابل مشاهده بود.

جدول ۹- اثر تیمارهای آزمایشی بر سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار

Table 9 - The effect of experimental treatments on the immune system of infant calves

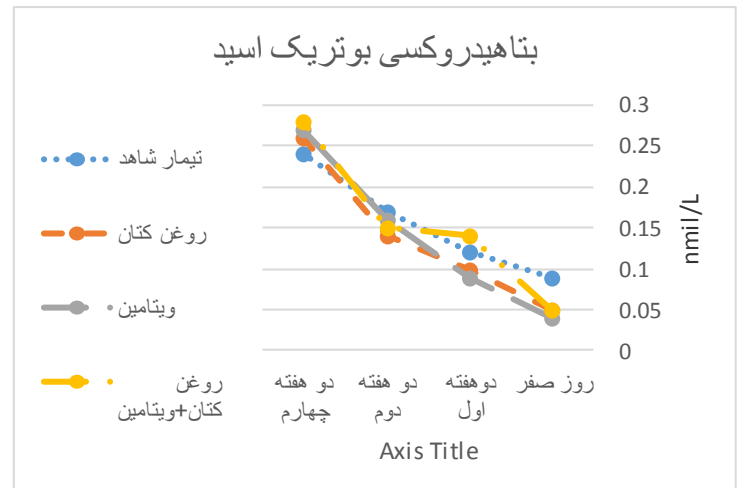
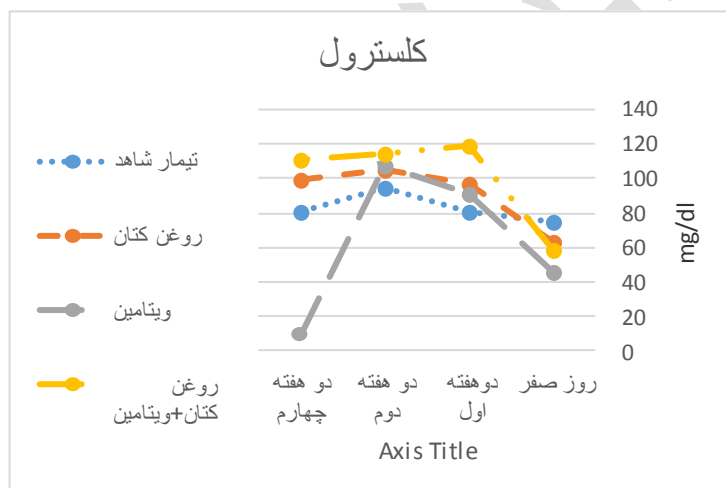
	تیمار Treatment				SEM	P value
	شاهد Control	روغن کتان Flax Seed Oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان+ویتامین Flaxseed Oil+Vitamin		
RBC 106/ μ l	6.221 ^b	6.300 ^b	6.531 ^{ab}	6.885 ^a	0.1216	0.001
WBC 103/ μ l	8.025 ^b	8.043 ^b	8.677 ^a	9.152 ^a	0.1647	0.000
HCT%	30.61 ^b	31.24 ^b	31.99 ^{ab}	34.20 ^a	0.6760	0.002
لنفوسیت‌ها % Lymphocytes%	48.69	50.37	51.14	50.54	0.7362	0.114
مونوسیت‌ها % Monocytes%	4.857 ^c	6.029 ^{ab}	5.314 ^{bc}	6.543 ^a	0.2252	0.000
ائوزینوفیل % Eosinophils%	3.474 ^b	4.629 ^a	4.257 ^{ab}	4.657 ^a	0.2186	0.000
گرانولوسیت % Granulocytes%	38.37	37.61	39.26	39.23	0.8126	0.425
هموگلوبین g/dl Hemoglobin g/dl	9.582 ^b	9.797 ^b	10.121 ^b	10.890 ^a	0.1822	0.000

^a و ^b تفاوت ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است ($P < 0.05$). SEM خطای استاندارد میانگین‌ها

در شیر غلظت برخی از مینرال ها و ویتامین های ضروری محلول در چربی A، D و E کم بوده و ضروری بنظر میرسد که این مواد به شیر مورد استفاده حیوان افزوده شود (۷). ثابت شده است که ویتامین های محلول در چربی A، D و E به رشد و نمو، و ایمنی گوساله های شیری کمک می کنند (۲۶ و ۴۴). با توجه به ترکیبات بسیار با ارزش روغن بذر کتان، این ماده نیز می تواند سبب بهبود سلامتی و عملکرد سیستم ایمنی گردد (۱۲). مطابق با نتایج این آزمایش، در مطالعه ای انجام شده توسط مهری و همکاران (۲۰۰۵) گزارش شده است که که تزریق ویتامین E و سلنیوم بر روی گوساله ها در سن ۱ تا ۱۴ روز بعد از تولد سبب افزایش معنی داری در تعداد گلبولهای سفید، هماتوکریت در هفته چهارم و هموگلوبین در هفته سوم گردیده است (۳۰). در پژوهش دیگری بیان شد که افزودن روغن کتان و ویتامین محلول در چربی (E) به شیر گوساله های شیرخوار ماده هلشتاین در سن ۴ روزگی سبب بهبود سیستم ایمنی در دوره قبل و بعد از شیرگیری شد (۱۵). افزودن روغن کتان به میزان ۰/۲ میلی لیتر در کیلوگرم میانگین وزن بدن به شیر گوساله های تازه متولد شده تا زمان از شیرگیری نژاد فریزین سبب افزایش معنی دار تعداد گلبول های قرمز و سفید، درصد مونوسیت ها، نوتروفیل ها و غلظت هموگلوبین شد اما بر مقدار درصد لنفوسیت ها تأثیر معنی داری نداشت (۱۳). یکی از دلایل احتمالی بهبود در سیستم ایمنی ممکن است به دلیل وجود ترکیبات فنلی همچون اسید فنولیک، لیگنان ها و ترکیبات فلاونوئیدی می باشد (۴۱) از طرفی وجود مقادیر زیاد از اسیدهای چرب امگا - ۳ در دانه کتان نیز می تواند بر سیستم ایمنی حیوان تأثیر گذار باشد.

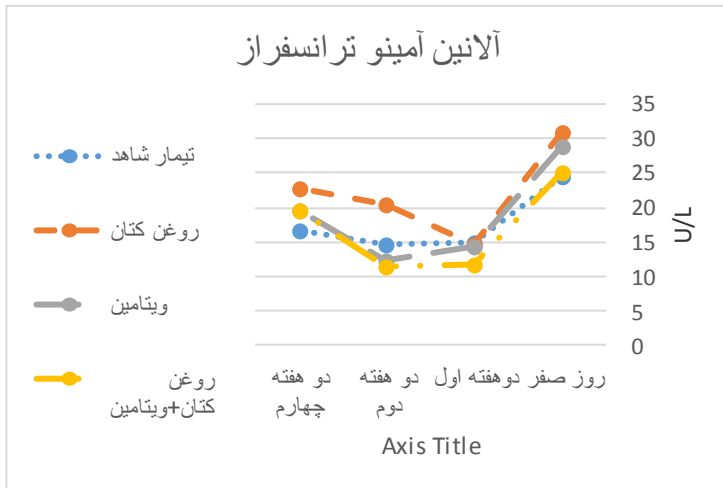
ویتامین E بعنوان یک آنتی اکسیدان قوی محسوب می گردد (۲). ایکوزانوئیدها ترکیبات شبه هورمونی هستند که نقش اساسی در پاسخ ایمنی دارند (۱۳) با توجه به غلظت بالای آلفالینولینک اسید در روغن بذر کتان (۱۲) و اینکه این اسید بعنوان پیش ساز ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) مورد استفاده قرار می گیرد، و این اسید که خود از نوع اسید های چرب امگا ۳ محسوب می شود، بنوبه خود بعنوان پیش ساز اغلب ایکوزانوئیدها است.

مصرف روغن کتان بدلیل بالا بودن آفا لینولیک می تواند در این راستا نقش ویژه ای را ایفا نماید. از طرفی ویتامین E، با نقش خود در جلوگیری از تخریب اکسیداتیو ممبران سلولی و ارگانل های درون آن مثل میتوکندری ها، میکروزوم ها و لیزوزومها، تأثیر بسزایی در بهبود سیستم ایمنی داشته باشند و همانگونه ردی و همکاران (۱۹۸۷) گزارش نموده اند افزودن ویتامین E منجر به افزایش تعداد سلول های T و B در خون می شود و در نتیجه بهبود سیستم ایمنی گردیده است (۳۸).

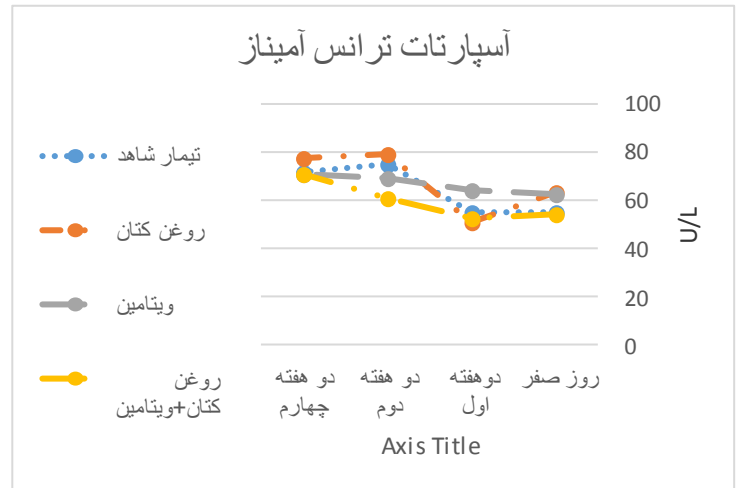


نمودار ۱- میانگین تغییرات کلسترول خونی گوساله ها در دوره های مختلف

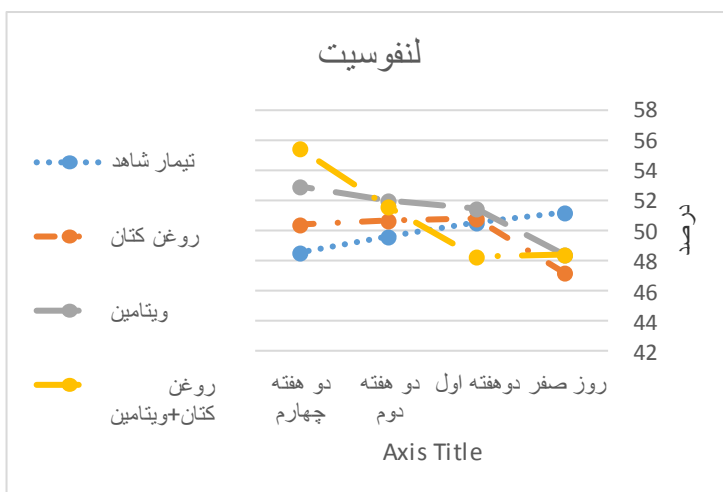
نمودار ۲- میانگین تغییرات بتا هیدروکسی بوتریک اسید خونی گوساله ها در دوره های مختلف



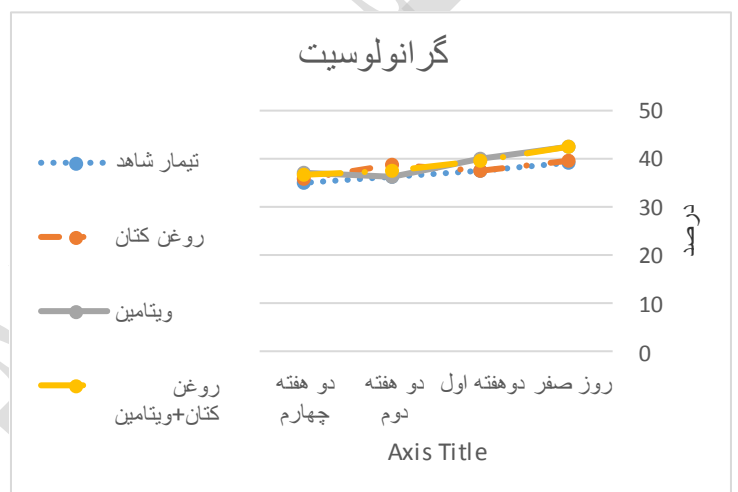
نمودار ۳- میانگین تغییرات آلانین آمینوترانسفراز خونی گوساله ها در دوره های مختلف



نمودار ۴- میانگین تغییرات آسپاراتات ترانس آمیناز خونی گوساله ها در دوره های مختلف



نمودار ۵- میانگین تغییرات لنفوسیت خونی گوساله ها در دوره های مختلف



نمودار ۶- میانگین تغییرات گرانولوسیت خونی گوساله ها در دوره های مختلف

نتیجه گیری کلی:

داد ها این مطالعه نشان داد که افزودن روغن کتان و ویتامین های محلول در چربی (E و A,D) بر افزایش وزن، خوراک مصرفی، دمای رکتوم فعالیت آنتی اکسیدانی (مالون در آلدهید و ظرفیت آنتی اکسیدانتی تام)، آنزیم های کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز)، برخی از فراسنجه های خونی (پروتئین تام، کراتینین، بتا هیدروکسی بوتیریک اسید و آلبومین) در گوساله های شیرخوار هلشتاین تأثیر معنی داری نداشته است ولی سبب افزایش معنی دار کلسترول خون افزایش فراسنجه های ایمنی همچون لنفوسیت، منوسیت و گلبول های سفید خون گردیده است. با توجه با یافته فوق توصیه می گردد که در شرایطی که حیوان در معرض استرس ها و عفونت قرار گرفته است، استفاده از این روغن می تواند در تقلیل عفونت و افزایش ایمنی زایی سیستم دفاعی بدن موثر واقع گردد.

References

1. Abu El-Hamd, M.A., Metwally, A.S.M., Hegazy, M.M., Ghallab, Z.R. and Elateeqy, O.A., 2019. Effect of supplementation of omega-3 fatty acids on blood parameters and semen quality of Friesian bulls. *Slovenian Veterinary Research*, 56.
2. Agostinho, B.C., Zeoula, L.M., Santos, N.W., Machado, E., Yoshimura, E.H., Ribas, J.C., Bragatto, J.M., Stemposki, M.R., Santos, V.J.D. and Faciola, A.P., 2020. Effects of flaxseed oil and vitamin E supplementation on digestibility and milk fatty composition and antioxidant capacity in water buffaloes. *Animals*, 10(8): 1294.
3. Ahangarani, M.A., Dehghani, M.R. and Naserian, A.A., 2021. The effect of adding sources of fat to milk on performance, growth, health, blood and ruminal parameters of Holstein female dairy calves in the first month after birth. *Animal Production*, 23(2):179-189. (In Persian)
4. Asadi, M., Ghoorchi, T., Toghdory, A., Rajabi Aliabadi, R., Iri Tomaj, R. and Sahneh, M., 2021. Comparison of selenium and vitamin E recommended NRC and ARC by diet and injection methods on performance, digestibility, some blood metabolites and skeletal growth indices of suckling Holstein calves. *Journal of Animal Science Research*, 31(2):57-69. (In Persian).
5. Bakowska-Barczak, A., Larminat, M.A. and Kolodziejczyk, P.P., 2020. The application of flax and hempseed in food, nutraceutical and personal care products. In: Kozłowski, R.M. and Talzarczyk, M.M. (eds.) *Handbook of natural fibres*. Woodhead Publishing, London, UK, 557–590.
6. Bechlin, T.R., Granella, S.J., Christ, D., Coelho, S.R.M. and Viecelli, C.A., 2019. Evaluation of grain and oil quality of packaged and ozonized flaxseed. *Journal of Stored Products Research*, 83:311-316.
7. Blakely, L.P., Poindexter, M.B., Stuart, R.L. and Nelson, C.D., 2019. Supplementing pasteurized waste-milk with vitamins A, D, and E improves vitamin status of dairy calves. *The Bovine Practitioner*, 134-141.
8. Conneely, M., Berry, D.P., Sayers, R., Murphy, J.P., Lorenz, I., Doherty, M.L. and Kennedy, E., 2013. Factors associated with the concentration of immunoglobulin G in the colostrum of dairy cows. *Animal*, 7(11):1824-1832.
9. Delir, S., Mohammad zadeh, H., Taghizadeh, A., paya, H., 2020. Effects of application of vitamin-mineral supplement in milk on performances of Holstein suckling calves. *Journal of Animal Science Research*, 30(3): 105-117. (In Persian)
10. Doppenberg, J., and D. L. Palmquist.1991. Effect of dietary fat level on feed intake, growth, plasma metabolites and hormones of calves fed dry or liquid diets. *Livestock Production Science* 29(2-3). 151-166.
11. Dunford, N.T., 2015. Hemp and flaxseed oil: properties and applications for use in food. In: Talbot, G. (ed.) *Specialty oils and fats in food and nutrition*. Woodhead Publishing, London, UK, 39–63.
12. Elgaml, N.B., El-Hamd, A., El-Diahy, Y.M. and Elshora, M.A., 2020. Effect of Flaxseed Oil on Feeding Dairy Friesian Cows on the Fatty Acid and Chemical Composition of Milk and Physiochemical Properties of Yoghurt. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 11(11):293-298.

13. El-Hamd, A., El-Diahy, Y.M., El-Maghraby, M.M. and Elshora, M.A., 2015. Effect of flaxseed oil on digestibility, blood parameters, immuno-response and productive performance of suckling Friesian calves. *Journal of Animal and Poultry Production*, 6(12), pp.755-765.
14. Garcia, M., J. H. Shin, A. Schlaefli, L. F. Greco, F. P. Maunsell, J. E. P. Santos, C. R. Staples, and W. W. Thatcher. 2015. Increasing intake of essential fatty acids from milk replacer benefits performance, immune responses, and health of preweaned Holstein calves. *Journal of dairy science* 98. 1: 458-477.
15. Geraili, M., Torbati Nejad, N.M., Naserian, A.A. and Toghdory, A., 2018. The effect of flaxseed oil on the immune response of calves in heat stress conditions. The 1st National Conference on Ruminant and Poultry Metabolic Disorders, University of Zanjan, Iran. (In Persian)
16. Ghorbani, Hamid, Mehdi Kazemi-Bonchenari, Mehdi Hossein Yazdi, and Ehsan Mahjoubi. 2020. Effects of various fat delivery methods in starter diet on growth performance, nutrients digestibility and blood metabolites of Holstein dairy calves. *Animal Feed Science and Technology* 262: 114429.
17. Giarola, T.M.O., Pereira, C.G., Prado, M.E.T., de Abreu, L.R. and de Resende, J.V., 2019. Effect of golden flaxseed flour on ice recrystallization in Uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess.) diet sherbet. *Food and Bioprocess Technology*, 12: 2120–2135.
18. Goyal, A., Patel, A., Sihag, M.K., Shah, N. and Tanwar, B., 2018. Therapeutic potential of flaxseed. In: Grumezescu, A.M. and Holban, A.M. (eds.) *Therapeutic, probiotic, and unconventional foods*. Academic Press, Oxford, UK, 255–274.
19. Hill, T.M., Bateman II, H.G., Aldrich, J.M. and Schlotterbeck, R.L., 2009. Effects of changing the essential and functional fatty acid intake of dairy calves. *Journal of dairy science*, 92(2), pp.670-676.
20. Hill, T. M., M. J. VandeHaar, L. M. Sordillo, D. R. Catherman, H. G. Bateman II, and R. L. Schlotterbeck. 2011. Fatty acid intake alters growth and immunity in milk-fed calves. *Journal of dairy science* 94. 8: 3936-3948.
21. Huuskonen, A., Khalili, H., Kiljala, J., Joki-Tokola, E. and Nousiainen, J., 2005. Effects of vegetable fats versus lard in milk replacers on feed intake, digestibility, and growth in Finnish Ayrshire bull calves. *Journal of Dairy science*, 88(10): 3575-3581.
22. Ivan, M., Petit, H.V., Chiquette, J. and Wright, A.D., 2013. Rumen fermentation and microbial population in lactating dairy cows receiving diets containing oilseeds rich in C-18 fatty acids. *British Journal of Nutrition*, 109(7): 1211-1218.
23. Kadkhoday, Amir, Ahmad Riasi, Masoud Alikhani, Mehdi Dehghan-Banadaky, and Rasoul Kowsar. 2017. Effects of fat sources and dietary C18: 2 to C18: 3 fatty acids ratio on growth performance, ruminal fermentation and some blood components of Holstein calves. *Livestock Science* 204: 71-77.
24. Karimi, A., Alijoo, Y. A., Kazemi-Bonchenari, M., Mirzaei, M., & Sadri, H. 2021. Effects of supplemental fat sources and forage feeding levels on growth performance, nutrient digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen utilization in dairy calves. *Animal*, 100179.
25. Lan, Y., Ohm, J.B., Chen, B. and Rao, J., 2020. Physicochemical properties and aroma profiles of flaxseed proteins extracted from whole flaxseed and flaxseed meal. *Food Hydrocolloids* 104: 105731.
26. Lashkari, S., Jensen, S.K., Hansen, C.B., Krogh, K., Theilgaard, P., Raun, B.M. and Vestergaard, M., 2021. Feeding concentrate pellets enriched by natural vitamin E keeps the plasma vitamin E above the critical level in calves post-weaning. *Livestock Science*, 253:104672.
27. McGee, M. and Earley, B., 2019. passive immunity in beef-suckler calves. *Animal*, 13(4):810-825.
28. McGee, M., Drennan, M.J. and Caffrey, P.J., 2005. Effect of suckler cow genotype on cow serum immunoglobulin (Ig) levels, colostrum yield, composition and Ig concentration and subsequent immune status of their progeny. *Irish journal of agricultural and food research*, pp.173-183.

29. Moghadam, M.H.B., Rezaei, M., Behgar, M. and Kermanshahi, H., 2019. Effects of gamma and electron radiation on chemical composition and some phyto-chemical properties of whole flaxseed. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 321: 1019–1025.
30. Mohri, M., Seifi, H.A. and 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(3):149-154.
31. Moradian, M., Rahchmani, R., Banihasan, E., Gharebash, A.M. and Zeighamy, A., 2016. The effect of injection of vitamins A and E on passive transfer of immunoglobulin G and some blood parameters in calf. *Journal of Ruminant Research*, 4(2). (In Persian)
32. Nazir, G., Ghuman, S.P.S., Singh, J., Honparkhe, M., Ahuja, C.S., Dhaliwal, G.S., Sangha, M.K., Saijpal, S. and Agarwal, S.K., 2013. Improvement of conception rate in postpartum flaxseed supplemented buffalo with Ovsynch+ CIDR protocol. *Animal reproduction science*, 137(1-2): 15-22.
33. Newkirk, Rex. 2015 Flax feed industry guide. Flax Canada. Winnipeg, Manitoba. 1– 24.
34. Omur, A., Kirbas, A., Aksu, E., Kandemir, F., Dorman, E., Kaynar, O. and Ucar, O., 2016. Effects of antioxidant vitamins (A, D, E) and trace elements (Cu, Mn, Se, Zn) on some metabolic and reproductive profiles in dairy cows during transition period. *Polish journal of veterinary sciences*, 19(4).
35. Opgenorth, J., Sordillo, L.M., Gandy, J.C. and VandeHaar, M.J., 2020. Colostrum supplementation with n-3 fatty acids does not alter calf outcome on a healthy commercial farm. *Journal of Dairy Science*, 103(12): 11689-11696.
36. Ramezani, M., Seifdavati, J., Seifzadeh, S., ABDI, B.H. and Razmazar, V., 2018. The effects of conjugated linoleic acid and vitamin C on growth performance, some blood metabolites and blood cell counts of Holstein suckling calves, *Journal of Ruminant Research*, 6(2): 101-115
37. Ravisankar, P., Reddy, A.A., Nagalakshmi, B., Koushik, O.S., Kumar, B.V. and Anvith, P.S., 2015. The comprehensive review on fat soluble vitamins. *IOSR journal of Pharmacy*, 5(11): 12-28
38. Reddy, P.G., Morrill, J.L., Minocha, H.C. and Stevenson, J.S., 1987. Vitamin E is immunostimulatory in calves. *Journal of Dairy Science*, 70(5): 993-999.
39. Rho, S.J. and Kim, Y.R., 2022. Improving solubility and stability of fat-soluble vitamins (A, D, E, and K) using large-ring cycloamylose. *LWT*, 153: 112502
40. Sobiech PR, Żarczyńska KA, Rękawek WO, Snarska AN, Eleusizowa AN, Kowalczyk E and Illek JO., 2015. Effect of parenteral supplementation of selenium and vitamin E on selected blood biochemical parameters in HF cows during the transition period. *Med Weter*, 71: 683-9.
41. Tang, Z.X., Ying, R.F., Lv, B.F., Yang, L.H., Xu, Z., Yan, L.Q., Bu, J.Z. and Wei, Y.S., 2021. Flaxseed oil: Extraction, Health benefits and products. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 13(1): 1-19.
42. Terler, G., Poier, G., Klevenhusen, F. and Zebeli, Q., 2022. Replacing concentrates with a high-quality hay in the starter feed in dairy calves: I. Effects on nutrient intake, growth performance, and blood metabolic profile. *Journal of Dairy Science*, 105(3): 2326-2342
43. Thiessen, Debbie L. 2004. Optimization of feed peas, canola and flaxseed for aqua feeds: The Canadian prairie perspective. *Avances en Nutricion Acuicola*.

44. Weiss, W.P., 2017. A 100-Year Review: From ascorbic acid to zinc—Mineral and vitamin nutrition of dairy cows. *Journal of dairy science*, 100(12): 10045-10060.
45. Xu, H.J., Wang, L.H., Zhang, Q.Y., Jiang, X., Zhang, C.R. and Zhang, Y.G., 2021. Effects of 25-hydroxyvitamin D3 on growth performance, fecal scores, vitamin D3 metabolites, antioxidant status, and inflammatory and stress-related parameters in weaning calves. *Animal Feed Science and Technology*, 281: 114946.
46. Zhang, X., Yin, P., Yang, L., Fan, H., Sun, L. and Liu, Y., 2017. Oil contents in flaxseeds from different origins and fatty acid compositions of flaxseed oils. *China Oils and Fats* 42: 142–146.

