مقاله کامل

دوره هفدهم ـ شماره ۲ ـ تابستان ۱۴۰۰

DOI: 10.22055/IVJ.2019.192073.2160
DOR: 20.1001.1.17356873.1400.17.2.11.4

تأثیر منابع مختلف روی بر پاسخ ایمنی سلولی، فراسنجه‌های بیوشیمیایی و هماتولوژی خون گاوهای شیرده هلشتاین در اوایل دوره‌ی شیردهی

مهدی نعمت‌پور[۱]، کامران رضایزدی[۲*]،مهدی گنج‌خانلو[۳] و آرمین توحیدی[۲]

[۱] دانش‌آموخته دکتری تغذیه‌ی دام، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

[۲] استاد گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

[۳] دانشیار گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

دریافت: ۱۳۹۸/۴/۱۵ پذیرش: ۱۳۹۸/۹/۱۶

چکیده

این پژوهش با هدف مطالعه تأثیر منابع مختلف روی بر هماتولوژی خون و پاسخ‌های ایمنی گاوهای شیرده هلشتاین در اوایل دوره‌ی شیردهی صورت گرفت. تعداد ۳۵ راس گاو شیرده دو شکم زایش کرده و بالاتر در قالب طرح کاملا تصادفی با ۷ تکرار به صورت تصادفی به یکی از ۵ گروه آزمایشی اختصاص داده شدند. تمام حیوانات ۴۲ روز پیش از شروع آزمایش با جیره‌ی فاقد مکمل روی تحت عنوان دوره‌ی تخلیه تغذیه شدند. جیره‌ها شامل ۱) جیره شاهد؛ بدون مکمل روی ۲) جیره همراه با سولفات روی ۳) جیره همراه با اکسید روی، ۴) جیره همراه با منبع گلایسین روی و ۵) جیره همراه با هیدروکسی کلراید روی، بودند. منابع مختلف روی به منظور تأمین ۱۵۰۰ میلی‌گرم روی در روز به ازای هر رأس به خوراک دام‌ها اضافه گردید. نتایج به دست آمده نشان داد که استفاده از منابع مختلف روی تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های خونی گلوکز، آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز نداشت. مقدار آلکالین فسفاتاز به طور معنی‌داری در گروه‌های مصرف کننده‌ی مکمل روی بیش‌تر از گروه شاهد بود. میزان کلسیم، فسفر، آهن و مس موجود در سرم گروه‌های دامی تغذیه شده با منابع مختلف روی تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. نتایج همچنین نشان داد که تغذیه‌ی گاوهای شیری با منابع مختلف روی به طور معنی‌داری میزان روی موجود در سرم را نسبت به گروه شاهد افزایش داد. منابع مختلف روی تأثیر معنی‌داری بر هیچ یک از شاخص‌های هماتولوژیک خون نداشت. همچنین استفاده از منابع مختلف روی تأثیر معنی‌داری بر پاسخ جلدی به تزریق داخل پوستی فیتوهماگلوتنین نداشت. نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که استفاده از مکمل روی در سطح ۱۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر رأس در روز اگرچه می‌تواند موجب افزایش سطح روی در سرم گردد ولی تأثیر معنی‌داری بر پاسخ ایمنی سلولی در گاوهای شیرده ندارد.

کلمات کلیدی: روی، هماتولوژی خون، ایمنی سلولی، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون

مقدمه

روی در بسیاری از فرآیندهای حیاتی موجود زنده نقش دارد. از مهم‌ترین این فرآیندها می‌توان به تنفس سلولی، استفاده اکسیژن توسط سلول‌ها، DNA و RNA، تولید مثل، حفظ یکپارچگی غشای سلول و حذف رادیکال‌های آزاد اشاره کرد (Chan et al. 1998).

*نویسنده مسئول : کامران رضایزدی، استاد گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

E-mail: rezayazdi@ut. ac. ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4. 0 International (CC BY-NC 4. 0 license) (http://creativecommons. org/licenses/by-nc/4. 0/).

منابع آلی روی از لحاظ نوع پیونددهنده‌ی مورد استفاده برای کمپلکس یا کیلیت با یکدیگر تفاوت دارند. بنابراین ترکیبات مورد استفاده به عنوان پیوند دهنده در کمپلکس روی ممکن است میزان جذب یا زیست فرآهمی را تحت تأثیر قرار دهند (Spears et al. 2004).

محرومیت شدید روی به اجزای اصلی سیستم ایمنی در حیوانات آزمایشگاهی (Underwood and Suttle, 1999) و انسان (Prasad, 2007) آسیب رسانده یا آن‌ها را دچار تغییر می‌کند. همچنین گزارش شده است که محرومیت شدید یا حاشیه‌ای روی در بره‌ها با علایمی همچون کاهش اشتها، رشد ضعیف و ضایعات پوستی همراه بوده و این شرایط پیش از افزایش حساسیت به بیماری‌ها بروز می‌نماید (Droke and Spears, 1993).

آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) آنزیم‌های حیاتی و تأثیرگذار در فرآیندهای بیولوژیکی می‌باشند، و به طور معمول به عنوان شاخص‌های مرگ و آسیب سلول‌های کبدی شناخته می‌شوند. افزایش فعالیت آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز (ALP) در خون، به طور عمده به دلیل آزاد شدن این آنزیم‌ها از سیتوزول کبدی به جریان خون است (Navarro et al. 1993)، که نشان‌دهنده‌ی آسیب کبدی و عدم فعالیت طبیعی کبد است (Shakoori et al. 1994). در شرایطی که میزان فعالیت‌های متابولیکی یا استرس‌های اکسیداتیو افزایش یابد، غلظت آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در خون افزایش خواهد یافت (Chandra et al. 2014).

آنتی‌ژن فیتوهماگلوتنین از طریق اتصال به سلول‌های T باعث حساسیت شدید بازوفیل پوستی و ایجاد تورم پوستی می‌شود. این آزمون به عنوان یک روش برای پاسخ‌های وابسته به لنفوسیت‌های T و عملکرد ایمنی وابسته به سلول استفاده می‌شود (Gholamrezaie et al. 2013). گزارش شده است که اختلال در ایمنی سلولی در شرایط کمبود روی ممکن است به دلیل عدم تعادل بین عملکرد سلول‌های T کمک کننده ۱ و ۲ باشد. در شرایط کمبود روی، سیتوکین‌های Th1 (IL-2 و اینترفرون گاما) کاهش می‌یابند در حالیکه سیتوکین‌های Th2 تحت تأثیر قرار نمی‌گیرند. بنابراین این موضوع به معنی این است که عملکرد Th1 به سمت Th2 تغییر می‌یابد (Prasad et al. 2007).

آشکار شده است که کمبود روی در حیوانات آزمایشگاهی منجر به آتروفی بافت‌های تیموس و لیمفوئید می‌شود (Prasad and Oberleas, 1971). Fraker در سال۱۹۸۳ گزارش کرد که اگرچه نسبت سلول‌های T و B در موش‌های دچار کمبود روی تغییر نمی‌یابد، اما سلول‌های B نابالغ در طحال موش‌های دچار کمبود روی تجمع می‌یابد. Nash و همکاران در سال ۱۹۷۹ نیز پیش از این مشاهده کرده بودند که در موش‌های دچار کمبود روی تعداد بالاتری سلول‌هایT نابالغ وجود دارد. مطالعات قبلی نشان داده است که حتی در افرادی که دچار کمبود ملایم روی هستند تولید اینترلوکین ۲ توسط PMNC[1] کاهش می‌یابد (Beck et al. 1997). Tanaka و همکاران در سال ۱۹۹۷ گزارش کردند که روی ممکن است برای اینترلوکین‌های ۲ که واسطه فعال سازی سلول‌های لنفوسیت T می‌باشند ضروری باشد. اینترلوکین ۲ همچنین نقشی کلیدی در تمایز تیموسیت و تکثیر لیمفوسیت‌های محیطی B و T و سایر سلول‌های با منشاء خونی دارد (Serfling et al. 1995). در سلول‌هایی که دچار کمبود روی هستند بیان ژن‌های اینترلوکین ۲ در مقایسه با سلول‌هایی که با مقادیر کافی روی تغذیه می‌شوند ۵۰ درصد کاهش می‌یابد (Prasad et al. 2002).

امروزه شکل‌های مختلفی از مواد معدنی کم مصرف توسط شرکت‌های مختلف فعال در این زمینه تولید شده است. بنابراین هدف از این آزمایش بررسی تأثیر منابع مختلف روی بر هماتولوژی خون و پاسخ‌های ایمنی سلولی در گاوهای شیرده هلشتاین بود.

1-Peripheral Blood Mononuclear Cells

مواد و روش کار

طرح آزمایشی، گاوها و تیمارها

در این پژوهش از ۳۵ رأس گاو هلشتاین شیرده دو شکم زایش کرده و بالاتر در قالب طرح کاملا تصادفی با ۵ جیره‌ی آزمایشی و ۷ تکرار در هر تیمار استفاده شد. جیره های آزمایشی شامل ۱) جیره شاهد؛ بدون مکمل روی ۲) جیره همراه با سولفات روی ۳) جیره همراه با اکسیدروی ۴) جیره همراه با منبع گلایسین روی و ۵) جیره همراه با هیدروکسی کلرایدروی، بودند.

این آزمایش در قالب دو مرحله صورت گرفت که مدت زمان کامل آن ۶۲ روز بود. بخش اول آزمایش شامل دوره‌ی تخلیه بود. طول مدت این بخش ۴۲ روز بوده و حیوانات با جیره‌ی عاری از مکمل روی تغذیه شدند. بخش دوم شامل دوره‌ی نمونه‌گیری بود که به مدت ۲۰ روز به طول انجامید و از ۵ جیره‌ی آزمایشی استفاده گردید (Spears et al. 2004). حیوانات به صورت انفرادی همراه با دسترسی آزاد به آب و خوراک نگهداری شدند. خوراک مصرفی روزانه در دو نوبت توزین شده و در اختیار گاوها قرار گرفت. جیره‌ی پایه در جیره های مختلف یکسان بود (Tables 1 & 2). در طول مدت ۲۰ روز دوره‌ی نمونه‌گیری، به غیر از گروه شاهد، در سایر جیره ها علاوه بر جیره‌ی پایه میزان ۱۵۰۰ میلی‌گرم در روز روی با منابع مختلف به هر گاو داده شد (NRC 2001; 40-60 mg Zn/Kg Dry Matter Intake).

نمونه‌گیری از خون در روزهای ۰، ۱۱ و ۱۸ دوره‌ی نمونه‌گیری و با استفاده از لوله‌های ۵ سی‌سی تحت خلاء همراه با ماده‌ی ضدانعقاد هپارین برای فاکتورهای گلوکز، آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز موجود در پلاسما و لوله‌های ۵ سی‌سی تحت خلاء بدون ماده‌ی ضد انعقاد برای سنجش شاخص‌های کلسیم، فسفر، روی، مس و آهن سرم صورت پذیرفت. خون‌گیری قبل از خوراک‌دهی صبح از محل سیاهرگ دمی انجام شد. لوله‌های حاوی خون پس از نمونه‌گیری به سرعت به فلاسک سیار حاوی کیسه‌های یخ[1] منتقل شده و جداسازی پلاسما و سرم خون با استفاده از سانتریفوژ با دور ۱۲۰۰g در مدت ۱۵ دقیقه صورت پذیرفت و نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی در دمای ۲۰- سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای سنجش گلوکز، آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز، کلسیم، فسفر و آهن از کیت‌های تجاری پارس آزمون (Pars Azmoon Co., Iran) و میزان روی و مس سرم با استفاده از کیت‌های تجاری بایرکس فارس (Biorexfars Co., Iran) و توسط دستگاه میکرو پلیت ریدر اتومات (EON-BIOTEK, America) استفاده گردید. همچنین اندازه‌گیری آلکالین فسفاتاز با استفاده از کیت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتری (Clima Plus, RAL, Madrid, Spain) صورت گرفت.

در روز ۱۷ دوره نمونه‌گیری به منظور سنجش مورفولوژی خون، نمونه‌های خون با استفاده از لوله‌های دارای خلاء حاوی ماده‌ی ضد انعقاد سدیم هپارین بلافاصله قبل از خوراک صبح از سیاهرگ دمی گرفته شد. نمونه‌های خون حاوی ماده‌ی ضد انعقاد ۲ ساعت پس از نمونه‌گیری برای سنجش شاخص‌های شمار سلول‌های سفید خون (WBC)، شمار سلول‌های قرمز خون (RBC)، غلظت هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (میزان درصد گلبول‌های قرمز خون به حجم خون؛PCV)، اندازه‌ی گلبول‌های قرمز خون (MCV)، میزان (وزن) متوسط هموگلوبین خون (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین (MCHC)، و شمارش پلاکت‌ها (PLT) به آزمایشگاه منتقل شده و توسط دستگاه سل کانتر اتوماتیک (Hemat 8, Seac, Italy) هماتولوژی خوانده شد. شمارش جز به جز سلول‌ها سفید خون با استفاده از روش دستی رنگ‌آمیزی رایت-گیمسا توسط آزمایش میکروسکوپی صورت گرفت (Jain, 1998).

1- Ice Bag

در روز ۱۹ دوره نمونه‌گیری، به منظور ارزیابی پاسخ‌های ایمنی سلولی از طریق تغییر در ضخامت پوست در پاسخ به تزریق درون پوستی، ۰/۱ سی‌سی از محلول یک میلی‌گرم فیتوهماگلوتینین در یک میلی‌لیتر بافر فسفات سالین به هر دام تزریق گردید. ضخامت پوست ۲۴ ساعت پس از تزریق به وسیله‌ی کولیس اندازه‌گیری شد (Spears and Kegley, 2002).

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۲) انجام شد. برای متغیرهایی که یک بار اندازه‌گیری شدند به رویه آماری GLM و متغیرهایی که چند بار اندازه‌گیری شدند از رویه‌ی آماری MIXED استفاده گردید. نتایج تجزیه واریانس به صورت میانگین حداقل مربعات و انحراف معیار میانگین‌ها گزارش شد. سطح معنی‌داری در $P \leq ۰/۰۵$ بیان گردید.

نتایج

میانگین حداقل مربعات مربوط به فراسنجه‌های خون در گاوهای تغذیه شده با منابع مختلف روی در Table 3 ارائه شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از منابع مختلف روی تأثیر معنی‌داری بر گلوکز و شاخص‌های کبدی آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز نداشت. میزان آلکالین فسفاتاز در حیوانات مصرف کننده مکمل روی به طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود ($P<۰/۰۵$).

Table 1. Dietary ingredients of the basal diet

Item (% of DM)	Amounts
Alfalfa hay	16.75
Corn silage	20.47
Beat pulp	6.14
Barley grain, ground	15.37
Corn grain, ground	16.14
Soybean meal	10.98
Corn gluten meal	1.14
Fish meal	1.16
Meat meal	1.49
Extruded full-fat Soybean	1.73
Whole cottonseed	3.20
Protected fat	1.57
Wheat bran	1.13
Vitamins and mineral premix[1]	0.94
Calcium carbonate	0.31
Dicalcium phosphate	0.18
Sodium bicarbonate	0.94
Magnesium oxide	0.12
Salt	0.19
Toxin binder	0.05

[1]Premix composition per kg: vitamin A, 750000 IU; vitamin D3, 200000 IU; vitamin E, 4000 IU; Ca, 150 g; P, 40 g; Na, 60 g; Mg, 40 g; Cu, 1500 mg; Fe, 4000 mg; Mn, 5000 mg; I, 60 mg; Co, 40 mg; Se, 40 mg; antioxidant, 400 mg.

Table 2. Chemical composition of the basal diet

Item	Amounts
NE_l (Mcal/kg of DM)[1]	1.70
CP (% of DM)	16.14
Ether extract (% of DM)	4.84
NDF (% of DM)	30.23
Ca (% of DM)	0.98
P (% of DM)	0.49
Zn (mg/kg of DM)	37

[1]Calculated from NRC (2001).

Table 3. Effect of zinc sources on Glucose and serum enzyme activities

Parameters	Treatments					SEM	P-Value
	Control	ZnGly	ZnHcl	ZnO	ZnSo4		
Glucose (mg/dl)	51.65	52.73	52.38	52.03	50.55	2.571	0.973
ALP (U/L)	44.85[b]	51.47[a]	51.07[a]	50.44[a]	49.92[a]	1.454	0.023
AST (U/L)	52.67	53.21	53.33	53.95	53.61	2.168	0.996
ALT (U/L)	25.75	25.29	25.50	25.37	25.86	0.936	0.991

AST = aspartate aminotransferase; ALT = alanine aminotransferase; ALP = alkaline phosphatase.
Control (no supplement Zn); Zn glycine complex (ZnGly); Zn hydroxychloride complex (ZnHcl); Zn oxide (ZnO); Zn sulfate (ZnSO4).

تأثیر منابع مختلف روی بر میزان مواد معدنی سرم گروه‌های تیماری در Table 4 آورده شده است. بر همین اساس میزان کلسیم، فسفر، آهن و مس موجود در سرم گروه‌های دامی تغذیه شده با منابع مختلف روی تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. نتایج نشان داد که استفاده از منابع مختلف روی در تغذیه‌ی گاوهای شیری به طور

معنی‌داری میزان روی موجود در سرم خون را نسبت به گروه شاهد افزایش داد (P<۰/۰۱)، اما میزان روی موجود در سرم تحت تأثیر نوع منابع مختلف مکمل روی قرار نگرفت.

Table 4. Effect of zinc sources on serum mineral concentration

Parameters	Treatments					SEM	P-Value
	Control	ZnGly	ZnHcl	ZnO	ZnSo4		
Ca	9.610	9.680	9.672	9.655	9.530	0.140	0.939
P	5.040	5.943	5.014	5.141	5.009	0.128	0.864
Zn							
Time 0	1.231	1.237	1.234	1.243	1.226	0.070	0.999
Total	1.228[b]	1.533[a]	1.526[a]	1.432[a]	1.393[a]	0.055	0.004
Cu	0.787	0.785	0.801	0.812	0.786	0.015	0.615
Fe	1.994	1.974	1.980	1.996	1.986	0.023	0.952

Control (no supplement Zn); Zn glycine complex (ZnGly); Zn hydroxychloride complex (ZnHcl); Zn oxide (ZnO); Zn sulfate (ZnSO4).

میانگین حداقل مربعات مربوط به پارامترهای هماتولوژیک خون در گاوهای تغذیه شده با منابع مختلف روی در Table 5 ارائه شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که منابع مختلف روی تأثیر معنی‌داری بر شمار سلول-های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت خون نداشت. همچنین حجم سلولی فشرده، میانگین وزن گلبول قرمز و میانگین حجم گلبول قرمز تحت تأثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفت. اگر چه استفاده از منابع مختلف روی تأثیر معنی‌داری بر نسبت هر یک از سلول‌های سفید خون نداشت اما میزان لنفوسیت در دام‌های مصرف کننده مکمل گلایسین(P=۰/۰۶۶) و هیدروکسی کلراید (P=۰/۰۸۸) نسبت به گروه شاهد تمایل به افزایش داشت. همچنین دام‌های مصرف کننده‌ی گلایسین (P=۰/۰۷۷) و هیدروکسی کلراید (P=۰/۱۰۲)، نوتروفیل کم‌تری نسبت به گروه شاهد داشتند.

میانگین حداقل مربعات مربوط به پاسخ‌های ایمنی سلولی در گاوهای تغذیه شده با منابع مختلف روی در Table 6 ارائه شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که اگرچه تأثیر معنی‌داری در پاسخ جلدی به تزریق فیتوهماگلوتینین در گروه‌های اکسید و سولفات روی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشده است ، اما میزان این پاسخ در حیوانات مصرف کننده مکمل گلایسینات روی (P=۰/۰۶۸) و هیدورکسی کلراید روی (P=۰/۰۹۴) تمایل به افزایش داشت.

Table 5. Effect of zinc sources on hematological parameters

Parameters	Treatments					SEM	P-Value
	Control	ZnGly	ZnHcl	ZnO	ZnSo4		
RBC (10^6/µl)	5.73	5.82	5.80	5.35	5.71	0.198	0.780
Hb (g/dl)	9.45	9.16	9.29	8.91	8.81	0.294	0.889
PCV (ml/dl)	29.62	29.11	29.01	28.33	28.10	0.832	0.897
MCV (fl)	49.78	47.18	50.00	51.05	48.67	1.018	0.163
MCH (pg)	16.51	15.27	16.03	16.58	15.45	0.466	0.369
MCHC (g/dl)	32.80	32.72	32.12	32.37	33.45	0.678	0.629
WBC (/µl)	7.54	8.04	8.40	8.20	7.91	0.555	0.968
Neutrophile (% of WBC)	50.53	44.12	44.48	44.91	47.14	1.638	0.113
Lymphocyte (% of WBC)	43.00	48.31	48.03	47.45	46.20	1.286	0.273
Monocyte (% of WBC)	3.10	4.86	4.74	4.18	3.80	0530	0.132
Eosinophyle (% of WBC)	3.38	2.70	2.74	3.46	2.86	0.516	0.246

Hb, hemoglobin concentration; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV, mean corpuscular volume; PCV, packed cell volume; RBC, red blood cell; WBC, white blood cell.
Control (no supplement Zn); Zn glycine complex (ZnGly); Zn hydroxychloride complex (ZnHcl); Zn oxide (ZnO); Zn sulfate (ZnSO4).

Table 6. Effect of zinc sources on cell-mediated immune response to injected intradermally with PHP[1]

Parameters	Treatments					SEM	P-Value
	Control	ZnGly	ZnHcl	ZnO	ZnSo4		
Skinfold thickness (mm)	1.78	2.14	2.12	2.06	2.02	0.092	0.172

[1]Phytohemagglutinin

Control (no supplement Zn); Zn glycine complex (ZnGly); Zn hydroxychloride complex (ZnHcl); Zn oxide (ZnO); Zn sulfate (ZnSO4).

بحث

مطابق با نتایج به دست آمده از این تحقیق در استفاده از منابع مختلف روی بر فراسنجه‌های خونی، گزارش شده است که استفاده از منابع روی تأثیری بر گلوکز خون ندارد (Sobhanirad and Naserian, 2012). اگرچه آلکالین فسفاتاز در حیوانات مصرف کننده‌ی مکمل روی به طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود اما تفاوت معنی‌داری در بین منابع روی مشاهده نشد. آلکالین فسفاتاز متالوآنزیم حاوی روی بوده که در شرایط کمبود روی کاهش می‌یابد (Miller et al. 1965). مشابه با این نتایج گزارش شده است که استفاده از ۲۵ میلی‌گرم مکمل روی در هر کیلوگرم خوراک مصرفی، موجب افزایش میزان آلکالین فسفاتاز در تلیسه‌های در حال رشد می‌شود در حالی که تفاوت معنی‌داری در بین منابع مختلف روی مشاهده نگردید (Spears, 1989). در مقابل Spears و همکاران در سال ۲۰۰۴ مشاهده کردند که استفاده از مکمل روی تأثیر معنی‌داری بر آلکالین فسفاتاز سرم نداشت و بیان کردند که این عدم پاسخ می‌تواند یا به دلیل بالا بودن روی موجود در خوراک پایه و یا به دلیل طول دوره‌ی ناکافی مصرف جیره‌های آزمایشی برای بروز نشانه‌های کاهش آلکالین فسفاتاز پلاسما باشد. میزان فعالیت آنزیمی AST و ALT سرم تقریباً در تیمارهای مصرف کننده‌ی روی و گروه شاهد یکسان بود و این موضوع نشان می‌دهد که استفاده از مکمل روی در سطح ۱۵۰۰ میلی‌گرم در روز، تأثیری بر فعالیت این آنزیم‌ها و به طور کلی سلامت کبد ندارد.

اگرچه میزان روی سرم به طور معنی‌داری در گروه‌های دریافت کننده‌ی مکمل روی بیش‌تر از گروه شاهد بود، اما تمام جیره‌ها سطح سرمی روی کافی داشتند، که پیشنهاد شده است وجود مقادیر کافی و در دامنه‌ی طبیعی روی در سرم می‌تواند به این دلیل باشد که جیره‌ی آزمایشی پایه میزان کافی روی را برای تأمین نیاز دام‌ها فراهم کرده است (Kincaid, 2000). دامنه‌ی طبیعی روی موجود در سرم ۰/۶ تا ۱/۹ میکروگرم در هر میلی‌لیتر می‌باشد (Herdt and Hoff, 2011)، که نشان می‌دهد نتایج به دست آمده در این آزمایش در دامنه‌ی طبیعی برای روی قرار دارند. مطابق با این نتایج Spears و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند که استفاده از گلایسینات روی و متیونین روی موجب افزایش میزان روی موجود در پلاسمای تلیسه‌های در حال رشد می‌شود. همچنین گزارش شده است که استفاده از سولفات و متیونین روی موجب افزایش روی موجود در سرم نسبت به گروه شاهد می‌شود (Sobhanirad and Naserian, 2012). در تحقیق دیگری که توسط Ott و همکاران در سال ۱۹۶۶ انجام شد مشاهده شد که استفاده از مکمل روی موجب افزایش میزان روی سرم به میزان ۲۸ درصد نسبت به گروه شاهد شد. نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که هیچ یک از مواد معدنی کلسیم، فسفر، آهن و مس موجود در سرم در زمان استفاده از مکمل روی در سطح ۱۵۰۰ میلی‌گرم در روز به ازای هر رأس، تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند و مطابق با نتایج سایر محققین بوده است که بیان کردند تغذیه روی در سطح توصیه شده و کم‌تر، متابولیسم مس را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد (Cope et al. 2009) و در واقع می‌توان بیان نمود تغذیه‌ی روی در سطح توصیه شده و کم‌تر، متابولیسم کلسیم، فسفر، مس و آهن را تغییر نمی‌دهد.

نتایج این پژوهش تأثیر معنی‌داری بر هیچ یک از شاخص‌های هماتولوژیک خون نداشت که مطابق با نتایج مطالعه‌ی دیگری بود که بیان کرد استفاده از مکمل روی

تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های MCH،MCV،WBC، PLTو نسبت هر یک از سلول‌های سفید خون نداشت (Sobhanirad and Naserian, 2012). همچنین در مطالعه‌ی دیگری که توسط Cope و همکاران در سال ۲۰۰۹ صورت گرفت نیز گزارش شده است که استفاده از مکمل روی تأثیر معنی‌داری بر هیچ یک از شاخص‌های هماتولوژی خون ندارد. در مطالعه‌ی دیگری که در جوجه‌های گوشتی صورت گرفت، گزارش شده است که استفاده از ۲۰۰۰ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم خوراک در جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری بر هموگلوبین و هماتوکریت خون نداشته است، در حالیکه استفاده از ۴۰۰۰ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم خوراک به طور چشم‌گیری موجب کاهش هموگلوبین و هماتوکریت خون شده است (Southern and Baker, 1983). با توجه به این موضوع که استفاده از منابع مختلف روی در این آزمایش تأثیری بر آهن و مس موجود در سرم نداشته است، این احتمال وجود دارد عدم تأثیر روی جیره بر جذب این فلزات موجب عدم تغییر در میزان این شاخص های هماتولوژی خون شده است.

نتایج نشان داد که استفاده از ۱۵۰۰ میلی‌گرم روی در روز تأثیر معنی‌داری بر ایمنی سلولی در گاوهای شیری نداشت که مطابق با این پژوهش گزارش شده است که ۳۳ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم ماده‌ی خشک مصرفی تأثیر معنی‌داری بر افزایش پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال در تلیسه‌های در حال رشد ندارد (Spears and Kegley, 2002). مشاهده شده است که اضافه کردن ۱۵۰ یا ۳۰۰ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم ماده‌ی خشک به جیره‌ی پایه حاوی ۶۰ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم ماده‌ی خشک تاثیری بر بلاستوژنسیز لمفوسیت، تولید اینترلوکین ۱ و فعالیت سیتوتوکسیک در گوساله‌ها نداشت و همچنین توانایی فاگوسیتوزی نوتروفیل‌ها تحت تأثیر قرار نگرفت (Kincaid et al. 1997). Droke و همکاران در سال ۱۹۹۸ نیز گزارش کردند که ۲۸ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم ماده‌ی خشک تأثیری بر ایمنی سلولی و هومورال در بره‌های در حال رشد حتی پس القا استرس نداشت. در مقابل با این نتایج، در مطالعه‌ای که به منظور بررسی اثر کمبود روی در تلیسه‌ها صورت گرفت، نشان داد که پاسخ ایمنی سلولی در تلیسه‌های محروم از روی در پی تزریق زیر جلدی محلول فیتوهموگلوتنین پیش از بروز هرگونه افت در اشتها یا کاهش روی پلاسما دچار اختلال شد (Engle et al. 1997).

از یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که اگرچه استفاده از منابع روی تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی و هماتولوژیک خون نداشت، اما میزان روی و آلکالین فسفاتاز به طور معنی‌داری تحت تأثیر منابع مختلف‌روی قرار گرفت. همچنین تفاوت معنی‌داری بین منابع مختلف روی مشاهده نشد. به طور کلی با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان بیان نمود که استفاده از منابع مختلف مکمل روی در سطح ۱۵۰۰ میلی‌گرم در روز به ازای هر رأس دام، اگرچه می‌تواند موجب افزایش معنی‌دار سطح روی در سرم گردد ولی با توجه به سطح طبیعی روی در سرم و تأمین مقدار مورد نیاز روی از جیره‌ی پایه، تأثیر معنی‌داری بر شاخص ایمنی سلولی در گاوهای شیرده هلشتاین ندارد.

تشکر و قدردانی

ضمن تشکر از مدیریت و پرسنل زحمت کش مزرعه‌ی دامپروری پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در محمد شهر کرج که این پژوهش در این مرکز صورت گرفت لازم است از مدیریت شرکت‌های دانه‌چین پارس و جوانه‌ی خراسان به جهت تأمین مکمل‌های روی مورد نیاز و شرکت مهر چینه چین کیان به جهت تأمین مکمل معدنی ویتامینه فاقد روی و شرکت کیمیا دارو مهر برای تأمین هیدروکسی کلرید روی برای انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله هیچ تعارض منافعی ندارند.

منابع مالی

این پژوهش با کمک‌های مالی دانشگاه تهران و شرکت کیمیا دارو مهر انجام گرفت.

منابع

Beck, F. W. , Prasad, A. S. , Kaplan, J. , Fitzgerald, J. T. , & Brewer, G. J. (1997). Changes in cytokine production and T cell subpopulations in experimentally induced zinc-deficient humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *272*(6), E1002-E1007.

Cao, J. , Henry, P. R. , Guo, R. , Holwerda, R. A. , Toth, J. P. , Littell, R. C. , Miles, R,D. & Ammerman, C. B. (2000). Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *Journal of animal science*, *78*(8), 2039-2054.

Chan, S. , Gerson, B. , & Subramaniam, S. (1998). The role of copper, molybdenum, selenium, and zinc in nutrition and health. *Clinics in laboratory medicine*, *18*(4), 673-685.

Chandra, G. , Aggarwal, A. , Singh, A. K. , & Kumar, M. (2014). Effect of vitamin E and zinc supplementation on liver enzymatic profile of pre- and post-partum Sahiwal cows. *Indian Journal of Animal Sciences*, *84*(5), 507-510.

Cope, C. M. , Mackenzie, A. M. , Wilde, D. , & Sinclair, L. A. (2009). Effects of level and form of dietary zinc on dairy cow performance and health. *Journal of dairy science*, *92*(5), 2128-2135.

Droke, E. A. , & 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.

Engle, T. E. , Nockels, C. F. , Kimberling, C. V. , Weaber, D. L. , & Johnson, A. B. (1997). Zinc repletion with organic or inorganic forms of zinc and protein turnover in marginally zinc-deficient calves. *Journal of Animal Science*, *75*(11), 3074-3081.

Gholamrezaie Sani, L. ; Mohammadi, M. ; JalaliSendi, J. ; Abolghasemi, S. A. and Roostaie Ali Mehr, M. (2013). Extract and leaf powder effect of Artemisia annua on performance, cellular and humoral immunity in broilers. *Iranian Journal of Veterinary Research*, *14*(1): 15-20.

Herdt, T. H. , & Hoff, B. (2011). The use of blood analysis to evaluate trace mineral status in ruminant livestock. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, *27*(2), 255-283.

Jain, N. C. (1998). *Essentials of Veterinary Hematology, 2nd ed*. Lea and Febiger Publication, Philadelphia, pp. 65–68

Kincaid, R. L. (1999). Assessment of trace mineral status of ruminants: A review. In *Proceedings of the American Society of Animal Science* (Vol. 77, No. 1, pp. 1-10).

Miller, W. J. , Pitts, W. J. , Clifton, C. M. , & Morton, J. D. (1965). Effects of zinc deficiency per se on feed efficiency, serum alkaline phosphatase, zinc in skin, behavior, greying, and other measurements in the Holstein calf. *Journal of dairy science*, *48*(10), 1329-1334.

Nash, L. , Iwata, T. , Fernandes, G. , Good, R. A. , & Incefy, G. S. (1979). Effect of zinc deficiency on autologous rosette-forming cells. *Cellular immunology*, *48*(1), 238-243.

Navarro, M. C. , Montilla, M. P. , Martín, A. , Jiménez, J. , & Utrilla, M. P. (1993). Free radical scavenger and antihepatotoxic activity of Rosmarinus tomentosus. *Planta Medica*, *59*(04), 312-314.

Ott, E. A. , Smith, W. H. , Harrington, R. B. , Parker, H. E. , & Beeson, W. M. (1966). Zinc toxicity in ruminants. IV. Physiological changes in tissues of beef cattle. *Journal of animal science*, *25*(2), 432-438.

Prasad, A. S. (2007). Zinc: mechanisms of host defense. *The Journal of nutrition*, *137*(5), 1345-1349.

Prasad, A. S. , & Oberleas, D. O. N. A. L. D. (1971). Changes in activities of zinc-dependent enzymes in zinc-deficient tissues of rats. *Journal of applied physiology*, *31*(6), 842-846.

Prasad, A. S. , Bao, B. , Beck, F. W. , & Sarkar, F. H. (2002). Zinc enhances the expression of interleukin-2 and interleukin-2 receptors in HUT-78 cells by way of NF-κB activation. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, *140*(4), 272-289.

Raker, P. J. (1983). Zinc deficiency: a common immunodeficiency state. *Survey of immunologic research*, *2*, 155-163.

SAS Institute. (2002). *SAS User's Guide: Statistics*. Release 9. 1. 3. SAS Inst. Inc. , Cary, NC.

Serfling, E. , Avots, A. , & Neumann, M. (1995). The architecture of the interleukin-2 promoter: a reflection of T lymphocyte activation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, *1263*(3), 181-200.

Shakoori, A. R. , Butt, U. , Riffat, R. , & Aziz, F. (1994). Haematological and biochemical effects of danitol administered for two months in the blood and liver of rabbits. *Zeitschrift Fur Angewandte Zoologie*, *80*, 165-165.

Sobhanirad, S. , & Naserian, A. A. (2012). Effects of high dietary zinc concentration and zinc sources on hematology and biochemistry of blood serum in Holstein dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, *177*(3-4), 242-246.

Southern, L. L. , & Baker, D. H. (1983). Zinc toxicity, zinc deficiency and zinc-copper interrelationship in Eimeria acervulina-infected chicks. *The Journal of nutrition*, *113*(3), 688-696.

Spears, J. W. (1989). Zinc methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers. *Journal of Animal Science*, *67*(3), 835-843.

Spears, J. W. , & Kegley, E. B. (2002). Effect of zinc source (zinc oxide vs zinc proteinate) and level on performance, carcass characteristics, and immune response of growing and finishing steers. *Journal of Animal science*, *80*(10), 2747-2752.

Spears, J. W. (1996). Organic trace minerals in ruminant nutrition. *Animal feed science and technology*, *58*(1-2), 151-163.

Spears, J. W., Schlegel, P., Seal, M. C., & Lloyd, K. E. (2004). Bioavailability of zinc from zinc sulfate and different organic zinc sources and their effects on ruminal volatile fatty acid proportions. *Livestock Production Science*, *90*(2-3), 211-217.

Tanaka, Y. S. I. T., Shiozawa, S., Morimoto, I., & Fujita, T. (1990). Role of Zinc in Interleukin 2 (IL-2)- Mediated T-Cell Activation. *Scandinavian journal of immunology*, *31*(5), 547-552.

Underwood, E. J. (1999). The mineral nutrition of livestock. 3rd edition. Cabi Publishing.

Received:06. 07. 2109
Accepted: 07. 12. 2019

Vol. 17, No. 2, Summer, 2021 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2019.192073.2160
DOR: 20.1001.1.17356873.1400.17.2.11.4

Effects of zinc sources on cellular immune response, biochemical and hematological blood parameters in early lactation of Holstein dairy cows

Mahdi Nematpoor[1], Kamran Rezayazdi[2*], Mahdi Ganjkhanlou[3] and Armin Towhidi[2]

[1] PhD Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[2] Professor, Department of Animal Science, University Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[3] Associate Professor, Department of Animal Science, University Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: 06. 07. 2109 Accepted: 07. 12. 2019

Abstract

The purpose of this study was to compare the effects of zinc from different sources on hematological parameters of blood and immune response in early lactation of dairy cows. Thirty multiparous dairy cows randomly allocated to one of five dietary treatments in a complete randomized design. All cattle were fed a low Zn diet for 42 days prior to assignment to dietary treatments as a depletion phase. Treatments consisted of: 1) control (no supplement Zn), 2) Zn glycine complex (ZnGly), 3) Zn hydroxychloride complex (ZnHcl), 4) Zn oxide (ZnO), 5) Zn sulfate (ZnSO4). The Zn sources were added to provide 1500 mg/head/day of supplemental Zn. The result indicated that glucose, AST and ALT were not different between treatments. Zinc supplementation increased plasma alkaline phosphatase activity in compare of control. The results indicated that Ca, P, Fe, and Cu were not affected by treatments. The used of different sources of zinc significantly increased serum zinc in compare control group. The used of zinc had not significantly effect on hematology of blood. Also, Swelling response following intradermal injection of phytohemoagglutinin was not affected by zinc sources. Therefore, the results of present study indicated that although used of 1500 mg/day/head zinc from different sources increased serum zinc, had not significantly onimmune response in dairy cattle.

Keywords: Zinc, Hematology of blood, Cellular immune response, Biochemical parameters of blood

*__Corresponding Author__: Kamran Rezayazdi, Professor, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
E-mail: rezayazdi@ut. ac. ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4. 0 International (CC BY-NC 4. 0 license) (http://creativecommons. org/licenses/by-nc/4. 0/).