"Research article" **DOI: 10.30495/JVCP.2023.1962938.1373**

Relationship of soil and forage Cobalt, Iron, Manganese, and Zinc contents with serum Cobalt, Zinc, vitamin B_{12} values and some hematological parameters in sheep of Ramhormoz city

Nikvand, A.A.[1*], Rastmanesh, F.[2], Razi Jalali, M.[3], Gholami, E.[4]

1- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Geology, Faculty of Earth Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

4- MSc. Graduate in Bio-environmental Geology, Faculty of Earth Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
*Corresponding author's email: a.nikvand@scu.ac.ir
(Received: 2022/8/21 Accepted: 2022/11/16)

Abstract

In ruminants, cobalt is essential for synthesis of vitamin B_{12} by rumen microflora. Emaciation and anemia are the most important consequences of cobalt deficiency in ruminants. This study aimed to investigate the relationship between cobalt, iron, zinc, and manganese levels of soil and forage with each other and with serum levels of cobalt, zinc, and vitamin B_{12} in emaciated and normal sheep of Ramhormoz city. Eight soil and 8 forage samples were taken from four areas in Ramhormoz city. The soil and forage samples were analyzed. Blood samples were collected from 25 (15 emaciated and 10 normal) and 43 sheep (28 emaciated and 15 normal) from areas with more and less than 0.07 µg cobalt/Kg of DM forage, respectively and were analyzed to determine serum cobalt, zinc, vitamin B_{12} values and some hematological parameters. The forage cobalt value in Plim (0.052±0.02 mg/kg dry matter (DM)) and Larkiabad (0.054±0.00 mg/kg DM) regions was lower than the standard value. The mean soil iron value (15767±1333 mg/kg arid soil) was more than its critical level in Ramhormoz. The highest soil manganese values in Larkiabad and Plim regions were associated with the lowest forage cobalt values. There was no statistically significant difference between serum levels of cobalt, zinc, and vitamin B_{12} in the emaciated and normal sheep. It is possible that the high amounts of soil iron and manganese, due to their chelating effects, could reduce the cobalt bio-availability of forage. Contrary to the available literature, the presence of 0.05 µg cobalt/Kg of DM forage is capable of providing sufficient amounts of cobalt and vitamin B_{12} for sheep in the region.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Forage elements, Hematological parameters, Ramhormoz sheep, Soil elements, Vitamin B_{12}.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2023.1962938.1373

بررسی ارتباط محتوای کبالت، آهن، روی و منگنز خاک و علوفه با مقادیر سرمی کبالت، روی، ویتامین B_{12} و برخی شاخص‌های هماتولوژیک گوسفندان شهرستان رامهرمز

علی‌عباس نیکوند[1*]، فاطمه راست‌منش[2]، محمد راضی‌جلالی[3] ، الهام غلامی[4]

۱- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- استادیار گروه زمین شناسی، دانشکده علوم زمین، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۴- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد زمین‌شناسی زیست‌محیطی، دانشکده علوم زمین، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: a.nikvand@scu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۵/۳۰ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۸/۲۵)

چکیده

وجود کبالت برای ساخت ویتامین B_{12} توسط میکروفلور شکمبه در نشخوارکنندگان ضروری است. لاغری و کم‌خونی از مهم‌ترین عواقب کمبود آن می‌باشند. پژوهش حاضر با هدف بررسی ارتباط بین مقادیر کبالت، آهن، روی و منگنز خاک و علوفه با همدیگر و همچنین با سطوح سرمی کبالت، روی و ویتامین B_{12} گوسفندان لاغر و طبیعی شهرستان رامهرمز انجام گرفت. بدین منظور تعداد ۸ نمونهٔ خاک و ۸ نمونهٔ علوفه از ۴ منطقهٔ رامهرمز اخذ شد. آنالیز نمونه‌های خاک و علوفه انجام شد. در ادامه از گوسفندان مناطق با مقدار کبالت علوفه بیشتر و کم‌تر از ۰/۰۷ میکروگرم/کیلوگرم علوفه خشک، به ترتیب از ۲۵ رأس (۱۵ رأس لاغر و ۱۰ رأس طبیعی) و ۴۳ رأس (۲۸ رأس لاغر و ۱۵ رأس طبیعی) خون‌گیری شده و مقادیر سرمی کبالت، روی، ویتامین B_{12} و برخی شاخص‌های هماتولوژیک بررسی شد. نتایج نشان داد که مقدار کبالت علوفه در ۲ منطقه پلیم (۰/۰۲±۰/۰۵۲ میلی‌گرم/کیلوگرم علوفه خشک) و لرکی‌آباد (۰/۰۰±۰/۰۵۴ میلی‌گرم/کیلوگرم علوفه خشک) از مقدار استاندارد آن پایین‌تر بود. همچنین بین مقادیر سرمی کبالت، روی و ویتامین B_{12} در گوسفندان لاغر و طبیعی، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. میانگین کلی آهن خاک رامهرمز (۱۳۳۳±۱۵۷۶۷ میلی‌گرم/کیلوگرم خاک) هم بالاتر از مقدار بحرانی بود. بالاترین مقادیر منگنز خاک نیز در مناطق لرکی‌آباد و پلیم، با کم‌ترین مقادیر کبالت علوفه همراه بود. ممکن است که مقادیر بالای منگنز و آهن خاک با اثرات شلاته‌کنندگی، سبب کاهش دسترسی زیستی کبالت علوفه از خاک شده‌باشد. همچنین وجود مقدار ۰/۰۵ میکروگرم کبالت در هر کیلوگرم علوفهٔ خشک، می‌تواند مقادیر کافی سرمی از کبالت و ویتامین B_{12} برای گوسفندان منطقه را فراهم آورد.

کلیدواژه‌ها: عناصرخاک، عناصرعلوفه، شاخص‌های خون، ویتامین B_{12}، گوسفندان رامهرمز.

مقدمه

علی‌رغم این‌که مواد معدنی فقط ۶-۴ درصد وزن بدن حیوانات را تشکیل می‌دهند، امّا به علت نقش‌های گوناگون در اعمال حیاتی بدن، اهمیت آن‌ها در بیوشیمی تغذیه، فراوان است (Suttle, 2010).

کبالت عنصری است که تمام نشخوارکنندگان به آن نیاز اساسی دارند و کمبود آن در نشخوارکنندگانی که از جیره فقیر از کبالت تغذیه می‌شوند، رخ می‌دهد. وجود مقادیر کافی از کبالت برای تولید ویتامین B_{12} (سیانوکوبالامین) توسط میکروفلور شکمبه ضروری است و کمبود آن منجر به کمبود ویتامین B_{12} می‌شود که به نوبهٔ خود باعث اختلال در مسیرهای آنزیمی وابسته به این ویتامین می‌گردد (Constable *et al.*, 2017). لازم به ذکر است که ویتامین B_{12} جزء اصلی در سیستم‌های آنزیمی دخیل در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، برخی اسیدهای آمینه و DNA می‌باشد (Gonzalez-Montan *et al.*, 2020). کمبود کبالت یک مسئله مهم در خیلی از نقاط جهان است که می‌تواند به شکل اوّلیه یا ثانویه اتفاق بیفتد. بیان شده‌است که خاک‌های شدیداً آهکی می‌تواند القاءکنندهٔ کمبود ثانویهٔ کبالت در نشخوارکنندگان شود (Kojouri, 2006). گوسفندان در مقایسه با گاوها به مقادیر بیشتری از کبالت علوفه جهت پیشگیری از کمبود اولیهٔ آن نیاز دارند، به‌گونه‌ای که گزارش شده، چرای گوسفندان و گاوها، به ترتیب در مراتع حاوی کم‌تر از ۰/۰۷ و ۰/۰۴ میلی‌گرم کبالت/کیلوگرم از علوفه خشک، سبب کمبود اولیهٔ کبالت می‌شود (Constable *et al.*, 2017). کمبود شدید کبالت و متعاقب آن کمبود ویتامین B_{12} با علایمی از قبیل بی‌اشتهایی، تأخیر در رشد، لاغری، کم-رنگ شدن مخاطات، ترشحات اشکی و انحراف اشتها در نشخوارکنندگان همراه است (Westerlly *et al.*, 2020). گفته می‌شود که کمبود کبالت باعث افزایش حساسیت به بیماری‌های عفونی می‌شود. در این خصوص گزارش شده‌است که گوسفندان دچار کمبود کبالت، حساسیت بیشتری در ابتلا به نماتودهای گوارشی دارند (Helmer *et al.*, 2021). بهرامی و همکاران در سال ۲۰۱۹، کمبود تحت بالینی کبالت را در طی یک مطالعهٔ کشتارگاهی در گاوهای ارومیه نشان داده‌اند (Bahrami *et al.*, 2019).

روی، از دیگر مواد معدنی کم‌مصرف است که برای فعالیت چندین سیستم آنزیمی ضروری است و نقش مهمی در وظایف فیزیولوژیکی از قبیل رشد، ایمنی و تولیدمثل دارد. مهم‌ترین عامل موثر بر میزان جذب روی، نیاز بدن است. نشان داده شده که مقادیر بالای آهن خاک می‌تواند دسترسی زیستی روی برای گیاه را کاهش داده و سبب کمبود روی در گوسفندان شود (Rastmanesh *et al.*, 2020a). اثرات مهاری مقادیر بالای اکسیدهای آهن خاک بر دسترسی زیستی گیاه برای کبالت نیز گزارش شده‌است (Gonzalez-Montana *et al.*, 2020). در این راستا، محققین بیان داشته‌اند که مقادیر بالای کبالت خاک نیز می‌تواند سبب القای کمبود آهن در برگ‌های گیاهان شود که می‌تواند بیانگر وجود برهمکنش میان کبالت و آهن باشد (Chatterjee and Chatterjee, 2003).

مقادیر متفاوتی برای محتوای منگنز خاک گزارش شده‌است. نتایج یک مطالعه، دامنه نوسانی از ۲۰ تا ۱۰/۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم منگنز در خاک خشک را گزارش کرده است (Sparks, 1995)، درحالی‌که دیگر

مطالعات مقدار ۴۵۰ تا ۴۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم منگنز در خاک را ثبت کرده‌اند (Adriano, 2001). محققین نشان داده‌اند که اکسیدهای آهن و منگنز تمایل بالایی برای اتصال و جذب کاتیون‌های دو و سه ظرفیتی کبالت خاک را دارند (Davila-Rangel and Solache-Rios, 2006). در این رابطه، محققین به اثر منگنز در کاهش دسترسی زیستی کبالت خاک برای علوفه نیز اشاره کرده‌اند (Hogg *et al*., 1993; Kojouri, 2006; Gonzalez-Montana *et al*., 2020).

با توجه به این‌که مطالعات اندکی در خصوص وضعیت کبالت خاک و علوفه و ارتباط آن با وضعیت کبالت در خون نشخوارکنندگان خوزستان انجام شده است (Mostafa-Tehrani and Hosseini, 2015)، از این‌رو، مطالعهٔ حاضر با هدف بررسی ارتباط مقادیر کبالت، روی، آهن و منگنز خاک و علوفه با همدیگر و نیز با سطوح سرمی کبالت، روی و ویتامین B_{12} در گوسفندان طبیعی و لاغر در شهرستان رامهرمز انجام شد.

مواد و روش‌ها

- **نمونه‌برداری از خاک و علوفه:** در این مطالعهٔ مقطعی حاضر، نمونه‌برداری از خاک و علوفهٔ ۴ منطقه از شهرستان رامهرمز (روستاهای گرمتون، پلیم، مالکاید و لرکی‌آباد) در خرداد ماه ۱۳۹۸ انجام شد. بدین منظور، تعداد ۸ نمونهٔ خاک (از هر منطقه ۲ نمونه به فاصلهٔ ۵۰۰ متر) به مقدار حدود ۳ کیلوگرم از خاک مراتع چرای گوسفندان، از عمق ۱۵- ۵ سانتی‌متری با استفاده از بیلچه پلاستیکی جمع‌آوری و در پاکت‌های پلاستیکی بسته‌بندی گردید. همچنین تعداد ۸ نمونه علوفهٔ بالغ مرتعی (از هر منطقه ۲ نمونه) که ترکیب همگنی از علف گندم و دیگر علوفه‌های چراگاهی بود (به میزان هر نمونه ۵۰۰ گرم) از ۲ سانتی‌متری سطح زمین چیده و پس از بسته‌بندی به منظور اندازه‌گیری مقادیر عناصر به آزمایشگاه مطالعات مواد معدنی زرآزما (تهران- ایران) ارسال شدند (Rastmanesh *et al*., 2018). لازم به ذکر است که زمین‌های مناطق مورد مطالعه به روش سنتی با کانال‌های آبی موجود، آبیاری می‌شدند و حداقل ۲ ماه پس از آخرین آبیاری، نمونه‌برداری از مراتع مورد نظر، صورت گرفت.

- **نمونه‌برداری از گوسفندان:** بدین منظور، در ادامه و پس از تعیین‌شدن مقدار کبالت خاک و علوفهٔ مناطق تحت مطالعه، از مناطق مورد بررسی، تعداد ۶۸ رأس گوسفند به ظاهر سالم به‌گونه‌ای انتخاب شدند که از مناطق واجد علوفه با مقدار کبالت کافی (حاوی بیشتر از ۰/۰۷ میلی‌گرم/کیلوگرم در علوفه خشک) (منطقه گرمتون)، تعداد ۱۵ رأس گوسفند لاغر و با شاخص امتیاز بدنی (body condition score; BCS) کمتر یا مساوی ۲/۵ (گروه ۱) و ۱۰ رأس گوسفند طبیعی با BCS بزرگ‌تر از ۲/۵ (گروه ۲) و از مناطق با کمبود کبالت علوفه (حاوی کمتر از ۰/۰۷ میلی‌گرم/کیلوگرم در علوفه خشک) (مناطق پلیم و لرکی‌آباد)، تعداد ۲۸ رأس گوسفند لاغر با BCS مشابه گروه۱ (گروه ۳) و ۱۵ رأس گوسفند طبیعی با BCS مشابه گروه۲ (گروه ۴)، انتخاب (Constable *et al*., 2017) و از گوسفندان هر ۴ گروه، ۲ نوع نمونهٔ خون فاقد ماده ضد انعقاد و حاوی ماده ضد انعقاد اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (ethylene diamine tetra acetic acid; EDTA) تهیه و به آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی دانشکده

دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شد. در ادامه برای آنالیز روی و ویتامین B_{12} سرم، میزان ۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های سرمی در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری به آزمایشگاه جوادالائمه اهواز و برای آنالیز کبالت سرم، میزان ۱ میلی‌لتیر از نمونه‌های سرمی در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری، به آزمایشگاه معیار دانش پارس در اصفهان ارسال شدند.

لازم به ذکر است، اگرچه میانگین مقدار کبالت ۲ نمونهٔ علوفهٔ منطقهٔ مالکاید، ۰/۱ میکروگرم/کیلوگرم علوفه خشک بود، ولی به دلیل آن‌که مقدار کبالت یک نمونه بالاتر و یکی پایین‌تر از حد نیاز (۰/۰۷ میلی‌گرم/کیلوگرم علوفه خشک) بود، از گوسفندان این منطقه نمونه‌گیری انجام نشد.

گوسفندان مطالعه شده در تحقیق حاضر، از نژاد بختیاری، همه مادهٔ بالغ و با سن بیش از یک سال بودند. پرورش گوسفندان مذکور در هر ۴ منطقهٔ مورد مطالعه، به‌صورت سنتی بود و تغذیهٔ آن‌ها در ۳ ماه منتهی به شروع تحقیق، به‌طور کامل، متکی به مراتع مورد مطالعه بود. همچنین نظر به این‌که لاغری یکی از نشانه‌های بالینی مهم شناخته‌شدهٔ کمبود کبالت می‌باشد، سعی شد که همزمان از گوسفندان لاغر و طبیعی مناطق مورد، نمونه‌گیری انجام شود. البته با این توضیح که هیچ‌یک از گوسفندان لاغر انتخاب شده در مطالعه ما، نشانه‌های بالینی دیگری، هم‌چون سرفه، اسهال و سابقه اخیر بی‌اشتهایی نداشتند و نیز درمان‌های پیشگیری‌کنندهٔ معمول ضد انگل‌های داخلی و خارجی در آن‌ها انجام شده بود. BCS گوسفندان مورد نظر هم از درجهٔ ۱ (خیلی لاغر) تا ۵ (خیلی چاق) بر اساس مطالعات فی‌تیان و همکاران تعیین گردید (Phythian *et al*., 2012).

- آماده‌سازی و آزمایشات انجام گرفته بر روی نمونه‌های خاک: پس از خشک شدن نمونه‌های خاک در دمای اتاق، ابتدا با هاون دستی پودر شده و سپس از الک ۲۰ مش (با جز کوچک‌تر از ۲ میلی‌متر) عبور داده شدند. در نهایت هم حدود ۳۰ گرم از هر نمونه خاک الک شده، برای تعیین مقدار عناصر روی، آهن و منگنز در آن بر اساس هضم قلیایی (alkaline fusion) با استفاده از روش ICP-OES (Inductively coupled plasma optical emission spectrometry) و همچنین برای اندازه‌گیری کبالت آن به کمک روش جذب اتمی (Rastmanesh *et al*., 2018)، به آزمایشگاه مطالعات مواد معدنی زرآزما (تهران- ایران) ارسال شد.

میزان pH خاک نیز در آزمایشگاه زمین‌شیمی دانشکده علوم زمین دانشگاه شهید چمران اهواز تعیین شد. بدین منظور مخلوطی از دو قسمت آب مقطر و یک قسمت خاک تهیه شده و پس از یک ساعت نگه‌داری در دمای اتاق، با استفاده از یک pHسنج قلمی (Hach 5465010, Sension 156, USA)، میزان pH خاک اندازه‌گیری شد (Rastmanesh *et al*., 2020b).

- آماده‌سازی و آزمایشات انجام گرفته بر روی نمونه‌های علوفه: پس از خشک کردن و آسیاب نمودن نمونه‌های علوفه در دمای اتاق، برای اندازه‌گیری غلظت عناصر کبالت، روی، آهن و منگنز موجود در هر نمونه، مقدار ۳۰ گرم علوفه خشک به آزمایشگاه مطالعات مواد معدنی زرآزما ارسال شدند. نمونه‌های علوفه، پس از هضم در اسید کلریدریک و اسید نیتریک ۱ درصد و آماده‌سازی در مایکروویو، به حالت مایع تبدیل شده و

میزان عناصر مورد نظر با دستگاه اسپکترومتر جرمی پلاسمای جفت‌شده القایی (Inductive coupled plasma mass spectrometry)، ICP-MS (شرکت Varian، کشور استرالیا) اندازه‌گیری شدند (Rastmanesh *et al*., 2018).

- **آماده‌سازی و آزمایشات انجام‌گرفته بر روی نمونه‌های خون:** ابتدا نمونه‌های خون فاقد ماده ضد انعقاد با هدف اندازه‌گیری مقدار کبالت، روی و ویتامین B_{12} آن، جهت جداسازی سرم در شتاب g ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم‌های حاصله از هر نمونه، در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس تا زمان انجام آزمایشات لازم نگه‌داری شدند. مقادیر سرمی روی و کبالت به ترتیب با استفاده از روش‌های اسپکتروفتومتری (Biorexfars, Iran) و اسپکتروسکوپی و ویتامین B_{12} با روش الایزا و با کیت تجاری (Autobio diagnostics, China) اندازه‌گیری شدند.

- **ارزیابی شاخص‌های هماتولوژیک در نمونه‌های خون:** نمونه‌های خون حاوی EDTA نیز در کوتاه‌ترین زمان ممکن پس از نمونه‌گیری به آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شده و تحت آزمایش‌های هماتولوژیک قرار گرفتند و مقادیر تعداد تام گلبول‌های قرمز (RBC)، حجم فشرده سلولی (PCV) و غلظت هموگلوبین (Hb) خون گوسفندان مطالعه شده با استفاده از دستگاه Auto Hematology Analyser (BC-2800 Vet, China, Mindray) تعیین گردید.

- **تحلیل آماری داده‌ها:** تحلیل‌های آماری داده‌های حاصله، با نرم‌افزار spss نسخه ۲۴ و با بهره گرفتن از آزمون *t* تک‌نمونه‌ای (برای مقایسه مقادیر عناصر خاک و علوفه مطالعه حاضر با مقادیر بحرانی آن‌ها در دیگر مطالعات)، *t* مستقل (جهت مقایسه مقادیر سرمی ویتامین B_{12}، کبالت و روی بین گوسفندان لاغر مناطق واجد و فاقد کمبود کبالت علوفه)، آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (برای انجام مقایسه بین گروهی مقادیر سرمی کبالت، ویتامین B_{12} و روی در ۴ گروه گوسفندان مورد مطالعه) و آزمون همبستگی پیرسون انجام شد. همچنین سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ لحاظ گردید.

یافته‌ها

- **نتایج تعیین عناصر نمونه‌های خاک:** براساس یافته‌های ارائه‌شده در جدول ۱ مشخص گردید که خاک ۴ منطقهٔ تحت مطالعه شهرستان رامهرمز، از نظر مقدار کبالت با هم تفاوت آماری معنی‌داری نداشت و در مقایسه با مقادیر طبیعی آن در خاک (۵ تا ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم خاک خشک) (Lark *et al*., 2014) در محدودهٔ طبیعی قرار داشت. در این بین خاک منطقهٔ مالکاید واجد کم‌ترین مقدار کبالت (۶/۲ و ۶/۴ میلی‌گرم/کیلوگرم از خاک خشک از آنالیز دو نمونهٔ خاک) در مقایسه با دیگر مناطق بود.

همچنین میانگین مقدار روی خاک (۱۲/۲±۶۱/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم) در مقایسه با مقدار آن در منابع معتبر (Jimenez-Ballesta *et al*., 2022) ۴۷-۴۳ میلی‌گرم/کیلوگرم خاک) کم‌تر از محدوده طبیعی نبود، به‌گونه‌ای که در هیچ‌یک از مناطق چهارگانه تحت مطالعه، مقدار آن کم‌تر از ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم خاک ثبت نشد (جدول ۱).

بررسی آماری با استفاده از آزمون *t* تک‌نمونه‌ای نشان داد که میانگین مقدار آهن خاک (۱۳۳۳±۱۵۷۶۷

میلی‌گرم/کیلوگرم) از میانگین خاک دیگر نقاط جهان بیشتر بود ($p<$۰/۰۱) و مقدار آهن خاک مناطق گرمتون، پلیم و لرکی‌آباد بیش از مقدار بحرانی آن در خاک (۹۰۰۰ تا ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم از خاک خشک) بود (Kareem, 2013) (جدول ۱).

در مقایسه با مقدار طیف طبیعی منگنز خاک (۶۰۰–۷۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم خاک) (Jimenez-Ballesta *et al*., 2022)، مقادیر منگنز خاک منطقه لرکی‌آباد (۸۰۰±۷۶۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم خاک خشک) و پلیم (۴۴۵±۴۲۰۷ میلی‌گرم/کیلوگرم خاک خشک)، بسیار بالاتر از مقادیر طبیعی بود. همچنین محتوی منگنز خاک مناطق پلیم و لرکی‌آباد به‌طور معنی‌داری بالاتر از مناطق گرمتون و مالکاید ثبت گردید (جدول ۱).

جدول ۱- میانگین ± انحراف معیار (میلی‌گرم/کیلوگرم) مقادیر عناصر کبالت، روی، منگنز و آهن خاک مناطق تحت بررسی در مقایسه با مقادیر بحرانی

	کبالت	روی	منگنز	آهن
گرمتون	۰/۶±۷/۹	۰/۷±۶۵/۵	۱۳۰±۱۳۹۱	۸۱۳±۱۶۲۲۴
پلیم	۰/۲±۸/۱	۷/۸±۷۶/۵	۴۴۵±۴۲۰۷	۷۴۴±۱۶۲۸۱
مالکاید	۰/۱±۶/۳	۷/۸±۵۰/۵	۱۳۰±۶۶۰	۴۸۱±۱۳۷۷۵
لرکی‌آباد	۰/۲±۸/۱	۶/۳±۵۲/۵	۸۰۰±۷۶۸۰	۱۰۳±۱۶۷۹۴
میانگین کلی	۰/۹±۷/۷	۱۲/۲±۶۱/۲	۲۷۶۲±۳۵۲۶	۱۳۳۳±۱۵۷۶۷
مقدار بحرانی	* <۵	** ۴۳–۴۷	** ۶۰۰ –۷۰۰	*** ۹۰۰۰ >۱۵۰۰۰

*- (Lark *et al*., 2014)، **- (Jimenez-Ballesta *et al*., 2022)، ***- (Kareem, 2013)

از طرف دیگر، میانگین میزان pH خاک مناطق مورد مطالعه ۰/۱۱±۷/۴ تعیین گردید که در محدوده خنثی تا کمی قلیایی قرار داشت. ارتباط معنی‌داری هم بین میزان pH خاک و محتوای کبالت علوفه مشاهده نشد.

- **نتایج تعیین عناصر نمونه‌های علوفه:** میانگین مقادیر عناصر مورد نظر در علوفه مرتعی ۴ منطقهٔ مورد مطالعه و میانگین کلی آن‌ها نیز در جدول ۲ ارائه شده و مشاهده می‌گردد که، اگرچه مقدار کبالت خاک در مطالعهٔ حاضر طبیعی بود، ولی مقدار کبالت علوفهٔ مرتعی در ۲ منطقهٔ (پلیم و لرکی‌آباد) پایین‌تر از مقدار تأمین‌کنندهٔ سلامت گوسفندان، یعنی کم‌تر از ۰/۰۷ (Constable *et al*., 2017) و ۰/۱ (Mostafa-Tehrani and Hosseini, 2015) میلی‌گرم/کیلوگرم از علوفه بوده‌است. همچنین مقدار روی علوفه در مطالعهٔ حاضر در ۲ منطقه مالکاید و لرکی‌آباد در محدودهٔ بحران (کمبود) (کم‌تر از ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم علوفه خشک) (McDowell, 1992) و در ۲ منطقهٔ دیگر در حد کمبود مرزی قرار داشت.

میانگین مقدار منگنز علوفه در ۴ منطقهٔ مورد مطالعه (۱۴/۸±۳۶/۴ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیشتر از مقدار بحرانی آن (۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بود (جدول ۲).

میانگین مقادیر آهن علوفهٔ مرتعی نیز، ۱۴۳±۴۸۳ میلی‌گرم/کیلوگرم تعیین شده‌است که در مقایسه با

مقادیر بحرانی (۱۰۰۰<۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم علوفه) در محدودهٔ طبیعی قرار دارد.

جدول ۲- مقادیر میانگین ± انحراف معیار (میلی‌گرم/کیلوگرم) عناصر کبالت، روی، منگنز و آهن علوفه مناطق تحت بررسی در مقایسه با مقادیر بحرانی.

منطقه مورد مطالعه / عنصر مطالعه‌شده	کبالت	روی	منگنز	آهن
گرمتون	۰/۱۷۱±۰/۰۴	۳۱/۸±۱۳/۹	۲۶/۵±۰/۷	۵۷ ±۷۱
پلیم	۰/۰۵۲±۰/۰۲	۳۰/۱±۱۲/۷	۳۹/۵±۷/۷	۳۵۶±۱۲
مالکاید	۰/۱۰۷±۰/۰۹	۲۷/۳±۱۳/۲	۲۳/۵±۹/۲	۵۸۴±۲۳۹
لرکی آباد	/۰۵۴±۰/۰۰	۱۸/۹± ۲/۵	۵۶/۰±۵۰	۴۱۵±۳۶
میانگین کلی	۰/۰۹۵±۰/۰۵	۲۷/۰۲±۵/۷	۳۶/۴±۱۴/۸	۴۸۳±۱۴۳
مقدار بحرانی	** <۰/۰۷	* <۳۰	*** <۳۰	*** ۱۵۰>۱۰۰۰

*: (McDowell, 1992)، **: (Constable *et al*., 2017)، ***: (NRC, 2001).

- نتایج تعیین مقادیر سرمی کبالت، ویتامین B_{12}، روی و شاخص‌های هماتولوژیک نمونه‌های خون گوسفندان: با انجام آنالیز واریانس یک‌طرفه، یافته‌های مربوط به میانگین مقادیر سرمی کبالت، روی و ویتامین B_{12} در ۴ گروه گوسفندان تحت بررسی در مطالعه حاضر، با هم مقایسه شدند که نتایج حاصله در جدول ۳ ارائه شده‌است. ملاحظه می‌گردد که بین گروه‌های مختلف تحت مطالعه از نظر مقادیر فاکتورهای سرمی مذکور، تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت (p>۰/۰۵).

از طرف دیگر مقایسه شاخص‌های هماتولوژیک ثبت‌شده هم نشان داد که گوسفندان لاغر (گروه ۳) و طبیعی (گروه ۴) مربوط به مناطق دچار کمبود کبالت در علوفه (پلیم و لرکی‌آباد)، به‌طور معنی‌داری از مقادیر پایین‌تری از هماتوکریت و هموگلوبین خون در مقایسه با گوسفندان منطقه گرمتون (گروه‌های ۱ و ۲) برخوردار بودند. تعداد گلبول‌های قرمز خون، میزان هموگلوبین و هماتوکریت گوسفندان لاغر گروه ۳ هم به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه‌های ۱ و ۲ بود (p<۰/۰۵).

جدول ۳- مقادیر میانگین ± انحراف معیار شاخص‌های سرمی و هماتولوژیک ۴ گروه گوسفندان در مناطق مطالعه شده.

عنصر مطالعه‌شده / گروه مورد مطالعه	کبالت (میکروگرم/دسی‌لیتر)	روی (میکروگرم/دسی‌لیتر)	ویتامین B_{12} (پیکومول/لیتر)	هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)	هماتوکریت (درصد)	گلبول قرمز (۱۰^{۶}/میکرولیتر)
گروه ۱ (۱۵ رأس)	۵/۹±۱/۶^{a}	۹۱/۵±۲۴/۷^{a}	۱۸۷۵±۴۵۱^{a}	۸/۱±۰/۹^{a}	۲۷/۸±۳/۶^{a}	۹/۴±۱/۶^{a}
گروه ۲ (۱۰ رأس)	۶/۶±۲/۳^{a}	۹۹/۶±۸/۵^{a}	۱۶۰۵±۵۶۸^{a}	۸/۴±۰/۹^{a}	۲۸/۳±۲/۸^{a}	۹/۲±۱/۳^{a}
گروه ۳ (۲۸ رأس)	۶/۲±۱/۷^{a}	۹۴/۶±۹/۶^{a}	۱۶۵۳±۷۰۴^{a}	۷/۰±۱/۱^{b}	۲۴/۸±۳/۹^{b}	۸/۱±۱/۳^{a}
گروه ۴ (۱۵ رأس)	۶/۵±۳/۳^{a}	۹۲/۸±۵/۳^{a}	۱۷۵۳±۶۰۷^{a}	۷/۳±۱/۵^{b}	۲۵/۴±۵/۰^{b}	۸/۸±۱/۶^{a}

a,b,...: حروف کوچک متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌ها است (p<۰/۰۵).

گروه ۱، گوسفندان لاغر روی مراتع حاوی کبالت طبیعی علوفه منطقه گرمتون؛ گروه ۲، گوسفندان طبیعی روی مراتع حاوی کبالت طبیعی علوفه منطقه گرمتون؛ گروه ۳، گوسفندان لاغر روی مراتع با کمبود کبالت علوفه منطقه لرکی‌آباد و پلیم؛ گروه ۴، گوسفندان طبیعی روی مراتع با کمبود کبالت علوفه منطقه لرکی‌آباد و پلیم.

صرف‌نظر از میزان کبالت علوفه مناطق مورد مطالعه، مقایسه شاخص‌های سرمی کبالت، روی، ویتامین B_{12} و برخی شاخص‌های سرمی در ۲ گروه گوسفندان لاغر و طبیعی با استفاده از آزمون T مستقل نشان داد که هیچ تفاوت آماری معنی‌داری بین میانگین میزان شاخص‌های ذکر شده در ۲ گروه مذکور، مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$)، (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه مقادیر میانگین ± انحراف معیار شاخص‌های سرمی و هماتولوژی دو گروه گوسفندان لاغر و طبیعی در مناطق مطالعه‌شده.

عنصر مطالعه‌شده / گروه گوسفندان مورد مطالعه	کبالت (میکروگرم/دسی‌لیتر)	روی (میکروگرم/دسی‌لیتر)	ویتامین B_{12} (پیکومول/لیتر)	هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)	هماتوکریت (درصد)	گلبول قرمز (میکرولیتر/$۱۰^۶$)
لاغر (۴۳ رأس)	۶/۱±۱/۷^a	۹۳/۵±۱۶/۳^a	۱۷۳۰±۶۳۱^a	۷/۴±۱/۲^a	۲۵/۸±۳/۹^a	۸/۵±۱/۶^a
طبیعی (۲۵ رأس)	۶/۷±۲/۹^a	۹۵/۶±۷/۲^a	۱۷۰۸±۵۷۴^a	۷/۸±۱/۴^a	۲۶/۶±۴/۴^a	۹/۰۸±۱/۵^a

a,b,...: حروف کوچک متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌ها است($p<۰/۰۵$).

همچنین آزمون بررسی همبستگی پیرسون، هیچ ارتباط آماری معنی‌داری بین میزان کبالت و ویتامین B_{12} سرم و نیز بین مقدار کبالت علوفه و کبالت سرم را نشان نداد. نتایج محاسبه همبستگی پیرسون بین میزان عناصر خاک و علوفه به همدیگر نیز مشخص کرد که هیچ ارتباط آماری معنی‌داری بین میزان عناصر روی، آهن، منگنز و حتی کبالت خاک با میزان کبالت علوفه وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). البته تنها یک ارتباط معنی‌دار و مثبت بین میزان آهن و کبالت خاک یافت شد ($r=۰/۹۸۳$ ،$p<۰/۰۱$).

بحث و نتیجه‌گیری

کبالت یک عنصر کمیاب ضروری در تغذیهٔ نشخوارکنندگان است و به دلیل این که در بافت‌های خاصی از بدن به صورت محدود ذخیره می‌شود، باید به صورت مداوم از راه دریافت جیره غذایی تامین شود تا در سنتز ویتامین B_{12} توسط میکروفلور شکمبه مورد استفاده قرار گیرد؛ بنابراین آگاهی از وضعیت کلی کبالت بدن می‌تواند نقش اساسی در پیش‌گیری از عوارض سوء ناشی از کمبود آن داشته باشد. اگرچه بسته به نوع خاک مقادیر متفاوتی از کبالت گزارش شده‌است (Cappuyns and Mallaerts, 2014)، در مقایسه با محدوده ایمن کبالت خاک برای چرای گوسفندان (۵ تا ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم خاک خشک) که توسط لارک و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش شده‌است (Lark *et al.*, 2014). در مطالعهٔ حاضر، مقادیر کبالت خاک در محدوده طبیعی قرار داشت. بنابراین با توجه به سطوح کبالت خاک مناطق تحت مطالعه، انتظار می‌رود که مراتع مربوطه نیز از سطح کبالت کافی برای تأمین سلامت دام‌ها بهره‌مند باشند، اما محتوی کبالت علوفهٔ مناطق لرکی‌آباد و پلیم در مقایسه با مقادیر طبیعی (مقادیری که بتواند سلامتی گوسفندان را تأمین کند، بیش از ۰/۰۷ میلی‌گرم/کیلوگرم علوفه خشک) کم‌تر بود (Constable *et al.*, 2017). البته میانگین مقدار کبالت علوفه در مطالعهٔ حاضر (۰/۰±۰۹۵/۰۵ میلی‌گرم/کیلوگرم علوفه خشک) در مقایسه با مقدار کبالت علوفه در شهرستان شادگان (۰/۰±۱۱/۰۲ میلی‌گرم/کیلوگرم علوفه خشک)، در

محدوده‌ٔ تقریباً مشابه‌ای قرار داشت (Mostafa-Tehrani and Hosseini, 2015). در این ارتباط بیان شده که در گوسفندان، میکروفلور شکمبه برای انجام عملکرد طبیعی خود و تولید ویتامین B_{12}، به مقدار بیش از ۰/۰۷ میلی‌گرم کبالت در هر کیلوگرم علوفه خشک نیاز دارند (Constable *et al*., 2017).

از طرف دیگر میانگین مقدار آهن خاک در مطالعه حاضر ۱۳۳۳±۱۵۷۶۷ میلی‌گرم/کیلوگرم خاک بود که در مقایسه با محدوده طبیعی آهن خاک (۱۵۰۰۰-۹۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) (Kerim *et al*., 2013) و مقدار ۸۵۰±۹۹۵۱ میلی‌گرم/کیلوگرم آهن خاک در مطالعه‌ٔ دیگر (Ikem *et al*., 2008)، در سطح بالاتری قرار داشت. محققین بیان داشته‌اند که مقادیر بالای اکسیدهای آهن در خاک می‌توانند دسترسی زیستی کبالت خاک برای گیاه را کم کنند؛ اگرچه ذکر کرده‌اند که لزوماً ارتباط ثابتی بین مقدار کبالت خاک و علوفه مشاهده نمی‌شود (Gonzalez-Montana *et al*., 2020). از این‌رو، در مطالعه‌ٔ حاضر به نظر می‌رسد که علت بخشی از اختلاف در کبالت خاک و علوفه مربوط به اثرات شلاته کنندگی مقادیر بالاتر از حد استاندارد آهن (۱۵۰۰۰<۹۰۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم) در خاک منطقه باشد. ارتباط مثبت و معنی‌داری که بین میزان آهن و کبالت خاک یافت شد، ممکن است حمایت‌کنندهٔ این مسأله باشد.

میانگین کلی منگنز خاک مناطق مورد مطالعه هم در مقایسه با طیف طبیعی آن (۷۰۰-۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم خاک) بسیار بالاتر بود (Jimenez-Ballesta *et al*., 2022). مقادیر بالاتر از حد طبیعی منگنز خاک مناطق لرکی‌آباد (۸۰۰±۷۶۸۰) و پلیم (۴۴۵±۴۲۰۷) با کم‌ترین مقادیر کبالت علوفه، به‌ترتیب ۰/۰۵۱ و ۰/۰۵۴ میلی‌گرم/کیلوگرم، در این مناطق همراه بود. مطالعات متعددی به اثرات منگنز بالای خاک در کاهش دسترسی زیستی کبالت خاک برای علوفه نیز اشاره داشته‌اند (Hogg *et al*., 1993; Gonzalez-Montana *et al*., 2020)، که با در نظر گرفتن این مسئله، این امکان وجود دارد که در منطقه لرکی‌آباد و پلیم، محتوای بالای منگنز و آهن خاک توانسته باشند محتوای کبالت علوفه مراتع مربوطه را به‌واسطهٔ کاهش دسترسی زیستی آن از خاک، کاهش دهند.

همچنین مقایسه مقدار آهن علوفه در مطالعهٔ حاضر با مقدار آهن علوفه در یک تحقیق در استان خوزستان (۹۴۷±۱۷۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) پایین‌تر (Rastmanesh *et al*., 2018) و در مقایسه با مطالعات دیگر که ۱۱۹/۵ و ۱۵۶/۷ میلی‌گرم/کیلوگرم گزارش کرده‌اند، بالاتر بود (Khan *et al*., 2006; Mostafa-Tehrani and Hosseini, 2015).

مقدار روی علوفه در مطالعهٔ حاضر هم در ۲ منطقهٔ مالکاید و لرکی‌آباد، در محدودهٔ بحرانی (کمبود) (کم‌تر از ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم علوفه خشک) و در ۲ منطقهٔ دیگر مورد مطالعه، در حد کمبود مرزی قرار داشت (Mcdowell, 1992). میانگین کلی مقدار روی علوفه ۴ منطقهٔ مطالعه شده در تحقیق حاضر هم، در مقایسه با مقدار آن در مطالعهٔ پرابو و همکاران در سال ۱۹۹۱ (۷/۵±۳۷/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم علوفه خشک)، پایین‌تر بود (Prabowo *et al*., 1991).

لازم به ذکر است که در مطالعه حاضر، ارتباط آماری معنی‌داری بین میزان pH خاک و مقادیر کبالت علوفه یافت نشد. به‌طور مشابهی، در تحقیقی در

نیوزیلند که بر روی ۱۸ نمونه خاک انجام شده‌بود هم، بین میزان pH خاک (با محدوده ۵/۸–۴/۹) و میزان کبالت علوفه، رابطه آماری معنی‌داری یافت نشد (Li *et al*., 2004).

از طرف دیگر مطالعات مختلف، مقادیر متفاوتی از کبالت در سرم گوسفندان، از جمله ۳–۱ میکروگرم/دسی‌لیتر (Constable *et al*., 2017)، ۵۰/۳±۸/۰۷ (Mostafa-Tehrani and Hosseini, 2015)، ۰/۰±۰۵/۰۴ (Schweizer *et al*., 2017) و ۲–۰/۱۸ (Herdt and Hoff, 2011) میکروگرم/دسی‌لیتر را گزارش کرده‌اند که با مقدار کبالت سرم گوسفندان مطالعهٔ حاضر (جدول ۴) متفاوت است. این مسأله سبب پیچیدگی در تعیین قطعی میزان نیاز به این عنصر در خاک مناطق مطالعه شده می‌گردد. به‌هرحال، در قیاس با بیشتر منابع معتبر فوق، گوسفندان لاغر و طبیعی از مناطق مختلف، با وجود سطوح پایین کبالت علوفه به‌خصوص در ۲ منطقهٔ پلیم و لرکی‌آباد، از کمبود کبالت رنج نبرده و به‌نظر می‌رسد که برخلاف داده‌های منابع موجود، وجود مقدار ۰/۰۵ میکروگرم کبالت در هر کیلوگرم علوفهٔ خشک در مناطق پلیم و لرکی‌آباد توانسته‌است مانع از کمبود کبالت در گوسفندان تحت مطالعه باشد.

همچنین میانگین مقادیر سرمی روی در گوسفندان مطالعهٔ حاضر (جدول ۴) در مقایسه با مقدار سرمی آن در تحقیقی در استان خوزستان (۱۷/۶±۶۸/۱ میکروگرم/دسی‌لیتر)، در محدودهٔ بالاتری قرار داشت (Rastmanesh *et al*., 2018).

میانگین مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت سرم گوسفندان ۴ گروه تحت مطالعه هم، در مقایسه با مقادیر هموگلوبین (۰/۷±۹ گرم/دسی‌لیتر) و هماتوکریت (۳۰/۵±۱ درصد) گوسفندان نژاد قزل ایرانی (Haji-Sadeghi *et al*., 2012) که درست قبل از القای یک کم‌خونی همولیتیک تجربی گزارش شده‌است، در سطح پایین‌تر و در مقایسه با مقادیر گزارش شده در تحقیقی دیگر برای هموگلوبین (۱۵–۹ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) و هماتوکریت (۴۵–۲۷ درصد)، در محدودهٔ طبیعی قرار داشتند (Constable *et al*., 2017).

بین مقادیر سرمی ویتامین B_{12} گوسفندان در ۴ گروه تحت بررسی نیز، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. محققین بیان داشته‌اند که غلظت سرمی ویتامین B_{12} گوسفند باید بیش از ۳۷۰ پیکومول در لیتر باشد (Aitken, 2007). در یک مطالعه نیز مقدار کافی ویتامین B_{12} سرمی در گوسفند را بیش از ۷۰۰ پیکومول در لیتر گزارش کرده‌اند (Abbott *et al*., 2018). به‌هرحال، در مقایسه با مقادیر اشاره شده، به‌نظر نمی‌رسد که گوسفندان تحت مطالعه دچار کمبود کبالت و ویتامین B_{12} بوده‌باشند. در واقع در تحقیق حاضر، بررسی سطوح سرمی روی و کبالت گوسفندان، نشان داد که گرچه مقدار روی علوفه در مناطق مورد مطالعه در حد مرزی یا کمتر از حد نیاز قرار داشت و مقدار کبالت علوفه در ۲ منطقه نیز کم‌تر از میزان تأمین کننده سلامت گوسفندان بود، اما هیچ‌یک از گروه‌های گوسفندان تحت بررسی در وضعیت کمبود روی، کبالت و ویتامین B_{12} قرار نداشتند.

براساس یافته‌های مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد که وجود مقادیر کبالت مشابه با نیاز گاوها (۰/۰۴ میکروگرم کبالت در هر کیلوگرم علوفهٔ خشک) (Constable *et al*., 2017) می‌تواند سطوح خونی

طبیعی از کبالت و ویتامین B_{12} در گوسفندان را فراهم آورد. وجود مقادیر بالاتر از حد استاندارد منگنز و آهن خاک مناطق لرکی‌آباد و پلیم در کنار کم‌ترین مقادیر کبالت علوفه به‌ترتیب ۰/۰۵۱ و ۰/۰۵۴ (میلی‌گرم/کیلوگرم) در این ۲ منطقه هم، ممکن است بیانگر نقش شناخته شده آنتاگونیستی منگنز و آهن در کاهش دسترسی زیستی کبالت خاک برای گیاه در مناطق ذکر شده‌باشد. درباره لاغری گوسفندان مورد بررسی هم، اگرچه می‌تواند علل زیادی داشته باشد، آنچه که روشن است، گوسفندان در ۳ ماه منتهی به مطالعه، تنها از علوفه مرتعی استفاده می‌کرده‌اند و یکی از مهم‌ترین دلایل احتمالی لاغری می‌تواند فقر انرژی و پروتئین ناشی از تغذیه با علوفه مرتعی غالبا خشک و کم‌کیفیت باشد.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارضی در منافع وجود ندارد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز در قالب پژوهانه (GN. SCU.VC98.30378) در انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- Abbott, K., Hynd, P., de Graaf, S., Leahy, T. and Larsen, J. (2018). The practice of sheep veterinary medicine. 1st ed., University of Adelaide Press. Adelaide, Australia. pp: 382-383.
- Aitken, I.D. (2007). Diseases of Sheep, 4th ed., Blackwell Publishing Professional; Ames, IA, USA, pp: 603-604.
- Adriano, D.C. (2001). Trace elements in terrestrial environments. Biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. Springer-Verlag, New York, pp: 867-869.
- Bahrami, A., Asri-Rezaei, S., Akbari, H. and Dalir-Naghadeh, B. (2019). Slaughterhouse survey of cobalt status in serum and liver of cattle in different seasons. Journal of Veterinary Research, 74(3): 388-95. [In Persian]
- Cappuyns, V. and Mallaerts, T. (2014). Background values of cobalt in Flemish and European soils. Geologica Belgica, 17(2): 107-114.
- Chatterjeem J. and Chatterjee, C. (2003). Management of phytotoxicity of cobalt in tomato by chemical measures. Plant Science, 164(5): 793-801.
- Constable, P.D., Hinchcliff, K W., Done, S. H. and Grunberg, W. (2017). Veterinary Medicine: a Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats. 10th ed., Saunders Elsevier, Edinburgh, pp: 818-822.

- Davila-Rangel, J. and Solache-Rios, M. (2006). Sorption of cobalt by two Mexican clinoptilolite rich tuffs zeolitic rocks and kaolinite. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 270(2): 465-471.
- Gonzalez-Montana, J.R., Escalera-Valente, F., Alonso, A.J., Lomillos, J.M., Robles, R. and Alonso, M.E. (2020). Relationship between Vitamin B_{12} and Cobalt metabolism in domestic ruminant: An Update. Animals, 10(10): 1855-1891.
- Haji-Sadeghi, Y., Fartashvand, M., Shokouhi, M. and Bahavarnia, S.R. (2012). Hemolytic anemia due to experimental onion poisoning in Iranian Ghezel sheep. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 6(3): 1613-1619. [In Persian]
- Helmer, C., Hannemann, R., Humann-Ziehank, E., Kleinschmidt, S., Koelln, M., Kamphues, J., *et al*. (2021). A case of concurrent molybdenosis, secondary copper, cobalt and selenium deficiency in a small sheep herd in Northern Germany. Animals, 11(7): 1864-1878.
- Herdt, T.H. and Hoff, B. (2011). The use of blood analysis to evaluate trace mineral status in ruminant livestock. The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 27(2): 255-283.
- Hogg, D.S., McLaren, R.G. and Swift, R.S. (1993). Desorption of copper from some New Zealand soils. Soil Science Society of America Journal, 57(2): 361-366.
- Ikem, A., Campbell, M., Nyirakabibi, I. and Garth, J. (2008). Baseline concentrations of trace elements in residential soils from Southeastern Missouri. Environmental Monitoring and Assessment, 140(1): 69-81.
- Jimenez-Ballesta, R., Bravo, S., Amoros, J.A., Perez-de-los-Reyes, C., Garcia-Pradas, J., Sanchez, M., *et al*. (2022). Soil and leaf mineral element contents in Mediterranean vineyards: Bioaccumulation and potential soil pollution. Water Air and Soil Pollution, 233(1): 1-3.
- Kareem, H.K. (2013). Study of distribution of some trace elements contents in the soil of Basra City using geographic information system (GIS). Journal of University of Babylon for Pure and Applied Sciences, 21(2): 479-509.
- Khan, Z.I., Hussain, K.A., Ashraf, M. and McDowell, L.R. (2006). Mineral status of soils and forages in Southwestern Punjab-Pakistan: Micro-minerals. Asian-Aust. Journal of Animal Science, 19(8): 1139-1147.
- Kojouri, G.h.A. (2006). The status of cobalt in soil, plants and sheep in Shahrekord district, Iran. Iranian Journal of Veterinary Research, 7(14): 66-69.
- LarK, R.M., Ander, E.L., Cave, M., Knights, K.V., Glennon, M.M. and Scanlon, R.P. (2014). Mapping trace element deficiency by cokriging from regional geochemical soil data: A case study on cobalt for grazing sheep in Ireland. Geoderma, 226-227: 64-78.
- Li, Z., McLaren, R.G. and Metherell, A.K. (2004). The availability of native and applied soil cobalt to ryegrass in relation to soil cobalt and manganese status and other soil properties. New Zealand Journal of Agricultural Research, 47(1): 33-43.
- McDowell, L.R. (1992). Zinc. In: Minerals in animal and human nutrition. San Diego: Academic Press, pp: 265-293.
- Mostafa-Tehrani A. and Hosseini, S.M. (2015). Mineral status of soil, forage and livestock blood in Shadegan region of Khuzestan province. Applied Animal Science Research Journal, 4(15): 81-90. [In Persian]
- NRC. (2001). Nutrient requirements of domestic animals. 7th ed., National Academies Press, Washington, D.C., pp: 131-143.
- Prabowo, A., McDowell, L.R., Wilkinson, N.S. Wilcox, C.J. and Conrad, J.H. (1991). Mineral status of grazing Cattle in South Sulawasi, Indonesia. 2-Microminerals. American Journal of Animal Science, 4(2): 121-130.
- Prasad, R., Shivay, Y.S. and Kumar, D. (2016). Interactions of zinc with other nutrients in soils and plants - A review. Indian Journal of Fertilizers, 12(5): 16-26.

- Phythian, C.J, Hughes, D., Michalopoulou, E., Cripps, P.J. and Duncan, J.S. (2012). Reliability of body condition scoring of sheep for cross-farm assessments. Small Ruminant Research, 104(1-3): 156-162.
- Rastmanesh, F., Zarasvandi, A.R., Rajabzadeh, N., Nikvand, A.A., Nori, M. and Asakereh, N. (2018). Study on relationship between copper, sulfur, iron, molybdenum and zinc of soil and forages with copper and zinc serum of sheep in Susangerd. Journal of Veterinary Research, 73(3): 327-333. [In Persian]
- Rastmanesh, F., Zarasvandi, A.R., Parviz, E., Nikvand, A.A., Nouri, M. and Kavosh, H.R. (2020a). Effects of copper, sulfur, iron, molybdenum and zinc of soil and forage on sheep serum copper and zinc levels in Masjedolaiman. Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences, 14(1): 51-58. [In Persian]
- Rastmanesh, F., Shalbaf, F., Moradi, R. and Prinzhofer, A. (2020b). Health risk assessment of heavy metals in Ahvaz oilfield using environmental indicators. International Journal of Environmental Science and Technology, 17(12): 4669-4678.
- Schweinzer, V., Iwersen, M., Drillich, M., Wittek, T., Tichy, A., Mueller, A., *et al*. (2017). Macromineral and trace element supply in sheep and goats in Austria. Veterinarni Medicina, 62(2): 62-73.
- Sparks, D. (1995). Environmental Soil Chemistry. Academic Press, San Diego, pp: 352-353.
- Suttle, N.F. (2010). Mineral nutrition of livestock. 4th ed., CABI: London, pp: 1-14.
- Westerlly, J.S., Carolina, C.G., Gumercindo, L.F., Rayane, C.P.V., Williane, G.A., Valter, A.N., *et al*. (2020). Cobalt deficiency in cattle and its impact on production. Pesquisa Veterinaria Brasileira, 40(11): 837-841.