

The effect of different levels of copper nano oxide and copper sulfate on performance, immunity, blood parameters and carcass characteristics of fattening lamb

S Khatami Kalkhoran¹, J Seifdavati^{2*}, H Abdi-benemar², R. Seyedsharifi², N Hedayat Evrigh³ and M Alipour Einaldin¹

Received: June 27, 2021

Accepted: January 9, 2022

¹ Graduated with a master's degree and Ph.D. student respectively, in Animal Nutrition, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

² Professors, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

³ Associate Professor, Department of Animal Science, University of Tabriz, Iran

*Corresponding author: E mail: jseifdavati@uma.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research	Journal of Animal Science Research/ vol.34 No.2/ 2024/pp 45-57 https://animalscience.tabrizu.ac.ir	OPEN ACCESS
© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/) DOI: 10.22034/fr.2021.38004.1714		

Introduction: Recently, nanoparticles have been produced and marketed using nanotechnology (Haghi Jamadi et al., 2022). Reducing the size of particles to nanoparticles (size less than 100 nm) increases the surface-to-volume ratio and changes other material properties. Increasing the contact surface in nanoparticles causes their interaction with organic and inorganic molecules to be done differently (Aliarabi et al., 2018). Among the minerals, copper is an essential, scarce element that performs various functions in living organisms. It has been reported that copper nanoparticles have beneficial effects on animal performance and can replace copper sulfate (Aliarabi et al., 2018). Also, nano copper oxide has several advantages over copper sulfate, including improved effectiveness, lower dosage with better results, no interference with other materials, and less disposal in the environment, and can replace copper sulfate (Ognik et al., 2016). High copper in the diet has benefits such as antibacterial activity, increasing growth hormone secretion, increasing feed intake and production performance (Jafari et al., 2023). However, environmental pollution and subsequent accumulation in feed and water can affect vital organs such as the liver and kidney (Kushwaha et al., 2022). The objective of this study was to investigate the effect of different copper forms and levels (copper nano oxide and copper sulfate) on performance, blood parameters and immunity in Romanov-Moghani crossbred lambs.

Materials and methods: This research was conducted using 30 lambs in the form of a completely randomized design with 5 experimental groups and 6 replications (lambs) in each group. The duration of the experiment was 56 days. The experimental diets of this research include: 1) basal or control diet (CON; without copper supplementation), 2) basal diet + 10 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper sulfate (CuS10), 3) basal diet + 20 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper sulfate (CuS20), 4) basal diet + 10 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper nano oxide (CuN10), 5) basal diet + 20 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper nano oxide (CuN20). Lambs were randomly grouped based on body weight and each group was fed with one of 5 experimental diets. On the 30th and 56th days of the experimental

period, blood samples were collected from the jugular vein 3 hours after the morning meal. Next, after separating serum and plasma, the samples were kept at -20°C until the analysis. The determined blood parameters include the concentration of copper, zinc, selenium, malondialdehyde, glucose, cholesterol, triglyceride, total protein, albumin, urea, and beta hydroxybutyrate, liver enzymes (ALT and AST). Total antioxidant capacity, activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase enzymes were also determined.

After killing the animals, meat samples were taken from the 12-13 intercostal eye muscle to determine the concentration of copper, zinc and selenium elements, and liver samples were also taken. Liver, meat and blood samples were digested by the method of Kechoui et al. (2013). For the analysis of blood and tissue samples, ICP-OES (model: Optimum 7300 DV) was used at Isfahan University. At the time of animal slaughter, the quantitative and qualitative characteristics of the carcass, including the weight of the heart, kidney, lungs, liver, and tail, along with the cold carcass and the hot carcass, were recorded. The resulting data were analyzed in the form of a completely randomized design using SAS software (2003). Means were shown as Least Squares (LSMEAN) along with standard error and mean comparisons at a significance level of five percent.

Results and discussion: The results of this study showed that the use of copper sulfate and copper nano oxide at the levels of 10 or 20 mg/kg dry matter of the diet had no significant effect on the performance parameters of fattening lambs, in terms of body weight, live weight gain, dry matter intake and feed conversion ratio ($P>0.05$). Also, the findings of this research showed that the concentration of blood urea in 30 days increased significantly with CuS10 and CuN10 treatments ($P<0.05$). Other blood parameters such as glucose, cholesterol, triglyceride, albumin, protein, BHBA, AST, ALT enzymes and antioxidant indices superoxide dismutase, glutathione peroxidase and total antioxidant capacity were not affected by the experimental treatments ($P>0.05$). The supplemental feeding of nano copper oxide increased catalase enzyme activity in blood samples ($P<0.05$). Copper concentration was increased in the liver significantly as a result of feeding 20 mg of copper in the form of copper nano oxide ($P<0.05$). Supplemental feeding of copper sulfate decreased the concentration of selenium in meat compared to the control group ($P<0.05$). Carcass characteristics including the percentage of hot carcass and cold along with the percentage of internal organs (tail, heart, liver, kidney and lungs) were not significantly different among the treatment groups ($P>0.05$).

Conclusion: According to the present results, the use of mineral and nano forms of copper at levels of 10 or 20 mg/kg dry matter of the diet had a significant effect on parameters such as blood urea, malondialdehyde, catalase enzyme activity, percentage of copper in blood and selenium in meat. However, no significant difference was observed on performance and most blood parameters, antioxidant indices, total antioxidant capacity, activity of superoxide dismutase, glutathione peroxidase enzymes, carcass characteristics of fattening lambs and clinical signs of poisoning in lambs of treatment groups. This shows that the levels used in this study did not have the potential of poisoning and health risks for the tested lambs. Considering the improvement of liver concentrations of copper in the treatment receiving copper nano oxide source; it seems that the use of 20 mg/kg of dry matter of copper nano oxide can be a useful strategy in reducing the disposal of this element and reducing environmental pollution.

Keywords: Blood parameters, Copper nano oxide, Copper sulfate, Lamb fattening, Performance

تأثیر سطوح مختلف نانو اکسیدمس و سولفات مس بر عملکرد، ایمنی، فراسنجه‌های خونی و خصوصیات لاشه بره‌های پرواری

صبا خاتمی کلخوران^۱، جمال سیف‌دواتی^{۲*}، حسین عبدی بنمار^۲، رضا سید شریفی^۲، نعمت هدایت ایوریق^۳ و مجتبی علیپور عین‌الدین^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۹

^۱ به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری تغذیه دام گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

^۲ استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

^۳ دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

*مسئول مکاتبه: jseifdavati@uma.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: نانو ذرات مس اثرات مفیدتری بر عملکرد حیوان دارند و می‌توانند به عنوان جایگزین سولفات مس استفاده شوند.

هدف: بررسی اشکال نانو اکسیدمس و سولفات مس بر عملکرد، ایمنی، فراسنجه‌های خونی و خصوصیات لاشه بره‌های پرواری آمیخته رومانی-مغانی بود.

مواد و روش‌ها: این پژوهش با استفاده از ۳۰ رأس بره در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ گروه آزمایشی ($n=6$) در طی ۵۶ روز انجام شد. جیره‌های آزمایشی شامل: (۱) جیره پایه (CON؛ بدون مکمل مس)، (۲) جیره پایه + ۱۰ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشک به شکل سولفات مس ($CuS10$)، (۳) جیره پایه + ۲۰ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشک به شکل سولفات مس ($CuS20$)، (۴) جیره پایه + ۱۰ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشک به شکل نانو اکسیدمس ($CuN10$) و (۵) جیره پایه + ۲۰ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشک به شکل نانو اکسیدمس ($CuN20$) بودند. نتایج: نتایج نشان داد که استفاده از تیمار $CuS10$ و $CuN20$ تأثیر معنی‌داری بر عملکرد رشدی بره‌ها نداشت ($P>0/05$). همچنین استفاده از $CuS10$ و $CuN10$ ، غلظت اوره خون را در ۳۰ روزگی در مقایسه با دیگر تیمارها افزایش معنی‌داری داد ($P<0/05$). مصرف $CuN10$ موجب کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید در ۳۰ روزگی شد. مصرف $CuN10$ و $CuN20$ موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در خون شد ($P<0/05$). غلظت کبدی مس در تغذیه $CuN20$ افزایش معنی‌داری یافت ($P<0/05$). تغذیه سولفات مس موجب کاهش غلظت سلنیوم در گوشت نسبت به گروه شاهد شد ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری نهایی: نظر به بهبود غلظت‌های کبدی مس در حیوانات دریافت‌کننده نانو اکسیدمس؛ مصرف آن می‌تواند استراتژی سودمندی در کاهش دفع این عنصر و آلودگی زیست‌محیطی باشد.

واژگان کلیدی: بره پرواری، سولفات مس، عملکرد، فراسنجه خونی، نانو اکسیدمس

مقدمه

در میان مواد معدنی، مس یک عنصر کم‌مصرف ضروری است که عملکردهای مختلفی را در جانداران انجام می‌دهد. در بیش از ۲۰ متالوآنزیم، کوفاکتور و متالوپروتئین حضور دارد که با تخریب رادیکال‌های آزاد، سنتز بافت‌های همبند، تشکیل میلین و استخوان‌ها، رنگ‌دانه و تشکیل پشم مرتبط هستند (دسوزا و همکاران ۲۰۱۲). مس می‌تواند به‌طور مؤثر، محیط داخلی را حفظ کند و ارتباط نزدیکی با هماتوپوئز^۱، متابولیسم، رشد و تولیدمثل دارد (اوگنیک و همکاران ۲۰۱۶). گوسفند در مقایسه با بز حساسیت بیشتری به عنصر مس دارد به‌طوری‌که علائم مسمومیت در گوسفند در سطح ۲۰-۱۰ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشک خوراک گزارش شده است (افتخاری و همکاران ۲۰۲۰). کمبود مس در بین مواد معدنی از شیوع زیادی برخوردار است و در گوسفند می‌تواند با علائمی مانند کم‌خونی، آتاکسی بره‌های نوزاد، اختلالات استخوانی، بی‌اشتهایی و رشد ضعیف، کراتینه شدن معیوب پشم و ناباروری ظاهر شود (هیل و شانون ۲۰۱۹). زیست‌فراهمی مس تا حد زیادی تحت تأثیر گوگرد (S)، مولیبدن (Mo) و آهن کاهش می‌یابد (اسپرز و همکاران ۲۰۲۲). در جیره‌های غذایی تجاری، سولفات مس به‌عنوان منبع اصلی مس استفاده می‌شود که دارای زیست‌فراهمی ضعیفی هست (کوشواها و همکاران ۲۰۲۲). به‌طور رایج، نمک‌های معدنی مس در فرمولاسیون خوراک مورد استفاده قرار می‌گیرند (آکسو و همکاران ۲۰۱۰) که به‌طور قابل‌توجهی موجب آلودگی خاک و آب می‌شوند (جکسون و همکاران ۲۰۰۳). در سال‌های اخیر ترکیباتی با عنوان نانو ذرات با استفاده از علم نانوتکنولوژی تولید و به بازار عرضه شده‌اند (حق جمادی و همکاران ۲۰۲۲). کاهش اندازه ذرات به نانو ذره (اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر) موجب افزایش نسبت سطح به حجم و تغییر در سایر خصوصیات مواد می‌شود. افزایش سطح تماس در نانو

ذرات باعث می‌شود که فعل‌وانفعالات آن‌ها با مولکول‌های آلی و غیر آلی به‌صورت متفاوتی انجام پذیرد (علی‌عربی و همکاران ۲۰۱۸). گزارش شده است که نانو ذرات مس اثرات مفیدی بر عملکرد حیوان دارند و می‌توانند به عنوان جایگزین سولفات مس استفاده شوند (علی عربی و همکاران ۲۰۱۱). نانومس دارای چندین مزیت نسبت به سولفات مس است که از آن جمله می‌توان به بهبود اثربخشی، مصرف دوز کمتر با نتایج بهتر، عدم تداخل با سایر مواد و دفع کمتر به محیط‌زیست اشاره کرد (اوگنیک و همکاران ۲۰۱۶). اگرچه مس بالا در جیره دارای فوایدی مانند فعالیت ضد باکتریایی، افزایش ترشح هورمون رشد، افزایش مصرف خوراک و عملکرد تولید نیز است (جعفری و همکاران ۲۰۲۳)، اما به دلیل آلودگی محیطی و به دنبال آن تجمع در غذا و آب می‌تواند به اندام‌های حیاتی مانند کبد و کلیه آسیب برساند (کوشواها و همکاران ۲۰۲۲). بر اساس مطالب بیان‌شده، هدف از این پژوهش مطالعه اثرات سطوح مختلف سولفات مس و نانو اکسید مس بر عملکرد، وضعیت ایمنی، فراسنجه‌های خونی و خصوصیات لاشه بره‌های پرواری بود.

مواد و روش‌ها

دام‌ها و شرایط نگهداری

جهت انجام این مطالعه، تعداد ۳۰ رأس بره نر نژاد رومانی-مغانی با میانگین سنی حدود ۷ ماه و با متوسط وزن بدن 30 ± 2 کیلوگرم به‌طور تصادفی به ۵ تیمار ($n=6$) اختصاص داده شدند. قبل از شروع دوره پرورشی، بره‌ها علیه بیماری آنترتوکسمی واکسینه شدند و جهت کنترل انگل‌های داخلی و خارجی داروی ضد انگل دریافت کردند. خوراک‌دهی بره‌ها در دو وعده غذایی و در ساعت ۹ صبح و ۵ عصر در باکس انفرادی انجام شد. بره‌ها دسترسی آزاد به آب داشتند. جیره پایه بر اساس احتیاجات غذایی توصیه‌شده توسط شورای ملی تحقیقات (NRC ۲۰۰۷) به‌وسیله نرم‌افزار CNCPS

¹ Haematopoiesis

گوسفندی با ویرایش ۶/۱ و بر اساس احتیاجات غذایی بره با وزن اولیه حدود ۳۰ کیلوگرم و افزایش وزن روزانه ۲۲۰ گرم تنظیم شد. خوراک مصرفی روزانه طوری تنظیم می‌شد که باقیمانده خوراک در آخر حدود ۱۰ درصد خوراک داده شده به دام در هر روز باشد و میزان مصرف خوراک بر اساس اشتها تنظیم شد. اجزاء تشکیل‌دهنده جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است.

Table 1- Ingredients and nutrient composition of the basal diet

Items	%Dry matter
Alfalfa hay	50.50
Barley grain	24.91
Corn grain	14.65
Wheat bran	3.46
Soybean meal	4.99
Mineral and vitamin	0.49
Salt	0.28
Sodium bicarbonate	0.72
Total	100
Chemical composition	
Dry matter	90.8
Metabolizable energy (Mcal/Kg DM)	2.5
Crude protein	14.4
Acid detergent fibre	15.8
Neutral detergent fiber	29.5
Ether Extract	2.2
Calcium	0.8
Phosphor	0.4
Copper (mg/Kg DM)	5.02
Ash	7.2

Vitamin Supplement: Vitamin A, 500,000 IU/ kg; Vitamin E, 100 mg/ kg; Vitamin D3 100,000 IU/ kg; Mineral Supplements: Calcium 195,000 mg; Phosphorus 90,000 mg; Magnesium 90,000 mg ؛ Sodium 55000 mg ؛ Zinc 3000 mg Iron 30fh;l/ ؛ Manganese 2000 mg ؛Cobalt 100 mg ؛ Selenium 1 mg ؛ Antioxidant 400 mg.

روزهای صفر، ۳۰، ۴۵ و ۵۶ دوره پرورار اندازه‌گیری شد و میزان افزایش وزن با استفاده از اختلاف وزن بره‌ها در ابتدا و انتهای هر دوره وزن‌کشی مشخص شد. ضریب تبدیل غذایی با تقسیم خوراک مصرفی بر میزان افزایش وزن بدن به صورت دوره‌ای محاسبه شد. خون‌گیری از بره‌ها در روزهای ۳۰ و ۵۶ دوره پرورشی، ۳ ساعت پس از وعده غذایی صبح از طریق ورید گردنی انجام شد. در ادامه، پس از جداسازی سرم و پلاسما، نمونه‌ها تا زمان آنالیز، در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس با استفاده از کیت‌های تجاری (شرکت پارس ازمون تهران) غلظت فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز، نیتروژن اوره‌ای خون (BUN)،

جیره‌های آزمایشی این پژوهش شامل: (۱) جیره پایه یا شاهد (CON؛ بدون مکمل مس)، (۲) جیره پایه + ۱۰ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشک به شکل سولفات مس (CuS10)، (۳) جیره پایه + ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک به شکل سولفات مس (CuS20)، (۴) جیره پایه + ۱۰ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشک به شکل نانو اکسیدمس (CuN10)، (۵) جیره پایه + ۲۰ میلی‌گرم مس در کیلوگرم ماده خشک به شکل نانو اکسیدمس (CuN20) بودند. دوز مصرفی عنصر مس بر اساس دامنه و حد تحمل توصیه شده در راهنمای احتیاجات غذایی گوسفند توسط شورای ملی تحقیقات (NRC ۲۰۰۷) تعیین شده است. وزن بدن بره‌ها در

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری (SAS 1/9) و رویه GLM مطابق مدل آماری زیر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

که در آن، Y_{ij} : متغیر وابسته، μ : میانگین داده‌ها، T_i : اثر تیمار و e_{ij} : اثر خطای آزمایشی بود. مقایسات میانگین با سطح احتمال ۵ درصد و با استفاده از روش مقایسات میانگین دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

اثرات تغذیه سولفات مس و نانواکسیدمس بر عملکرد بره‌های پرواری در جدول شماره ۲ ارائه شده است. مطابق جدول مذکور، مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل و راندمان مواد خوراکی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P > 0.05$).

در تحقیق حاضر عدم تأثیر معنی‌دار مکمل‌های مس بر وزن نهایی، احتمالاً به دلیل میزان مس موجود در جیره پایه باشد که برای تأمین نیاز دام‌ها کافی بوده است. مکمل سازی مقادیر کافی مواد معدنی کم‌نیاز به جیره دام‌های در حال رشد به‌منظور بهینه کردن عملکرد و افزایش رشد ضروری به نظر می‌رسد (سلیمان و همکاران ۲۰۰۷). عوامل متعددی مانند وضعیت مس اولیه حیوانات، محتوای مس موجود در جیره پایه و غلظت آنتاگونیست‌های مس (S، Fe، Mo)، ممکن است بر پاسخ حیوان به افزودن مکمل مس تأثیر بگذارد (سلیمان و همکاران ۲۰۰۷؛ ژانگ و همکاران ۲۰۰۸). نتایج تحقیقات متعدد نشان می‌دهد که در صورت تأمین بودن نیاز دام، مکمل نمودن جیره با مس اضافی تأثیر چندانی بر افزایش وزن روزانه بره‌ها ندارد (لوگین بول و همکاران ۲۰۰۰)، هرچند افزودن مقادیر بیشتر ممکن است تأثیر منفی بر نیاز سایر مواد معدنی نظیر روی داشته باشد (سرواز و همکاران ۱۹۹۰). هژبری و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی اثر افزودن مکمل‌های آلی و نانومس (۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) در جیره غذایی

کلسترول، تری گلیسیرید، پروتئین کل، آلبومین، بتا هیدروکسی بوتیرات، آنزیم‌های کبدی (ALT و AST)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در آزمایشگاه مرجع شرکت زیست کاوشگران آنیل تبریز تعیین شد.

برای تعیین عناصر کم مصرف خون و همچنین تجزیه و تحلیل نمونه‌های بافتی از نظر غلظت عناصر مس، روی و سلنیوم از دستگاه ICP-OES (مدل Optimum DV 7300) دانشگاه صنعتی اصفهان استفاده شد. بدین منظور بعد از کشتار تمامی حیوانات، نمونه‌های گوشت از عضله چشمی بین دنده‌ی ۱۲-۱۳ اخذ شد و همچنین نمونه‌های جگر نیز برداشته شد. نمونه‌های جگر و گوشت و خون با روش کجویی و همکاران (۲۰۱۳) هضم شدند. بدین ترتیب که در ابتدا محلول اسید نیتریک ۱۰ درصد (۱۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر) تهیه شد (۵ میلی‌لیتر برای هر نمونه). سپس ۰/۵ میلی‌لیتر سرم یا ۱ گرم از نمونه بافت (گوشت یا جگر)، به داخل بالون ژوژه انتقال داده شده و ۱/۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک و ۰/۵ میلی‌لیتر HCl به بالون ژوژه ریخته شد. بعد از آن بالون ژوژه روی هیتر با دمای ۲۰۰-۱۰۵ درجه سلسیوس در زیر هود قرار داده شد تا رنگ محلول صاف، روشن و شفاف شود. زمانی که رنگ مایع داخل بالون ژوژه روشن و شفاف شد در همان دما ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک ده درصد به بالون ژوژه اضافه شد (چنانچه رنگ نمونه شفاف نباشد باید کمی روی هیتر باقی بماند تا شفاف شود). پس از خنک شدن، مایع داخل فالکن ریخته، حجم آن با آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. یک عدد نمونه بلانک (شاهد، نمونه‌ای که فاقد نمونه موردنظر است) نیز تهیه گردید. در زمان کشتار دام‌ها، خصوصیات کمی و کیفی لاشه شامل وزن قلب، کلیه، ریه‌ها، کبد و دنبه به همراه لاشه سرد و لاشه گرم ثبت شد.

کیلوگرم به جیره غذایی بره‌های زندی گزارش نمودند که هر دو منبع مس افزایش وزن روزانه را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند و همچنین مکمل آلی مس در مقایسه با گروه‌های دیگر، موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی شد.

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی و برخی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در جدول ۳ گزارش شده است. استفاده از منابع سولفات مس و نانو اکسید مس (در سطح ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری غلظت اوره خون را در ۳۰ روزگی افزایش داد ($P < 0.05$).

بره‌های نر سنجابی گزارش نمودند که استفاده از هر دو شکل آلی یا نانو، عملکرد رشد را تحت تأثیر قرار نداد. در مقابل، گونزالس-اگویا و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی اثرات تغذیه منابع مختلف مس (نانو اکسید مس و سولفات مس) بر عملکرد خوک‌ها گزارش نمودند که مکمل‌های مس در مقایسه با گروه شاهد، میانگین افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی و همچنین میانگین خوراک مصرفی روزانه را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند و گروه نانو مس به‌طور معنی‌داری افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی بالاتری را موجب شد. حسین پور و همکاران (۲۰۱۴) با افزودن مس به شکل معدنی و آلی (پروتئینات مس) به میزان ۱۰ میلی‌گرم در

Table 2- The effect of using different levels and sources of copper on the performance of fattening lambs

Parameters	Experimental treatments					SEM	P-value
	CON ¹	CuS10 ²	CuS20 ³	CuN10 ⁴	CuN20 ⁵		
Initial weight	35.55	35.85	35.82	35.76	35.83	0.672	0.825
Final weight	51.22	51.80	51.40	51.20	50.94	0.96	0.110
Daily weight gain (gr)							
0-30 days	236.2	260.3	256.4	252.3	258.2	20	0.951
30-56 days	286.3	271.4	262.3	262.1	263.4	130	0.519
0-56 days	261.1	265.3	259.2	257.4	252.2	20	0.090
Dry matter intake (gr)							
0-30 days	1789.2	1878.3	1763.3	1725.5	1757.5	49.43	0.280
30-56 days	1960.7	1869.6	1984.2	1848.9	1991.1	56.60	0.274
0-56 days	1874.84	1873.81	1873.75	1887.25	1874.53	40.86	0.910
Feed efficiency (%)							
0-30 days	13.20	13.86	14.54	14.62	14.69	0.22	0.55
30-56 days	14.60	14.52	13.22	14.18	13.23	0.18	0.45
0-56 days	13.93	14.16	13.83	13.64	13.45	0.13	0.68
FCR							
0-30 days	7.7	7.5	7.0	7.2	6.9	0.64	0.904
30-56 days	7.2	7.2	7.9	7.3	8.2	0.68	0.745
0-56 days	7.4	7.3	7.5	7.2	7.5	0.39	0.970

1) basal or control diet (CON; without copper supplementation), 2) basal diet + 10 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper sulfate (CuS10), 3) basal diet + 20 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper sulfate (CuS20), 4) basal diet + 10 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper nano oxide (CuN10), 5) basal diet + 20 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper nano oxide (CuN20).

در هر دو دوره نمونه‌برداری (۳۰ و ۵۶ روزگی) بین تیمارهای آزمایشی فاقد تفاوت معنی‌دار بودند ($P > 0.05$). نتایج پژوهش حاضر تأثیر معنی‌دار تیمارهای

در مقابل، غلظت‌های خونی گلوکز، تری‌گلیسیرید، کلسترول، آلبومین، پروتئین، بتا‌هیدروکسی‌بوتیرات، آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین ترانس آمیناز

دو نوع مکمل معدنی و آلی مس (سولفات مس و کمپلکس مس-آمینواسید) در سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره غذایی گوساله‌های پرواری آنکوس بیان نمودند که تفاوت معنی‌داری در فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در نتیجه مکمل سازی جیره با سطوح ۱۰ یا ۲۰ میلی‌گرم مس با منابع آلی و معدنی وجود نداشت.

اثرات منابع معدنی و نانو مس بر میزان سه عنصر مس، روی و سلنیوم در بافت‌های خون، کبد و گوشت در جدول ۴ گزارش شده است. مطابق جدول، غلظت‌های سلنیوم گوشت و مس کبد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < 0.05$). بالاترین غلظت این دو عنصر متعلق به نمونه‌های حاصل از بره‌های دریافت‌کننده نانوآکسیدمس بوده و بره‌های دریافت‌کننده سطح ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، بالاترین میزان سلنیوم گوشت را داشته و سطح ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوآکسیدمس بالاترین غلظت مس کبد را به خود اختصاص دادند ($P < 0.05$). در ارتباط با غلظت خونی و گوشت مس نیز علیرغم عدم معنی‌داری، بالاترین میزان این عنصر متعلق به نمونه‌های خون تیمار ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک نانوآکسیدمس بود.

با توجه به اینکه غلظت سه عنصر روی، مس و سلنیوم اندازه‌گیری شده در بافت‌های مورد مطالعه روند مشابه یا متضادی نداشتند به نظر می‌رسد که مکمل‌سازی مس در جیره بره‌های مورد مطالعه تداخلی در روند جذب روی و سلنیوم ایجاد نکرده است.

این نتایج در توافق با گزارش‌های دزفولیان و همکاران (۲۰۱۲) و اکرت و همکاران (۱۹۹۹) است که بیان داشتند مکمل‌سازی مس در جیره تأثیری بر غلظت و زیست‌فراهمی روی در طول دوره آزمایشی ندارد. مواد نانوآکسیدمس به دلیل مساحت سطح بزرگ‌تر در داخل بدن، باعث تعامل بهتر با سایر مواد فعال بیولوژیکی می‌شوند. به‌طوری‌که نانو مواد معدنی می‌توانند از روده کوچک عبور کرده و بیشتر در خون، مغز، ریه، قلب،

آزمایشی بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی شامل فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و غلظت مالون‌دی‌آلدئید را نشان داد اما پارامترهای سوپراکسیددیسموتاز، گلوکاتیون پراکسیداز و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند ($P > 0.05$).

در مطالعه‌ای با نتایج مشابه، افتخاری و همکاران (۲۰۲۰) با مکمل سازی جیره غذایی بزغاله‌های مهابادی با سولفات مس (۱۰۰ میلی‌گرم در روز به ازای هر رأس بزغاله) گزارش کردند که مکمل مس روی پارامترهای خونی نظیر گلوکز، تری‌گلیسیرید و کلسترول پلاسما تأثیر معنی‌داری نداشت. در مطالعه دیگری، داتا و همکاران (۲۰۰۷) با افزودن منابع (سولفات مس و پروتئینات مس) و سطوح مختلف (۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) مس به جیره غذایی بزغاله‌های نر سیاه بنگال مشاهده کردند که غلظت پلاسمایی گلوکز، پروتئین کل، تری‌گلیسیرید و آنزیم‌های ALT و AST تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند اما غلظت کلسترول تحت تأثیر مکمل مس کاهش یافت. هژبری و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی اثر مکمل‌های مختلف مس در بره‌های نر سنجابی گزارش نمودند که افزودن مکمل مس به جیره بره‌های نر سنجابی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل نداشت. بالین‌حال، شاخص مالون‌دی‌آلدئید را بهبود بخشید.

برخلاف نتایج مطالعه حاضر، سنتیل کومار و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی اثرات مکمل‌سازی جیره غذایی بره‌های نر نلور با منابع (سولفات مس و پروتئینات مس) و سطوح متفاوت (۷ و ۱۴ پی‌پی‌ام) مس گزارش کردند که مکمل ۱۴ پی‌پی‌ام پروتئینات مس به‌طور معنی‌داری موجب افزایش فعالیت سروپلاسمین و آنزیم سوپراکسیددیسموتاز گلبول‌های قرمز خون شد و مکمل ۱۴ پی‌پی‌ام سولفات مس نیز فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز کبدی را افزایش داد. در راستای یافته‌های حاضر، دورتون و همکاران (۲۰۰۳) با افزودن

سولفات مس (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) گزارش کردند که مکمل مس موجب افزایش غلظت مس کبد شد و همچنین سطح ۲۰ میلی‌گرم، منجر به غلظت مس کبدی بیشتری نسبت به سطح ۱۰ میلی‌گرم گردید.

کلیه، طحال، کبد، روده و معده توزیع شوند (زابلی و همکاران ۲۰۱۳). گزارش‌های اسپیرز (۱۹۹۶) نشان می‌دهد که شکل غیر آلی مواد معدنی جذب و ماندگاری کمتری در بدن دارند. انگل و اسپیرز (۲۰۰۰) با مکمل-سازی جیره غذایی گوساله‌های پرواری آنگوس با

Table 3- The effect of different levels of copper sources on blood parameters and antioxidant indices of fattening lambs

	Days	Experimental treatments					SEM	P-value
		CON ¹	CuS10 ²	CuS20 ³	CuN10 ⁴	CuN20 ⁵		
Glucose (mg/dl)	30	92.8	90.8	94.2	95.8	94	4.09	0.931
	56	83.6	88.6	96.6	81.8	95.8	9.91	0.752
Cholesterol (mg/dl)	30	53	47.2	57.8	58.8	62.6	4.35	0.158
	56	56.4	53.6	57.2	46.8	65.7	4.03	0.514
Triglycerides (mg/dl)	30	18.8	18.4	20.6	20.8	21.4	1.68	0.660
	56	17.6	18.6	21.6	16.6	16.2	2.00	0.385
Urea (mg/dl)	30	32.8 ^b	44 ^a	38.8 ^{ab}	46 ^a	40 ^{ab}	2.71	0.024
	56	40.8	41.8	38	32.4	43.7	4.19	0.411
Albumin (mg/dl)	30	3.82	3.88	3.82	3.82	3.73	0.08	0.804
	56	3.90	3.76	3.88	4.06	3.80	0.15	0.704
Protein (mg/dl)	30	6.98	7.24	7.38	7.74	7.18	0.17	0.060
	56	7.14	6.9	7.28	7.06	7.37	0.28	0.848
BHBA (mmol/lit)	30	0.484	0.658	0.592	0.506	0.502	0.06	0.293
	56	0.422	0.468	0.590	0.458	0.430	0.43	0.574
AST (U/L)	30	91.6	90.80	97.80	95.00	94.00	10.91	0.987
	56	121.6	113.6	122.4	146.7	154.4	14.87	0.282
ALT (U/L)	30	28.50	25.20	26.20	32.17	24.20	3.25	0.466
	56	29.60	26.40	30.40	34.50	27.20	3.29	0.460
TAC (mmol/lit)	30	0.420	0.422	0.490	0.404	0.430	0.03	0.283
	56	0.466	0.426	0.464	0.394	0.397	0.41	0.408
MDA (mmol/lit)	30	1.98 ^a	1.80 ^a	1.52 ^b	1.34 ^c	1.44 ^b	0.05	0.001
	56	1.78	1.50	1.86	1.62	1.58	0.12	0.217
GPX (u/Ghb)	30	63.20	76.78	60.76	66.98	61.04	4.20	0.075
	56	59.34	66.62	53.90	46.98	61.85	6.23	0.256
SOD (u/Ghb)	30	1164.4	1169.7	1131.5	1143.8	1235.4	27.13	0.106
	56	806.10	885.84	857.28	674.64	863.27	81.87	0.403
CAT (cata/grHb)	30	47.41	41.55	43.12	43.40	46.59	3.24	0.678
	56	35.72 ^c	35.74 ^c	36.36 ^c	40.60 ^b	45.64 ^a	0.65	0.001

1) basal or control diet (CON; without copper supplementation), 2) basal diet + 10 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper sulfate (CuS10), 3) basal diet + 20 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper sulfate (CuS20), 4) basal diet + 10 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper nano oxide (CuN10), 5) basal diet + 20 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper nano oxide (CuN20).

کبدی و فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز کبدی با استفاده از منبع آلی در مقایسه با منابع معدنی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که می‌تواند نشانه‌ای از بهبود زیست‌فراهمی آن در نتیجه مکمل‌سازی جیره با منابع

پال و همکاران (۲۰۱۰) با مکمل‌سازی جیره غذایی میش‌ها با عناصر روی و مس به‌وسیله اشکال معدنی (سولفات روی و سولفات مس) و آلی (روی متیونین و مس متیونین) بیان داشتند که میزان غلظت مس و روی

نمودند که افزودن مکمل مس-لیزین به جیره، غلظت مس پلاسما را نسبت به گروه شاهد و مکمل نانو مس افزایش داد و غلظت عنصر مس در بافت‌های کبد و طحال در گروه‌های دریافت‌کننده مکمل مس نسبت به گروه شاهد بیشتر بود.

آلی باشد. اما از یک‌سو غلظت‌های این دو عنصر در بافت‌های کلیه، عضله، قلب و پوست تفاوتی بین گروه‌های تیماری نشان ندادند. در راستای نتایج ما، هژبری و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی اثر افزودن مکمل‌های آلی و نانواکسیدمس (۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) در جیره غذایی برده‌های نر سنجابی گزارش

Table 4- The effect of different levels of copper sources on the concentration of copper, zinc and selenium elements in different tissues of fattening lambs (mg/kg)

Parameters	Elements	Experimental treatments					SEM	P-value
		CON ¹	CuS10 ²	CuS20 ³	CuN10 ⁴	CuN20 ⁵		
Blood	Cu	0.084	0.083	0.081	0.083	0.109	0.01	0.198
	Se	0.018	0.016	0.016	0.019	0.016	0.01	0.965
	Zn	0.025	0.021	0.016	0.034	0.012	0.08	0.298
Meat	Cu	0.167	0.147	0.126	0.155	0.177	0.03	0.235
	Se	0.030 ^{ab}	0.021 ^c	0.023 ^{bc}	0.034 ^a	0.025 ^{bc}	0.01	0.014
	Zn	1.44	1.45	1.25	1.56	1.31	0.22	0.870
Liver	Cu	2.262 ^b	2.339 ^b	2.791 ^b	2.564 ^b	4.298 ^a	0.32	0.001
	Se	0.023	0.024	0.016	0.018	0.022	0.01	0.255
	Zn	0.845	0.914	0.826	0.849	0.807	0.16	0.992

1) basal or control diet (CON; without copper supplementation), 2) basal diet + 10 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper sulfate (CuS10), 3) basal diet + 20 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper sulfate (CuS20), 4) basal diet + 10 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper nano oxide (CuN10), 5) basal diet + 20 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper nano oxide (CuN20).

Table 5- The effect of different levels of copper sources on slaughterhouse characteristics of fattening lambs (%)

Parameters	Experimental treatments					SEM	P-value
	CON ¹	CuS10 ²	CuS20 ³	CuN10 ⁴	CuN20 ⁵		
Hot carcass	46.30	46.96	47.50	46.67	48.91	1.37	0.702
Cold carcass	44.58	44.57	45.32	43.53	45.49	1.30	0.833
Tail	2.95	3.91	3.29	3.17	3.32	0.53	0.784
Heart	1.13	1.10	1.08	1.14	1.04	0.06	0.783
Liver	4.32	4.00	4.46	4.52	3.85	0.18	0.082
Kidney	0.59	0.61	0.57	0.57	0.77	0.05	0.112
Lungs	2.38	2.30	2.53	2.28	2.22	0.14	0.593

1) basal or control diet (CON; without copper supplementation), 2) basal diet + 10 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper sulfate (CuS10), 3) basal diet + 20 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper sulfate (CuS20), 4) basal diet + 10 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper nano oxide (CuN10), 5) basal diet + 20 mg of copper per kg of dry matter in the form of copper nano oxide (CuN20).

دنده دوازدهم، چربی کلیه و عضله لانژیسیموس تحت تأثیر مکمل‌ها قرار نگرفتند.

نتیجه‌گیری کلی

طبق نتایج حاضر، استفاده از اشکال معدنی و نانو مس در سطوح ۱۰ یا ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره تأثیر معنی‌داری بر پارامترهایی همچون میزان اوره خون، مالون‌دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم کاتالاز، درصد مس در خون و سلنیوم در گوشت داشت. لیکن تفاوت معنی‌داری بر عملکرد و اکثر پارامترهای خونی، شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، خصوصیات لاشه بره‌های پرواری و علائم بالینی مسمومیت در بره‌های گروه‌های تیماری مشاهده نشد. این امر نشان می‌دهد که سطوح مورد استفاده، پتانسیل مسمومیت‌زایی و ریسک سلامتی برای بره‌های مورد آزمون نداشته است. با توجه به بهبود غلظت‌های کبدی مس در تیمار دریافت‌کننده منبع نانو اکسیدمس؛ به نظر می‌رسد استفاده از ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک نانو اکسیدمس می‌تواند استراتژی سودمندی در کاهش دفع این عنصر و کاهش آلودگی زیست‌محیطی باشد.

دزفولیان و همکاران (۲۰۱۲) با مطالعه اثرات مکمل-سازی جیره غذایی بره‌های نر با ۱۰ یا ۲۰ میلی‌گرم سولفات یا پروپیونات مس اظهار کردند که هر دو منبع مس به‌طور معنی‌داری غلظت مس پلاسمای خون را افزایش دادند اما تأثیری بر غلظت روی پلاسما نداشتند. نتایج ما با یافته‌های ایکرت و همکاران (۱۹۹۹) موافق است که هیچ تغییری در مس پلاسمای میش‌های دریافت‌کننده تیمارهای مس ۱۰، ۲۰ و ۳۰ پی پی ام از منابع سولفات و پروتئینات گزارش نکردند.

نتایج مربوط به خصوصیات لاشه در جدول ۵ گزارش شده است. بر اساس نتایج حاصله تیمارهای مورد مطالعه قادر به اثرگذاری بر صفات کشتار نبودند ($P>0.05$).

در مطالعه انجام‌شده توسط افتخاری و همکاران (۲۰۲۰) روی بزغاله‌های مهابادی، استفاده از مکمل مس در جیره تأثیر معنی‌داری بر صفات لاشه مانند وزن زنده، وزن لاشه گرم، بازده لاشه و ضخامت چربی پشت کبد نداشت؛ این یافته در توافق با نتایج مطالعه حاضر بود. همچنین چنگ و همکاران (۲۰۰۸) با افزودن منابع مختلف مس (مس-لیزین و کلرید مس) در سطوح ۱۰ یا ۲۰ میلی‌گرم مس به کیلوگرم ماده خشک جیره غذایی بره‌های هیبرید نر دورپر × مغولستان گزارش نمودند که خصوصیات لاشه اعم از وزن لاشه گرم، چربی پشت

References

- Aksu DS, Aksu T, Özsoy B and Baytok E, 2010. The effects of replacing inorganic with a lower level of organically complexed minerals (Cu, Zn and Mn) in broiler diets on lipid peroxidation and antioxidant defense systems. *Journal of Animal Sciences* 23: 1066-1072.
- Aliarabi H, Tabatabaee MM, Fadayifar A, Torkashvan S, Bahari AA, Zamani P, Alipour D and Dezfulian AH, 2011. The effect of addition of organic zinc supplementation with and or without Cu on performance plasma minerals profile and some enzyme activity in male Mehraban lambs. *Journal of Animal Science Researches* 21: 111-121. (In Persian).
- Aliarabi H, Zand N, Bahari A, Hajivaliei M, Zaboli K, 2018. Effect of iron source on performance, some minerals, thyroid hormones and blood metabolites of Mehraban male lambs. *Journal of Animal Science Research* 28: 77-92. (In Persian).
- Cheng J, Fan C, Zhang W, Zhu X, Yan X, Wang R and Jia Z, 2008. Effects of dietary copper source and level on performance, carcass characteristics and lipid metabolism in lambs. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences* 21: 685-691.

- Datta C, Mondal MK and Biswas P, 2007. Influence of dietary inorganic and organic form of copper salt on performance, plasma lipids and nutrient utilization of Black Bengal (*Capra hircus*) goat kids. *Animal Feed Science Technology* 135:191-209.
- De Sousa IKF, Hamad Minervino AH, Sousa Rdos RDS, Chaves DF, Soares HS, Barros IO, de Araújo CASC, Júnior RAB and Ortolani EL, 2012. Copper deficiency in sheep with high liver iron accumulation. *Veterinary Medicine International* 6:1-4.
- Dezfoulan AM, Aliarabi H, Tabatabaei MM, Zamani P, Alipour D, Bahari A and Fadayifar A, 2012. Influence of different levels and sources of copper supplementation on performance, some blood parameters, nutrient digestibility and mineral balance in lambs. *Livestock Science* 147:9-19.
- Dorton KL, Engle TE, Hamar DW, Siciliano PD and Yemm RS, 2003. Effects of copper source and concentration on copper status and immune function in growing and finishing steers. *Animal Feed Science and Technology* 110: 31-44.
- Eckert GE, Greene LW, Carstens GE and Ramsey WS, 1999. Copper status of ewes fed increasing amounts of copper from copper sulfate or copper proteinate. *Journal Anima Science* 77:244-249.
- Eftekhari M, Zali A, Akbari A, Ganjkhanelou M and Hatefi A, 2020. Effect of copper supplement on performance and blood parameters in Mahabadi castrated kids. *Animal Sciences Journal* 32: 3-14. (In Persian).
- Engle TE and Spears JW, 2000. Dietary copper effects on lipid metabolism, performance and ruminal fermentation in finishing steers. *Journal of Animal Science* 78:2452-2458.
- Gonzales-Egui A, Fu CM, Lu FY and Lien TF, 2009. Effects of nanocopper on copper availability and nutrients digestibility, growth performance and serum traits of piglets. *Livestock Science* 126:122-129.
- Haghi Jamadi M, Seifdavati J, Abdi-Benemar H, Mirzaei Aghjehgheshlagh F and seyedsharifi R, 2022. Effects of adding copper nanoparticles in various sources of plant and animal protein on nutrition parameters and gas production using in vitro technique. *Animal Science Research* 32(3): 131-142.
- Hill, GM and Shannon MC, 2019. Copper and zinc nutritional issues for agricultural animal production. *Biological Trace Element Research* 188:148-159.
- Hoseinpour N, Norouzian MA and Afzalzadeh A, 2014. Effect of different sources of copper on performance, gas production parameters and nutrients digestibility in Zandi lamb. *Animal Production* 16(2): 93-101. (In Persian).
- Hozhabri F, Darabi M and Moeini MM, 2018. Assessing the various copper supplements effect on performance, some blood parameters and humoral immune response of male Sanjabi lambs. *Journal of Ruminant Research* 6: 101-116. (In Persian).
- Jackson BP, Bertsch PM., Cabrera ML, Camberato JJ, Seaman JC and Wood CW, 2003. Trace element speciation in poultry litter. *Journal of Environmental Quality* 32: 535-40.
- Jafari H, Fatahnia F, Khodamoradi S and Taasoli G, 2023. Effect of ascorbic acid and copper injection on serum parameters concentration and the incidence of metabolic disorders in transition dairy cows under heat stress. *Animal Science Research* 34(1), 45-61.
- Kachuee R, Moeini M and Souri M, 2013. Effects of organic and inorganic selenium supplementation during late pregnancy on colostrum and serum Se status, performance and passive immunity in Merghoz goats. *Animal Production Science* 54: 1016-1022.
- Kushwaha R, Kumar V, Kumar M, Vaswani S and Kumar A, 2022. Effects of inorganic and nano copper supplementation on haematology, blood biochemical and plasma mineral status in growing cattle. *Indian Journal of Animal Sciences* 92: 981-985.
- Luginbuhl JM, Poore MH, Spears JW and Brown TT, 2000. Effect of dietary copper level on performance and copper status of growing meat goats. *Sheep Goat Research Journal* 16: 65-71.

- NRC, 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Ognik K, Stępniewska A, Cholewińska E and Kozłowski K, 2016. The effect of administration of copper nanoparticles to chickens in drinking water on estimated intestinal absorption of iron, zinc, and calcium. *Poultry Science* 95: 2045-2051.
- Pal DT, Gowda NKS, Prasad CS, Amarnath R, Bharadwaj U, Suresh Babu G and Sampath KT, 2010. Effect of copper and zinc-methionine supplementation on bioavailability, mineral status and tissue concentrations of copper and zinc in ewes. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 24: 89-94.
- SAS, 2003. SAS/STAT Software: Changes and Enhances Through Release 9.1.3. SAS Institute Inc Cary, North Carolina. USA.
- Senthilkumar P, Nagalakshmi D, Ramana Reddy Y and Sudhakar K, 2009. Effect of different level and source of copper supplementation on immune response and copper dependent enzyme activity in lambs. *Tropical Animal Health Production* 41: 645-653.
- Zervas G, Nikolaou E and Mantzios A, 1990. Comparative study of chronic copper poisoning in lambs and young goats. *Animal Production* 50: 497-506.
- Solaiman SG, Craig T, Reddy G and Shoemaker CE, 2007. Effect of high levels of Cu supplement on growth performance, rumen fermentation, and immune responses in goat kids. *Small Ruminant Research* 69: 115-123.
- Spears JW, Brandao VLN and Heldt J, 2022. Invited Review: Assessing trace mineral status in ruminants, and factors that affect measurements of trace mineral status. *Applied Animal Science* 38: 252-267.
- Spears JW, 1996. Organic trace minerals in ruminant nutrition. *Animal Feed Science and Technology* 58: 151-163.
- Zaboli K, Aliarabi H, Bahari AA and Abbasalipourkabir R, 2013. Role of dietary nano-zinc oxide on growth, performance and blood levels of mineral: a study on Iranian Angora (Markhoz) goat kids. *International Advisory Board* 2: 19-26.
- Zhang W, Wang R, Kleemann DO, Lu D, Zhu X, Zhang C and Jia Z, 2008. Effects of dietary copper on nutrient digestibility, growth performance and plasma copper status in cashmere goats. *Small Ruminant Research* 74: 188-193.