

ارزیابی تاثیر استفاده از مکمل خوراکی روی و مس بر میزان لنگش و کارایی تولیدمثلی در گاوهای شیری

حسین کوچکزاده عمران^{۱*}، میثم فلاح^۲، مجید فرتاشوند^۳، امیرمنصور وطن خواه^۳

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، عضو انجمن علمی، تبریز، ایران

۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، تبریز، ایران

۳. دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی شمالغرب کشور، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: hosein.ko_dvm@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۱/۸/۴، پذیرش نهایی: ۹۱/۹/۱)

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات استفاده از مکمل خوراکی حاوی روی و مس بر روی میزان لنگش و کارایی تولید مثلی در گاو شیری بود. شاخص‌های عملکردی در یک گله گاو شیری بسیار متفاوت است، در این مطالعه که در یکی از گاوداری‌های شهر آمل و روی ۴۰ راس گاو شیری هلشتاین انجام یافت، به بررسی برخی از این شاخص‌ها شامل لنگش، سقط جنین، روزهای باز (Open Days) و جفت ماندگی پرداخته شد. در جیره غذایی ۲۰ راس از گاوهای تحت مطالعه (گروه تیمار) روزانه ۳۶۰ میلی‌گرم روی و ۱۲۵ میلی‌گرم مس افزوده شده و در مدت یک سال تغذیه با این جیره، شاخص‌های عملکردی مورد ارزیابی قرار گرفتند. گروه شاهد جیره مشابه و بدون مکمل دریافت می‌کرد. همچنین به طور منظم و در هر فصل میزان سرمی مس و روی نیز با استفاده از روش بیوشیمیایی مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که در گروه تیمار و در پایان دوره درمانی با مکمل خوراکی در مقایسه با ابتدای دوره درمانی میزان لنگش ($p < 0/01$)، روزهای باز ($p < 0/05$)، جفت ماندگی ($p < 0/05$) و سقط جنین ($p < 0/05$) به طور معنی‌داری کاهش یافت. مقایسه گروه تیمار و شاهد نیز موید وجود تفاوت معنی‌دار در میزان ابتلا به لنگش، ورم پستان و جفت ماندگی بین دو گروه بود ($p < 0/01$). با توجه به افزایش مقادیر سرمی مس و روی همزمان با کاهش میزان ابتلا به بیماری‌های مذکور، می‌توان چنین نتیجه گرفت که استفاده از عناصر کمیاب همچون مس و روی در روند بهبود شاخص‌های تولیدمثلی و ابتلا به لنگش مفید می‌باشد.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دوره ۶، شماره ۲، پیاپی ۲۲، صفحات: ۱۵۸۸-۱۵۸۳.

کلید واژه‌ها: روی، مس، لنگش، کارایی تولید مثل، گاو شیری

مقدمه

کمبود این مواد وارد می‌شود، بیشتر از یک بیماری عفونی است (۱). مس در ساختار آنزیم‌هایی همچون سرولوپلاسمین، منوآمینو اکسیداز، سیتوکروم اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز

مس و روی از جمله مواد معدنی مهم در بدن انسان و حیوانات محسوب می‌شوند که در بسیاری از اعمال فیزیولوژیک نقش مهم و بسزایی دارند و گاهی اوقات خساراتی که در اثر

شرکت دارد که در متابولیسم و ایمنی بدن نقش ضروری دارند (۳۳). روی به دلیل تولید کراتین در سم و پستان در حفظ انسجام ساختاری و سلامتی پستان و سم دارای نقش مهمی می باشد (۳۱ و ۳۲). از آنجایی که عنصر روی جزئی از ساختمان بیش از ۲۰۰ متالوآنزیم می باشد، در متابولیسم کربوهیدرات ها، سنتز پروتئین و در تولید و ترشح هورمون ها نقش دارد (۲۱). مس نیز در بلوغ اووسیت و رشد جنین دخالت دارد (۱۱).

لنگش در گاو شیری یکی از بزرگترین معضلات است که ۵۲ درصد از ضررهای اقتصادی در گاوها را در یک سال شامل می شود (۹ و ۱۴). اغلب اوقات لنگش ناشی از عوامل عفونی و غیر عفونی است که موجب درد در سم، کاهش تولید شیر و کاهش عملکرد تولید مثلی و افزایش هزینه های درمانی می شود. عوامل زیادی در لنگش و بیماری های اندام حرکتی دخیل هستند که شامل تغذیه و استراتژی های تغذیه ای، رطوبت، بستر نامناسب، اتفاقاتی که سلامتی حیوان را تحت تاثیر قرار می دهند (تب، سن، بیماری های متابولیک، توکسین ها)، انتخاب نامناسب ژنتیکی و ... می باشد (۲۵). بنابراین باید در نظر داشت که عوامل ایجاد کننده لنگش چند عاملی بوده و یکی از مهمترین عوامل آن، عوامل تغذیه ای می باشد. عوامل تغذیه ای در تولید اپیدرم سم (خارجی ترین لایه سم) با کیفیت بالا واجد اهمیت می باشند (۸ و ۲۵). از حدود ۱۰-۱۵ سال پیش به اهمیت و تاثیر عناصر معدنی و عناصر کمیاب و ویتامین ها بالاخص روی و بیوتین بر کیفیت و سلامت لایه های شاخی و سم پی برده اند و از اینرو، این مواد برای پیشگیری از لنگش در گله های گاو شیری مورد استفاده قرار می گیرند (۱۲ و ۲۵). مطالعات زیادی وجود دارد که کمبود روی موجب از دست رفتن مو و کاهش کراتینیزه شدن پوست، جراحات به روی سم و کاهش متابولیسم کلاژن سم می شود (۳۰).

جفت ماندگی یکی دیگر از بیماری های اصلی تولید مثلی در گاو شیری است و موجب ضررهای اقتصادی و کاهش تولید شیر و ضعف حیوان و همچنین تحمیل هزینه های درمان و نیز کاهش

ارزش اقتصادی حیوان می شود (۴ و ۵). ضعف عضلانی رحم، سقط جنین، استرس، زود یا دیرزایی، سخت زایی، عفونت و اختلالات هورمونی از جمله عواملی هستند که منجر به جفت ماندگی می شوند (۳ و ۱۹). همچنین کمبود بعضی از عناصر معدنی و ویتامین ها نیز می تواند باعث جفت ماندگی گردد (۲۲). نقش عوامل تغذیه ای مثل کمبود مس، سلنیوم، بتا-کاروتن و فسفر در بروز سقط جنین، اختلالات زایمانی و کاهش میزان آبستنی و فحلی مورد توجه بوده است (۲۶).

افزایش روزهای باز (Open Days = OD)، که به فاصله زمانی پس از زایش تا تلقیح منجر به آبستنی اطلاق می گردد، ضررهای اقتصادی فراوانی را به گله های گاو شیری تحمیل می کند. مس و روی می تواند به طور مستقیم و غیرمستقیم این فاکتور را تحت تاثیر قرار دهد. مس و روی با تاثیر بر سیستم ایمنی و کیفیت اندام های حرکتی تاثیر خود را بر OD و باروری می گذارد. کمبود مس موجب کاهش باروری در اولین لقاح و آسیب به بقاء جنین و کاهش میزان آبستنی و فحلی می شود. به نظر می رسد مکانیسم اصلی در این فرایند، کاهش تولید LH باشد. کمبود روی در گاو نر موجب آسیب به اسپرماتوزن شده و در جنس ماده سبب کاهش باروری و تغییر در رفتارهای فحلی می شود (۲۶). لنگش نیز OD را نیز تحت تاثیر قرار می دهد به طوری که مانع از تعقیب و پرش گاو نر و یا گاو فحل می شود و همچنین موجب کاهش دریافت غذا، کاهش تولید شیر و کاهش باروری می گردد. مطالعات متعددی در مورد تاثیر مکمل مس و روی به روی تولید مثل وجود دارد به طوری که Ballantine و همکاران به تاثیر مثبت این مکمل به روی میزان باروری تاکید کردند (۶)، در حالی که نشان داده شده است که مکمل مس و روی موجب افزایش میزان باروری می شود (۱۵ و ۲۸). همچنین گزارش شده است که کمبود مس و روی موجب افزایش درصد مبتلایان به بیماری متری و ورم پستان می گردد (۱۰). لذا بر آن شدیم تا تاثیر استفاده از مکمل

خوراکی روی و مس را بر روی میزان لنگش و کارایی تولیدمثلی گاوهای شیری هلستاین بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در طی فروردین ۱۳۹۰ لغایت اردیبهشت ۱۳۹۱ روی ۴۰ راس گاو هلستاین بالغ در محدوده سنی ۴ تا ۵ سال و در یکی از گاوداری‌های شهرستان آمل انجام پذیرفت. این حیوانات از نظر شرایط تغذیه‌ای و بهداشتی، وضعیت بدنی و میزان تولید در شرایط یکسانی قرار داشته و در سیستم غرفه‌ای (free stall) نگهداری می‌شدند. گاوها به دو گروه ۲۰ راسی تیمار و شاهد تقسیم شدند. در طی این بررسی روزانه ۳۶۰ میلی‌گرم روی و ۱۲۵ میلی‌گرم مس (۷ گرم از مکمل تجاری که حاوی ۱/۸ درصد مس و ۵/۱۵ درصد روی است) به جیره غذایی گروه تیمار افزوده می‌شد. جهت مخلوط شدن یکنواخت مکمل ابتدا مکمل را در ۱۰ کیلوگرم از کنسانتره مخلوط کرده و بعد به کل کنسانتره مصرفی انتقال داده می‌شد تا از پخش یکنواخت مکمل در تمامی کنسانتره اطمینان حاصل شود. گروه شاهد با جیره غذایی مشابه ولی فاقد مکمل مس و روی تغذیه می‌شدند. در هر فصل از گاوها نمونه خون وداجی اخذ گردید تا میزان سرمی مس و روی اندازه‌گیری شود. بدین منظور از کیت بیوشیمیایی (Randox[®] Laboratories Ltd., UK) و روش بیوشیمیایی رنگ سنجی و دستگاه اتوآنالایزر (AlcyonTM, 300, Abbott Lab., Illinois, USA) بهره گرفته شد. همچنین همزمان وضعیت سلامت، بروز لنگش و بیماری‌های تولید مثلی دام‌های تحت مطالعه در پایان هر فصل ثبت گردید. در نهایت یافته‌های حاصل توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۱۷ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند که بدین منظور برای مقایسه داده‌های کمی بین دو گروه در زمان‌های مختلف از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) و جهت مقایسه داده‌های کیفی از آزمون آماری کی دو بهره گرفته شد.

یافته‌ها

میزان مس و روی اندازه‌گیری شده در این مطالعه و همچنین فراوانی لنگش، سقط جنین و جفت ماندگی در طول یک سال به ترتیب در جدول ۱ و جدول ۲ خلاصه شده است. نتایج حاصل نشان دهنده افزایش معنی‌دار مس و روی سرم متعاقب استفاده از مکمل خوراکی حاوی این عناصر بود. در پایان دوره درمانی با مکمل خوراکی در مقایسه با ابتدای دوره درمانی میزان لنگش ($p < 0/01$)، جفت ماندگی ($p < 0/05$)، سقط جنین ($p < 0/05$) و روزهای باز ($p < 0/05$) به طور معنی‌داری کاهش یافت. مقایسه گروه تیمار و شاهد نیز موید وجود تفاوت معنی‌دار در میزان ابتلا به لنگش، ورم پستان و جفت ماندگی بین دو گروه بود ($p < 0/01$). متوسط تعداد روزهای باز در شروع این مطالعه ۲۰۱ روز بوده که در پایان آزمایش به ۱۸۷ روز کاهش پیدا کرد که نشان دهنده تاثیرات مثبت مکمل بر شاخص‌های تولید مثلی در گله می‌باشد.

جدول ۱- میزان مس و روی سرم در گاوهای گروه تیمار و شاهد

فصل	مس (µg/dl)		روی (µg/dl)	
	تیمار	شاهد	تیمار	شاهد
بهار	^a ۱۲۴،۵۰	^a ۱۴۴،۲۶	^a ۳۹،۹۰	^a ۴۵،۸۹
تابستان	^b ۱۴۲،۸۶	^a ۱۴۰،۹۳	^b ۴۶،۴۴	^a ۴۶،۵۶
پاییز	^c ۱۵۴،۲۲	^b ۱۲۵،۶۹	^b ۴۸،۲۰	^a ۴۴،۰۶
زمستان	^d ۱۶۹،۳۰	^b ۱۲۴،۳۶	^c ۵۶،۶۰	^a ۴۷،۸۶

a, b, c, اعداد غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار

می‌باشد.

جدول ۲- فراوانی لنگش، سقط جنین و جفت ماندگی در گاوهای گروه تیمار

فصل	لنگش	سقط جنین	جفت ماندگی
بهار	۶	۱	۱
تابستان	۲	۰	۰
پاییز	۱	۰	۰
زمستان	۱	۰	۰

بحث و نتیجه گیری

طبق نتایج حاصل از سنجش میزان مس و روی سرم و نیز ثبت میزان ابتلا به لنگش، جفت ماندگی و سقط جنین در گاوهای هلشتاین تحت مطالعه، افزایش سطح سرمی این عناصر همزمان با کاهش میزان ابتلا به بیماری‌های تولیدمثلی و لنگش مشخص گردید.

در مطالعه‌ای که توسط Moore و همکاران انجام گرفت مشخص شد که متعاقب افزودن مکمل روی (۲۰۰ میلی‌گرم در روز) به جیره غذایی دام‌ها، موارد بروز گندیدگی سم و درماتیت به طور معنی‌داری کاهش یافت (۲۴). کمبود روی موجب آسیب به سم می‌گردد. از لحاظ تئوری، روی به واسطه افزایش سرعت ترمیم و میزان بازسازی بافت پوششی موجب تقویت سم می‌شود (۲۹). همچنین روی نقش مهمی در شکل‌گیری کراتین دارد. مطالعات زیادی نشان دادند که روی موجب تقویت انسجام سم می‌شود (۲۴ و ۲۹)

مس موجب افزایش ساختار کشتی و الاستیسیته بافت همبند و عروق خونی و افزایش مقاومت بافت شاخی مثل سم می‌شود (۲۷). آبه در سم و ترک پاشنه ممکن است ناشی از کمبود مس و اختلال در عملکرد و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز باشد (۱۸). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مس- روی در بافت سم وجود دارد و نقش آن جلوگیری از اکسیده شدن چربی‌ها و روغن‌هاست. آسیب اکسیداتیو در چربی‌ها درزگیری حفاظتی و نفوذناپذیری را در سم از بین می‌برد. مس همچنین در آنزیم‌های مورد نیاز برای متابولیسم هوای در تقسیم سریع سلولی دخالت دارد و برای فعالیت آنزیمی که اتصالات متقاطع سولفور که لایه‌های کراتین را به همدیگر نگه می‌دارد، لازم است. لذا کمبود مس یا روی در گاو با اختلالات بافت پا، شکاف‌های سم، خونریزی‌های کف سم و آبه‌های آن و در نهایت لامینایتیس توأم بوده و زمانی که این مواد معدنی به جیره افزوده می‌شوند این مشکلات کاهش یافته و ارزیابی مقدار ریز مغذی‌ها در جیره

یک توصیه معمول برای گاوهای با مشکلات سم مثل لامینایتیس می‌باشد (۴).

Manspeker و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که میزان باروری در گاوهایی که از مواد معدنی آلی استفاده کردند، نسبت به گاوهایی که از مواد معدنی غیرآلی استفاده کردند، بیشتر بود که نشان دهنده تقویت و ترمیم بافت رحم پس از زایمان بود (۲۰). در بررسی که توسط Ahmed و همکاران (۱۹۹۹) صورت گرفت به این نتیجه رسیدند که ارتباط تنگاتنگی بین میزان عناصر کمیاب با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتیون پراکسیداز و کاتالاز وجود دارد. همچنین دریافتند که استرس اکسیداتیو با میزان بروز جفت ماندگی در ارتباط است (۱). استرس اکسیداتیو موجب آسیب به دیواره گلبول سفید شده و سلامتی حیوان را به خطر می‌اندازد؛ در نتیجه مس و روی از طریق آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سلامت گله را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۲۲). برای مثال در حیواناتی که دچار کمبود مس و روی بوده‌اند، میزان ابتلای آنها به بیماری‌هایی مثل متریت و ورم پستان بیشتر بوده است (۱۰). لذا سلامتی تولید مثلی حیوان به خطر افتاده و تعداد روزهای باز افزایش می‌یابد. در مطالعه‌ای که Johns و همکاران (۱۹۹۱) انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که استفاده از مکمل معدنی با منابع طبیعی نسبت به منابع غیر طبیعی موجب افزایش میزان باروری گله می‌شود (۱۷).

Akar و Yeldiz در سال ۲۰۰۵ به بررسی میزان سرمی برخی مواد معدنی همچون کلسیم، منگنز، روی و پتاسیم و ارتباطشان را با میزان جفت ماندگی و سقط جنین در گاو پرداختند. در گاوهایی که جفت مانده بودند میزان کلسیم و روی به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل پایین بود. میزان سرمی روی در گاوهایی که سابقه سقط جنین داشتند، نسبت به گاوهایی که جفت ماندگی داشتند نیز بیشتر بود (۳). در مطالعه‌ای که توسط Ahloa و همکاران در سال ۲۰۰۴ به مدت ۲ سال و بر روی گاوهای دو رگ صورت گرفت، تاثیر مفید

در نهایت با توجه به یافته‌های ثبت شده و افزایش مقادیر سرمی مس و روی همزمان با کاهش میزان ابتلا به بیماری‌های اندام حرکتی و افزایش کارایی تولید مثلی، می‌توان پیشنهاد داد که استفاده از عناصر کمیاب همچون مس و روی در روند بهبود شاخص‌های تولید مثلی و ابتلا به لنگش و در نتیجه افزایش بازده گله مفید است.

سپاسگزاری

این اثر برگرفته از طرح پژوهشی است که با استفاده از اعتبارات و حمایت مالی انجمن علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به انجام رسیده است که بدین وسیله از حمایت‌های مسئولین آن واحد کمال تشکر را داریم. همچنین از آقایان دکتر منصور وطن‌خواه و مهندس جمالی که در مراحل اجرایی این تحقیق کمال همکاری را داشتند، تشکر می‌نمایم.

استفاده از مکمل عنصر روی بر میزان باروری نشان داده شد (۲).

روی در ترشح هورمون‌های تولید مثلی دارای نقش مهمی می‌باشد (۲۲). همچنین روی برای بلوغ جنسی و تولید مثل و شروع اولین فحلی ضروری و دارای اهمیت است. روی نقش مهمی در بازسازی و سرعت در برگشتن رحم به عملکرد تولید مثلی و فحلی در بعد از زایمان دارد. کمبود روی به طور مستقیم موجب افزایش میزان جفت ماندگی می‌شود (۱۳). همچنین روی موجب افزایش سطح سرمی بتا-کاروتن می‌گردد (۲۳) که افزایش سطح سرمی بتا-کاروتن نیز به افزایش میزان باروری و رشد جنین می‌انجامد. روی از طریق کاهش لنگش موجب افزایش و بهبود نشان دادن علایم فحلی و در نتیجه افزایش میزان باروری گله می‌شود. همچنین در بعضی از مطالعات به تاثیر استفاده از مکمل روی در برطرف کردن و کاهش میزان برخی از مشکلات تولید مثلی از جمله کیست تخمدانی و جفت ماندگی اشاره شد (۷، ۱۶ و ۲۲).

منابع

1. Ahmed, W.M., El-Ekhnawy, K.I., Desouky, H.M., Zaabal, M.M. and Ahmed, Y.F. 1999. Investigations on retained fetal membranes in Friesian cows in Egypt. *Global Veterinaria*, 3(2):120-124.
2. Ahola, J. K., et al., 2004. Effect of copper, zinc, and manganese supplementation and source on reproduction, mineral status, and performance in grazing beef cattle over a two-year period. *J Anim. Sci.* 82:2375-2383.
3. Akar, Y. and Yeldiz, H. 2005. Concentrations of some minerals in cows with retained placenta and abortion. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.* 29:1157-1162.
4. Arthington, J.D., Johnson, K.R., Corah, L.R., Williams, C.L. and Hill, D.A. 1995. The effect of dietary zinc level and source on yearling bull growth and fertility. *J. Anim. Sci.* 73:277
5. 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.
6. Ballantine, H.T., Socha, M.T., Tomlinson, D.J., Johnson, A.B., Fielding, A.S., Shearer, J. K. and Van Amstel, S.R. 2002. Effects of feeding complexed zinc, manganese, copper, and cobalt to late gestation and lactating cows on claw integrity, reproduction, and lactation performance. *Prof. Anim. Sci.* 18:211-218.
7. Campbell, M.H. and Miller, J.K., 1998. Effect of supplemental dietary vitamin E and zinc on reproductive performance of dairy cows and heifers fed excess iron. *J. Dairy Sci.* 81, 2693-2699
8. Christoph, K. and Muelling, W. 2009. Nutritional Influences on Horn Quality and Hoof Health. *WCDS Advances in Dairy Technology* 21:283-291.
9. Clarkson, M.J., Downham, D.Y., et al. 1996. Incidence and prevalence of lameness in dairy cattle. *Vet. Rec.* 138:563-567.

10. Enjalbert, F., Lebreton, P., and Salat, O. 2006. Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: Retrospective study. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 90:459-466.
11. Gao, G., Yi, J., Zhang, M., Xiong, J., Geng, L., Mu, C. and Yang, L.G. 2007. Effects of iron and copper in culture medium on bovine oocyte maturation, preimplantation embryo development, and apoptosis of blastocysts. *J. Reprod. Dev.*, 53:777-784.
12. Geyer, H. 1998. The influence of biotin on horn quality of hooves and claws. In: 10th International Symposium on Lameness in Ruminants. Lucerne, Switzerland. pp:192-199.
13. Greene, L.W., Johanson, A.B., Paterson, J. and Ansotegui, R. 1998. Role of trace minerals in cow-calf cycle examined. *Feedstuffs Magazine* 70:37.
14. Green, L.E., Hedges, V.J., Schukken, Y.H., Blowey, R.W. and Packington, A.J. 2002. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 85:2250-2256.
15. Griffiths, L. M., Loeffler, S. H., Socha, M. T., Tomlinson, D. J., and Johnson, A. B. 2007. Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. *Anim. Feed Sci. Technol.* 137:69-83.
16. Harrison, J.H., Hancock, D.D., Conrad, H.R., 1984. Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 67, 123-132.
17. Johns, J.T., Gay, N., Aaron, D.K., Randolph, J.R. and Wyles, J.W., 1991. The effect of chelated minerals and protein level in conditioning rations on gain of newly weaned calves. *J. Anim. Sci.* 69: 25.
18. Linder, M.C. 1996. Copper. In: Present knowledge in nutrition. Ziegler, E.E. and Filer, L.J., ILSI Press, Washington, DC., 7th edition, pp:307-319
19. Lotthammer, K.H. 1982. Level of some blood parameters as indicators for liver disorder-their causes, relations to fertility and possibilities to prevent fertility problems. *Proceeding of XII World Congress Disease Cattle*, 1:527-532.
20. Manspeaker, J.E., Robl, M.G., Edwards, G.H. and Douglass, L.W. 1987. Chelated minerals: Their role in bovine fertility. *Vet. Med.* 82:951-956.
21. Marta Lopez-Alonso. A., Felipe. P., Marta. M., Cristina. C., Joaquin. R., Hernandez. A. and Jose Luis. B., 2005. Intracellular distribution of copper and zinc in the liver of copper-exposed cattle from northwest Spain. *The veterinary journal*, 170:332-338.
22. Miller, J.K., Brzezinska, S. and Madsen, F.C. 1993. Oxidative stress, antioxidants and animal function. *J. Dairy Science*, 76: 2812-2823.
23. Mohamadnia, A.R., 2008. The Role of Trace Minerals in Bovine Claw Horn Quality and Lameness. *Iranian. J. Vet. Sur.*(2).pp.133-140
24. Moore, C.L., Walker, P.M., Jones, M.A. and Webb, J.M. 198[^]. Zinc methionine supplementation for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71(1):152.
25. Mülling Ch., Bragulla, H., Reese, S., Budras, K.D. and Steinberg, W. 1999. How structures in bovine hoof epidermis are influenced by nutritional factors. *Anat. Hist. Embryol.* 28:103-108.
26. Noakes, D.E., Parkinson, T.J. and England, G.C.W. 2009. *Veterinary reproduction and obstetrics*. Elsevier, 9 Edition (Oxford), pp:427-460.
27. Nocek, E., Johnson, A.B. and Socha, M.T. 2000. Digital characteristics in commercial dairy herds fed metal-specific amino acid complex. *J. Dairy Sci.* 83:1553.
28. Siciliano-Jones, J. L., Socha, M. T., Tomlinson, D. J., and DeFrain, J. M. 2008. Effect of trace mineral source on lactation performance, claw integrity, and fertility of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 91:1985-1995.
29. Smart, M. and Cymbaluk, N.F. 1997. Role of nutritional supplements in bovine lameness-review of nutritional toxicities. In: *Lameness in cattle*. 3rd edition. W.B. Saunders Co., Philadelphia, pp:145-161.
30. Starcher, B.C., Hill, C.H., Madaras, J.G. 1980. Effect of zinc deficiency on bone collagenase and turnover. *J. Nutr.* 110:2095-2102.
31. Tomlinson, D.J., Muelling, Ch.K.W. and Fakler, T.M. 2004. Formation of Keratins in the Bovine claw: Roles of Hormones, Minerals, and Vitamins in Functional Claw Integrity. *J. Dairy Sci* 87:797-809.
32. Tomlinson, D.J., Socha, M.T. and DeFrain, J.M. 2008. Role of trace minerals in the immune system. Page 39-52. In: *Proc. Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop*. Grantville, PA.
33. Underwood. E.j. and Suttle, N.F. 1999. *The Mineral Nutrition of Livestock*, 3rd Edition. CABI publishing, New York, pp:283-342, 477-513.