

بررسی میزان مس و سوپراکسید دیسموتاز در خون گوسفندان مبتلا به پنومونی تب دار ارجاعی به کلینیک دام های بزرگ دانشگاه آزاد اسلامی تبریز

امیر پرویز رضایی صابر^{۱*}، یوسف داوودی^۲، محسن قوامی نثر^۳

۱- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز، تبریز-ایران.

۲- گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سراب، سراب-ایران.

۳- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز-ایران.

* نویسنده مسئول: aprs_1352@yahoo.com

Evaluation of blood copper's rate and SOD in sheep with febric pneumonia in large animal clinics of Islamic Azad University, Tabriz Branch

Saberi far, A.P.^{1*}, Davoodi, Y.², Ghavami Nasr, M.³

¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz-Iran.

²Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Sarab Branch, Sarab-Iran.

³Graduated From Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz-Iran.

Abstract

Pneumonia is one of the respiratory current diseases in sheep, that its cause can evaluated of viewpoint of effect of mineral deficiencies as copper that its deficiency have been recorded in Miandoab zone (Large animal clinic of Tabriz university) land. Copper effect in physiologic acts of difference parts of body specially in act of immune system is important completely thus copper apply via to corporation in structure of enzymes that have near relation with ability and power of body immune, its major act apply in formation of body immune. In this study, with meaning of copper serum assay and amount of SOD enzyme of blood of afflicted sheep to febric pneumonia returned to the clinic of large ruminants of Tabriz veterinary collogue that have been place in Miandoab, evaluated relation of to afflict to pneumonia with serum copper amounts and sheep blood SOD enzyme.

In this survey of 50 mature sheep that have been returned to with signs of fever pneumonia to the clinic in 1385 winter, applied bleeding and prepared blood serum and defined copper serum measure and amount of blood SOD enzyme of total blood sample.

On findings of this survey, of total numbers of studied 32 sheep (%64) there were decrease of copper serum measure so that 18 sheep (%36) hade severe deficiency and 14 sheep (%28) had low decrease. Also in 37 sheep (%74) of afflicted sheep of pneumonia, measure of SOD enzyme of sheep blood lower than normal state. Also in this study, meaningful difference there were among of SOD enzyme measure of afflicted sheep to copper deficiency in compare with SOD enzyme amount of sheep that were normal. Also in this survey, but defined there were statistical relation among of copper serum measure and SOD enzyme of blood sheep also there were meaningful relation among of to afflict to febric pneumonia disease in sheep and deficiency of copper serum measure and SOD enzyme of red blood cells ($p < 0.01$). *et. J. of Islamic. Azad. Univ., Garmsar Branch. 5,1: 61-65, 2009.*

Keywords: Copper, SOD, Sheep, Febric pneumonia

چکیده

پنومونی یکی از بیماریهای شایع تنفسی در گوسفندان بوده که علت آن را می توان از نقطه نظر تأثیر کمبودهای عناصر معدنی، از جمله مس که کمبود آن در خاک منطقه میاندوآب (کلینیک دامهای بزرگ دانشگاه تبریز) به اثبات رسیده است، مورد ارزیابی قرار داد. نقش مس در اعمال فیزیولوژیک قسمتهای مختلف بدن، بویژه سیستم ایمنی کاملاً قابل اهمیت است، بدین ترتیب که مس از طریق شرکت در ساختار آنزیمهایی که ارتباط نزدیکی با توانایی و قدرت ایمنی بدن دارند، نقش عمده خود را در شکل گیری سیستم ایمنی بدن ایفا می کند. در این مطالعه با اندازه گیری عیار سر می مس و مقدار آنزیم SOD خون گوسفندان مبتلا به پنومونی تب دار ارجاعی به کلینیک دام های بزرگ دانشکده دامپزشکی تبریز واقع در میاندوآب، رابطه بین ابتلاء به پنومونی با مقدار مس سرم و آنزیم SOD خون گوسفندان، مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی از ۵۰ رأس گوسفند بالغ که با علائم پنومونی تب دار در طول زمستان سال ۱۳۸۵ به کلینیک مراجعه می کردند، خونگیری و عیار سر می مس و مقدار آنزیم SOD خون آنها تعیین گردید. بر اساس یافته های این بررسی، از تعداد کل گوسفندان مورد مطالعه در ۳۲ رأس (۶۴ درصد) کاهش عیار سر می مس وجود داشت که از این تعداد ۱۸ رأس (۳۶ درصد) دچار کمبود شدید و ۱۴ رأس (۲۸ درصد) دچار کمبود مرزی مس بودند. ضمناً در ۳۷ رأس (۷۴ درصد) از گوسفندان مبتلا به پنومونی، میزان آنزیم SOD خون گوسفندان، پائین تر از حد نرمال بود. همچنین در این مطالعه اختلاف معنی داری بین میزان آنزیم SOD گوسفندان مبتلا به کمبود مس در مقایسه با مقدار آنزیم SOD گوسفندانی که از نظر عیار سر می مس در حد طبیعی بودند، وجود داشت. ضمناً در این بررسی نه تنها مشخص گردید که همبستگی آماری بین عیار سر می مس و آنزیم SOD خون گوسفندان وجود دارد، بلکه ارتباط معنی داری بین ابتلاء به بیماری پنومونی تب دار در گوسفندان و کمبود عیار سر می مس و آنزیم SOD گلبول های قرمز وجود دارد ($p < 0.01$). *مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، ۱۳۸۸، دوره ۵، شماره ۱، ۶۵-۶۱.*

واژه های کلیدی: مس، سوپراکسید دیسموتاز، گوسفند، پنومونی تب دار.



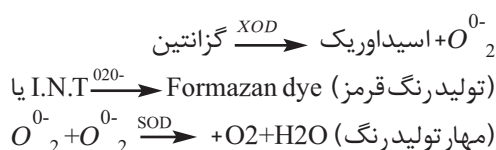
مقدمه

محققین اعتقاد دارند که نسبت مس به مولیبدن در جیره غذایی مهمترین عامل در وقوع کمبود مس می باشد. نسبت ۲ به ۱ را و در پاره ای موارد برای گوسفند ۵ به ۱ و برای گاو ۱۰ به ۱ مناسب و بدون خطر تشخیص داده اند (۶، ۱۶). با نظر به موارد اشاره شده لزوم چنین تحقیقی بیشتر آشکار می شود.

مواد و روش کار

از تعداد ۵۰ رأس گوسفند ماده بالغ نژاد قزل به ظاهر سالم و ۵۰ رأس گوسفند ماده بالغ نژاد قزل مبتلا به پنومونی تب دار ارجاعی به درمانگاه دام های بزرگ دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی می تبریز واقع در میاندوآب در طول فصل زمستان، پس از ارزیابی کامل بالینی دو نمونه خونی (یکی با ماده ضد انعقاد هپارینه و دیگری بدون ماده ضد انعقاد)، هر کدام به میزان ۵ سی سی، توسط لوله و نوجکت از ورید و داج، تهیه گردید. به گوسفندانی، مبتلا به پنومونی تب دار اطلاق می گردید که دارای دمای بالاتر از ۴۰ درجه سانتیگراد، سرفه خود بخودی یا در ملامسه نای، ریزش از بینی و تعداد حرکات تنفسی بالاتر از ۲۰ در دقیقه بودند.

نمونه های دارای ماده ضد انعقاد در یخچال تا موقع انجام آزمایشات نگهداری و از آن ها توسط سانتریفیوژ و سرم فیزیولوژی ۹/۱۰ درصد، خون شستشو داده شده تهیه گردید. سپس توسط کیت های Randox ساخت کشور انگلستان مقادیر SOD در گلبول های قرمز اندازه گیری گردید. نقش SOD تسریع دیسموتاسیون رادیکال های اکسیژن و تبدیل آن به H₂O₂ و O₂ می باشد. در این کیت ها از گزانتین و آنزیم گزانتین اکسیداز (XOD) استفاده گردیده است که رادیکال های اکسیژن تولید شده قادرند با ۲- (۴- یدوفنیل) - ۳- (۴- نیترو فنیل) - ۵ فنیل تترازولیوم کلراید (I.N.T) وارد واکنش شده و تولید فرمازان رنگی بکنند. فعالیت SOD بوسیله میزان مهار این واکنش (مهار تولید رنگ قرمز) اندازه گیری می شود (۹، ۱۵).



برای اندازه گیری جذب نوری نمونه ها و استانداردها از اسپکترو فو تو متر تک پرتوی Cecil ۳۰۰۰ ساخت انگلیس استفاده شد. جذب نوری در طول موج ۵۰۵ نانومتر و با استفاده از کووت کوارتز با حجم یک سانتی متر مکعب قرائت گردید. از نمونه های

در بین مواد معدنی، مس نقش برجسته و حیاتی در اعمال فیزیولوژیک بدن داشته و در ساختمان برخی از آنزیم ها شرکت می نماید، که این آنزیم ها برای ادامه حیات حیوان فوق العاده ضروری می باشد (۷، ۸، ۱۲، ۱۶). در کمبود این عنصر در اصل، نقص در اعمال آنزیم های وابسته مانند سوپراکسید دیسموتاز ایجاد می شود (۴). خساراتی که در اثر کمبود این عنصر ایجاد می شود گاه از بیماری های عفونی و اگیردار شدید تر بوده و از نظر اقتصادی جبران ناپذیر می باشد. این عنصر در تقویت سیستم ایمنی حیوانات دخیل بوده و به هنگام کمبود آن امراض عفونی و مشکلات باروری، ممکن است به طور گسترده شایع شود (۵، ۱۳، ۱۶، ۱۸).

مس با شرکت در ساختمان آنزیم های مختلف، در واکنش های گوناگونی نظیر اکسیداسیون و احیاء زنجیره الکترون و محافظت سلول ها در برابر رادیکال های آزاد عامل تخریب بافتی نقش دارد. مثلاً از طریق شرکت در ساختمان SOD در جلوگیری از تخریب دستگاه تنفس ایفای نقش می نماید (۴، ۱۶).

با توجه به این که بیماری های تنفسی مثل پنومونی گوسفندان، مشکلات فراوانی ایجاد کرده و ضرر های اقتصادی زیادی به دامداران وارد می نماید، می توان این بیماری را از دیدگاه کاهش فعالیت سیستم ایمنی بدن در سایه کمبود برخی از مواد معدنی، از جمله مس مورد بررسی قرار داد و رابطه ای بین ابتلا به پنومونی تب دار گوسفندان با کمبود میزان سرمی مس و برخی از آنزیم های وابسته به آن مثل سوپراکسید دیسموتاز (SOD) پیدا کرد (۲، ۱۰، ۱۱).

از دیگر اختلالات که به کمبود مس نسبت می دهند اسهال، عقیمی، اختلالات قلبی، فلجی، نقص در متابولیسم گلوکز و لپیدها می باشد (۲، ۳).

از سرم و پلاسما در اکثر مواقع جهت اطلاع از کمبود مس در حیوانات یک منطقه استفاده می شود. لازم بذکر است که مقدار مس خون زمانی کاهش می یابد که کبد از این عنصر بشدت تخلیه شده باشد و تا زمانی که میزان مس کبد در حد قابل قبولی باشد مس خون را تأمین می نماید (۱۶). عوامل متعددی بر میزان مس خون حیوانات در یک منطقه اثر می گذارند. جذب مس توسط گیاه بوسیله عده ای عوامل بازدارنده در خاک می تواند تحت تأثیر واقع شود. از مهمترین عوامل بازدارنده جذب مس توسط گیاه، بالا بودن مولیبدن و گوگرد خاک می باشد (۱، ۲، ۱۷). امروزه اکثر

مقادیر میانگین SOD خون (Iu/grHb)	مقادیر میانگین سر می مس (PPM)	درصد	تقسیم بندی گوسفندان پنومونیک بر اساس مقادیر مس سرم
1856 ± 66	1/17 ± 0/2	٪36	گوسفندان دارای مس سرمی نرمال (0/7-1/2ppm)
1566 ± 21	0/56 ± 0/17	٪28	گوسفندان دارای کمبود مس مرزی (0/4-0/7ppm)
1443/8 ± 60	0/27 ± 0	٪36	گوسفندان دارای کمبود مس شدید (<0/4ppm)

بحث و نتیجه گیری

طبق مطالعات انجام شده، کمبود مس و در نتیجه اختلال در ساخت آنزیم های وابسته به مس مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، می تواند سبب تضعیف سیستم ایمنی بدن گردد (2013). بر این اساس، گوسفندان مبتلا می توانند دچار عفونت های ثانویه مختلفی مانند پنومونی گردند (12). بر اساس مطالعات انجام شده، در منطقه میان دو آب، که کلینیک دام های بزرگ دانشگاه آزاد اسلامی تبریز در آن واقع می باشد. کمبود مس اولیه و ثانویه وجود دارد که هم بدلیل کم بودن مس خاک (کمبود اولیه بدلیل بارندگی زیاد در این منطقه و نوع خاک منطقه) و همچنین کاهش نسبت مس به مولیبدون، بالا بودن گوگرد و مولیبدن خاک که مانع از جذب مس توسط نباتات و حیوان می گردد (کمبود مس ثانویه)، می باشد (14). مقدار طبیعی مس خون 0/7-1/2 میکروگرم در هر میلی لیتر گزارش شده است و هر گاه مقدار مس بین 0/4-0/7 میکروگرم در هر میلی لیتر خون باشد، کمبود مس مرزی و ارقام پایین تر از 0/4 میکروگرم در هر میلی لیتر خون را بحرانی (شدید)، در نظر می گیرند (7). البته تاکنون تحقیقات وسیعی طی طرح ها و پایان نامه های متعدد در زمینه این عنصر حیاتی انجام گرفته است و لذا بررسی

بدون ماده ضد انعقاد، توسط سانتریفیوژ، سرم تهیه گردید و میزان مس در سرم گوسفندان توسط کیت های Randox ساخت کشور انگلستان مورد اندازه گیری قرار گرفت.

در PH برابر با 4/7، مس که به سرولوپلاسمین متصل می باشد، با یک ماده احیا کننده آزاد می شود. سپس با یک معرف رنگی مخصوص با نام

3.5-Di-Br-PAESA4-(3.5-Dibromo-2Pyridylazo)-N-Ethyl-N-(3-Sulphopropyl) aniline.

وارد واکنش شده تا تشکیل یک ترکیب شلاته رنگی پایدار نماید. مقادیر جذب نوری در دمای 37 درجه سانتیگراد و با طول موج 580 نانومتر و با کوتهای یک سانتیمتر مکعبی توسط دستگاه اسپکترو فوتومتر تک پرتوی Cecil 3000 ساخت انگلیس، قرائت گردید (9، 15).

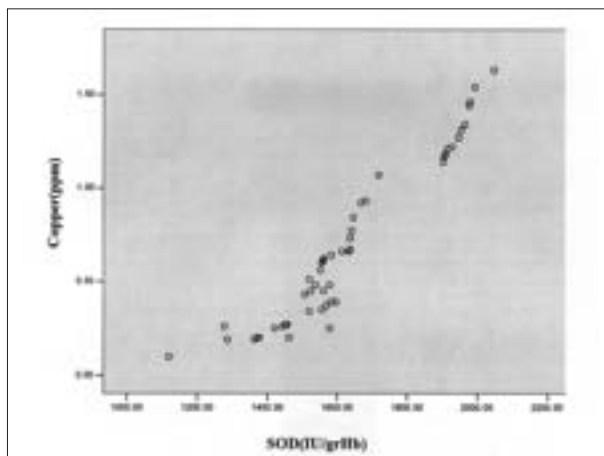
نتایج

الف) میانگین نتایج حاصل از اندازه گیری مقادیر مس و SOD در خون گوسفندان به ظاهر سالم و مبتلا به پنومونی ارجاعی به کلینیک دام های بزرگ دانشگاه آزاد اسلامی تبریز بر اساس جدول شماره یک تنظیم گردیده است.

جدول 1: نتایج حاصل از اندازه گیری مقادیر مس و SOD در خون

گوسفندان به ظاهر سالم و مبتلا به پنومونی

میانگین مقادیر مس خون بر حسب Iu/grHb (Mean ± 2SE)	میانگین مقادیر مس خون بر حسب PPM (Mean ± 2SE)	موارد اندازه گیری شده گوسفندان تحت مطالعه
2036/30 ± 57/65	1/11 ± 0/19	گوسفندان بظاهر سالم
1626/4 ± 60	0/67 ± 0/22	گوسفندان مبتلا به پنومونی



نمودار 1: پراکندگی مقادیر سر می مس و SOD خون گوسفندان مبتلا به پنومونی تب دار

ب) تقسیم بندی میانگین نتایج حاصل از جدول شماره یک و پراکندگی مقادیر سر می مس و SOD خون گوسفندان مبتلا به پنومونی تب دار ارجاعی به کلینیک دام های بزرگ دانشگاه آزاد اسلامی تبریز بر اساس جدول 2 و نمودار 1 تنظیم گردیده است.

جدول 2 - تقسیم بندی نتایج حاصله از اندازه گیری مس و SOD خون در گوسفندان مبتلا به پنومونی بر اساس مقادیر سر می مس بر طبق تقسیم بندی اسمیت و همکاران (2002).



بظاهر سالم با گوسفندان مبتلا به پنومونی با میزان مس نرمال، یافت نگردید ($p > 0/01$).

در ضمن ارتباط معنی داری ما بین مقادیر سرمی مس (کمبودهای شدید و مرزی) با موارد پنومونی تب دار بر طبق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه وجود دارد ($p < 0/01$).

هدف از این تحقیق، نشان دادن مقادیر SOD و مس خون در گوسفندان منطقه تحت بررسی و ارتباط مقادیر آن‌ها با وقوع پنومونی‌های تب دار گوسفندی بوده است که یکی از مهمترین بیماری‌های گوسفندان است. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که ارتباط کاملاً معنی داری بین مقادیر مس و SOD خون مبتلایان با ابتلاء آن‌ها به پنومونی تب دار وجود دارد و مقادیر سرمی مس بطور معنی داری می‌تواند در ابتلا یا عدم ابتلا گوسفندان منطقه میان دو آب به پنومونی تب دار، متفاوت باشد. که این مطلب هشدار دهنده بوده چرا که در دام در معرض کمبود مس، علاوه بر پنومونی‌های تب دار، مشکلات زیادی مانند، کاهش رشد، کاهش قدرت تولید مثلی و کاهش قدرت سیستم دفاعی بدن و افزایش حساسیت در برابر بیماری‌های عفونی متعدد، وجود خواهد داشت (۲، ۷، ۱۶، ۱۸).

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از آقای فرهاد فرهنگ پژوه که در اندازه گیری پارامترهای این تحقیق همکاری داشته اند نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

۱- رضایی، ص. امیر، پ. رضایی، ع. (۱۳۸۶) تغییرات فصلی مس خون گوسفندان و میزان مس، مولیدن و گوگرد خاک و علوفه مرتعی در شهرستان مهاباد، آذربایجان غربی، مجله علمی پژوهشی علوم دامپزشکی ایران، سال چهارم، شماره سوم، صفحه ۲۳۲-۲۲۷.

- Allcroft, R. (1999) Copper deficiency disorders in sheep and cattle in Britain. *J. Grass and Forage Science*, 3: 3-5.
- Anderson, B. C. (1990) Copper deficiency & posterior paralysis In Ruminants in the sultanate of oman. Animal research center Agriculture small Canada, Ottawa, 4(2):32- 34.
- Arthington, J. D., Corah, L. R., Blecha, F. (1996) The

ارتباط آن با یک بیماری عفونی و شایع در منطقه مثل پنومونی تب دار، مهم به نظر می‌رسید. به طوریکه بر آن شدید تا بوسیله این تحقیق تأثیر متقابل این عنصر بر پنومونی‌های گوسفندی که درصد قابل توجهی از مراجعه کنندگان به درمانگاه را شامل می‌شود، را اثبات کنیم.

بر اساس جداول ۲ و نمودار ۱، تعداد ۱۸ رأس (۳۶ درصد) از موارد ابتلا به پنومونی با میانگین سرمی مس $0/27 \text{ ppm}$ مبتلا به کمبود مس شدید بوده و ۱۴ رأس (۲۸ درصد) از موارد هم با میانگین سرمی مس $0/7 \text{ ppm} \pm 0/56$ مبتلا به کمبود مس مرزی می‌باشند. همچنین در ۷۴ درصد موارد ابتلا به پنومونی، مقادیر آنزیم SOD پایین تر از مقدار نرمال آن می‌باشد. همچنین مقادیر سرمی مس و SOD در گوسفندان بظاهر سالم به ترتیب $0/19 \text{ ppm} \pm 0/11$ ، $2036/30 \pm 57/65 \text{ IU/grHb}$ گزارش گردید.

مقادیر نرمال SOD در خون گوسفندان سالم بالاتر از $2000-5000 \text{ IU/grHb}$ بوده و موارد پائین تر از 2000 IU/grHb به عنوان کمبود یا کاهش در نظر گرفته می‌شود (۱۶).

با توجه به اینکه SOD یک آنزیم وابسته به مس می‌باشد، در این تحقیق نیز طبق آزمون آماری پیرسون، همبستگی بین مقادیر سرمی مس و آنزیم SOD در سطح $\alpha = 0/05$ وجود دارد که خود نیز تأییدی به گفته مذکور می‌باشد ($p < 0/01$).

بر طبق جداول ۲ و ۳ مشاهده می‌گردد که میانگین مقادیر آنزیم SOD خون گوسفندان بظاهر سالم و گوسفندان مبتلا به پنومونی که دارای میزان مس سرمی نرمال می‌باشند، بطور معنی داری بیشتر از مقادیر آن در گوسفندان پنومونیک مبتلا به کمبود شدید و مرزی مس می‌باشند ($p < 0/01$)، همچنین اختلاف معنی داری بر طبق آزمون تعقیبی Tukey در سطح $\alpha = 0/05$ ما بین مقادیر آنزیم SOD گوسفندان پنومونیک دارای کمبود مس شدید با مرزی وجود دارد ($p < 0/05$).

در این بررسی (جدول ۱، ۲) بر طبق آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) ما بین مقادیر سرمی مس در کمبودهای شدید و مرزی در مبتلایان به پنومونی با مقادیر نرمال، اختلاف معنی داری در سطح $\alpha = 0/05$ وجود دارد ($p < 0/01$).

همچنین بر اساس آزمون تعقیبی Tukey اختلاف معنی داری ما بین مقادیر سرمی مبتلایان به پنومونی مس در کمبودهای شدید با مرزی در سطح $\alpha = 0/05$ وجود دارد ($p < 0/01$).

همچنین بر اساس آزمون تعقیبی Tukey و جداول شماره ۲ و ۳، اختلاف معنی داری ما بین مقادیر سرمی مس در گوسفندان

- effect of Molybdenum - Induced copper deficiency on Acute- phase protein concentrations, superoxide Dismutase activity, leukocyte Numbers, and lymphocyte proliferation in Beef heifers and sheep Inoculated with Bovin Herpesvirus -1, *J. Anim. Science*, **74**: 211-217
5. Arthur, G.H., Noakes, H. P. (1996) Veterinary reproduction and obstetrics, 7th ed., W.B. Saunders Company, 379-380.
 6. Bondi, A. M., Arona, K. (1987) Animal Nutrition, 2st. Edition, Wiley Co, 172-179.
 7. Brad ford, P. S. (2002) Large Animal Internal Medicine, 3th ed, Mosby Company, 830.
 8. Engle, T.E., Felinver, V., Spears, W. (2001) Copper status, serum cholesterol, and milk fatty acid profile in holestin cows fed varying concentration of copper. *J. Dairy. Sci.*, **84**: 2308-2313.
 9. Furman, N. H. (1990) Standard Methods Of Chemical analysis. 6th ed, Allyn and Bacominic Company, Netherland, 770 -802 .
 10. Gartrell, J. (2004) Copper deficiency in sheep and cattle, Department of agriculture, farmnote, **28**: 94-98.
 11. Howard, J. (1986) Current Veterinary Therapy Food Animal Practice, 4th ed., W.B. Saunders, 205-655.
 12. Howell, M. C. C., Cawthorne, J. (1987) Copper In Animals and Man. Volume I, 2th ed, CRC. Press, USA, 1-53, 107 -123.
 13. Jones, D. G., Suttle, N. F. (2005) Some effects of copper deficiency on leukocyte function in sheep and cattle. *Res. Vet. Sci*, **31**: 151-153.
 14. Nouri, M., Razijalali, M. (2003) Copper deficiency in sheep from west Azarbaijan, *Iranian Journal of veterinary Research*, **4**(1): 57-63.
 15. Pesce, A.J., Kaplan, L.A. (1987) Methods in Clinical Chemistry, Mosby Company Toronto, 48-52.
 16. Radostits, O. M., Gay, CC., Hincheliff, K. W., Constable, P. D. (2007) Veterinary Medicine, A text book of the disease of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Tenth edtion, W.B. Saunders Elsevier pub, England, 1707-1722.
 17. Suttle, N. F., Jones, D. C. (1999) Copper and disease resistance in sheep: A rare natural confirmation of interaction between a specific nutrient and infection. *Proc. Nutr. Soc.*, **45**: 317-319.
 18. Ward, J.D. (1997) The effects of copper deficiency with or without high dietary iron or molybdenum on immune function of cattle, *J. Anim.Sci*, **75**(5): 1400-1408.

