نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۳، تابستان ۱۳۹۸
ص‌ص: ۱۴۹~۱۶۶

تأثیر سه منبع کروم بر صفات رشد، فراسنجه‌های تخمیر،جمعیت پروتوزآیی و برخی متابولیت‌های خون در بره‌های نر مهربانی

- **محمد ابراهیم نوریان سرور** (نویسنده مسئول)
استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه.
- **مسعود حقی قبادی**
دانشجو دکتری دامپزشکی ، گروه علوم پایه؛ دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه.
- **کیارش اسکندری**
دانش آموخته دکتری دامپزشکی ، گروه علوم پایه؛ دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه.
- **محمد مهدی معینی**
دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه.

تاریخ دریافت : اسفند ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش : شهریور ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۸۳۳۶۷۶۰۶
Email: menooriyan@razi.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.121012.1654

چکیده

هدف این مطالعه بررسی تأثیر سه منبع کروم (نانو، آلی و بُن‌زآ) بر عملکرد رشد، تخمیر شکمبه، برخی متابولیت‌های خونی و جمعیت پروتوزآیی بره‌های پرواری مهربانی بود. تعداد ۲۸ رأس بره نر مهربان (میانگین وزن ۲۷/۳۰ کیلوگرم) در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در چهار گروه ۷ رأسی به مدت ۶۳ روز در فصل سرما در آغل بدون سیستم گرمایش در دمای بین ٦- تا ١٤/٦ درجه سانتی‌گراد پروار شدند. مصرف خوراک روزانه بره‌ها ثبت و مایع شکمبه از طریق لوله مری جمع‌آوری شد (روز ٤٠ و٦٠ پروار) و نمونه‌های خون در روزهای ۱۵، ۳۰، ٤٥ و ٦٠ آزمایش از سیاهرگ وداج هر دام گرفته شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: شاهد (جیره پایه)، جیره پایه به علاوه ۸ میلی‌گرم کروم متیونین، جیره پایه به علاوه ۰/۸ میلی‌گرم کروم نانو(خلوص ۹۹درصد) و جیره پایه به علاوه ۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک کروم بن‌زآ (نانوکیلات). نتایج نشان داد بره‌های دریافت کننده کروم متیونین نسبت به تیمار شاهد وزن نهایی و افزایش وزن روزانه بیشتری داشتند (P=۰/۰۵). افزایش وزن نهایی بره‌های دریافت کننده مکمل نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (P=۰/۰۹). در مقایسه با تیمار شاهد، ماده خشک مصرفی بره‌های گروه کروم نانو کاهش و گروه کروم بن‌زآ افزایش یافت (P=۰/۰۰۱). ضریب تبدیل گروه‌های دریافت کننده کروم متفاوت از گروه شاهد نبود (P=۰/۱۱). میزان گاز تولیدی، تجزیه‌پذیری ماده آلی و انرژی متابولیسمی در بره‌های دریافت کننده کروم متیونین و کروم بن‌زآ در روز٦٠ آزمایش بالاتر از سایر گروه‌ها بود (P<۰/۰۰۱). نیتروژن آمونیاکی در بره‌های دریافت کننده کروم آلی و بن‌زآ در روزهای ٤٠ و ٦٠ نسبت به گروه‌های دیگرکاهش یافت (P<۰/۰۵). اسیدهای چرب فرار کل مایع شکمبه بره‌های مکمل شده با کروم در روز ٤٠ افزایش یافت (P=۰/۰۳). جمعیت پروتوزوآیی تحت تأثیر افزودن مکمل کروم به جیره قرار نگرفت (P<۰/۰۵). آلبومین سرم بره‌های دریافت کننده نانو کروم در مقایسه با گروه شاهد ۷/٤۲ درصد کاهش و غلظت اوره خون بره‌های دریافت کننده انواع مکمل کروم نسبت به گروه شاهد حداکثر ۲۵ درصد کاهش نشان داد (P<۰/۰۵). نتایج کلی نشان داد که اضافه نمودن کروم متیونین و کروم بن‌زآ سبب افزایش رشد بره‌ها شد ولی تأثیری بر جمعیت پروتوزوآ و سود ناخالص نداشت.

واژه‌های کلیدی: افزایش وزن روزانه، بره، پروتوزوآ، تخمیر شکمبه، کروم

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 123 pp: 149-166

Effects of three sources of chromium on growth traits, fermentation parameters, protozoa population and some blood metabolites in Mehraban male lambs

By: Mohammad Ebrahim Nooriyan Soroor1*, Haghi Ghobadi[2], M, Eskandari, K[3], Moeini, M.M[4]
1 Assistant Professor, Animal Science Department, Agriculture Faculty , Agricultural and Natural Resources Faculty, Razi University, Kermanshah, Iran
2 PhD Candidate in Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran.
3 PhD Candidate in Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran.
4 Associate Professor, Department of Animal Science, Agricultural and Natural Resources Faculty, Razi University, Kermanshah, Iran.

Received: March 2018 **Accepted: September 2018**

The aim of this study was to evaluate the effect of three sources of chromium (Nano-Cr, Met-Cr and Bonza-Cr) on growth performance, ruminal fermentation, some blood metabolites and rumen protozoan population in Mehraban fattening lambs. Twenty-eight lambs 7 month of age (mean body weight of 27.30 ± 3.98 kg), were randomly allocated to four dietary treatments for 63 days during winter season, -6 to 15 centigrade, using completely randomized design. Daily dry matter intake was recorded, rumen liquor was collected via esophageal tube (days 40 and 60) and blood samples were taken on days 15, 30, 45 and 60 of experiment through the jugular vein of lambs. The experimental treatments were: Control (basal diet), basal diet plus 8 mg/Kg DM Met-Cr, basal diet plus 0.8 mg/Kg DM Nano-Cr and basal diet plus 0.8 mg/Kg DM of Bon-Cr (synthesized by Sodour Ahrar Shargh Company using nano chelating technology). The results showed that, lambs received Met-Cr had more final body weight and average daily gain compare to control (P<0.05). Supplemented groups also tended to have more final body weight than control lambs (P=0.09). The dry matter intake of lambs in Nano-Cr group was decreased (P=0.001) and of lambs in Bon-Cr group was increased (P=0.001) compared with control group. The feed conversion ratio of Cr supplemented groups were not different from that of control group (P=0.11). The gas production, organic matter degradability and metabolizable energy in lambs receiving Met-Cr and Cr-Bonza on day 60 were higher than those of other groups (P< 0.001). The ammonia nitrogen decreased (P< 0.05) in lambs receiving Met-Cr and Bon-Cr compared to other groups on days 40 and 60 of experiment. Total volatile fatty acids of rumen liquor of lambs supplemented with Cr were increased (P=0.03) compare to control on day 40 of experiment. The protozoa count did not influence due to incorporation of Cr to diet (P>0.05). The serum albumin of lambs received Nano-Cr and blood urea concentration of Cr supplemented animals were affected (P<0.05). The overall results indicated that the addition of Met-Cr and Bonza-Cr increased the growth of lambs, but it did not affect the population of protozoa and gross profits.

Key words: average daily gain; lamb; protozoa; rumen fermentation; chromium.

مقدمه

تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تأثیر کروم بر صفات رشد، تخمیر شکمبه و پروتوزوآ در شرایط سرد سالن و کمتر از دمای مطلوب پرورش بره‌ها (۱۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد) (Rodriguez و همکاران، ۲۰۱۶) گزارش نشده است؛ هر چند این دمای مطلوب متعلق به گوسفندان غیر ایرانی است. گوسفند مهربانی بومی مناطق سردسیر بوده و در شرایط تنش سرمایی ممکن است رشد کمتری داشته باشند. اگر چه نیاز غذایی گوسفندان به کروم دقیقاً مشخص نیست ولی در زمان استرس افزایش‌می‌یابد (Suttle، ۲۰۱۰). کروم در نشخوارکنندگان برای بهبود سوخت‌وساز ضروری است (NRC ، ۲۰۰۷) و احتمال می‌رود سبب بهبود صفات رشد در تنش سرمایی گردد. پاسخ متابولیکی کرم به فرم شیمیایی آن بستگی دارد و تأثیر نوع آلی آن نسبت به غیرآلی بیشترآن است

(Page و همکاران، ۱۹۹۳) و مشخص شده است قابلیت جذب انواع کروم آلی (کروم-متیونین) ۲۰ تا۳۰ درصد بیشتر از نوع غیر آلی آن است (Mowat ، ۱۹۹۷).

مطالعات نشان داده است استفاده از مکمل آلی کروم در گوساله-های پرواری افزایش وزن و خوراک مصرفی را بهبود داده است (Boakye و Mittal، ۱۹۹۳). در مطالعه Soltan و همکاران (۲۰۱۲) استفاده از مکمل کروم افزایش وزن گوساله‌ها را نسبت به شاهد ۷/۵ درصد بهبود بخشیده است. همچنین استفاده از کروم (صفر، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌گرم در هر کیلوگرم ماده خشک) در گوساله‌ها افزایش وزن و ضریب تبدیل را در طی ۵۶ روز بهبود بخشید (Bernhard وهمکاران، ۲۰۱۲). در بره‌های پرواری نیز استفاده از سه سطح کروم (۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ میلی‌گرم در هر کیلوگرم)، فقط سطح ۰/۳ میلی‌گرم در مقایسه با شاهد وزن نهایی بره‌ها را (از ۴۶/۱ کیلوگرم به ۴۹/۱ کیلوگرم) افزایش داده است (Kraidees و همکاران، ۲۰۰۹). در بزها نیز مکمل معدنی کروم ضریب تبدیل خوراک و افزایش وزن روزانه را بهبود بخشیده است (Halder و همکاران، ۲۰۰۷). در بره‌های پرواری سنجابی نیز استفاده از ۰/۸ میلی‌گرم کروم نانو و کروم متیونین نشان داد که کروم آلی نسبت به دو گروه شاهد و کروم نانو، می‌تواند افزایش وزن روزانه را (۱۶۵ گرم در مقابل ۱۴۰ و ۱۴۶ گرم در روز) بدون تاثیر بر ضریب تبدیل و ماده خشک مصرفی بهبود ببخشد (قیصری، ۱۳۹۵).

بر خلاف نتایج فوق، در مطالعه Emami و همکاران (۲۰۱۳) افزودن سه سطح کروم-متیونین (۰/۵ ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در روز) در جیره پرواری بزهای نر مهابادی نیز هیچ گونه تاثیری بر صفات وزن نهایی، افزایش وزن روزانه، ماده خشک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک و همچنین غلظت نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار نداشته است. در این بزها، تعداد پروتوزوآ کاهش نشان داد. همچنین؛ افزودن۲۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم کروم آلی (نیکوتنیک کروم) ماده خشک مصرفی بره‌های شال را کاهش ولی تأثیری بر وزن‌ها هفته ۶ و ۱۲، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک آنها نداشته است؛ در این مطالعه تفاوتی بین کروم آلی و معدنی مشاهده نشده است (Mostaf-Tehrani و همکاران،۲۰۰۶). همچنین؛ استفاده از مکمل کروم (۰/۲۵ میلی-گرم در هر کیلوگرم ماده خشک) در جیره دو نژاد سافولک و رامبویه (Arvizu و همکاران، ۲۰۱۱) و ۰/۲۵۰، ۰/۳۷۵ و ۰/۵۰۰ میلی‌گرم کروم در هر روز در جیره بره‌ها (Dallago و همکاران، ۲۰۰۱) تأثیری بر افزایش وزن روزانه و وزن زنده نهایی بره‌ها نداشت. افزودن ۰/۸ میلی‌گرم کروم آلی پیکولینات (Besong و همکاران، ۲۰۰۱) و ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌گرم کروم متیونین (Kegley و همکاران، ۲۰۰۰) در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گوساله گوشتی به روش دام زنده تأثیری بر ماده خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه و غلظت اسیدهای چرب فرار کل مایع شکمبه آنها نداشته است. جمعیت پروتوزوآیی در گوسفندان تغذیه شده با کروم آلی نیز کاهش نشان داده‌اند (Dallago وهمکاران، ۲۰۱۱).

کروم نانو و بن‌زآ از جدیدترین منابع آلی کروم هستند که به غیر از نوع کروم-متیونین ارایه شده‌اند. تاثیرات آنها بر صفات رشد، تخمیر شکمبه و پروتوزوآ خصوصاً در شرایط سرما و کمتر از دمای مطلوب بره‌های پرواری مورد بررسی قرار نگرفته است. لذا این مطالعه با هدف بررسی تأثیر انواع کروم آلی، نانو و بن‌زآ بر صفات مذکور در شرایط کمتر از حد مطلوب بره‌های مهربان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در فصل زمستان، تعداد ۲۸ رأس بره‌ی نر ۷ ماهه مهربان (متوسط وزن۲۷/۳ کیلوگرم) به صورت تصادفی در چهار گروه ۷ رأسی تقسیم بندی و در باکس‌های انفرادی برای مدت ۷۷ روز (۱۴ روز عادت پذیری و ۶۳ روز آزمایش) نگهداری شدند. بره‌ها در مدت ۶۳ روز آزمایش اصلی دسترسی آزاد به جیره پرواری کاملاً مخلوط (TMR) و آب داشتند و روزانه در ساعات ۸ صبح، ۱۳ و ۱۹ عصر تغذیه می‌شدند. کل مدت ۶۳ روز پروار به سه دوره ۲۱ روزه تقسیم و نسبت علوفه به کنسانتره در دوره اول، دوم و سوم به ترتیب ۴۰ به۶۰؛ ۳۰ به ۷۰ و ۲۵ به ۷۵ بود.

جدول ۱ - اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره‌ی آزمایشی (درصد ماده خشک مصرفی)

ردیف	اجزاء جیره	سه هفته اول	سه هفته دوم	سه هفته سوم
۱	یونجه	۴۰	۳۰	۲۵
۲	ذرت	۱۶	۱۸	۲۱/۲۵
۳	جو	۱۷	۱۹	۱۹
۴	کود مرغی فرآوری شده	۱۳	۱۵	۱۶
۵	سبوس	۹/۷۵	۱۴/۲	۱۵
۶	نمک	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
۷	اوره	۱	۰/۳	۰
۸	بی‌کربنات سدیم	۱	۱/۲۵	۱/۵
۹	مکمل معدنی*	۱/۵	۱/۵	۱/۵
۱۰	دی کلسیم فسفات	۰/۵	۰/۵	۰/۵
	سهم کنسانتره به علوفه	۶۰ به ۴۰	۷۰ به ۳۰	۷۵ به ۲۵
	ترکیب شیمیایی جیره			
۱	ماده خشک	۹۰/۱۲	۹۰	۹۰
۲	انرژی قابل سوخت وساز (مگا کالری/ کیلوگرم ماده خشک)	۲/۷	۳/۰	۳/۵۳
۳	پروتئین خام (درصد)	۱۴/۵	۱۳/۱۷	۱۲
۴	پروتئین خام (گرم در روز)	۱۷۴	۱۷۰	۱۸۵
۵	پروتئین قابل متابولیسم (گرم در روز)	۱۱۸	۱۲۹	۱۴۶
۶	الیاف شوینده‌ی خنثی (درصد)	۳۲	۳۱	۳۰
۷	الیاف شوینده‌ی اسیدی (درصد)	۲۴/۲۶	۲۳	۲۲

*کلسیم ۱۰۰، فسفر ۴۰، منیزیم ۲۰ گرم و روی ۴۷۶۵، کبالت ۵۰ ، ید ۷۱/۵ ، سلنیوم ۳۵/۵ ، منگنز ۳۰۰۰، مس ۱۱۹۰،بیوتین ۵۰ ، کولین پوشش دار ۷۰۰۰۰ و مونسین ۱۲۵۰ میلی‌گرم. ویتامین E ۳۰۰۰ ، ویتامین A ۹۵۵۰۰۰ و ویتامین D3 ۲۰۰۰۰ واحد بین المللی(شرکت پارس مین ویت).

تیمارهای مورد مطالعه (جیره‌ها) عبارت بودند از: ۱؛ شاهد (جیره پایه)، ۲؛ جیره پایه به علاوه ۸ میلی‌گرم کروم متیونین(آلی) (شرکت صدور احرار شرق)، ۳؛ جیره پایه به علاوه ۰/۸ میلی‌گرم کروم نانو(خلوص ۹۹درصد) و ۴؛ جیره پایه به علاوه ۰/۸ میلی-گرم در هر کیلوگرم ماده خشک جیره کروم بن‌زآ (نانوکیلات- شرکت صدور احرار شرق). کروم بن‌زآ با استفاده از تکنولوژی نانو کیلات سنتز شده است. مقادیر کروم ابتدا با سبوس مخلوط و قبل از توزیع غذا با تحریک بره‌ها به خوردن، در آخور آنها ریخته شده و بره‌ها کاملاً سبوس حاوی کروم را استفاده کردند. جیره پایه سه دوره ۲۱ روزه پروار (۶۳ روز) بر اساس توصیه انجمن ملی تحقیقات گوسفندان (۱۹۸۵) برای بره‌های با افزایش وزن ۳۰۰ گرم در روز متوازن گردید (جدول ۱). بر اساس پیشنهاد انجمن ملی تحقیقات (۱۹۸۵) ، با افزایش سن نیاز دام به انرژی افزایش و پروتئین کاهش می‌یابد. لذا نیاز دام‌ها در سه جیره برای سه دوره ۲۱ روزه طراحی شد به نحوی که با افزایش سن پروتئین و انرژی به ترتیب کاهش و افزایش داشت.

آزمایش از ۲۸ آذر ماه ۱۳۹۴ شروع و تا ۳۰ بهمن به مدت ۶۳ روز ادامه پیدا کرد. در طی این مدت دمای آغل به صورت روزانه ثبت گردید (جدول ۲).

جدول ۲ - کمینه، بیشینه و میانگین دمای آغل در طول مدت آزمایش.

زمان آزمایش	دمای سالن (سانتی‌گراد)		
هفته	کمینه دما	بیشینه دما	متوسط دما
دو هفته سازگاری	-۱/۴	۱۰/۰	۴/۱
اول	-۱/۵	۸/۵	۳/۱
دوم	-۱/۹	۹/۷	۳/۵
سوم	۰/۰۰	۷/۳	۳/۵
چهارم	-۳/۲	۱۱/۴	۳/۷
پنجم	-۲/۰	۱۴/۶	۶/۴
ششم	-۱/۳	۵/۴	۲/۰
هفتم	-۶/۰	۸/۴	۱/۳
هشتم	-۲/۳	۱۱/۵	۴/۳
نهم	-۳/۴	۱۱/۸	۴/۷
کل	-۲/۴۷	۱۰/۴۸	۳/۸۸

مقادیر مصرفی و باقیمانده خوراک هر بره به صورت روزانه ثبت و به صورت هفتگی از خوراک مصرفی و باقیمانده نمونه‌هایی برای تعیین آنالیز تقریبی (ماده خشک، ماده آلی، عصاره اتری، پروتئین خام، فیبر نامحلول در شوینده خنثی، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (AOAC،۱۹۹۵) در کیسه‌های پلاستیکی نگهداری شد. به این صورت که روزانه از جیره مورد استفاده یک کیلوگرم برداشته و در پایان هفته کلیه خوراک‌ها جمع‌آوری شده مخلوط و یک نمونه از آن برداشته شد. در پایان کلیه نمونه‌های هر هفته نیز با دقت تمام با هم مخلوط و آسیاب شد. سپس به چهار دسته تقسیم و مشابه تیمارها به آنها کروم افزوده و مخلوط گردید. مقدار ماده خشک جیره، خاکستر، پروتئین‌خام، عصاره اتری و NDF بر اساس روش‌های استاندارد تعیین گردید (AOAC،۱۹۹۵).

با هدف دستیابی به صفات رشد و ضریب تبدیل خوراک، بره‌ها هر هفته و در طی ۹ هفته پیاپی و به صورت ناشتا در صبحگاه با ترازوی دیجیتال وزن کشی شدند.

آزمون تولید گاز

این بخش از آزمایش با هدف اندازه‌گیری فراسنجه‌های تخمیر گاز تولیدی، انرژی قابل سوخت و ساز، تجزیه پذیری ماده آلی و ضریب تفکیک پذیری (میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده بخش بر گاز تولیدی) جیره‌های آزمایشی چهار تیمار انجام شد. لذا مایع شکمبه در روزهای ۴۰ و ۶۰ آزمایش و در حالت ناشتا با استفاده از لوله‌ی مری از همه گوسفندان چهار تیمار دریافت شد، و توسط چهار فلاسک جداگانه برای هر چهار تیمار به آزمایشگاه منتقل شد. در شرایط بی‌هوازی مایع شکمبه با نسبت یک به دو؛ با بافر بی‌کربنات مخلوط و سپس میزان ۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه‌ی بافری به هر یک از بطری‌های ویتن حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم جیره‌ی پایه (جدول ۱) اضافه شد (Menke و Steingass، ۱۹۸۸). از هر فلاسک تعداد ۷ تکرار (۷ بطری ۱۲۰ میلی لیتری) و به تعداد کل ۲۸ بطری؛ تهیه گردید. محیط‌های تخمیر یا همان بطری‌های ویتن ۱۲۰ میلی‌لیتری (Wheaton Bottle) و محتویات داخل آن در دمای ۳۹ درجه سلسیوس و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری (انکوباسیون) شد.

انرژی قابل سوخت و ساز تیمارهای مورد مطالعه با استفاده از رابطه (۱) برآورد گردید (Menke و همکاران، ۱۹۷۹).

$$ME_{MJ/kg\ DM} = [(۲/۲) + (۰/۱۳۶ \times GP) + (۰/۰۰۵۷CP) + (۰/۰۰۰۲۹ \times EE^2)] \quad \text{(رابطه۱)}$$

که در این رابطه؛ME انرژی قابل سوخت و ساز (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، GP: گاز تولیدی ساعت ۲۴ (میلی لیتر)، CP: پروتئین خام (گرم در کیلوگرم ماده خشک)، و EE: عصاره اتری (گرم در کیلوگرم ماده خشک) بود.

ماده‌ی آلی تجزیه شده(OMDe) نیز به کمک رابطه ۲ محاسبه شد (Vercoeو همکارن، ۲۰۱۰).

$$OMDe\ (mg) = c - (a - b) \qquad \text{(رابطه ۲)}$$

که در معادله مذکور OMDe: ماده آلی تجزیه نشده برحسب میلی‌گرم؛ c :مادهٔ آلی وزن شده در هر بطری (میلی‌گرم) ، a مقدار مواد تجزیه نشده در هر بطری(a mg)، b مقدار خاکستر مواد تجزیه نشده در هر بطری (b mg) است.

بعد از اندازه‌گیری حجم گاز تولیدی در طی ۲۴ ساعت نگهداری درگرمخانه، محتویات داخل بطری شیشه‌ای ویتن به داخل یک بشر انتقال داده شد و توسط محلول شوینده خنثی و حرارت به مدت یک ساعت در دستگاه مجهز به سرد کننده شسته شد. سپس محتویات داخل محلول شوینده توسط کاغذ صافی بدون خاکستر تصفیه و باقی مانده توسط آون در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس، به مدت ۱۰ ساعت خشک شد. با کسر نمودن وزن بوته خالی از بوته با محتویات بعد از آون، مقدار مواد تجزیه نشده در هر بطری (a) محاسبه شد. سپس بوته و محتویات داخل آن به کوره انتقال داده شد و در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس مقدار خاکستر آن (b) محاسبه شد. با کسر نمودن مقدار b از a ، ماده آلی تجزیه نشده برحسب میلی‌گرم محاسبه شد.

نیتروژن آمونیاکی و کل اسیدهای چرب فرار

در روزهای ۴۰ و ۶۰ آزمایش و در حالت ناشتا (۷/۳۰ صبح) با استفاده از لوله‌ی مری از همه گوسفندان و از هر گوسفند مقدار ۵۰ سی‌سی مایع شکمبه دریافت شد. دقیقاً پس از گرفتن مایع شکمبه از گوسفندان شاهد و همه گوسفندان مصرف‌کننده مکمل-های کروم، مایع شکمبه هر گوسفند با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال (۱ مایع شکمبه و ۵ اسید) رقیق شد. سپس نمونه تهیه شده سانتریفیوژ (۴ درجه سلسیوس، ۱۵۰۰۰ دور، ۱۰ دقیقه) و محلول-رویی تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. غلظت نیتروژن آمونیاکی به وسیله روش فنول- هیپوکلریت و با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر تعیین گردید (Broderick و Kang ، ۱۹۸۰).

به منظور تعیین غلظت کل اسیدهای چرب فرار بلافاصله پس از گرفتن مایع شکمبه از گوسفندان مصرف کننده مکمل‌های کروم، مایع شکمبه هر گوسفند با اسید فسفریک ۲۰ درصد (۴ مایع شکمبه و۱ اسید فسفریک) رقیق گردید. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه باقی ماند تا پروتئین محلول رسوب کند، سپس سانتریفیوژ (دمای ۴ درجه، ۱۴۰۰۰، ۱۵ دقیقه) شد. محلول رویی تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. غظت کل اسیدهای چرب فرار (میلی‌مول در لیتر) به روش Barnett و Reid (۱۹۵۷) با استفاده از دستگاه مارخام برآورد شد.

در این روش مقدار ۲ میلی‌لیتر از مایع شکمبه تصفیه شده و ۲ میلی‌لیتر از محلول بافر اگزالات (اسید اگزالیک ۵ درصد و اگزالات پتاسیم ۱۰ درصد با نسبت ۱ به ۱) به دستگاه شیشه‌ای مارخام تزریق شد. در حین حرارت به دستگاه، بقایای تقطیر شده در ارلن داخل حمام یخ جمع گردید. سپس به محتویات داخل ارلن ۳ تا ۴ قطره فنل فتالئین اضافه شده و در پایان محلول داخل ارلن توسط سود ۰/۰۱ نرمال تیتر شد. بعد از افزودن سود رنگ محلول باید کاملا صورتی شود. غلظت کل اسیدهای چرب فرار بر اساس رابطه ۳ محاسبه گردید.

$$VFA\ \ mmol/L = \left[\left(\frac{N \times 0.01}{RF}\right) \times 1.2\right] \times 1000 \qquad \text{(رابطه ۳)}$$

در این رابطه N حجم سود مصرفی به هنگام تیتراسیون، RF حجم مایع شکمبه که ۱ میلی‌لیتر است، ۱/۲ ضریب رقت مایع شکمبه و ۱۰۰۰ ضریب تبدیل غلظت اسید چرب کوتاه زنجیر در لیتر است.

شمارش جمعیت پروتوزوآ

مایع شکمبه گرفته شده از همه بره‌ها (۲۸ رأس) در ۲۸ لوله فالکون به صورت مجزا با محلول فرمال سالین (مقدار ۸/۱ گرم NaCl در ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و سپس مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر فرمالین ۳۶ درصد به آن افزوده شد) با نسبت ۱ به ۵ ترکیب و تا روز شمارش در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. جمعیت پروتوزوآی مژکدار اِنتودینیوم‌ها، اُفریواسکالکس کاوداتوس، اُفریواسکالکس پورکینجی، دیپلودینیوم، اپی‌دینویم‌ها، ایزوتریچیدا، داسی تریچیدا و پروتوزوآی کل (Dehority، ۲۰۰۳) با استفاده از لام هموسیتومتر و میکروسکوپ نوری (مدل Nikon, YS 100) با عدسی ۱۰x (بزرگنمایی ۱۰۰) در ۳ تکرار برای هر بره از هر تیمار شمارش گردید. دو نوع پروتوزوآ ایزو و داسی تریچیدا با عدسی ۴۰x (بزرگنمایی۴۰۰) از هم تفکیک شدند. با هدف کنترل دقیق شناسایی انواع پروتوزوآ از اطلس شناسایی پروتوزوآ (Ogimoto و Imai، ۱۹۸۱) استفاده شد. تعداد پروتوزوآ در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه بر اساس رابطه ۴محاسبه شد.

$$NPml = \frac{N}{[areamm\,.\,Dmm.\frac{1}{n}]} \times 1000 \qquad \text{(رابطه ۴)}$$

که در این رابطه؛ NP تعداد پروتوزوآی شمارش شده در هر میلی‌لیتر، N تعداد پروتوزوآ در هر بار شمارش لام، area mm مساحت هر بخش لام (۱ میلی متر مربع)، Dmm عمق هر بخش لام (۰/۱ میلی متر) و $\frac{1}{n}$ ضریب رقت (یک پنجم) است.

متابولیت‌های خونی

در روزهای ۱۵، ۳۰، ۴۵ و۶۰ از ورید وداج گردن همه ۲۸ رأس بره متعلق به چهار تیمار، ۶ ساعت بعد از وعده خوراکی دهی صبح خون‌گیری انجام شد. خون در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد جمع‌آوری و بعد از جداسازی پلاسما متابولیت‌های خونی آلبومین، پروتئین کل، اوره خون، کراتنین، تری گلیسیرید و کلسترول آن توسط کیت‌های آزمایشگاهی پارس آزمون اندازه گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای مقایسه بین تیمارها؛ داده‌های صفات رشد، خوراک، تخمیر شکمبه و پروتوزوآ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ۲۳ (۲۰۱۶) به روش آنالیز یک طرفه (One Way Anova) تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگین تیمارها به روش دانکن و بر اساس مدل آماری $Y_{ijk}=\mu+T_i+e_{ijk}$ انجام گرفت. که در آن، Y_{ij} مقدار هر مشاهده، μ میانگین کل، T_i اثر تیمار و ε_{ijk} مقدار باقیمانده بود.

مقایسه فراسنجه‌های تخمیر و پرتوزوآی بین مرحله روز ۴۰ با روز ۶۰ نیز به روش آزمون تی جفت شده (غیرمستقل) انجام شد. داده های متعلق به متابولیت‌های خونی به روش اندازه‌های تکرار پذیر در زمان (Repeated Measurements) تجزیه و تحلیل شد.

نتایج و بحث

صفات رشد

وزن نهایی بره‌های دریافت کننده کروم متیونین (آلی) در مقایسه با گروه شاهد ۵/۱ و گروه نانوکروم ۵/۶کیلوگرم بیشتربود (۰/۰۴۵=p). ماده خشک مصرفی بره‌های مصرف کننده کروم متیونین برابر بره‌های گروه شاهد بود.

جدول ۳ – اثر انواع کروم (نانو، آلی و بُن زآ) بر صفات رشد و خوراک مصرفی بره‌های مهربانی.

صفات رشد	تیمارها (منبع کروم)				شاخص آماری	
	شاهد	نانو	متیونین	بُن زآ	SEM	سطح معنی‌داری
وزن اولیه بدن (کیلوگرم)	۲۷/۸	۲۶/۰	۲۹/۶	۲۷/۱	۰/۷۴	۰/۱۳۹
وزن نهایی (کیلوگرم)	۴۴/۷^{b}	۴۴/۲^{b}	۴۹/۸^{a}	۴۶/۲^{ab}	۰/۸۰	۰/۰۴۵
افزایش وزن کل (کیلوگرم)	۱۶/۹	۱۸/۲	۲۰/۲	۱۹/۱	۰/۶۲	۰/۰۹۰
افزایش وزن روزانه (گرم/روز)	۲۶۸^{b}	۲۸۸^{b}	۳۲۱^{a}	۳۰۲^{ab}	۹/۵۴	۰/۰۳۵
ماده خشک مصرفی (گرم/روز)	۱۵۱۳^{b}	۱۳۸۱^{c}	۱۵۳۴^{b}	۱۶۴۹^{a}	۴۶/۲۴	۰/۰۰۱
ضریب تبدیل خوراک	۵/۶۴	۴/۷۹	۴/۷۷	۵/۴۶	۰/۲۰	۰/۱۱۱
هزینه خوراک کل دوره (تومان)	۱۱۷۰۳۳	۱۰۷۷۱۶	۱۲۱۷۸۰	۱۳۱۹۶۹	۱۳۶۳۱	۰/۰۸۵
درآمد حاصل از اضافه وزن (تومان)	۳۷۰۹۲۰	۳۹۹۹۶۰	۴۱۹۳۲۰	۴۴۴۹۵۰	۳۵۷۵	۰/۳۰۵
سود ناخالص(تومان)	۲۵۳۸۶۶	۲۹۲۲۴۳	۳۲۳۳۱۶	۲۸۷۳۵۰	۱۲۸۹۰	۰/۳۵۱

حروف غیر متشابه درهرسطرنشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار بین تیمارهاست.

در مقایسه بین سه گروه بره‌های دریافت کننده انواع کروم، مقدار ماده خشک مصرفی بره‌های دریافت کننده کروم بن‌زآ بیشتر از سایرین و تیمار کروم نانو ازسایرین کمتر بود (P =۰/۰۰۱). در حالی که ضریب تبدیل خوراک در هر سه تیمار تحت تاثیر انواع کروم قرار نگرفت (P =۰/۱۱۱). با توجه به این که ضریب تبدیل هر دو تیمار دارای کروم آلی و بن‌زآ برابر با بره‌های شاهد بود، افزایش وزن روزانه ۳۲۱ و ۳۰۲ گرم در روز این دو گروه نشان دهنده تاثیرات مثبت این دو نوع کروم بر رشد بره‌های مهربان در شرایط دمایی کمتر از حد مطلوب بره‌هاست. به نظر می‌رسد مکمل آلی کروم از طریق افزایش فعالیت لیپاز حساس به هورمون در چربی زیر پوست، افزایش فعالیت آنابولیکی عضله و مهار فعالیت آنزیم‌های سازنده‌ی چربی سبب افزایش عضله و کاهش میزان چربی می‌شود (Xi و همکاران، ۲۰۰۱).

مشابه با نتایج تحقیق حاضر، استفاده از ۰/۳ میلی‌گرم کروم- مخمر در جیره بره‌ها؛ در مقایسه با گروه شاهد وزن نهایی دام را به میزان ۳ کیلوگرم (Kraidees و همکاران، ۲۰۰۹) و در بررسی دیگر استفاده کروم آلی افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک (BoakyeوMittal همکاران، ۱۹۹۳) را بهبود بخشیده است. به علاوه افزودن کروم در جیره، از طریق کاهش چربی ذخیره‌ای و افزایش مقدار عضله در بره‌ها (Kitchalong و همکاران، ۱۹۹۵) و گوساله‌های پرواری (Pollard و همکاران، ۲۰۰۲) موثر بوده است.

در برخی از مطالعات نیز وزن نهایی و ضریب تبدیل خوراک بره-ها با استفاده از ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم کرم آلی(Moreno-Camarena و همکاران، ۲۰۱۵) و افزایش وزن روزانه بره‌ها با استفاده از ۰/۲۵ میلی‌گرم کروم آلی در هر کیلوگرم ماده خشک (Arvizu و همکاران، ۲۰۱۱) در مقایسه با شاهد تغییری نداشته است. استفاده از ۰/۲۵۰، ۰/۳۷۵ و ۰/۵۰۰ میلی‌گرم کروم پیکولینات در ۸۴ روز پرواربندی بره‌ها، در مقایسه با گروه شاهد تأثیری بر افزایش وزن روزانه و افزایش وزن کل نداشته است (Dallago و همکاران، ۲۰۱۱).

در گوساله‌های پرواری افزودن۱۰۰ ، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم کروم آلی تأثیری بر وزن هفته ۳ و ۶ ، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک به گوشت گوساله‌ها نداشت (Swanson

و همکاران، ۲۰۰۰). در بره‌های پرواری دورست نیز استفاده از ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم کروم در هر کیلوگرم ماده خشک جیره تأثیری بر افزایش وزن کل و افزایش وزن روزانه نداشت (Yan و همکاران، ۲۰۰۸). استفاده از ۰/۲۵۰، ۰/۳۷۵ و ۰/۵۰۰ میلی‌گرم کروم پیکولینات در هر روز برای هر بره در طی مدت ۸۴ روز پروار نیز تأثیری بر افزایش وزن روزانه و وزن نهایی بره‌ها نداشته است (Dallago و همکاران، ۲۰۱۱).

مقدار ماده خشک مصرفی روزانه بره‌های دریافت کننده کروم نانو و کروم بن‌زآ به ترتیب کمترین و بیشترین بود و هر دو تیمار مذکور با تیمارهای شاهد و دریافت کننده کروم متیونین تفاوت معنی‌دار داشتند (P=۰/۰۰۱). ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P=۰/۱۱۱). مشابه با نتایج تحقیق حاضر استفاده از ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ مکمل کروم آلی (Kraidees و همکاران، ۲۰۰۹) و ۰/۲۵۰، ۰/۳۷۵ و ۰/۵۰۰ میلی‌گرم کروم در هر روز؛ در بره‌های پرواری (Dallago و همکاران، ۲۰۱۱) در طی ۸۴ روز پرواربندی تاثیری بر ضریب تبدیل خوراک آنها نداشت. ولی بر خلاف نتایج تحقیق حاضر، استفاده از ۰/۸ میلی-گرم کروم آلی در هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی گوساله‌های پرواری تاثیری بر ماده خشک مصرفی روزانه نداشته است (Besong و همکاران، ۲۰۰۱).

در مطالعات بر روی گوسفندان خارجی گزارش شده است که دمای مطلوب رشد بره‌های پرواری۲۰-۱۰است (Rodríguez و همکاران، ۲۰۱۶). در حالی که بره‌های پرواری تحقیق حاضر در دامنه دمایی ۶- تا ۱۴+ افزایش وزن مناسب ۲۶۷ تا ۳۲۱ گرم در روز داشته‌اند. لذا به نظر می‌رسد بره‌های پرواری توانایی تحمل شرایط سرد سالن را دارند. ولی به دلیل سرمای محیط؛ مصرف آب در دامها کاهش و دو رأس از بره‌های مورد آزمایش به سنگ مجاری ادراری مبتلا و حذف شدند. چون این اختلال درمان ندارد.

نتایج داده‌های اقتصادی نشان داد هرچند بره‌های گروه کروم متیونین و کروم بن زآ افزایش وزن روزانه معنی‌داری نسبت به دو گروه دیگر داشته‌اند، ولی سود ناخالص ناشی از افزایش وزن بره-های سه گروه دریافت کننده کروم هیچ تفاوتی با هم و در مقایسه با گروه شاهد نداشت (p =۰/۳۵۱).

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه

گاز تولیدی در روز ۴۰ تحت تأثیر انواع کروم قرار نگرفت. چون در این زمان (روز ۴۰ ام پروار) جیره بره‌ها با نسبت ۳۰ به ۷۰ (علوفه به کنسانتره) بود؛ لذا مشخص می‌شود در این ترکیب جیره؛ انواع کروم تاثیری بر گاز تولیدی نداشت. اما در پایان دوره پروار (روز ۶۰) در جیره با ترکیب ۲۵ به ۷۵ (علوفه به کنسانتره)، کروم -متیونین گاز تولیدی ناشی از تخمیر را افزایش داد. متناسب با افزایش گاز، در روز ۶۰ تجزیه پذیری ماده آلی و ماده خشک مایع شکمبه بره‌های دریافت کننده کروم آلی نیز افزایش نشان داده است (P= ۰/۰۰۱). افزایش قابلیت هضم و تجزیه پذیری ماده آلی بره‌های این گروه با افزایش وزن معنی‌دار روزانه بره‌های این گروه هم‌خوانی دارد.

جدول۳ - اثر انواع کروم بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه بره‌های مهربانی.

فراسنجه‌های تخمیر	زمان نمونه-گیری		تیمار(نوع کروم)				شاخص آماری	
	روز		شاهد	نانو	متیونین	بن زآ	SEM	سطح معنی‌داری
گازتولیدی۲۴ ساعت (میلی لیتر)	۴۰	¥	۳۷/۵	۳۷/۷	۳۶/۳	۳۵/۸	۰/۶۷۷	۰/۳۸۵
	۶۰		۳۸/۵^{b}	۳۸/۹^{b}	۵۵/۷^{a}	۴۳/۳^{b}	۱/۹۹	۰/۰۰۱
	Sig ®		۰/۷۰۵	۰/۴۹۹	۰/۰۰۸	۰/۲۴۴		
تجزیه‌پذیری آزمایشگاهی ماده آلی(میلی‌گرم)	۴۰		۷۷/۸	۷۸/۲	۷۶/۱	۷۵/۴	۰/۹۷۲	۰/۳۸۵
	۶۰		۷۹/۲^{b}	۷۹/۹^{b}	۱۰۴/۰^{a}	۸۶/۲^{b}	۲/۸۶	۰/۰۰۱
	Sig		۰/۷۰۵	۰/۴۹۹	۰/۰۰۸	۰/۲۴۴		
تجزیه‌پذیری آزمایشگاهی ماده آلی(درصد)	۴۰		۴۸/۲	۴۸/۴	۴۷/۲	۴۶/۷	۰/۶۰۲	۰/۳۸۵
	۶۰		۴۹/۱^{b}	۴۹/۵^{b}	۶۴/۴^{a}	۵۳/۴^{b}	۱/۷۷	۰/۰۰۱
	Sig		۰/۷۰۵	۰/۴۹۹	۰/۰۰۸	۰/۲۴۴		
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در لیتر)	۴۰		۳۱۷/۰^{a}	۲۴۱/۳^{b}	۲۳۱/۰^{b}	۲۲۲/۳^{b}	۱۵/۴	۰/۰۱۶
	۶۰		۲۷۵/۰^{a}	۱۹۹/۴^{b}	۱۹۲/۴^{bc}	۱۸۴/۰^{c}	۱۱/۵	۰/۰۰۱
	Sig		۰/۰۰۳	۰/۱۸۳	۰/۲۱۱	۰/۱۶۴		
PF (میلی‌گرم ماده آلی تجزیه شده/ میلی‌لیتر گاز تولیدی)	۴۰		۲/۰۸	۲/۰۷	۲/۱۰	۲/۱۰	۰/۰۱۱	۰/۳۸۵
	۶۰		۲/۰۶^{a}	۲/۰۵^{a}	۱/۸۷^{b}	۱/۹۹^{a}	۰/۰۲۴	۰/۰۰۱
	Sig		۰/۶۲۴	۰/۴۶۴	۰/۰۰۵	۰/۴۰۲		
اسیدهای چرب کل(مول/لیتر) (روش بارنت و رید)	۴۰		۱۵۶/۰^{b}	۲۳۴/۰^{ab}	۲۷۳/۰^{a}	۲۵۹/۰^{a}	۱۷/۰	۰/۰۳۴
	۶۰		۲۲۰/۰	۲۶۱/۰	۲۴۰/۰	۲۱۶/۰	۱۵/۸	۰/۴۰۱
	Sig		۰/۵۰۹	۰/۳۴۸	۰/۰۳۴	۰/۸۶۸		
انرژی قابل سوخت و ساز (مگاژول)	۴۰		۷/۳۰	۷/۳۳	۷/۱۳	۷/۰۶	۰/۰۹۲	۰/۷۳۰
	۶۰		۷/۴^{b}	۷/۵^{b}	۹/۸^{a}	۸/۱^{b}	۰/۲۷۱	۰/۰۰۱
	Sig		۰/۷۰۵	۰/۵۰۰	۰/۰۰۸	۰/۲۴۴		

¥ : مقایسات ردیفی مربوط به تیمارها و مقایسات ستونی مربوط به دو زمان نمونه گیری می‌باشد.

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف متفاوت در هر ردیف معنی‌دار است(P< ۰/۰۱).

Sig : مقادیر کمتر از ۰/۰۵ بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار بین دو زمان نمونه‌گیری مایع شکمبه است.

® : نسبت کنسانتره به علوفه در روز ۴۰ و ۶۰ به ترتیب ۷۰ به ۳۰ و ۷۵ به ۲۵ بود.

اما در مقایسه مقادیر روزهای ۴۰ با ۶۰، تنها در بره‌های دریافت کننده کروم متیونین در روز ۶۰ فراسنجه‌های گاز تولیدی و تجزیه‌پذیری افزایش داشته است (P=۰/۰۰۸). چون در روز ۶۰ پرواربندی همه بره‌های چهار تیمار جیره‌ای با ۷۵ درصد کنسانتره داشته‌اند؛ لذا این تفاوت تنها ناشی از حضور کروم- متیونین است. افزایش گاز که ناشی از تجزیه‌پذیری است ولی افزایش تجزیه پذیری نیاز به بررسی بیشتر دارد.

غلظت نیتروژن آمونیاکی در روزهای ۴۰ و ۶۰ دوره پروار؛ در

دامنه نرمال آن (۸۵-۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) (McDonald و همکاران، ۲۰۱۰) قرار داشت و انواع منابع کروم نسبت به گروه شاهد آن را کاهش داد. چون این کاهش همچنان در دامنه طبیعی قرار دارد؛ مطلوب تلقی می‌گردد. با توجه به افزایش وزن قابل توجه بره‌های این دو گروه به نظر می‌رسد منابع نیتروژن به جای تولید آمونیاک به سمت تولید پروتئین تغییر مسیر داده است. چون در دوره سوم پروار (۶۳-۴۲ روز) درصد پروتئین جیره کاهش یافته بود تا حدودی مقادیر نیتروژن آمونیاکی نسبت به دوره دوم (۴۲-۲۱ روز) کاهش نشان داد ولی همچنان غلظت نیتروژن آمونیاکی در محدوده طبیعی آن قرار داشت.

در روز ۴۰ پرواربندی غلظت اسیدهای چرب فرار در هر سه گروه بره‌هایی که مکمل کروم دریافت کرده بودند افزایش یافت (P =۰/۰۳۴ -). اما در روز ۶۰، غلظت اسیدهای چرب فرار تغییری نداشت. همچنین در مقایسه بین روز ۴۰ با ۶۰ نیز تنها تیمار شاهد افزایش غلظت اسید چرب نشان داد گرچه این تفاوت معنی‌دار نیست (P=۰/۵۰۹) و مابقی تیمارها در روز ۶۰ با وجود افزایش درصد کنسانتره جیره (نسبت ۷۰ به ۳۰ کنسانتره به علوفه)، تفاوتی با روز ۴۰ (نسبت ۷۵ به ۲۵کنسانتره به علوفه) نداشت. با وجود این که در روز ۶۰ پرواربندی نسبت کنسانتره هر چهار گروه بره‌ها ۷۰ درصد بود ولی در گروه بره‌های دریافت کننده کروم متیونین مقدار انرژی قابل سوخت وساز نسبت به سایر بره‌ها افزایش نشان داد (P=۰/۰۰۱).

انرژی قابل سوخت و ساز چون بر اساس معادله برآورد شده است؛ لذا تغییرات این فراسنجه دقیقاً تابع تغییرات گاز تولیدی در تیمارهاست. مایع شکمبه بره‌هایی که کروم متیونین دریافت کرده‌اند بیشترین مقدار انرژی را نشان داد.

متابولیت‌های خونی

نتایج نشان داد تنها دو متابولیت آلبومین و اوره خون تحت تأثیر منابع کروم قرار گرفته است (جدول۴). در مقایسه با تیمار شاهد؛کروم نانو مقدارآلبومین خون را کاهش داد (P=۰/۰۵۶). هر سه نوع منبع کروم، اوره خون را کاهش داد (P=۰/۰۰۸). اثر زمان تنها بر سه متابولیت معنی‌دار بوده و دو متابولیت اوره و تری گلیسیرید خون با افزایش طول دوره پروار کاهش و آلبومین افزایش داشته است.

آلبومین خون هر چهار گروه در دامنه نرمال (۳/۰-۲/۴ گرم در دسی لیتر) قرار دارد (Jackson و Cockcroft ؛ ۲۰۰۲). آلبومین ۳۵-۵۰ درصد پروتئین پلاسما را تشکیل داده و فراوان‌ترین پروتئین پلاسما است. آلبومین تامین‌کننده اسیدهای آمینه برای بازچرخش طبیعی پروتئین در بافت های بدن است (Kaneko، ۲۰۰۸). آلبومین فاکتور تنظیم و مهار کننده لیپوپروتئین‌های تولیدی در کبد بوده و با کاهش این فاکتور مهارکننده؛ لیپوپروتئین بیشتری در پلاسما آزاد می‌گردد. لذا در سندروم‌های کبدی هایپرلیپیمیای ایجاد شده ناشی از کمبود آلبومین پلاسما است. گرچه در صورت بروز بیماری‌های عفونی و تنش‌های محیطی نیز غلظت آلبومین در خون کاهش پیدا می کند(Kaneko، ۲۰۰۸). کاهش جزیی آلبومین در گروه کروم نانو در حدی بوده که تاثیر منفی یا مثبت بر رشد و لیپوپروتئین‌های پلاسما بره‌ها نداشته است.

اوره یا نیتروژن اوره‌ای خون (BUN) محصول نهایی نیتروژن خوراک دام است. لوله گوارشی محل اصلی جذب آمونیاک یا اوره خون است ولی سایر بافت‌ها مانند عضله و کلیه توانایی تولید آمونیاک را دارند (Kaneko،۲۰۰۸) لذا انتظار می‌رود با افزایش منبع ازته خوراک، اوره خون نیز افزایش پیدا کند. به همین خاطر در بررسی حاضر با کاهش نیتروژن مایع شکمبه، اوره خون نیز

کاهش نشان داده است. نقاطی از سلول‌های کبدی (هپاتوسیت‌ها) دارای آنزیم کاربامویل فسفات سنتتاز و دیگر آنزیم‌های سیکل اوره هستند که مسول تبدیل آمونیاک به اوره هستند(Kaneko، ۲۰۰۸). با توجه به کاهش آمونیاک مایع شکمبه، به نظر می‌رسد سوبسترا ی لازم برای این آنزیم ها فراهم نبوده و لذا کاهش اوره خون حاصل شده است.

مشابه با نتایج حاضر؛ در مطالعه Soltan و همکاران (۲۰۱۲) مکمل کروم در طول دوره استرس گوساله‌های پرواری تأثیری بر پروتئین کل خون نداشته است. همچنین افزودن مکمل کروم تری پیکولینات به جیره بره‌های سافولک و بره‌های بومی سواحل خلیج فارس تأثیر معنی‌داری بر غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید خون نداشت (Forbes و همکاران، ۱۹۹۸).

ولی برخلاف نتایج مطالعه حاضر؛ افزودن ۳۷۰ میکروگرم درکیلوگرم ماده خشک کروم به جیره گوساله‌ها باعث کاهش کلسترول پلاسما نسبت به گروه شاهد (Bunting و همکاران، ۱۹۹۴). همچنین در نشخوارکنندگان کاهش سطح تری‌گلیسرید در اثر کروم آلی (Yanو همکاران، ۲۰۰۸؛ Zho وهمکاران،۲۰۱۳) و در اثر کروم غیر آلی (Uyanic ، ۲۰۰۱) کاهش کلسترول در اثر کروم آلی (Zho وهمکاران،۲۰۱۳) گزارش شده است

در بره‌های دریافت‌کننده مکمل کروم، غلظت کلسترول و اوره پلاسما تحت تأثیر مکمل قرار نگرفتند (Dominguez-Vara و همکاران، ۲۰۰۹) ولی سطح ۰/۲۵ میلی‌گرم از مخمر کروم باعث کاهش (درجه دوم) غلظت تری‌گلیسرید پلاسما در بره‌ها شد. از طرفی غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول سرم در گوسفندان دریافت‌کننده مکمل مخمرکروم کاهش یافت و در تمام روزهای آزمایش به طور معنی‌داری متفاوت از گروه شاهد بود (Zho و همکاران،۲۰۱۳).

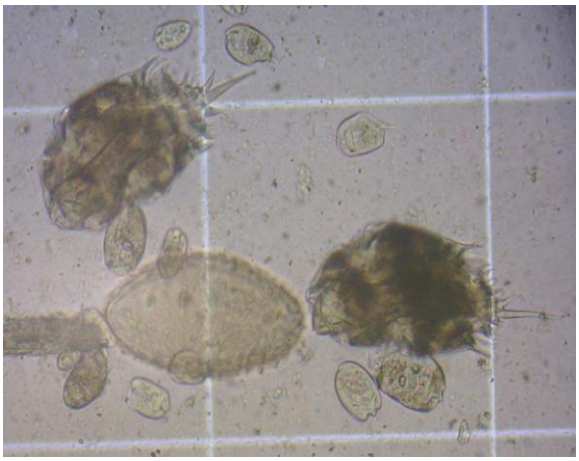
جدول٤- اثر انواع کروم بر متابولیت‌های خونی بره‌های مهربانی.

تیمار	متابولیت‌های خون					
	آلبومین	پروتئین کل	اوره	کراتنین	تریگلیسرید	کلسترول
	گرم/دسی‌لیتر	گرم/لیتر	میلی‌گرم/دسی‌لیتر	میلی‌گرم/دسی‌لیتر	میلی‌گرم/دسی‌لیتر	میلی‌گرم/دسی‌لیتر
شاهد	۴/۳۱^{a}	۷/۱۴	۳۱/۶^{a}	۰/۹۳	۳۷/۴	۷۹/۳
کروم نانو	۳/۹۹^{b}	۷/۰۶	۲۸/۵^{ab}	۰/۹۶	۳۶/۰۵	۷۵/۶
کروم متیونین	۴/۰۲^{ab}	۶/۹۴	۲۴/۲^{b}	۰/۹۴	۳۶/۷	۷۶/۸
کروم بن زآ	۴/۲۳^{ab}	۷/۰۹	۲۳/۴^{b}	۰/۹۷	۳۵/۴	۷۳/۸
سطح معنی‌داری	۰/۰۴	۰/۳۶۹	۰/۰۰۸	۰/۸۵۳	۰/۲۱۰	۰/۵۹۲
SEM	۰/۰۵۶	۰/۴۷۰	۱/۱۷	۰/۰۱۹	۰/۴۸۶	۱/۴۸
اثر زمان خونگیری (روز پروار)						
۱۵	۴/۱۸	۷/۲۰^{b}	۳۳/۸^{a}	۰/۹۵	۳۸/۶^{a}	۷۳/۲
۳۰	۴/۱۵	۷/۱۸^{b}	۲۶/۸^{b}	۰/۹۴	۳۸/۱^{a}	۷۳/۶
۴۵	۴/۱۴	۷/۰۵^{b}	۲۴/۹^{b}	۰/۹۶	۳۴/۸^{b}	۷۸/۱
۶۰	۴/۰۸	۷/۸۱^{a}	۲۲/۳^{b}	۰/۹۴	۳۴/۱^{b}	۸۰/۷
سطح معنی‌داری	۰/۵۵۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۹۸۷	۰/۰۰۱	۰/۳۰۹

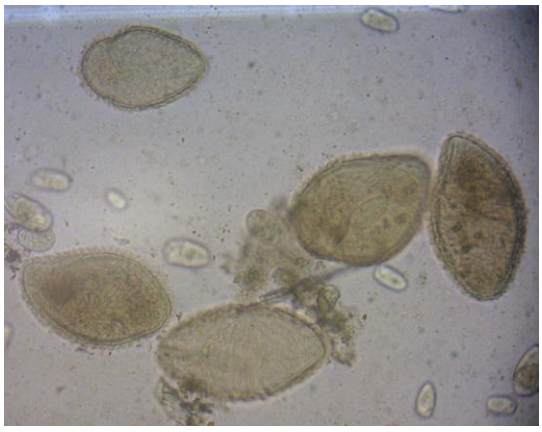
شمار پروتوزوآ

جمعیت پروتوزوآ کل در طی هر دو روز ۴۰ و ۶۰ دوره پروار متأثر از انواع کروم نانو، متیونین و بن‌زآ نشد (جدول۵) (P<۰/۰۵). از بین همه انواع پروتوزوآ مطالعه شده تنها جمعیت اپی‌دینویم‌ها (شکل ۳) در اثر افزودن کروم نانو و آلی بیشتر از گروه شاهد و بن زآ بود (P=۰/۰۰۶) ولی چون جمعیت این نوع پروتوزوآ کم هست؛ لذا تغییرات آن بر جمعیت کل موثر نبوده است. در مطالعه حاضرجنس انتودینیوم‌ها (شکل ۴) در بین همه انواع جمعیت پروتوزآیی بیشترین و اُفریواسکالکس پورکینجی ودیپلودینه‌ها کمترین جمعیت را دارند.

در بررسی Emami و همکاران (۲۰۱۳) استفاده از چهار سطح کروم آلی (صفر، ۰/۵۰ ، ۱/۰۰ و ۱/۵۰ میلی‌گرم کروم-متیونین) در جیره بره‌های پرواری جمعیت پروتوزوآیی تحت تاثیر سطوح کروم قرار نگرفته است. بر خلاف مطالعه حاضر؛ افزایش کروم از مقدار صفر تا۰/۲۵۰، ۰/۳۷۵ و ۰/۵۰۰ میلی‌گرم کروم در روز در جیره بره‌ها، جمعیت پروتوزوآیی کاهش یافت (Dallago و همکاران، ۲۰۱۱). اما آنچه که قابل توجه است بالا بودن جمعیت پروتوزوآیی کل همه چهار تیمارآزمایشی است که تعداد آن بیشتر از مقادیرگزارش شده در مقالات متعدد است.



شکل۱: پروتوزوآ افریواسکالکس کائوداتوم



شکل۲: پروتوزوآ جنس ایزوتریچیدا و داسی تریچیدا

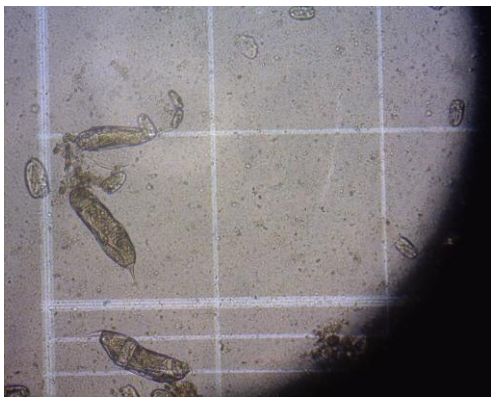
جدول۵ - اثر انواع کروم برجمعیت پروتوزوآ مژکدار ($10^{5}\times$ N در میلی‌لیتر) بره های مهربانی.

پروتوزوآ	زمان نمونه گیری	تیمار (نوع کروم)				شاخص آماری	
جنس	روز	شاهد	نانو	متیونین	بن زآ	SEM	سطح معنی‌داری
پروتوزوآ کل	۴۰	۱۳۶/۱۷	۱۰۵/۵۸	۱۳۱/۶۱	۱۴۵/۹۲	۹/۲۳	۰/۲۱۳
	۶۰	۱۹۰/۲۷	۱۰۴/۶۳	۱۲۷/۱۱	۱۴۳/۰۴	۲۰/۳۷۴	۰/۲۰۳
	Sig	۰/۳۸۵	۰/۷۹۶	۰/۰۵۴	۰/۲۶۱		
اِنتودینینه ها	۴۰	۱۳۴/۸۳	۹۹/۹۷	۱۲۸/۲۸	۱۴۳/۴۲	۹/۰۷۶	۰/۴۳۲
	۶۰	۱۸۸/۳۰	۹۹/۳۷	۱۲۳/۰۰	۱۳۹/۹۶	۲۰/۲۹	۰/۱۸۳
	Sig	۰/۳۹۰	۰/۹۳۲	۰/۰۲۳	۰/۱۸۷		
اُفریواسکالکس کاوداتوس	۴۰	۰/۲۶۷	۰/۱۶۷	۰/۱۶۷	۰/۹۱۷	۰/۱۹۲	۰/۴۷۵
	۶۰	۰/۴۳۳	۰/۳۳۳	۰/۳۳۳	۰/۸۳۳	۰/۱۷۰	۰/۳۶۸
	Sig	۰/۰۱۹	۰/۰۳۹	۰/۰۸۱	۰/۵۵۱		
اُفریواسکالکس پورکینجی	۴۰	۰/۱۰۰	۰/۰۰۰	۰/۵۵۵	۰/۱۶۷	۰/۱۹۲	۰/۵۲۹
	۶۰	۰/۱۶۷	۰/۰۰۰	۰/۰۵۵۵	۰/۱۶۷	۰/۰۴۴۵	۰/۲۴۵
	Sig	۰/۱۶۴	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰		
دیپلودینینه	۴۰	۰/۰۰۰	۰/۷۰۸	۰/۵۵۵	۰/۱۲۵	۰/۱۵۴	۰/۲۹۸
	۶۰	۰/۰۰۰	۰/۹۱۷	۰/۷۷۷	۰/۲۵۰	۰/۱۹۰	۰/۱۳۲
	Sig	۱/۰۰	۰/۰۹۶	۰/۱۶۹	۰/۰۸۲		
اپی دینویم‌ها	۴۰	۰/۰۰۰^{b}	۴/۲۵۰^{a}	۱/۴۴۴^{ab}	۰/۰۰۰^{b}	۰/۴۹۷	۰/۰۰۶
	۶۰	۰/۰۰۰^{b}	۳/۰۰۰^{a}	۱/۳۳۳^{ab}	۰/۰۰۰^{b}	۰/۳۵۷	۰/۰۰۹
	Sig	۱/۰۰	۰/۰۴۲	۰/۷۳۸	۱/۰۰		
ایزوتریچیدا (خانواده)	۴۰	۰/۷۰۰	۰/۷۵۰	۰/۸۳۳	۰/۱۲۱	۰/۱۳۲	۰/۲۵۷
	۶۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۱۶۶	۱/۱۶۶	۰/۱۶۰	۰/۲۱۰
	Sig	۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱		
داسی تریچیدا (خانواده)	۴۰	۰/۲۶۷	۰/۰۰۰	۰/۲۷۷	۰/۸۳۳	۰/۰۶۱۷	۰/۱۷۵
	۶۰	۰/۳۶۷	۰/۰۰۰	۰/۴۴۴	۰/۱۶۷	۰/۰۸۵۵	۰/۱۱۸
	Sig	۰/۰۸۲	۱/۰۰	۰/۰۸۱	۰/۱۶۶		

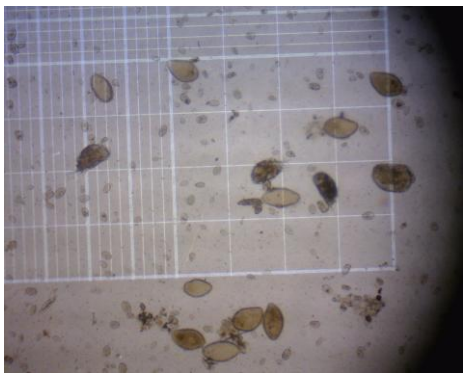
[1]مقایسات ردیفی مربوط به تیمارها و مقایسات ستونی مربوط به دو زمان نمونه‌گیری می‌باشد. a-c : تفاوت میانگین‌ها با حروف متفاوت در هر ردیف معنی‌دار است(۰/۰۱ >P). Sig : مقادیر کمتر از ۰/۰۵ بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار بین دو زمان نمونه گیری مایع شکمبه است است. نسبت کنسانتره به علوفه در روز ۴۰ و ۶۰ به ترتیب ۷۰ به ۳۰ و ۷۵ به ۲۵ بود.

جمعیت پروتوزوآ کل مایع شکمبه گوسفندان ایرانی که تاکنون گزارش شده است معمولاً در دامنه $10^{5}\times5$ تا ۱۱ در میلی‌لیتر می باشد (نوریان سرور و معینی، ۱۳۹۵؛ قربانی و همکاران، ۱۳۹۶). تفاوت بسیار زیاد جمعیت پروتوزوآیی در این مطالعه که تقریباً در حدود ۳۰-۲۰برابر مقادیر گزارش شده است به این دلیل است که در مطالعه حاضر؛ مایع شکمبه بعد از اخذ از دام توسط پارچه تنظیف تصفیه نگردید و سریعاً با فرمال سالین ترکیب شد. چون مطالعه به روش دام زنده است لذا ضرورت داشت برای دسترسی

به جمعیت واقعی پروتوزوآ، مایع شکمبه تصفیه نگردد. تجربه نشان داده تصفیه نمودن مایع شکمبه توسط پارچه تنظیف سبب محاسبه غیر واقعی و حذف برخی از انواع پروتوزآ مانند افریواسکالکس (شکل۱) می‌گردد.



شکل۳: پروتوزوآ جنس اپی‌دینیوم



شکل۴: پروتوزآ جنس انتودینینه‌ها (کوچکترها)؛ ایزو تریچیدا و افرواسکالکس‌ها.

نتیجه‌گیری کلی

انواع کروم در بره‌های پرواری؛ نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه را کاهش و تأثیری بر پروتوزوآ ندارند. کروم- متیونین گاز کل تولیدی، ماده آلی تجزیه شده آزمایشگاهی و انرژی قابل سوخت و ساز را نیز افزایش می‌دهد. کروم ضمن کاهش نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه، اوره خون را نیز کاهش داد. افزودن ۸ میلی‌گرم کروم متیونین و ۰/۸ میلی‌گرم کروم بن زآ رشد دام را در مقایسه با شاهد به ترتیب به میزان ۱۹ و ۱۲ درصد افزایش داد؛ لذا پیشنهاد می‌گردد در مواقع تنش‌های سرمایی در جیره دام استفاده گردد.

منابع

قربانی، ا.، نوریان سرور، م.ا.، و معینی، م.م. (۱۳۹۶). تأثیر مکمل‌های روی و سلنیوم بر مصرف خوراک، قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای در گوسفند. نشریه علوم دامی(پژوهش و سازندگی). شماره ۱۱۳، ۳۶-۱۷.

قیصری، س (۱۳۹۵). بررسی اثر منابع مختلف کروم در جیره بر عملکرد رشد و برخی فراسنجه‌های خونی بره‌های سنجابی. پایان نامه کارشناسی ارشد؛ پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی. ۱۲۰صفحه.

نوریان سرور م.ا.، و معینی، م. م. (۱۳۹۵). تأثیر پودر میوه عناب بر فراسنجه‌های تخمیری، جمعیت پروتوزوآیی و تولید گاز متان به روش برون تنی. علوم دامی ایران، دوره ۴۷، شماره ۱ . ۱۲۲-۱۱۳.

AOAC, (1995). International Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis 16.

Arvizu, R., Domínguez, I., Rubio, M., Bórquez, J., Pinos-Rodríguez, J., González, M. and Jaramillo, G. (2011). Effects of genotype, level of supplementation, and organic chromium on growth performance, carcass, and meat traits grazing lambs. *Meat science*. 88: 404-408.

Barnet, A.J. G. and Reid, R.L. (1957). Studies on the production of volatile fatty acids from grass by rumen liquor in an artificial rumen. I. The volatile fatty acid Production of fresh grass. *Journal of Agriculture Science*. *4*8: 315–321.

Bernhard, B.C., Burdick, N.C., Rounds, W., Rathmann, R.J., Carroll, J.A., Finck, D.N., Jennings, M.A., Young, T.R. and Johnson, B.J. (2012). Chromium supplementation alters the performance and health of feedlot cattle during the receiving period and enhances their metabolic response to a lipopolysaccharide challenge. *Journal of Animal Science*. 90:3879–3888.

Besong, S., Jackson, J. A., Trammell, D. S. and Akay, V. (2001). Influence of Supplemental Chromium on Concentrations of Liver Triglyceride, Blood Metabolites and Rumen VFA Profile in Steers Fed a Moderately High Fat Diet. *Journal Dairy Science*. 84:1679–1685.

Boakye, K. and Mittal, G.S. (1993). Changes in pH and water holding properties of *Longissimus dorsi* muscle during beef ageing. *Meat Science*. 34: 335-349.

Broderick, G.A. and Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determinations of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal Dairy Sci.* 63: 64–75.

Dallago, B., McManus, C., Caldeira, D., Lopes, A., Paim, T., Franco, E., Borges, B., Teles, P., Correa, P. and Louvandini, H. (2011). Performance and ruminal protozoa in lambs with chromium supplementation. *Veterinary Science Research.* 90: 253-256.

Dehority, B. A. (2003). Rumen Microbiology. First published. British Library Cataloguing in Publication Data.

Dominguez-Vara, I.A., González-Munoz, S.S., Pinos-Rodriguez, J.M., Borquez-Gastelum, J.L., Barcena-Gama, R., Mendoza-Martinez, G., Zapata, L.E. and Landois-Palencia, L.L. (2009). Effects of feeding selenium-yeast and chromium-yeast to finishing lambs on growth, carcass characteristics, and blood hormones and metabolites. *Animal Feed Science and Technology*. 152: 42-49.

Emami, A., Zali, A., Ganjkhanlou, M., Hozhabri, A. and Afjani, A.A. (2013). Online version is available on: www. ijas. ir. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 3: 273-278.

Forbes, C.D., Fernandez, J.M., Bunting, L.D., Southern, L.L., Thompson, D.L., Gentry, L.R. and Chapa, A.M. (1998). Growth and metabolic characteristics of Suffolk and Gulf Coast Native yearling ewes supplemented with chromium tripicolinate. *Small Ruminant Research*. 28(2): 149-160.

Jackson.P.P.G. and Cockcroft, P.D.D.(2002).*Clinical Examination of Farm Animals*. Blackwell Science Ltd, a Blackwell Publishing Company. Iowa State Press, a Blackwell Publishing Company, 2121 State Avenue, Ames, Iowa.50014-8300, USA.

Kaneko, J.J.(2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th ed. Academic Press, Inc., San Diego.

Kegley, E. B., Galloway, D. L. and Fakler, T. M. (2000). Effect of dietary Chromium-L-methionine on glucose metabolism of beef steers. *Journal of Animal Science.* 78: 3177-83.

Kitchalong, L., Fernandez, J. M., Bunting, L. D., Southern, L. L. and Bidner, T. D. (1995). Influence of chromium tripicolinate on glucose metabolism and nutrient partitioning in growing lambs. *Journal of Animal Science.* 73: 2694−2705.

Kraidees, M., Al-Haidary, I., Mufarrej, S., Al-Saiady, M., Metwally, H. and Hussein, M. (2009). Effect of supplemental chromium

levels on performance, digestibility and carcass characteristics of transport-stressed lambs. *Asian-Aust. Journal Animal Science.* 22: 1124-1132.

McDonald, P., Edwards, R A., Greenhalgh, J. F.D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A. and Wilkinson, R.G. (2010). Animal Nutrition, 7 th Edition. Prentice Hall/Pearson.

Menke, K H, Raab L, Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. and Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. J. Agri. Sci. (Camb.) 92, 217–222.

Menke, K. H. and Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*. 28: 7–55.

Moreno-Camarena,L., Domínguez-Vara1,I., Bórquez-Gastelum1,J., Sánchez-Torres1,J., Pinos-Rodríguez,J., Mariezcurrena-Berasain,A., Morales-Almaráz,E and Salem., A. (2015). Effects of organic chromium supplementation to finishing lambs diet on growth performance, carcass characteristics and meat quality. *Journal of Integrative Agriculture.14 (3): 567–574*

Mostafa-Tehrani, A., G. Ghorbani, A. Zare-Shahneh and S. Mirhadi. (2006). Non-carcass components and wholesale cuts of Iranian fat-tailed lambs fed chromium nicotinate or chromium chloride. *Small Ruminant Research.* 63:12-19.

Mowat, D.N. (1997). Organic chromium in animal nutrition. Chromium books. Guelph. Ontario

NRC, 2007. Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Ogimoto, K and Imai, S. (1981). Atlas of rumen microbiology. Japan Scientific Societies Press, Khordad 11, 1360 AP - Science - 231 pages

Pollard, G. V., Richardson, C. R. and Karnezos, T. P. (2002). Effects of supplemental organic chromium on growth, feed efficiency and carcass characteristics of feedlot steers. *Animal Feed Science and Technology.* 98: 121−128.

Rodríguez, M., Bello, J., González, J. and Fernandez, N.(2016). Housing: A major success factor in feedlot lambs. *Small Ruminant Research.* 142: 72-77.

SPSS Darren George, Paul Mallery (2016). SPSS Statistics 23 Step by Step: A Simple Guide and Reference 14th Edition.

Soltan, M.A., Almujalli, A.M., Mandour, M.A. and Abeer, M.E.S. (2012). Effect of dietary chromium supplementation on growth performance, rumen fermentation characteristics and some blood serum units of fattening dairy calves under heat stress. *Pakistan Journal of Nutrition*. 11(9): 751-756.

Suttle, N.F. (2010). Mineral Nutrition of livestock. CABI North American Office.4th edition.London.UK.

Swanson, K., Harmon, D., Jacques, K., Larson, K., Richards, C., Bohnert, D. and S. Paton. (2000). Efficacy of chromium-yeast supplementation for growing beef steers. *Animal Feed Science and Technology*. 86, 95-105.

Uyanik, F. (2001). The effects of dietary chromium supplementation on some blood parameters in sheep. *Biological Trace Element Research*.84(1-3). pp 93–101.

Vercoe, E.P., Makkar, H.P.S. and Schlink, A.C. (2010). *In Vitro* screening of plant resources for extra- nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies (Ed.), New York: Springer

Yan, X., Zhang, W., Cheng, J., Wang, R., Kleeman, D.O., Zhu, X. and Jia, Z. (2008). Effects of chromium yeast on performance, insulin activity, and lipid metabolism in lambs fed different dietary protein levels. *Asian-Aust. Journal of Animal Science* .21(6): 853–860.

Zhou, B., Wang, H., Luo, G, Niu, R. and Wang, J. (2013). Effect of dietary yeast chromium and L-carnitine on lipid metabolism of sheep. *Biological Trace Element Research*. 155: 221–227.