نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۷، شماره ۱، بهار ۱۳۹۴، ص. ۳۳-۲۳

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 7, No. 1, Spring 2015, p. 23-33

# اثر قرص آهسته‌رهش روی، سلنیوم و کبالت بر برخی فراسنجه‌های خونی و عملکرد بره‌های نر و ماده مهربان

حسن علی‌عربی[1*] - امیر فدایی‌فر[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۰۷

## چکیده

جهت انجام این آزمایش ۲۰ رأس بره نر و ۲۰ رأس بره ماده مهربان با میانگین وزن بدن ۱/۷۱±۳۰/۳۷ کیلوگرم، چراکننده بر روی پسمانده زمین‌های کشاورزی در آزمایش فاکتویل ۲×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۷۰ روز مورد استفاده قرار گرفتند. تیمارها شامل: ۱) بره‌های نر شاهد بدون دریافت قرص آهسته‌رهش؛ ۲) بره‌های ماده شاهد بدون دریافت قرص آهسته‌رهش؛ ۳) بره‌های نر دریافت‌کننده قرص آهسته‌رهش؛ و ۴) بره‌های ماده دریافت‌کننده قرص آهسته‌رهش. بره‌ها در ابتدا و انتهای آزمایش توزین شدند و افزایش وزن روزانه نیز تعیین شد. غلظت روی، سلنیوم، مس، آهن و ویتامین$B_{12}$ پلاسما، فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز سرم و گلوتاتیون پراکسیداز خون کامل و غلظت هورمون‌های تری‌یدوتیرونین و تیروکسین و نسبت تیروکسین به تری‌یدوتیرونین سرم در روزهای ۳۵ و ۷۰ آزمایش تعیین شدند. میانگین وزن نهایی، افزایش وزن روزانه، غلظت روی و سلنیوم پلاسما، فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و غلظت ویتامین$B_{12}$ پلاسما و غلظت هورمون‌های تری‌یدوتیرونین و تیروکسین و نسبت تیروکسین به تری‌یدوتیرونین سرم گروه‌های دریافت‌کننده قرص به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود. فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز، میانگین وزن پایانی و میانگین افزایش وزن در بره‌های نر نسبت به بره‌های ماده بالاتر بود. غلظت مس و آهن پلاسمای بره‌های نر و ماده تحت تاثیر تیمار قرار نگرفت. نتایج کلی نشان داد قرص‌های آهسته‌رهش مواد معدنی فوق ضمن تامین نیاز بره‌های نر و ماده به عناصر فوق باعث افزایش عملکرد آن‌ها نیز می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** بره، عملکرد، قرص آهسته‌رهش، مواد معدنی کم‌مصرف

## مقدمه

مواد معدنی فقط ۶-۴ درصد وزن بدن حیوانات مهره‌دار را تشکیل می‌دهند، اما به علت نقش‌های گوناگون در اعمال حیاتی بدن، اهمیت آن‌ها در بیوشیمی تغذیه فراوان است. روی یکی از مواد معدنی کم مصرف است که برای فعالیت چندین سیستم آنزیمی ضروری می‌باشد و هم‌چنین یکی از مواد مغذی اساسی است که نقش مهمی در وظایف فیزیولوژیکی، از قبیل ایمنی، آنتی‌اکسیدانی، رشد و تولید مثل دارد (۴۹). بر خلاف تک معده‌ای‌ها کبالت در تغذیه نشخوارکنندگان از اهمیت بالایی برخوردار است چون میکروارگانیسم‌های شکمبه برای سنتز ویتامین$B_{12}$ به کبالت نیاز دارند (۳۷). سلنیوم به دلیل حضور در آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نقش مهمی در سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن بازی می‌کند (۴۹). بیماری عضله سفید اولین ناهنجاری شناخته شده مرتبط با کمبود سلنیوم در دام می‌باشد که سبب مرگ نوزادان تازه متولد شده و آسیب به روند تولید، در دام‌های جوان و بالغ به‌ویژه در نشخوارکنندگان می‌شود، هم‌چنین سلنیوم برای سنتز هورمون‌های تیروییدی و تبدیل تیروکسین به تری‌یدوتیرونین نقش مهمی دارد (۱۸).

در بیش‌تر بخش‌های کشور ما غلظت برخی از عناصر کم‌مصرف در خاک و در نتیجه در گیاه کم می‌باشد و یا اینکه آنتاگونیست‌های آن‌ها مانع از جذب این عناصر توسط گیاه می‌شوند. به‌طوری‌که کشور ما در منطقه‌ای از جهان قرار گرفته است که کلیه خاک‌های آن از لحاظ روی کمبود شدید دارد. در همین راستا ملکوتی‌راد و همکاران (۳۵) گزارش نمودند که مقدار روی در خاک‌های ایران به‌طور معمول کم‌تر از ۰/۰۸ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک می‌باشد درحالی‌که در شرایط مطلوب، مقدار آن بایستی بیش از یک میلی‌گرم در کیلوگرم خاک باشد. هم‌چنین مشخص شده است که ۴۰ درصد از اراضی تحت

[1و2] دانشیار و دانشجوی دکتری تغذیه نشخوارکنندگان، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
(*- نویسنده مسئول: (Email: H_aliarabi@yahoo.com

کشت گندم در ایران دچار کمبود شدید روی می‌باشند (۶).

لزوم استفاده از مکمل سلنیوم در جیره دام‌های منطقه همدان جهت افزایش عملکرد و کاهش بروز علائم کمبود سلنیوم نشان داده شده است (۳). گزارش شده است که میش‌های آبستن منطقه همدان دچار کمبود سلنیوم بوده و با مصرف قرص‌های آهسته‌رهش حاوی روی، سلنیوم و کبالت کمبود سلنیوم میش‌ها و بره‌های آن‌ها بر طرف شده و هم‌چنین سبب کاهش معنی‌دار بروز علائم بیماری ماهیچه سفید می‌شود (۲). گزارشاتی مبنی بر عدم تامین نیاز حیوانات نشخوارکننده به عنصر کبالت در داخل کشور وجود دارد (۱۰ و ۳۰). همچنین خاوازی و همکاران (۲۹) گزارش کردند که ۲۴ درصد زمین‌های زیر کشت یونجه در استان همدان از لحاظ مقدار کبالت کمبود دارند. لذا استفاده از مکمل عناصر کم‌مصرف در جیره حیوانات جهت جلوگیری از عوارض کمبود آن‌ها ضروری می‌باشد. بدین منظور روش‌های مختلفی مانند استفاده از بلوک‌های لیسیدنی مواد معدنی، خوراندن مکمل‌های معمول عناصر، تزریق عناصر و استفاده از قرص‌های آهسته‌رهش مورد ارزیابی و استفاده قرار گرفته‌اند. روش دسترسی آزاد به بلوک‌های لیسیدنی مواد معدنی، معمولاً مصرف‌های متغیری را در حیوانات سبب می‌شود به طوریکه حدود ۵۰ درصد گله ممکن است هیچ‌گونه مکملی را دریافت نکنند (۲۵). خوراندن مکمل‌های معمول عناصر نیز پاسخ‌های کوتاه مدت به این مکمل‌ها را نشان می‌دهد (۲۴). تزریق کردن نیز نیاز به تزریق‌های متوالی این عناصر دارد (۲۲). پژوهش‌های قبلی نشان داده‌اند که قرص‌های آهسته‌رهش مواد معدنی کم‌مصرف می‌توانند در داخل شکمبه مواد فعال خود را آزاد کند و وضعیت مواد معدنی کم‌مصرف را در گوسفند بهبود دهند (۵۳ و ۵۴). بطوریکه گزارش شده است که استفاده از قرص آهسته‌رهش مس، کبالت و سلنیوم (۲۲) و هم‌چنین استفاده از قرص آهسته‌رهش روی، کبالت و سلنیوم (۲۳) سبب بهبود عملکرد و وضعیت عناصر فوق نسبت به گروه شاهد در گوسفند می‌شود. این روش بخصوص برای دام‌هایی که در سیستم سنتی و عشایری که امکان استفاده از مکمل‌های معدنی موجود وجود ندارد، بسیار مناسب است و ابداع این نوع قرص‌ها در داخل کشور به تازگی صورت گرفته است. آزمایش حاضر با هدف بررسی اثر قرص‌های آهسته‌رهش مواد معدنی کم‌مصرف حاوی روی، سلنیوم و کبالت بر عملکرد و وضعیت این عناصر در بره‌های نر و ماده که در شرایط سنتی نگهداری می‌شدند و به پس‌چر می‌رفتند طراحی و انجام شد.

## مواد و روش‌ها

جهت انجام این آزمایش چهل راس بره نر و ماده مهربان ۴ الی ۵ ماهه (۲۰ راس نر و ۲۰ راس ماده) با میانگین وزنی ۱/۷۱±۳۰/۳۷ کیلوگرم از گله مزرعه دستجرد دانشگاه بوعلی سینا انتخاب و در آزمایش فاکتویل ۲×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شدند. تیمارهای مورد بررسی به صورت ذیل بودند:

۱) بره‌های نر شاهد بدون دریافت قرص آهسته‌رهش (۱۰ راس)؛

۲) بره‌های ماده شاهد بدون دریافت قرص آهسته‌رهش (۱۰ راس)؛

۳) بره‌های نر دریافت‌کننده قرص آهسته‌رهش حاوی عناصر روی، سلنیوم و کبالت (۱۰ راس)؛

۴) بره‌های ماده دریافت‌کننده قرص آهسته‌رهش حاوی عناصر روی، سلنیوم و کبالت (۱۰ راس)؛

طول دوره آزمایش ۷۰ روز بود که در روز اول آزمایش همه بره‌ها وزن‌کشی شدند و به هر یک از بره‌ها در تیمار ۳ و ۴ یک عدد قرص آهسته‌رهش حاوی روی، سلنیوم و کبالت با مشخصات ذیل توسط قرص خوران داده شد: قرص‌ها دارای میانگین وزن ۱۸/۸۲ گرم با ۲۰ درصد وزنی روی، ۰/۲۳ درصد وزنی سلنیوم و ۰/۵ درصد وزنی کبالت بودند و بر اساس آزمایشات اولیه (آزمایشات *in saco* و کشتار بره‌ها در زمان‌های مختلف جهت بازیافت باقیمانده قرص) که توسط سازندگان قرص انجام شده بود، متوسط نرخ رهش آن‌ها ۱۰۳/۵۵ میلی‌گرم در روز با طول عمر ۴ تا ۶ ماه و مقدار روی آزاد شده از قرص‌ها ۲۳/۰۱ میلی‌گرم در روز، مقدار کبالت ۰/۵۳۵ میلی‌گرم در روز، و مقدار سلنیوم ۰/۲۵۸ میلی‌گرم در روز بوده است (۱۵). بره‌ها در طول آزمایش به صورت گروهی نگهداری شدند و بر روی پس‌چر زمین‌های کشاورزی منطقه دستجرد همدان چرا کردند و هیچ گونه مکمل معدنی دریافت نمی‌کردند. در پایان آزمایش همه بره‌ها مجدداً وزن کشی شدند. در روزهای ۳۵ و ۷۰ آزمایش از کلیه بره‌ها قبل از ورود به چراگاه خونگیری انجام شد. نمونه‌های خون مربوط به هر دام در هر روز در ۳ لوله آزمایش مجزا جمع‌آوری شدند. دو لوله حاوی هپارین که یکی برای استخراج پلاسما و دیگری برای تهیه نمونه خون کامل و یک لوله بدون مادهٔ ضد انعقاد برای استخراج سرم بود. نمونه‌های خون کامل تا زمان آنالیز برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده دو لوله دیگر به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند و سرم و یا پلاسمای آن‌ها جدا گردید. سپس نمونه‌های پلاسمای جمع‌آوری شده جهت تعیین مقدار روی، سلنیوم، مس و آهن، در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم، غلظت ویتامین $B_{12}$ پلاسما، غلظت هورمون‌های تری‌یدوتیرونین و تیروکسین سرم نمونه‌های جمع‌آوری شده در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند.

غلظت روی، مس و آهن پلاسما با دستگاه جذب اتمی ( Varian SpectrAA220) تعیین شدند، غلظت سلنیوم پلاسما با دستگاه جذب اتمی و به روش تولید یون هیدرید اندازه‌گیری شد. قبل از اندازه‌گیری

مواد معدنی ذکر شده، با اضافه کردن تری‌کلرواستیک اسید به نمونه‌های پلاسما با نسبت ۱:۱ و سانتریفوژ کردن نمونه‌ها (به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه) پروتئین‌زدایی شدند (۴۳). غلظت ویتامین $B_{12}$ پلاسما با استفاده از کیت آی‌سی‌ان[1] آمریکا و توسط دستگاه گاما کانتر قرائت شد. فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز خون کامل با استفاده از کیت رانسل[2] انگلیس تعیین شد (۴۲). فعالیت آلکالین فسفاتاز کل سرم به وسیله روش آنزیمی با استفاده از نیتروفنیل‌فسفات به عنوان سوبسترا توسط کیت التیک[3] فرانسه مطابق با دستورات مربوطه اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری غلظت هورمون‌های تری‌یدوتیرونین و تیروکسین از کیت الایزای ساخت شرکت پادتن گستر و بر اساس سنجش ایمونولوژیکی آنزیمی رقابتی استفاده شد.

کلیه داده‌های جمع‌آوری شده در طول آزمایش با استفاده از نرم افزار اکسل ویرایش و برای تجزیه و تحلیل آماری آماده شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS (۴۷) صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح احتمال خطای آلفا برابر ۵ درصد انجام شد.

با توجه به اینکه وزن اولیه دام ها در کلیه تیمارها از لحاظ آماری تفاوت معنی دار نداشت. لذا وزن اولیه به عنوان متغییر همبسته در نظر گرفته نشد و از آنالیز کواریت استفاده نگردید. برای صفاتی مثل وزن اولیه، وزن پایانی و افزایش وزن روزانه از رویه GLM با مدل آماری ۱ استفاده شد:

$$Y_{ijk}= \mu+A_i+B_j+AB_{ij}+ e_{ijk} \quad (۱)$$

$Y_{ijk}$= مقدار هر مشاهده؛ $\mu$= میانگین کل متغیر مورد بررسی؛ $A_i$= اثر قرص؛ $B_j$= اثر جنس؛ $AB_{ij}$= اثر متقابل قرص و جنس؛ $e_{ijk}$= اثر خطای آزمایش

از آنجایی که برهمکنش تیمار در زمان در کلیه فراسنجه‌های خونی معنی‌دار نبود این فراسنجه‌ها با رویه Mixed به صورت اندازه‌های تکرار شده در واحد زمان در آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه شدند که مدل آماری ۲ در زیر نشان داده شده است:

$$Y_{ijkl}=\mu+A_i+B_j+AB_{ij}+T_l+AT_{il}+BT_{jl}+ABT_{ijl}+E_a+E_b \quad (۲)$$

$Y_{ijkl}$=مقدار هر مشاهده؛ $\mu$= میانگین کل متغیر مورد بررسی؛ $A_i$= اثر قرص؛ $B_j$= اثر جنس؛ $AB_{ij}$= اثر متقابل قرص و جنس؛ $T_l$= اثر زمان؛ $AT_{il}$= برهم‌کنش قرص و زمان؛ $BT_{jl}$= برهم‌کنش جنس و زمان؛ $ABT_{ijl}$= برهم‌کنش قرص و جنس و زمان؛ $E_a$= اثر خطای اصلی؛ $E_b$= اثر خطای فرعی.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل مربوط به عملکرد بره‌ها در طول ۷۰ روز آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود میانگین وزن اولیه در کلیه تیمارها یکسان بود، اما میانگین وزن پایانی و افزایش وزن روزانه بره‌های نر و ماده دریافت کننده قرص بطور معنی‌داری بالاتر از بره‌های گروه شاهد بود ($P<۰/۰۵$). صرف نظر از جنس، بره‌های دریافت‌کننده قرص به طور معنی‌داری میانگین وزن پایانی و افزایش وزن روزانه بالاتری نشان دادند ($P<۰/۰۵$) هم‌چنین اثر جنس نیز معنی‌دار بود و بره‌های نر میانگین وزن پایانی و میانگین افزایش وزن روزانه بالاتری داشتند ($P<۰/۰۵$).

به‌طور مشابه با نتایج مطالعه گزارش شده است که بره‌های دریافت‌کننده قرص‌های آهسته‌رهش روی، کبالت و سلنیوم (که روزانه ۴۹/۳ میلی‌گرم در روز روی، ۱/۷ میلی گرم در روز کبالت و ۰/۵ میلی‌گرم در روز سلنیوم آزاد می کردند) افزایش وزن روزانه بالاتری نسبت به گروه شاهد نشان دادند (۲۳). هم‌چنین استفاده از قرص‌های آهسته‌رهش روی، سلنیوم و کبالت در ۶ هفته قبل از زایمان در میش‌های آبستن سبب افزایش وزن تولد بره‌های متولد شده از میش‌های دریافت‌کننده قرص در مقایسه با گروه شاهد شد (۲). بسیاری از آنزیم‌هایی که در ارتباط با مصرف و متابولیسم مواد خوراکی هستند برای فعالیت مطلوب خود به روی به عنوان جزئی از ملکول یا به عنوان یک فعال کننده نیاز دارند، هم‌چنین روی برای تولید و سوخت و ساز پروتئین نیاز است و سبب تثبیت ساختمان RNA، DNA و ریبوزم‌ها می‌شود (۴۸). بنابراین اولین نشانه‌های کمبود روی در حیوانات نشخوارکننده شامل کاهش خوراک مصرفی، نرخ رشد و راندمان استفاده از خوراک می‌باشد (۴۹). کرمی و طالبی (۲۱) گزارش کرند که در پروار بره‌های نر و ماده با وزن تولد مشابه، وزن نهایی پروار به صورت معنی‌داری در بره‌های نر بیشتر بود. بنابراین استفاده از قرص‌های آهسته‌رهش روی، سلنیوم و کبالت با تأمین کردن مداوم این عناصر سبب بهبود عملکر بره‌های نر و ماده شد.

فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و گلوتاتیون پراکسیداز سرم و غلظت ویتامین $B_{12}$ پلاسمای بره‌های نر و ماده دریافت‌کننده قرص از لحاظ هر سه فراسنجه در مقایسه با بره‌های نر و ماده شاهد بالاتر بود (جدول ۲). صرف نظر از جنس، بره‌های دریافت‌کننده قرص به طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و گلوتاتیون پراکسیداز سرم و غلظت ویتامین $B_{12}$ پلاسمای بالاتری نشان دادند ($P<۰/۰۵$). غلظت ویتامین $B_{12}$ پلاسما و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم در جنس نر و ماده تفاوت معنی‌داری نشان نداد. اما فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در بره‌های نر نسبت به جنس ماده به طور معنی‌داری بالاتر بود ($P<۰/۰۵$).

1- ICN
2- Ransel
3- Elitech

**جدول ۱**- اثر قرص آهسته‌رهش بر عملکرد بره‌های نر و ماده مهربان (کیلوگرم)

**Table 1-** Effect of slow-release bolus on performance of male and female Mehraban lambs (Kg)

| تیمار<br>Treatment | میانگین وزن اولیه<br>Average of initial weight | میانگین وزن پایانی<br>Average of final weight | میانگین افزایش وزن روزانه<br>Average of daily gain |
|---|---|---|---|
| نر شاهد<br>Male control | 30.80 | 39.20$^{c}$ | 0.120$^{c}$ |
| ماده شاهد<br>Female control | 29.90 | 37.25$^{d}$ | 0.105$^{d}$ |
| نر دریافت‌کننده قرص<br>Male receiving bolus | 30.85 | 42.30$^{a}$ | 0.163$^{a}$ |
| ماده دریافت‌کننده قرص<br>Female receiving bolus | 29.95 | 40.55$^{b}$ | 0.151$^{b}$ |
| SEM | 0.544 | 0.468 | 0.003 |
| قرص<br>Bolus | | | |
| دریافت‌کننده قرص<br>Receiving bolus | 30.40 | 41.42$^{a}$ | 0.157$^{a}$ |
| عدم دریافت قرص<br>Not receiving bolus | 30.35 | 38.22$^{b}$ | 0.112$^{b}$ |
| SEM | 0.385 | 0.332 | 0.002 |
| جنس<br>Sex | | | |
| نر<br>Male | 30.82 | 40.75$^{a}$ | 0.141$^{a}$ |
| ماده<br>Female | 29.92 | 38.90$^{b}$ | 0.128$^{b}$ |
| SEM | 0.385 | 0.332 | 0.002 |
| *P-value* | | | |
| *Treat* | 0.444 | <0.0001 | <0.0001 |
| *Bolus* | 0.927 | <0.0001 | <0.0001 |
| *Sex* | 0.107 | 0.0004 | 0.0004 |
| *Sex × bolus* | 0.998 | 0.832 | 0.685 |

حروف غیرمشابه در هر ستون از هر بخش نشان‌دهندهٔ وجود تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۰/۰۵ است.

Means with different superscript letters in each column of each section are significantly different (P<0.05).

با توجه به کمبود روی در خاک‌ها و در نتیجه گیاهان بیش‌تر مناطق ایران (۳۵) لذا افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در بره‌های دریافت‌کننده قرص‌های آهسته‌رهش که حاوی روی بودند دور از انتظار نبود. این نتیجه با نتایج دیگر محققین در زمان استفاده از روی در جیره دام‌ها مطابقت دارد بطوریکه گزارش شده است که فعالیت آلکالین فسفاتاز در بره‌های دریافت‌کننده ۲۵ میلی‌گرم روی در کیلوگرم ماده خشک در مقایسه با بره‌های گروه کنترل به طور معنی‌داری بالاتر است (۱۴). بنابراین قرص‌های آهسته‌رهش توانسته‌اند به‌طور مداوم عنصر روی را برای حیوان تامین کنند و افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز نیز این موضوع را تایید می‌کند.

میکروارگانیسم‌های شکمبه برای سنتز ویتامین$B_{12}$ به کبالت نیاز دارند، به طوری که ۴/۴ درصد این ویتامین را کبالت تشکیل می‌دهد. به طور معمول، کبالت در داخل بدن در مقادیر زیادی ذخیره نمی‌شود و این مقدار کم نیز نمی‌تواند به راحتی به داخل شکمبه یا دستگاه روده‌ای برگردد جایی که آن می‌تواند برای سنتز ویتامین$B_{12}$ مورد استفاده قرار بگیرد. بنابراین نشخوارکنندگان باید به‌طور مداوم در جیره برای سنتز ویتامین$B_{12}$ کبالت کافی دریافت کنند (۵۰ و۵۲).

**جدول ۲**- اثر قرص آهسته‌رهش بر فعالیت آلکالین فسفاتاز و گلوتاتیون پراکسیداز سرم و غلظت ویتامین$B_{۱۲}$ پلاسمای بره‌های نر و ماده مهربان در روزهای ۳۵ و ۷۰ آزمایش

**Table 2-** Effect of slow-release bolus on serum alkaline phosphatase and glutathione peroxidase activity and plasma vitamin $B_{12}$ concentration in male and female lambs on days 35 and 70 of experiments

| تیمار<br>Treatment | آلکالین فسفاتاز<br>Alkaline phosphatase (U/L) | ویتامین $B_{۱۲}$<br>Vitamin $B_{12}$ (pmol/L) | گلوتاتیون پراکسیداز<br>Glutathione peroxidase (µkat/L) |
|---|---|---|---|
| نر شاهد<br>Male control | 166.114[b] | 428.78[b] | 222.33[b] |
| ماده شاهد<br>Female control | 167.783[b] | 448.89[b] | 197.58[b] |
| نر دریافت‌کننده قرص<br>Male receiving bolus | 196.744[a] | 845.44[a] | 728.83[a] |
| ماده دریافت‌کننده قرص<br>Female receiving bolus | 193.588[a] | 841.14[a] | 507.67[a] |
| SEM | 1.81 | 48.67 | 25.317 |
| قرص<br>Bolus | | | |
| دریافت‌کننده قرص<br>Receiving bolus | 195.166[a] | 843.29[a] | 618.25[a] |
| عدم دریافت قرص<br>Not receiving bolus | 166.949[b] | 438.84[b] | 209.96[b] |
| SEM | 1.28 | 34.41 | 17.832 |
| جنس<br>Sex | | | |
| نر<br>Male | 181.429 | 645.02 | 475.58[a] |
| ماده<br>Female | 180.685 | 637.11 | 352.63[b] |
| SEM | 1.28 | 34.41 | 17.832 |
| *P-value* | | | |
| *Treat* | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| *Bolus* | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| *Sex* | 0.657 | 0.860 | <0.0001 |
| *Sex × bolus* | 0.158 | 0.785 | <0.0001 |
| *Time* | 0.316 | 0.134 | 0.932 |
| *Treat × time* | 0.244 | 0.136 | 0.974 |

حروف غیرمشابه در هر ستون از هر بخش نشان‌دهندهٔ وجود تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۰/۰۵ است.

Means with different superscript letters in each column of each section are significantly different (P<0.05).

به‌طور مشابه با نتایج مطالعه حاضر استفاده از قرص آهسته‌رهش مس، کبالت و سلنیوم (۲۲) و هم‌چنین استفاده از قرص آهسته‌رهش روی، کبالت و سلنیوم (۲۳) سبب افزایش معنی‌دار غلظت ویتامین$B_{۱۲}$ پلاسمای گوسفند نسبت به گروه شاهد شد. همچنین افزودن کبالت به جیره بره‌های پرواری سبب افزایش غلظت ویتامین$B_{۱۲}$ پلاسما شد (۱۰).

افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از قرص‌های آهسته‌رهش مس، کبالت و سلنیوم (۲۲) و روی، کبالت و سلنیوم (۲۳) نیز گزارش شده است. هم‌چنین با خوراندن شربت سلنیوم از منبع سلنیت‌سدیم به صورت هفتگی به گاوهای هرفورد به میزان ۲۰ میلی‌گرم، افزایش در فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را گزارش شده است (۴۶). در تحقیقی توسط کومار و همکاران (۳۳) نیز افزودن سلنیوم از دو منبع آلی و غیرآلی به جیره پایه بره‌های پرواری حاوی ۰/۱۹ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم ماده خشک افزایش در فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز گلبول‌های قرمز گزارش شد. هم‌چنین افزایش در فعالیت این آنزیم با افزودن سلنیوم از دو منبع آلی و غیر آلی به جیره پایه بره‌های پرواری حاوی ۰/۰۶ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است (۳). در مقابل، تفاوت معنی‌داری در فعالیت این آنزیم در زمان استفاده از مکمل سلنیوم در گاو شیری (۲۰) و گوسفند (۳۴) مشاهده نشده است. این تفاوت‌ها می‌تواند به مقدار بالاتر سلنیوم در جیره پایه مطالعات فوق (۲۰ و ۳۴) نسبت داده شود. بنابراین نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تجویز قرص آهسته‌رهش روی، سلنیوم و کبالت سبب تامین مداوم عنصر سلنیوم و به حد مطلوب رسیدن فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز شده است. برخلاف مطالعه حاضر

در خصوص بالاتر بودن فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در بره‌های نر نسبت به بره‌های ماده، گزارش شده است که فعالیت این آنزیم در کبد موش‌های ماده بالاتر از جنس نر بود و بیش‌ترین فعالیت مربوط به موش‌های آبستن بود (۴۴). این محققین دلیل این امر را مرتبط با سیکل جنسی موش‌های ماده و هورمون استرادیول دانستند.

جدول ۳ نتایج مربوط به غلظت عناصر روی، سلنیوم، مس و آهن پلاسما بره‌های نر و ماده که در روزهای ۳۵ و ۷۰ آزمایش اندازه‌گیری شد را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود غلظت روی و سلنیوم پلاسمای بره‌های نر و ماده دریافت‌کننده قرص در مقایسه با بره‌های نر و ماده شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P<0/05$). صرف نظر از جنس، بره‌های دریافت‌کننده قرص دارای غلظت روی و سلنیوم پلاسما بالاتری بودند ($P<0/05$) اما اثر جنس، زمان، و برهمکنش تیمار در زمان و قرص در جنس معنی‌دار نبود. غلظت مس و آهن پلاسمای بره‌های نر و ماده نیز تحت تاثیر تیمار قرار نگرفت ($P>0/05$).

غلظت روی پلاسما در نشخوارکنندگان در دامنه ۰/۸ تا ۱/۴ میلی‌گرم در لیتر قرار دارد (۴۹) که داده‌های حاصل از آزمایش ما نیز با این دامنه هم‌خوانی دارد. مقدار روی مورد نیاز بر اساس وزن زنده بره‌ها و نرخ رشد آنها در آزمایش حاضر، ۲۶ تا ۲۸ میلی‌گرم روی در روز (میانگین ۲۷ میلی‌گرم در روز) می‌باشد (NRC)، (۴۱). به‌طور مشابه افزودن روی به جیره بره‌های نر پرواری، سبب افزایش غلظت روی پلاسمای شد (۱۶). همچنین استفاده از قرص‌های آهسته‌رهش حاوی روی، کبالت و سلنیوم در گوسفند سبب افزایش غلظت روی پلاسما در مقایسه با گروه شاهد شده است (۲۳). با توجه به هموستازی جذب و متابولیسم روی (۱۱) افزایش غلظت روی پلاسما با افزودن روی به جیره به غیر از حیوانات دچار کمبود روی، بسیار مشکل است (۳۸). اما با در نظر گرفتن این موضوع که ظرفیت ذخیره روی در بدن ضعیف است (۳۷) لذا نیاز است این عنصر به‌طور مداوم از طریق جیره تامین شود. بنابراین نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که غلظت روی در پس‌چرهای مربوط به چرای بره‌های آزمایش حاضر از لحاظ عنصر روی کمبود داشته است و تجویز قرص‌های آهسته‌رهش حاوی روی، سلنیوم و کبالت سبب تامین مداوم عنصر روی شده است.

گروه‌های دریافت کننده قرص‌های آهسته‌رهش بطور معنی‌داری غلظت سلنیوم پلاسمای بالاتری نشان دادند. به‌طور مشابه با نتایج مطالعه حاضر میش‌های دریافت کننده قرص‌های آهسته‌رهش مس، کبالت و سلنیوم در مقایسه با گروه شاهد غلظت سلنیوم خون بالاتری داشتند (۵۵). هم‌چنین افزودن مقدار ۰/۱۵ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم ماده خشک از دو منبع آلی و غیرآلی به جیره پایه حاوی ۰/۱۹ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم ماده خشک سبب افزایش غلظت سلنیوم پلاسمای گوسفند شد (۳۳). همچنین در گاوهای مکمل شده با سلنیوم غلظت بالاتری از سلنیوم پلاسما را در مقابل گروه شاهد گزارش شده است (۱۹). گوسفندان با غلظت پلاسمایی ۲۵ تا ۵۳ میکروگرم سلنیوم در لیتر دچار کمبود شدید سلنیوم می‌باشند اما غلظت پلاسمایی ۱۶۰ تا ۱۷۰ میکروگرم در لیتر نشان‌دهنده غلظت مناسب سلنیوم در جیره پایه می‌باشد (۵۱). بنابراین نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تجویز قرص آهسته‌رهش روی، سلنیوم و کبالت سبب تامین مداوم عنصر سلنیوم و به حد مطلوب رسیدن غلظت سلنیوم پلاسما شده است.

غلظت مس پلاسما در نشخوارکنندگان در دامنه ۰/۵۵ تا ۰/۹۵ میلی‌گرم در لیتر قرار دارد (۴۹) که داده‌های حاصل از آزمایش حاضر نیز با این دامنه هم‌خوانی دارد. با توجه به رابطه آنتاگونیستی بین عناصر روی و مس گزارش شده است که غلظت مس سرم در گوساله‌های گاومیش دریافت کننده ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم ماده خشک کاهش پیدا کرد (۵). غلظت بالای روی جیره غذایی سبب تحریک سنتز متالوتیونئین شده و این پروتئین در سلول‌های انتروسیت روده به علت میل ترکیبی شدید به روی و مس مانع جذب هم روی و هم مس می‌شود. عدم تفاوت معنی‌داری در غلظت مس پلاسما در بره‌های دریافت کننده سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ گرم روی در روز به صورت سولفات روی و روی متیونین گزارش شده است (۱). هم‌چنین تفاوت معنی‌داری در غلظت مس پلاسما در گوساله‌های مکمل شده با ۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم روی به صورت سولفات روی و روی پروپیونات مشاهده نشد (۳۶). مقدار مس مورد نیاز بر اساس وزن زنده بره‌ها و نرخ رشد آن‌ها در آزمایش حاضر، ۷ تا ۹ میلی‌گرم روی در روز (میانگین ۸ میلی‌گرم در روز) می‌باشد (NRC) (۴۱). علی‌رغم وجود رابطه آنتاگونیستی بین روی و مس، ۲۳/۰۱ میلی‌گرم روی آزاد شده در روز از قرص‌های آهسته‌رهش در بره‌های نر و ماده مهربان در مقایسه با تیمار شاهد اختلالی در جذب مس ایجاد نکرده لذا سطح مس پلاسما را تحت تاثیر قرار نداده بود. تحقیقات کمی به منظور بررسی اثر متقابل سلنیوم و مس در نشخوارکنندگان انجام شده است و بیشتر تحقیقات نیز به صورت تزریق سلنیوم بوده که حذف اثرات احتمالی محیط شکمبه را به دنبال داشته است. همسو با نتایج ما، تزریق سلنیوم به بره‌های تازه متولد شده در غلظت مس پلاسما تغییری ایجاد نکرد (۴۰). هم‌چنین تجویز سلنیوم به تلیسه‌های آبستن نیز اثری بر غلظت مس سرم آن‌ها نداشته است (۳۹). در آزمایش حاضر توجه به این نکته لازم است که به دلیل عدم اندازه‌گیری غلظت عناصر در آغاز آزمایش و نیز طولانی نبودن دوره آزمایش، جمع‌بندی در رابطه با اثر متقابل عناصر و به‌ویژه روی و مس نیازمند پژوهش‌های بیش‌تری است.

غلظت آهن پلاسما یا سرم در گوسفند ۰/۰۶±۱/۹۳ میلی‌گرم در لیتر قرار دارد (۴۹) که داده‌های حاصل از آزمایش حاضر نیز با این دامنه هم‌خوانی دارد. مقادیر روی، کبالت و سلنیوم آزاد شده از

قرص‌ها تاثیر آنتاگونیستی بر متابولیسم آهن نداشته است. به‌طور مشابه با نتایج پژوهش حاضر هیچ‌گونه اثری معنی‌داری بر غلظت آهن سرم در گوساله‌ها (۲۸) و بره‌ها (۱۶) مکمل شده با روی مشاهده نشد. هم‌چنین تزریق مکمل سلنیوم به صورت سدیم سلنیت به بره‌ها بر غلظت آهن پلاسما هیچ‌گونه اثر معنی‌داری نداشته است (۴۰).

همان‌طور که جدول ۴ نشان می‌دهد، غلظت هورمون‌های تری‌یدوتیرونین، تیروکسین و نسبت تیروکسین به تری‌یدوتیرونین سرم بره‌های نر و ماده به طور معنی‌داری تحت تاثیر استفاده از قرص‌های آهسته‌رهش قرار گرفت (P<۰/۰۵) به‌طوری‌که بره‌های نر و ماده دریافت‌کننده قرص بالاترین غلظت تری‌یدوتیرونین و پائین‌ترین غلظت تیروکسین و نسبت تیروکسین به تری‌یدوتیرونین در مقایسه با بره‌های نر و ماده شاهد را نشان دادند.

**جدول ۳**- اثر قرص آهسته‌رهش بر غلظت روی، سلنیوم، مس و آهن پلاسما (میلی‌گرم در لیتر) در بره‌های نر و ماده در روزهای ۳۵ و ۷۰ آزمایش

**Table 3-** Effect of slow-release bolus on plasma concentrations of Zn, Se, Cu and Fe (mg/L) in male and female lambs on days 35 and 70 of experiments

| تیمار<br>Treatment | روی<br>Zinc | سلنیوم<br>Selenium | مس<br>Copper | آهن<br>Iron |
|---|---|---|---|---|
| نر شاهد<br>Male control | 0.929[b] | 0.078[b] | 0.766[a] | 1.891[a] |
| ماده شاهد<br>Female control | 0.921[b] | 0.071[b] | 0.693[a] | 1.844[a] |
| نر دریافت‌کننده قرص<br>Male receiving bolus | 1.340[a] | 0.180[a] | 0.732[a] | 1.878[a] |
| ماده دریافت‌کننده قرص<br>Female receiving bolus | 1.338[a] | 0.178[a] | 0.737[a] | 1.968[a] |
| SEM | 0.040 | 0.017 | 0.043 | 0.061 |
| قرص<br>Bolus | | | | |
| دریافت‌کننده قرص<br>Receiving bolus | 1.339[a] | 0.179[a] | 0.735[a] | 1.923[a] |
| عدم دریافت قرص<br>Not receiving bolus | 0.925[b] | 0.074[b] | 0.730[a] | 1.867[a] |
| SEM | 0.027 | 0.009 | 0.028 | 0.040 |
| جنس<br>Sex | | | | |
| نر<br>Male | 1.135[a] | 0.129[a] | 0.749[a] | 1.884[a] |
| ماده<br>Female | 1.130[a] | 0.124[a] | 0.715[a] | 1.906[a] |
| SEM | 0.027 | 0.009 | 0.028 | 0.040 |
| *P-value* | | | | |
| *Treat* | <0.0001 | <0.0001 | 0.647 | 0.402 |
| *Bolus* | <0.0001 | <0.0001 | 0.906 | 0.294 |
| *Sex* | 0.907 | 0.887 | 0.424 | 0.677 |
| *Sex × bolus* | 0.946 | 0.866 | 0.306 | 0.201 |
| *Time* | 0.550 | 0.350 | 0.271 | 0.831 |
| *Treat × time* | 0.995 | 0.755 | 0.803 | 0.759 |

حروف غیرمشابه در هر ستون از هر بخش نشان‌دهندهٔ وجود تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۰/۰۵ است.

Means with different superscript letters in each column of each section are significantly different (P<0.05).

**جدول ٤**- اثر قرص آهسته‌رهش بر غلظت هورمون‌های تیروئیدی سرم (نانومول بر لیتر) بره‌های نر و ماده مهربان در روزهای ۳۵ و ۷۰ آزمایش

**Table 4-** Effect of slow-release bolus on serum thyroid hormones concentrations (nmol /L) in male and female Mehraban lambs on days 35 and 70 of experiments

| تیمار<br>Treatment | تری‌یدوتیرونین<br>Tri-iodothyronine | تیروکسین<br>Thyroxine | نسبت تیروکسین به تری‌یدوتیرونین<br>Thyroxine / Tri-iodothyronine |
|---|---|---|---|
| نر شاهد<br>Male control | 1.273[b] | 85.619[a] | 67.516[a] |
| ماده شاهد<br>Female control | 1.285[b] | 85.199[a] | 66.452[a] |
| نر دریافت‌کننده قرص<br>Male receiving bolus | 1.655[a] | 75.666[b] | 45.797[b] |
| ماده دریافت‌کننده قرص<br>Female receiving bolus | 1.646[a] | 76.285[b] | 46.369[b] |
| SEM | 0.025 | 0.451 | 1.036 |
| قرص<br>Bolus | | | |
| دریافت‌کننده قرص<br>Receiving bolus | 1.650[a] | 75.975[b] | 46.083[b] |
| عدم دریافت قرص<br>Not receiving bolus | 1.279[b] | 85.409[a] | 66.984[a] |
| SEM | 0.017 | 0.319 | 0.733 |
| جنس<br>Sex | | | |
| نر<br>Male | 1.466 | 80.742 | 56.656 |
| ماده<br>Female | 1.464 | 80.642 | 56.411 |
| SEM | 0.017 | 0.319 | 0.733 |
| *P-value* | | | |
| *Treat* | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| *Bolus* | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| *Sex* | 0.903 | 0.785 | 0.737 |
| *Sex × bolus* | 0.545 | 0.162 | 0.269 |
| *Time* | 0.420 | 0.167 | 0.301 |
| *Treat × time* | 0.718 | 0.069 | 0.538 |

حروف غیرمشابه در هر ستون از هر بخش نشان‌دهندهٔ وجود تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۰/۰۵ است.

Means with different superscript letters in each column of each section are significantly different (P<0.05).

صرف نظر از جنس، بره‌های دریافت‌کننده قرص به طور معنی‌داری بالاترین غلظت تری‌یدوتیرونین و پائین‌ترین غلظت تیروکسین و نسبت تیروکسین به تری‌یدوتیرونین را نشان دادند (P<۰/۰۵) اما اثر جنس، زمان، و برهمکنش تیمار در زمان و قرص در جنس در هر سه فراسنجه معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

ارتباط بین سلنیوم و غده تیروئید نه تنها مرتبط با فعالیت پراکسیدازها درمحافظت از تیروئید و سنتز هورمون‌های تیروئیدی است، بلکه با فعالیت دیدینازها که سلنوآنزیم‌های مسئول کاتالیز تبدیل تیروکسین به تری‌یدوتیرونین می‌باشند نیز مرتبط است (۷). نتایج ذکر شده را می‌توان با در نظر گرفتن این‌که، در موش‌های مواجه با کمبود سلنیوم فعالیت دیدینازها کاهش می‌یابد (۸) و همچنین در بره‌های دچار بیماری تحلیل ماهیچه‌ای که درنتیجه کمبود سلنیوم ایجاد می‌شود، غلظت تری‌یدوتیرونین سرم و نسبت تری‌یدوتیرونین به تیروکسین در مقایسه با بره‌های سالم، کم‌تر است (۱۲)، قابل توجیه دانست. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در گوساله‌هایی که سلنیوم را به صورت پلت‌های درون شکمبه‌ای دریافت کرده بودند (۵۳)، و در گوساله‌های پرواری تأمین شده با مقدار ۰/۱ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم ماده خشک نیز افزایش قابل ملاحظه‌ای در غلظت تری‌یدوتیرونین و کاهش در تیروکسین گزارش شده است (۱۲). در مقابل نتایج آزمایش حاضر، تغییری در غلظت تری‌یدوتیرونین، تیروکسین و نسبت این دو هورمون با افزودن سلنیوم به جیره بره‌های پرواری مشاهده نشده است (۳۳ و ۳۴). البته می‌توان

دلیل این امر را ناشی از بالاتر بودن مقدار سلنیوم جیره پایه در تحقیق آن‌ها نسبت به آزمایش حاضر دانست. با توجه به اثری که سلنیوم در تبدیل هر چه بیش‌تر تیروکسین به فرم فعال آن یعنی تری‌یدوتیرونین دارد و هم‌چنین با توجه به این‌که اثر تیمار در زمان معنی‌دار نبوده است لذا نتیجه حاصله نشان می‌دهد که در طول ۷۰ روز آزمایش سلنیوم موجود در قرص‌های آهسته‌رهش به‌طور تدریجی آزاد و جذب شده و موجب تبدیل بیش‌تر تیروکسین به تری‌یدوتیرونین در بره‌های دریافت‌کننده قرص نسبت به گروه شاهد شده است.

## نتیجه‌گیری کلی

با توجه به این‌که برای کلیه فراسنجه‌های خونی مورد آزمایش اثر تیمار در زمان معنی‌دار نبود لذا می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در طول ۷۰ روز آزمایش عناصر روی، سلنیوم و کبالت به‌طور مداوم و تدریجی از طریق قرص‌ها برای بره‌های دریافت‌کننده آن‌ها فراهم شده است و در نتیجه آن شاخص‌های آن‌ها (به ترتیب آلکالین فسفاتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و ویتامین$B_{12}$) به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بوده و استفاده از این نوع قرص‌ها سبب بهبود معنی‌دار عملکرد بره‌های نر و ماده در مقایسه با گروه شاهد شد. لذا با توجه به سیستم نگهداری بخش قابل توجهی از دام‌های کوچک کشور که به شکل عشایری و سنتی می‌باشد و عدم استفاده از مکمل مواد معدنی و با توجه به اثرات مثبت و موثر قرص‌های آهسته‌رهش، استفاده از این قرص‌ها می‌تواند ضمن تامین نیاز دام‌های فوق به عناصر ضروری کم‌مصرف باعث افزایش عملکرد آنها و جلوگیری از عوارض ناشی از کمبود این عناصر شود.

## منابع


1- Abdelrahaman, M. M., A. M. Numan, A. L. Rayyan, T. Awawdeh, and A.Y. Alazzeh. 2003. The effects of dietary levels of zinc-methionine on the performance of growing Awwasi lambs. Pakistan Journal of Biological Sciences, 6: 979 –983.
2- Aliarabi, H., and A. Fadayifar. 2013. Effect of slow-release bolus on some blood metabolites and lambing performance of ewes. The second international conference on agriculture and natural resources, 2: 8-10.
3- Alimohamady, R., H. Aliarabi, A. A. Bahari, and A. H. Dezfoulian. 2013. Influence of Different Amounts and Sources of Selenium Supplementation on Performance, Some Blood Parameters, and Nutrient Digestibility in Lambs. Biological Trace Element Research, 154: 45−54.
4- Arthur, J. R. 1988. Effects of selenium and vitamin E status on plasma creatine kinase activity in calves. Journal of Nutrition, 118: 747–755.
5- Attia, A. N., S. A. Awadalla, E. Y. Esmail, and M. M. Hady. 1987. Role of some microelements in nutrition of water buffalo and its relation to production. 2. Effect of zinc supplementation. Assiut Veterinary Medical Journal, 18: 91–100.
6- Balali, M. R., M. J. Malakouti Rad, H. H. Mashayekhi, and Z. Khademi. 2008. The effect of micronutrients on yield and determine the critical levels in soils under wheat cultivation in Iran. Journal of Soil and Water, 12: 6. (In Persian)
7- Beckett, G. J. and J. R. Arthur. 2005. Selenium and endocrine systems. Journal of Endocrinology, 184:455-465.
8- Beckett, G. J., F. Nicol, P. W. Rae, S. Beach, Y. Guo, and J. R. Arthur. 1993. Effects of combined iodine and selenium deficiency on thyroid hormone metabolism in rats. The American Journal of Clinical Nutrition, 57: 2405-2435.
9- Berger, L. B. 2006. Salt and trace mineral for livestock, poultry and other animals. Salt Institute.
10- Bishehsari, S. H., M. M. Tabatabaei, H. Aliarabi, D. Alipour, P. Zamani, and A. Ahmadi. 2010. Effect of dietary cobalt supplementation on plasma and rumen metabolites in Mehraban lambs. Small Ruminant Research, 90: 170–173.
11- Cousins, R. B. 1997. Differential mRNA display, competitive polymerase chain reaction and transgenic approaches to investigate zinc-responsive genes in animals and man. In: Fischer, P.W.F., L'Abbe, M.R., Cockell, K.A. and Gibson, R.S. (eds) Proceedings of the Ninth International Symposium on Trace Elements in Man and Animals (TEMA 9). NRC Research Press. Ottawa. Canada, pp. 849–852.
12- Dalir-Naghadeh, B., and S. A. Rezaei. 2008. Assessmant of serum thyroid hormone concentrations in lambs with selenium deficiency myopathy. American Journal of Veterinary Research, 69: 659-663.
13- Dezfoulian, A. H., H. Aliarabin, M. M. Tabatabaei, P. Zamani, D. Alipour, A. A. Bahari, and A. Fadayifar. 2012. Influence of different levels and sources of copper supplementation on Performance, some blood parameters, nutrient digestibility and mineral balance in lambs. Livestock Science, 147: 9–19.
14- Droke, E. A., G. P. Gengelbach, and J. W. Spears. 1998. Influence of level and source (inorganic vs organic) of zinc supplementation on immune function in growing lambs. Asian Australan Journal of Animal Science, 11: 139–149.
15- Fadayifar, A., and H. Aliarabi. 2013. Slow-release bolus (trace mineral) for ruminants. Iranian Patent, No: 79633. (In Persian)

16- Fadayifar, A., H. Aliarabi, M. M. Tabatabaei, P. Zamani, A. A. Bahari, M. Malaki, and A. H. Dezfoulian. 2012. Improvement in lamb performance on barley based diet supplemented with zinc. Livestock Science, 144: 285-289.
17- Garg, A. K., and R. S. Vishal Mudgal. 2008. Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization and mineral profile in lambs. Animal Feed Science and Technology, 144: 82–96.
18- Hefnawy, A. E. and J. L. Tortora-Perez. 2010. The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. Small Ruminant Research, 89: 185-192.
19- Ivancicjr, J. and W. P. Weiss. 2001. Effect of dietary sulfur and selenium concentrations on selenium balance of lactating Holstein cows. Journal of Dairy Science, 84: 225–232.
20- Juniper, D. T., R. H. Phipps, A. K. Jones, and G. Bertin. 2006. Selenium supplementation of lactating dairy cows: effect on selenium concentration in blood, milk, urine and feces. Journal of Dairy Science, 89: 3544-3551.
21- Karami, M. 2008. Evaluation of feed efficiency and carcass characteristics of feedlot lambs spring Lori-Bakhtiari male and female. Proceedings of the Second Seminar on animal feed. Animal Science Research Institute. pp. 159-164. (In Persian)
22- Kendall, N. R., A. M. Mackenzie, S. B. and Telfer. 2012. The trace element and humoral immune response of lambs administered a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus. Livestock Science, 148: 81–86.
23- Kendall, N. R., D. W. Jackson, A. M. Mackenzie, D. V. Illingworth, I. M. Gill, and S. B. Telfer. 2001. The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on trace element status and semen quality of ram lambs. Animal Reproduction Science, 62: 277–283.
24- Kendall, N. R., S. McMullen, A. Green, and R. G. Rodway. 2000. The effect of zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on the trace element status of extensively grazed sheep over winter. Animal Reproduction Science, 62: 277–283.
25- Kendall, N. R., S. B. and Telfer. 2000. Induction of zinc deficiency in sheep and its correction with a bolus of soluble glass containing zinc. Veterinary Record, 146: 634–637.
26- Kennedy, D. G., P. B. Young, S. Kennedy, J. M. Scott, A. M. Molloy, D. G. Weir, and J. Price. 1995. Cobalt – Vitamin $B_{12}$ deficiency and the activity of methylmalonyl CoA mutase and methionine synthase in cattle. International Journal of Vitamin and Nutrition Research, 65: 241-247.
27- Kennedy, D. G., P. B. Young, S. J. Kennedy, M. Scott, A.M. Molloy, D.G. Weir, and J. Price. 1995. Cobalt – Vitamin $B_{12}$ deficiency and the activity of methylmalonyl CoA mutase and methionine synthase in cattle. International Journal of Vitamin and Nutrition Research, 65:241-247.
28- Khan, S. A. 1978. Interaction of copper and zinc and its influence on the metabolism of major nutrients in growing calves. PhD Thesis. Aligarh Muslim University, Aligarh.
29- Khavazy, K., M. J. Malakouti Rad, N. Saleh Rastin, and M. Afshari. 2006. Investigation of nutrient status of soils under alfalfa cultivation in Hamadan province. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 2: 1-14. (In Persian)
30- Kojouri, G. A. 2006. The status of cobalt in soil, plants and sheep in Shahrekord district, Iran. Iranian Journal of Veterinary Research, University of Shiraz. 7: 14.
31- Kojouri, G. A. and A. Shirazi. 2007. Serum concentration of Cu, Zn, Fe, Mo, and Co in newborn lambs folloing systemic administration of Vitamin E and selenium to the pregnant ewes. Small Ruminant Research, 70:136-139.
32- Kolmer, J.A., E.H. Spandling, and H.W. Robinson. 1951. Approved Laboratory Techniques. Appleton Century Craft, New York: 1090–1091.
33- Kumar M., A. K. Garg, R. S. Dass, V. K. Chaturvedi, V. Mudgal, and V. P. Varshney. 2009. Selenium supplementation influences growth performance, antioxidant status and immune response in lambs. Animal Feed Science and Technology, 153: 77-87.
34- Kumar, M., A. K. Garg, and V. Mudgal. 2008. Effect of different levels of selenium supplementation on growth rate, nutrient utilization, blood metabolic profile, and immune response in lambs. Biological Trace Element Research,126: 44-56.
35- Malakouti Rad, M. J., N. Saleh Rastin, and M. Afshari. 2002. Forgotten of zinc deficiency within the life cycle of plants, animals and human. Publications Senate, Tehran, Iran.
36- Mandal, G. P., R. S. Dass, D. P. Isore, A. K. Garg, and G. C. Ram. 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: 1–12.
37- McDowell, L. R. 2000. Vitamin B12 . Pages 523–563 in Vitamins in Animal and Human Nutrition. Iowa State Univ. Press, Ames.
38- Miller, W. J. 1969. Absorption, tissue distribution, endogenous excretion, and homeostatic control of zinc in ruminants. The American Journal of Clinical and Nutrition, 22: 1323-1331.
39- Moeini, M. M., A. Kiani, H. Karami, and E. Mikaeili. 2011. The effect of selenium administration on the selenium, copper, iron and zinc status of pregnant heifers and their newborn calves. Journal of Agriculture Science and Techology, 13: 53-59.
40- Mohri, M., A. Ehsani, M. A. Norouzian, M. Heidarpour, and H. A. Seifi. 2011. Parenteral selenium and vitamin E

supplementation to lambs: hematology, serum biochemistry, performance, and relationship with other trace elements. Biological Trace Element Research, 139: 308-316.
41- NRC, 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants. Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. National Academy Press, Washington, DC.
42- Paglia, D., W. Valentine. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 70: 158−169.
43- Pechova, A., Misurova, L., Pavlata, L., and R. Dvorak. 2009. The Influence of Supplementation of Different Forms of Zinc in Goats on the Zinc Concentration in Blood Plasma and Milk. Biological Trace Element Research, 132: 112-121.
44- Pinto, R. E. and W. Bartley. 1969. The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. Biochemistry Journal, 112: 109–115.
45- Prasad, A. S., J. A. Halsted, and M. Nadimi. 1961. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. American Journal of Medicine, 1: 532-535.
46- Rowntree, J. E., G. M. Hill, D. R. Hawkins, J. E. Link, M. J. Rincker, G. W. Bednar, and M. J. Kreftjr. 2004. Effect of Se on selenoprotein activity and thyroid hormone metabolism in beef and dairy cows and calves. Journal of Animal Science, 82: 2995-3005.
47- SAS Institute, 2004. User's Guide. Version 9.1: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.
48- Spears, J. W. and W. P. Weiss. 2008. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. The Veterinary Journal, 176: 70–76.
49- Suttle, N. F. 2010. Mineral Nutrition of Livestock, 4th ed. CAB International. 368 Oxford. UK.
50- Tiffany, M. E., and J. W. Spears. 2005. Differential responses to dietary cobalt in finishing steers fed corn vs. barley-base diets. Journal of Animal Science, 83: 2580–2589.
51- Ullrey, D. E., M. R. Light, P. S. Brady, P. A. Whetter, J. E. Tilton, H. A. Hanneman, and W.T. Magee. 1978. Selenium supplements in salt for sheep. Journal of Animal Science, 46: 1515.
52- Wang, R., L. Kong, X. H. Zhang, Y. Z. Zhu, X. P. Narenbatu, and Z. H. Jia. 2007. Influence of dietary cobalt on performance, nutrient digestibility and plasma metabolites in lambs. Animal Feed Science and Technology, 135: 346–352.
53- Wichtel, J. J., A. L. Craigie, D. A. Freeman, H. Varela-Alvarez, and N. B. Wiiiamson. 1996. Effect of selenium and iodine supplementation on growth rate and on thyroid and somatotrophic function in dairy calves at pasture. Journal of Dairy Science, 79:1865-1872.
54- Zervas, G. 1988. Treatment of dairy sheep with soluble glass boluses containing copper, cobalt and selenium. Animal Feed Science and Technology, 19: 79-83.
55- Zervas, G., S. B. Telfer, G. Carlos, and P. H. Anderson. 1988. The Effect of Soluble-glass Boluses Containing Copper, Cobalt and Selenium on the Blood Composition of Ewes. Animal Feed Science and Technology, 21: 23-29.