نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد هفتم، شماره دوم، ۱۳۹۸
http://ejrr.gau.ac.ir
۱۷-۳۲

تأثیر منابع روی بر پروتئین میکروبی، ایمنوگلوبولین‌ها (M و A)، و فراسنجه‌های نیتروژنی خون گوساله‌های هلشتاین

مجتبی عبدالهی[۱]، *جواد رضائی[۲] و حسن فضائلی[۳]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و [۲]استادیار تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

[۳]استاد مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۰٤

چکیده

سابقه و هدف: روی در موارد زیادی مانند فعالیت میکروبی شکمبه، ایمنی و متابولیت‌های خون نقش دارد، اما اطلاعات کافی درباره تأثیر شکل‌های نانو و آلی مکمل روی بر تولید پروتئین میکروبی در شکمبه و صفات ایمنی در گوساله وجود ندارد. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر کاربرد نانواکسید روی و متیونین روی به جای اکسید روی (در سطح برابر یا دو برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی[۲]، ۲۰۰۱) بر مشتقات پورینی ادرار، پروتئین میکروبی، ایمنوگلوبولین‌ها و ترکیبات نیتروژنی خون گوساله‌ها در دوره پیش و پس از شیرگیری انجام شد.

مواد و روش‌ها: ٦۰ رأس گوساله شیرخوار هلشتاین در قالب طرح کاملاً تصادفی در یکی از شش گروه آزمایشی (۱۰ تکرار) قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: جیره حاوی ۱- اکسید روی در سطح توصیه انجمن تحقیقات ملی ، ۲- متیونین روی در سطح توصیه انجمن تحقیقات ملی ، ۳- نانواکسید روی در سطح توصیه انجمن تحقیقات ملی ، ٤- اکسید روی دو برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی ، ٥- متیونین روی دو برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی ، و ٦- نانواکسید روی دو برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی. طی سنین هفت تا ۳۰ روزگی، گوساله‌ها با شیر و کنسانتره آغازین در قالب تیمارهای بالا تغذیه شدند. از سن ۳۱ تا ۷۰ روزگی، شیر و مخلوط یونجه-کنسانتره آغازین (نسبت ۱۰ به ۹۰) در اختیار حیوانات قرار گرفت. در سن ۷۰ روزگی از شیرگیری انجام شد و در دوره پس از شیرگیری (۷۱ تا ۱۰۰ روزگی)، گوساله‌ها صرفاً با جیره‌های آزمایشی (نسبت یونجه و کنسانتره آغازین ۲۰ به ۸۰) تا حد اشتها تغذیه شدند. مقادیر مشتقات پورینی ادرار، تولید نیتروژن میکروبی، گلوبولین کل، ایمنوگلوبولین‌های M و A، پروتئین کل، آلبومین، نیتروژن اوره‌ای، کراتینین و گلوکز خون در دوره پیش و پس از شیرگیری تعیین گردید و داده‌ها در قالب آزمایش فاکتوریل (۲ × ۳) با استفاده از رویه MIXED نرم‌افزار SAS (۲۰۰۱) تجزیه شد.

یافته‌ها: مشتقات پورینی ادرار و تولید نیتروژن میکروبی در دوره‌های پیش و پس از شیرگیری تحت تأثیر جایگزینی اکسید روی با نانواکسید روی و متیونین روی قرار نگرفت. شکل شیمیایی روی تأثیر معنی‌داری بر غلظت گلوبولین کل و ایمنوگلوبولین‌های M و A خون نداشت. پروتئین کل، آلبومین، نیتروژن اوره‌ای، کراتینین و گلوکز خون بین گوساله‌های تغذیه‌شده با مکمل‌های

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

2- National Research Council (NRC)

روی معدنی، نانو یا آلی یکسان بود. به‌علاوه، افزایش غلظت روی در جیره تأثیری بر مشتقات پورینی ادرار، تولید نیتروژن میکروبی، گلوبولین کل، ایمنوگلوبولین‌های M و A، پروتئین کل، آلبومین، نیتروژن اوره‌ای، کراتینین و گلوکز خون نداشت.
نتیجه‌گیری: مصرف نانواکسید روی و متیونین روی به جای اکسید روی و همچنین افزایش سطح روی در جیره، تأثیری بر تولید پروتئین میکروبی، ایمنوگلوبولین‌های M و A، ترکیبات نیتروژنی و گلوکز خون در گوساله‌ها ندارد. بنابراین، تغذیه شکل مرسوم روی معدنی (اکسید روی) در سطح توصیه انجمن تحقیقات ملی برای تأمین نیاز گوساله‌های هلشتاین در دوره‌های پیش و پس از شیرگیری کافی است و منابع دیگر توصیه نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی: گوساله، متیونین روی، نانواکسید روی، ایمنی، پروتئین میکروبی.

مقدمه

موفقیت در پرورش صحیح گوساله را باید زمینه‌ساز و حتی مترادف با موفقیت در واحد پرورش گاو شیری دانست. گوساله در معرض بیشترین فشار و تغییرات متابولیکی قرار دارد و لازم است نیازهای تغذیه‌ای کمّی و کیفی آن با منابع مناسب و سطوح مطلوب تأمین شود. یکی از مهمترین این موارد، توجه به تأمین عناصر معدنی کم‌نیاز در جیره و به‌ویژه عنصر روی است (۳۷، ٤۲ و ٤۵). در بسیاری از مناطق ایران، غلظت روی قابل دسترس خاک معمولاً کمتر از یک میلی‌گرم در کیلوگرم است و گیاهان پرورش‌یافته در چنین خاک‌هایی دچار کمبود روی خواهند بود (۲۵). روی یکی از عناصر حیاتی در تغذیه حیوانات است، و در موارد زیادی مانند فعالیت میکروبی شکمبه، ایمنی، رشد، اشتها، بیان ژن، هورمون‌ها و آنزیم‌ها نقش دارد (۳٦ و ٤۲).

نیاز دام به روی معمولاً توسط منابع معدنی (مانند اکسید یا سولفات روی) تأمین می‌شود، اما گزارش شده که زیست‌فراهمی منابع معدنی اغلب کمتر از کمپلکس‌های آلی یا نانوذرات است (۲۳ و ٤٤). بنابراین، محققان مصرف شکل‌های آلی عناصر را پیشنهاد داده‌اند (۳، ٤۳ و ٤٤). هر چند برخی از محققان پیشنهاد کردند که جذب و زیست‌فراهمی کمپلکس‌های آلی عنصری مانند روی در مقایسه با شکل‌های معدنی بهتر است (۱، ۲۸ و ۵۰)، اما هنوز در مورد برتری کمپلکس‌های آلی نسبت به منابع معدنی اختلاف نظر وجود دارد (٤۲). برای مثال، در برخی از پژوهش‌ها، تأثیر منابع آلی و معدنی روی بر عملکرد دام تفاوتی با هم نداشته (۱٤)، اما برخی دیگر از محققان افزایش تولید را گزارش نمودند (۱۱). به‌علاوه، در برخی تحقیقات، گنجاندن کمپلکس‌های آلی روی در جیره تأثیری بر مصرف خوراک در گاو شیری (۳۸)، بره در حال رشد (۱۲) و گوساله گوشتی (۲٦) نداشته، اما برخی دیگر از پژوهش‌گران (۱٦) تأثیر مثبت مکمل آلی روی را بر مصرف خوراک نشان داده‌اند.

از سوی دیگر، امروزه ایده استفاده از نانوذرات در صنایع مختلف و تغذیه حیوانات شکل گرفته، و لازم است جنبه‌های منفی و مثبت این مواد از دیدگاه تئوری و تغذیه عملی مورد بررسی قرار گیرد و جنبه‌های مضر یا مفید آنها مشخص شود (٤٤). نانوذرات روی به دلیل اندازه بسیار کوچک، قدرت نفوذ زیادی برای ورود به پیکره میکروب‌ها و بدن حیوانات دارند و ممکن است رشد میکروبی، سیستم ایمنی و متابولیت‌های خون را تحت تأثیر قرار دهند. به‌علاوه، امروزه اغلب حیوانات در تماس با محصولات فناوری نانو (با آثار مشخص یا ناشناخته) قرار دارند، اما آثار احتمالی منفی یا مثبت این نانوملکول‌ها به حد کافی بررسی نشده است (٤۳ و ٤٤). در تحقیقات اندکی هم که در زمینه نانوذرات انجام شده، نتایج متناقض می‌باشد. در برخی مطالعات، مصرف نانو اکسید روی موجب بهبود رشد باکتری‌های شکمبه (۵) و افزایش عملکرد حیوانات شده (۲٤)، اما در

برخی دیگر از پژوهش‌ها، تأثیر منفی یا مثبت خاصی را در پی نداشته است (٤٧ و ٤٨).

نکته مهم دیگر آن است که محققان هنوز درباره کافی یا ناکافی بودن توصیه انجمن تحقیقات ملی برای میزان روی در جیره اختلاف نظر دارند و برخی از آنها سطوحی بیشتر از حد توصیه انجمن تحقیقات ملی را لازم می‌دانند (٣٥). برخی محققان نیز تغذیه عناصر در سطوحی بالاتر از توصیه انجمن تحقیقات ملی را صرفاً در شرایط ویژه مانند وجود تنش مفید دانسته‌اند (١٧).

بر اساس مطالب فوق، یافته‌های متناقضی در اثر افزودن سطوح مختلف و منابع متفاوت معدنی یا آلی روی بر عملکرد حیوانات به دست آمده، و از سوی دیگر، تأثیرات احتمالی نانوذرات روی بر دام چندان مشخص نیست. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر جایگزینی منبع معدنی روی (اکسید روی) با منابع آلی (متیونین روی) یا نانو (نانواکسید) بر مشتقات پورینی ادرار، تولید نیتروژن میکروبی، گلوبولین کل، ایمنوگلوبولین‌های M و A، پروتئین کل، آلبومین، نیتروژن اوره‌ای، کراتینین و گلوکز خون در گوساله‌های هلشتاین پیش و پس از شیرگیری اجرا شد.

مواد و روش‌ها

دام‌ها، تیمارهای آزمایشی و مدیریت تغذیه: این آزمایش در واحد گاوداری شرکت سهامی زراعی گلپایگان (اصفهان) انجام شد. تعداد ٦٠ رأس گوساله نر هلشتاین در سن یک هفتگی به شش گروه آزمایشی تقسیم، و به‌صورت جداگانه در جایگاه‌های انفرادی با بستر کلش قرار داده شدند. پژوهش با استفاده از یک آزمایش فاکتوریل ٢×٣ (جیره‌های حاوی سه نوع مکمل اکسید روی، متیونین روی و نانواکسید روی و دو سطح تغذیه برابر یا دو برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی (٨) با ١٠ تکرار اجرا گردید. جیره‌های پیش و پس از شیرگیری بر اساس توصیه‌های انجمن ملی تحقیقات (٣٦) برای سه مرحله هفت تا ٣٠ روزگی، ٣١ روزگی تا شیرگیری (٧٠ روزگی) و مرحله پس از شیرگیری (٧١ تا ١٠٠ روزگی) تنظیم شدند. تفاوت جیره‌های تغذیه‌شده به شش گروه آزمایشی صرفاً در سطح و منبع (شکل شیمیایی) مکمل روی بود. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از جیره‌های حاوی روی از منبع: ١- اکسید روی (منبع معدنی) برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی (روی= ٤١ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)، ٢- متیونین روی (منبع آلی) برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی ، ٣- نانواکسید روی (منبع نانو) برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی ، ٤- اکسید روی دو برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی (روی= ٨٤ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)، ٥- متیونین روی دو برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی ، و ٦- نانواکسید روی دو برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی (جدول ١).

جدول ۱: تیمارهای آزمایشی شامل سطوح و شکل‌های شیمیایی مختلف مکمل روی در جیره گوساله‌ها.

Table 1. The experimental treatments involving different levels and chemical forms of Zn supplement in calves diet.

سطح روی Zn level	برابر توصیه NRC* Equal to NRC recommendation*			دو برابر توصیه NRC** Twice NRC recommendation**		
شکل شیمیایی روی Zn chemical form	اکسید روی ZnO	متیونین روی Zn methionine	نانواکسید روی Nano-ZnO	اکسید روی ZnO	متیونین روی Zn methionine	نانواکسید روی Nano-ZnO

*میزان عنصر روی = ۴۱ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره؛ ** میزان عنصر روی = ۸۴ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره.

* Zn = 41 mg/kg diet DM; ** Zn = 84 mg/kg diet DM.

برای تأمین عنصر روی در سطح توصیه NRC، از اکسید روی و نانواکسید روی (حاوی ۷۹ درصد روی) به میزان ۵۱/۸ میلی‌گرم، و از متیونین روی (حاوی ۱۲ درصد روی) به میزان ۱۰۶ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک استفاده شد. همچنین، برای تأمین عنصر روی در سطح دو برابر توصیه NRC، از ۳۴۱ میلی‌گرم اکسید روی و نانواکسید روی و از ۷۰۰ میلی‌گرم متیونین روی در هر کیلوگرم استفاده شد.

تغذیه گوساله‌ها در سه مرحله (فاز) انجام شد. در مرحله اول (هفت تا ۳۰ روزگی)، گوساله‌ها با شیر کامل (به‌میزان ۱۳ درصد وزن تولد) در دو وعده صبح و عصر تغذیه شدند و علاوه بر آن، به خوراک آغازین (بدون علوفه) دسترسی آزاد داشتند. ترکیب کنسانتره آغازین در جدول ۲ ارائه شده است. در مرحله دوم (۳۱ تا ۷۰ روزگی)، تغذیه گوساله‌ها با شیر مانند مرحله اول ادامه یافت (به میزان ۱۳ درصد وزن تولد) و علاوه بر آن، حیوانات به جیره حاوی مخلوط کنسانتره آغازین و یونجه خشک مرغوب (نسبت ۹۰ به ۱۰) دسترسی آزاد داشتند.

جدول ۲: اقلام خوراکی و محتوای انرژی و پروتئین کنسانتره آغازین.

Table 2. Feed ingredients, and energy and protein contents of the starter.

Feed ingredients (% of DM)		اقلام خوراکی (درصد ماده خشک)			
1.42	Ca carbonate	کربنات کلسیم	24.56	Soybean meal	کنجاله سویا
0.33	Di-Ca phosphate	دی کلسیم فسفات	39.8	Corn	ذرت
0.2	Salt	نمک	18.5	Barley	جو
0.55	Mineral premix	مکمل معدنی	3.2	Corn gluten meal	کنجاله گلوتن ذرت
1.5	Vitamin Premix	مکمل ویتامینی	3.24	Wheat bran	سبوس گندم
0.6	Na bicarbonate	جوش شیرین	3.2	Fat	پودر چربی
1	Toxin binder	توکسین بایندر	1.9	Molasses	ملاس
Energy and protein contents		محتوای انرژی و پروتئین			
			3.14	Metabolizable energy (Mcal/kg DM)	انرژی قابل سوخت و ساز
			19.8	Crude protein (% of DM)	پروتئین خام

در روز ۷۰ پس از تولد، برنامه از شیرگیری کامل شد و در طول مرحله سوم (پس از شیرگیری؛ ۷۱ تا ۱۰۰ روزگی)، حیوانات به کنسانتره و یونجه خشک مرغوب (نسبت ۸۰ به ۲۰) دسترسی آزاد داشتند. قابل توضیح است که طی سه مرحله تغذیه‌ای، مکمل روی به میزانی در جیره گنجانده شد که مقادیر برابر و دو برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی طبق جدول ۱ رعایت شود.

برآورد تولید نیتروژن میکروبی در شکمبه: طی دو مرحله پیش از شیرگیری (٦٤ تا ٦٨ روزگی) و پس از شیرگیری (٩٤ تا ٩٨ روزگی)، نمونه ادرار به مدت پنج روز متوالی از گوساله‌ها جمع‌آوری گردید و تا زمان تجزیه شیمیایی در دمای ٢٠- درجه سیلسیوس ذخیره شد. پس از یخ‌گشایی در آزمایشگاه، غلظت مشتقات پورینی ادرار توسط روش اسپکتروفتومتری تعیین گردید. غلظت آلانتوئین از طریق تبدیل آن به فنیل هیدرازون، و قرائت میزان جذب در طول موج ٥٢٢ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت اسید اوریک پس از تجزیه آن به آلانتوئین و با استفاده از آنزیم اوریکاز (Sigma; Product No. U-9375, Germany) در طول موج ٢٩٣ نانومتر تعیین شد (٦). کل مشتقات پورینی دفع‌شده روزانه با استفاده از معادله ١ محاسبه گردید. سپس، کل مشتقات پورینی جذب‌شده با معادلات ویژه و مشتق‌گیری به دست آمد، و در نهایت تولید نیتروژن میکروبی با استفاده از معادله ٢ برآورد شد (٦).

معادله ١

$$Y = 0.84 \times X + (0.150 \times W^{0.75} \times \exp^{-0.25X})$$

در معادله ١، Y مشتقات پورینی دفع‌شده، ٠/٨٤ ضریب بازیافت مشتقات پورینی جذب‌شده در ادرار، X مشتقات پورینی جذب‌شده، W وزن حیوان و exp عدد ثابت است.

معادله ٢

$$MNS = (X \times 70) \div (0.116 \times 0.83 \times 1000) = 0.727 \times X$$

در معادله ٢، MNS تولید نیتروژن میکروبی (microbial N synthesis; g/d)، X مشتقات پورینی دفع‌شده (mmol/d)، ٠/٨٣ معادل قابلیت هضم پورین‌های میکروبی، ٧٠ محتوای نیتروژن پورین‌ها (mg N/mmol)، و ٠/١١٦ (یا 11.6:100) نسبت نیتروژن پورینی به کل نیتروژن در مخلوط میکروب‌های شکمبه است (٦).

تعیین ایمنوگلوبولین‌ها، فراسنجه‌های نیتروژنی و گلوکز خون: خون‌گیری از گوساله‌ها سه ساعت پس از تغذیه شیر و خوراکدهی صبحگاهی در روزهای ٢٩، ٦٦ (پیش از شیرگیری) و ١٠٠ روزگی (پس از شیرگیری) انجام شد. نمونه‌ها در ١٥٠٠ دور در دقیقه (به مدت ١٥ دقیقه) سانتریفیوژ گردیدند و سرم در دمای ٢٠- درجه سیلسیوس ذخیره شد. سپس، غلظت ایمنوگلوبولین‌های M و A خون با استفاده از کیت‌های ویژه الایزا (Cusabio Technology LLC; Wuhan, China) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده تعیین گردید. همچنین، غلظت پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین کل، نیتروژن اوره‌ای، کراتینین و گلوکز با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون (تهران)، و بر اساس روش‌های آنزیمی و نورسنجی توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های حاصل از پژوهش حاضر در قالب شش تیمار با استفاده از یک آزمایش فاکتوریل دو عاملی (٢ × ٣) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی تجزیه شد. منبع یا شکل شیمیایی روی (سه شکل؛ اکسید روی، متیونین روی و نانواکسید روی) به عنوان عامل اول، و سطح روی در جیره (دو سطح؛ برابر یا دو برابر توصیه NRC) به عنوان عامل دوم در نظر گرفته شدند. داده‌ها توسط رویه مختلط (MIXED) نرم‌افزار آماری SAS (٣٩)، و طبق مدل آماری $Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk} + e_{ijkl}$ تجزیه گردید. در مدل مذکور، Y_{ijkl} مشاهده مربوط به تیمار ij (سطح i از عامل A و سطح j از عامل B)، μ میانگین، A_i اثر عامل اول (شکل شیمیایی روی)، B_j اثر عامل دوم (سطح روی در جیره)، $(AB)_{ij}$ اثر متقابل عامل اول و عامل دوم، e_{ijk} خطای آزمایشی و e_{ijkl} خطای نمونه‌برداری بود.

نتایج و بحث

گلوبولین کل و ایمنوگلوبولین‌های A و M: تیمارهای آزمایشی تأثیری بر غلظت کل گلوبولین خون گوساله‌ها در تیمارهای مختلف نداشت (جدول ۳)؛ به عبارت دیگر، استفاده از منابع آلی و نانوذرات روی به جای اکسید روی، و همچنین افزایش دادن غلظت روی در جیره به بالاتر از توصیه انجمن تحقیقات ملی بهبودی در فراسنجه مذکور ایجاد نخواهد کرد. طبق نظر برخی از محققان، غلظت یکسان گلوبولین خون در بین دام‌ها می‌تواند شاخصی از وضعیت نسبتاً مشابه ایمنی در آنها باشد (۳۷)، زیرا تغییرات در غلظت گلوبولین خون ممکن است ناشی از تحریک سیستم ایمنی، بیماری‌های التهابی، شوک و سایر موارد باشد (۳۰) و روی نقش مهمی در کنترل سیستم ایمنی دارد (۴۲). از سوی دیگر، همان طوری که در جدول ۲ دیده می‌شود، غلظت ایمنوگلوبولین‌های M و A در سرم خون گوساله‌ها در دوره پیش و پس از شیرگیری نیز تحت تأثیر مصرف نانواکسید یا متیونین روی در سطح برابر یا دو برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد نانوذرات روی دارای تأثیر احتمالی منفی بر کبد و تولید گلوبولین‌ها در بدن گوساله‌ها نیست. همچنین استفاده از متیونین روی، تغییر در تولید گلوبولین‌ها را به همراه ندارد.

جدول ۳: تأثیر سطح و شکل شیمیایی روی بر غلظت گلوبولین کل و ایمنوگلوبولین‌های M و A در سرم خون (g/L) گوساله‌ها.

Table 3. Effect of level and chemical form of Zn on the concentration of total globulin and immunoglobulins M and A (g/L) in the blood serum of calves.

P-value			SEM	دو برابر NRC Twice NRC			برابر NRC Equal to NRC			Zn level
ZnF×ZnL	ZnF	ZnL		NZnO	ZnMet	ZnO	NZnO	ZnMet	ZnO	Zn chemical form
								29 days of age		۲۹ روزگی
0.80	0.75	0.88	1.45	33	30.1	33.6	30.9	32.4	31.2	Globulin
0.52	0.31	0.63	0.211	1.71	2	2.15	1.76	2.08	1.81	IgM
0.88	0.96	0.54	0.072	0.623	0.608	0.647	0.643	0.679	0.651	IgA
								66 days of age		٦٦ روزگی
0.84	0.28	0.63	1.48	31.9	33.7	33.8	28.7	29.7	31.8	Globulin
0.51	0.59	0.73	0.245	2.57	2.85	2.95	2.80	2.51	2.86	IgM
0.81	0.93	0.88	0.140	1.09	1.14	1.08	1.10	1.07	1.21	IgA
								100 days of age		۱۰۰ روزگی
0.65	0.55	0.76	1.27	31	31.1	30.1	33.1	30	30.4	Globulin
0.75	0.89	0.22	0.135	2.58	2.60	2.74	2.78	2.79	2.75	IgM
0.67	0.68	0.98	0.097	0.980	0.877	0.943	0.892	0.911	1	IgA

ZnMet، متیونین روی؛ NZnO، نانواکسید روی؛ IgM، ایمنوگلوبولین M؛ IgA، ایمنوگلوبولین A؛ SEM، اشتباه استاندارد میانگین‌ها؛ ZnL، اثر سطح روی؛ ZnF، اثر شکل شیمیایی روی.

محققان گزارش کردند که عنصر روی نقش مهمی در ساخت ایمنوگلوبولین‌ها دارد (۳۵). علی‌رغم نقش مذکور، اما تأثیر شکل شیمیایی مکمل روی بر ایمنوگلوبولین‌های خون منجر به نتایج متناقضی شده است. موافق با نتایج مطالعه حاضر، استفاده از متیونین روی در بره‌های در حال رشد تأثیر معنی‌داری بر غلظت ایمنوگلوبولینG و ایمنوگلوبولین M سرم خون نداشته است (۱۰). همچنین در تحقیق دیگری، غلظت

ایمنوگلوبولین G در بره تحت تأثیر مصرف مکمل روی در جیره نبود (۹). از سوی دیگر، برخی آزمایش‌ها بهبود ایمنی هومورال را در پاسخ به متیونین روی (۳٤)، ترکیبات اسید آمینه-روی (۱۸) و پروتئینات روی (۲۷ و ۳۳) در حیوانات مختلف گزارش کردند. برخی محققان دیگر نیز مشاهده نمودند که مکمل آلی روی باعث افزایش سطح ایمنوگلوبولین‌های آغوز و سرم خون نوزاد می‌شود (۲۰). به‌علاوه، در آزمایشی نشان داده شده که غلظت گاماگلوبولین‌ها، ایمنوگلوبولین G و تیتر آنتی‌بادی در خوک‌های گروه نانواکسید روی و روی آلی در مقایسه با گروه اکسید روی افزایش یافت (۲۳). محققان دیگری گزارش کردند که بهبود ایمنی هومورال و سلولی به وسیله جیره مکمل‌شده با متیونین روی، به دلیل زیست‌فراهمی بیشتر این منبع و در نتیجه ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی بالاتر در بدن طیور (۳٤) بوده است. علت مشاهده این نتایج متناقض بین تحقیقات مختلف شاید به سطح روی در جیره پایه، میزان دز مصرفی مکمل روی، شرایط فیزیولوژیکی حیوان، وضعیت تغذیه حیوان، نوع حیوان، وجود کمبودهای تغذیه‌ای قبلی و دیگر عوامل مرتبط باشد (٤۲). به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر، تغذیه روی از منبع رایج اکسید روی در سطح توصیه انجمن تحقیقات ملی برای تأمین نیاز گوساله‌ها کافی بوده، و لزومی برای افزودن مکمل‌های گران‌قیمت آلی یا افزایش دادن سطح روی در جیره به بالاتر از توصیه انجمن تحقیقات ملی نمی‌باشد.

تولید نیتروژن میکروبی در شکمبه: تولید پروتئین میکروبی به میزان انرژی و نیتروژن قابل دسترس در شکمبه بستگی دارد و عوامل افزایش‌دهنده تولید پروتئین میکروبی در شکمبه باعث بهبود عملکرد دام می‌شوند (۷ و ٤٦). همان‌طوری که در جدول ٤ مشاهده می‌شود، گنجاندن نانواکسید و متیونین روی به جای اکسید روی در جیره و همچنین، افزایش سطح روی به دو برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی، تأثیر معنی‌داری بر مشتقات پورینی ادرار و تولید نیتروژن میکروبی در دوره‌های پیش و پس از شیرگیری نداشت ($P>۰/۰۵$).

جدول ٤: تأثیر سطح و شکل شیمیایی روی بر کل مشتقات پورینی (TPD) ادرار و تولید نیتروژن میکروبی در گوساله‌ها.

Table 4. Effect of level and chemical form of Zn on urinary total purine derivatives (TPD) and microbial N synthesis in calves.

P-value			SEM	دو برابر NRC Twice NRC			برابر NRC Equal to NRC			Zn level
ZnF×ZnL	ZnF	ZnL		NZnO	ZnMet	ZnO	NZnO	ZnMet	ZnO	Zn chemical form
								Days 64-68		روز ٦٤ تا ٦٨
0.76	0.88	0.85	0.27	6.65	6.21	6.43	6.75	6.86	6.29	Allantoin
0.93	0.90	0.93	0.11	1.40	1.54	1.43	1.43	1.24	1.46	Uric acid
0.90	0.82	0.80	3.65	27.4	26.8	27.0	30.2	26.4	27.0	ATPD
0.97	0.84	0.86	3.18	34.1	33.1	33.4	35.4	32.7	33.8	ETPD
0.90	0.82	0.80	2.65	19.9	19.5	19.6	21.9	19.2	19.6	MNS
								Days 94-98		روز ٩٤ تا ٩٨
0.95	0.85	0.90	0.34	9.32	9.80	10.2	9.41	9.55	10.0	Allantoin
0.82	0.88	0.92	0.18	2.85	2.65	2.96	2.70	2.83	2.61	Uric acid
0.97	0.97	0.94	5.59	68.9	73.5	71.6	69.6	69.5	72.8	ATPD
0.98	0.96	0.88	4.20	71.6	75.0	73.7	70.9	71.7	74.1	ETPD
0.97	0.94	0.97	1.43	50.1	53.4	52.1	50.6	50.5	52.9	MNS

ZnMet، متیونین روی؛ NZnO، نانواکسید روی؛ Allantoin، آلانتوئین (mmol/L)؛ Uric acid، اسید اوریک (mmol/L)؛ ATPD، کل مشتقات پورینی جذب‌شده (mmol/d)؛ ETPD، کل مشتقات پورینی دفع‌شده (mmol/d)؛ MNS، تولید نیتروژن میکروبی در شکمبه (g/d)؛ SEM، اشتباه استاندارد میانگین‌ها؛ ZnL، اثر سطح روی؛ ZnF، اثر شکل شیمیایی روی.

تحقیقات در مورد تأثیر نانوذرات بر تولید پروتئین میکروبی در شکمبه بسیار محدود است. به هر حال بر خلاف نتایج این پژوهش، برخی محققان نشان دادند که نانواکسید روی موجب افزایش رشد میکروب‌های شکمبه و تولید پروتئین میکروبی شده است (۵۱). از آن جایی که در پژوهش حاضر، ترکیب جیره پایه و میزان کل مصرف ماده خشک در تمامی تیمارها یکسان بود، بنابراین میزان رشد و فعالیت میکروبی شکمبه تحت تأثیر منبع و سطح مکمل روی قرار نگرفت.

جدول ۵: تأثیر سطح و شکل شیمیایی روی بر فراسنجه‌های نیتروژنی و گلوکز خون در گوساله‌ها.

Table 5. Effect of level and chemical form of Zn on the blood N compounds and glucose concentrations in calves.

P-value			SEM	دو برابر NRC Twice NRC			برابر NRC Equal to NRC			Zn level
ZnF×ZnL	ZnF	ZnL		NZnO	ZnMet	ZnO	NZnO	ZnMet	ZnO	Zn chemical form
										Total protein (g/dL)
0.72	0.89	0.89	0.440	6.70	6.49	6.95	6.50	6.82	6.60	۲۹ روزگی 29 d of age
0.81	0.59	0.10	0.222	6.96	7.02	7.00	6.73	6.79	6.90	٦٦ روزگی 66 d of age
0.45	0.76	0.80	0.23	6.66	6.85	6.57	7.00	6.62	6.77	۱۰۰ روزگی 100 d of age
										Albumin(g/dL)
0.86	0.69	0.92	0.179	3.42	3.48	3.59	3.41	3.58	3.48	۲۹ روزگی 29 d of age
0.97	0.55	0.31	0.176	3.77	3.65	3.62	3.85	3.82	3.72	٦٦ روزگی 66 d of age
0.55	0.92	0.48	0.153	3.56	3.74	3.56	3.69	3.62	3.76	۱۰۰ روزگی 100 d of age
										Urea-N (mg/dL)
0.79	0.91	0.81	3.42	15.3	15.0	16.2	15.1	17.3	14.8	۲۹ روزگی 29 d of age
0.72	0.64	0.66	2.43	14.7	13.0	12.5	14.9	12.3	15.7	٦٦ روزگی 66 d of age
0.81	0.66	0.67	2.50	15.6	13.1	15.8	12.9	13.5	15.3	۱۰۰ روزگی 100 d of age
										Creatinine (mg/dL)
0.98	0.39	0.69	0.153	1.24	1.02	1.25	1.15	1.00	1.20	۲۹ روزگی 29 d of age
0.68	0.87	0.75	0.093	0.716	0.818	0.734	0.749	0.724	0.731	٦٦ روزگی 66 d of age
0.67	0.46	0.15	0.157	1.12	1.42	1.38	1.09	1.16	1.11	۱۰۰ روزگی 100 d of age
										Glucose (mg/dL)
0.55	0.98	0.76	6.23	88.1	83.4	89.3	82.3	89.3	83.7	۲۹ روزگی 29 d of age
0.55	0.98	0.90	7.83	82.0	75.0	79.2	76.2	81.9	75.2	٦٦ روزگی 66 d of age
0.87	0.93	0.69	7.80	77.8	78.5	77.2	78.9	72.3	75.5	۱۰۰ روزگی 100 d of age

ZnMet، متیونین روی؛ NZnO، نانواکسید روی؛ SEM، اشتباه استاندارد میانگین‌ها؛ ZnL، اثر سطح روی؛ ZnF، اثر شکل شیمیایی روی.

همچنین، نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که تعادل و هم‌زمانی بین منابع انرژی و نیتروژن قابل تخمیر در شکمبه که در فعالیت مناسب میکروبی اهمیت دارد (۱۹)، با مصرف شکل‌های شیمیایی مختلف روی تغییر نکرده است. به عبارت دیگر، شکل نانو یا کمپلکس آلی روی و سطح زیاد این عنصر در جیره تأثیری بر سوخت و ساز انرژی و نیتروژن در شکمبه نداشته، و فعالیت و تولید توده میکروبی یکسان بوده است.

فراسنجه‌های نیتروژنی و گلوکز خون: غلظت متابولیت‌های خون شاخصی از بسنده بودن تأمین مواد مغذی در بدن است که به وضعیت تغذیه‌ای حیوان در یک زمان خاص اشاره دارد (۳۷). بر اساس نتایج جدول ۵، شکل شیمیایی و سطوح مختلف مکمل روی در جیره گوساله‌های هلشتاین تأثیر معنی‌داری بر غلظت پروتئین کل، آلبومین، نیتروژن اوره‌ای و کراتینین خون در مراحل پیش و پس از شیرگیری نداشت ($P>0/05$).

پروتئین کل: غلظت پروتئین کل سرم یکی از شاخص‌های وضعیت پروتئین در دام است (۳۷). در پژوهش حاضر، عدم تأثیر نانواکسید و متیونین روی در سطح برابر یا بیشتر از توصیه NRC بر شاخص مذکور می‌تواند به تولید پروتئین میکروبی مشابه در شکمبه گوساله‌ها در تیمارهای مختلف (جدول ۲) مربوط باشد؛ زیرا بین تولید پروتئین میکروبی در شکمبه با پروتئین کل خون رابطه مستقیم وجود دارد (۲۸ و ۳٦). همچنین، این نتیجه نشان می‌دهد که شکل شیمیایی روی تأثیری بر فعالیت کبد در تولید پروتئین نداشته، زیرا کبد اندام اصلی ساخت پروتئین‌های خون در بدن است (۳۷). طی برخی تحقیقات مشخص شده که پروتئین کل شاخصی از قابلیت دسترسی بدن به پروتئین و اسیدهای آمینه است و کاهش آن ممکن است در شرایط کمبود پروتئین جیره یا کاهش جذب پروتئین رخ دهد که این مسأله باعث ضعف سیستم ایمنی هومورال و سلولی، و افزایش احتمال بیماری‌ها خواهد شد (۳۰ و ۳۷). در پژوهش حاضر، غلظت یکسان پروتئین کل سرم در تیمارهای آزمایشی نشان می‌دهد که منابع مختلف روی، تغییری در سوخت و ساز پروتئین در گوساله‌ها ایجاد نکرده‌اند و همین موضوع موجب شده که غلظت ایمنوگلوبولین‌ها نیز بدون تغییر بماند. از سوی دیگر، روی بر فعالیت هورمون رشد مؤثر است (٤۲ و ٤۵) و گزارش شده که تغییرات در برخی هورمون‌ها مانند هورمون رشد می‌تواند غلظت پروتئین‌های سرم را دستخوش تغییر نماید (۳۰). بر این اساس، اطلاعات تحقیق ما نشان داد که نوع مکمل روی (متیونین روی و نانواکسید روی در مقایسه با اکسید روی) و سطح مصرف روی در جیره تأثیری بر فعالیت هورمون مذکور نداشته است.

پژوهش‌گران دیگری نیز نشان دادند که جایگزینی سولفات روی با منابع آلی روی در جیره گاوهای هلشتاین تأثیری بر پروتئین کل سرم خون ندارد (۳۸ و ٤۱). اما در برخی تحقیقات دیگر، افزایش سطح روی در جیره بز (۲۹) و گوساله (۳۱) موجب افزایش سطح پروتئین کل در خون شد. در مطالعه دیگری نیز مشخص شده که افزودن اکسید روی به جیره گوسفندان مبتلا به کمبود روی سبب افزایش پروتئین کل سرم خون می‌شود (۱۵). این نتایج متناقض ممکن است به عواملی مانند گونه دام، سطح روی در جیره پایه، وضعیت کمبود یا کفایت روی در جیره شاهد، پتانسیل تولید دام، محتوای عناصر معدنی یا قابلیت دسترسی آنها در مناطق مختلف و همچنین فصل اجرای آزمایش مربوط باشد (۳۵، ٤۲ و ٤۵).

آلبومین: شکل شیمیایی و سطح روی در جیره تأثیری بر غلظت آلبومین خون گوساله‌ها نداشت. مطالعاتی ارتباط بین روی و آلبومین سرم خون را گزارش کرده‌اند (۲۲). عدم تغییر آلبومین در بین تیمارهای

آزمایشی در پژوهش حاضر بیانگر عملکرد طبیعی کبد و سلامت تمامی گوساله‌های آزمایشی است، زیرا کبد اندام اصلی تولید آلبومین می‌باشد و عدم تغییر آن می‌تواند نشانه‌ای از سلامت حیوان باشد (۳۷). آلبومین مانند پروتئین کل شاخصی از قابلیت دسترسی بدن به پروتئین و اسیدهای آمینه است و تغییرات آن می‌تواند در زمان ناهنجاری‌های سیستم ایمنی مانند شریط التهاب مشاهده شود (۳۰). با توجه به نقش مهمی که روی در ثبات و تقویت سیستم ایمنی بدن دارد (٤۲)، به نظر می‌رسد منابع و سطوح مختلف روی در تحقیق حاضر از این نظر رفتار یکسانی داشته‌اند و استفاده از شکل رایج اکسید روی در حد توصیه انجمن تحقیقات ملی کافی بوده، و نیازی به منابع اضافی روی نمی‌باشد. موافق با نتایج تحقیق حاضر، در سایر مطالعات نیز غلظت آلبومین خون در گاوهای هلشتاین (۳۸ و ٤۱) و گوساله‌های از شیر گرفته‌شده (۲۱) تحت تأثیر مصرف مکمل روی قرار نگرفته است. به هر حال در یک پژوهش، افزودن اکسید روی به جیره گوسفندان مبتلا به کمبود روی سبب افزایش آلبومین سرم شد (۱۵).

نیتروژن اوره‌ای و کراتینین: غلظت نیتروژن اوره‌ای خون نتیجه توازن بین تولید اوره در کبد و خروج آن از ادرار است (۳۰، ۳۷ و ٤۵)، و عدم تفاوت در غلظت اوره خون حیوانات آزمایش حاضر نشان می‌دهد که تولید و دفع اوره در گوساله‌ها تحت تأثیر شکل شیمیایی و سطح روی قرار نگرفته است. به‌علاوه، اوره خون در گوساله نشخوارکننده تحت تأثیر جذب آمونیاک از شکمبه به داخل خون و بازچرخ شکمبه‌ای آن نیز قرار دارد (۳۲)، که به نظر می‌رسد این موارد نیز بین تیمارهای آزمایشی حاضر تفاوتی نداشته‌اند. این نتایج با عدم تغییر در تولید پروتئین میکروبی در شکمبه (جدول ۲) نیز مطابقت دارد. در برخی تحقیقات گزارش شده که شکل شیمیایی و سطح مصرف روی در جیره، موجب کاهش تجزیه‌پذیری منابع پروتئین و میزان آمونیاک در شکمبه می‌شود (٤۰)، اما محققان دیگر نشان داده‌اند که عنصر مذکور تأثیری بر آمونیاک شکمبه (پیش‌ساز اوره خون) ندارد (٤۸).

گلوکز: روی دارای نقشی مهم در فعالیت انسولین و کاهش گلوکز خون است که این امر به دلیل نقش این عنصر در اکسیداسیون گلوکز، و برداشت گلوکز توسط سلول‌های بدن می‌باشد (۱۳). همچنین، گزارش شده که نانوذرات روی موجب کاهش قند خون، افزایش سطح انسولین و بیان ژن آن می‌شود (۲). در پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد استفاده از نانواکسید روی و متیونین روی به جای اکسید روی و افزایش سطح مصرف روی در جیره، تأثیری بر سوخت و ساز گلوکز و ژن‌ها و هورمون‌های مربوط به آن در گوساله نداشته است. از سوی دیگر، عدم تأثیر شکل و سطح روی بر غلظت گلوگز خون گوساله‌ها در مرحله نشخوارکنندگی، در آزمایش حاضر، ممکن است به وجود نسبت‌های مولی مشابه پروپیونات (پیش‌ساز اصلی گلوکز) در شکمبه حیوانات مربوط باشد (۲۸ و ٤۵).

در مقایسه با پژوهش حاضر، برخی دیگر از محققان مشاهده کردند که استفاده از نانواکسید روی به جای اکسید روی تأثیری بر غلظت گلوکز و سایر فراسنجه‌های خون در سنین مختلف نداشت؛ بجز غلظت روی پلاسما در روز ۳۵ آزمایش (٤۹). در مطالعه دیگری در گوساله‌های نوزاد مشخص شده که غلظت گلوکز پلاسما در هفته ششم در گروه شاهد (بدون مکمل روی) نسبت به گروه دریافت‌کننده ۵۰ پی‌پی‌ام سولفات روی بیشتر بود، اما تفاوتی با گروه دریافت‌کننده ۱۰۰ پی‌پی‌ام سولفات روی نداشت، و بنابراین محققان پیشنهاد نمودند که اثر روی بر غلظت گلوکز خون شاید به سطح روی در جیره وابسته باشد

(٤). در پژوهش دیگری، مصرف ۵۰۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم ماده خشک جیره از منابع سولفات روی یا متیونین روی در گاوهای هلشتاین تغییری در گلوکز سرم خون ایجاد نکرده است (٤١).

نتیجه‌گیری کلی

مصرف نانواکسید روی و متیونین روی به جای اکسید روی و همچنین افزایش سطح روی در جیره (به شکل معدنی، نانو یا آلی)، تأثیری بر تولید پروتئین میکروبی، ایمنوگلوبولین‌های M و A، ترکیبات نیتروژنی و گلوکز خون گوساله‌ها ندارد. بنابراین، تغذیه شکل رایج روی معدنی (یعنی اکسید روی) در سطح برابر توصیه انجمن تحقیقات ملی برای تأمین احتیاجات گوساله‌های هلشتاین در دوره‌های پیش و پس از شیرگیری کافی است و نیازی به استفاده از روی اضافی از سایر منابع نمی‌باشد.

منابع

1.Aliarabi, H., Fadayifar, A., Tabatabaei, M.M., Zamani, P., Bahari, A., Farahavar, A., and Dezfoulian, A.H. 2015. Effect of zinc source on hematological, metabolic parameters and mineral balance in lambs. Biological Trace Element Research. 168(1): 82-90.

2.Alkaladi, A., Abdelazim, A.M., and Afifi, M. 2014. Antidiabetic activity of zinc oxide and silver nanoparticles on streptozotocin-induced diabetic rats. International Journal of Molecular Sciences. 15(2): 2015-2023.

3.Ao, T., Pierce, J.L., Power, R., Pescatore, A.J., Cantor, A.H., Dawson, K.A., and Ford, M.J. 2009. Effect of different forms of zinc and copper on the performance and tissue mineral content of chicks. Journal of Poultry Science. 88: 2171-2175.

4.Azizzadeh, M., Mohri, M., and Seifi, H.A. 2005. Effect of oral zinc supplementation on hematology, serum biochemistry, performance, and health in neonatal dairy calves. Comparative Clinical Pathology. 14: 67-71.

5.Chen, J., Wang, W., and Wang, Z. 2011. Effect of nano-zinc oxide supplementation on rumen fermentation *in vitro*. Chinese Journal of Animal Nutrition. 8: 023.

6.Chen, X.B., and Gomes, J.M. 1995. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives–an overview of the technical details. Rowett Research Institute, Bucks-burn, Aberdeen, UK.

7.Cole, N.A., and Todd, R.W. 2008. Opportunities to enhance performance and efficiency through nutrient synchrony in concentrate-fed ruminants. Journal of Animal Science. 86: E318-E333 E. Suppl.

8.Cope, C.M., Mackenzie, A.M., Wilde, D. and Sinclair, L.A. 2009. Effects of level and form of dietary zinc on dairy cow performance and health. Journal of Dairy Science. 92: 2128-2135.

9.Droke, E.A., and Spears, J.W. 1993. *In vitro* and *in vivo* immunological measurements in growing lambs fed diets deficient, marginal or adequate in zinc. Journal of Nutritional Immunology. 2(1): 71-90.

10.Droke, E.A., Gengelbach, G.P., and Spears, J.W. 1998. Influence of level and source (inorganic vs. organic) of zinc supplementation on immune function in growing lambs. Asian-Australas. Journal of Animal Science. 11: 139-144.

11.El-Nour Hayat, H.M., Abdel-Rahman Howida, M.A., and El-Wakeel Safaa, A. 2010. Effect of zinc methionine on reproductive performance, kids performance, mineral profile and milk quality in early lactation in Baladi goats. World Applied Sciences Journal. 9: 275-282.

12.Fadayifar, A., Aliarabi, H., Tabatabaei, M.M., Bahari, A., Malecki, M., and Dezfoulian, A.H. 2012. Improvement in

lamb performance on barley based diet supplemented with zinc. Livestock Science. 144: 285-289.
13. Farzami, B., Golestani, A., and Ajami Khiavi, I. 2004. Study of the effect of Zn^{2+}, W^{6+} and V^{5+} on insulin secretion and glukokinase activation of pancreatic islets obtained from normal and diabetic rats. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism. 3(2): 97-105.
14. Formigoni, A., Fustini, M., Archetti, L., Emanuele, S., Charles Sniffen, C., and Biagia, G. 2011. Effects of an organic source of copper, manganese and zinc on dairy cattle productive performance, health status and fertility. Journal of Animal Feed Science and Technology. 164: 191-198.
15. Fouda, T.A., Youssef, M.A., and El-Deeb, W.M. 2011. Correlation between zinc deficiency and immune status of sheep. Veterinary Research. 4: 50-55.
16. Garg, A.K., Mudgal, V., and Dass, R.S. 2008. Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization and mineral profile in lambs. Journal of Animal Feed Science and Technology. 144: 82-96.
17. Gressley, T.F. 2009. Zinc, copper, manganese, and selenium in dairy cattle rations. P 65–71. In: N.G. Zimmermann (eds), Proceedings of 7th annual mid-atlantic nutrition conference, Univercity of Maryland, College Park, Maryland.
18. Hudson, B.P., Dozier, W.A., Wilson, J.L., Sander, J.E., and Ward, T.L. 2004. Reproductive performance and immune status of caged broiler breeder hens provided diets supplemented with either inorganic or organic sources of zinc from hatching to 65 wk of age. Journal of Applied Poultry Research. 13: 349-359.
19. Kaur, R., Garcia, S.C., Fulkerson, W.J., and Barchia, I.M. 2010. Utilisation of forage rape (*Brassica napus*) and Persian clover (*Trifolium resupinatum*) diets by sheep: effects on whole tract digestibility and rumen parameters. Animal Production Science. 50: 59-67
20. Kinal, S., Korniewicz, A., Jamroz, D., Zieminski, R., and Slupczynska, M. 2005. Dietary effects of zinc, copper and manganese chelates and sulphates on dairy cows. Journal of Food, Agriculture and Environment. 3(1): 168-172.
21. Kincaid, R.L., Chew, B.P., and Cronrath, J.D. 1997. Zinc oxide and amino acids as sources of dietary zinc for calves: Effects on uptake and immunity. Journal of Dairy Science. 80: 1381-1388.
22. Koch, J., Neal, E.A., Schlott, M.J., Garcia-Shelton, Y., Chan, M.F., Weaver, K.E., and Cello, J.P. 1996. Serum zinc and protein levels: lack of a correlation in hospitalized with aids. Nutrition. 12: 511-514.
23. Li, M.Z., Huang, J.T., Tsai, Y.H., Mao, S.Y., Fu, C.M., and Lien, T.F. 2016. Nanosize of zinc oxide and the effects on zinc digestibility, growth performances, immune response and serum parameters of weanling piglets. Journal of Animal Science. 87(11): 1379-1385.
24. Lina, T., Jianyang, J., Fenghua, Z., Huiying, R., and Wenli, L. 2009. Effect of Nano-zinc oxide on the production and dressing performance of broiler. Chinese Agricultural Science Bulletin. 2: 1-5 (Category Index: S831).
25. Malakouti, M.J. 2007. Zinc is a neglected element in the life cycle of plants. Middle Eastern and Russian Journal of Plant Science and Biotechnology. 1(1): 1-12.
26. Mandal, G.P., Dass, R.S., Isore, D.P., Garg, A.K., and 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. Journal of Animal Feed Science and Technology. 138: 1-12.
27. Mandal, G.P., Roy A., Samanta, I., and Biswas, P. 2011. Influence of dietary zinc and its sources on growth, body zinc deposition and immunity in broiler chicks. Indian Journal of Animal Nutrition. 28(4): 432-436.
28. McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A., and Wilkinson, R.G. 2011. Animal nutrition. 7th ed. Prentice Hall, Essex. 692 Pp.

29.Mohamed, A.A. 2001. Effect of dietary zinc supplementation on performance and blood characteristics of growing Nubian kids. MSc. Thesis, University of Khartoum, Sudan.
30.Mojabi, A. 2011. Veterinary clinical biochemistry. 2nd ed. Noorbakhsh Publishing, Tehran. 511 Pp. (In Persian)
31.Mousa, Kh.M.M., and EL-Sheikh, S.M. 2004. Effect of different levels of zinc supplementation on utilization of non-protein nitrogen and production performance of buffalo-calves. Journal of Agricultural Science (Mansoura Univercity). 29(7): 3779-3793.
32.Mukhtar, N., Sarwar, M., Nisa, M.U., and Sheikh, M.A. 2010. Growth response of growing lambs fed on concentrate with or without ionophores and probiotics. International Journal of Agriculture and Biology. 12: 734-738.
33.Nagalakshmi, D., Rao, K.S., Kumari, G.A., Sridhar, K., and Satyanarayana, M. 2016. Comparative evaluation of organic zinc supplementation as proteinate with inorganic zinc in buffalo heifers on health and immunity. Indian Journal of Animal Science. 86(3): 322-328.
34.Nassiri Moghaddam, H., and Jahanian, R. 2009. Immunological responses of broiler chicks can be modulated by dietary supplementation of zinc-methionine in place of inorganic zinc sources. Asian-Australasian Journal of Animal Science. 22: 396-403.
35.Nayeri, A., Upah, N.C., Sucu, E., Sanz-Fernandez, M.V., DeFrain, J.M., Gorden, P.J., and Baumgard, L.H. 2014. Effect of the ratio of zinc amino acid complex to zinc sulfate on the performance of Holstein cows. Journal of Dairy Science. 97(7): 4392-4404.
36.NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC. 293 p.
37.Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C., and Hinchliffe, K.W. 2007. Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, goats and horses. 10th ed. Saunders, W.B. Ltd., London, UK. 2156 Pp.
38.Roshanzamir, H. 2016. Effects of organic or inorganic sources of Mn, Zn and Cu, equal to or higher than NRC guideline, on performance, health and fertility of dairy cows. MSc Thesis in Animal Nutrition. Tarbiat Modares University. Tehran. (In persion)
39.SAS. 2001. Statistical analysis system. 8.2 user's guide, SAS Institute, Cary, North Carolina.
40.Shakweer, I.M.E., EL-Mekass, A.A.M., and EL-Nahas, H.M. 2006. Effect of supplemental zinc methionine concentrations on digestibility, feed efficiency and some ruminal and blood parameters and performance of Friesian calves. Journal of Agricultural Science (Mansoura University). 31(8): 4935-4935.
41.Sobhanirad, S., and Naserian, A.A. 2012. Effects of high dietary zinc concentration and zinc sources on hematology and biochemistry of blood serum in Holstein dairy cows. Journal of Animal Feed Science and Technology. 177: 242-246.
42.Suttle, N.F. 2010. The mineral nutrition of livestock. 4rd ed. CABI Publishing, New York. 579 Pp.
43.Swain, P.S., Rajendran, D., Rao, S.B.N., and Dominic, G. 2015. Preparation and effects of nano mineral particle feeding in livestock: A review: Veterinary World. 8(7): 888-891.
44.Swain, P.S., Rao, S.B.N., Rajendran, D., Dominic, G., and Selvaraju, S. 2016. Nano zinc, an alternative to conventional zinc as animal feed supplement: A review: Animal Nutrition. 2: 134-141.
45.Wu, G. 2018. Principles of animal nutrition. 1th ed. Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL. 272 Pp.
46.Yang, J.Y., Seo, J., Kim, H.J., Seo, S., and Ha, J.K. 2010. Nutrient synchrony: is it a suitable strategy to improve nitrogen utilization and animal performance. Asian-Australasian Journal of Animal Science. 23(7): 972-979.
47.Zaboli, Kh., Aliarabi, H., Bahari, A.A., and Abbasalipourkabir, R. 2013a. Role of dietary nano-zinc oxide on growth

performance and blood levels of mineral: A study on in Iranian Angora (Markhoz) goat kids. Journal of Pharmaceutic. Health Science. 2(1): 19-26.

48. Zaboli, Kh., Aliarabi, H., Tabatabai, M.M., Bahari, A.A., and Zarei ghane, Z. 2013b. Effect of zinc oxide nano particle and zinc oxide on performance and some blood parameters in male Markhoz goat kids. Animal Production Research. 2(2): 29-41. (In persion)
49. Zaboli, Kh., and Aliarabi, H. 2013. Effect of different levels of zinc oxide nano particles and zinc oxide on some ruminal parameters by *in vitro* and *in vivo* methods. Animal Production Research. 2(1): 1-14. (In persion)
50. Zhao, J., Shirley, R.B., Vazque-Anon, M., Dibner, J., Richards, J.D., Fishe, P., Hampton, T., Christensen, K.D., Allard, J.P., and Giesen, A.F. 2010. Effects of chelated trace minerals on growth performance, breast meat yield, and footpad health in commercial meat broilers. Journal of Applied Poultry Research. 19: 365-372.
51. Zhisheng, C.J.W.W.W. 2011. Effect of nano-zinc oxide supplementation on rumen fermentation *in vitro*. Chinese Journal of Animal Nutrition. 8: 023.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 7(2), 2019
http://ejrr.gau.ac.ir

Effect of Zn sources on microbial protein, immunoglobulins (M and A) and blood N parameters of Holstein calves

M. Abdollahi[1], *J. Rezaei[2] and H. Fazaeli[3]
[1]M.Sc. graduated, [2]Assistant Prof., Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, [3]Professor, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj
Received: 10/12/2018; Accepted: 25/05/2019

Abstract

Background and objectives: Zinc has a role in many cases such as rumen microbial activity, immunity, and blood metabolites. But, there is no sufficient information on the effect of nano and organic Zn supplements on microbial protein synthesis and immunity variables in Holstein calves. Thus, this study was conducted to assess the effect of using nano-ZnO and Zn-methionine instead of ZnO (equal to or twice NRC 2001-recommended level) on urinary purine derivatives, microbial protein, immunoglobulins and nitrogenous compounds of the blood in pre- and post-weaning calves.

Materials and methods: Sixty suckling Holstein calves were assigned into one of the six experimental groups (10 replications) in a completely randomized design. The experimental treatments were the diets containing: 1- ZnO equal to NRC recommendation, 2- Zn-methionine equal to NRC recommendation, 3- nano-ZnO equal to NRC recommendation, 4- ZnO twice NRC recommendation, 5- Zn-methionine twice NRC recommendation, and 6- nano-ZnO twice NRC recommendation. During 7 to 30 days of age, the calves were fed with milk and starter concentrate according to the above treatments. From days 31 to 70, milk and mixed alfalfa-starter (at the ratio of 10:90) were provided for the calves. Weaning was done at 70 days of age and during post-weaning period (71 to 100 days of age), the calves were freely fed with experimental diets (alfalfa and starter concentrate at the ratio of 20:80). During pre- and post-weaning periods, the urinary purine derivatives, microbial N synthesis, total globulin, IgM, IgG, total protein, albumin, urea-N, creatinine and glucose of the blood were determined. Data were analyzed in a factorial experiment (3 × 2) using PROC MIXED of SAS (2001).

Results: Urinary purine derivatives and microbial N synthesis were not affected by replacing ZnO with nano-ZnO and Zn-methionine during pre- and post-weaning periods. Zinc chemical form had no significant effect on the blood concentrations of total globulin, IgM and IgA. Total protein, albumin, urea-N, creatinine and glucose in the blood of the calves fed with inorganic, nano or organic Zn supplements were the same. Moreover, increasing Zn level in the diet had no effect on urinary purine derivatives, microbial N synthesis, total globulin, IgM, IgA, total protein, urea-N, creatinine and glucose.

Conclusion: Using nano-ZnO and Zn-methionine instead of ZnO and also the increasing dietary Zn level had no effect on microbial protein synthesis, IgM, IgA, nitrogenous compounds and glucose in the blood of the calves. Thus, feeding the conventional inorganic Zn source (ZnO) at

Keywords: Calves, Zn-methionine, Nano-ZnO, Immunity, Microbial protein.

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