Fakulta zemědělská
a technologická
Faculty of Agriculture
and Technology

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ

Katedra zootechnických věd

DISERTAČNÍ PRÁCE

Vliv vybraných minerálních prvků ve vztahu ke krevnímu obrazu u skotu

MVDr. Sylva Dresler

České Budějovice
2023

Školitel: prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.

Katedra zootechnických věd
Fakulta zemědělská a technologická
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma **Vliv vybraných minerálních prvků ve vztahu ke krevnímu obrazu u skotu** zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím, s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému mimouniverzitního projektu Thesis.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací a dále s uložením práce v elektronické formě v systému STAG Fakulty zemědělské a technologické Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích.

V Českých Budějovicích, dne 13.02.2023

podpis doktorandky: .....

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé disertační práce prof. Ing. Miloslavu Šochovi, CSc., dr. h. c. a panu doc. MVDr. Josefu Illkovi, DrSc., za odborné vedení, podporu a cenné rady v průběhu doktorského studia a při zpracování disertační práce. Dále bych chtěla poděkovat všem kolegům Katedry zootechnických věd – Fakulty zemědělské a technologické Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, a Ústavu morfologie, fyziologie a genetiky zvířat Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně za ochotu a pomoc při zpracování vzorků. Také bych ráda poděkovala pracovníkům zemědělského podniku VOS Zemědělců a.s. Velké Opatovice v Uhřicích, kteří mi umožnili realizaci cílů disertační práce a pomáhali při odběrech vzorků.

DRESLER, Sylva. *Effect of selected mineral elements on complete blood count and biochemical and mineral profile in dairy cattle*. České Budějovice, 2023. 180 pp. Doctoral thesis. South Bohemian University in České Budějovice, Faculty of Agriculture and Technology, Department of Animal Husbandry. Supervisor: prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr.h.c.

Abstract

The aim of the current doctoral thesis is to evaluate the influence of the composition of a total mixed ration supplemented with dietary, organically bound zinc on health status and related hematological and biochemical parameters and mineral levels in blood in cows and their calves. The experimental part is divided in two subareas. The first experiment is monitoring the effect of supplementation of the organic form of zinc on lactation performance of cows and effect of TMR composition on the blood parameters of the hematological, metabolic, and mineral profile of cows and their calves. The second experiment is focused on an effect of the addition of organic zinc on blood parameters, health, and immunological status of weaned calves - metabolic profile, concentration of vitamins A and E, trace elements Cu and Zn, and total immunoglobulin levels in blood serum.

Keywords:

dairy cattle, calves, trace elements, minerals, hematology, biochemical profile, immunology, nutrition

SEZNAM ZKRATEK

ADF	acidodetergentní vláknina
AK	aminokyselina
ALB	albumin
ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alaninaminotransferáza
AP	alkalická fosfatáza
AST	aspartátaminotransferáza
a.p.	ante partum = před porodem
BIL	bilirubin
BNLV	bezdusíkaté látky výtažkové
CCM	jedna ze dvou metod dělené sklizně kukuřice – *Corn Cob Mix* – silážovaná kukuřičná drť směsi palic s vřeteny bez listenů
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
FCM	*fat-corrected milk* (produkce mléka v kg obsahujícího 4 % mléčného tuku)
GGT	gamaglutamyltransferáza
GLU	glukóza
HCT	hematokrit
HGB	hemoglobin
KD	krmná dávka
LKS	jedna ze dvou metod dělené sklizně kukuřice – Liesch Kolben Silage - směs hrubě pošrotovaných palic spolu s vřeteny a listeny.
MCH	*mean corpuscular hemoglobin*, průměrná hmotnost HGB v erytrocytu
MCHC	*mean corpuscular hemoglobin concentration*, střední koncentrace HGB v erytrocytech
MCV	*mean corpuscular volume*, střední objem erytrocytu
NDF	neutrálně detergentní vláknina
NEB	negativní energetická bilance
NEL	netto energie laktace
NL	dusíkaté látky
PDIE	nedegradovaný protein krmiva skutečně stravitelný v tenkém střevě a množství mikrobiálního proteinu, které může být v bachoru syntetizováno z dostupné energie, není-li obsah degradovaného proteinu krmiva a dalších živin limitující
PDIN	nedegradovaný protein krmiva skutečně stravitelný v tenkém střevě a množství mikrobiálního proteinu, které může být v bachoru syntetizováno z dostupného proteinu krmiva, není-li obsah dostupné energie a dalších živin limitující
PLT	krevní destičky (trombocyty)
p.p.	post partum = po porodu

RBC	červené krvinky (erytrocyty)
ROS	*Reactive oxygens species* = reaktivní sloučeniny kyslíku
SD	směrodatná odchylka
TG	triacylglyceroly
TP	*total protein* – celková bílkovina
T_4	hormon tyroxin
TMK	těkavé mastné kyseliny
TMR	směsná krmná dávka (*total mixed ration*)
UREA	močovina
WBC	bílé krvinky (leukocyty)
Zn	Zinek
Zn-Met	Zinek – methionin

OBSAH

1 Úvod ... 10

2 Literární přehled ... 12

2.1 Zinek ... 16

2.1.1 Funkce zinku ... 16

2.1.2 Potřeba zinku ... 19

2.1.3 Absorpce a transport zinku ... 21

2.1.4 Organický versus anorganický zinek ... 23

2.1.5 Karence zinku ... 25

2.1.6 Toxicita zinku ... 26

2.1.7 Interakce ... 27

2.1.8 Zinek v krmivech ... 28

2.1.9 Imunita a zinek ... 29

2.1.10 Zinek a somatické buňky mléčné žlázy ... 31

2.2 Měď ... 33

2.2.1 Měď u přežvýkavců ... 33

2.2.2 Metabolismus mědi ... 33

2.2.3 Funkce mědi ... 35

2.2.4 Organická forma mědi ... 35

2.2.5 Karence mědi ... 35

2.2.6 Toxicita mědi ... 36

2.3 Interakce mikroprvků ... 38

3 Cíle disertační práce ... 40

4 Metodika ... 41

4.1 Pokus I – mléčná užitkovost, hematologický, biochemický a minerální profil krav ... 43

4.2 Pokus II – biochemický, minerální a imunologický profil telat ... 50

5 Výsledky a diskuse ... 52

5.1 Pokus I – mléčná užitkovost, hematologický, biochemický a minerální profil krav ... 52

5.2 Pokus II – biochemický, minerální a imunologický profil telat ... 67

6 Závěr ... 70

7 Seznam použité literatury ... 73

8 Přílohy ... 91

8.1 Tabulky ... 94

8.2 Grafy ... 116

8.3 Původní publikace ... 134

SUMMARY

The aim of the doctoral thesis was to investigate the effect of the composition of the total mixed ration on the characteristics of trace element composition in blood serum of dairy cows and calves and the effect of organic zinc supplementation on performance of dairy cows, health status of cows and calves, their hematological, metabolic, and mineral profile in blood serum.

It was confirmed that microelements saturation and zinc methionine (Zn-Met) fed at the recommended level (NRC 2001) has a significantly positive effects on the daily milk yield, milk fat, milk protein and somatic cell count (SCC) of dairy cows in early lactation. The milk yield of supplemented (P) group was higher during the whole experimental time. At the 60th day of lactation there was an increase of more than 2 liters of milk/d in P group (44.70±4.24 kg vs. 42.08±4.60 kg), (P≤0,05), 90 d p.p. more than 3 liters of milk (P≤0,05), (43.22±4.47 kg vs. 39.98±4.80 kg). SCC of the P group had a decreasing trend during the 3-month experimental period, the control (K) group reached constantly higher values. 30 d p.p., the SCC test group at a far lower level (P: 92.72±80.55 vs. K: 165.98±173.09); (P≤0.05). At the end of the experiment, SCC of (n=60) in P group stabilizes the lowest level (66.67±81.12), while the K group reaches its maximum (177.6±172.33); (P≤0.001). Organic zinc had an impact on milk fat and milk protein levels. In two and three months of supplementation, the P group reaches significantly higher values in fat, on 60th day (P≤0.01) and on 90th day (P≤0.01), and (P≤0.01; (P≤0.05) in protein, respectively.

The hypothesis that the microelements, especially zinc, affect hematological parameters in cattle was confirmed. In newborn calves the erythrocytes (RBC), hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT) and mean corpuscular HGB concentration (MCHC) in C group were under the reference minimum, the P group levels were in physiological range. The Zn-Met group showed significantly higher values of RBC and HCT in P group of calves. At the day of birth and 30 days p.p all four parameters were significantly higher in cows (RBC, HGB, GCT, PLT). 60 days p.p. there was significant increase in RBC (P≤ 0.001), HGB (P≤ 0.05), HCT (P≤0.01), PLT (P≤ 0.05) in the P group, WBC count was higher in physiological range (P≤0.01), compared to the control. Application of Zn-Met significantly increased the level of bilirubin in P-group on 30th and 60th d p.p. There was no directly positive effect of Zn addition manifested on total protein, albumin, GLU concentration and AST, GGT, ALP activity in serum, throughout the entire experimental period. 120 d p.p. there was a decrease of liver enzymes activity of AST, ALP and GGT. ALP was higher, as expected, in S-group in the first 3 months of the trial, then in the C-group on 60-120th d p.p., but not significantly. which did not confirm the expected impact of Zn-Met supplementation. 21days a.p. and 30 days p.p. there is a significant increase in blood urea in Zn-Met group (P≤0.05). Four months p.p., both groups showed values above the physiological maximum, which can be related to the high content

of crude protein in the ration. At the day of birth there was a significant increase in Zn ($P \leq 0.01$) and Mg concentration ($P \leq 0.05$) in blood serum in P group. 30 days p.p. there was a significant reduction of K ($P \leq 0.01$) and Mn ($P \leq 0.05$) levels and an increase in the Zn level in P group. 60 days p.p. Zn was significantly higher ($P \leq 0.001$) in P group. 90 days p.p. there were shown three statistically relevant differences in Zn ($P \leq 0.001$), P ($P \leq 0.05$) and Mn ($P \leq 0.001$) concentration. At the end of the experiment there was an increase in Zn levels ($P \leq 0.001$) and decreased of Ca concentration ($P \leq 0.05$) in the P group. The positive correlation of Zn and Mg confirmed significantly increase of Mg ($P \leq 0.05$) at 0 days p.p. in P group (0.97±0.08 vs. 0.91±0.04 mmol/l). The Zn-Met supplementation had significant influence on Zn level in blood serum ($P \leq 0.01$,$P \leq 0.001$), observed in P group from parturition up to the end of the experiment. The increasing trend of Zn concentration in P group corresponds to increasing Zn-Met supplementation according to DMintake in early lactation. There were also significant changes in K, Mn, and P levels. There was a significant decrease in Ca concentration ($P \leq 0.05$) and Zn increase ($P \leq 0.001$) in P group on 120th d p.p. The Ca decrease may be related to the known antagonism Ca:Zn. The other elements (Na, Cu and Se) demonstrated no changes.

In the second experimental part of the thesis, we follow the positive impact of organic zinc supplementation in calves. The experimental group showed a significant increase in the Zn concentration P group on day 7 (15.36±0.83 vs. 13.74±1.16 mmol/l); ($P \leq 0.05$) and day 90 (P:14.27±1.16; K:11.25±2.52 mmol/l); ($P \leq 0.005$). The Cu concentration P group was significantly higher on day 7, however, lower ($P \leq 0.05$) than the C group on day 90. Vitamin A and E reached higher, but nonsignificant values in the P group on the 7th and 90th day. The higher value of total protein in the P group at day 90 ($P \leq 0.05$) demonstrates the positive effect of zinc supplementation. We consider the increased ALP activity above the reference range in this age of calves for physiological phenomenon at the 90th day, the P group achieved a higher decrease than the C group ($p \leq 0.01$). SOD increased in P group on day 7 ($p \leq 0.01$), (487±22,87 vs. 456.39±28.67 U/l) and 90th day ($p \leq 0.01$), (487±22,87 vs. 456.39±28.67 U/l). Total immunoglobulin level in blood was positively influenced by the Zn-Met supplementation in P group at day 7 ($P \leq 0.001$), (14.51±1.08 vs. 7.46±0.69 mmol/l) and day 90 day ($P \leq 0.05$), (22.77±3.97 vs. 24.31±1.70 mmol/l).

In conclusion, we can confirm that Zn-Met supplementation has a positive effect on performance of dairy cows, health of cows and calves, hematological parameters, mineral serum level, especially zinc and immunity of weaned calves.

1 ÚVOD

Při neustále se zvyšující produkci hospodářských zvířat v situaci, kdy se zároveň jejichpočet každým rokem dramaticky snižuje a na kvalitu živočišných produktů je kladen čím dál větší důraz, je přidávání krmných doplňků do krmné dávky, hlavně stopových prvků, neodmyslitelné. Stopové prvky neboli mikroelementy jsou dle DGE (2000) nutriční substance, které se v organismu nacházejí pouze v minimálním, tedy stopovém množství. Ve srovnání s makroprvky se jejich potřeba a koncentrace v těle měří v mikrogramech na litr (séra, plazmy atd.), makroprvkyv miligramech na litr. Výživa u přežvýkavců ovlivňuje zdravotní stav zvířat (REECE, 2011) a jejich plodnost (DOLEŽAL, 1997; FORMIGONI, 2011). Minerální látky a jejich optimální koncentrace v organismu zvířat představují nezbytnou složku pro udržení dobrého zdravotního stavu, zajištění správné funkce imunitního systému a současně dosahovat produkčních a reprodukčních výkonů, zvláště u vysokoprodukčních zvířat. Nutriční nedostatky a excesy mohou ovlivnit jednotlivé složky imunitního systému, růst, plodnost zvířete či životaschopnost plodu (TOMAN, 2009).

Minerální prvky jsou do krmné dávky doplňovány formou anorganických solí. V uplynulých letech je zaznamenána řada důkazů o efektivitě podávání minerálních látek přežvýkavcům v organické formě. Organicky vázané minerální prvky se lépe resorbují, jejich využitelnost je vyšší a tím je pozitivním způsobem ovlivněno zdraví, produkce i reprodukce. (KACHUEE, 2013; FORMIGONI, 2011; KELLOGG, 2011). Výzkum metabolismu mikroelementů je soustředěn u přežvýkavců především na zinek, měď a selen. V chovech skotu i malých přežvýkavců se karence těchto mikroprvků vyskytuje relativně často. Biologický význam mikroelementů je značný, a proto studiu primárních i sekundárních karencí je věnována vysoká pozornost. Zinek u zvířat ovlivňuje růst, vývoj skeletu, imunitu, spermiogenezi, kvalitu sliznic, kůže a kožních útvarů (CHEN 2020, COPE 2009, ILLEK 1987). Je součástí řady enzymů, jejichž prostřednictvím ovlivňuje metabolismus. (UNDERWOOD et SUTTLE 2010, JELÍNEK et al. 2003, ŽOFLOVÁ, 2012). Efekt, jakého je jeho hrazením dosaženo, je však závislý na biologické dostupnosti prvku (PAL,2010). Ta je rozdílná při nasazení organické a anorganické formy prvku v potravě (FORMIGONI, 2011; KACHUEE, 2013; KELLOGG, 2011). Dostupnost zinku v organismu je závislá i na řadě dalších faktorů. Jedná se například o stres a vliv antagonistů. Rozdílnosti je pak možné pozorovat i při srovnávání výsledků výzkumů u skotu, ovcí a koz (DEZFOULIAN, 2012; FADAYIFAR, 2012; FORMIGONI, 2011; JIA, 2008; HERDT, 2011; KACHUEE, 2013; KENDALL, 2012; WAGNER, 2010).

Měď je stopovým prvkem, který je důležitý pro krvetvorbu a jehož nedostatek vede ke zvýšené náchylnosti k infekcím (REECE, 2011). Vrozená imunitní odpověď zvířete je pak snížena či změněna. Určité odlišnosti této odpovědi jsou rovněž pozorovány u různých druhů zvířat (DEZFOULIAN, 2012; FORMIGONI, 2011; KACHUE, 2013; MACHADO, 2013).

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

Způsob trávení přežvýkavců, zejména skotu, je oproti monogastrickým zvířatům značně odlišný. Jeho rozdíly jsou dány anatomií a fyziologií trávicího traktu, což zapříčiňuje specifické sestavování krmných dávek a jejich doplňků. Díky mikrobiálnímu bachorovému trávení je přežvýkavec schopen zpracovat a využít objemná krmiva s vysokým obsahem vlákniny. Bachorová mikroflóra a mikrofauna má kromě toho i možnost vlastní proteosyntézy z nebílkovinných dusíkatých látek. Zároveň dochází v bachoru touto mikrobiální k degradací plnohodnotných bílkovin s obsahem esenciálních aminokyselin na bílkoviny nižší kvality a biologické hodnoty. Mikrobiálním trávením jednoduchých sacharidů a škrobu dochází ke značným energetickým ztrátám (JAGOŠ *et al.*, 1985). Bílkoviny jsou v žaludku a tenkém střevě rozkládány na peptidy a volné aminokyseliny, poté krví nebo lymfou dopravovány do jater, kde dále probíhá syntéza nových bílkovin či desaminace, z bezdusíkaté frakce se dále mohou tvořit cukry. Volné aminokyseliny vytváří aminokyselinový pool pro tvorbu enzymů, hormonů a dalších bílkovin, pro tvorbu glycidů a tuků, pro obnovu spotřebovaných proteinů během hmotnostních přírůstků nebo tvorby mléka. Rezervoár volných aminokyselin dále pokrývá energetické potřeby organismu (VALENT, 2006; ZELENKA, 2010; ZEMAN, 2009). Během všech těchto procesů je pro organismus nezbytná zásoba všech minerálů v dynamickérovnováze podléhající homeostatickým mechanismům. Minerální látky plní funkci aktivátorů nebo inhibitorů specifických látek a enzymů, jsou dokonce často součástí enzymů, hormonů a vitaminů. Účastní se energetického metabolismu, metabolismu bílkovin, cukrů i tuků. Základní funkce minerálů se dělí do čtyř kategorií. Jsou jimi strukturální, fyziologická, katalytická a regulační funkce. Vápník a fosfor se v přesném poměru podílejí na struktuře kostí a zubů. (DIRKSEN, 2006; ILLEK 2003, ILLEK 1985).

Termín *minerální prvek* se vztahuje na prvky, které za normálních okolností v organismu nekolísají. Prvky jsou látky, které nemohou být rozloženy na jednodušší látky, ani nemohou být tvořeny chemickým spojením. Bylo zjištěno, že minerály v tkáních jsou zapotřebí pro podporu života zvířat (O´DELL, 1997). Mikroprvky a vitamíny patří k mikrokomponentám v krmivu, které zaujímají v látkové výměně organismu nepostradatelnou roli. Musí být dodávány potravou. Při nedostatečném příjmu dochází k poruchám látkové výměny, které mají negativní následky na zdravotní stav a produkci zvířat. S klasickými známkami nedostatku stopových prvku v dnešních standardních podmínkách ve výživě narazíme velice zřídka.

Daleko častěji se setkáváme se suboptimálním zásobením některého z mikroprvků, které mají za následek multifaktoriální poruchy celkového zdravotního stavu a produkční poruchy, jako jsou například mastitidy, poruchy reprodukce a onemocnění paznehtů. Z důvodu jejich enormního ekonomického významu a povětšinou difuzního spektra jejich příčin, jsou témata ohledně zásobení zvířecího organismu esenciálními vitaminy a mikroprvky neustále diskutovány (WINDISCH, 2003). MAHLKOW-NERGE *et al.* (2005) uvádějí souvislost mezi nedostatečným zásobením mikroprvků a vitaminů (především selenu a vitaminů A, E a β-karotenu) a vyšším výskytem ovariálních cyst. Zde hraje výživa velmi významnou roli. Narušený energetický metabolismus, na který má pozitivní vliv například zinek, je pro Vysokoprodukční dojnici těsně po porodu vysokým rizikem pro tvorbu cyst ovarií.Ketotická zvířata nesou 1,8krát vyšší riziko pro pozdější tvorbu cyst vaječníků. Negativní energetická bilance nutí dojnice nasměřovat svůj metabolismus k energetickým zásobám tuků. Masivní lipolýzou mohou v této době ztratit až jeden celý kondiční stupeň BCS a tím podpořitvznik endometritid. Dva ze tří případů zánětů dělohy bývá způsoben právě ztrátou kondice. Endometritidy vedou opět k hormonální dysbalanci, a tudíž k výskytu ovariálních cyst.

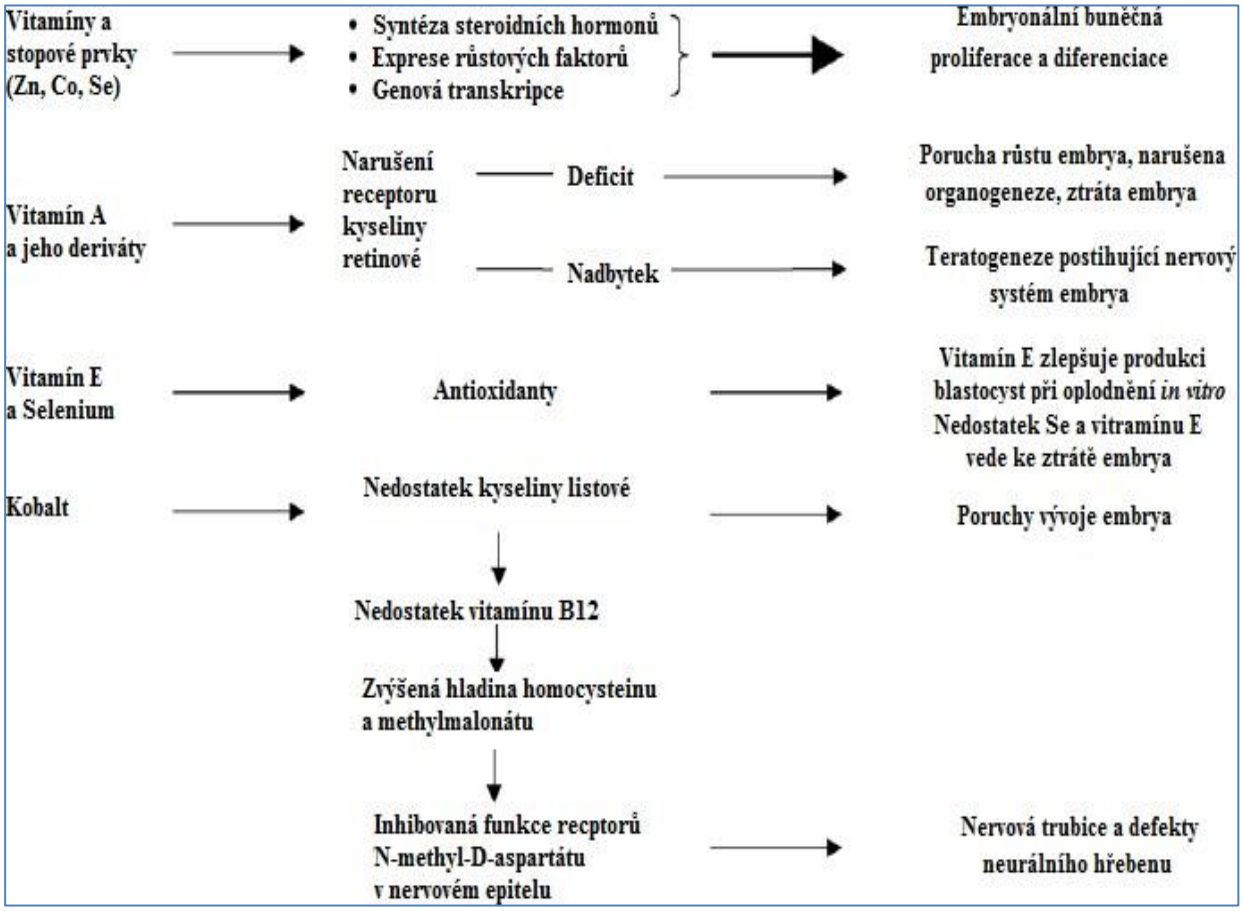
Zinek, měď a mangan tvoří skupinu esenciálních mikroelementů s podobnými vlastnostmi, týkající se jejich biochemických funkcí a rolí v látkové výměně. Patří k tzv. přechodným kovům, které mají z důvodu své elektronové konfigurace tendenci tvořit stabilní cheláty s více ligandy. Tímto způsobem vznikají například komplexy s proteiny, které teprve po cíleném vestavění těchto kovů získají svou biologickou funkci. Tak jako atom železa v molekule hemu v hemoglobinu, je zinek, měď a mangan klíčovým atomem v aktivních centrech mnoha metalloenzymů. Zinek navíc plní strukturální funkce, jako například tzv. „zinkových prstech“, což je rozšířený stavební princip v regulátorových proteinech genové aktivity. Jak je výše uvedeno, zastávají mikroprvky vysoce specifické funkce v látkové výměně, kdy jejich narušením, například při nedostatečném zásobení, může docházetk celkovým poruchám organismu. Tyto problémové oblasti jsou však multifaktoriální, tudíž identifikace suboptimálního zásobení konkrétního prvku nebo jejich kombinace, jakožto příčina nebo kofaktor onemocnění, je velmi ztížena. Příklady možných důsledků nedostatečného zásobení organismu zinkem, mědí a manganem jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1 Karence zinku, mědi a manganu (dle WINDISCHE, 2003)

Prvek	Dopor. dávka (ppm)	Max. dávka (ppm)	Možné důsledky karence
ZINEK	**50**	**250**	**Nechutenství, onemocnění paznehtů, parakeratóza, poruchy reprodukce, náchylnost k mastitidám**
MĚĎ	10	35	poruchy reprodukce, onemocnění paznehtu, anemie, poruchy pigmentace srsti
MANGAN	50	250	poruchy reprodukce a vývoje skeletu

Neoddiskutovatelný význam mikronutrientů na život jedince je zaznamenáván již při vývoji a přežívání embrya (ROBINSON, 2006). Obr. 1 představuje schéma významu jednotlivých mikronutrientů v tomto procesu.

Obr. 1 Význam mikronutrientů ve vývoji a přežívání embrya (ROBINSON, 2006)



V tabulce 2. je znázorněn přehled doporučených dávek jednotlivých minerálů, jak je doporučuje NRC, 2001 pro krávy holštýnského plemene o živé hmotnosti 680 kg. Jednotlivé údaje jsou rozděleny podle užitkovosti. Krávy v časném stádiu gravidity mají jinou potřebu minerálů než v pozdním stádiu či krávy v laktaci s mléčnou užitkovostí 25 resp. 54 kg mléka denně.

Tabulka 2. Doporučené denní dávky makro – a mikroelementů krav dle NRC 2001.

	Suchostojná březí kráva			Dojnice	
Fáze gravidity [den]	240	270	279	-	-
Mléčná produkce [kg/d]	-	-	-	25	54
Vápník [%]	0,44	0,45	0,48	0,62	0,60
Fosfor [%]	0,22	0,23	0,26	0,32	0,38
Hořčík [%]	0,11	0,12	0,16	0,18	0,21
Chloridy [%]	0,13	0,15	0,20	0,24	0,29
Draslík [%]	0,51	0,52	0,62	1,00	1,07
Sodík [%]	0,10	0,10	0,14	0,22	0,22
Síra [%]	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Kobalt [mg/kg]	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
Měď [mg/kg]	12	13	18	11	11
Jód [mg/kg]	0,4	0,4	0,5	0,6	0,4
Železo [mg/kg]	13	13	18	12	18
Mangan [mg/kg]	16	18	24	14	13
Selen [mg/kg]	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Zinek [mg/kg]	21	22	30	43	55

2.1 ZINEK

Přítomnost zinku v živočišných tkáních je známa již od konce devatenáctého století, biologická funkce zinku byla objevena až roku 1934, kdy byly poprvé popsány účinky nedostatku zinku u potkanů. Později bylo objeveno, že nedostatek zinku je příčinou parakeratotické léze na kůži prasat. Následoval důkaz nedostatku zinku, jako příčiny špatného růstu, osrstění a vývoje kostry u drůbeže (CHESTERS, 1997).

2.1.1 Funkce zinku

Zinek je nutný pro normální růst, vývoj a funkci organismu všech zvířecích druhů, které kdy byly studovány, za účelem výzkumu zinku v těle. Rovněž platí, že závažný nedostatek zinku v organismu může vést ke smrti. Nižší stupně deficitu jsou nejvýraznější v období rychlého růstu, a to právě v buňkách a tkáních, které rostou nejrychleji (SUBCOMMITTEE ON MINERAL TOXICITY IN ANIMALS at al., 2005).

Příjem zinku a distribuce v organismu je přesně regulován v rozsahu požadavků organismu. Obecně platí, že snadno dostupné zásoby zinku jsou poměrně malé. Zinek aktivuje některé enzymy a je součástí velkého počtu důležitých metaloenzymů. Mezi ně patří karboanhydráza, karboxypeptidázy A a B, alkohol-dehydrogenáza, glutamová dehydrogenáza, D-glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenáza, mléčná dehydrogenáza, jablečná dehydrogenáza, alkalická fosfatáza, aldoláza, ribonukleáza, DNA polymeráza, RNA polymeráza a další. Zinek má významnou roli v konfiguraci DNA a RNA (SUBCOMMITTEE ON MINERAL TOXICITY IN ANIMALS a kol., 2005). Zinek je nezbytný pro strukturální a funkční integritu více než 2000 transkripčních faktorů (UNDERWOOD, SUTTLE, 2010).

Všechny minerální látky se v organismu nachází v dynamické rovnováze, řízené komplikovanými homeostatickými mechanismy. Biologická významnost jednotlivých minerálních látek je vysoká. Každá porucha metabolismu nebo změna koncentrace minerálů ve tkáních či biologických tekutinách má za následek ovlivnění biochemických procesů celkového metabolismu v organismu. (ILLEK, 1985).

Termínem mikroelementy jsou označovány ty minerály, které se v organismu nacházejí v koncentraci menší než 50 mg/kg. Patří k nim arsen (As), kadmium (Cd), kobalt (Co), chrom (Cr), měď (Cu), fluor (F), železo (Fe), jód (J), mangan (Mn), molybden (Mo), nikl

(Ni), selen (Se), křemík (Si), vanad (V), zinek (Zn) a cín (Sn). Prvky jako bór (B), bróm (Br), kadmium (Cd), chróm (Cr), fluor (F), lithium (Li), selen (Se), křemík (Si), vanad (V), hliník (Al), olovo (Pb), rubidium (Rb) a titan (Ti) nesou název ultramikroelementy, neboť jejich koncentrace v tělě dosahují extrémně nízkých hodnot (KRAFT, DÜRR a kol., 2005). Je již řadu let dobře známo, že mikroprvky musí být jak při extenzivním způsobu chovu přežvýkavců (především selen, měď, mangan a zinek), tak při intenzivním způsobu (především měď, kobalt, mangan, selen a zinek) substituovány podle toho, v jakém množství se tyto minerály nachází na daném stanovišti v půdě a rostlinách. Odtud pramení aktuální údaje o nedostačujícím zásobení dojnic mikroprvky jako je tomu u selenu 5-43 %, mědi 18–64 %, zinku 24–74 % a manganu (FÜRLL M., 2005). Podle tohoto autora není důležitá pouze substituce těchto mikroelementů, nýbrž také interakce s ostatními látkami obsaženými v potravě. Blíže se touto problematikou zabývá kapitola INTERAKCE MIKROPRVKŮ.

U přežvýkavců jsou funkce, důležité pro zdravotní stav a produkční schopnosti, limitovány mikroprvky (ILLEK 1985, ILLEK 2003, FÜRLL, 2005)

- bachorové trávení – Co, Cu, Mo
- intermediární látková výměna – Co, Cu, Fe, Mo, Mn, J, Se, **Zn**
- hematopoéza – Co, Cu, Fe, Mo
- růst, produkce – Co, Cu, Fe, Mo, Mn, J, Se, **Zn**
- reprodukce – Co, Cu, J, Se, **Zn**
- látková výměna kostí – Cu, Mn
- stabilita paznehtní rohoviny – **Zn**
- obranyschopnost – Cu, Fe, Mn, Se, **Zn**

Z přehledu je patrné, které funkce v organismu limituje zinek. Řadí se k nim – intermediární látková výměna, růst, produkce, reprodukce, stabilita paznehtní rohoviny a imunita. Zinek je součástí přibližně 300 enzymů, které se účastní energetického metabolismu, regulace apetitu, metabolismu proteinů, cukrů i tuků, genové exprese, buněčné proliferace či metabolismu vitaminu A, kdy retinol je přeměňován na retinen nutný k normálnímu vidění. Konkrétní případy takových enzymů uvádí tabulka 3. Zinek má dopad i nepřímo, jeho nedostatek ovlivňuje stavbua stabilitu membrány erytrocytů a metabolismus mastných kyselin. Apetit je regulován pomocíexprese mRNA pro pyruvátkinázu, ta je silně regulována inzulinem, jehož sensitivita může býtpři nedostatku zinku snížena, což dále stěžuje organismu rozklad uhlovodanů. (UNDERWOOD a SUTTLE, 1999).

Tab. 3 Příklady zinek dependentních metaloenzymů (upraveno dle autorů DASTYCH 1997, UNDERWOOD a SUTTLE 1999 a ILLEK 2003)

ENYZM	FUNKCE
Cu-Zn-SOD Superoxiddismutáza	Destrukce volného radikálu superoxidu
DNA-polymeráza	Elongace řetězce DNA
RNA-polymeráza	Elongace řetězce RNA
Nukleosidfosforyláza	Fosforolýza nukleosidů
Alkalická fosfatáza	Uvolňuje fosfát z monoesterů
Peptidáza	Štěpí polypeptidy na kratší řetězce peptidů
Kolagenáza	Degradace kolagenních fibril
Alkohol dehydrogenáza	Oxidace etanolu na acetylaldehyd
Leucin aminopeptidáza	Štěpnení z proteinů a peptidů z amino konce
Karboxypeptidáza	Štěpení z proteinů a peptidů z karboxy konce
Mannosidáza	Hydrolýza mannózy
Thymidinkináza	Přeměna thymidinu na thymidinmonofosfát
Laktátdehydrogenáza	Přeměna laktátu na pyruvát

Vědecké důkazy o nezastupitelnosti zinku v podpoře imunity jsou hojné (BALLANTINE *et al.*, 2002; GRIFFITS *et al.*, 2007; KELLOGG *et al.*, 2003; SPRINGMANN *et al.*, 2018). SPEARS (2000) popisuje, že u přežvýkavců není dopad nedostatku zinku na imunitní systém tak očividný, naopak suplementace zinku může mít na imunitu spolu s ostatními mikrominerály výrazně pozitivní dopad. CHEEKE (2010) ve své studii přináší důkazy o snížení nemocnosti skotu díky přídavku zinku do krmné dávky. Odůvodňuje své tvrzení faktem, že je zinek imunonutrient, jehož efekt se odráží ve funkci více než 300 proteinů. Nedostatek zinku tak ovlivní značné množství buněčných procesů, které kompromitují imunitní systém jedince. Buňky s deficitem zinku mají sníženou schopnost se množit. Imunitní reakce vyžaduje rychlou proliferaci buněk v reakci na specifické antigeny. Imunitní reakce zastávají například T a B lymfocyty, nedostatek zinku zabraňuje rozvoji jejich funkce. (CHEEKE, 2010).

Nutriční nedostatky mají vliv na plodnost zvířat v průběhu celého jejich života. Zapříčiňují především poruchy při vývoji pohlavních žláz plodu, poruchy v postnatálním vývoji

zvířat, ovlivňují načasování puberty a mají dopad na ovulaci zvířete, interval do chovatelské dospělosti, kvalita vajíček, vývoj embrya a schopnost přežití embrya, což jsou hlavní přispěvatelé k plodnosti (ROBINSON, 2006). V každé z těchto oblastí došlo k významnému pokroku, používají se však především metody, které řeší neplodnost jedince (KENDALL, 2000). Výzkumy realizované v poledních letech prokazují, že během raného vývoje plodu je vaječník mimořádně citlivý na výživu matky. Nesprávné hrazení všech nutričních komponent může mít celoživotně negativně ovlivňovat ovulaci jedince (ROBINSON, 2006). Adice doplňkovými stopovými prvky, především zinkem, selenem a kobaltem, má vliv na pohyblivost spermií a procento živých spermií (KENDALL, 2000). Studie (ABBASI et al., 1980) prokázaly, že dietní omezení zinku může nepříznivě ovlivnit funkci varlat a snížit počet zdravých spermií uměle vyvolanou deficiencí zinku. Výchozí koncentrace spermií a celkový počet spermií na ejakulát statisticky významně poklesly po restrikci zinku a vrátily se k normálu 6 až 12 měsíců po suplementaci zinkem. Pokles počtu spermií se shodoval s poklesem funkce Leydigových buněk a byl zvrácen po suplementaci zinkem v nízkých dávkách. Tento účinek nedostatku zinku je tedy vratný proces a lze jej napravit správnou suplementací zinku (PRASAD, 1996).

Význam mikronutrientů je možné pozorovat i při utváření struktury rohů a má vliv na kyselost v bachoru a na kulhání. Zvýšené krmení jadrnými krmivy a zvýšené podání bezvlákninových sacharidů je spojeno s výskytem kulhání. Existují přesvědčivé důkazy o tom, že fruktany a glukóza zvyšují produkci kyseliny mléčné a způsobují tak laminitidu. Důležitá je rovněž role lipidů a minerálů ve vývoji integrity kopyta. Stopové prvky a vitamíny se podílejí na biochemických drahách, které řídí a omezují oxidační poškození organismu, což se jeví jako důležité pro zdraví kopyt zvířat (LEAN, 2013).

Zinek se v novozélandském zemědělství používá rovněž na ochranu zvířat proti plísňové infekci (ANDERSON, 2012).

2.1.2 Potřeba zinku

Masný a mléčný skot lze pást na pastvině s přidáním 20 mg zinku na kilogram krmné dávky. Požadavky pro nekojící kozy jsou stejné jako u ovcí a skotu, tedy přibližně 20 mg Zn/kg krmné dávky (KD). Kozy během vegetačního období vyžadují 37-52 mg/kg suš. KD (SUTTLE, 2010).

Doporučení hovoří pro doplnění stravy rostoucích jehňat 33 mg zinku/kg suš. Krmné dávky (KD). Pro zvýšení přírůstků telat je doporučováno doplnění dalších 25 mg Zn/kg suš. KD nad dávku 33 mg zinku u jehňat (GARG, 2008). Přidání zinku, v dávce již od 20 mg na kg suš. KD bylo prokázáno jako dostatečné pro splnění požadavku zlepšení růstu jehňat (FADAYIFAR, 2012).

V roce 2006 byl realizován výzkum vlivu výživy na plodnost ovcí. Vliv výživy na březost má podle výzkumu významný dopad na reprodukční schopnosti plodu. Tento vliv se následně promítá do zdravotního stavu potomstva po celý život. Postnatální výživou jedince je ovlivněno načasování puberty u obou pohlaví a nástup ovulace. U ovcí bylo v souvislosti s oplodněním in vitro objeveno významné období, tedy 6 měsíců před ovulací, kdy je výživou výrazně ovlivněna kvalita oocytů. V případě skotu se jedná o období 3–4 měsíců před ovulací. Plodnostje ovlivněna nejvíce právě stavem stopových prvků. Je třeba zmínit, že významnou roli hraje také selen (ROBINSON, 2006).

SPRINGMAN *et al.* (2018) ve své studii sledovali vliv injikovatelného stopového minerálu na reprodukční schopnost jalovic (n = 799). Počáteční minerální stav jater před léčbou byl adekvátní a nelišil se mezi skupinami (měď = 146 μg/g, mangan = 9,22 μg/g, selen = 1,54 μg/g a zinek = 115 μg/g). Jalovice byly synchronizovány a injikovány stopovým minerálem (5 ml, Multimin 90). Býci byli připuštěni k jalovicím 60 d po inseminaci. Podíl březích jalovic během prvních 21 dnů se nelišil. Injikovatelné stopové prvky 33 dní před inseminací neovlivnily reprodukční výkonnost u jalovic se suficientním stavem stopových prvků.

Rovněž kozy byly podrobeny hodnocení efektu podání zinku v krmné dávce. Zkoumáno bylo 30 koz kašmírových ve stáří jednoho roku. Byly sledovány účinky podávaného zinku na výkon koz, stravitelnost živin a plazmatickou hladinu stav zinku během vegetačního období vlákna kašmíru. Kozy byly náhodně rozděleny do čtyř skupin. Všechny skupiny byly krmeny potravou obsahující bazální dávku 22,3 mg zinku na kilogram směsi s přidáním 0, 15, 30, nebo 45 mg zinku na kg sušiny. Byl podáván zinek ve formě $ZnSO_4$, experiment trval 60 dní (JIA, 2008).

Ve skupině, které byla podávána krmná dávka přídavkem 30 a 45 mg Zn/kg sušiny, byl pozorován vyšší denní přírůstek, v porovnání se skupinou 0 a 15 mg Zn/kg sušiny. Studií bylo prokázáno, že suplementace zinku nemá žádný vliv na délkua průměr kašmírového vlákna. Zároveň však studie poukazuje na to, že strava doplněnáo zinek, minimálně ve

výši 30 až 45 mg/kg suš. KD, je nezbytná k dosažení optimálního růstuzvířat. Strava bez přidání zinku se ukázala v tomto hledu zcela nedostatečná (JIA, 2008).

Potřeba zinku se liší u jednotlivých druhů zvířat, jejich kategorií, výše a druhu užitkovosti, fází reprodukčního cyklu samic či denním přírůstku rostoucích zvířat (UNDERWOOD a SUTTLE, 2010). SLANINA *et al.* (1992) uvádí, že potřeba zinku v krmné dávce skotu je 50 mg/kg suš. KD. Referenční hodnoty pro koncentraci zinku v krevním séru jsou stanoveny na 12,2-26 μmol/l, u telat 12,2-24 μmol/l. (Tab.12)

Vstřebávání a distribuce zinku v organismu jsou velmi komplikované procesy, závisí u jednotlivých druhů zvířat na různých faktorech, a proto není jednoduché stanovit přesné množství zinku potřebné pro optimální zásobení organismu všech zvířat. V literatuře lze často najít různá referenční rozmezí fyziologických hodnot pro koncentraci zinku v krvi, játrech, svalovině, varlatech atd., ale i hranici karence či toxicity. Dle NRC (2001) by měl startér pro mladší telata obsahovat 40mg Zn/kg suš., stejné koncentrace má dosahovat i mléčná náhražka pro telata na mléčné výživě. Naopak směsná krmná dávka dojnic s mléčnou užitkovostí 40 kg mléka/den musí obsahovat 63mg Zn/kg suš., aby byla plemenice schopna zásobit jak vlastní organismus, tak zároveň odvádět mikroelement mlékem pro tele a nedostávala se do deficitu. Tato dávka odpovídá čisté potřebě 4 mg Zn / kg mléka. Čistá potřeba jednotlivých kategorií skotu sestává ze záchovy – 0,1 mg Zn/kg živé hmotnosti zvířete, u rostoucích zvířat 24 mg Zn/kg přírůstku živé hmotnosti, během březosti 1,1 mg Zn/den v prvním trimestru respektive 6,3 mg Zn/den během pozdní březosti. Hrubá potřeba je přepočítávána dělením pomocí absorpčního koeficientu jednotlivých kategorií skotu ve výši 0,70 pro zvířata v laktaci, rostoucí, březí a dospělá zvířata, naopak pro telata na mléčné výživě je absorpčního koeficientu stanoven na hodnotu 0,80. Podle těchto stanov bude například u rostoucího býčka o živé hmotnosti 200 kg, denním přírůstkem 1 kg, který přijme denně 4-6,5 kg sušiny v krmné dávce stanovena výše čisté potřeby zinku na den na 44mg, ale výše hrubé potřeby zinku činí 62,9 mg. Potřeba Zn přepočtena na 1 kg sušiny TMR se pohybuje u tohoto býčka v rozmezí 9,7 – 15,7 mg na den (UNDERWOOD a SUTTLE, 2010). Potřeba jalovic o živé hmotnosti 300–500 kg, denním přírůstkem 0,7 – 0,5 kg/den, denním příjmu sušiny 6–10 kg je stanovena na 31–33 mg/kg TMR, resp. 202 – 310 mg Zn/den. Pro potřebu krávy o živé hmotnosti 650 kg je doporučena dávka 63 mg Zn/kg TMR při užitkovosti 40 kg mléka denně a příjmu sušiny ve výši 20 kg/den,resp. 1261 mg Zn/den. Naopak pro krávu nacházející se ve vysokém stádiu březosti (270. den gestace) s

příjmem sušiny 12 kg/den je se doporučená dávka sníží na 22,8 mg/kg TMR, resp. 274 mg/den (NRC, 2001).

2.1.3 Absorpce a transport zinku

Vstřebávání zinku ovlivňuje na prvním místě jeho množství v krmivech. Je-li obsah zinku v potravě nízké, zvyšuje se absorpce zinku. U zvířat s klinickými příznaky karence zinku je vstřebávání zinku vyšší než u zvířat bez karenční symptomatiky. Nejen koncentrace zinku v krmivu a krevní plazmě má na absorpci vliv. Také stáří zvířat ovlivňuje množství absorbovaného zinku. Mladší telata resorbují nejvyšší procento zinku z potravy ve srovnání se staršími telaty, ne-li s dospělým skotem (ILLEK, 2000; SPEARS, 2003). Telata na mléčné výživě jsou schopna vstřebat až 50 % zinku z krmné dávky, rostoucí přežvýkavci 30 % a dospělá pouze 20 % zinku (NRC, 2001). Zinek je obsažen v krevní plazmě, ve formě karboanhydrázy v erytrocytech, ve formě metaloproteinu v a jako součást fosfatáz v leukocytech a dále v trombocytech. Z jedné třetiny je volně vázán na albumin, ze dvou třetin pevně vázán na alfamakroglobulin a z malé části na metalothionein, transferin a histidin-rich – glykoprotein (COUSINS, 1996). Volná vazba zinku na albumin je důležitá při výměně zinku mezi krví a cílovými buňkami. Různý obsah je možný zjistit v krevní plasmě a krevním séru. Při koagulaci krve se zinek uvolňuje z rozpadajících se trombocytů a tím je způsoben zmíněný rozdíl (UNDERWOOD *et* SUTTLE, 2010). Zinek je vstřebáván v tenkém střevě, zejména v distálním duodenu a proximálním jejunu (COUSINS, 1996). Po nasycení střevní sliznice, kde je zinek rychle a pevně vázán na specifický protein, dochází k vlastnímu přestupu zinku z enterocytů do krve a lymfy. O množství absorbovaného zinku rozhoduje obsah zinku v krmné dávce. Nejprve je potřeba přestoupit ze střevního lumen do buněčného prostoru enterocytu navázáním na přenašeč DCT-1 (divalent cation transporter), poté se zinek ve sliznici váže na intracelulární transportér metalothionein (MT) a cystein rich intestinal protein (CRIP). O tom, který z přenašečů zinek uchopí, rozhoduje opět obsah zinku v dietě. Při dostatku Zn v TMR oba proteiny o zinek soutěží, bývá zpravidla vázán na MT, jehož syntéza je indukována při zvyšující se koncentraci zinku ve střevě (UNDERWOOD *et* SUTTLE, 2010). Obdobně je tvorba MT stimulována kadmiem a jinými těžkými kovy. O vazebné místo soutěží na molekule metalothioneinu také měď. Z krve zinek odchází do jater, sleziny, pankreatu, ledvin a v minimálním množství je ukládán i do svalů a mozku (BENCKO *et al.*, 1995). Akumulace zinku

v orgánech závisí množství zinku v krmné dávce, věku, druhu zvířete, jeho produkční a reprodukční fázi ana době, po kterou byl organismus dotaci zinku vystaven (BÍREŠ *et al*., 1991). Nejnižší koncentraci zinku obsahují plicní a nervová tkáň, nejvyšší naopak cévnatka oka a prostata. Obsah zinku v cévnatce oka se liší u jednotlivých druhů. Cévnatka ovce má vyšší koncentraci Zn než skot, nicméně cévnatka masožravců, specielně liška, obsahuje nesrovnatelně vyšší množství zinku než býložravců. V prostatě a nadvarleti odpovídá vysoký obsah zinku vysokému obsahu fosfatáz, jichž je zinek součástí (HANSARD, 1983). Na zinek jsou bohaté ispermie, semenná plasma (ROWE *et al.,* 2014). Množství zinku ve svalové tkáni se liší dle funkční aktivity jednotlivých svalů. Obsah zinku ve svalech s nízkou aktivitou světlé barvy je významně nižší než v tmavě zbarvených svalech s vysokou aktivitou. V jaterních buňkách se zinek nachází v mitochondriích, buněčném jádru a cytoplasmě, velká část je vázána např. na metalothionein či alkoholdehydrogenázu (ILLEK, 1987; UNDERWOOD *et* SUTTLE, 2010). V srsti skotu se obsah zinku mění dle stáří zvířete a místa odběru. Nezávisí na stádiu březosti alaktace (ANKE, 1965).

2.1.4 Organický versus anorganický zinek

Stopové minerály mohou být dodávány ve formě organické, či anorganické (HERDT, 2011). Rozdíly mezi těmito formami se týkající především biologické dostupnosti látek organismu a dopadů na fyziologické reakce přežvýkavců (SPEARS, 1996).

Anorganickými solemi jsou síran zinečnatý ($ZnSO_4$), oxid zinečnatý (ZnO), chlorid zinečnatý ($ZnCl_2$) a další. Organickým komplexem je například zinek methioninový komplex (GARG, 2008). Organické minerální doplňky, které jsou komerčně dostupné, se liší především, pokud jde o typ ligandu nebo ligand, jež jsou použity k vytvoření kovového komplexu nebo chelátu. Většina organických minerálů na trhu jsou klasifikovány jako komplexy, cheláty nebo proteinové sloučeniny (SPEARS, 1996).

Studie vlivu krmení pomocí zinku a mědi ve formě methioninu zkoumají především plazmatické a tkáňové koncentrace těchto prvků. Cílem je posouzení relativní biologické dostupnosti této formy. Při nasazení této formy bylo pozorováno snížení vylučování mědi a zinku ve výkalech a jejich lepší využití. Zároveň je tak prokázán pozitivní dopad na životní prostředí. Absorpční hodnoty koncentrace zinku a mědi v plazmě a jaterní tkáni, získané studií z roku 2010, podporují hypotézu, že měď a zinek ve formě methioninových doplňků mají lepší

biologickou dostupnost ve srovnání s formou sulfátů (PAL, 2010).

Definice různých typů použitelných kovových komplexů a chelátů jsou stanoveny *American Association of Feed Control* Officials (AAFCO).

Jedná se o *kovový komplex* (specifický aminokyselinový), který je získán rozpuštěním soli kovu s konkrétní aminokyselinou. Minimální obsah kovu musí být deklarován. Při použití jako komerční přísady ve složení krmiva, je třeba, aby bylo uvedeno, jaký specifický kov a specifický amino-komplex je použit, jedná se tedy o měď lysin, zinek lysin, železitý methionin, mangan methionin a zinek methionin. *Kovový komplex aminokyseliny* je produkt získaný pomocí rozpustné soli kovu s aminokyselinou. I zde je požadováno uvedení obsahu kovu a přísad, v případě prodeje, jako komerční směsi. Jedná se o komplex aminokyseliny draslíku, mědi, zinku a dalších. *Kovový komplex aminokyseliny chelátu* je produkt získaný reakcí kovového iontu z rozpustné kovové soli s aminokyselinami s molárním poměrem jeden mol kovu s jedním až třemi moly aminokyseliny na matici kovalentní vazby. Průměrná molekulární hmotnost hydrolyzovaných aminokyselin musí být přibližně 150 mol a výsledná molekulární hmotnost nesmí být větší než 800 mol. Minimální obsah kovu musí být rovněž deklarován. *Kovový proteinát* je produkt získaný z chelatační rozpustné soli s aminokyselinami a částečně hydrolyzovaného proteinu. Jedná se o specifický kovový proteinát mědi, zinku, hořčíku, železa, kobaltu, manganu, nebo vápníku. *Kovový polysacharidový komplex* je pak produkt získaný komplexem rozpustné soli s polysacharidem (CFNP TAP, 2002).

Výzkumy provedené již roku 1996 prokázaly, že přidání jednoho, nebo více organických stopových minerálů ve stravě zvýší růst, produkci mléka, reprodukci a imunitní reakce u skotu (SPEARS, 1996). Autor nicméně podotýká, že je třeba vzít v úvahu, že zmíněné výsledky u zvířat je třeba konfrontovat s faktem, že tato zlepšení budou pozorována vždy, když budou minerální látky během výzkumu pravidelně hrazeny (oproti stavu před výzkumem, kdy pravidelné podání nebylo realizováno), bez ohledu na jejich podání ve formě organickéči anorganické. Je proto nutné vždy přihlédnout ke způsobu řešení výzkumu, ze kterého je výsledek posuzován.

Zinek se rozpouští a tvoří ionty ve vodných roztocích alkalických hydridů, není ochoten tvořit komplexní sloučeniny s ligandy, ve kterých je donorovým atomem kyslík, dusík a síra. Pevné komplexní vazby pozorujeme také s halogenidy a kyanidy. Zinek může tvořit sloučeniny s aminokyselinami, které vážou zinek v koordinačních sloučeninách přes buď

pomocí své karboxylové skupiny nebo aminoskupiny. Při určitém stupni kyselosti prostředí působí zinek aktivně jako donor elektronového páru, což vede k tvorbě cyklických komplexů, chelátů (např. dihydrát zinečnatého glycinátového komplexu Zn(Gly)2.2H2O). Často se zinek vyskytuje v cysteinátových či histidinátových komplexech (VELÍŠEK, J. (2009).

Způsob účinku stopových minerálních chelátů nebo komplexů je pohlíženo různým způsobem. Někteří autoři jej považují za nedokonale prozkoumaný a nezastávají názor, že je možné jednoznačně tvrdit, že organické stopové prvky se podstatně lépe vstřebávají než anorganické formy. Přítomnost bílkovin v krmné dávce positivně ovlivňuje absorpci Zn, zvláště aminokyseliny histidin a methionin (LÖNNERDAL, 2000) Příznivé odpovědi na některé organicky vázané stopové prvky se vzájemně liší, dle SPEARS (1996) množství vstřebaných minerálních látek nemusí být stejně významné jako forma absorbovaného minerálu. Zinek methionin (Zn-Met) a jeho účinek je posuzován ve výzkumech nejčastěji (SPEARS, 1996). Pro methionin, jako součásti Zn-Met, bylo prokázáno, že může být do značné míry štěpen bachorovými mikroorganismy (HEINRICHS et CONRAD, 1983). Zn-Met komplex zůstává v bachoru neporušen a váže se s jinými částicemi nebo mikroorganismy za vzniku nerozpustných komplexů v menší míře než anorganické formy zinku (WARD, 1993).

Rovněž účinnost anorganického zinku, ve srovnání s organickým, byla podrobena zkoumání selektivně pro jednotlivé druhy zvířat. Výzkum z roku 2008 provedl GARG šetření u jehňat. Byl zjišťován vliv na růst jehňat, schopnost využití živin a minerální profil zkoumaných zvířat. Kontrolní skupina byla saturována anorganickou formou zinku, konkrétně $ZnSO_4$. Bylo vybráno 6 jehňat, o hmotnosti 11,30 ± 0,45 kg, do každé ze tří skupin. Jehňatům v kontrolní skupině bylo podáváno standardní krmení, ve zbylých skupinách bylo toto krmení doplněno o 20 mg na kg anorganického zinku v podobě $ZnSO_4$, nebo organického zinku v podobě Zn-Met. Experimentální krmení bylo prováděno po dobu 150 dnů. Retenční zinek, stejně jako jeho koncentrace v séru byly nejvyšší ve skupině, které byl podáván Zn-Met, o něco nižší ve skupině se $ZnSO_4$ a nejnižší v kontrolní skupině (GARG, 2008).

2.1.5 Karence

SHANKAR *et* PRASAD (1998) rozdělují projevy nedostatku zinku u člověka na dva typy, mírnou a těžkou karenci. Mírná karence se projevuje šeroslepostí, zhoršením paměti, oslabením imunity, zhoršením chuti a čichu a negativním vlivem na spermiogenezi u mužů.

Těžká karence zinku způsobuje snížení efektivity imunitního systému, což způsobí častý výskyt infekcí. Dále dochází u těchto pacientů k průjmům, alopecii, poruchám mentálních schopností, typická je i pustulární dermatitida. Velmi zřídka se u člověka a skotu objevuje *acrodermatitis enteropatica*, která se vyznačuje nízkou koncentrací zinku v plazmě, která je způsobena geneticky způsobenou poruchou vstřebávání zinku ve střevě. Dochází navíc k hyperpigmentaci kožních lézí a deprivaci růstu. PRASAD (1995) dále u mužů popisuje v souvislosti s hypozinkémií výskyt anemie, retardaci růstu, hepatosplenomegalie, hyperpigmentace, infantilních varlat a zpoždění pohlavního dospívání.

U prasat je známý výskyt parakeratózy při nedostatku zinku v krmné dávce (ZEMAN, 2005). V organismu všech přežvýkavců vede karence zinku k poruchám růstu, odmítání potravy, nadměrnému slinění, parakeratotickým kožním lézím, abnormalitám paznehtů a rohů, testikulárním malfunkcím (CHESTERS, 1997; RADOSTIS *et al.,* 1994; ARRAYET *et al,* 2002, ROWE *et al.,* 2014). Ovce a jehňata reagují na nedostatek zinku ztrátou vlny, zesílením a zřasením kůže, otoky karpálních kloubů, otevřenými lézemi v okolí očí, zpožděným vývojem varlat, zástavou spermiogeneze u beránků a salivací (RADOSTIS *et al*., 1994). UNDERWOOD *et* SUTTLE (1999) popisují u březích ovcí sníženou vlastní hmotnost a nižší porodní hmotnost jehňat a nižší příjem krmiva při mírném deficitu zinku. Kozy reagují v případě hypozinkemie podobně jako ovce, pouze je výskyt alopecie lokalizován do oblasti šourku, pánevních končetin, hlavy a krku. Dochází dále k testikulární hypoplazii, poruchám růstu a keratinizaci kůže (RADOSTIS *et al*., 1994).

U skotu se subklinický deficit zinku projevuje snížením apetitu, příjmu krmiva, denních přírůstků, poruchami reprodukčních funkcí, snížením produkce, zeslabením rohoviny paznehtů, náchylností k *dermatitis digitalis* a chodidlovým vředům, u býků poruchami spermiogeneze (KINCAID, 2000; SOCHA *et al.,* 2002, ROWE *et al.,* 2014). U dojnic nacházíme zvýšený počet somatických buněk v mléce, zvyšuje se počet mastitid a reprodukční ukazatele jsou neuspokojivé (ILLEK, 2000). Těžký deficit zinku se projevuje abnormalitami kostí a parakeratózou, kdy kůže zesiluje a popraská (UNDERWOOD *et* SUTTLE, 1999). Dojnice trpí parakeratotickými lézemi u v oblasti kořene ocasu, vulvy, na kůži vemene a struků (ILLEK, 2000). Ve *stratum spinosum* k edematizaci a ztrátě buněčných spojů. Ve *stratum granulosum* je počet buněk redukován a nedostatečně se formuje keratohyalin a ve *stratum corneum* se nadměrně tvoří zrohovatělý vícevrstevnatý epitel (BÍREŠ *et al.* 1993).

Nedostatek zinku v organismu je u telat charakterizován zpomalením růstu, neboť dochází k redukci apetitu, dále zpožděním sexuálního zrání býků, alopecií, jsou pozorovány abnormální proporce těla, kožní léze a hyperkeratinizace jícnu. Jsou sníženy počty cirkulujících lymfocytů, dochází ke kosterním abnormalitám, poruchám reprodukce u obou pohlaví a abnormalitám plodu. Telata trpí parakeratózou na karpálních a spěnkových kloubech, v okolí nozder, uší, na krku, na vnitřních stranách stehen a šourku. Následkem změn na kloubech se u telat projevuje nejistá či strnulá chůze. Postiženy bývají i sliznice dutiny ústní či jícnu a předžaludků, což připomíná hypovitaminózu A (SUBCOMMITTEE ON MINERAL TOXICITY IN ANIMALS *et al*., 2005; ILLEK, 2000).

2.1.6 Toxicita

Hospodářská zvířata vykazují značnou toleranci k vysokému příjmu zinku. Rozsah tolerance je závislí na druhu zvířete, charakteru stravy, a to zejména na obsahu vápníku, mědi, železa a kadmia. Odstavené mládě prasete může být krmeno po dobu několika týdnů výživou s obsahem 2-3 g zinku na kilogram krmné dávky, vzrůstá však chuť k jídlu, objeví se deprese a při nasazení 4–8 gramů zinku na kilogram krmné dávky je již pozorována vysoká úmrtnost (UNDERWOOD, SUTTLE, 1999).

Odstavení přežvýkavci jsou méně tolerantní na příjem potravy s vysokým obsahem zinku. Příčinou je pravděpodobně snadné narušení mikroflóry bachoru. U jehňat je dále pozorováno snížení tělesné hmotnosti při podávání 1 gramu ZnO. Při podávání 1,5 g je již pozorována deprese (UNDERWOOD, SUTTLE, 1999).

2.1.7 Interakce

Biochemické procesy vedoucí k interakcím mikroprvků jsou velmi různorodé, v zásadě se jedná o následující mechanismy: jeden stopový prvek má přímý vliv na absorpcijiného mikronutrientu, popřípadě nedostatek či nadbytek jednoho mikronutrientu v organismu má vliv na metabolismus jiného. Příkladem prvního typu interakce je potenciální interakce mezi záporně nabitými foláty a kladně nabitým stopovým prvkem, jakým je zinek. Druhý typ interakce může být představen jako příčina vlivu vysokých dávek kyseliny askorbové na metabolismus mědi. Vysoký obsah vápníku v krmné dávce snižuje možnosti vstřebání fosforu. Měď pak znesnadňuje vstřebávání zinku konkurenčním vazebním místem transportního

proteinu thioneinu (LÖNNERDAL, 1988).

V roce 1955 bylo prokázáno, že zinek, i při podávání vysokých dávek, je vysrážen v přítomnosti rostlinných bílkovin, které obsahují fytát. Biologická dostupnost zinku se výrazně sníží tak, že může mít, při pravidelném podání takové stravy, za následek závažný nedostatek minerálu v organismu jedince (SUBCOMMITTEE ON MINERAL TOXICITYIN ANIMALS a kol., 2005).

Je známa existence interakce těžkého kovu s thiolovými sloučeninami. Při změně koncentrace jednotlivých thiolů je pozorována lineárně se měnící závislost (ZEMAN, 2007).

Podstatná část zinku v buňce se nachází v cytosolu, další část je pak vázána na thionein. Thionein představuje nízkomolekulární protein s vysokou schopností vázat zinek a měď za vzniku metalothioneinu. Ten pak působí jako „*autoregulační nitrobuněčný tlumič pro zinek a měď*“ (ZEMAN, 2005). Pakliže se zvýší hladina volného zinku, či mědi, dochází k zaplavení zásoby thioneinua volné kovy pak mohou interagovat s jinými proteiny. Ty potom slouží jako vyrovnávací faktory, spojují se geny metalothioneinu a indikují syntézu thioneinu (DIRKSEN, 2006; ZEMAN, 2005; STANGL, 2008).

SOBHANIRAD (2012) publikoval, že při suplementaci vysokými koncentracemi zinku, nejsou pozorovány významné příznaky snižování dostupnosti jiných minerálů v organismu dojnic. Zinek interaguje na buněčné úrovni s jinými minerálními prvky. Jeho metabolismus má souvislost s metabolismem železa, mědi, manganu, kobaltu a molybdenu. Antagonistická vzájemná závislost zinku a mědi je založena na jejich konkurenci při absorpci v zažívacím traktu (ANKE a kol., 2002).

Pokud je nasazována měď jako růstový stimulátor, je u prasat krmených zvýšeně rostlinnými proteiny, prokázána deficience zinku, pokud není rovněž zvýšeně dávkován. Rovněž je možné zaznamenat anémie v případě, že krmení je prováděno vysokou dávkou zinku bez doplnění zvýšených dávek mědi (ZEMAN, 2005).

2.1.8 Zinek v krmivech

Význam suplementace zinku krmivy byl plně definován v roce 1955. Jednalo se o rok, kdy parakeratóza u prasat, způsobená nedostatečným hrazením požadavků zinku, vedlak významným ekonomickým ztrátám. Byly tak přijaty hodnoty pro množství zinku potřebnék výživě mladých domácích zvířat a drůbeže. Jedná se o dávku v rozmezí od přibližně40

do 100 ppm v potravě (SUBCOMMITTEE ON MINERAL TOXICITY IN ANIMALS, a kol., 2005).

Obsah zinku v obilných zrnech se mezi jednotlivými druhy rostlin mění jen málo, je ale ovlivněn stavem zinku v půdě (UNDERWOOD *et* SUTTLE, 1999). Zinek se v zrnech nachází v nejvyšší koncentraci v endospermu. Obsah zinku v semenech hrachu 30 mg Zn v původní hmotě, některé odrůdy jako hrách zahradní dokonce 62 mg Zn. V původní sušině obsahují pšeničné klíčky cca. 115 mg Zn, pšeničné otruby 90mg Zn a jako další příklad rostlinných krmiv bohatých na zinek lze uvést ječný a sladový květ s obsahem 126 mg/kg sušiny. Kostní (105-125 mg Zn) a masokostní moučka (80-100 mg Zn) je příklad živočišných krmiv s vysokým obsahem zinku. Primární a sekundární karence jsou časté hlavně u prasat a drůbeže (ZEMAN et al., 2007). Pšenice, oves, ječmen a proso obsahuje více zinku na kilogram krmné dávky než kukuřice. Obiloviny pěstované na půdách s nízkým obsahem zinku mohou obsahovat méně než 20 mg zinku na kilogram krmné dávky, ale aplikace zinečných hnojiv může hodnoty až ztrojnásobit (UNDERWOOD *et* SUTTLE, 1999). Tabulka 4 představuje množství zinku v mg/kg původní hmoty v jednotlivých druzích krmiv.

Tab. 4 Střední hodnoty obsahu zinku v produktech (UNDERWOOD, SUTTLE, 2010).

Objemná krmiva	Zn	Koncentráty	Zn	Vedlejší produkty	Zn
Sláma	14	Ječmen	33 (8,5)	Pšeničná mouka	104 (22,7)
Tráva		Kukuřice	19 (2,6)	Rýžové otruby	77 (17,0)
Čerstvá	36	Oves	26 (3,7)	Pivovarská zrna	73 (12,5)
Sušená	33 (7,1)	Pšenice	26 (7,0)	LIhovarská zrna	55 (4,7)
Seno		Kukuřičný lepek	80 (10,3)	Řepková mouka	82 (901)
Čerstvé	21 (2,7)	Manioková mouka	12 (0,6)	Masokostní moučka	130 (43)
Sušené	28 (6,6)	Lněná mouka	66 (0,8)	Moučka z peří	152 (3)
Kukuřičná	45 (13,9)	Sojová mouka	49 (9,9)		
		Čirok	14 (1,0)		
		Bob polní	38 (2,7)		

- v závorkách je uvedena směrodatná odchylka
- hodnoty jsou uvedeny v mg/ kg krmiva

Zinek a měď jsou podávány v tekuté podobě, nebo jakou součást suché směsi. Běžně tak hovoříme o hladinách kolem 2000 mg zinku na kg přijaté sušiny. Tento objem minerálu se nakonec vyloučí v exkrementech zvěře, což vede k jeho obsahu ve hnoji. Ten však, dle předpisu EU, nesmí obsahovat více, než 300 mg zinku na kilogram (ZEMAN, 2007).

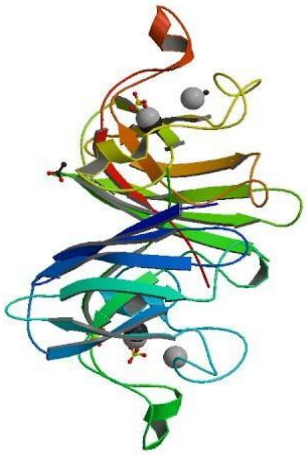
Podání mikronutrientů v krmné dávce není jedinou cestou podání. Randomizovaná terénní studie provedená roku 2013 v USA hodnotila účinek subkutánních injekcí multiminerálním přípravkem obsahujícím 300 mg zinku, 50 mg manganu, 25 mg selenu a 75 mg mědi. Podávání bylo realizováno po dobu 230 až 260 dní březosti a během 35 dnů po porodu. Sledován byl především účinek na celkový stav zvířat, produkci mlékaa reprodukční výkonnost laktujících holštýnských krav. Bylo zapojeno celkem 1416 kusů dobytka, při jejich krmení dávkou skládající se z 55 % objemného krmiva a 45 % koncentrátu. Léčba neposkytne významné hodnoty, nebyl tedy prokázán významný vliv na reprodukční schopnosti, produkci mléka nebo jiné zdravotní vlastnosti (MACHADO, 2013).

2.1.9 Imunita a zinek

Zinek je často popisován díky svému protizánětlivému účinku. Jeho princip spočívá v účasti zinku na některých antioxidačních dějích jako je například tvorba aktivních míst enyzmu superoxiddismutázy (SOD) (TOMAN *et al.,* 2009, van den TWEEL *et al.,* 1999). Enyzm SOD napomáhá štěpení superoxidu na peroxid vodíku, ten následně využívají fagocyty k usmrcování pohlcených mikroorganismů a dalších buněk pro organismus škodlivých. PIDDINGTON *et al.,* 2001 popisuje konkretní účinek Cu-Zn-superoxiddismutázy (CuZnSOD) v přítomnosti bakterií *Mycobacterium tuberculosis* a *Mycobacterium bovis* v pokusu in vitro s tkáněmi morčat, aby podrobně zjistil imunologický proces CuZnSOD. M. bovis produkuje tři druhy SOD, které se podílí na ochraně bakterie před oxidativním stresem. Autor zkoumá citlivost a schopnost přežití bakterií v makrofázích, a to za a bez přítomnosti CuZnSOD. Zjišťuje, že není schopen potvrdit hlavní úlohu SuZnSOD při obranyschopnosti mykobakterií, avšak potvrzuje nezbytnost druhého typu SOD – FeSOD pro životaschopnost bakterie *Mycobacterium tuberculosis* (PIDDINGTON *et al.,* 2001).

Během fyziologických procesů např. při dýchání a jiných biologických činnostech aerobních buněk dochází k univalentní redukci atmosférického kyslíku, která vede k tvorbě superoxidradikálů (O^{-}), což jsou vysoce reaktivní částice, které jsou pomocí metaloenzymů (např. Cu-Zn-superoxiddismutáza) katalytickou reakcí převáděny na peroxid vodíku a kyslík (NOHL, 1981). Veškeré tyto produkty řadíme do skupiny takzvaných reaktivních sloučenin kyslíku neboli z angičtiny převzatým názvem „reactive oxygens species“ (ROS). Volnými radikály dochází k poškozování biomolekul až do okamžiku, kdy se dva volné radikály setkají

nebo zastavením reakce antioxidantem. Molekula kyslíku jakožto zdroj volných radikálů vlastní dva nepárové valenční elektrony a může být snadno přeměněna na reaktivní formy kyslíku. K volným radikálům patří např. superoxid, hydroxylový radikál, peroxyl či hydroperoxyl. Mezi neradikály řadíme peroxid vodíku, ozon, singletový kyslík atd. nevyváženost mezi množstvím ROS a antioxidanty se nazývá oxidační stres. ROS mohou být jak pro organismus prospěšné, tak škodlivé. Příkladem positivní funkce ROS lze jmenovat tzv. respirační vzplanutí, což je zneškodnění mikrobů a odstranění mrtvých buněk za spolupráce leukocytů, makrofágů a ROS. Dochází tedy k prudkému naýšení spotřeby kyslíku tudíž vzniku velkého množství volných radikálů, které jsou následně deaktivovány enzymy jako CuZnSOD či glutathionperoxidázou. Středem pozornosti jsou však negativní účinky volných radikálů na organismus, ke kterým patří především deformace proteinů, produkce transkripčních proteinů vyvolávajících apoptózu neboli řízenou smrt buněk. Dále podporují rakovinné bujení. Některé volné radikály plní funkce signálních molekul, které např. porušují kaskády enzymů (RICHTEROVÁ, 2008). Příliš nízká buněčná koncentrace reaktivních forem kyslíku je řazena k typickým symptomům určitých onemocnění u člověka, jako je Trisomie 21 či různých psychiatrických, a naopak příliš vysoká intracelulární koncentrace volných radikálů se podílí na patogenitě chronicky zánětlivých procesů, autoimunitních reakcích organismu či karcinogenezi. A zde zaujímá zvláštní pozici enzym superoxiddismutáza, který je schopen množství škodlivých účinků ROS regulovat (NOHL, 1981).



Obr. 2 Cu-Zn-Superoxiddismutáza – CuZnSOD (STRANGE *et al.*, 2003)

2.1.10 Zinek a somatické buňky mléčné žlázy

Zinek má vliv i na zdraví mléčné žlázy. Somatické buňky (SCC – somatic cell count)

jsou ukazatelem zdraví mléčné žlázy a technologickým ukazatelem. Při infekčních zánětech se zvyšují. Bílé krvinky přecházejí do mléka z krve jako signál infekčního nebo neinfekčního vlivu (ZELINKOVÁ, 2003). Dojnice s vyšším SCC než $300x10^3$/ml mají být hodnoceny jako mastitidní (ŠKARDOVÁ *et al.,* 1984; RADOSTIS *et al.,* 2000). Mezinárodní mlékařská federace stanovila kritickou hranice $250x10^3$/ml pod touto hranicí leží zdravá a latentně infikovaná mléčná žláza, nad ní aseptická či subklinická mastitida. Klinická mastitida dosahuje hodnot o několik řádů vyšších (10^4-10^7). Pro bazénový vzorek je závaznou kritickou hodnotou 400 x 10^3/ml jako charakter jakosti pro syrové mléko. Tuto hranici uvádí Směrnice rady EHS 92/46 a Vyhláška ministerstva zemědělství č. 203/2003 (NAVRÁTILOVÁ, 2010). Syrové mléko s vyšším obsahem SCC se hůře zpracovává. Dochází ke změnám smyslových, chemických a fyzikálních vlastností mléka (RYŠÁNEK, 1999).

Karence stopových prvků jako zinek, měď, mangan a kobalt aj. byly pozorovány a studovány po mnoho let. Přímý a nepřímý vliv na zdravotní stav se odráží na užitkovosti hospodářských zvířat. Je nepostradatelný pro syntézu proteinů, utilizaci vitaminů, hormonální regulaci, imunitním systému, regulaci apetitu, růst a vývin zvířat, reprodukci, kvalitu kůže a kožních derivátů, integritu pletiv (ILLEK 1987, ILLEK 2003, MILLER *et al*. 1989, NRC 2001). To vše souvisí se zdravím mléčné žlázy. Zinek chrání tkáně před poškozením oxidativním stresem, jehož mechanismus je podrobně popsán v následující kapitole *2.2.9 Imunologie a zinek*. Suplementace zinku ovlivňuje užitkovost skotu, reprodukci, hojení ran, integritu paznehtu a imunitu (SICILIANO-JONES *et.al*.2008, GRIFFITHS *et al.,* 2007; KELLOGG *et al*., 2004; MALCOM/CALLIS *et al.,* 2000; SPEARS *et al*., 2002; KINCAID *et al.,* 2004; NOCEK *et al.,* 2006; NEATHERY et al., 1973). Zinek svým vlivem na aktivitu enzymů a expresi genů proteinů ovlivňuje mléčnou produkci, reprodukci, imunitní systém a růst zvířat (CHESTERS, 1997) a naopak nedostatek zinku má negativně ovlivňuje funkce metaloenzymů, mezi nimi i Cu/Zn-superoxiddismutázy (CuZnSOD), která je zapojena do antioxidačních procesů (MILLER, MILLER 1962; KIRCHGESSNER *et al.,* 1975; CHARABRA, ARORA,1993; CHESTERS, 2009; ILLEK J., 1987; UNDERWOOD, SUTTLE, 1999). Vlivem zinku na činnost některých hormonů, jako glukagon, kortikotropin, či inzulin, zinek zasahuje do bílkovinného a energetického metabolismu (ILLEK, 2003). Zinek má dva přímé vlivy na funkci imunitního systému, zaprvé jakožto již zmíněný antioxidant (CuZnSOD) a za druhé v rámci buněčného dělení a proliferace (SPEARS *et* WEISS, 1993). Je nezbytný pro tvorbu a funkci leukocytů, má vliv na tvorbu protilátek a fagocytózu a je důležitý v procesu buněčné apoptózy (DROKE *et* SPEARS, 2008; ILLEK, 2003). CORTINHAS *et al*.

(2010) informuje ve své studii o pozitivním vlivu zdroje Zn v organické formě na SCC, ale nepotvrdil vliv na antioxidační enzymy (ZnCuSOD, GSH-Px, CP).

Zdravotní stav mléčné žlázy závisí na statutu zinku u dojnic, neboť je zásadní pro keratinisaci strukového kanálku (ANDRIEU, 2007). Ve srovnání s tradiční saturací Zn anorganickými zdroji Zn (oxid, síran), má organicky vázaný Zn větší biologickou dostupnost (WEDEKIND *et al.*, 1992; KINCAID, SOCHA, 2004) a může zvýšit koncentrace Zn v tkáních a plazmě a snížit SCC v mléce (COUSINS, LEINART, 1988; ILLEK *et al.*, 2007). Deficit Zn se vlivem na imunitní systém podílí na zvýšení SCC a výskytu mastitid u dojnic (WHITAKER., 1997). Další autor (HANSEN, 1992) informoval o suplementaci 2.5 g proteinátu Zn / den, která způsobila silný pokles SCC ve výši 100 $x10^3$ SCC/ml u stáda s vysokým SCC (400 $x10^3$ SCC/ml). Jiný autor (NOCEK *et al*., 2006) popisuje podobný vliv zinku na reprodukci a užitkovost krav saturovaných dávkou odpovídající 100 % požadavku NRC (2001) ve formě komplexu stopových prvků ve srovnání s krávami s krmnou dávkou doplněnou stejnými prvky anorganické formě. Užitkovost mléka a charakteristiky mléčných komponent byly vyšší. Z těchto důvodů bylo dílčím cílem disertační práce posoudit vliv suplementace organického zinku na užitkovost, kvalitu mléka (mléčných komponent) a na SCC v mléce.

2.3 MĚĎ

2.3.1 Měď u přežvýkavců

Měď je nezbytná pro životní procesy jedince, představuje kofaktor pro řadu životně důležitých enzymů. Zároveň, při nadbytečném dávkování, představuje prvek toxickýpro organizmus. Vzhledem k této dvojí roli mědi, mají všechny živé organismy vyvinuté vysoce specializované homeostatické mechanismy, jejichž úkolem je dodávat a odstraňovat měď a rovněž neutralizovat její toxické účinky (LÓPEZ-ALONSO, 2005).

Referenční hodnota pro obsah mědi v plazmě představuje 8,2 ± 2,2 $mg.kg^{-1}$. Ze studií provedených v prostředí České republiky vyplývá, že koncentrace mědi v krevní plazmě kolísá během roku. Koncentrace mědi v krevní plazmě hovězího dobytka je nižší na jaře (6,81 ± 2,7 $\mu mol.l^{-1}$) a vyšší na podzim (18.04 ± 1.56 $\mu mol.l^{-1}$). Na podzim je tak obsah zvýšenaž na 151 % (ŠOCH, 2013).

Požadavek suplementace mědí u ovcí a skotu nejsou jednoznačně stanovitelné. Součást sledování hodnot mědi v organismu zvířete je vyšetření endogenní ztráty stolicí. Stolice je hlavní cestou vylučování přebytečné mědi, ne všechny ztráty je však třeba zcela nahradit. Vzrůstání potřeby mědi je relativně malé, protože hlavní součásti kostry mají nízké hladiny přítomnosti prvku. V průměru je možné říci, že svaly obsahují pouze 0,8 a 1,2 mg mědina kilogram hmotnosti u skotu a ovce. Poměrně velké množství mědi je uloženo v rounu ovcí (UNDERWOOD, SUTTLE, 2010)

2.3.2 Metabolismus mědi

V roce 2005 byla zkoumána intracelulární distribuce mědi a zinku v játrech u skotu. Cílem výzkumu bylo právě zlepšení porozumění patofyziologii akumulace mědi u skotu. Koncentrace mědi v játrech je běžně v rozmezí hodnot 25 až 100 mg na kilogram čerstvé hmotnosti tkáně. Výsledky výzkumu uvádí, že celková jaterní koncentrace mědi neměla významný vliv na subcelulární distribuci zinku, s jaterní koncentrací mědi korelovala koncentrace zinku pouze mírně. Byl objeven silný vztah mezi podílem celkového obsahu mědi vázané na metalothionein a jejím podílem na celkovém obsahu zinku (LÓPEZ-ALONSO, 2005).

Výzkumy z posledních let se zabývají řadou proteinů podílejících se na metabolismu mědi, zejména se jedná o měď vázanou na metalothionein (MT). Zároveň jsou diskutovány

genetické poruchy metabolismu mědi, jedná se především o Menkesovu chorobu, kdy je mutován gen pro transportní ATPázu, a Wilsonovu chorobu, tedy hepatolentikulární degeneraci, vedoucí kekumulaci mědi v orgánech (LÓPEZ-ALONSO, 2005).

Byly také identifikovány enzymy a proteiny, jako je například gen ceruloplasminu u ovce a delece genů, které jsou nezbytné pro embryonální přežití, např. dopamin-b-monooxygenáza. Studie na laboratorních zvířatech ukazují, že absorpce mědi je usnadněna specifickými a nespecifickými dvojmocnými kovy a bílkovinami ve sliznici gastrointestinálního traktu (UNDERWOOD, SUTTLE, 2010).

Velké množství požité mědi se uvolní při trávení v bachoru, kde se vysráží jako sulfid měďnatý a zůstává nevstřebána, během postruminačního trávení může být částečně vázána do nestrávených složek (UNDERWOOD, SUTTLE, 2010).

Byly posuzovány účinky různých zdrojů mědi na výkon zvěře, jejich dopad na plazmové metabolity, stravitelnost živin a zachování některých minerálů v organismu jehňat ze stravy založené na ječmeni (DEZFOULIAN, 2012).

Bylo zkoumáno 25 jehňat ve věku 6–7 měsíců, které byly náhodně přiděleny do pěti skupin. První skupina dostávala základní krmnou dávku obsahující 8,6 mg mědi na kilogram sušiny. Druhá skupina dostávala základní krmnou dávku s přidáním 10 mg mědi na kilogram sušiny, ve formě $CuSO_4$. Třetí skupina měla přidělenu základní krmnou dávku s 20 mg mědi na kilogram sušiny, ve formě $CuSO_4$. Čtvrtá skupina měla základní krmnou dávku obohacenu o 10 mg mědi na kilogram sušiny ve formě proteinátu mědi. Pátá skupina měla k základní stravě přidáno 20 mg mědi na kilogram sušiny ve formě proteinátu mědi. Základní krmná dávka se skládala ze 70 % zrna ječmene, 27 % sena z vojtěšky a 3 % sóji. Vzorky krve byly odebírány přes jugulární žíly v den nultý a následně pak v den 7., 14., 28., 57., 65. a 84. Byla testována celková antioxidační kapacita červených krvinek, aktivita superoxiddismutázy, počet erytrocytů, hematokrit, hemoglobin a koncentrace minerálů v plazmě. Po vyhodnocení výsledků byla náhodně vybrána 4 jehňata z každé skupiny. Ta pak byla hodnocena k získání informace o účincích různých zdrojů mědi na stravitelnost živin (DEZFOULIAN, 2012).

Z výsledků vyplývá, že zdroj mědi měl významný vliv na koncentraci ceruloplasminu. Při hodnocení výsledků z 65. dne, byla zaznamenána nejvyšší koncentrace ceruloplazminu ve skupině, které bylo podáváno 20 mg mědi na kilogram sušiny ve formě proteinátu mědi. Zdroj mědi, ani velikost dávky neměla žádný významný účinek na aktivitu superoxiddismutázy.

Celková antioxidační kapacita se zvýšila, ale nebylo dosaženo významných rozdílů mezi druhy zdroje mědi (DEZFOULIAN, 2012).

2.3.3 Funkce mědi

Měď má svůj významný úkol právě co se týká funkce imunitního systému. Nutriční nedostatky a excesy mohou ovlivnit jednotlivé složky imunitního systém. Měď je jedním ze stopových prvků, které mohou pozměnit imunitní reakci v mnoha ohledech (MINATEL, 2000).

Nezbytnost mědi pro tvorbu hemoglobinu byla poprvé prokázána v roce 1928 při experimentu na hlodavcích. Tento objev následně vedl k prevenci širokého spektra klinických a patologických jevů (UNDERWOOD, SUTTLE, 2010).

Měď se pravděpodobně zapojuje do procesů, jako je reprodukce a vývoj kostí. Jednoznačná závislost mědi na specifickém enzymu se promítá do pigmentace, jedná se o enzym tyrozináza, a do vývoje pojivové tkáně, kde se účastní lysyl oxidáza (UNDERWOOD *et* SUTTLE, 2010).

2.3.4 Organická forma mědi

Organická forma dodávání mědi byla podrobena samostatnému zkoumání. Předpokládán pak byl především dopad organické formy na produktivní výkon, plodnost a zdravotní stav skotu. Aplikace proběhla u březích dojnic. Bylo provedeno krmení s přídavkem 500 g mědi, zinku a manganu na kilogram krmiva v jedné skupině ve formě síranů a v druhé skupině ve formě organické. Výsledky předkládají, že částečné nahrazení mědi, zinku a manganu organickými krmivy vede k vyššímu obsahu imunoglobulinů v mlezivu a k nižší úmrtnosti telat během porodu (FORMIGONI, 2011).

2.3.5 Karence mědi

S nedostatkem mědi je spojena řada klinických příznaků. Jedná se o a chromotrichii, je možné pozorovat chybění vlasového pigmentu, kulhání, spontánní zlomeniny, průjem, anémii, poruchy růstu a neprospívání (MINATEL, 2000).

Řada studií již v minulosti prokázala, že kupříkladu mortalita hlodavců s deficitem mědi byla vyšší, pokud jim byl injikován přípravek obsahující *Salmonella typhimurium*, nebo *Pasteurella hemolytica*. Jsou však předloženy i velmi konkrétní důkazy. Jedná se například o přirozený důkaz interakce mezi nedostatkem mědi v organismu a imunitou, ve kterém byla detekována zvýšená úmrtnost jehňat po změně pastvin. Došlo k trvalému

nedostatku indukované mědi v potravě zvířat a tím se zvýšila náchylnost k infekcím. Kojenci s Menkesovou chorobou, která je spojena se snížením imunitních odpovědí, trpí opakovanými infekcemi, a to zvláště dýchacího traktu. Většina výzkumů provedená za účelem zkoumání vztahu mezi deficitem mědi a imunitní odpovědí jedince seprovádí pomocí hlodavců krmených vysoce purifikovanou stravou. To je hlavním důvodem, proč je riskantní extrapolovat výsledky získané z těchto experimentů na přežvýkavce (MINATEL, 2000).

Hospodářský význam nedostatku mědi byl objeven na podkladě vyšší náchylnosti k infekci u přežvýkavců s jejím deficitem. Narušení imunitní odpovědi se projevuje především sníženou mikrobicidní aktivitou a zhoršenou aktivitou neutrofilů, jak je doloženo u skotu a ovcí. U přežvýkavců s těžkým vyvolaným deficitem může být ovlivněna rovněž fagocytární funkce. Funkce makrofágů se však zdají být postiženy v menší míře. Je známo,že u přežvýkavců s deficitem mědi je snížena hladina cirkulujícího ceruloplazminu, není však mnoho informací o důsledcích na produkci cytokinů (MINATEL, 2000).

2.3.6 Toxicita mědi

Je potřeba naprosto přesně dodržovat dávkování mědi v krmných směsích u různých druhů a kategorií zvířat, neboť toxické působení některých minerálních prvků na organismus způsobuje nejen jednotlivými koncentracemi makro a mikroelementů, ale i interakcemi mezi toxickými a esenciálními prvky (BÍREŠ *et al.*, 1991). Toxicita prvků se projevuje poruchami reprodukce jako je např. subfertilita, infertilita, poruchy spermiogeneze, dále cytotoxickými, embryotoxickými, teratogenními či karcinogenními účinky na organismus (TOMAN *et al.*, 1995; ROGER, 2001; VRZGULA *et al.*, 1990). Velmi sensitivní k příliš nadbytku mědi (hyperkupremii) jsou telata, jehňata a kůzlata. Měď dráždí sliznici gastrointestinálního ústrojí, což se projevuje nauzeou, zvracením, kolikovými bolestmi či průjmem v případě akutní intoxikace, která je vzácná. V případě chronické otravy se měď kumuluje v jaterní tkáni a kosterní svalovině, čímž dochází ke změnám v klinického obrazu, konkretně kachexii, hemolobinurii, ikteru a hemoglobinemii (TOMAN *et al.*, 1995; VRZGULA *et al.*, 1990). Negativní vliv se dále projevuje na funkcích imunitního systému, dochází k narušení homeostázy a poškození tkání působením různých patogenů je předem naprogramováno (LAWRENCE, 1985.) Například u samců je nejen imunitní systém hůře funkční, ale i semenotvorný epitel varlat je toxickým působením mědi negativně ovlivněn, v tomto případě postačuje koncentrace mědi v semeni býků v intervalu 0,2-1,0 mg/kg. Poškození membrán a

zárodečného epitelu brání optimálnímu průběhu spermiogeneze a vede tak ke snížení fertility (VRZGULOVÁ *et al.,* 1993). Není možné tvrdit, že mechanismy homeostázy mědi v organismu jsou v dnešní době již zcela prozkoumány. Rovněž různé druhy zvířat vykazují značné rozdíly v toleranci ke zvýšeným hladinám mědi ve stravě. K toxickým účinkům mědi u skotu bez tržní produkce mléka nedochází často, pouze pokud koncentrace mědi v KD dosáhne hladiny vyšší než 115 mg/kg (BOYLES, 1995). Například při pastvě na travních porostech v sadech, kde byly stromy ošetřeny měďnatými postřiky nebo při podávání krmiva znečištěného fungicidy na měďnaté bázi. Pokud se v půdě a rostlinách vyskytuje vysoká koncentrace mědi a zároveň nízká hladina molybdenu a síry, může dojít k chronickým intoxikacím (Mac LACHTAN et JOHNSTON, 1982). Není pochyb o tom, že ovce jsou nejvíce náchylné k chronické toxicitě mědi, to vedlo k širšímu zkoumání této problematiky, než je tomu u jiných druhů, proto nelze ovcím podávat minerální doplňky s mědí určené pro skot (LÓPEZ – ALONSO, 2005).

Měď se koncentruje v játrech, při stresové zátěži je vyplavován do krevního řečiště a může během několika málo hodin až dnů způsobit otravu a úhyn zvířete (MAAS, 2005). Za toleranční hranici mědi považuje SLANINA *et al.* (1992) u skotu 100 mg/kg suš. KD a u telat 50mg/kg suš. KD. Potřeba mědi v krmné dávce skotu se pohybuje v rozmezí 8-10 mg/kg suš. KD a referenční hodnoty v krevním séru jsou stanoveny na 12-18 μmol/l.

BENCKO *et al.* (1995) popisuje dvě fáze intoxikace mědí – první kumulační a druhou toxickou. Než se klinicky projeví kumulační fáze, dochází již k nekrobiotickým mechanismům v hepatocytech. Následkem vyčerpané akumulační schopnosti jater, což urychluje stres (porod, hlad, vysoký výkon atd.), dochází k uvolňování Cu do krve, hemolýze erytrocytů, ikteru, steatóze a nekróze jater, tmavnutí krve a moči, hyperemii sleziny a degeneraci myokardu. Zvíře ztrácí apetit, hubne, uléhá, trpí křečemi, bolestmi, klesá jejich produkce, mláďata jsou méně životaschopná, přírůstky hmotnosti klesají či mizí a ve fázi toxické dochází k alopecii, edému plic a v konečném stádiu k exitu.

2.4 INTERAKCE MIKROPRVKŮ

I když je možné problémy z nedostatku mědi spojovat s primární příčinou v organismu zvířete, zpravidla je tento stav spojován s podáním nevhodného krmiva. Často je tento stav spojen s vysokými dávkami molybdenu, železa, nebo síry (MINATEL, 2000).

Význam interakce mezi mědí a molybdenem byl objeven prostřednictvím těžkých průjmů skotu, spojených s nadměrnou dávkou molybdenu v travních porostech v Somersetu ve Velké Británii (UNDERWOOD *et* SUTTLE, 2010).

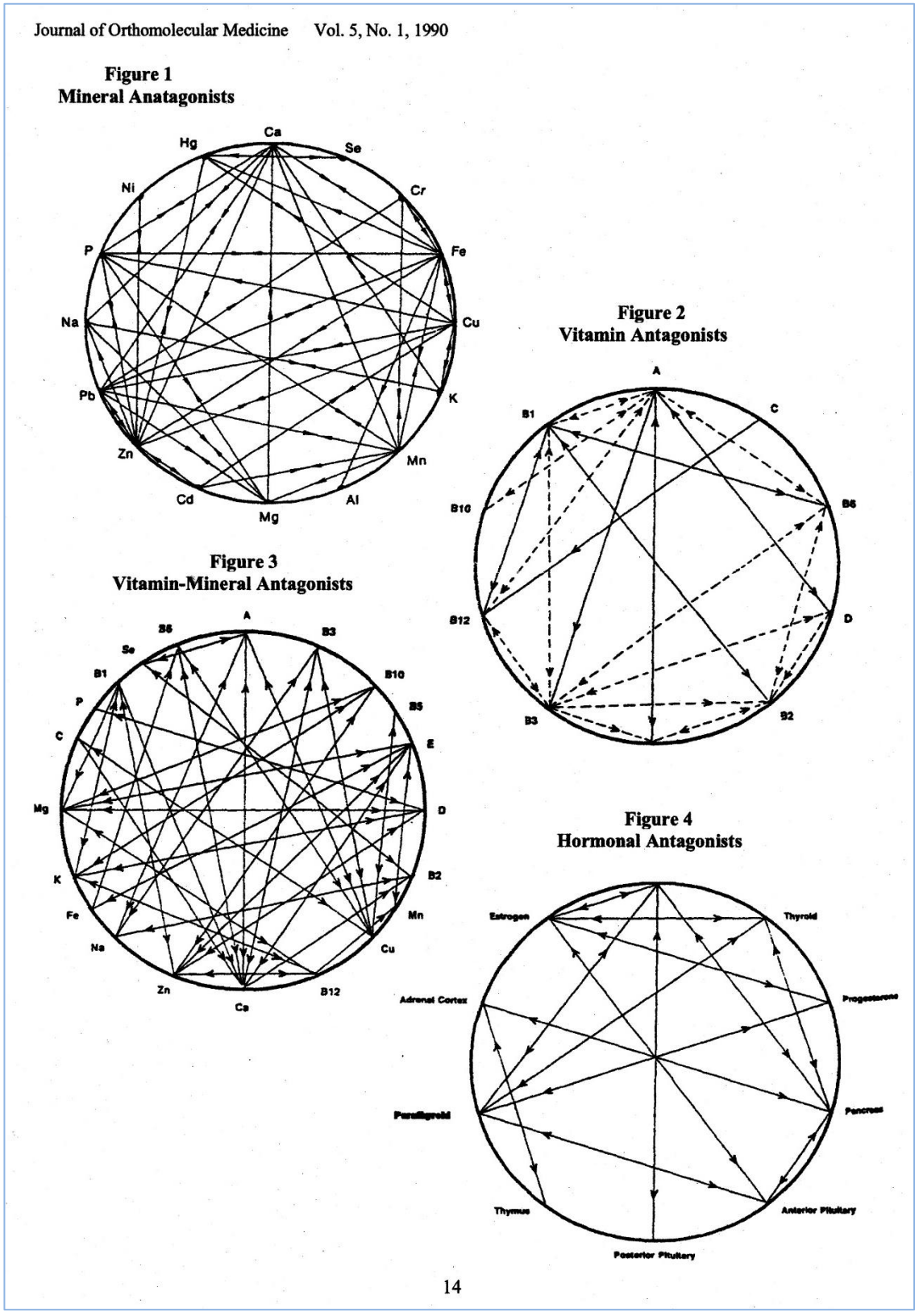
Souběžná šetření odhalila další problém, kdy nastala chronická otrava ovcí a dobytka ve východní Austrálii. Zde byly nalezeny abnormálně nízké koncentrace molybdenuv bylinách a přítomnost poruchy zvladatelné doplněním molybdenu. Základem obou problémů byl hluboký vliv molybdenu na metabolismus mědi, který závisel na dalších interakcích s třetím prvkem, jímž byla síra. Tyto informace byly zjištěny sérií experimentůs ovcemi, které používali síran. Tento trojúhelník interakce mezi mědí, molybdenem a sírou, je zapojen ve většině onemocnění spojených s citlivostí zvěře na měď (UNDERWOOD *et* SUTTLE, 2010).

Podle FÜRLL (2005) není důležitá pouze substituce těchto mikroelementů, nýbrž také interakce s ostatními látkami obsaženými v krmivu. Příklady synergistických a antagonistických procesů jsou podrobně uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5. Synergismy a antagonismy mikrominerálních látek a ostatních nutrientů v krmné dávce (FÜRLL, 2005; WATTS, 1990)

PRVEK	SYNERGISMUS	ANTAGONISMUS
železo (Fe)	Cu, Ca, Na	Zn, Cu, Co, Mn, Cd, Ca, Ni, P, Pb Lignin, fytáty
zinek (Zn)	K, Mg, Mn, Cr, P	Ca, Fe, Cd, Cu, P, S fytin, glukosinoláty (blokátory štítné žlázy)
měď (Cu)	Fe, Co, Ca, Na, Se	Ca, Cd, Fe, Mo, P, S, Zn fytáty Přežvýkavci (telata, ovce) jsou velmi citliví na předávkování
kobalt (Co)		Mn, K, Fe Přežvýkavci jsou velmi citliví na karenci
mangan (Mn)	K, Zn, Mg, Fe	Ca, P, Fe, Mg, Co vysoká koncentrace proteinů v krmné dávce
jód (J)	Zn, Se	Ca, Ar, F, Br Glukosinoláty: hořčičné oleje, thiokyanáty, nitráty
selen (Se)	Na, K, Cu, Mn, Fe, P, Vit. E, S obsahující-AK	Nitrát, nitrit, nenasycené mastné kyseliny, acidóza bachorového obsahu
molybden (Mo)		Cu, S, Wo

Komplexními interakcemi nutrientů – minerálních látek, vitamínů a produktů endokrinních žláz se zabýval ve své studii WATTS (1990) a shrnul je následovně:



WHATS L.D. (1990) Nutrient Interrelationships Minerals – Vitamins – Endocrins. *J Orth Med* 5(1): 11-19.

3 CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Cílem disertační práce bylo vyhodnotit vliv složení směsné krmné dávky (TMR) krav holštýnského plemene suplementované u pokusné skupiny organickou formou zinku na parametry užitkovosti, zdravotní stav a změny charakteristik minerálních prvků v krvi krav a telat.

Dílčí cíle jednotlivých experimentů:

- sledovat vliv suplementace zinku na mléčnou užitkovost krav
- monitorovat a vyhodnotit vývoj vybraných krevních parametrů hematologického, metabolického a minerálního profilu krav během pokusného období ve vztahu ke složení směsné krmné dávky
- vyhodnotit vliv adice organické formy zinku na vybrané ukazatele zdravotního stavu telat

Hypotézy:

- Suplementace organicky vázaným zinkem zvyšuje kvalitu i kvantitu mléka
- Adice zinku má pozitivní vliv na hematologické parametry RBC, HBG, HKT, PLT krav a telat
- Přídavek zinku v krmné dávce zvýší hladinu zinek dependentních metaloenzymů
- Organická forma zinku pozitivně ovlivní hladinu CuZnSOD a celkových imunoglobulinů Ig u telat

4 METODIKA

Oba pokusy (I, II) byly realizovány v prostorách zemědělského podniku VOS Zemědělců a.s. Velké Opatovice v Uhřicích v souladu se Zákonem na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb. V obou případech byly vybrány dvě skupiny zvířat tak, aby realizace projektu nijak nenarušovala běžný chod provozu v podniku.

Během pokusu I byly krávy holštýnského plemene shromážděny ve volném skupinovém ustájení po 40 zvířatech. Do těchto kotců krávy přicházely po porodu po oddělení od novorozených telat. Zvířata dvou vyrovnaných skupin byla z důvodu stejných metabolických potřeb a praktičnosti režimu krmení za stejných mikroklimatických podmínek chovány ve skupinách z hlediska užitkovosti, věku a pořadí laktace. Během období laktace se v jedné skupině nacházelo 40 dojnic. Ke směsné krmné dávce (TMR) měla všechna zvířata adlibitní přístup. TMR bya zvířatům mechanicky přidělována pomocí krmného vozu dvakrát denně a minimálně dvakrát denně přihrnována zaměstnanci Zemědělského podniku Úhřice.

Do pokusu I byla pro vyhodnocení vlivu adice organické formy zinku na užitkovost zařazena zvířata v počtu 40 kusů ve skupině pokusné i kontrolní. U suplementované skupiny organickým zinkem byl sledován denní nádoj mléka, počet somatických buněk v mléce a kvalitativní ukazatele mléčného sekretu v porovnání se skupinou kontrolní, která sloučeninou Zn-Met dotována nebyla.

Pro analýzu hematologických parametrů ve vztahu ke složení TMR byly vytvořeny dvě skupiny krav po deseti ze skupin zvířat, u kterých se již v rámci téhož pokusu sledovala užitkovost. Venózní krev byla odebírána oběma skupinám 21 dní před očekávaným porodem, v den porodu (pro hematologické vyšetření v tento den i novorozeným telatům matek obou skupin, před prvním napitím kolostra) a poté s odstupem 30 dnů – 30., 60. a 90. den po porodu (p.p.). Pro analýzu biochemických parametrů byla krev odebírána krom uvedených dat i 120. den p.p. pro porovnání hodnot po 30 dnech bez suplementace Zn-Met.

Ve věku 8 týdnů byla všechna telata zemědělského podniku odstavována od mléčné výživy a přecházelo se na výživu rostlinnou. V tomto období byly vytvořeny nové dvě skupiny telat pocházejících od matek, které nebyly v předešlém období suplementovány organickým zinkem pro pokus I. Pokusné skupině telat byl podáván organický zinek vázaný na aminokyselinu methionin (Zn-Met) v dávce 30 mg na kg sušiny krmné dávky ve formě

přípravku BIOPLEX Zn® (Alltech, USA) po dobu 90 dní. Byly provedeny dva odběry krve z *vena jugularis* nebo *vena caudalis mediana*. První odběr byl stanoven na 7. pokusný dena druhý odběr na 90. den suplementace.

Veškeré měřené parametry (vážený aritmetický průměr -x; směrodatná odchylka – SD. Spearmanův korelační koeficient – r_{xy}, na hladině významnosti $P<0.05$) byly podrobeny statistické analýze tak, aby došlo ke správnému vyhodnocení výsledků. Pomocí programů Microsoft Office Excell® a Statistica®, kde minimální hodnota pro hladinu významnosti byla stanovena na $P<0.05$. Pro stanovení významnosti dvou nezávislých výběrů Jako statisticky signifikantní, resp. statisticky velmi významný rozdíl dvou testovaných souborů byl označen ten, kterému odpovídala hodnota $P\leq0.05$, resp. $P \leq0.01$popř. $P\leq0.001$. Jednotlivé sledované parametry krevních vzorků a mléka, krve byly vyhodnoceny faktorovými analýzami podle statistických metod tak, jak je dle biometrických pravidel popisují autoři SNEDECOR *et* COCHRAN (2012), ZVÁROVÁ (2001) a ČERMÁKOVÁ *et* STAŘEČEK (1995).

4.1 Pokus I – MLÉČNÁ UŽITKOVOST, HEMATOLOGICKÝ, BIOCHEMICKÝ A MINERÁLNÍ PROFIL KRAV

Cílem této studie bylo zhodnotit vliv složení TMR suplementované organickým zinkem ve formě Zn-Met na mléčnou užitkovost dojnic holštýnského skotu (dojivost, mléčný protein, tuk a laktózu), počet somatických buněk (SCC), hematologické, biochemické parametry minerální profil krav v průběhu prvních 3 měsíců laktace.

Tato studie byla vypracována za pomoci grantů č. VZ MSM 6215648905, NAZV QK21020304, NAZV QK1910174 a projektu ITA VFU č. 14, 2022.

MLÉČNÁ UŽITKOVOST

Je pravidlem, že se v chovech vysokoprodukčních dojnic jednou měsíčně pomocí konvových vzorků provádí kontrola užitkovosti a zdravotního stavu. Hlavními kritérii jakosti jsou počet somatických buněk (SCC) jakožto indikátor zdravotního stavu dojnice a její mléčné žlázy, obsah mléčného proteinu a tuku, eventuálně hladinu močoviny jako ukazatel nežádoucích metabolických změn v organismu. (NAVRÁTILOVÁ, 2010).

Charakteristika chovu

Tato studie byla provedena na komerční farmě zemědělského podniku VOS Zemědělců a.s. Velké Opatovice s volným ustájením a kapacitou 400 dojnic Holštýnského skotuv Uhřicích, okres Velké Opatovice, Česká republika. Průměrná užitkovost za normovanou laktaci dosahovala od 9247 kg do 10150 kg, průměrný počet somatických buněk (SCC) činil 286/ml a průměrné procentuální zastoupení mléčného tuku byl 3,77 % a u mléčných bílkovin se dosahoval v průměru 3,30 %.

Zvířata zapojená do studie

80 dojnic Holštýnského skotu (40 zvířat ve skupině) bylo náhodně rozděleno do jedné ze dvou skupin – P – skupina (pokusná – suplementovaná ZnMet) a K – skupina (kontrolní) na experimentální dobu 21 dní před porodem (a.p.) do konce třetího měsíce laktace, tedy 90. dnepo porodu (p.p).

Experimentální dieta

Složení směsné krmné dávky a její živinové složení pro pokus I je uvedenov tabulkách č. 9 a 13 v kapitole 8 PŘÍLOHA, podkapitola 8.1 TABULKY.

Směsná krmná dávka (TMR) sestávala z lučního sena, vojtěško-travní senáže, hrachové senáže, kukuřičné siláže, LKS kukuřice, krmné slámy, zákvasu, semene hrachu, ječného šrotu, produkčního koncentrátu pro dojnice, minerální směsi pro dojnice „mikrop M 5-9“ a krmného cukru (Tabulka 9 a 13 v příloze TABULKY). Koncentrace Zn v TMR byla spočtena na 37 mg Zn / kg sušiny (DM). 21 dní před otelením začaly být krávy pokusné skupiny dotovány 30 mg Zn-Met / kg sušiny (Bioplex ®, Alltech Inc, USA) po dobu 111 dní, do 90. dne po porodu. Naopak krávy kontrolní skupiny přijímaly po celou dobu experimentu TMR bez přídavku organického zinku. Denní dávka organického zinku Zn-Met pokusné P-skupiny dosahovala množství 334-724 mg Zn/d (100% doporučené denní dávky Zn pro dojnice NRC, 2001) dle výše příjmu sušiny (11,32 – 24,13 kg sušiny TMR/ den. Složení premixu, plán krmného zásahu pro pokus I, složení TMR a její živinové složení je shrnuto do tabulek 9–14 v příloze TABULKY.

Suplementace organickou formou zinku

Složení 1,5 % - premixu organického zinku Zn-Met Bioplex ®, připraveného firmou Alltech Inc, USA (POKUS I) je definováno v příloze v tab. 11 a 12. Dávkování se řídilo množstvím přijaté sušiny v jednotlivých obdobích. Před porodem bylo množství přijaté sušiny TMR vysokobřezích krav ve výši 11,32 kg, tudíž byl zvířatům podáván premix v dávce 340 mg Zn denně. Dávky všech čtyř období byly přepočítány na konkrétní množství premixu podávaného do žlabu pro zajištění nekomplikovaného podávání premixu. V období přípravy na porod přijala zvířata 15,12 kg suš. TMR/den, dávka organického zinku tedy odpovídala 454 mg Zn/zvíře/den. Během období rozdojování dojnice přijímaly 20,11 kg suš. TMR denně. Během produkčního období byla dávka zinku odvozena z množství přijaté sušiny TMR 24,13 kg, dávka zinku 1.5 % premixu odpovídala 724 mg Zn/zvíře/den. Podrobný výpočet dávky premixuje uveden níže v tab. 6m kapitoly METODIKA.

Tab. 6m Plán suplementace Zn-Met krav během prvních 3 měsíců laktace v dávce 30 mg Zn/kg suš. TMR

Před porodem - příjem **11,32 kg sušiny TMR** /zvíře/den = **340 mg Zn /d**
• Premix----- x = 340 / 15000 = 0.02 kg = **22,7 g** premixu / kráva / den
• 10 krav / skupina = **227 g premixu do žlabu**
• 40 krav / skupina = 800 g premixu do žlabu
Příprava na porod - příjem **15,12 kg sušiny TMR** /zvíře/den = **454 mg Zn /d**
• Premix -----x = 454 / 15000 = 0.03 kg = **30,3 g** premixu / kráva / den
• 10 krav / skupina = **303 g premixu do žlabu**
• 40 krav / skupina = 1212 g premixu do žlabu
Rozdojování - příjem **20,11 kg sušiny TMR** /zvíře/den = **604 mg Zn /d**
• Premix -----x = 604 / 15000 = 0.04 kg = **40,3 g** premixu / kráva / den
• 10 krav / skupina = **403 g premixu do žlabu**
• 40 krav / skupina = 1612 g premixu do žlabu
Produkce – příjem **24,13 kg sušiny TMR** /zvíře/den = **724 mg Zn /d**
• Premix -----x = 724 / 15000 = 0.05 kg = **48,3 g** premixu / kráva / den
• 10 krav / skupina = **483 g premixu do žlabu**
• 40 krav / skupina = 1932 g premixu do žlabu

Odběry vzorků

Všechny krávy byly dojeny 2x denně, hmotnost mléka byla denně automaticky zaznamenávána. V rámci kontroly užitkovosti byly odebírány individuální vzorky mléka 2x/měsíc pro test mléčných komponent (procentické zastoupení mléčného tuku, proteinu a laktózy) a počet somatických buněk. Vzorky mléka byly odebírány a analyzovány standardní metodou v souladu normou CSN ENISO 13366-3/1998 při zachování pravidel aseptického odběru. Po oddojení prvních střiků byly odebírány individuální čtvrťové vzorky do plastových odběrek předem označených obojkovým číslem příslušných krav experimentálních skupin s příměsí oxidačního činidla dichromanu draselného. Počet somatických buněk byl poté

stanoven v laboratoři VOS Zemědělců a.s. Velké Opatovice na automatickém přístroji Fossomatic. Odběry mléka byly provedeny 30., 60. a 90 den po porodu.

HEMATOLOGICKÝ, BIOCHEMICKÝ A MINERÁLNÍ PROFIL KRAV

Dílčím cílem tohoto pokusu bylo sledovat hematologické, biochemické, parametry a změny charakteristik minerálních prvků v krevním séru krav jednotlivých skupin v závislosti na složení směsné krmné dávky. Skupině pokusné byl podáván ke TMR krmné dávce, kde jsou minerální látky v koncentrovaných krmivech obsaženy ve formě anorganické, premix organického zinku ve formě zinek – methionin. Krmná dávka skupiny kontrolní byl ponechán bez dotace Zn-Met.

Z interakčních principů jednotlivých minerálních látek je známo, že zinek a např. železo jsou ve vztahu antagonistickém, stejně tak jako zinek a měď nebo zinek a vápník. Neboť měď má značný vliv na hematopoézu, železo je jakožto strukturální součást **hemoglobinu** červených krvinek spojováno se vznikem anemie a zinek se významně podílí na optimálním stavu imunologických procesů v organismu, je možné sledovat, jakým způsobem se sestavení krmné dávky podílí na zdravotním stavu organismu. Tímto experimentem lze vysledovat, jakým způsobem se vyvíjí **hematokrit** jakožto parametr sledující výskyt různých druhů anemií, zánětu, dehydratace, výskytem průjmů atd. Např. u vysokoprodukčních dojnic bývá hodnota hemoglobinu a hematokritu nižší, u dehydratací naopak zvýšená. Pro objektivnější posouzení konkrétních případů by bylo nutné vyhodnotit ostatní krevní parametry v kontextus klinickým vyšetřením každého zvířete, což není možné v rámci této studie uskutečnit. Budou dále sledovány ostatní parametry krevního obrazu jako počet bílých krvinek – **leukocytů** (LEU, WBC), počet červených krvinek – **erytrocytů** (ERY, RBC), množství hemoglobinu (Hb. HGB), počet krevních destiček – **retikulocytů** (PLT) a **erytrocytární indexy** – střední objem erytrocytu (MCV), střední obsah hemoglobinu v erytrocytu (MCH) a střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytech (MCHC).



Obr. 3 Červené krvinky (Ondřej Komín, 2012)

V předporodním období stání na sucho a období rané laktace je pro dojnici nejobtížnější. Vysokoprodukční dojnice se v období rozdojování a ve fázi maximální mléčné produkce potýkají s negativní energetickou bilancí a trpí často ketózami, což je ekonomicky nejvýznamnější produkční onemocnění. 2-6 týdnů po porodu je období pro primární ketózu typické, což je projev poruch metabolismu sacharidů. Přebytek či nedostatek bílkovin, karence stopových prvků a vitaminů, nedostatek hrubé vlákniny, nevyrovnanost mezi příjmem a potřebou energie po porodu, vysoký obsah ketogenních látek v krmné dávce, to vše přispívá k vzniku ketózy v tomto kritickém postpartálním období. Zároveň je spotřeba glukózy na tvorbu laktózy vysoká, rezervy jsou malé a dochází k intenzivnímu odbourávání bílkovin a tuků v játrech, produkcí ketolátek, což má za následek degeneraci na parenchymatózních orgánů, zejména jater (JAGOŠ, 1985). Chovy, ve kterých základ TMR tvoří kukuřičná siláž, se často potýkají s nedostatečnou koncentrací mikroprvků v krmné dávce, což způsobuje karenční stavy vysokobřezích krav, a to má negativní vliv na vývoj plodu (ILLEK, 1987). Složení krmné dávky, zejména hladina minerálních látek a jejich poměry mají u krav vliv na prevenci produkčních onemocnění, která bývají u starších dojnic častější. Příkladem takové dysbalance je syndrom s názvem „ulehnutí“, které je vyvoláno nesprávným poměrem vápníku a fosforu a nedostatečným zásobením vitaminu D vysokoužitkové dojnice živinami krmné dávky zejména v prvních dnech až týdnech po porodu. Tyto příklady makro a mikrominerálních dysbalancí a produkčních chorob v období okolo porodu krav jsou důvodem sledování a zhodnocení vlivu složení TMR na metabolický a minerální profil krav pokusu I a telat pokusu II.

Pokusná zvířata

Pro sledování ukazatelů hematologického, minerálního a metabolického profilu byly náhodně vybrány dvě skupiny vysokobřezích krav holštýnského plemene zemědělského podniku VOS Zemědělců a.s. Velké Opatovice v Uhřicích. Zinkem suplementovaná a kontrolní

skupina pocházela ze skupin předchozí části pokusu, pouze byla zredukována na počet 10 kusů. Zvířata byla ustájena spolu s ostatními 50 kusy v původních kotcích dle stádia produkce.

Odběry a analýzy vzorků krve

Krevní vzorky byly odebírány u matek z ocasní žíly *vena caudalis mediana*, u novorozených telat v den porodu z krční žíly *vena jugularis* do plastových odběrek HEMOS-II firmy GAMA GROUP a.s (Ø 1,2 mm; délka jehly 27 mm) s antikoagulantem heparin v množství dvou kapek (0,08ml Heparin) odběrky pro hematologické vyšetření, pro získání krevního séra pro biochemickou analýzu naopak odběrky bez aditiv. Časový rozvrh pro odběry vzorků pro jednotlivá vyšetření jsou schematicky znázorněny níže:

Schéma odběrů krevních vzorků:

Hematologická vyšetření:

I. Těsně po porodu – krávy + **I.a** novorozená telata před napitím kolostra
II. 30 dní po porodu (p.p.)
III. 60 dní p.p.
IV. 90 dní p.p.

Biochemický + minerální profil

I. 21 dní a.p.
II. Těsně po porodu – krávy
III. 30 dní po porodu (p.p.)
IV. 60 dní p.p.
V. 90 dní p.p
VI. 120 dní p.p., = 1 měsíc po skončení dotace Zn-Met

Odběr krve i promíchání s antikoagulantem je potřeba provést opatrně otáčením, aby nebyly erytrocyty mechanicky znehodnoceny, neboť jsou hemolytická séra pro většinu vyšetření nepoužitelná. Zatímco např. na koncentraci mědi hemolýza vliv nemá,zvyšuje naopak významně plasmatickou koncentraci zinku (ILLEK, 1987).

Okamžitě po odběru byly vzorky převáženy do laboratoře Ústavu výživy zvířat a pícninářství Mendelovy univerzity v Brně, aby měřené hodnoty nebyly zkresleny časovou prodlevou maximálně stanovenou na dvě hodiny po odběru. První odběr krve byl u krav proveden těsně po porodu, ten den jsme odebrali vzorek krve i u novorozených telat před prvním napitím kolostra. Vzorky byly odebírány vždy ve stejnou denní dobu, maximálně 3 hodiny po zavážce krmiva, pokud možno bez vystavení zvířat stresových faktorů, aby biochemické (např. glukóza) a hematologické ukazatele nebyly zkresleny. Krevních vzorků byly provedeny v souladu s platnými zákonnými předpisy pro pokusy na zvířatech (zákon č. 91/1996 Sb. a č. 544/2002 Sb.)

V laboratoři Ústavu morfologie, fyziologie a genetiky Mendelovy univerzity v Brně byly v krevních vzorcích plné krve, označených obojkovým číslem krav a telat, na automatickém hematologickém analyzátoru Element HT5 (Scil animal care company GmbH, Viernheim, Německo) stanoveny tyto hematologické parametry: počet erytrocytů (RBC), leukocytů (WBC), koncentrace hemoglobinu (HGB), hodnota hematokritu (HKT), počet krevních destiček (PLT) a erytrocytární indexy (MCV, MCH, MCHC). Poté byly vzorky krve na centrifuze odstředěny při rychlosti otáček 3000/min 10 minut. Vzorky krevního séra a plazmy byly odpipetovány, označeny příslušnými obojkovými čísly a zamraženy v mrazicím boxu při teplotě minus 20 °C, aby bylo po čase shromážděn minimální počet vzorků nutný pro biochemické sety automatického biochemického analyzátoru HITACHI 917 laboratoře VETLABFARM s.r.o., Brno. Přístroj pracuje na principu dvoustupňové spektrofotometrické analýzy. Jednotlivé vzorky byly pro čtečku analyzátoru označeny čárovými kódy, ke kterým byla přiřazena původní obojková čísla. Příslušné vzorky se umisťujído pětimístných stojanů zásobníků analyzátoru. Plastové měřící kyvety jsou umístěny do kruhuve vodní lázni s teplotou 37 °C. Automatizované stanice odsají z jednotlivých kyvet reakční směs, odděleně odpipetují potřebné množství vzorku a reagencie do reakčních nádobek a promíchají míchadlem pro následnou fotometrii. Kyvety jsou po promytí opět používány. Bylytestovány tyto zvolené parametry: celková bílkovina (CB), albumin, močovina (UREA),glukóza (GLU), bilirubin (BIL), alkalická fosfatáza (ALP), aspartátaminotransferáza (AST), gamaglutamyltransferáza (GMT neboli GGT). Makroprvnky sodík (Na), draslík (K), vápník (Ca), fosfor (P), hořčík (Mg) a mikroprvky zinek (Zn), měď (Cu), mangan (Mn) a selen (Se) byly stanovovány metodou atomové absorpční spektrofotometrie (AAS), během které docházík absorpci světla katodové lampy, pro daný prvek charakteristické vlnové délky.

Pokus II. – vliv složení krmné dávky na biochemické parametry, koncentraci celkových imunoglobulinů, mědi a zinku v krvi TELAT

Tato studie byla vypracována za pomoci grantu NAZV GJ1210144.

Druhá experimentální část disertační práce byla zaměřena na sledování vlivu suplementace krmné dávky telat organickou formou zinku (ZnMet) po odstavu na rostlinné výživě ve věku 8 týdnů na parametry metabolického profilu, koncentraci vybraných minerálních látek (měď a zinek) a koncentraci celkových imunoglobulinů v krvi telat.

Náhodně vybraných 20 telat ve věku dvou měsíců byla rozdělena do dvou skupin (n = 10), které byly odděleně ustájeny ve vlastních kotcích. V předešlém období mléčné výživy přijímala telata 2x denně 4 litry mléčné krmné směsi Aprosan (Laktosan) s obsahem anorganické formy zinku ($ZnSO_4$) v množství 40mg Zn/kg. Dále měla k dispozici startér (22 % NL) obohacený o minerální látky a vitamíny (30 mg Zn/kg suš.), luční seno ad libitum a vodu. Telata nevykazovala klinické příznaky karence zinku.

Po přechodu telat na rostlinnou výživu byl stanoven začátek experimentu. Telatům byla podávána krmná dávka ve složení – luční seno ad libitum, startér (19,5 % NL, 30 mg Zn/kg suš.) a voda. Jednotlivým zvířatům pokusné skupiny byl denně ke krmné dávce přidáván premix zinku v organické formě vázán na aminokyselinu methionin (BIOPLEX Zn firmy Alltech, USA) v dávce 30 mg/kg sušiny po dobu 90 dní. Telata byla na krmnou dávku 21 dnů adaptována. Skupině kontrolní premix zinku podáván nebyl.

Během tří měsíčního experimentálního období byly provedeny dva odběry krve z *vena jugularis*. Vzorky krve byly odebrány 7. a 90. den všem 20 zvířatům obou skupin, krev byla v laboratoři Ústavu výživy zvířat a pícninářství Mendelovy univerzity v Brně. Byly zpracovány stejně jako v pokusu I. Krevní séra jednotlivých zvířat byla očíslována dle ušních známek telat a převezena do laboratoře VETLABFARM, s.r.o., Brno, kde byly pomocí automatického biochemického analyzátoru HITACHI 917 stanoveny následující vybrané parametry: obsah celkové bílkoviny, albuminu, močoviny, aktivita enzymů ALP a SOD, koncentrace vitaminu A a E, mědi a zinku. V krevním séru byl dále stanoven obsah celkových imunoglobulinů pomocí zinek-sulfátové turbidimetrie za použití spektrofotometru s vlnovou délkou 340 nm. Mikroprvky byly stanoveny metodou atomové absorpční spektrofotometrie AAS, metabolické

parametry pomocí biochemických setů zmíněného analyzátoru.

Za minimální koncentraci zinku v krevní plazmě telat těsně po odstavu byla považováno 12 µmol/l. Nižší hladiny byly hodnoceny jako karenční stav, vyšší hodnoty než 18 µmol/l jako zvýšená dotace. Ostarní měřené parametry byly posuzovány podle referenčních hodnot, které jsou uvedeny v příloze v tabulce č.8.

Statistické vyhodnocení výsledků

Veškerá získaná data měřených parametrů (krevních vzorků, mléka, krve a výkalů) byla podrobena statistické analýze pomocí programů Microsoft-Office-365 Excel® (Microsoft Corp., Redmond, USA) a Statistica®. Minimální hodnota pro hladinu významnosti byla stanovena na $P < 0.05$. Jako statisticky signifikantní, resp. statisticky velmi významný rozdíl dvou souborů byl označen ten, kterému odpovídala hodnota minimální hladiny významnosti $P \leq 0.05$, resp. $P \leq 0.01$ popř. $P \leq 0.001$. Minimální hodnota korelační závislosti byla stanovena na hodnoty -0,2 / +0,2. Statistické výpočty pro vědeckou problematiku agronomických oborů se řídily biometrickými metodami autorů SNEDECOR a COCHRAN (2012) a ZVÁROVÁ (2001).

5 VÝSLEDKY A DISKUSE

První část výsledků – pokus I – je uvedena v tabulkách č. **16–52 A** a grafech č. **1–25**.

Tento komplex je pro přehlednost rozdělen do 4 částí –UŽITKOVOST (tab. 16-18, grafy 1-3), HEMATOLOGIE (tab. 19-23, grafy 4-8), BIOCHEMIE (tab. 24-37 A, grafy 9-16 A) a MINERÁLNÍ LÁTKY (tab. 38-52 A, grafy 17-25).

Výstupy druhé experimentální části – pokus II – jsou schematicky shrnuty do tabulky č.**53** a grafů č. **26**–**35**.

4.2 Pokus I. – MLÉČNÁ UŽITKOVOST, HEMATOLOGICKÝ, BIOCHEMICKÝ A MINERÁLNÍ PROFIL KRAV

UŽITKOVOST

Během všech třech měsíců experimentu měly dojnice, dotované Zn-Met (P-skupina),vyšší průměrnou denní **dojivost** než skupina kontrolní (K) (Tab. 16, Graf 1). Během prvního měsíce po otelení neměla dotace organického Zn v doporučené denní dávce (100 % NRC) signifikantní vliv na denní produkci mléka krav pokusné P-skupiny (P>0,05). Průměrná mléčná užitkovost P-skupiny dosahovala 43,02±3,62 kg, u K-skupiny 42,03±3.98 kg. Po 60dnech laktace činila dojivost P-skupiny 44,70 ± 4.24 kg a 42,08 ± 4,60 u krav K-skupiny.Rozdíl byl statisticky významný ($P \leq 0,05$). Také ve třetím měsíci laktace byla dojivost u P – skupiny vyšší (43.22 ± 4.47 kg vs 39,98 ± 4.80 kg). Rozdíl byl statisticky vysoce významný ($P \leq 0.01$). Podobné studie provedli i jiní autoři, kdy buď nedochází ke zvýšení mléčné užitkovosti (UCHIDA *et al.*, 2001) nebo je pozorováno zvýšení mléčné užitkovosti na vrcholu laktace. Autoři neuvádějí žádný pozitivní vliv na složení mléka a mléčnou užitkovost podle úrovně nebo zdroje minerální suplementace, avšak u krav dotovaných organickým Zn byl zaznamenán významný nárůst imunoglobulinů IgG v kolostru. Ve studii (UCHIDA *et al.*, 2001) nebylo pozorováno žádné zvýšení laktační výkonnosti. KINCAID a SOCHA (2004) pozorovali vyšší laktační výkon ve vrcholné laktaci, ale ne na začátku laktace. Obdobně testoval i COPE *et al.* (2009) vliv suplementace organické a anorganické formy zinku na kvalitu mléka, SCC, tvrdost rohoviny paznehtů, metabolické a hematologické parametry a dojivost krav v postpartálním období po dobu 14 týdnů. Skupina suplementovaná organickou formou zinku v doporučovaném množství (NRC, 2001) 63,9 mg/kg suš. TMR dosahovala nejvyšší dojivosti (o 2,4 kg/d vyšší) po 8 týdnech, nicméně bez signifikantního rozdílu oproti ostatním dvěma skupinám (skupina RO – doporučené množství anorganického zinku a LI – nízko dávkovaná anorganická forma zinku). KELLOG *et al.* (2004) a SPEARS (1996) stejně jako v našem případě dokládají pozitivní efekt suplementace zinku v organické formě jako zinek methionin

a zinek lysin na dojivost krav. SINGH *et al.* (2019) zaznamenali přínos suplementace síranem zinečnatým (ZnSO4) a biotinem na zdraví paznehtů, dojivost a sušinu mléka ve srovnání klinicky chromých a nekulhavých zdravých krav. Nárůst mléčné bílkoviny a pokles SCC v jejich studii mohly souviset se zlepšením zdraví kopyt.

Počet **somatických buněk** (**SCC**) byl u kontrolní K-skupiny vyšší ve všech třech měsících experimentálního období než u dojnic dotovaných Zn-Met pokusné P-skupiny (Tab.17, Graf 2.). Rozdíl nebyl v prvním měsíci laktace statisticky významný (P >0,5). Ale ve druhém měsíci byl SCC u Zn-Met suplementovaných dojnic (P-skupina) statisticky významněnižší ($P\leq$ 0,05) a na konci studie, po 90 dnech laktace, je počet somatických buněk u P-skupinyopět nižší než u kontrolní skupiny a rozdíl byl statisticky vysoce významný (P ≤0,001). SCC má u suplementované skupiny (P-skupina) během tříměsíčního experimentálního období tendenci klesat, kontrolní skupina měla opačný trend. Podobný výsledek byl popsán ve studii jiného autora (NOCEK *et al.*, 2006), kdy SCC krav dotovaných komplexně vázaným zinkem (v dávce 100 % NRC) byl o 46,5% nižší než SCC skupiny, která přijímala zinek (100 % NRC) anorganicky vázaný a zároveň o 47,7% nižší než u zvířat skupiny přijímající organicky vázanýzinek, ale v nižší dávce (75 % NRC). GAAFAR (2010) prováděl velmi podobná šetření vlivu dotace Zn-Met 240 dojnic první až osmé laktace v různých stádiích laktace na SCC, dojivost akomponenty mléka. Dále sledoval rozdíly mezi třemi skupinami krav, kdy mléčná žláza prvnískupiny 12 krav byla zdravá a bez dotace zinku, druhá skupina 15 dojnic trpěla subklinickou mastitidou, přijímala denně 5mg Zn-Met/den a třetí skupina o 15 zvířatech klinickým zánětem vemene s dotací 10 mg Zn-Met/den. Autorova studie dokládá signifikantní pokles (P ≤0.05) SCC stejně jako v našem pokusu u skupin dotovaných organickým zinkem a dále snížené náklady na léčbu subklinických a klinických mastitid (Gentamycin 100mg). Ale i jiné faktory mají na počet SCC vliv. U multiparních krav počet SCC lineárně stoupá se zvyšujícím se počtem narozených telat. GAAFAR (2010) studuje i ostatní faktory, které mají vliv nadynamiku SCC během ročních období. Nejvyšší počet SCC pozoruje v zimním období (průměrně 447,19 SCC/ml). Na jaře SCC opět klesá (279,51 SCC/ml), v horkých dnechv letním období se počet SCC naopak zvyšuje (341,22 SCC/ml) ve srovnání s poklesem teplotna podzim, kdy se počet somatických buněk dostává na roční minimum (187,03 SCC/ml). Dalším faktorem ovlivňujícím počet SCC během jedné laktace je její fáze. Stejně jako CERON – MUNOZ *et al.* (2002) popisuje pokles SCC směrem k laktačnímu peaku okolo druhého měsícelaktace, GAAFAR (2010) pozoroval minimum počtu SCC mezi 40. a 80. dnem laktace. V případě našeho experimentu nebyl pozorován pokles po porodu a následný vzestup počtu SCC, nýbrž pozvolný nicméně stálý pokles SCC u pokusné skupiny během 90 experimentálních dní. Kontrolní skupina zaznamenala stálý vzestup SCC. KELLOGG (1990) dokládá pozitivní vliv organické formy dotace zinku srovnáním suplementace Zn-Met jedné skupině a dotaci oxidu zinečnatého (ZnO) s přídavkem methioninu ve dvou různých dávkách (Zn 180mg + Met

360mg/hlavu/den) skupině druhé a třetí (dvojnásobná dávka Zn 360mg + Met 720mg/hlavu/den). Dojnice byly schopny snížit počet SCC o 22 % a zvýšit dojivost o 4,4 % jaks dotací organickým zinkem v nižší dávce Zn-Met (4,5g/den), tak ve dvojnásobné dávce Zn-Met (9g Zn/den) – dojivost vyšší o 6% a SCC nižší o 50% - ve srovnání s plemenicemi suplementovanými ZnO, které takových výsledků nedosáhly. KELLOGG *et al.* (2004) popisujeve své studii snížený počet somatických buněk u krav dotovaných organickou formou zinku, ústící do lepšího zdraví mléčné žlázy a vyšší dojivosti. Podle MOORE *et al.* (1988) a COPE *et al.* (2009), (30-50% NRC 2001), přídavek organické formy Zn neovlivnil složení mléka a SCC, zatímco dojivost se ve studii (COPE *et al.* 2009) zvýšila.

Bylo dosaženo zvýšení dojivosti u autorů KELLOGG (2004), KINAL *et al.* (2005a), NOCEK (2006) a CHEN *et al.* (2020) UCHIDA *et al.* (2001), KINAL *et al.* (2007) množství tuku zůstalo nedotčeno. Podobně jako v naší studii BALLANTINE *et al.* (2002) porovnávali organické a anorganické zdroje Zn, Mn, Cu a Co 21 dní před otelením až 250 dní p.p., aby určili účinek těchto stopových prvků na reprodukci a laktační užitkovost dojného skotu a také na výskyt a závažnost poruch drápů. OSORIO *et al.* (2016) popisuje důsledek ošetření krav krmených přídavkem organické formy stopových prvků (Zn, Cu, Mn, Co), kdy došlo ke zvýšení dojivosti, zlepšení všech parametrů reprodukční užitkovosti a snížení incidence lézí paznehtů, což by se dalo vysvětlit příznivými antioxidačními účinky kombinace stopových prvků na jaterní a imunitní funkce, v důsledku čehož dochází ke zlepšení příjmu sušiny po porodu. Také KELLOGG *et al.* (2003) referuje o pozitivním vlivu organické formy stopových prvků na reprodukční výkonnost, zvýšení dojivosti a snížení SCC.

Kvalita mléka se zdá taktéž být ovlivněna suplementací organicky vázaného zinku (Tabulka 18, Graf 3). Během prvních 30 dní p.p. se neobjevuje statisticky významný rozdíl v množství mléčných komponent ($P > 0,05$). Naopak ve druhém a třetím měsíci laktace (60. a 90. den p.p.) je zde statisticky významný rozdíl v procentuálním zastoupení mléčného tuku u P-skupiny. 60 dnů p.p. dosahuje suplementovaná skupina signifikantně vyšších hodnot u mléčného tuku ($P \leq 0,01$) a mléčného proteinu ($P \leq 0,05$), 90 dní p.p. pozorujeme obdobný výsledek, P-skupina dosahuje u koncentrace mléčné bílkoviny i tuku procentuálně vyšších hodnot. Rozdíl mezi experimentálními skupinami obou parametrů byl statisticky prokazatelný ($P \leq 0,01$). Pozitivní efekt komplexně vázaného zinku v dávce 100 % NRC množství na bílkoviny a tuky v mléce popisují i další autoři (KELLOGG *et al.*, 2004; NOCEK *et al*., 2006). Oproti tomu výzkum dalších autorů pozitivní efekt výše dotace či chemického složení minerální suplementace na složení mléka svými studiemi nepotvrzují (BALLANTINE *et al.*, 2002; KELLOGG et al., 2003; UCHIDA *et al.*, 2001). KINCAID a SOCHA (2004) informuje o vlivu dotace komplexu zinku na zvýšení množství bílkovin v mléce. GAAFAR (2010) pozoruje zvyšující se dojivost za současného snižování SCC u dojnic dotovaných Zn-Met ($P \leq 0,05$). KELLOGG (1990) studuje efekt organicky a anorganicky vázaného zinku v krmné dávce v jednoduché a dvojnásobné dávce na kvalitu mléka, obsah laktózy a mléčného proteinu zůstal po celé experimentální období

nezměněno u všech skupin, naproti tomu dokládá pozitivní vliv Zn-Met na kvalitu paznehtů oproti ZnO.

KINAL (2007) hodnotil vliv organické a anorganické formy zinku, mědi a manganu na kvalitu mléka a kolostra a minerálního profilu 90 krav s mléčnou užitkovostí 9500 kg v předešlém laktačním období. Pozorování rozdělil do tří skupin, celý experiment obsáhl obdobíod 6 týdnů před porodem po konec třetího měsíce laktace. Odběry mléka a krve byly prováděny1., 2. a 3. měsíc po porodu. Skupině I skupině podával minerální koncentrát s obsahem $ZnSO_4$3007 mg/kg směsi, skupině II kombinaci organické a anogranické sloučeniny $ZnSO_4$ (1500 mg/kg směsi) a chelátovaného Zn (1507 mg/kg směsi) a III. Skupině pouze organický Zn (3000mg/kg směsi). Suplementace mědi byla aplikována obdobně v podobě sulfátu a chelátu (I: 600mg Cu/kg směsi; II: 300 mg $CuSO_4$/kg směsi + 300 mg Cu-chelát/kg směsi; III 600 mg Cu-chelát/kg směsi), mangan vázaný na sulfát a organický chelát (I: 2002 mg Mn/kg směsi; II: 1000 mg $MnSO_4$/kg směsi + 1000 mg Mn-chelát/kg směsi; III 2000 mg Mn-chelát/kg směsi). U skupiny II a III, kde byl v minerálním doplňku přítomen chelátovaný zinek buď v kombinaci (II) s anorganickými formami minerálů nebo výlučně bioplex Zn, Cu a Mn (III), došlok signifikantnímu ($P \leq 0{,}01$) zvýšení koncentrace proteinu a tuku v kolostru. V našem experimentálním období dochází k prokazatelnému zvýšení obsahu mléčného tuku až ve 2. a 3. měsíci laktace. KINAL (2007) pozoruje v prvním měsíci po porodu snížení obsahu laktózy u skupin dotovaných organickou formou zinku ($P \leq 0{,}01$). V našem případě se procentické zastoupení laktózy během celého experimentálního období drželo na stejné úrovni u obou skupin bez rozdílu.

HEMATOLOGIE – krávy a jejich telata

Dílčím cílem tohoto pokusu bylo stanovit vliv složení směsné krmné dávky suplementované organickou formou zinku Zn – Met na hematologické, biochemické parametry a makro a mikrominerální profil krve krav během období od 21 dnů před porodem do 90 dnů po porodu. Hematologické parametry byly v den porodu vyhodnoceny i u novorozených telat.

Shrnutí výsledků hematologických vyšetření je zpracováno do tabulek a grafů uvedených v kapitole 8 PŘÍLOHY, podkapitoly TABULKY a GRAFY. Jednotlivé hematologické ukazatele a jejich hodnoty, naměřené u skupiny pokusné a kontrolní, rozdělenédle dat odběru, jsou zapsány v tabulkách pod číslem 19-23a. Tabulky a grafy se věnují obsahu leukocytů (WBC), erytrocytů (RBC) a hodnotám hemoglobinu (HGB), hematokritu (HCT), trombocytů (PLT) a erytrocytárních indexů (MCV, MCH, MCHC).

Pro objektivní vyhodnocení jednotlivých výsledných hematologických hodnot byly použity referenční hodnoty uvedené v tabulkách 6-7. Referenční hodnoty jednotlivých autorů se liší. Tabulka 6 srovnává autory JAGOŠ (1985), KRAFT et DÜRR (2005) a tabulka 7 dle SLANINY *et al*. (1992) naopak srovnává základní hematologické hodnoty dojnic a telat.

Kolektivu ŠREJBEROVÉ (2008) se podařilo prokázat, že nízké koncentrace obou stopových prvků mohou mít negativní vliv na krvetvorbu zvířat a tím i na jejich zdraví a produkci. V souladu s jejich výsledky uvádějí, že mezi hemoglobinem, hematokritem, Cu a Zn u masného a mléčného skotu lze nalézt přímé lineární závislosti. Sledováním interakce obsahu stopových prvků v krmné dávce a hematologických parametrů se zabývá již ve své studii BÍREŠ *et al.* (1990), který potvrzuje vliv mikroelementů na aktivitu bílých krvinek, koncentraci celkových imunoglobulinů a albuminu v krevní plazmě ovcí. MARTIN et WHITE (1992) potvrzují nepřímý vliv zinku na membránu erytrocytů, neboť majoritní obsah Zn v tělních tekutinách se nachází v červených krvinkách, a má tedy vlivna hodnotu **hematokritu** a **hemoglobinu** krve ovcí.

Procentická hodnota HCT je podíl krevních buněk v plné krvi. Ke zvýšení dochází během tělesné zátěže, při dehydratacích, methemoglobinémii a metabolické acidóze a ve vysokých nadmořských výškách (ŠOCH, 2010), při anémii vyvolané karencí Co, Cu a Fe (HOFÍREK et al., 2004) se hodnota hematokritu snižuje. K výraznému poklesu hodnoty hematokritu i hemoglobinu dochází také u dojnic během dojení, při hydrémii, hemoglobinurii a deficitu bílkovin v TMR (JELÍNEK *et al.*, 2003; HOFÍREK *et al.*, 2004; DIRKSEN et al., 2006).

Významnou statistickou lineární závislost mezi mikroprvky zinkem a mědí a hematologickými parametry dokládá ŠREJBROVÁ (2006) převážně v případech, kdy se jeden z prvků v organismu nachází v nadměrném nebo deficitním množství v důsledku nedostatečného krytí potřeb minerálního prvku nebo podáváním nevhodné minerální směsi. BÍREŠ *et al.* (2002), a ŠOCH *et al.* (2002) a ŠREJBROVÁ (2008) potvrzují vysoce kladnou korelací pozitivní vztah zinku a mědi s hodnotou hemoglobinu a hematokritu v krvi skotu a ovcí.

Hematologické parametry **novorozených telat** (Tab. 19, 23 A; Graf 4) vykazovaly rozdílné hodnoty mezi skupinou pokusnou a kontrolní. Počet bílých krvinek skupiny (WBC) obou skupin se nacházel v rozmezí fyziologických hodnot. Avšak u kontrolní skupiny pozorujeme podlimitní hladiny erytrocytů, hemoglobinu, hematokritu, trombocytů a erytrocytárních indexů MCV z MCHC. Vlastnosti anemie pokusná skupina telat těsně po porodu nevykazuje. Rozdíl u červených krvinek ($P \leq 0.01$), hematokritu ($P \leq 0.01$), a MCV ($P \leq 0.05$) je statisticky signifikantní (Tab. 19, graf 4). Tento výsledek zobrazuje vliv suplementace vysokobřezích matek na hematologické parametry telat před napitím kolostra. Anemie u novorozených telat způsobuje nedostatečný sací reflex, instabilitu krevního oběhu, slabost, nechutenství, zpomalení růstu, náchylnost k infekcím (DIRKSEN *et al.*, 2006), což má v tomto věku často fatální následky a pro chovatele značnou finanční zátěž. Přímá lineární závislost mezi zinkem, mědí a hematologickými ukazateli, vyjádřená kladnou hodnotou korelačního koeficientu, kterou popisují různí autoři (ŠREJBEROVÁ, 2006; ŠREJBEROVÁ ET AL., 2008; KLECKOWSKI et al., 1995; BÍREŠ et al., 2000), může být důvodem pro průkazně vyšší

hodnoty hematologických ukazatelů skupiny telat dotovaných matek 3 týdny před porodem, které v době porodu nevykazovaly hypokupremii ani hypozinkemii (Tab. 43., 44., 52a). Účinky suplementace mědi na výskyt hypochromní anémie byly hodnoceny u dojnic 30 dní před porodem ve studii BÍREŠ et al. (2000), kdy 30 a 10 dní a.p. byla zvířatům injekčně aplikován přípravek Copperdep inj. v dávce 1 mg Cu/kg tělesné hmotnosti. Hladina mědi v séru se zvýšila 4. den po podání mědi až do 15. dne p.p. s významnými rozdíly mezi experimentální a kontrolní skupinou. Podávání mědi březím kravám s hypokupremií, sideropenií a hypochromní anémií vedlo ke zlepšení sérových hladin Cu, stejně jako Fe, a počtu erytrocytů, koncentrace hemoglobinu a hematokritu. Postupná obnova srsti a slizničních membrán u postižených krav byla pozorována od 20. dne po ošetření.

Hematologické parametry **krav v den porodu** (Tab. 20, 23 A; Graf 5), konkrétně hodnoty leukocytů, erytrocytů, hemoglobinu, střední korpuskulární objem erytrocytů kontrolní skupiny se nacházejí v referenčním rozmezí. Hodnota hematokritu a krevních destiček K-skupiny je podlimitní; hodnota HKT skupiny pokusné je v den porodu v normě (25,52 ± 1,33 % vs. 30,74 ± 1,59 %). Rozdíl je statisticky vysoce průkazný – HKT ($P \leq 0.001$); PLT ($P \leq 0.01$). Zároveň vykazuje pokusná skupina u hodnot – RBC, HGB, HKT, PLT signifikantně vyšší hladiny než skupina K, a to v následujících 90 dnech, tj. po celý zbytek experimentálního období. U kontrolní skupiny je hodnota průměrného množství hemoglobinu v erytrocytech (MCH) a střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytech (MCHC) ve srovnání s pokusnou skupinou vyšší. Tyto rozdíly nejsou statisticky významné. V kontextu s nízkou hodnotou hematokritu a hodnotami erytrocytů a hemoglobinu, nacházejícími se u spodní hranice referenčního intervalu v době okolo porodu je zjevné, že i v tento den vykazuje suplementace Zn-Met pozitivní výsledek. Studie KALAEVA et al. (2021) se pokusila predikovat náchylnost novorozených telat k bronchopneumonii na základě hematologických ukazatelů vysokobřezích matek. Zjistili, že změny minerálního složení krevního séra u březích krav způsobily poruchy krvetvorby u plodů a novorozených telat. Telata s výrazným nedostatkem mědi, přebytkem železa v krevním séru a predispozicí k rozvoji mikrocytární hypochromní anémie, která vznikla u krav s příznaky hypokuprémie, hypokobaltémie (nedostatku Cu a Co) a se známkami makrocytózy, by měla být zařazena do rizikové skupiny pro bronchopneumonii. Nerovnováha mezi hladinami steroidních hormonů v systému „matka-novorozené tele“ a fetoplacentární insuficiencí může způsobit pokles funkce imunitního systému a bariérové funkce sliznic v dýchacím traktu. Bylo navrženo koncepční schéma vztahu mezi krevními parametry matky a novorozeného telete a jeho role v rozvoji predispozice k bronchopneumonii u telat v novorozeneckém období.

Statisticky průkazné rozdíly mezi pokusnou a kontrolní skupinou hematologických parametrů **krav 30 dnů po porodu** (Tab. 21, 23 A; Graf 6), byly u hodnot RBC ($P \leq 0,05$), HGB ($P \leq 0,01$), HCT ($P \leq 0,01$) a PLT ($P \leq 0,05$). V tento den odběru byly všechny jmenované hodnoty

pokusné skupiny vyšší než u K-skupiny a odpovídaly fyziologickému rozmezí. Naproti tomu kontrolní skupina dosáhla u hemoglobinu, hematokritu a MCV příliš nízkých hodnot. Rozdíly hodnot erytrocytárních indexů mezi skupinami jsou statisticky významné, potřebné k rozlišení různých typů anemií. S dotací Zn související rozdíl připadá na hodnoty hematokritu ($P \leq 0{,}01$). U kontrolní skupiny se HCT dostal pod hranici referenčního minima (K: 26,17±1,8 %), naproti tomu HCT pokusné skupiny byl vyšší a v normě. Stejného výsledku dosáhl rozdíl v hodnotách PLT a MCV ($P \leq 0{,}05$). Tyto hodnoty se následující dva měsíce dále prohlubují a vyústí 90. experimentální den v anemii kontrolní skupiny. Počet bílých krvinek se u kontrolní skupiny nachází blízko hranice referenčního maxima ($P \leq 0{,}05$).

Šedesátý den po porodu se leukocyty K-skupiny klesá a vrací k normálu, pokusná zvířata setrvala na velmi podobné hodnotě minulého měsíce, ve srovnání s kontrolní skupinou vyšší ($P \leq 0{,}01$), obě skupiny dojnic se nacházejí ve fyziologickém intervalu (Tab. 22, 23 A; Graf 7). Tento výsledek potvrzuje KINAL *et al.* (2011). DOKE (2013) studoval vliv suplementace vitaminu E, zinku a mědi na imunologické parametry krav vysokobřezích indických krav Sahiwal po dobu 30 dní před porodem do 45. dne po porodu.Sledoval fagocytární aktivitu a lymfocytární proliferační odpověď *in vitro* u skupin dotovanýchjednotlivými nutrienty zvlášť, dále kumulativní efekt Cu, Zn a vitainu E skupiny čtvrté ve srovnání se skupinou kontrolní, která suplementovaná nebyla. Fagocytární index bílých krvinekskupiny suplementovaných zvířat vykazovaly signifikantně vyšších ($P < 0.01$) hodnot než skupina kontrolní. Maximálních hodnot dosáhla skupina dotovaná zinkem v obou periodách, před i po porodu. ŠREJBROVÁ (2006) zaznamenala mezi zinkem a počtem leukocytů statisticky významnou závislost (r = 0,238) u skotu bez tržní produkce mléka. Rozdíl v hodnotách hematokritu ($P \leq 0{,}01$) a počtu červených krvinek ($P \leq 0{,}001$) dosahuje statisticky vysoké signifikance a současně jsou HGB ($P \leq 0{,}05$) a PLT ($P \leq 0{,}05$) u P-skupiny průkazně vyšší. Statisticky průkazný meziskupinový rozdíl v našem experimentu vykazovaly dva měsíce po porodu i hodnoty MCH ($P \leq 0{,}001$) a MCHC ($P \leq 0{,}001$). Suplementovaná skupina dosahovala průkazně vyšších hodnot u RBC. HGB, HCT, PLT a WBC.

Vyhodnocením odběrů vzorků krve krav **devadesát dnů** (Tab. 23, 23 A; Graf 8), po porodu byly zjištěny následující meziskupinové rozdíly. Hematokrit se u obou skupin nacházel mimo referenční mez(K: 21.22±2.41 %; P: 22.32±1.97 %), u Zn-Met dotované skupiny byl přesto průkazně vyšší ($P \leq 0{,}01$). Hemoglobin se nacházel v normě u P-skupiny,skupina kontrolní se ocitala pod limitem (K: 8.86±1.37; P: 9.09±0,66 g/dl). Hodnota erytrocytů se tak stejně jako hematokrit nacházela u obou skupin pod referenčním minimem (K: 4.37±0.35; K: 4.41±0.52 mio/mm^3). Hodnota trombocytů byla v tento den v normě u obou skupin, pokusná skupina vykazovala vyšší hodnotu, bez průkazného rozdílu. Kompletní sestava všech parametrů naznačuje anemický stav zvířat, pravděpodobně související s výší mléčné produkce a stupněm laktace nebo deficiencí železa, příliš vysokou hladinou zinku, může se také vyskytnout nedostatek mědi či kobaltu, které se na krvetvorbě rovněž nezbytné,

může jejich nedostatek vést k aplastické anémii (DIRKSEN *et al.*, 2006). Příčinami anemie jsou krevní ztráty, destrukce erytrocytů nebo porucha krvetvorby (hematopoézy), pro niž jsou nezastupitelné: Fe k syntéze hemoglobinu, vitamín B_{12}, kyselina listová a kobalt k syntéze DNA, hormony, zvláště thyroxin a androgeny a dále vitamíny B_6, C, E a cytokin erythropoetin pro regulaci erytropoezy (klesá při onemocnění ledvin a jater) (KRČ, 2001). Biochemickým vyšetřením bylo zjištěno, že 90. den došlo k podlimitnímu snížení hormonu štítné žlázy, tetrajod-tyroxinu T_4 s klesajícím trendem dále ke 120. dni experimentu, což může mít souvislost s počínajícím anemickým projevem.

V rámci vyšetření minerálního profilu v této studii nebyla hladina železa stanovena, nicméně kompletní minerální status se v tento den nacházel v optimálním množství (Tab. 52a). Další příčinou anemie dojnic lze jmenovat anaplazmózu, která je spojena se sníženým procentem hematokritu a která rovněž vede k finančním ztrátám v důsledku výrazného poklesu produkce mléka, nechutenství a apatie zvířete v akutní fázi infekce (NIEDER *et al.*, 2012), tyto symptomy naše zvířata obou skupin nevykazovala. LOTFOLLAHZADEH *et al.* (2008) prokázali ve své studii snížené hodnoty parametrů RBC, HGB, MCH a MCHC u skotu infikovaného parazitem *Fasciola hepatica*, motolice jaterní. Toto onemocnění, typické pro pastevní typ chovu, je ale spjato například se snížením mléčné užitkovosti, hmotnosti narozených telat, špatná tělesná kondice a teprve v pokročilém stádiu nemoci se přidává chudokrevnost (DIRKSEN *et al*., 2006), což v našem chovu nebylo pozorováno.

Z celkových výsledků hematologického vyšetření pokusného období lze tvrdit, že suplementace krav organickou formou zinku má průkazný vliv na hematokrit a hladinu červených krvinek, neboť ode dne porodu po devadesátý den pokusného období vykazuje hematokrit pokusné skupiny vyšších hodnot ve srovnání s pokusnou skupinou, která se po celé experimentální období nachází pod limitem referenčního intervalu. V den porodu, 30., 60., i 90. den po porodu je rozdíl mezi oběma skupinami vysoce průkazný ($P \leq 0{,}01$). Podobně se projevily i hodnoty hemoglobinu a erytrocytů. Neboť se většina zinku v tělních tekutinách nachází v erytrocytech, předpokládá hypotéza tohoto pokusu pozitivní vlivsuplementace organického zinku na hematologické parametry převážně související s červenými krvinkami a krevními destičkami. Výsledky této experimentální části tuto hypotézu potvrzují. Přímá závislost mezi koncentrací zinku v krevním séru a hematologickými ukazateli byla podrobena korelační analýze. Byla zjištena přímá lineární závislost (r_{xy}) mezi hladinami zinku a hematokritu $r = 0{,}281$. Korelační koeficient mezi koncentrací zinku v séru a počtem erytrocytů byl zaznamenán v hodnotě $r = 0{,}210$, což je těsně nad stanovenou minimální hranicí $r = 0{,}2$. Přímou lineární závislost bylo možné pozorovat v případě vlivu koncentrace zinku na množstvíhemoglobinu $r = 0{,}465$. U ostatních hematologických parametrů byl korelační koeficient nižší než $r = 0{,}2$, tudíž nebyl potvrzen ani přímý ani nepřímý vztah. ŠREJBEROVÁ (2006) sledovala korelační závislost koncentrace zinku a mědi v krevní plasmě na hematologických parametrech ovcí a skotu. Došla k závěru, že přímé a nepřímé lineární závislosti byly zjištěny u skotu bez tržní produkce

mléka a méně u ovcí, a to převážně v případech, kdy se jedna z minerálních látek nachází v organismu v deficitu či nadbytku. KINCAID (1999) ve své studii vyhodnocoval rozdíly mezi metodami pro diagnostiku karencí mikroelementů u přežvýkavců a došel k závěru,že pro karenci zinku je vhodným indikátorem koncentrace metalothioneinu či množství erytrocytů v krvi, neboť se jejich hladiny při infekci téměř nemění. Dalšími indikátory saturace zinku jsou koncentrace zinku v lymfocytech, neutrofilech, granulocytech či krevních destičkách.

Hodnota hematokritu a hematologických parametrů obecně, závisí na mnoha faktorech – druhu a věku zvířete, plemenu, směru užitkovosti, masná plemena a býci například mívají hodnotu hematokritu vyšší než dojnice. Vysoká užitkovost a fáze laktace nebo roční období hematologické parametry rovněž ovlivňují, hematopoéza novorozených telat není těsně po porodu ještě dostatečně vyvinutá, pozorujeme zvýšený podíl retikulocytů v krvi, což má za následek zvýšení erytrocytárního indexu MCV. (ENGELHARDT *et* BREVES, 2000; KOVAČEVIĆ et al., 2021) Navíc je potřeba zohlednit zjištění, že existuje v rámci konkretního stáda tzv. variace mezi jedinci a variace v rámci samotného jedince. Intra-individuální rozdíly v odpovědi organismu na metabolický stres na počátku laktace skýtá možnost, že kromě referenčních intervalů založených na populaci, by mohly být v dlouhodobém režimu použity referenční hodnoty založené na sledování každého zvířete po určitou dobu za účelem hodnocení plasticity metabolismu (KOVAČEVIĆ et al., 2021).

Hodnota hemoglobinu je u krav pokusné skupiny v den porodu, 30., 60. i 90. den po porodu vyšší než u kontrolní skupiny, v den porodu a 60. den po porodu je rozdíl signifikantní.Počet erytrocytů jak u novorozených telat suplementované skupiny průkazně ($P \leq 0{,}001$) vyšší,stejně se vyvíjí hodnota červených krvinek u krav v den porodu ($P \leq 0{,}05$) a v prvním měsíci p.p. ($P \leq 0{,}05$). V dalších měsících je množství erytrocytů u pokusné skupiny vyšší, nicméně ne průkazně. Protože je zinek v krvi obsažen jako součást enzymů v erytrocytech, trombocytech a je vázán na albumin a globulin (UNDERWOOD *et* SUTTLE, 2010), měly by hodnoty hemoglobinu, hematokritu a počtu erytrocytů u suplementované skupiny být vyšší. Hodnota hematokritu vysoce kladně koreluje s koncentrací hemoglobinu (ŠOCH et al., 2002),což odpovídá i našim výsledkům, tyto dvě hodnoty odpovídají též situaci v organismu v konkrétním časovém období. Například 30. den po porodu byl u pokusné skupiny zjištěn signifikantně vyšší počet erytrocytů ($p \leq 0{,}05$), vyšší koncentrace hemoglobinu ($P \leq 0{,}01$) i hematokritu ($P \leq 0{,}01$). Vyšší hodnotu jsme zaznamenali i u koncentrace trombocytů pokusnéskupiny ($P \leq 0{,}05$). COPE *et al.* (2009) sledoval vliv dotace chelátu zinku na tytéž hematologické parametry krav jako náš experiment, neshledal ale mezi čtyřmi skupinami dotovaných po dobu 14 týdnů nízkou či NRC (2001) doporučenou dávkou zinku v organické aanorganické formě žádný prokazatelný rozdíl v počtu erytrocytů a leukocytů v krvi krav. KLECKOWSKI *et al.* (1995) ve své práci zachycuje negativní vliv nedostatečného zásobení organismu zinkem a mědí na počet červených krvinek, koncentraci hemoglobinu a hematokritovou hodnotu krav a telat. ŠOCH *et al.* (2010) se ve své práci

věnuje vztahům mezi mikroprvky a hematologickými parametry u krav. Dle experimentálních výsledků jejich pozorování závisí nejen koncentrace zinku a mědi v krevní plazmě, ale i odpovídající hematologické parametry kolísají v závislosti na nadmořské výšce, zdravotního stavu organismu, obsahu mikroelementů v krmné dávce, rase, věku, pohlaví zvířat a klimatických podmínkách chovu. Nepotvrzují předpoklad, že koncentrace hemoglobinu bude stoupat úměrnězvyšující se nadmořské výšce. Ve výšce 550 m n. m. byla naměřena nejvyšší koncentrace zinku i hemoglobinu v krvi krav plemene Holštýn.

BIOCHEMIE

Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky s hodnotou hladiny významnosti sledovaných jednotlivých biochemických parametrů jsou schematicky znázorněny do tabulek č. 24-53a a grafů č. 9-16 A. Byly testovány a vyhodnoceny hladiny celkové bílkoviny, albuminu, močoviny, glukózy, bilirubinu a enzymů GMT a ALP.

Koncentrace **celkové bílkoviny (CB)** (Tab. 24), jakožto širokospektrální indikátor pro bílkovinný a energetický metabolismus, zdravotní stav imunitního systému, jaterního a ledvinného parenchymu či např. zánětů v těle, efektivity mikrobiální proteosyntézy v bachoru či dostatečného zásobení energií pro močovinový cyklus (KRAFT a DÜRR, 2005; HOOPS, 2007), byly v krevním séru u obou skupin po celé experimentální období vyrovnané, nebyly zjištěny signifikantní rozdíly mezi skupinami. Nejnižší hodnota byla naměřena 21 dní před porodem, nejvyšší v den porodu a poté hodnoty obou skupin pomalu klesaly, což odpovídá fyziologickému průběhu tohoto parametru v období okolo porodu a prvních třech postpartálních měsících. Všechny hodnoty se nacházely v referenčním rozmezí (FÜRLL, 2005b). V literatuře je tento jev poklesu CB před otelením a poporodním nárůstu popisován tak, jak proběhl v tomto experimentu (FÜRLL et al., 1998b; TEUFEL, 1999; AEBERHARD et al. 2001) popsali pokles koncentrace bílkovin v týdnech před otelením, po kterém následovalo mírné zvýšení po otelení. CITIL (1999) popsal významné zvýšení koncentrace proteinu 3.-28. den p.p., což souhlasí s našimi daty, WILKEN (2004) naopak dva měsíce po otelení, u našich zvířat zůstává CB na vyšší úrovni a další 2 měsíce se ještě dále mírně zvyšuje. Nárůst celkového proteinu v séru po otelení je způsoben zvýšenou dietní a poporodní proteolýzou (FÜRLL 1989, TEUFEL 1999). Toto zvýšení se stává ještě výraznějším, čím vyšší je poporodní energetický deficit nebo mobilizace tuku (HOOPS, 2007; FÜRLL 1989).

Hladina **albuminu** (Tab. 25) vykazovala tak jako CB u obou skupin vyrovnané hodnoty v celém pokusném období. K nepatrnému navýšení koncentrace albuminu došlo v den porodu u skupiny-P. S ohledem na referenční rozmezí (30,3-42 g/l) dle JAGOŠE (1985), popř. (30-40 g/l) dle KRAFT et DÜRR, 2005) a fakt, že je zinek v krvi vázán na bílkoviny albumin a globulin, očekávali jsme vyšší rozdíl naměřených hodnot. Albumin představuje 50% z CB, jeho hlavní úlohou je urdržovat

hladinu kolloidosmotického tlaku a sloužit jako transportní protein (DIRKSEN et al., 2006). Během poporodního období je organismus vystaven extrémnímu vypětí, které má vliv na ukazatele CB a albuminu, BJERRE-HARPØTH (2012) uvádí, že tyto dva parametry jsou dále závislé na věku zvířete a ročním období. U starších kravbývají obě hodnoty vyšší, podobně v letním období. Propad hladiny albuminu v předporodních týdnech a návrat k původním hodnotám v následujících 2-6 týdnech po porodu je popisován u dalších autorů. Jejichž výsledky odpovídají našim měřením (ROWLANDS et al., 1980; GIBSON et al., 1987; BLUM et al., 1983; BUSATO et al., 2002; AEBERHARD et al., 2001; WILKEN, 2004). Pokles vysvětlují klesajícím příjmem krmiva a počínající tvorbou kolostra.

Koncentrace **močoviny** (Tab. 26) má v období před porodem klesající charakter, v denporodu se nachází na nejnižším bodě. Poté u obou skupin stoupá až po své experimentální maximum na konci pokusu, ve 120. den. Hladina močoviny v tuto chvíli u obou skupin nadlimitních hodnot, což může souviset s vysokým obsahem dusíkatých látek v krmné dávce dojnic. Při prvním odběru 21 dní a.p. a 30 dní p.p. dochází k signifikantnímu zvýšení hladiny močoviny u dotované P-skupiny ($P \leq 0,05$). Poslední 3 měsíce je UREA naopak vyšší u skupiny kontrolní. SPEARS (1989) popisuje u jalovic dotovaných organickým Zn-Met pokles močoviny, odlišný výsledek lze spojit s diferencemi TMR jalovic. Pokles koncentrace močoviny SPEARS (1989) zdůvodňuje vyšší utilizací aminokyselin pro syntézu proteinu. WILKEN (2004) shrnul své výsledky u krav podobně jako v aktuálním experimentu, kdy k poklesu močoviny došlo okolo porodu a následné měsíce laktace provázelo navyšování hladiny UREY. Močovina je produktem ornithinovém cyklu v játrech, kde se amoniak eliminuje, fixuje a vrací v pro organismus využitelné formě. Tento parametr v séru posuzuje přísun bílkovin a poměr energie-protein v TMR. Zvýšené koncentrace močoviny jsou způsobeny zvýšeným příjmem bílkovin s krmivem, zvýšeným katabolickým metabolismem a pre-, renálními nebo postrenálními poruchami. Snížené koncentrace močoviny ukazují na nedostatek bílkovin v krmivu a snížený příjem krmiva v důsledku celkových onemocnění (DIRKSEN, 2006; ENGELHARDT W. *et* BREVES G., 2000; KRAFT a DÜRR, 2005; HOOPS, 2007; STANGL G. I., 2008). Výše hladiny UREY souvisí i s věkem (BLUM et al., 1983), počet laktací ji dle AEBERHARDT et al. (2001) neovlivňuje .

Koncentrace **glukózy** (Tab. 27) se mění dle stádia laktace, což potvrzuje ve své studii s holštýnskými dojnicemi BJERRE-HARPØTH (2012) a COPE (2009). V tomto experimentu byla hladina glukózy po celé období ve fyziologickém rozmezí. Na konci experimentu, 120 dnípo porodu, byla její koncentrace u K-skupiny (3,19±0,03 mmol/l) průkazně vyšší ($P \leq 0,01$) než u skupiny-P (3,13±0,04 mmol/l). Hladina glukózy se nacházela 21 d a.p. a v den porodu v nadlimitních oblastech, 60. dní p.p. naopak na svém minimu, poté se ustaluje ve fyziologickém optimu. U obou skupin je popsaný trend stejný. Glukóza je prekurzorem fruktózy a laktózy, je nezbytným zdrojem energie buněk a je tvořena v játrech z kyseliny propionové a mléčné, glykogenu, glycerolu a glokoplastických aminokyselin (JELÍNEK a KOUDELA *et al.*, 2003). Hodnota glukózy je ukazatelem schopnosti

organismu vytvořit a udržet rovnováhu mezi příjmem energie a výší produkce, aniž by docházelo k negativní energetické bilanci, typickému produkčnímu onemocnění vysokoprodukčních dojnic v prvníchměsících laktace (ENGELHARDT W. *et* BREVES G., 2000; SPIEKERS *et al*., 2009).

Vývoj hladin **bilirubinu** (Tab. 28) je obdobný jako u parametrů CB a albuminu, tedy pokles v předporodním období, v den porodu na svém maximu a v první třetině laktace opět klesající trend. 30. a 60. den po porodu dochází u P-skupiny k signifikantnímu zvýšení ($P \leq 0,05$) hladiny bilirubinu oproti skupině kontrolní. Ve čtvrtém měsíci laktace se hladina bilirubinu průkazně snížila u skupiny pokusné ($P \leq 0,05$). Hodnoty bilirubinu se pohybovaly ve fyziologických intervalech (≤5.0 μmol/l), pouze v den porodu smí být zvýšeny do maxima 8,5 μmol/l (KRAFT *et* DÜRR, 2005) což v našem případě odpovídalo referenčním hodnotám. Příliš vysoké hodnoty bilirubinu v postpartálním období do 12. týdne po porodu zveřejnil (VAN DEN TOP *et al.*, 1996), který oproti našemu experimentu sledoval vývoj steatózy jater u přetučnělých krav, které měly adlibitní přístup k jadernému krmivu v období stání na sucho. Koncentrace bilirubinu do 15 μmol/l lze považovat za tzv. inanční žloutenku. Celkové koncentrace bilirubinu v krvi jsou obecně mírně vyšší u krav kolem porodu než u nebřezích a nelaktujících krav. Krávy, které jsou před porodem krmeny vysokoenergeticky, vykazují zvýšené koncentrace bilirubinu zvláště často 1-4 týdny po porodu (FÜRLL 1989). Již třetí den po porodu vykazovaly krávy s pozdější doslokací slezu významně vyšší koncentrace bilirubinu po dobu 17 dnů p.p. než zdravé krávy (KLEISER a FÜRLL 1998).

Dále byla zvýšená pozornost věnována **jaterním enzymům**, jichž je zinek součástí. Středem našeho zájmu byly enzymy AST (Tab. 29), GMT (Tab. 30) a ALP (Tab. 31). Z dřívějších studií posledních let je známo, že existuje přímá pozitivní korelace (r = 0,32) mezi zinkem a alkalickou fosfatázou (ALP), jíž je zinek součástí (ILLEK, 1987). V našem experimentu byla zjištěna pozitivní lineární závislost mezi zinkem a aktivitou alkalické fosfatázy (ALP) r = 0,273.Signifikantního rozdílu ale skupiny nedosahují. Hodnoty aktivity ALP (tab. 31) byly nejnižší 21 dní před porodem, k 60. dni po porodu měly stoupající tendenci, kdy dosáhly obě skupiny svého maxima a poté opět mírně klesaly. U prvních tří měření dosáhla pokusná skupina vyšších hodnot než skupina kontrolní, ve druhé polovině pokusného období se trend obrátil ve prospěch skupiny kontrolní, rozdíly byly minimální. Po celé experimentální období seaktivita ALP pohybovala ve vyrovnaných hladinách, směrodatné odchylky vykazují mírné rozdíly mezi jednotlivými pokusnými zvířaty. Hodnoty AST a GMT jsou taktéž vyrovnané u obou skupin jako u enzymu ALP, jejich hodnotyjsou téměř po celé pokusné období nepatrně vyšší u skupiny kontrolní. Hodnota AST (Tab. 29) obou skupin dosahovala od 21. dne a.p. po 120. den p.p. nad referenční horní hranicí 1,334 μkat/l (KRAFT *et* DÜRR, 2005, za fyziologických stavů se hodnoty jaterních enzymů pohybujína nízké úrovni (JAGOŠ *et al*., 1985). Kontrolní skupina dosahovala vyšších hodnot po celé období kromě 60. dne po porodu. Poslední odběr 4 měsíce po porodu byla zjištěna statisticky průkazně ($P \leq 0,05$) vyšší hodnota AST u skupiny kontrolní (1,48±0,06 vs. 1,43±0,05 μkat/l). Aktivita jednotlivých enzymů jevyužívána v diagnostice jaterních onemocnění,

dále v menší míře u osteopatií a myopatií (DIRKSEN et al., 2006).V postpartálním období nedošlo u žádného z pokusných zvířat k hypofosfatemickému / hypokalcemickému ulehnutí, jehož důsledkem je zvýšení aktivity enzymu AST ve svalech. Ke statisticky významnému rozdílu dochází u aktivity GMT (Tab. 30) v den porodu ($P \leq 0{,}01$) (Tab. 37 A). Minima dosahují všechny 3 enzymy ALP, AST a GMT před porodem, maxima 60.den p.p. Je potřeba zohlednit vysoký výkon jaterního parenchymu v období rané laktace vysokoprodukčních dojnic. Tudíž vyšší hodnoty jaterních enzymů nemusí vždy znamenat pozitivní výsledek, naopak může tento trend signalizovat silnou zátěž látkové výměny organismu během rozdojování a celé první třetiny laktace. VAN DEN TOP *et al.* (1996) pozoruje ve svém experimentu srovnatelných hodnot alkalické fosfatázy krav ve fázi rané laktace jako v našem pokusu, jeho klesající trend odpovídá našim výsledkům. Nárůst aktivity enzymu AST po otelení vysvětluje (FÜRLL 1989) buď poškozením jater nebo remodelací karunkul a odbouráváním tkání během děložní involuce a degradací svalových buněk v rámci mobilizace endogenních energetických rezerv. WILKEN (2004) popisuje souvislost mezi zvýšením AST a vysokou produkcí mléka jeden týden p.p. u krav s užitkovostí nad 8tis. Kg mléka za rok. TEUFEL (1999) potvrzuje naše výsledky, kdy jeho zvířata vykazovala 2 týdny p.p. vyšší aktivity AST než 4 týdny p.p. Podobné výsledky s našim průběhem jaterních enzymů zaznamenali u AST AEBERHARD et al. (2001), minima dosáhli 2 týdny a.p., nejvyšší aktivitu pozorovali ve 12. týdnu p.p.

Hormon štítné žlázy T4 dosahoval v době okolo porodu své nejvyšší hodnoty, u kontrolní skupiny signifikantně vyšší hodnoty ($P \leq 0{,}05$), poté začíná u obou skupin klesat až k 60. dni p.p., kde se opět objevuje průkazný ($P \leq 0{,}05$) meziskupinový rozdíl, tentokrát naopak u P-skupiny s vyšší hodnotou, do tohoto okamžiku v rámci fyziologického rozpětí. 90. a 120. den byly u obou skupin naměřeny podlimitní hodnoty, skupina P-dosahovala mírně vyšších hodnot, nicméně 120. den se obě skupiny již znatelně vzdálily referenčnímu minimu. V této době vykazují obě skupiny známky anemie, oba parametry spolu souvisí, jak bylo popsáno v kapitole HEMATOLOGIE. Interakce stopových prvků s jinými minerály, enzymy, hormony jsou předmětem zájmu mnoha studií. Je známo, že vápník (Ca) interaguje s membránou červených krvinek, snižuje permeabilitu a zvyšuje retenci hemoglobinu. Zdá se, že zinek jako odpůrce vápníku působí proti zadržování hemoglobinu v membráně erytrocytů. Ca může hrát důležitou roli v patogenezi nevratně srpkovitých buněk, zinek může zlepšit filtrovatelnost srpkovitých buněk (DASH et al. 1974). Metabolismus zinku a hormonů štítné žlázy tyroxinu T3, T4 a hormonu stimulujícího štítnou žlázu (TSH) jsou úzce propojeny (TRIGGIANI *et al.*, 2009; AMBOOKEN *et al.*, 2013). Zinek je dalším prvkem, který je potřebný pro syntézu hormonů štítné žlázy. Nedostatek zinku může vést k hypotyreóze a protože hormony štítné žlázy jsou nutné pro vstřebávání zinku, hypotyreóza může vést k nedostatku zinku. Během suplementace hormonů štítné žlázy je výhodné užívat také doplněk zinku (CHEN *et al.*, 2010). Tvorba nerozpustných komplexů s vápníkem, vlákninou a fytáty výrazně snižuje střevní absorpci zinku. Ve srovnání s hladinou zinku v

plazmě nebo v séru existují další tkáně, kde je koncentrace zinku spolehlivějším indikátorem chronického nedostatku zinku, jako jsou vlasy, játra nebo kostní tkáň (GUDE, 2011). Zdá se pravděpodobné, že zinek je nezbytný pro biologické fungování hormonu štítné žlázy a příbuzných receptorů. Aktivní forma tyroxinu - T3 může být iniciována právě vazbou na T3-receptor obsahující dva atomy zinku v jádru jeho cílové tkáně. Receptory T3 ztrácejí svou schopnost vázat se na DNA, když je zinek odstraněn chelací (FREAKE *et al.*, 2001; MIYAMOTO *et al.*, 1991).

YOKUS a CAKIR (2006) referovali o sezónních a fyziologických variacích mědi, zinku, hořčíku (Mg), železa (Fe), sodíku (Na), chloru (Cl), draslíku (K), vápníku (Ca), fosforu (P), koncentrace močoviny, ALP, kreatininu, AST, ALT, cholesterolu, albuminu, globulinu, laktátdehydrogenázy (LDH) a celkového proteinu (CB) u skotu. Vyhodnotili, že některé parametry se liší podle fyziologických a sezónních podmínek, jako jsou koncentrace ALP, Cu, Mg a K, koncentrace Cu se zvyšuje během těhotenství, jiné parametry nejsou ovlivněny sezónními ani fyziologickými odchylkami (Zn, Fe, Na, Cl, Ca, kreatininu, albuminu a globulinu).

MINERÁLY

U krav byly sledovány mikroprvky zinek (Zn), měď (Cu), mangan (Mn) a selen (Se) v souvislosti s makroprvky sodíkem (Na), draslíkem (K), vápníkem (Ca), fosforem (P) a hořčíkem (Mg) 21 dní a.p., během porodního období a prvních čtyř měsíců laktace. Výsledky analýz jsou shrnuty do tabulek č. 38-52a a grafů17-25.

21. den před porodem (tab. 47, 52 A) nebyl mezi skupinou pokusnou a kontrolní zjištěn **žádný rozdíl** u sledovaných minerálních prvků a všechny hodnoty kromě zinku se nacházely **ve fyziologickém rozmezí**. Průměrné hodnoty a jejich směrodatné odchylky potvrzují vyrovnanou zásobenost zvířat obou skupin minerálními látkami na začátku pokusného období. Koncentrace Zn okolo porodu klesá (ILLEK, 1987; FÜRLL, 1989), což souvisí s minerálním zásobením kolostra. Obsah Zn v kolostru je ve srovnání s obsahem v mléce 3-5x vyšší (UNDERWOOD et SUTTLE, 1999). Naopak vstřebávání zinku je zhoršeno při vysokém obsahu vápníku v TMR a může souviset s intenzivním zásobováním vysokobřezích krav vápníkem a fosforem v předporodním období jako prevence proti porodní paréze (DIRKSEN et al., 2006; HOOPS, 2007). Po třech týdnech, v době **porodu**, (Tab. 52a, 48, 21, 22) suplementace byl zjištěn statisticky významné zvýšení koncentrace zinku u Zn-Met dotované skupiny, u kontrolní skupiny došlo k dalšímu poklesu, což vyústilo do signifikantního rozdílu ($P \leq 0{,}01$) v tento den. I u hořčíku pozorujeme v krevním séru rozdíl mezi skupinami. Oproti kontrolní skupině se koncentrace hořčíku zvýšila se signifikantním rozdílem ($P \leq 0{,}05$), tento jev potvrzuje z literatury známou pozitivní korelaci mezi zinkem a hořčíkem, experimentálně stanovenou v našem případě na r = 0,579. Přímá lineární závislost zinku a hořčíku bylav minulosti již potvrzena (r = 0,46) (ILLEK, 1987). **30 dní p.p.** (Tab. 49, 52a) se objevuje významné snížení hladiny draslíku (*P*

≤0.01) a manganu ($P \leq 0{,}05$) a v ý z n a m n é zvýšení ($P \leq 0.001$) koncentrace zinku v krevním séru suplementované skupiny. **60 dní p.p**. (Tab. 50) je jako jediný minerální prvek prokazatelně vyšší zinek se statistickou významností $P \leq 0{,}001$. Po **90 dnech** (Tab. 51, 52a) od porodu se objevují tři statisticky významné rozdíly v koncentraci zinku ($P \leq 0{,}001$), fosforu ($P \leq 0{,}05$) a manganu ($P \leq 0{,}001$). Při posledním odběru na konci **4. měsíce laktace** (Tab. 52) bylo zjištěno prokazatelné zvýšení hladiny zinku ($P \leq 0{,}001$) a snížení koncentrace vápníku ($P \leq 0{,}05$) u skupiny dotované organickou sloučeninou zinku, tedy u dvou minerálních látek se známým antagonistickým vztahem, který ve své studii potvrzuje ILLEK (1987) nepřímou lineární závislostí r = 0,23. Významné rozdíly v koncentracích **zinku** (Tab. 43, Graf 22) v krevním séru krav dotovaných organickouformou zinku byly zjištěny v období od porodu do 120. dne po porodu (Tab. 52). V den porodudosáhla koncentrace zinku hodnot 11,09±0,80 µmol/l u pokusné skupiny ve srovnánís kontrolní skupinou 9,56±0,92 µmol/l ($P \leq 0{,}01$). 30. den po porodu statisticky významné zvýšení hladiny zinku pokusné skupiny dosáhlo hodnot 13,34±0,78 µmol/l, ve stejný den byla hladina zinku kontrolní skupiny prokazatelně nižší ($P \leq 0{,}001$) 11,21±1,21 µmol/l. Ve **druhém měsíci** laktace byl zinek v krevním séru suplementované skupiny opět vysoce významně vyšší ($P \leq 0{,}001$) ve srovnání s kontrolní skupinou. **90. a 120. den** po porodu dosahuje statistická významnost zvýšení koncentrace zinku v krevním séru pokusné skupiny stejné hodnoty $P \leq 0{,}001$. Ve třetím měsíci po porodu je hladina zinku suplementované skupiny na hodnotě 14,76±0,91 µmol/l a kontrolní skupiny opět pod fyziologickým minimem, na 11,02±1,13 µmol/l. Ve čtvrtém měsíci laktace dosahuje koncentrace zinku nejvyšších hodnot za celé pokusné období u suplementované skupiny (15,15±0,89 µmol/l), u kontrolní skupiny se hladina zinku vrací na stejnou hladinu jako 21 dní před porodem (10,70±1,04 µmol/l). Směrodatné odchylky ukazují,že hodnoty jednotlivých krav pokusné skupiny mají menší rozptyl než skupina kontrolní. Skupina suplementovaná Zn-Met dosahuje nejnižších hodnot zinku v krevním séru v den porodu, poté dochází ke kontinuálnímu zvyšování koncentrace zinku až do posledního odběru krve 120. den po porodu. Kontrolní skupina vykazuje pokles koncentrace zinku v den porodu oproti 21. dni před porodem, v dalších dvou měsících množství zinku v krevním séru stoupá, poté dochází opět k poklesu na téměř totožnou hodnotu s prvním pokusným odběrem 21 dní a.p. Tento vývoj odpovídá fyziologickému chování koncentrace zinku v období okolo porodu. Pokles směrem k porodu a následný vzestup pozorujeme u antagonisty zinku – mědi (ILLEK, 1987; ILLEK 2000, KRAFT *et* DÜRR, 2005). U zinku dosahuje u krav v rané laktaci stejných výsledků, jako tomu bylo v našem případě autor BALLANTINE *et al.* (2002), který taktéž suplementuje krávy organickou formou zinku v kombinaci s manganem a mědí. Autorka popisuje výše zmíněný trend poklesu a následného zvýšení koncentrace zinku a opačný trend u mědi s negativní hodnotou korelačního koeficientu.V našem případě byl vyhodnocen korelační koeficient závislosti těchto dvou minerálních prvků r = - 0,566 se známým antagonistickým vztahem (ILLEK, 1987; UNDERWOOD et SUTTLE,2010). ILLEK (1987) uvádí

nepřímý vztah mikroprvků Zn:Cu u býků v žíru r = - 0,42, u dojnic dosahuje korelační koeficient hodnoty r = 0,23. Koncentrace zinku v krevní plasmě se u přežvýkavců při nedostatku zinku v krmné dávce během 36 hodin snižují. U Zn – deficitních ovcí dotovaných ZnO se koncentrace zinku v séru zvýšila z 0,44 na 0,78 µg/l. Koncentrace zinku v krvi dojnic souvisí se stářím zvířat, mírou stresové zátěže a utilizaci mikroprvku (KINCAID, 1999).

Koncentrace ostatních makro – a mikroprvků **sodíku, mědi a selenu** nevykazovaly během celého experimentálního období žádné statisticky významné rozdíly. Charakteristický vývoj koncentrací mědi v peripartálním období krav s typickým poklesem okolo porodu a následné zvýšení bylo s výraznějším poklesem a vzrůstem koncentrací pozorováno u pokusné skupiny, skupina kontrolní měla mírnější průběh. Byl zjištěna nepřímá lineární závislost mezi mědí a zinkem r = - 0,531. Negativní korelaci Cu:Zn potvrzuje údaj studie ILLKA (1987) u býků v žíru. Koncentrace **fosforu** byla minimální v den porodu, nicméně statisticky průkazně nižší ($P \leq 0,01$) u skupiny pokusné 90. den po porodu (Tab. 41). Tentýž den došlo k vysoce průkaznému rozdílu ($P \leq 0,001$) i u **manganu**, kdy kontrolní skupina dosáhla vyšších hodnot (10,12±1,08 vs. 8,55±0,59 µg/l) než kontrolní skupina (Tab. 45). Statisticky výrazného zvýšení koncentrace **draslíku** dosáhla kontrolní skupina oproti skupině pokusné 30. den po porodu (4,52±0,13 vs. 4,36±0,09 mmol/l),$P \leq 0,001$. Koncentrace **vápníku** v krevním séru krav se až do posledního odběru u pokusné skupiny od kontrolní nelišil, 120. den p.p. se objevilo statisticky průkazné ($P \leq 0,05$) zvýšení ukontrolní skupiny (2,40±0,03 mmol/l), pokusná skupina měla v krevním séru nepatrně nižší hladinu Ca (2,37±0,03 mmol/l). Korelační koeficient vztahu Zn:Ca byl r= -0,231. Nepřímý vztah těchto dvou antagonisticky působících minerálních látek dokládá ve svých měřeních ILLEK (1987) korelačním koeficientem r= -0,36 ($P \leq 0,01$). GARG et al. (2008) studoval vliv dvou různých zdrojů zinku (organického Zn-Met a anorganického $ZnSO_4$) u jehňat po dobu 150 dnů na růst, utilizaci živin a minerální profil a došel ke srovnatelným výsledkům jako v tomto experimentu: koncentrace Ca, anorganického P, Cu a Mn v séru byla srovnatelná ($P>0,05$) mezi skupinami. Hladina Zn v séru však byla významně ($P<0,01$) vyšší a hladina železa významně ($P<0,05$) nižší v obou skupinách suplementovaných Zn ve srovnání s jehňaty v kontrolní skupině.

5.3 Pokus II. – vliv složení krmné dávky na biochemické parametry, koncentraci celkových imunoglobulinů, mědi a zinku v krvi TELAT

Cílem pokusu bylo komplexní zhodnocení zdravotního stavu telat s ohledem na suplementaci organickou formou zinku. Zhodnocení zdravotního stavu testovaných skupin telat bylo provedeno pomocí biochemických vyšetření a reakcí imunologických parametrů. Pomocí změn sledovaných biochemických parametrů – celkové bílkoviny, močoviny, albuminu, jaterních enzymů ALP, SOD, vitaminu A a E, mikroprvků Zn a Cu a koncentrace celkových imunoglobulinů v krvi telat byl posouzen celkový zdravotní stav organismu, schopnost imunitního systému a výsledná koncentrace zinku a mědi po suplementaci organickým zinkem,tak jako vzájemná korelace mezi dotovaným zinkem a enzymem SOD, popř. ALP. Výsledky jsou shrnuty v tabulce **53** a grafech **26-35**.

Enzym **SOD** (Graf 30) dosáhl vysoce signifikantního zvýšení své aktivity u pokusné skupiny 7.den ($P \leq 0{,}01$), (P: 487,92±22,87; K: 456,39±28,67 U/l) a 90. den ($P \leq 0{,}003$), (P: 471,26±29,69; K: 426,10±33,55 U/l). Zinek je součástí enzymu superoxiddismutáza, při suplementaci zinku ke krmné dávce se její aktivita zvyšuje. GENTHER *et* HANSEN (2014) uvádí obdobný efekt suplementace kombinace mikroprvků Cu, Zn, Mn, Se na aktivitu SODv krvi býků. Korelační koeficient má v našem experimentu kladnou hodnotu r = 0,394, což potvrzuje přímou lineární závislost Zn:SOD. TEIXEIRA *et al.* (2014) se zabývá vlivem kombinované dotace mikrominerálních prvků v podobě subkutánní injekce zinku v organické formě zinek methionin (60 mg), manganu (10 mg), selenu (5 mg) a mědi (15 mg) na imunitu, zdravotní stav, hmotnostní přírůstky telat na mléčné výživě. 790 jaloviček holštýnského plemene dvou komerčních farem bylo rozděleno do dvou skupin – suplementované a kontrolní a pomocí vyhodnocení krevních vzorků byly 3., 14. a 35. den po porodu posuzovány parametry zdravotního stavu – aktivita dvou enzymů, superoxiddismutáza (SOD), jako v našem případě, dále glutathionperoxidáza (GPx) a funkce bílých krvinek monocytů a neutrofilů. Autoři neprokázali vliv zinku na rozdíl aktivitu enzymu **SOD** a denní hmotnostní přírůstky telat, nicméně suplementace organicky vázaného zinku ovlivnila zvýšení počtu neutrofilů v krvi, aktivitu GPx a byla prokazatelně snížena incidence průjmových onemocnění a pneumonie telat, což potvrzuje hypotézu opozitivním vlivu dotace zinku na funkci **imunitního systému**, což má obrovský hospodářský význam v chovech skotu.

Vlivem dotace mikrominerálních látek na aktivitu enzymu mangan superoxiddismutáza (MnSOD) se zabývá studie GENTHER a HANSEN (2014) u býků. Kombinace minerální suplementace byla aplikována subkutánně pro 84denní experimentální období ve složení 15 mg Cu, 60 mg Zn, 5 mg Se a 10 mg Mn v 1 ml preparátu Miltimin90 pokusné skupině, přičemž kontrolní skupina byla ponechána své původní mírné deficienci. Aktivita SOD byla testována lysáty červených krvinek a v jaterním bioptátu. U suplementovanéskupiny se projevila statisticky

průkazně vyšší aktivita SOD. Antioxidanty zinek a měď hrají zásadní úlohu v procesech pasivní obrany organismu při poškozování tkání oxidačním stresem. Produkcí enzymů jako např. superoxiddismutáza (Cu-Zn-SOD) jsou fagocyty schopny zabraňovat poškození buněk štěpením superoxidů na peroxid vodíku, čímž usmrcují pohlcené mikroorganismy a další buňky škodlivé pro organismus. Pro tento proces je enzym Cu-Zn-SOD naprosto nezbytný. Při karenci zinku a mědi je tato část pasivní imunity hůře uskutečnitelná (ILLEK 1987, PIDDINGTON *et al* 2001, NOHL 1981).

Koncentrace **mědi** u pokusné skupiny bylo prokazatelně vyšší 7. den, nicméně 90. denbližší než u kontrolní skupiny, 90. den byl rozdíl koncentrací statisticky průkazný ($P \leq 0,05$), (Tab.53, Graf 33). **Zinek** (Tab.53, Graf 34) v organické formě podávaný skupině pokusné dosáhl statisticky průkazných rozdílův obou sledovaných obdobích. 7. den ($P \leq 0,05$) dosáhl zinek v krevním séru u pokusné skupinyhladiny 15,36±0,83 µmol/l, u kontrolní skupiny 13,74±1,16 µmol/l. 90. den dosáhla statistickáprůkaznost vyšší hodnoty ($P \leq 0,005$), (P: 14,27±1,16; K: 11,25±2,52 µmol/l). Kontrolní skupinase po 90 dnech dostala do karenčního stavu Zn. WRIGHTT *et* SPEARS (2004) konstatují obdobný výsledek jako je náš případ, že koncentrace zinku v krevní plazmě a v jaterní tkáni byla vyšší u telat, která byla suplementována organicky vázaným zinkem v dávce 300 mg Zn/kg TMR v kombinaci zinek methionin a zinek lyzin než u telat dotovaných anorganicky vázanýmoxidem zinečnatým.

Vitamín E (Tab.53, Graf 32) dosáhl podobných výsledků jako u koncentrace zinku v krvi telat (tab. 69). 7. den i 90. den byla koncentrace vitaminu E u pokusné skupiny vyšší, nicméně bez statistické průkaznosti. Koncentrace **vitaminu A** byly v obou testovaných obdobích vyšší u kontrolní skupiny, opět bez průkazného rozdílu (Tab. 53. Graf 31).

Vyšší hodnota **celkové bílkoviny** (CB) u skupiny pokusné 90. den (Tab.53, Graf 26), ($P \leq 0,05$) dokládá pozitivní vliv suplementace zinku. Na začátku pokusu se hodnoty obou skupin pohybovaly pod hranicí fyziologického minima. 90. den již byla u obou skupin v intervalu referenčních hodnot. Novorozená a mladá telata mají často nízké hodnoty CB okolo 50 g/l, normoproteinemie nastává ve 3-4. mesíci věku. V případě, že by i v tomto věku či později telata nedosahovala fyziologických hodnot, lze brát v úvahu nedostatek bílkovin v krmné dávce jako příčinu hypoproteinemie, poruchy utilizace proteinů, patologické stavy ledvin či jater (ILLEK, 1987; KOVÁČ et al., 2001).

Zvýšená aktivita **ALP** vysoko nad hodnotami referenčního rozmezí se v tomto věku telat považuje za fyziologický jev (KRAFT, DÜRR, 2005), hodnoty ALP mohou dosahovat dvojnásobku. 90. den pokusného období dosahuje pokusná skupina vyššího poklesu nežskupina

kontrolní (Graf 29), $P \leq 0{,}01$. V období osteosyntézy u mláďat stoupá hladina ALP (DIRKSEN *et al.*, 2006), silnější pokles potvrzuje vliv suplementace zinku pokusné skupiny. Stejný vliv dotace zinku mladým jalovicím pozoruje ve své studii MAHLKOW-NERGE *et al.* (2005) a SPEARS (1989). WINDISCH (2003) sleduje snížení aktivity ALP u krav při dotaciorganického zinku, i když ji NRC (2001) jako indikátor vlivu Zn nedoporučuje. Pozitivní korelace ve studii ILLKA (1987) r=0,32 u telat naopak vyvrací teorii NRC (2001).

U **močoviny** (Graf 28) dochází k signifikantnímu meziskupinovému rozdílu 90. den (P: 2,92±0,30 vs. K: 2,48±0,21 mmol/l). Obě skupiny 7. den pokusu se pohybují na stejné hladině močoviny bez statistického rozdílu, na konci pokusu dochází u skupiny kontrolní k poklesu močoviny pod spodní hranici referenčních hodnot. Důvodem může být nedostatek dusíkatých látek v krmné dávce či vyšší spotřeba aminokyselin pro syntézu proteinu (DIRKSEN *et al.*, 2006).

Koncentrace **celkových imunoglobulinů** (Graf 35), stanovené turbidimetrickoumetodou, v krevním séru telat po odstavu na rostlinné výživě úzce koreluje s koncentrací imunoglobulinů třídy IgG. Výsledky obou dnů odběru prokázaly pozitivní vliv suplementace zinku. 7. den byly hodnoty imunoglobulinů v krevním séru telat u pokusné skupiny statisticky vysoce významně ($P \leq 0{,}00000001$) vyšší (14,51±1,08 vs. 7,46±0,69 μmol/l), 90. den taktéžs menším rozdílem mezi skupinami, rozdíl byl také signifikantní ($P \leq 0{,}05$), (22,77±3,97 vs. 24,31±1,70 μmol/l). Autoři KINCAID *et al.* (1997) a SPEARS *et* KEGGLEY (2002 a) nepotvrzují pozitivní vliv zinku na humorální imunitu telat. Argumentují možnými infekčními vlivy zvyšujícími koncentraci imunoglobulinů v krevním séru, tudíž by bylo nutné sledovat i další parametry jako cytotoxickou aktivitu fagocytární aktivity neutrofilů. Tou se zabývala ŠENKÝŘOVÁ (2006) a Dochází k závěru, že koncentrace mědi a zinku u skotu a ovcí lze dátdo souvislosti s dostatečnou zásobeností organismu mikroprvky Cu a Zn. Potvrzuje, že se negativní vliv karence Zn a Cu na humorální imunitu projevuje spíše u zvířat s nedostatkem mikroprvků v organismu. Hodnoty koncentrace **albuminu** (Graf 27), na který je zinek pevně vázán (ILLEK, 1987) potvrzují pozitivní vliv dotace Zn u pokusné skupiny 90. den s vysoce průkazným rozdílem $P \leq 0{,}001$ (P: 35,95±1,40 vs. K: 32,72±1,05 g/l). KENDALL (2012) sledoval vliv suplementace zinku, kobaltu a selenu na humorální imunitu rostoucích pasoucích se jehňat. Jeho výsledky jsou velmi podobné našim výstupům. Prokázal při obou experimentálních odběrech po 42 ($P < 0.05$) a 63 ($P < 0.01$) dnech prokazatelně zvýšenou koncentraci zinku v krevní plasmě a zvýšení koncentrace imunoglobulinů třídy IgG ve srovnání s kontrolní skupinou se stejnou signifikancí. Efekt dotace organicky a anorganicky vázaného zinku krmné dávky ovcí na imunitní odpověď pozoroval i VILELA *et al.* (2012) a potvrdil pozitivní vliv organicky vázaného zinku na koncentraci imunoglobulinů třídy IgG a IgM.

6 ZÁVĚR

V rámci disertační práce byl sledován vliv složení směsné krmné dávky na charakteristiky minerálních látek v krvi krav a telat a vliv suplementace organické formy zinkuna mléčnou užitkovost krav, zdravotní stav krav a telat, jejich hematologický, biochemický a minerální profil.

Z dostupné literatury je známo, že dostatečný obsah mikroprvků v krmné dávcezpůsobuje nasycenost organismu mikroelementy v tkáních, krvi a mléce a tím pozitivněovlivňuje užitkovost krav. Bylo potvrzeno, že suplementace zinku v organické formě zinek methionin v doporučené dávce (NRC 2001) má výrazně pozitivní vliv na průměrnou denní dojivost, mléčné komponenty, jako mléčný tuk a mléčný protein, a počet somatických buněk (SCC) dojnic na počátku laktace. Dojivost suplementované skupiny byla ve všech experimentálních měsících vyšší než u kontrolní skupiny, 60. den byla laktace P-skupiny
o více než 2 litry mléka vyšší ($P \leq 0,05$), po třech měsících na vrcholu laktace dokonce o více než 3 litry mléka ($P \leq 0,01$) s vysokou statistickou průkazností. V souvislosti s výsledky počtu somatických buněk (SCC)a vyšším obsahem tuku v mléce můžeme ve prospěch dotace organické formy zinku tvrdit, že dosahuje velmi pozitivních efektů na zdraví mléčné žlázy, kvalitu mléka a výši mléčnéužitkovosti zároveň. SCC měla u P-skupiny během tříměsíčního experimentálního období snižující se tendenci, naopak počet SCC K-skupiny dosahoval s postupujícím časem neustále vyšších hodnot. Po dvou měsících laktace je SCC pokusné skupiny na daleko nižší úrovni ($P \leq 0,05$). Na konci pokusu se hodnota SCC 60 zvířat P skupiny ustaluje na nejnižší úrovni, naopak K-skupina dosahuje svého maxima s vysokou statistickou průkazností ($P \leq 0,001$). Dotace organického zinku mělavliv i na procentické zastoupení mléčného tuku a mléčného proteinu. Ve všech třech měsících dosahuje suplementovaná skupina vyšších hodnot. 60. den je rozdíl vysoce statisticky signifikantní($P \leq 0,01$), 90. den taktéž ($P \leq 0,05$) u obou parametrů. Suplementace zinkem v doporučené míře má výrazně pozitivní vliv Zn-Met na zdraví mléčné žlázy a kvalitu mléka je velmi důležitý zejména v době, kdy omezení antibiotik hraje klíčovou roli ve veterinární praxi.

Byla potvrzena hypotéza, že mikroelementy, speciálně zinek mají vliv na hematologické parametry skotu (Tab. 37a). U novorozených telat se rozdíl projevil v tom, že hladiny červených krvinek, hemoglobinu a hematokritu kontrolní skupiny se nacházely mimo oblast referenčního minima, naproti tomu u P skupiny byly hladiny všech hematologických parametrů ve fyziologickém rozmezí. U krav sesuplementace zinku pozitivně projevila v rámci referenčního

rozmezí na vyšším obsahu erytrocytů, hematokritu, hemoglobinu a trombocytů v plné krvi skupiny dotované organickou formou zinku. Všechny čtyři zmíněné parametry, nakteré má zinek přímý pozitivní vliv, neboť je v nich obsažen, se signifikantně zvýšily v den porodu, 30 a 60 dní po porodu. Hodnoty krevních destiček se u kontrolních zvířat v době od 0.-60. dne p.p. nacházely pod fyziologickou hranicí. 90 dní p.p. se hematologické parametry obou skupin pohybovaly na hranici referenčního minima, což může mít souvislost s vysokou produkcí mléka. I zde pozorujeme rozdíl mezi skupinami, kde zinkem dotovaná zvířata vykazují vyšší hodnoty, průkazně rozdílné pouze u hematokritu.

Biochemické vyšetření krve (Tab. 37 a) krav ukázalo, že se očekávaný přímý pozitivní vliv dotace zinku koncentraci CB a albuminu v krevním séru se neprojevil během celého pokusného období. Aplikace Zn-Met signifikantně zvýšila (P) ($P \leq 0,05$) hladinu bilirubinu 30. a 60. den p.p. a snížila v den porodu, 90. a 120. den p.p. aktivitu jaterního enzymu GGT. Hodnoty Zn obsahujícího enzymu ALP měly u obou skupin shodný průběh a neprojevily jakýkoli rozdíl, což nepotvrdilo očekávaný vliv dotace Zn-Met. Všechny tři jaterní enzymy dosahují svého maxima 60. den p.p., což odpovídá fyziologickému průběhu u vysokoprodukčních dojnic. Svalový a jaterní enzym AST se choval stejně jako ALP, bez meziskupinových rozdílů. Tři týdny a.p. a 30 dní p.p. dochází k signifikantnímu zvýšení hladiny močoviny u dotované skupiny ZnMet ($P \leq 0,05$). Obě skupiny vykazovaly 60-120 dní p.p. hodnoty nad fyziologickým maximem, což lze dát do souvislosti s vysokým obsahem dusíkatých látek v krmné dávce.

Po třech týdnech suplementace (Tab. 52a) byl zjištěn statisticky významné zvýšení koncentrace zinku ($P \leq 0,01$) a hořčíku ($P \leq 0,05$) v krevním séru pokusné skupiny. Třicet dní p.p. se objevuje významné snížení hladiny draslíku ($P \leq 0,01$) a manganu ($P \leq 0,05$) a zvýšení koncentrace zinku ($P \leq 0,001$) v krevním séru suplementované skupiny. Šedesát dní p.p. je jako jediný minerální prvek prokazatelně vyšší zinek se statistickou významností $P \leq 0,001$. Po 90 dnech od porodu se objevují tři statisticky významné rozdíly v koncentraci zinku ($P \leq 0,001$), fosforu ($P \leq 0,05$) a manganu ($P \leq 0,001$). Při posledním odběru na konci 4. měsíce laktace bylo zjištěno prokazatelné zvýšení hladiny zinku ($P \leq 0,001$) a snížení koncentrace vápníku ($P \leq 0,05$) u skupiny dotované organickou sloučeninou zinku.

Sledované minerální látky se během experimentálního období s měnícím se složení TMR měnila dle fáze zkrmování. koncentrace jednotlivých minerálních látek ovlivňovaly vzájemné interakce živin, míra utilizace a potřeba v jednotlivých obdobích. Hladina vápníkuv krvi krav se před porodem snižovala, v den porodu byla u obou skupin na svém minimu, stejně tak koncentrace fosforu, mědi a selenu. Po porodu se koncentrace těchto prvků kontinuálně zvýšila a okolo 3.

měsíce p.p. ustálila, což odpovídá očekávanému fyziologickémuprůběhu. Z předešlých výzkumů minulých let vyplývá pozitivní korelace zinku a hořčíku, jejichpřímá lineární závislost se v našem experimentu potvrdila průkazným zvýšením magnezia ($P \leq 0,05$) v den porodu u suplementované skupiny organickým zinkem. Vysoce průkazné rozdíly ($P \leq 0,01$, $P \leq 0,001$) jsme pozorovali u Zn-Met suplementované skupiny u koncentrací zinku v krevním séru krav v celém období ode dne porodu do konce experimentálního období. Zvyšující se trend koncentrace zinku v krvi u pokusné skupiny odpovídá zvyšující se dotaci Zn-Met dle výše příjmu sušiny v prvních čtyřech měsících laktace. Hypotéza pozitivního vlivu přídavku organické sloučeniny Zn k TMR krav byla našimi výsledky potvrzena. Dále z výsledků vyplývá, že se charakteristika ostatních minerálních prvků krav průkazně měnila u draslíku, manganu a fosforu. 30 dní p.p. došlo u pokusné skupiny k průkaznému ($P \leq 0,001$) snížení draslíku a manganu ($P \leq 0,05$). 90 dní p.p. pozorujeme signifikantní snížení koncentrace u manganu ($P \leq 0,001$) a fosforu ($P \leq 0,05$). Čtyři měsíce p.p. dochází k průkaznému snížení koncentrace vápníku ($P \leq 0,05$) a zvýšení zinku ($P \leq 0,001$) u pokusné skupiny. Pokles vápníku může souviset se známým antagonismem mezi vápníkem a zinkem. U ostatních makro – a mikroprvků (Na, Cu a Se) nedocházelo k prokazatelným změnám.

U **telat** (Tab. 53) ve druhé experimentální části disertace sledujeme pozitivní vliv dotace organického zinku pokusné skupině ve signifikantním zvýšení koncentrace zinku skupiny pokusné 7. den ($P \leq 0,05$) i 90. den ($P \leq 0,005$). Koncentrace mědi u pokusné skupiny bylo prokazatelně vyšší 7. den, nicméně 90. den nižší ($P \leq 0,05$) než u kontrolní skupiny. Vitamín A a E dosáhl vyšších hodnot u pokusné skupiny 7. i 90. den, nicméně bez statistické průkaznosti. Vyšší hodnota celkové bílkoviny u skupiny pokusné 90. den ($P \leq 0,05$) dokládá pozitivní vliv suplementace zinku. Zvýšenou aktivitu ALP nad referenční rozmezí považujeme v tomto věku telat za fyziologický jev, 90. den pokusnéhoobdobí dosahuje pokusná skupina vyššího poklesu než skupina kontrolní ($P \leq 0,01$). U močoviny dochází k signifikantnímu rozdílu 90. den, u skupiny Kpoklesu pod spodní referenčních mez. Důvodem může být nedostatek dusíkatých látek v KD či vyšší spotřeba aminokyselin pro syntézu proteinu. Enzym SOD dosáhl vysoce signifikantního zvýšení aktivity u pokusné skupiny 7. den ($P \leq 0,01$), i 90. den ($P \leq 0,003$). Zinek je součástí enzymu SOD, její aktivita dotací Zn-Met zvyšuje. Doplňkem Zn-Met byla pozitivně ovlivněna i koncentrace imunoglobulinů, 7. den byly hodnoty u P skupiny statisticky vysoce významně ($P \leq 0,001$) vyšší, 90. den taktéž ($P \leq 0,05$).

Závěrem lze potvrdit, že suplementace organicky vázaného zinku ve formě zinek methionin má pozitivní vliv na užitkovost krav, zdravotní stav krav i telat, imunitu telat na rostlinné výživě.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ABD ELLAH, M. R., HAMED M. I., DERAR R. I. (2013) Serum biochemical and haematological reference values for midterm pregnant buffaloes. *Journal of Applied Animal Research* 41(3): 309-317.
2. ABBASI A. A., PRASAD S. A., RABBANI P., DUMOUCHELLE E. (1980) Experimental zinc deficiency in man – Effect on testicular function. *Translational Research* 96(3): 544-550.
3. AEBERHARD K., BRUCKMAIER R.M., BLUM J.W. (2001) Metabolic enzymatic and endocrine status in high-yielding dairy cows - Part 2. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 48: 111-27.
4. AL-RASHEED, N. M., H. A. ATTIA, R. A. MOHAMED, AND M. AL-AMIN. (2013) Preventive Effects of Selenium Yeast, Chromium Picolinate, Zinc Sulfate and their Combination on Oxidative Stress, Inflammation, Impaired Angiogenesis and Atherogenesis in Myocardial Infarction in Rats. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 16(5): 848-867.
5. AMBOOKEN B, BINITHA MP, SARITA S (2013) Zinc Deficiency Associated with Hypothyroidism: An Overlooked Cause of Severe Alopecia. *Int J Trichology* 5(1): 40–42.
6. ANDERSON, C. W. N., ROBINSON B. H., WEST D.M., CLUCAS L., PORTMANN D. (2012) Zinc-enriched and zinc-biofortified feed as a possible animal remedy in pastoral agriculture: Animal health and environmental benefits, *Journal of Geochemical Exploration* 121: 30-35.
7. ANDRIEU, S. (2007) Is there a role for organic trace element supplements in transition cow health? *The Veterinary Journal* 176: 183.
8. ANKE, M. (1965) Der Mengen – und Spurenelementengehalt des Rindhaares als Indikator der Calcium-, Magnesium-, Phosphor-, Kalium-, Natrium-, Eisen-, Zink-, Mangan-, Kupfer-, Molybdän – und Kobaltversorgung. *2. Mitteilung. Arch. Tierernähr.* 15(6): 469-485.
9. ANKE, M., *et al.* (2002) Die Auswirkungen eines reichlichen Nickelangebotes auf den Zink, Magnesium und Manganstatus des Huhnes und der Eier. Ber. 7. *Tagung Schweine und Geflügelernährung*, Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg, s. 210-212.
10. ARTHINGTON J. D., CORAH L. R., BLECHA F. (1996) The effect of molybdenum-induced copper deficiency on acute phase protein concentations, superoxide dismutase activity, lukocyte numbers and lymphocyte proliferation in beef heifers inoculated with bovine herpesvirus – I. *J. Anim. Sci.*74: 211-217.
11. BALLANTINE H. T., SOCHA M. T., TOMLINSON D. J. 2002 Effect of feeding complexed to zinc, manganese, copper and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction and lactation performance. *The Professional Animal Scientist* 18: 211-218.
12. BAYDAR, E., DABAK M. (2014) Serum iron as an indicator of acute inflammation in cattle. *Journal of Dairy Science* 97(1): 222-228.
13. BENCKO V., CIKRT M., LENER J. (1995): Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka. 2.vyd., Grada Publishing, Praha, 288 s.
14. BENEMARIYA H., ROBBERECHT H., DEELSTRA H. (1998) Zinc, copper, and selenium in milk and organs of cow and goat from Burundi, Africa. *Sci. Total. Environ.* 128: 83–89.
15. BÍREŠ J., VRZGULA L., HOJEROVÁ A. (1990) Changes in the phagocytic aktivity of blood leucocytes, concentrations of plasma Ig and albumin in sheep fed pollutant substrate. Czech J Anim Sci 35(9): 763-771.

16. BÍREŠ J., KOVÁČ G., VRZGULA L. (1991) Mineral profile of serum in experimental copper intoxication of sheep from industrial emissions. *Vet. Hum. Toxicol.* 33(5)*:* 431-435.

17. BÍREŠ J., MARACEK I., BARTKO P., BÍREŠOVÁ M., WEISSOVÁ T. (1995): Accumulation of trace elements in sheep and the effects upon qualitative adn quantitative ovarian changes. *Vet. Hum. Toxicol*. 37(4): 349-56.

18. BÍREŠ J., BRITAN M., HÚSKA M., HIŠČÁKOVÁ M., ELGERWI A. (2000) New trends in the prevention of anaemia in cows. *Folia veterinaria* 44(3): 165-167.

19. BJERRE-HARPØTH V., N. C. FRIGGENS N. C., THORUP V. M., LARSEN T., DAMGAARD B. M., INGVARTSEN K. L., MOYES K. M. (2012) Metabolic and production profiles of dairy cows in response to decreased nutrient density to increase physiologicalimbalance at different stages of lactation**.** *Journal of Dairy Science* 95(5): 2362–2380.

20. BREMNER I. (1993) Metallothioneinin copper deficiency and coper toxicity. Proceedings of the Eighth International Symposium on Trace elements in Man and Animals. Verlag Media Touristik, Gersdorf, s. 507-515.

21. von BOCK *et* POLACH U., (1983) Směrné hodnoty důležitých laboratorních vyšetření pro domácí zvířata: Pes, kočka, kůň, tele, skot, prase, ovce; 1. vydání. - Jílové u Prahy, Vetpres, 1994. 127 s

22. BOYLES S. (1995): Cattle Producers Should Evauleate Herds´Copper Status. Ohio State University, AG answers, 1-2. www.agriculture.pirdue.edu/answers.../

23. BURRIDGE J. C., REITH J. W. S., BERROW M. L. (1983) Soil factors and treatments affecting trace elements in crops and herbage. In: SUTTLE N. F., GUNN R. G., ALLEN W. M., LINKLATER K. A., WIENER G. (eds.) Trace elements in animal production and veterinary practise. British society of Animal Production Occasional Publication No. 7, Edinburgh. S. 77-86.

24. CIFTCI T. U., CIFTCI B., YIS O., GUNEY Y., BILGIHAN A., OGRETENSOY M. (2003) Changes in serum selenium, copper, zinc levels and cu/zn ratio in patients with pulmonary tuberculosis during therapy. *Biol Trace Elem Res* 95(1): 65–71.

25. CFNP TAP. (2002) *Review Proteinated and Chelated Mineral Complexes*. Center for Food andNutrition Policy (CFNP) [online]. Virginia Tech-Alexandria. 29. s. August 2002. [cit. 2014-02-25].http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/getfile?dDocName=STELPRDC5057630.

26. CHANDRA, G., A. AGGARWAL, A. K. SINGH, M. KUMAR, AND R. C. UPADHYAY. (2013) Effect of Vitamin E and Zinc Supplementation on Energy Metabolites, Lipid Peroxidation, and Milk Production in Peripartum Sahiwal Cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 26(11):1569-1576.

27. CHARABRA, A, ARORA, S. P. (1993) Effect of vitamin A and zinc supplement on alcohol dehydrogenase and superoxide dismutase activities of goat tissues. *Indian Journal of Animal Science* 63: 334-338.

28. CHEEKE, P. R. DIERENFELD. E. S. (2010) Comparative Animal Nutrition and Metabolism. *CABI*, 339. s. ISBN 9781845936310.

29. CHESTERS, J. K. (1997) Zinc. In: O'Dell B. S., Sunde R. A. (1997) *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements.* Clinical Nutrition in Health and Disease. CRC Press, 1997, 712 s. ISBN 9781439825891.

30. CHESTERS, J. K. (2009) Trace elements – gene interactions. *Nutrition Reviews*; 50: 217–223.

31. CHEN F, LI Y, SHEN Y, GUO Y, ZHAO X, LI Q, CAO Y, ZHANG X, LI Y, WANG Z,

GAO Y, LI J 2020: Effects of prepartum zinc-methionine supplementation on feed digestibility, rumen fermentation patterns, immunity status, and passive transfer of immunity in dairy cows. *J Dairy Sci* 103: 8976-8985.

32. CITIL M. (1999) Untersuchungen zur Carnitinkonzentration und zu weiteren biochemischen Parametern im Blutserum bei Milchkühen mit besonderer Berücksichtigung der Dislocatio abomasi und von Puerperalstörungen. *Dissertation*, Universität Leipzig.

33. CORTINHAS, C. S., BOTARO, B. G., SUCUPIRA, M. C. A., RENNO, F. P., SANTOS M. V. (2010) Antioxidant enzymes and somatic cell count in dairy cows fed with organicsource of zinc, copper and selenium, In: *Livestock Science* 127(1): 84-87.

34. COUSINS, R. J., LEINART, A. S. (1988) Tissue-specific regulation of zinc metabolism and metallothionein genes by interleukin 1. *The FASEB Journal* 2: 2884-2890.

35. COUSINS R. J., Zinc. (1996) In: FILLER L. J., ZIEGLER E. E.: Present knowledge in nutrition. 7. vydání. International Life Science Institute – Nutrition Foundation, Washington DC. s. 293–306.

36. COPE C. M., MACKENZIE A. M., WILDE D., SINCLAIR L. A. (2009) Effect of level and form of dietary zinc on dietary cow performance and health. *Journal of Dairy Science*; 92(5): 2128-2135.

37. ČERMÁKOVÁ A. *et* STAŘEČEK F. (1995) Statistika I. ZF JČU České Budějovice, 1. vydání, 172 s.

38. DANG, A. K., PRASAD, S., PAL, S., MUKHERJEE, J., SANDEEP, I. V. R., MUTONI, G., PATHAN, M. M., JAMWAL, M., KAPILA, S. (2013) Effect of supplementation of vitamin E, copper and zinc on the in vitro phagocytic activity and lymphocyte proliferation index of peripartum Sahiwal (Bos indicus) cows. In: *Journal of animal physiology and animal nutrition* 97(2): 315-321.

39. DASH S, BREWER GJ, OELSHLEGEL FJ (1974) Effect of zinc on heamoglobin binding by red blood cell memranes. *Nature* 250: 251-252.

40. DASTYCH M., (1997) Zinek – biochemie, metabolismus a fyziologické funkce. Časopis lékařů českých. s. 509–512.

41. DEZFOULIAN, A. H., Aliarabi, H., Tabatabaei, M. M., Zamani, P. (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(1–3): 9-19.

42. DGE (2000) Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Schweizerische Gesellschaft für Ernährungforschung, Sweizerische Vereinigung für Ernährung. Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr (DACH). 1. vydání. Frankfurt am Main: Umschau/Braus, 216 s. ISBN 3-8295-7114-3.

43. DIRKSEN G, GRÜNDER H. D., STÖBER M.; BAUMGARTNER W, BRAUN U., DOLL K., FÜRLL M., GIESE W., HAAS L., HOFFMANN W., KLEE W., KÖSTLINR., KÜMPER H., LAIBLIN CH., MARTIG J., MOENNING V., MÜLLING CH., POHLENZ J., RADEMACHER G., RENNER E., SCHOLZ H., STANEK CH., STAUFENBIEL R., STEINER A., STÖBER M., STRAUB O. CH., TRAUTWEIN G. (2006)*Innere Medizin und Chirurgie des Rindes.* 5. vydání, Parey Verlag, Thieme Verlagsgruppe, Berlin. ISBN 978-3-8304-4169-4. 1325 s.

44. DOLEŽEL, Radovan a kol. (1997) *Veterinární gynekologie*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita. 144 s. ISBN 80-85114-04-6.

45. DROKE, E. A., SPEARS, J. W. (1993) In vitro and in vivo immunological measurements in growing lambs fed diets deficient, marginal or adequate in zinc. *J. Nutr. Immunol*.;2: 71.

46. EDER K., WILD S. I., KIRCHGESSNER M. (2000) Zinc deficiency and activities of enzymes involved in lipogenesis and lipolysis in rats fed diets with coconut oil or fish oil. *Journalof animal physiology and animal nutrition-zeitschrift fur tierphysiologie tierernahrung und futtermittelkunde.*; 83: 2: 65-73

47. ENGELHARDT W. *et* BREVES G. (2000) Physiologie der Haustiere. 1. vydání. Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart. 650 s., ISBN 3-7773-1429-3.

48. ENGLE, T. E. AND J. W. SPEARS. (2000) Effects of dietary copper concentration andsource on performance and copper status of growing and finishing steers. *Journal of Animal Science* 78(9):2446-2451.

49. ENJALBERT F., LEBRETON P. AND SALAT O. (2006) Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: retrospective study. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 90: 459–466.

50. FADAYIFAR, A. H., ALIARABI, H., TABATABAEI M. M., ZAMANI P. (2012) Improvement in lamb performance on barley based diet supplemented with zinc, *Livestock Science* 144(3): 285-289.

51. FISHER L., DINN N., TAIT R., SHELFORD J. (1994) Effect of level of dietary potassium on the absorption and excretion of calcium and magnesim by lactating cows. Can. J. Anim.Sci 74: 503-509.

52. FREAKE HC, GOVONI KE, GUDA K, HUANG C, ZINN SA (2001) Actions and interactions of thyroid hormone and zinc status in growing rats. *J Nutr* 131: 1135–1141.

53. FORMIGONI A., FUSTINI M., ARCHETTI I. L., BIAGI G. (2011) Effects of an organic source of copper, manganese and zinc ondairy cattle productive performance, health status and fertility, *Animal Feed Science andTechnology* 164(3–4): 191-198.

54. FÜRLL M., BIALEK N., KIRBACH H., GRUYS E., JÄKEL L., KRÜGER M. (1998) Verhalten Akuter Phasen Proteine (APP) sowie weiterer klinisch-chemischer Parameter im Vorfeld der Dislocatio abomasi (DA) bei Milchkühen. In: Fürll M, Hrgb. Stoffwechselbelastung, -diagnostik und -stabilisierung beim Rind, Leipziger Samstagsakademie, 25.04.1998; Leipzig: Medizinische Tierklinik der Universität Leipzig, S. 182-199.

55. FÜRLL M. (1989) Vorkommen, Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik und medikamentelle Beeinflussung von Leberschäden beim Rind. *Habilitační práce*: Universität Leipzig.

56. FÜRLL M. (2005a) Hämatologie. In: Kraft W, Dürr UM, Hrsg. Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 6. vydání. Stuttgart, New York: Schattauer, ISBN 3-7945-2308-3; S. 49-86.

57. FÜRLL M. (2005b) Spezielle Untersuchungen beim Wiederkäuer. In.: KRAFT W., DÜRR U. M., BALLAUF B., BEELITZ P., BOSTEDT H., DREIER H.-K., FISCHERA., FÜRLL M., GRABNER A., HARTMANN K., HEIN J., HEINRITZI K., HIRSCHBERGER J., KÖLLE P., KORBEL R., MISCHKE R., MORITZ A., MÜLLERE., PFISTER K., RITZMANN M., WIRTH. *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.* 2005, 6. vydání, Schattauer Stuttgart New York. S. 444-71. ISBN 3-7945-2308-3.

58. GAAFAR H. M. A., BASIUONI M.I., ALI M.F.E., SHITTA A.A., SHAMAS A. SH. (2010) Effect of zinc methionine supplementation on somatic cell count in milk and mastitisin Friesian cows *Archiva Zootechnica* 13(2), 36-46.

59. GARG, A. K. MUDGAL, V. DASS, R. S. (2008) Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization and mineral profile in lambs, *Animal Feed Science and*

Technology 144(1–2): 82-96.

60. GENTHER O. N., HANSEN S. L. (2014) A multielement trace mineral injectionimproves liver copper and selenium concentrations and manganese superoxide dismutase activity in beef steers. *Journal of Animal Science* 92(2): 695-704.

61. GOONERATNE, S. R., H. W. SYMONDS, J. V. BAILEY, CHRISTENSEN D. A. Effects of dietary copper, molybdenum and sulfur on biliary copper and zinc excretion in simmental and angus cattle. *Canadian Journal of Animal Science* 1994; 74(2): 315–325.

62. GOPINATH C., HALL G. A., HOWELL J. (1974) Copper Toxicity I. *Res Vet Sci* 16: 57–69.

63. GOULD, L. AND N. R. KENDALL. (2011) Role of the rumen in copper and thiomolybdate absorption. *Nutrition Research Reviews* 24(2):176-182.

64. GRIFFITHS L. M., LOEFLER S. H., SOCHA M. T., TOMLINSON D. J., JOHNSONA.B. (2007) Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. *Animal Feed Science and Technology* 2007.;137:69–83.

65. GUDE D. (2011) Tracing elements in hair. *Int J Trichology* 3: 132–133.

66. GUHA A., GERA S., SHARMA A. (2012) Evaluation of milk trace elements, lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase, and aspartate aminotransferase activity of subclinical mastitis as an Indicator of subclinical mastitis in riverine buffalo (Bubalus bubalis). *Asian Aust J Anim Sci* 25: 353-360.

67. HAMBIDGE, M. (2003) Biomarkers of trace mineral intake and status. *Journal of Nutrition* 133(3): 948-955.

68. HANSARD S. L. (1983) Microminerals for ruminant animals. *Nutr. Abstr. And Rev.*, Series B: 53(1): 1-24.

69. HANSEN, R. (1992) Effects of Bioplex® Zinc Supplements on somatic cell counts in three high producting dairy herds, In: *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Proceedings of Alltech's 8th Annual Symposium*, Nicholasville USA: 55-57.

70. HANUŠ O., HRONEK M., HYŠPLER R., YONG T., TICHÁ A., FIKROVÁ P., HANUŠOVÁ K., SOJKOVÁ K., KOPECKÝ J., JEDELSKÁ R. (2010) Relationship between somatic cell count and lactose content in milk of various species of mammals. *Acta univ.agric. et silvic. Mendel. Brno.* 2010, LVIII, No. 2, pp. 87–100.

71. HERDT, T. H. HOFF, B. (2011) The Use of Blood Analysis to Evaluate Trace Mineral Status in Ruminant Livestock, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 27(2): 255-283.

72. HIDIROGLOU, M. (1979) Manganese in ruminant nutrition. *Canadian Journalof Animal Science* 59: 217-236.

73. HOFEROVÁ H. (2011) Vliv bioklimatických podmínek stáje na zdravotní a produkční parametry a vybrané fyziologické ukazatele u krav. *Diplomová práce.* Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích; 86 s.

74. HOFÍREK, B., et al. (2004) Produkční a preventivní medicína v chovech mléčného skotu – část klinická. 1. vyd., VFU Brno, 184 s. ISBN 80–7305–501–5.

75. HOOPS M. (2007) Peripartaler Stoffwechsel und Morbidität bei Hochleistungskühen während eines Jahres. *Inaugural-Dissertation*, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig, 171 s., ID: 226096468

76. HOPKINS A., ADAMSON A. H., BOWLING P. J. (1994) Response of permanent and

reseedet grass – and to fertilizer nitrogen. 2.Effects on concentrations of Ca, Mg, Na, K,S, P, Mn, Zn, Cu, Co, Mo in herbage at a range of sites. Grass and Forage Science. S. 49, 9-20.

77. ILLEK, J. (2010) Vlivy chybného sestavení krmné dávky na zdravotní stav zvířat, řešení konkrétních případů I. a II. In: *Výživa zvířat a její vliv na užitkovost a zdraví zvířete.* Pohořelice: VÚCHS Rapotín. s. 30–36.

78. ILLEK, J. (1987) Výskyt a diagnostika, terapie a prevence karenci kobaltu, manganu, mědi a zinku u skotu. *Doktorská disertační práce.* Vysoká škola veterinární Brno; 330 s.

79. ILLEK J., SUCHÝ P. Trace elements in Man and Animals – *TEMA* 1993, 8: 585–586. *In:* ŠIMEK M., DVOŘÁK R.: *Mineral Proteinates (Cu – proteinate) in rations forbeef cattle.* Mengen– und Spurenelemente 1994, 14. Arbeitstagung: 577-581.

80. ILLEK J., GOLDA J. (1998) Mangelerscheinungen beim Rind, ihre Prophylaxe. In: Zusammenfassung. Vortr. 3. *Berlin-Brandenburgischer Rindertag*, K für Klauentiere –FU Berlin.

81. ILLEK J., MATĚJÍČEK M., BEČVÁŘ O. (1999) Karence mědi u skotu. *Veterinářství*. 1999. 49(4): 143-144.

82. ILLEK, J., BEČVÁŘ, O., LOKAJOVÁ, E., MATĚJÍČEK, M. (2000), Stopové prvky ve výživě skotu – zinek. *Krmivářství* 4(6): 30. ISSN 1212-9992.

83. ILLEK, J., MATĚJÍČEK, M. (2001) Dopady sekundárně fermentované kukuřičné siláženа zdraví a užitkovost vysokoprodukčních dojnic. *Sborník semináře fy. Nutrivet, Morašice u Litomyšle*: 1-4.

84. ILLEK J., NOVÁK P., BEČVÁŘ O., MATĚJÍČEK M., PAVLATA L., PECHOVÁ A., URBÁNEK J. (2001) Vliv technologie ustájení, výživy a poruch metabolismu na zdravotní stav končetin u vysokoprodukčních dojnic. *Závěrečná zpráva o řešení výzkumného projektu EP 7267 (1997–2000).* s. 10-11.

85. ILLEK, J. (2003) Funkce mikroelementů. In: Jelínek, P, Koudela a kol. *Fyziologie hospodářských zvířat.* Mendelova zemědělská a lesnická univerzita Brno. s. 180–188.

86. ILLEK, J. (2003a) Aktuální výživářské aspekty dojnic směřované ke kvalitě mléka. In: Sborník příspěvků ze semináře Šlechtitelské a technologické aspekty chovu dojených krav a kvality mléka. Šumperk: Grafotyp. s. 36-41.

87. ILLEK, J., BAŤOVÁ, A., KUMPRECHTOVÁ, D. (2007) Effect of Bioplex® organic zinc supplementation on somatic cell counts. In: *Nutritional Biotechnology in the Feedand Food Industries, Proceedings of Alltech's 23rd Annu. Symp.*, Lexington (KY) USA(Suppl.1); 71.

88. ILLEK, J. (2010) Vlivy chybného sestavení krmné dávky na zdravotní stav zvířat, řešení konkrétních případů I. a II. In: *Výživa zvířat a její vliv na užitkovost a zdraví zvířete.* Pohořelice: VÚCHS Rapotín. s. 30–36.

89. JAGOŠ, P., BOUDA, J. (1981) Základní biochemické a hematologické hodnoty u domácích zvířat a nové způsoby vyjadřování výsledků laboratorních vyšetření. 1. vydání. Pardubice: *SVS-Oddělení veterinární osvěty*. 29 s.

90. JAGOŠ P., BOUDA J., HEJLÍČEK K., HOJOVEC J. KOZUMPLÍK J., KUDLÁČ E., ROZTOČIL V., VESELÝ Z. (1985) *Diagnostika, terapie a prevence nemocí skotu.* 1. vydání. Praha: Státní zemědělské nakladatelství. 472 s.

91. JANČOVÁ A., MASSÁNYI P., GÁLOVÁ J. (2002) The concetration of cadmium and lead in liver and kidneys in *Apodemus flavicollis* and *Cleithrionomys glareolus. Fol Vel* 26(2): 65-67.

92. JELÍNEK, P., KOUDELA, K., DOSKOČIL, J., ILLEK, J., KOTRBÁČEK, V., KOVÁŘŮ, F., KROUPOVÁ, V., KUČERA, M., KUDLÁČ, E., TRÁVNÍČEK, J., VALENT, M. (2003) *Fyziologie hospodářských zvířat.* 1. vydání. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003. 414 s. ISBN 80-7157-644-1.

93. JIA, W. et al. Effects of dietary zinc on performance, nutrient digestibility and plasma zinc status in Cashmere goats, *Small Ruminant Research* 80(1–3): 68-72.

94. KACHUEE, R. MOEINI, M. M. SOURI, M. (2013) The effect of dietary organic and inorganic selenium supplementation on serum Se, Cu, Fe and Zn status during the late pregnancyin Merghoz goats and their kids, *Small Ruminant Research* 110(1): 20-27.

95. KALAEVA E.A., ALHAMED M., KALAEV V.N., CHERNITSKIJ E.A. (2021) Prognostic Value of Hematological and Biochemical Parameters of Mother and Newborn Calf for Bronchopneumonia Risk Assessment in Neonatal Calves. *Russian Agricultural Sciences* 47(4): 430–435.

96. KANDYLIS, K. (1984) The role of sulfur in ruminant nutrition – a review. *Livestock Production Science* 11(6):611-624.

97. KAPAVÍKOVÁ, I. (2012) *Interakce a využitelnost esenciálních minerálních prvků v organismu*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Dostupné také z: http://hdl.handle.net/10563/22866. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav technologie potravin. 49 s.

98. KEGLEY, E. B., SILZELL S. A., KREIDER D. L., GALLOWAY D. L., COFFEY K. P., HORNSBY J. A., HUBBELL D. S. III. (2001) The immune response and performance of calves supplemented with zinc from an organic and an inorganic source.*The Professional Animal Scientist* 17: 33–38.

99. KEGLEY E. B., PASS M. R., MOORE J. C., LARSON C. K. (2012) Supplemental trace minerals (zinc, copper, manganese, and cobalt) as Availa-4 or inorganic sources for shipping-stressed beef cattle. *Professional Animal Scientist* 28: 313-31.

100. KELLOGG D. W. (1990) Zinc methionine affects performance of lactating cows. *Feedstuffs* 62(35): 15-28

101. KELLOGG D. W., SOCHA, M. T., TOMLINSON D. J., JOHNSON A. B. (2003) Review: Effects of feeding cobalt glucoheptonate and metal specific amino acid complexes of zinc, manganese and copper on lactation and reproductive performance of dairy cows. *The Professional Animal Scientist* 19: 1-9.

102. KELLOGG D. W., TOMLINSON D. J., SOCHA M. T., JOHNSON A. B. (2004) Review: Effects of zinc methionine complex on milk production and somatic cell count of dairycows: Twelve-trial summary. *The Professional Animal Scientist* 20: 295-301.

103. KELLOGG D. W., KEGLEY, E. B. (2011) Feed Ingredients | Feed Supplements: Organic – Chelated Minerals, In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition), edited by John W. Fuquay, Academic Press, San Diego, s. 384-388, ISBN 9780123744074.

104. KENDALL, N. R. MACKENZIE, A. M. TELFER, S. B. (2012) The trace element and humoral immune response of lambs administered a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus. *Livestock Science* 148 (1–2): 81-86.

105. KHALED N., ILLEK J., PECHOVÁ A. (1998) Concentration of zinc and copper in blood plasma and milk of dairy goats during lactation. *Mengen – und Spurenlemente,* 18. Arbeitstagung, 307-309.

106. KINAL S., KORNIEWICZ A., JAMROZ D., ZIEMIŃSKI R., SŁUPCZYŃSKA M. (2005a):

Dietary effects of zinc, copper and manganese chelates and sulphates on dairy cows. J. Food Agric. Environ., 2005: 3, 168–172.

107. KINAL S., KORNIEWICZ A., JAMROZ D., ZIEMIŃSKI R., SŁUPCZYŃSKA M. (2005b): Dietary effects of zinc, copper and manganese chelates and sulphates on dairy cows. J. Food Agric. Environ., 2005: 3, 168–172.

108. KINAL S., KORNIEWICZ, A., SŁUPCZYŃSKA, M., BODARSKI, R., KORNIEWICZ, D., ČERMÁK B. (2007) Effect of the application of bioplexes of zinc, copperand manganese on milk quality and composition of milk and colostrum and some indicesof the blood metabolic profile of cows. *Czech Journal of Animal Science*. 52(12): 423-429.

109. KINCAID, R. L., W. J. MILLER, P. R. FOWLER, R. P GENTRY, D. L. HAMPTON,AND M. W. NEATHERY (1976) Effect of high dietary zinc metabolism and intracellular distribution in cows and calves. *J Dairy Sci* 59:1580-1584.

110. KINCAID, R. L., AND J. D. CRONRATH (1979) Effects of dietary zinc upon tissue zinc and percent unsaturated plasma-zinc binding capacity. *J Dairy Sci* 62:572-576.

111. KINCAID R. L., CRONRATH J. D. (1992) Zinc concentration and distribution in mammary secretions of prepartum cows. *Journal of Dairy Science* 75(2): 481–848.

112. KINCAID R. L. (2000) Assessment of trace mineral status of ruminants: A review. *Journal ofAnimal Science* 77 (E-Suppl): 1-10

113. KINCAID R. L., SOCHA, M. T. (2004) Inorganic versus complexed trace mineral supplementson performance of dairy cows. *The Professional Animal Scientist* 20: 66–73.

114. KIRCHGESSNER M., PALLAUF J. (1979) Zinkrepletion in Serum und Leber wachsender Ratten. *Zietschr Tierphysiol Tierernähr Futterm – Kde* (29): 77-85.

115. KIRCHGESSNER M., SCHWARZ W.A., ROTH H.P. (1975) Zur Aktivität der alkalischen Phosphatase in Serum und Knochen von Zink depletierten und repletierten Kühen. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde* 35: 191-200.

116. KLECKOWSKI M., KLUCINSKI W., SIKORA J., SITARSKA E., WINNICKA A., ŁADYSZ R., ZIEKAN P., WOJEWODA J., SKOWRONSKI M. (1995) The effect of the lowconcentration of copper, zinc, molybdenum, selenum, sulphur in the fodder on selected hematological parameters and glutathione peroxidase activity in calves and cows. *Mengen- und Spurenelemente. 15, Arbeitstagung:* 400-407.

117. KLEISER, L. a FÜRLL M. (1998) Screening zur Früherkennung einer Disposition für die Dislocatio abomasi bei Kühen. In: Fürll M.: Stoffwechselbelastung, -diagnostik und –stabilisierung beim Rind. S. 95-104; ISBN 3-00-002818-8.

118. KOMÍN O. (2012) Retikulocyty. [fotografie], online cit.: 26.06.2014 *http://cs.medixa.org/lecba/retikulocyty*

119. KOZŁOWSKA A., KONARZEWSKA M., BRZOZOWSKA A. (1994) Apparent absorption of Fe, Zn and Cu in Rats as affected by diet supplementation with these minerals. Mengen – und Spuren-elemnte, 14.Arbeitstagung, 216-223.

120. KRAFT W., DÜRR U. M., BALLAUF B., BEELITZ P., BOSTEDT H., DREIER H.- K., FISCHER A., FÜRLL M., GRABNER A., HARTMANN K., HEIN J., HEINRITZI K., HIRSCHBERGER J., KÖLLE P., KORBEL R., MISCHKE R., MORITZ A., MÜLLER E., PFISTER K., RITZMANN M., WIRTH. (2005) *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.* 6. vydání, Schattauer Stuttgart New York. 534 s. ISBN 3-7945-2308–3.

121. KRČ I. (2007) Hematologie – hodnocení krevního obrazu. II. Interní klinika LF UP a FN Olomouc. *Interní Med* 9(11): 529-530.

122. KROUPOVÁ V.: (2002) Závěrečná zpráva projektu EP9269 1999-2001, Ekologická omezení při suplementaci minerálních látek u skotu a ovcí. ZFJU v Českých budějovicích, 1-11.

123. LAWRENCE D. A. (1985) Immunotoxicity of heavy metals. *In:* Dean J. *et al.* (eds.): Immunotoxicology and Immunopharmacology. New Zork, Raven Press: 341-353.

124. LEAN I. J., WESTWOOD C. T., GOLDER H. M., VERMUT J. J. (2013) Impact of nutrition on lameness and claw health in cattle, *Livestock Science* 156(1–3): 71-87, ISSN 1871-1413.

125. LIPSCOMB W. L., STRÄTER N. (1996) Recent advances in zinc enzymology. *Chemical Reviews* 96: 2237–3042.

126. LITTLEDIKE E.T., WITTUM T.E., JENKINS T.G. (1995) Effects of breed intake and carrcas composition on the status of several macro and trace minerals of adult beef cattle. J Anim Sci(73): 2113-2119.

127. LÖNNERDAL B. (1988) Nutrient Interactions. Ift Basic Symposium – Svazek 3. CRC Press, s. 408. ISBN 9780824778682.

128. LÖNNERDAL B., KEEN C.I., HURLEY L.S.: (1995) Trace Elements Metabolismin Man and Anim., TEMA-4, Griffin press, Australia, 249-252.

129. LÖNNERDAL B. (2000) Dietary FactorsInfluencing Zinc Absorption. The Journal of Nutrition 130(5): 1378-1383.

130. LÓPEZ-ALONSO M., PRIETO F., MIRANDA M., CASTILLO C., HERNÁNDEZ J.R., BENEDITO J.L. (2005) Intracellular distribution of copper and zinc in the liver ofcopper-exposed cattle from northwest Spain, *The Veterinary Journal* 170(3): 332-338.

131. LOTFOLLAHZADEH S, MOHRI M, BAHADORI S R, DEZFOULY M R M, TAJIK P. (2008) The relationship between normocytic, hypochromic anaemia and iron concentration together with hepatic enzyme activities in cattle infected with Fasciola hepatica. *Journal of helminthology* 82(01): 85-8.

132. MAAS J. (2005) Cooper deficiency. ExtensionVeterinarian School of Veterinary Medicine, University of California/Davis, *Fact Sheet7*: 1-4, http://danr.ucop.edu/uccelr/health.htm

133. MACHADO V. S., BICALHO M. L. S., PEREIRA R. V., CAIXETA L. S., KNAUER W. A., OIKONOMOU G., GILBERT R. O., BICALHO R. C. (2013) Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactatingHolstein cows. *The Veterinary Journal* 197(2): 451–456.

134. Mac LACHTAN G. K., JOHNSTON W. S. (1982) Cooper poisoning in sheep from North Ronalsday maintained on a diet of terrestrial herbage. Veter. Rec.*25:* 299-301.

135. MACUCHOVÁ S. (2010) Studium aktivity enzymových a nízkomolekulárních antioxidačníchsystémů. *Disertační práce*. Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně. 147 s.

136. MAHLKOW-NERGE K, TISCHER M., ZIEGER P. (2005) *Modernes Fruchtbarkeitsmanagement beim Rind. Ein Leitfaden aus der Praxis für die Praxis.* AgroConcept GmbH, Bonn. ISBN 3-9810575-0-3. 206 S s.

137. MALCOM-CALLIS K. J., DUFF G. C., GUNTER S. A., KEGLEY E. B., VERMEIRE D. A. (2000) Effects of supplemental zinc concentration and source on performance, carcass characteristics, and serum values in finishing beef steers. *Journal of Animal Science* 78: 2801–2808.

138. MARSTON, T. (1999) Trace mineral supplementation in beef cattle - *Part II. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 21(2): 70-77.

139. MARTIN J. (1998) Chronic Copper Poisoing in Sheep. BVM&S, MRCVS, Queen´s Printer forOntario. www.saanendoah.com/cusheepCANADA.html

140. MASOPUST J. (1998) Klinická biochemie – požadování hodnocení biochemického vyšetření,část I, Karolinum Praha, 1.vydání, 429 s.

141. McCORD J. M., FRIDOVICH I. (1969) Superoxiddismutase. *Journal of Biological Chemistry* 244: 6049-605.

142. McDOWELL L.R., CONRAD J.H., HEMBRY F.G. (1993) Minerals for grazing ruminants in tropical regions. 2nd Edn. Gentre for Tropical Agriculture, University of Florida, Gainesville: 53-55.

143. MILLER W. J., AMOS H. E., GENTRY R. P. (1989) Long-term feeding of high zinc sulfate diets to lactating and gestating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72: 1499–1508.

144. MILLER, J. K., MILLER, W. J. (1962) Experimental zinc deficiency and recovery of calves. In: *Journal of Nutrition* 76: 467-474.

145. MINATEL, L. CARFAGNINI, J. C. (2000) Copper deficiency and immune response in ruminants, *Nutrition Research* 20(10): 1519-1529.

146. MINSON D.J. (1990) Forages in Ruminant Nutrition. Academic Press, New York,. 346-358.

147. MIYAMOTO T, SAKURAI A, DEGROOT L (1991) Effects of zinc and other divalent metals on deoxyribonucleic acid binding and hormone-binding activity of human a1 thyroid hormone receptor expressed in Escherichia coli. *Endocrinology* 129: 3027–3033.

148. MOHAJERI M., NOROUZIAN M. A., MOHSENI M., ALFALZADEH A. (2014) Changes ofblood metals, hematology and hepatic enzyme activities in lactating cows reared in thevicincity of a lead-zinc smelter. *Bulletin of environmental contamination and toxikology* 92(6): 693-697.

149. MOHRI M., SHARIFI K., EIDI S. (2007) Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. Res Vet Sci 83(1): 30-39.

150. NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) (2001) *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*; 7th rev. Edition. National Academies Press, Washington DC.; 408 s.

151. NAVRÁTILOVÁ P., KRÁLOVÁ (DRAČKOVÁ) M., JANŠTOVÁ B., PŘIDALOVÁ H., CUPÁKOVÁ Š., VORLOVÁ L. (2012) Hygiena produkce mléka. Fakulta veterinární hygieny a ekologie, VFU Brno. ISBN 978-80-7305-625-4. 129 s.

152. NEATHERY M. W., MILLER W. J., BLACKMON D. M., GENTRY R. P. (1973) Performance and milk zinc from low intake in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*56: 212–217.

153. NIEDER M, SILAGHI C, HAMEL D, PFISTER K, SCHMÄSCHKE R, PFEFFER M. (2012) Tickborne fever caused by Anaplasma phagocytophilum in Germany. *Tierärztliche Praxis Großtiere* 40(2): 101-106.

154. NOCEK, J. E., SOCHA, M. T., TOMLINSON, D. J. (2006) The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 89: 2679–2693.

155. NOHL H. (1981) Physiologische und pathophysiologische Bedeutung von Superoxid-Radikalen und die regulatorische Rolle des Enzyms Superoxiddismutase. *Klinische Wochenschrift* 59: 1081-1091.

156. NOORI, G. R., H. AMANLOU, E. MAHJOUBI, D. ZAHMATKESH, S. S. MOUSAVI,

AND E. SHAHRAMI. (2013). Top-dressing of the different feed additives is effective to prevent lameness and to increase feedlot cattle performance during a short-term period. *Journal of Applied Animal Research* 41(3): 263-268.

157. O´DELL, B. L. SUNDE, R. A. (1997) Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements. Clinical Nutrition in Health and Disease. CRC Press, 712 s. ISBN 9781439825891.
158. O´ DELL B.L. (1992) Zinc plays both structural and catalytic roles in metalloproteins. *Nutr Rev* 50: 48-50.
159. O´ DELL B.L. (2000) Role of zinc in plasma membrane function. J Nutr 130(Suppl): 1432-1436.
160. O´ DELL B.L. (1984) Bioavailability of trace elements. Nutr Rev 42(9): 301-308.
161. OHSAWA M. (1993) Nutritional and toxicological implication of trace elements in the immune response. In: PRASAD A.S. Essential and toxic trace elements in human heralth and disease. An update. (ed.): Progress in Clinical and Biological Research. 380, 283-289.
162. PAL, D. T., GOWDA N. K. S., PRASAD C. S., AMARNATH R., BHARADWAJ U., SURESH BABU G., SAMPATH K. T. (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(2): 89-94.
163. PHILLIPPO, M., W. R. HUMPHRIES, T. ATKINSON, G. D. HENDERSON, AND P. H. GARTHWAITE. (1987) The effect of dietary molybdenum and iron on copper status,puberty, fertility and estrous cycles in cattle. *Journal of Agricultural Science* 109:321–336.
164. PIDDINGTON D. L., FANG F. C., LAESSIG T., COOPER A. M., ORME I. M., BUCHMEIER N. A. (2001) Cu, Zn superoxide dismutase of mycobacteriumtuberculosis contributes to survival in activated macrophages that are generating an oxidative burst. *Infection and Immunity*. 69(8): 4980-4987.
165. POGGE, D. J., DREWNOSKI M. E., HANSEN S. L. (2014) High dietary sulfur decreases the retention of copper, manganese, and zinc in steers. *Journal of Animal Science* 92(5): 2182-2191.
166. POGGE, D. J., HANSEN L. (2013) Supplemental vitamin C improves marbling in feedlot cattle consuming high sulfur diets. *Journal of Animal Science* 91(9):4303-4314.
167. POGGE, D. J., E. L. RICHTER, M. E. DREWNOSKI, HANSEN S. L. (2012) Mineral concentrations of plasma and liver after injection with a trace mineral complex differ among Angus and Simmental cattle. *Journal of Animal Science* 90(8):2692-2698.
168. PRASAD A.S. (1995) Genetic disorders and trace elements. *Nutrition* 11: 93-99.
169. PRASAD A. S. (1996) Metabolism of zinc and its deficiency in human subjects. In: Prasad AS Zinc Metabolism. Charles C Thomas, Publisher, Springfield, Ill: 250-293.
170. QI, K., LU C. D., OWENS F. N. (1993a) Sulfate supplementation of angora-goats - sulfur metabolism and interactions with zinc, copper and molybdenum. *Small RuminantResearch* 11(3):209-225.
171. QI, K., LU C. D., OWENS F. N. (1993b) Sulfate supplementation of growing goats - effects on performance, acid-base-balance, and nutrient digestibilities. *Journal of Animal Science* 71(6):1579-1587.
172. QAYYUM A., JAWARIA A.K., RIAZ H., TUSAWAR I.A., IMRAN Z., MAQBOOL A., AWAIS M., NISAR A., ZULFIQAR A., MUBEEN H., MUBEEN M. (2018) Correlations of blood serum and milk biochemical profiles with subclinical mastitis in Cholistani cattle. *Pak J*

Agri Sci 55(4): 959-964.

173. RAMOS J. M., SOSA C., RUPRECHTER G., PESSINA P., CARRIQUIRY M. (2012) Effect of organic trace minerals supplementation during early postpartum on milk composition, and metabolic and hormonal profiles in grazing dairy heifers. *Spanish journal of agricultural research.* 10(3)**:** 681-689

174. RANDHAWA, S. S., K. DUA, S. T. SINGH, RANDHAWA C. S. (2014) Trace mineral status of wall and sole portions of healthy and diseased hoofs in cattle and buffaloes. *Indian Journal of Animal Sciences* 84(4):417-421.

175. REECE, William O. (2011) *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat.* 1. české vyd. Praha: Grada, 473 s. ISBN 978-80-247-3282-4.

176. RICHTER, E. L., DREWNOSKI M. E., HANSEN S. L. (2012) Effects of increased dietary sulfur on beef steer mineral status, performance, and meat fatty acid composition. *Journal of Animal Science* 90(11): 3945-3953.

177. RICHTEROVÁ L. Reaktivní sloučeniny kyslíku. *Bakalářská práce*. Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně, 2008. 41 s.

178. ROBINSON, J. J. *et al.* (2006) Nutrition and fertility in ruminant livestock, *Animal Feed Science and Technology*126(3–4): 259-276.

179. ROGERS P. (2000) Control of Mineral Imbalances in Cattle and Sheep: *A Reference Manual for Advisers snd Vets.Grange Research Centre*, Teagasc, Ireland: 1-52.

180. ROGERS P. (2001) Control of cooper (Cu) Poisoning in Sheep. *Grange Research Centre, Dunsany*, Co. Meath, Ireland, [online], (cit. 28.02.2011) dostupné z http://homepage.tinet.ie/~progers/cutox.htm

181. ROKYTA R., HOLEČEK V., STOPKA P. (2006) Volné radikály: nemoci, které nelze ovlivnit antioxidanty. *Vesmír* 85: 617-619.

182. ROWE M. P., POWELL J. G., KEGLEY E. B., LESTER T. D. and RORIE R. W. (2014) Effect of supplemental trace-mineral source on bull semen quality. *Professional Animal Scientist* 30: 68-73.

183. RYŠÁNEK D. (1999) Somatické buňky v mléce. *In:* LUKÁŠOVÁ J. *et al.* Hygiena a technologie produkce mléka. Fakulta veterinární hygieny a ekologie, VFU Brno; s. 25-35

184. RYŠÁNEK, D (2005) Počet somatických buněk mléka jako prostředek monitoringu a tlumení mastitid. Veterinářství 55(6): 349-354.

185. RYŠÁNEK D. Imunita mléčné žlázy. (2009) *In:* TOMAN M., BÁRTA O, DOSTÁL J., FALDYNA M., HOLÁŇ V., HOŘÍN P., HRUBAN V., JEKLOVÁ E., KNOTEK Z., KOPECKÝ J., KOUDELA B., KREJČÍ J., NECHVÁTALOVÁ K. *Veterinární imunologie*. Elektronická kniha, Grada Publishing a.s. Praha, 2. vydání, EAN: 24767628, s. 202-207

186. SEDLÁKOVÁ M., ŠINDELÁŘ J., ILLEK J., BUREŠ J. (1998) Biochemická vyšetření krevní plazmy a krevního séra skotu. Brno, Veterinární a farmaceutická univerzita,*Veterinářství* 1: 24-25.

187. SICILIANO – JONES, J. L., SOCHA, M. T., TOMLINSON, D. J., DE FRAIN, J. M. (2008) Effect of Trace Mineral Source on Lactation Performance, Claw Integrity, and Fertility of Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* 91: 1985-1995.

188. SHANKAR A. H., PRASAD A. (1998) Zinc and immune function: the biological basis of altered resistanceto infection. *American Journal of Clinical Nutrition*; 68: 447-463

189. SCHONEWILLE J. T., RAM L., VAN´T KLOOSTER A. Th., WOUTERSE H.,BEYNEN

A. C. (1997) Intrinsic potassium in grass silage and magnesium absorption in dry cows. *Livest. Prod. Sci*. 48: 99-100.

190. SCHONEWILLE J. T., VAN´T KLOOSTER A. Th., WOUTERSE H., BEYNEN A. C. (1999) Effets of intrinsic potassium in artificially dried grass and supplemental potassium bicarbonate on apparent magnesium absorption in dry cows. *J. Dairy Sci*. 82: 1824-1830.

191. SCHONEWILLE J. T., VAN´T KLOOSTER A. T., WOUTERSE H., BEYNEN A. C. (2000) Time courses of plasma magnesium concentrations and urinary magnesium excretion incows subjected to acute changes in potassium intake. *Vet. Quart*. 22: 136-140.

192. SCHONEWILLE J. T., BEYNEN A. C. (2002) Iso-energetic replacement of artifically dried grass by concentrate increases magnesium absorption in cows (a short communication)*Fol. Vet.* 46(2): 72-74.

193. SLANINA L. *et al.* (1992) Metabolický profil havadzieho dobytka vo vzťahu k zdraviu a produkcii, 2.vyd., Bratislava, ŠVS SR – Ústav veterinárnych informácií a osvety, 117 s.

194. SMITH, G. M., WHITE C. L. (1997) A molybdenum-sulfur-cadmium interaction in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* 48(2):147-154.

195. SNEDECOR, G. W., COCHRAN, W. G. (1989) *Statistical Methods, Svazek 276*. 1. vydání. Iowa State University Press, 503 s. ISBN 978-0813815619.

196. SOBHANIRAD, S. NASERIAN, A. A. (2012) Effects of high dietary zinc concentration and zinc sources on hematology and biochemistry of blood serum in Holstein dairy cows, *Animal Feed Science and Technology* 177(3–4): 242-246.

197. SOCHA M. T., TOMLINSON D. J., JOHNSON A. B. (2002) Trace minerals recognized as important components in today's daily rations. *Technical Bulletin Zinpro Corporation.* 11 s.

198. SPEARS, J. W. (1996) Organic trace minerals in ruminant nutrition, *Animal Feed Science and Technology* 58(1–2): 151-163.

199. SPEARS J. W., KEGLEY E. B. (2002a) Effect of zinc source (zinc oxide vs. zinc proteinate) and level on performance, carcass and immune response of growing and finishing steers. *Journal of Animal Science* 80: 2747-2752.

200. SPEARS J. W. (2003) Trace mineral bioavailiblity in ruminants. J. Nutr. 133(5): 1506–1509.

201. SPEARS J. W. (2002) *Overview of mineral nutrition in cattle: The diary and beef NRC.* [online]. Proceedings 13th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, s. 113-126.[cit. 26. 06. 2014]. Dostupné z http://dairy.ifas.ufl.edu/rns/2002/spears.pdf]

202. SPEARS, J. W., WEISS, P. (2008) Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal* 176: 70–76.

203. SPEARS, J. W., LLOYD K. E., FRY R. S. (2011) Tolerance of cattle to increased dietary sulfur and effect of dietary cation-anion balance. *Journal of Animal Science*. 89(8): 2502–2509.

204. SPIEKERS H., NUßBAUM H., POTTHAST V. (2009) Erfolgreiche Milchviehfütterung. 5. vydání, DLG Verlags GmbH, Frankfurt am Main, 576 s., ISBN 978-3-7690-0730-5.

205. SPRINGMAN S.A., MADDUX J.G., DREWNOSKI M.E., FUNSTON R.N. (2018) Effects of injectable trace minerals on reproductive performance of beef heifers in adequate trace mineral status. *The Professional Animal Scientist* 34(6): 649-652.

206. STRANGE R. W., ANTONYUK S., HOUGH M. A., DOUCETTE P. A., RODRIGUEZ J. A., HART P. J., HAYWARD L. J., VALENTINE J. S., HASNAIN S. S. (2006) Variable metallation of human superoxide dismutase: atomic resolution crystal structures of Cu – Zn, Zn–Zn and as-isolated wild-type enzymes. *Journal of Molecular Biology* 356:1152-1162.

207. STANGL G. I. (2008) Mineralstoffe, Vitamine und sonstige Wirkstoffe. In: KIRCHGEßNER M., ROTH. F. X., SCHWARZ F. J., STANGL G. I. Tierernährung. 12.vydání, DLG Verlag GmbH, Frankfurt am Main, 635s., ISBN 978—3-7690-0703-9: 173-236.

208. SUBCOMMITTEE ON MINERAL TOXICITY IN ANIMALS. (2005) *Mineral tolerance of animals* [online]. 2. vyydání. Washington, D. C.: National Academies Press, 2005 [cit. 25. 02. 2014]. Dostupné z: http://site.ebrary.com/lib/natl/Doc?id=10103985.

209. SUTHERLAND R. J., BELL K. C., McSPORRAN K. D., CARTHEW G. W. (1986) A comparative study of diagnostic tests for the assessment of herd magnesium status in cattle. *N Z Vet J* 34: 133-135.

210. SUTTLE N. F. (1986) Copper deficiency in ruminints; recent developments. *Vet Rec*. 119: 519-522.

211. SUTTLE N. F. (1990) Chronic copper poissoning in sheep. „Sheep dairy News" *Journal of The British Sheep Dairying Association*. s. 7,10.

212. SUTTLE N. F. (1994) Meeting the copper requirements of ruminants recent Advances in *Anim. Nutr*. Nottingham University Press, Nottingham. 1994: 173-188.

213. SUTTLE, N.F. (2010) Copper. In *Mineral Nutrition of Livestock*, 4th ed.; CAB International: Oxfordshire, UK; pp. 255–305.

214. SUTTLE N. F. (2002) Sheep Health – Copper Poissoning. „Sheep dairy News", Modern Foundation For Anim. *Health and Welfare* 15(1)

215. SUTTLE, N. F. (2010) *The mineral nutrition of livestock*. 4. vyd., CABI Publishing, New York, 2010, pp. 579.

216. ŠÍMA, P. (2001) *Postupy laboratorního zkoušení krmiv, doplňkových látek a premixů - I.* 2. vydání. Brno: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský v Brně, Laboratorní odbor, 266 s. ISBN 80-86051-81-1.

217. ŠIMEK M., KRÁSA A., LOSSMANN J., ZEMANOVÁ D. (1995) Doporučené potřeby minerálních látek a jejich zdroje u skotu a ovcí. Mze a ÚZPI, ISSN 0231-9470, 59 s.

218. ŠIMEK M., ZEMAN L., ILLEK J., KLECKER L., ŠUSTALA M. (2002) Uplatnění organických forem zdrojů minerálních látek ve výživě hospodářských zvířat. *Krmivářství* 5(4): 32-34.

219. ŠIMEK M. (1993) Minerální krmné přísady a doplňky ve výživě zvířat – studijnií informace. Ústav zemědělských a potravinářských informací, *Živočišná výroba 3:* 59

220. ŠKARDOVÁ O., STÁDNÍK I., LOUDA F. (2001) Vliv teploty na obsah somatických buněk v mléce. *Zemědělský týdeník*: 11

221. ŠREJBEROVÁ P., ŠOCH M., BROUČEK J. (2008) Relationship between copper and zinc onselected haematological parameters in beef and dairy cattle. *Slovak Journal of Animal Science* 41: 42-45.

222. ŠREJBEROVÁ P. (2006) Obsah mědi a zinku v krevní plazmě u skotu a ovcí. Disertační práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. 151 s.

223. ŠOCH M., ŠREJBEROVÁ P., BROUČEK J. (2006) The relationship of copper and zinc with hematological parameters in beef cattle. *Journal of animal science* 84 (Suppl.1):165-165.

224. ŠOCH M., BROUČEK J., ŠREJBEROVÁ P. (2010) Effect of selected factors on mineral parameters in plasma of cows. *Archiv Tierzucht* 53(5): 510–519.

225. ŠOCH M., BROUČEK J., VYDROVÁ P., TRÁVNÍČEK J., RAABOVÁ M., UHRINČAŤ

M. (2010) Effect of environmental and management factors on hematological andtrace blood element of cows. *Slovak Journal of Animal Science*43(4): 195-204.

226. ŠOCH, M. BROUČEK, J. ŠREJBEROVÁ, P. (2011) Hematology and blood microelements ofsheep in south Bohemia. *Biológia* 66(1): 181-186.

227. ŠOCH M., VYDROVÁ P., BROUČEK J., SUCHÝ K., SMUTNÝ L., SMUTNÁ Š., ČERMÁK B., ZÁBRANSKÝ L., ŠIMKOVÁ A., ŠVEJDOVÁ K., ŠKEŘÍK V. (2013) Relationship between Copper and Zinc Content in the Soil and Plants and their Consequent Content in Blood and Excrements of Cattle and Sheep under Various Formsof Breeding. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies* 46(1): 316-320.

228. TEIXEIRA, A. G. V., LIMA, F. S., BICALHO, M. L. S., KUSSLER, A., LIMA, S. F., FELIPPE, M. J., BICALHO, R. C. (2014) Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc and manganese on immunity, health, and growth of dairy calves. *Journal of dairy science* 97(7): 4216-4226.

229. TEUFEL E. (1999) Verlaufsuntersuchungen zu Serum-Amyloid A, L-Carnitin sowie ausgewählten Stoffwechselparametern bei hochleistenden Milchkühen im peripartalen Zeitraum. *Dissertation*: Universität Leipzig.

230. TRÁVNÍČEK J., KROUPOVÁ V. (2001) Harmonizace produkčních a mimoprodukčních funkcí chovu skotu a ovcí v podhorských oblastech. Věcná etapa 7: Zdravotní aekologické důsledky zátěží u skotu a ovcí v horských a podhorských oblastech. *Výroční zpráva o řešení výzkumného záměru za rok 2001,* CEZ J06/98:122200002/7.

231. TRIGGIANI V, TAFARO E, GIAGULLI VA, SABBÀ C, RESTA F, LICCHELLI B, GUASTAMACCHIA E (2009) Role of iodine, selenium and other micronutrients in thyroid function and disorders. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 9(3): 277-94.

232. TOMAN M., BÁRTA O, DOSTÁL J., FALDYNA M., HOLÁŇ V., HOŘÍN P., HRUBAN V., JEKLOVÁ E., KNOTEK Z., KOPECKÝ J., KOUDELA B., KREJČÍ J., NECHVÁTALOVÁ K. (2009) *Veterinární imunologie*. Elektronická kniha, Grada Publishinga.s. Praha, 2. vydání, EAN: 24767628, 392 s.

233. TOMAN R., SLANEČKA J., MASSÁNYI P., ŠEBOVÁ K., TATARUCH F., JURČÍK R. (1995) Vplyv opakovaného podávania nízkych dávok Cd^{2+} na spermiogenézu, biochemické zložky krvnej plazmy a jehokumulácia v organizme zajaca poľného, *Folia Veterinaria 25:* 77-82.

234. Van den TOP A. M., GEELEN, M. J. H., WENSING, T., WENTINK, G. H., Van´T KLOOSTER, A. T., BEYNEN, A. C. (1996) Higher postpartum hepatic triacylglycerol concentrations in dairy cows with free rather than restricted access to feed during the dry period are associated with lower activities of hepatic glycerolphosphate acyltransferase. *Journal of Nutrition* 126(1): 76–85.

235. UCHIDA K., MANDEBVU P., BALLARD C. S., SNIFFEN C. J., CARTER, M. P. (2003) Effect of feeding a combination of zinc, manganese and copper amino acid complexes,and cobalt glucoheptonate on performance of early lactation high producing dairy cows.*Animal Feed Science and Technology 93*:193-203.

236. UNDERWOOD, E. J., SUTTLE, N. F. (1999) Zinc. In: *The Mineral Nutrition of Livestock*, 3.vyd. CABI Publishing, CAB International, Wallingford, Oxon UK; 624 s.

237. UNDERWOOD E. J., SUTTLE N. F. (2001) The mineral nutrition of livestock. 3. vydání CABIPublishing, New York, 2001. 614, ISBN 0-85199–128–9

238. URIU-ADAMS J. Y. A KEEN C. L. (2010) Zinc and Reproduction: Effects of Zinc Deficiency on Prenatal and Early Postnatal Development. Birth Defects Research (Part B)

89: 313–325.

239. VALDOVÁ V. (2002) Rizikové prvky. Onemocnění způsobená minerálními deficity. Deficit mědi u přežvýkavců – ovce, kozy, masný skot© Nezávislý poradce pro výživu zvířat, Brno, www.vyzivazvirat.cz

240. VALENT, M. (2003) Fyziologie hospodářských zvířat. 1. vydání. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 414 s. ISBN 80-7157-644-1.

241. VELÍŠEK, J. (2009) Chemie potravin I. Havlíčkův brod: OSSIS, 602 s., ISBN 978-80-86659-15-2.

242. VILELA F. G., ZANETTI M. A., NETTO A. S., DE FREITAS J. E., RENNO F. P., VENTURELLI B. C., CANAES T. S. (2012) Supplementation of diets for Santa Ines sheep with organic and inorganic zinc sources. *Revista brasileira de zootecnia-brazilianjournal of animal science* 41(9): 2134-2138.

243. VOHRA, A., SATYANARAYANA, T. (2003) Phytases: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. *Critical Reviews in Biotechnolgy* 23(1): 29–60.

244. VRZGULA L. *et al.* (1990) Poruchy látkového metabolizmu hospodárskych zvierať a ich prevencia. Bratislava, Príroda; 503 s.

245. VRZGULOVÁ M., BÍREŠ J., VRZGULA L. (1993) The effect of copper from industrial emissions on the seminiferous epithelium on the seminiferous epithelium in rams. *Reprod Dom Anim 28:* 108-118.

246. Vyhláška č. 415/2009 Sb. ze dne 19. listopadu 2009 o stanovení požadavků na odběr vzorků a způsobu zveřejnění metod laboratorního zkoušení produktů ke krmení.

247. WAPNIR, R. A. (2000). Zinc deficiency, malnutrition and the gastrointestinal tract. *Journal of Nutrition* 130(5): 1388–1392.

248. WARD J. D., SPEARS J. W., KEGLEY, E. B. (1993) Effect of copper level and source (copper lysine vs. Copper sulfate) on copper status, performance and immune response in growing steers fed diets with or without supplemental molybdenum and sulfur. *J Anim Sci* 71: 2748-2755.

249. WATTS L.D. (1990) Nutrient Interrelationships Minerals – Vitamins _ Endocrines. *Journal of Orthomolecular Medicine* 5(1): 11-19.

250. WEDEKIND K. J., HORTON A. E., BAKER, D. E. (1992) Methodology for assessing zinc bioavailability: Efficacy estimates for zinc methionine, zinc sulfate and zinc oxide. *Journal of Animal Science* 70: 178–197.

251. WEDEKIND, K. J., LEWIS, A. J., GIESEMANN, M. A., MILLER, P. S. (1994) Bioavailability of zinc from inorganic and organic sources for pigs fed corn-soybean meal diets. *Journal of Animal Science*, 72(10), 2681–2689. ISSN 0021-8812.

252. WHITAKER, D. A., EAYRES, H. F., AITCHISON, K., KELLY J. M. (1997) No effect of a dietary zinc proteinate on clinical mastitis, infection rate, recovery rate and somatic cellcount in dairy cows. *The Veterinary Journal* 153 (2): 197-204.

253. WILKEN H. (2004) Endotoxin-Status und Antioxidative Kapazität sowie ausgewählte Stoffwechselparameter bei gesunden Milch – und Mutterkühen. *Dissertation*: Universität Leipzig.

254. WINDISCH W. (2003) Spurenelement – und Vitaminversorgung laktierender Kühe. *30. Viehwirtschaftliche Fachtagung*, , BAL Gumpenstein [online] (cit. 22. 03. 2014) z

http://www.raumberg-gumpenstein.at/cm4/index.php/de/forschung/publikationen/downloadsveranstaltungen/finish/55-viehwirtschaftstagung-2003/100-spurenelement-windisch.html

255. WRIGHTT C. L., SPEARS J. W. (2004) Effect of zinc source and dietary level on zincmetabolism in Holstein calves. *J Dairy Sci* 87(4): 1085-1091.

256. YAMAMOTO, S., K. ITO, K. SUZUKI, Y. MATSUSHIMA, I. WATANABE, Y. WATANABE, K. ABIKO, T. KAMADA, K. SATO I. (2014) Kinematic gait analysis and lactation performance in dairy cows fed a diet supplemented with zinc, manganese,copper and cobalt. *Animal Science Journal* 85(3):330-335.

257. YOKUS B., CAKIR D.U., KURT D. (2004) Effects of seasonal and physiological variations on the serum major and trace element levels in sheep. *Biol Trace Elements Res* 101(3): 241-255.

258. YOKUS B. a CAKIR U.D. (2006) Seasonal and physiological variations in serum chemistry and mineral concentrations in cattle. *Biol Trace Elem Res* 109: 255-266.

259. ZADÁK Z. Výživa v intenzvní péči. (2008). Grada Publishing a.s., 542 s., ISBN 978-80-247-2844-5.

260. ZELENKA, J. (2010) Základy výživy dojnic ve vztahu k technice krmení. In: *Výživa zvířat a její vliv na užitkovost a zdraví zvířete*. Pohořelice: VÚCHS Rapotín, s. 6–9.

261. ZEMAN, L., TVRZNÍK, P. (2005) Stopové prvky ve výživě zvířat. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, 52 s. [online], [cit.:03.03.2009] [http://www.vuzv.cz/sites/File/vybor/tvrznik,%20Zeman-stopove%20prvky.pdf]

262. ZEMAN, L., DOLEŽAL, P., KOPŘIVA, A., MRKVICOVÁ, E., PROCHÁZKOVÁ, J., RYANT, P., SKLÁDANKA, J., STRAKOVÁ, E., SUCHÝ, P., VESELÝ, P., ZELENKA, J. (2006) *Výživa a krmení hospodářských zvířat.* 1. vydání. Praha: Profi Press, 360 s. ISBN 80-86726-17-7.

263. ZEMAN, L. a kol. (2007) Jak splnit požadavky systému "cross-compliance" v oblasti výživy akrmení zvířat. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 74 s. ISBN 978-80-7375-124-1.

264. ZERVAS G., NOKOLAU E., MANTZIOS A. (1990) Comparative study of chronic copper poissoning in lambs and young goats. Animal Production 50: 497-506.

265. ZHANG M., ZHENLI H., CALVERT D. V., STOFFELLA P. J., YANG X. (2003) Surface runoff losses of copper and zinc in sandy soils. J. of Environmental Quality 32(3): 909-915.

266. ZVÁROVÁ, J. (2016) *Základy statistiky pro biomedicínské obory*, Edice: Biomedicínská statistika (1.); Karolinum – nakladatelstvíUniverzity Karlovy, Praha, 216 s., ISBN: 978-80-246-3416-6

267. ŽOFKOVÁ, Ivana. (2012) *Osteologie a kalcium-fosfátový metabolismus: aktuální témata*. 1. vyd. Praha: Grada,142 s., ISBN 978-80-247-3919-9.

8 PŘÍLOHY

Seznam tabulek a grafů

SEZNAM TABULEK

V TEXTU:

Tab. 1	Karence zinku, mědi a manganu (dle WINDISCHE, 2003)
Tab. 2	Doporučené denní dávky makro – a mikroelementů krav dle NRC 2001.
Tab. 3	Příklady zinek dependentních metaloenzymů (upraveno dle autorů DASTYCH1997, UNDERWOOD a SUTTLE 1999 a ILLEK 2003)
Tab. 4	Střední hodnoty obsahu zinku v produktech (UNDERWOOD, SUTTLE, 2010).
Tab. 5	Synergismy a antagonismy minerálních látek

V PŘÍLOZE:

Tab. 6	Referenční hodnoty hematologických ukazatelů dojnic – srovnány podle dvouautorů (JAGOŠ, 1985), (Kraft a Dürr, 2005)
Tab. 7	Srovnání referenčních hodnot základních hematologických parametrů dojnic atelat (SLANINA et al., 1992)
Tab. 8	Referenční hodnoty biochemických ukazatelů krevní plazmy telat
Tab. 8a	Referenční hodnoty základních biochemických ukazatelů dojnic (krev, plasma,sérum), JAGOŠ, 1985
Tab. 9	Složení směsné krmné dávky pro jednotlivá období experimentu (POKUS I)
Tab. 10	Složení minerální směsi mikrop M 5-8 minerální krmivo pro skot v 1kg směsi
Tab. 11	Složení premixu (POKUS I – II)
Tab. 12	Plán suplementace 1,5 % - premixu organického zinku Zn-Met (POKUS I, II)
Tab. 13	Živinové složení směsné krmné dávky v jednotlivých obdobích pokusu v 1 kg TMR (POKUS I)
Tab. 14	Schéma krmného zásahu (pokus I a II)
Tab. 15	Fyziologické normy zinku u skotu (SLANINA *et al.*, 1992)
Tab. 16	Průměrná denní dojivost – první 3 měsíce laktace
Tab. 17	Počet somatických buněk SCC [$x10^3$ / ml] v mléce - 30–90 dní po porodu
Tab. 18	Kvalita mléka – srovnání jednotlivých komponent
Tab. 19	Hematologické parametry telat první den života
Tab. 20	Hematologické parametry krav v den porodu
Tab. 21	Hematologické parametry krav 30 dní po porodu
Tab. 22	Hematologické parametry krav 60 dní po porodu
Tab. 23	Hematologické parametry krav 90 dní po porodu
Tab. 23 a	Hematologické parametry matek a jejich telat v časové posloupnosti
Tab. 24	Hladina celkové bílkoviny v krevním séru krav
Tab. 25	Hladina albuminu v krevním séru krav
Tab. 26	Hladina močoviny v krevním séru krav

Tab. 27 Hladina glukózy v krevním séru krav
Tab. 28 Hladina bilirubinu v krevním séru krav
Tab. 29 Aktivita enzymu AST v krevním séru krav
Tab. 30 Aktivita enzymu GMT v krevním séru krav
Tab. 31 Aktivita enzymu ALP v krevním séru krav
Tab. 31 a Hladina hormonu Thyroxin T4 v krevním séru krav
Tab. 32 Biochemický profil vysokobřezích krav 21 dní a.p.
Tab. 33 Biochemický profil v krevním séru krav v den porodu
Tab. 34 Biochemický profil v krevním séru krav 1 měsíc p.p.
Tab. 35 Biochemický profil v krevním séru krav 2 měsíce p.p.
Tab. 36 Biochemický profil v krevním séru krav 3 měsíce p.p.
Tab. 37 Biochemický profil v krevním séru krav 4 měsíce p.p.
Tab. 37 a Souhrn biochemického profilu krav – 21 dní a.p. – 120 dní p.p.
Tab. 38 Koncentrace sodíku v krevním séru krav
Tab. 39 Koncentrace draslíku v krevním séru krav
Tab. 40 Koncentrace vápníku v krevním séru krav
Tab. 41 Koncentrace fosforu v krevním séru krav
Tab. 42 Koncentrace hořčíku v krevním séru krav
Tab. 43 Koncentrace zinku v krevním séru krav
Tab. 44 Koncentrace mědi v krevním séru krav
Tab. 45 Koncentrace manganu v krevním séru krav
Tab. 46 Koncentrace selenu v krevním séru krav
Tab. 47 Minerální profil v krevním séru vysokobřezích krav 21 dní a.p.
Tab. 48 Minerální profil v krevním séru krav v den porodu
Tab. 49 Minerální profil v krevním séru krav 1 měsíc p.p.
Tab. 50 Minerální profil v krevním séru krav 2 měsíce p.p
Tab. 51 Minerální profil v krevním séru krav 3 měsíce p.p.
Tab. 52 Minerální profil v krevním séru krav 4 měsíce p.p.
Tab. 52 a Souhrn minerálního profilu krav – 21 dní a.p. – 120 dní p.p.
Tab. 53 Biochemické parametry krevního séra TELAT

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1	Průměrná denní dojivost [kg/d] během prvních tří měsíců laktace
Graf 2	Počet somatických buněk [SCC x 103/ml] během prvních tří měsíců laktace
Graf 3	Komponenty mléka – procentuální zastoupení tuku, proteinu a laktózy 30., 60.a 90. den laktace
Graf 4	Hematologické parametry – TELAT – těsně po porodu matky
Graf 5	Hematologické parametry – KRAV – v den porodu
Graf 6	Hematologické parametry – KRAV - 30 dní p.p.
Graf 7	Hematologické parametry – KRAV - 60 dní p.p.
Graf 8	Hematologické parametry – KRAV - 90 dní p.p.
Graf 9	Hladina celkové bílkoviny v krevním séru krav během období rané laktace
Graf 10	Hladina albuminu v krevním séru krav během období rané laktace
Graf 11	Hladina močoviny v krevním séru krav během období rané laktace
Graf 12	Hladina glukózy v krevním séru krav během období rané laktace
Graf 13	Hladina bilirubinu v krevním séru krav během období rané laktace
Graf 14	Aktivita enzymu AST v krevním séru krav během období rané laktace
Graf 15	Aktivita enzymu GMT v krevním séru krav během období rané laktace
Graf 16	Aktivita enzymu ALP v krevním séru krav během období rané laktace
Graf 16 a	Hladina hormonu T4 v krevním séru krav během období rané laktace
Graf 17	Hladina sodíku v krevním séru krav
Graf 18	Hladina draslíku v krevním séru krav
Graf 19	Hladina vápníku v krevním séru krav
Graf 20	Hladina fosforu v krevním séru krav
Graf 21	Hladina hořčíku v krevním séru krav
Graf 22	Hladina zinku v krevním séru krav
Graf 23	Hladina mědi v krevním séru krav
Graf 24	Hladina manganu v krevním séru krav
Graf 25	Hladina selenu v krevním séru krav
Graf 26	Hladina celkové bílkoviny v krevním séru TELAT – den 7. a den 90.
Graf 27	Hladina albuminu v krevním séru TELAT – den 7. a den 90.
Graf 28	Hladina močoviny v krevním séru TELAT – 7. den a den 90.
Graf 29	Aktivita enzymu alkalická fosfatáza ALP v krvi TELAT – den 7. a den 90
Graf 30	Aktivita enzymu superoxiddismutáza SOD v krvi TELAT – den 7. a den 90.
Graf 31	Koncentrace vitaminu A v krevním séru telat – den 7. a den 90.
Graf 32	Koncentrace vitaminu E v krevním séru telat – den 7. a den 90.
Graf 33	Koncentrace mědi v krevním séru telat – den 7. a den 90.
Graf 34	Koncentrace zinku v krevním séru telat – den 7. a den 90.
Graf 35	Hladina celkových imunoglobulinů v krvi telat – den 7. a den 90

8.2 TABULKY

8.2.1 ad kap. 4 – METODIKA

Tabulka 6. Referenční hodnoty hematologických ukazatelů dojnic – srovnány podle dvou autorů (JAGOŠ, 1985), (KRAFT et DÜRR, 2005)

REFERENČNÍ HODNOTY hematologických ukazatelů DOJNIC					
		(JAGOŠ, 1985)		(KRAFT et DÜRR, 2005)	
	jednotky	min	max	min	max
Erytrocyty	(x10^{6}) T/µl	5	7	5	10
Hemoglobin	g/l	90	140	90	140
Hematokrit	l/l	0,3	0,38	0,28	0,38
Trombocyty	(x10$^{9)}$ G/l	-	-	300	800
Leukocyty	(x10$^{9)}$ G/l	6	10	5	10
MCH	pg	-	-	11	17
MCV	fl	-	-	46	65
MCHC	mmol/l	-	-	19	21

Tabulka 7. Srovnání referenčních hodnot základních hematologických parametrůdojnic a telat (SLANINA et al., 1992)

REFERENČNÍ HODNOTY hematologických ukazatelů DOJNIC A TELAT					
(SLANINA et al., 1992)	jednotky	DOJNICE		TELATA	
		min	max	min	max
Hemoglobin	g/l	93	117	90	119
Hematokrit	l/l	0,30	0,40	0,33	0,44
Leukocyty	G/l	6	10	6,2	11

Tabulka 8. Referenční hodnoty biochemických ukazatelů krevní plazmy telat

		(JAGOŠ, 1985)		(Kraft, Dürr, 2005)	
	jednotky	min	max	min	max
celková bílkovina	g/l	> 60		50	70
Albumin	g/l	30,3	42	26	37
Močovina	mmol/l	2,5	6,6	2,6	6,6
alkalická fosfatáza (ALP)	µkat/l	0,279	0,835	-	20
superoxid-dismutáza (SOD)	U/ml	-		-	-
vitamin A	µmol/l	> 0,7		> 1	
vitamin E	µmol/l	> 0,64		7,2	21
zinek (Zn)	µmol/l	12,2	45,9	16	40
měď (Cu)	µmol/l	12,6	18,9	9,4	15,7
imunoglobuliny (sérum)	g/l	> 18		-	-

Tabulka 8 a. Referenční hodnoty základních biochemických ukazatelů dojnic (krev, plazma, sérum), JAGOŠ (1985)

Ukazatel	Jednotka	Rozsah	
Celková bílkovina (CB) • Krevní plazma	[g/l]	65,0	85,0
• Krevní sérum	[g/l]	60,0	80,0
Bílkovinná frakce krevního séra • Albuminy • Alfaglobuliny • Betaglobuliny • Gamaglobuliny	[g/l]	 30,3 7,5 8,0 16,2	 42,0 10,5 13,8 26,0
Glukóza – plná krev (GLU)	[mmol/l]	3,00	3,90
Ketolátky – krev	[mg/l]	0	70
pH krve	-	7,38	7,43
Močovina (UREA)	[mmol/l]	2,50	5,00
Amoniak (NH4)	[mmol/l]	47,0	70,5
Chloridy (Cl^-)	[mmol/l]	90	110
Alkalická fosfatáza (AP)	[µkat/l]	0,279	0,835
Aspartátaminotransferáza (AST)	[µkat/l]	0,222	0,500
Alaninaminotransferáza (ALT)	[µkat/l]	0,167	0,388
Laktátdehydrogenáza (LDH)	[µkat/l]	11,12	16,73
Bilirubin	[µmol/l]	>5.0	7d p.p. >8.5
Ca	[mmol/l]	2,25	2,99
P	[mmol/l]	1,62	2,26
Mg	[mmol/l]	0,78	1,07
K	[mmol/l]	4,00	5,80
Na	[mmol/l]	136	150
Cu	[µmol/l]	12,6	18,9
Zn	[µmol/l]	12,2	45,9
Mn	[µmol/l]	1,2	1,2
Fe	[µmol/l]	21,5	35,8
Thyroxin (T_4)	nmol/l	20	60

POKUS I

Tabulka 9. Složení směsné krmné dávky pro jednotlivá období experimentu (POKUS I)

KRMNÉ DÁVKY DOJNICE V. OPATOVICE				
	Suchostojné krávy	Příprava na porod	Rozdojování	1. fáze laktace
Krmivo	**KD - 1**	**KD - 2**	**KD - 3**	**KD - 4**
	[kg]	[kg]	[kg]	[kg]
senáž vojtěška	10	8	9	11
senáž hrachová	4	5	7	7
siláž kukuřičná	6	10	14	14
LKS kukuřice	0	2	4	6
LKS kukuřice	4	6	6	8
Zákvas	0	3	3	3
seno luční	3,5	1,5	2	2
sláma krmná	3	1	1	0.5
koncentrát	1	3,5	4,5	7,5
hrách semeno	0	0.3	0.5	0.5
ječný šrot	0	2	2	3
mikrop M 5-8*	0	0,16	0,16	0,16
Monofos	0.25	0	0	0
cukr krmný	0	0	0	0.3

* Složení doplňkové minerální směsi je uvedeno v příloze v tabulce 10.

Tabulka 10. Složení minerální směsi **mikrop M 5-8** minerální krmivo pro skot v 1kg směsi

Minerální krmivo pro skot **mikrop M 5 – 8 ***	
Sušina	95 %
Vápník (Ca)	15 %
Fosfor (P)	6 %
Sodík (Na)	9 %
Hořčík (Mg)	8 %
Měď (Cu)	1000 mg
Vitamín A	800000 m.j.
Vitamín D3	80000 m.j.
Vitamín E (jako alfatokoferol)	8000 m.j.

*dihydrogen a hydrohenfosforečnan vápenatý monohydrát, uhličitan vápenatý, hydrogenuhličitan sodný, oxid hořečnatý, chlorid sodný, fosforečnan vápenosodný, uhličitan vápenohořečnatý, vit. E (alfatokoferol), síran měďnatý pentahydrát, CuSO4.5H2O, vit. A, vit. D3, kyselina křemičitá (E 551a), etoxyquin (E 324), kyselina citronová (E 330), propylgalát (E 310)

Tabulka 11. Složení premixu (POKUS I – II)

Bioplex Zn 1,5 % (Alltech, USA)	
Zinek (Zn)	15000 mg/kg
Pšeničná mouka krmná, chelát zinku hydrát aminokyselin	

Tabulka 12. Plán suplementace 1,5 % premixu Zn-Met (Alltech, USA)

Premix 1,5 % = 15.000 mg Zn / kg Dotace = **30 mg Zn / kg** sušiny **TMR**					
OBDOBÍ	Množství **přijaté SUŠINY** [**kg**/zvíře/den]	Množství **ZINKU** [**mg**/zvíře/den] **1 zvíře**	Množství **PREMIXU** [**g**/zvíře/den] **1 zvíře**	Množství **PREMIXU** do žlabu [**g**/skupina/den]	
				10 zvířat	**40 zvířat**
Před porodem	11,32	340	22,7	227	908
Příprava na porod	15,12	454	30,3	303	1212
Rozdojování	20,11	604	40,3	403	1612
Produkce	24,13	724	48,3	483	1932

Tabulka 13. **Živinové složení směsné krmné dávky v jednotlivých obdobích pokusu v 1 kg TMR (POKUS I)**

		Suchostojné krávy KD I	Příprava na porod KD II	Rozdojování KD III	1. fáze laktace KD IV
Sušina	g	11320	15120	20112	24132
NL	g	1472	2088	4132	4382
PDI - N	g	826	1356	2488	2574
PDI - E	g	721.1	1204	2412	2612
Tuk	g	245.2	312.2	885.3	988.3
Vláknina	g	3135	2865.8	3365	3268
Škrob	g	1523	2516	4472.2	4922.3
Cukry	g	122	622.3	1021	1132
NEL – S	MJ	58.1	90.3	169.3	178.6
Popel	g	926	954.6	1785	1836
Ca	g	112.3	124.6	228.3	248.6
P	g	58.2	82.1	112.5	121.6
Na	g	18.3	29.6	80.4	92.8
K	g	186.2	224.6	328.8	362
Mg	g	33.1	48.6	74.6	75.3
Cu	mg	512	588.6	865.2	886.2
Mn	mg	1623	2132	2432	2632
Zn	mg	1682	2136	2965	3236
Se	mg	12.1	14.3	18.4	19.5
I	mg	16.3	36.2	54.1	55.3
Vitamín A	m.j.	183	235132	321452	365.3
Vitamín D	m.j.	3216	41125	64521	66856
Vitamín E	m.j.	660	1236	1265	1321
Niacin	m.j.		6325	9865	10328

Tabulka 14. **Schéma krmného zásahu (pokus I)**

Skupina	Doba zkrmování	Označení krmné dávky	Množství premixu [kg/zvíře/den]
P[1]	14 dní a.p. - 1. den p.p.	KD I	0,334 [3]
K[2]			TMR [4]
P[1]	2. - 21. den p.p.	KD II	0,454 [3]
K[2]			TMR [4]
P[1]	21. až 40. den p.p.	KD III	0,604 [3]
K[2]			TMR [4]
P[1]	61. až 90. den p.p.	KD IV	0,724 [3]
K[2]			TMR [4]

[1] P – suplementovaná = pokusná skupina dojnic, které byl během experimentu zkrmován přídavek zinku v organické formě (ZnMet) ke směsné krmné dávce

[2] K – kontrolní skupina dojnic bez suplementace ke směsné krmné dávce

[3] Složky a obsah živin premixu jsou uvedeny v tabulce 11

[4] Živinové složení směsné krmné dávky je uvedeno v tabulce 13

Tabulka 15. **Fyziologické normy zinku u skotu (SLANINA *et al.*, 1992)**

	TELATA	MLADÝ SKOT	DOJNICE
Potřeba Zn *mg/kg sušiny KD*	50	50	50
Toleranční mez *mg/kg sušiny KD*	500	500	500
Referenční hodnoty v krevním séru a plazmě *µmol/kg*	12–24	12–24	12,2 - 26

8.2.2 ad kap. 4 – VÝSLEDKY A DISKUSE

POKUS I

UŽITKOVOST

Tabulka 16. **Průměrná denní dojivost – první 3 měsíce laktace**

		30 d p.p.	60 d p.p.	90 d p.p.
P-skupina	x	43.02	44.7	43.22
	SD	3.62	4.24	4.47
K-skupina	x	42.03	42.08	39.98
	SD	3.98	4.6	4.8
P - value		*	*P* ≤0.05	*P* ≤0.01

**P*> 0,1; P=pokusná; K=kontrolní

Tabulka 17. **Počet somatických buněk SCC [x10^3 / ml] v mléce**

		30 d p.p.	60 d p.p.	90 d p.p.
P-skupina	x	94.76	92.72	66.67
	SD	91.62	80.55	81.12
K-skupina	x	150.05	165.98	177.6
	SD	162.61	173.09	172.33
P - value		*	*P* ≤0.05	*P* ≤0.001

**P*> 0,1; P=pokusná; K=kontrolní

Tabulka 18. **Kvalita mléka – srovnání jednotlivých komponent**

		30 d p.p.			60 d p.p.			90 d p.p.		
		mléčný TUK [%]	mléčný PROTEIN [%]	mléčný cukr LAKTÓZA [%]	mléčný TUK [%]	mléčný PROTEIN [%]	mléčný cukr LAKTÓZA [%]	mléčný TUK [%]	mléčný PROTEIN [%]	mléčný cukr LAKTÓZA [%]
P-skupina	x	3.69	3.19	4.93	4.01	3.19	4.91	3.98	3.39	4.88
	SD	0.41	0.3	0.23	0.45	0.3	0.38	0.45	0.22	0.22
K-skupina	x	3.52	3.16	4.9	3.31	3.08	4.96	3.26	3.26	4.83
	SD	0.81	0.32	0.31	0.59	0.22	0.2	0.45	0.2	0.44
	P -value	*	*	*	*P ≤0.01*	*P≤0.05*	*	*P ≤0.01*	*P ≤0.01*	*

'*P*> 0,1; P=pokusná; K=kontrolní

POKUS I

HEMATOLOGIE

Tabulka 19.

Hematologické parametry - TELATA - těsně po porodu matky									
Parameter		WBC	RBC	HGB	HCT	PLT	MCV	MCH	MCHC
Jednotka		[10^3/mm^3]	[10^6/mm^3]	[g/dl]	[%]	[10^3/mm^3]	[fl]	[pg]	[g/dl]
Referenční mez		5.0-10.0	4.00-12.00	9.00-14.00	28-38	300-800	46-65	11.0-17.0	31-34
P-skupina	x	9.34	7.05	9.38	29.28	321.90	41.50	13.43	32.34
	SD	2.26	1.26	1.30	5.29	75.95	1.64	0.81	2.29
K-skupina	x	7.43	4.78	8.25	22.12	309.08	39.40	15.41	29.32
	SD	2.85	1.17	1.35	5.85	71.14	2.30	3.37	11.32
	P	*	≤0.001	*	≤0.01	*	≤0.05	*	*

*rozdíl není signifikantní ($P \geq 0.05$); *P* = statisticky výynamný rozdíl ($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.001$); P = pokusná; K = kontrolní; x = střední hodnota; SD = standard deviation WBC = bílé krvinky; RBC = červené krvinky; HGB = hemoglobin; HCT = hematokrit; PLT = krevní destičky; MCV = střední objem erytrocytu; MCH = střední hodnota hemoglobinu ; MCHC = střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu

Tabulka 20.

Hematologické parametry - KRÁVY - v den porodu									
Parameter		WBC	RBC	HGB	HCT	PLT	MCV	MCH	MCHC
Jednotka		[10^3/mm^3]	[10^6/mm^3]	[g/dl]	[%]	[10^3/mm^3]	[fl]	[pg]	[g/dl]
Referenční mez		5.0-10.0	5.00-10.00	9.00-14.00	28-38	300-800	46-65	11.0-17.0	31-34
P-skupina	x	6.54	6.20	10.60	30.56	353.10	49.42	17.12	34.68
	SD	3.00	0.44	0.68	1.77	111.77	4.25	1.25	1.72
K-skupina	x	8.35	5.47	9.53	25.52	233.33	47.10	17.91	37.20
	SD	2.83	0.49	1.00	1.33	99.74	2.94	2.54	4.12
	P	*	≤0.01	≤0.01	≤0.001	≤0.01	*	*	*

*rozdíl není signifikantní ($P \geq 0.05$); *P* = statisticky výynamný rozdíl ($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.001$); P = pokusná; K = kontrolní; x = střední hodnota; SD = standard deviation WBC = bílé krvinky; RBC = červené krvinky; HGB = hemoglobin; HCT = hematokrit; PLT = krevní destičky; MCV = střední objem erytrocytu; MCH = střední hodnota hemoglobinu ; MCHC = střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu

Tabulka 21.

Hematologické parametry - KRÁVY - 30 dní p.p.									
Parameter		WBC	RBC	HGB	HCT	PLT	MCV	MCH	MCHC
Jednotka		[10^3/mm^3]	[10^6/mm^3]	[g/dl]	[%]	[10^3/mm^3]	[fl]	[pg]	[g/dl]
Referenční mez		5.0-10.0	5.00-10.00	9.00-14.00	28-38	300-800	46-65	11.0-17.0	31-34
P-skupina	x	8.18	6.22	10.16	29.47	320.20	48.10	14.85	30.87
	SD	2.52	0.97	0.68	2.50	65.94	4.62	1.57	0.58
K-skupina	x	9.58	5.40	9.81	26.17	296.37	44.02	15.85	34.56
	SD	2.31	0.67	0.88	1.81	61.78	2.80	1.35	2.67
	P	≤0.05	≤0.05	≤0.01	≤0.01	≤0.05	≤0.05	*	≤0.001

*rozdíl není signifikantní ($P \geq 0.05$); *P* = statisticky výynamný rozdíl ($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.001$); P = pokusná; K = kontrolní; x = střední hodnota; SD = standard deviation WBC = bílé krvinky; RBC = červené krvinky; HGB = hemoglobin; HCT = hematokrit; PLT = krevní destičky; MCV = střední objem erytrocytu; MCH = střední hodnota hemoglobinu ; MCHC = střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu

Tabulka 22.

Hematologické parametry - KRÁVY - 60 dní p.p.									
Parameter		WBC	RBC	HGB	HCT	PLT	MCV	MCH	MCHC
Jednotka		[10^3/mm^3]	[10^6/mm^3]	[g/dl]	[%]	[10^3/mm^3]	[fl]	[pg]	[g/dl]
Referenční mez		5.0-10.0	5.00-10.00	9.00-14.00	28-38	300-800	46-65	11.0-17.0	31-34
P-skupina	x	7.95	6.34	10.12	27.98	324.30	44.26	16.04	36.30
	SD	0.75	0.52	0.68	2.24	58.82	3.70	1.30	0.72
K-skupina	x	5.95	4.81	9.29	21.96	296.27	45.64	19.35	42.36
	SD	0.86	0.31	0.78	1.81	48.22	2.62	1.05	0.66
	P	≤0.01	≤0.001	≤0.05	≤0.01	≤0.05	*	≤0.001	≤0.001

*rozdíl není signifikantní ($P \geq 0.05$); *P* = statisticky výynamný rozdíl ($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.001$); P = pokusná; K = kontrolní; x = střední hodnota; SD = standard deviation WBC = bílé krvinky; RBC = červené krvinky; HGB = hemoglobin; HCT = hematokrit; PLT = krevní destičky; MCV = střední objem erytrocytu; MCH = střední hodnota hemoglobinu ; MCHC = střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu

Tabulka 23.

Hematologické parametry - KRÁVY - 90 dní p.p.									
Parameter		WBC	RBC	HGB	HCT	PLT	MCV	MCH	MCHC
Jednotka		[10^3/mm^3]	[10^6/mm^3]	[g/dl]	[%]	[10^3/mm^3]	[fl]	[pg]	[g/dl]
Referenční mez		5.0-10.0	5.00-10.00	9.00-14.00	28-38	300-800	46-65	11.0-17.0	31-34
P-skupina	x	5.49	4.41	9.09	22.32	416.00	53.40	23.80	42.80
	SD	0.78	0.52	0.66	1.97	68.85	3.03	1.78	2.74
K-skupina	x	5.82	4.37	8.86	21.22	340.00	48.25	22.11	45.88
	SD	1.29	0.35	1.37	2.41	105.91	2.69	1.56	2.35
	P	*	*	*	≤0.01	*	≤0.01	*	≤0.05

*rozdíl není signifikantní ($P \geq 0.05$); *P* = statisticky výynamný rozdíl ($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.001$); P = pokusná; K = kontrolní; x = střední hodnota; SD = standard deviation WBC = bílé krvinky; RBC = červené krvinky; HGB = hemoglobin; HCT = hematokrit; PLT = krevní destičky; MCV = střední objem erytrocytu; MCH = střední hodnota hemoglobinu ; MCHC = střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu

Tabulka 23 a. Hematologické parametry matek a jejich telat v časové posloupnosti
(In: *Polish Journal of Veterinary Sciences*)

Parameter Unit Physiol. range			Calves Day of Birth	Cows Partrus	Cows 30 d p.p.	Cows 60 d p.p.	Cows 90 d p.p.
WBC	S-group	x	9.34	6.54	8.18	7.95	5.49
		SD	2.26	3.00	2.52	0.75	0.78
[10^3/mm^3]	C-group	x	7.34	8.35	9.58	5.95	5.82
		SD	2.85	2.83	2.31	0.86	1.29
<5.0;10.0>		*P*	*	*	≤0.05	≤0.01	*
RBC	S-group	x	7.05	6.20	6.22	6.34	4.41
		SD	1.26	0.44	0.97	0.52	0.52
[10^6/mm^3]	C-group	x	4.78	5.47	5.40	4.81	4.37
		SD	1.17	0.49	0.67	0.31	0.35
<5.0;10.0>		*P*	≤0.001	≤0.01	≤0.05	≤0.001	*
HGB	S-group	x	9.38	10.60	10.16	10.12	9.09
		SD	1.30	0.68	0.68	0.68	0.66
[g/dl]	C-group	x	8.25	9.53	9.81	9.29	8.86
		SD	1.35	1.00	0.88	0.78	1.37
<9.0;14.0>		*P*	*	≤0.01	≤0.01	≤0.05	*
HCT	S-group	x	29.28	30.56	29.47	27.98	22.32
		SD	5.29	1.77	2.50	2.24	1.97
[%]	C-group	x	22.12	25.52	26.17	21.96	21.22
		SD	5.85	1.33	1.81	1.81	2.41
<28.0;38.0>		*P*	≤0.01	≤0.001	≤0.01	≤0.01	≤0.01
PLT	S-group	x	321.90	353.10	320.20	324.30	416.00
		SD	75.95	111.77	65.94	58.82	68.85
[10^3/mm^3]	C-group	x	309.08	233.33	296.37	296.27	340.00
		SD	71.14	99.74	61.78	48.22	105.91
<300;800>		*P*	*	≤0.01	≤0.05	≤0.05	*
MCV	S-group	x	41.50	49.42	48.10	44.26	53.40
		SD	1.64	4.25	4.62	3.70	3.03
[fl]	C-group	x	39.40	47.10	44.02	45.64	48.25
		SD	2.30	2.94	2.80	2.62	2.69
<46.0;65.0>		*P*	≤0.05	*	≤0.05	*	≤0.01
MCH	S-group	x	13.43	17.12	14.85	16.04	23.80
		SD	0.81	1.25	1.57	1.30	1.78
[pg]	C-group	x	15.41	17.91	15.85	19.35	22.11
		SD	3.37	2.54	1.35	1.05	1.56
<11.0;17.0>		*P*	*	*	*	≤0.001	*
MCHC	S-group	x	32.34	34.68	30.87	36.30	42.80
		SD	2.29	1.72	0.58	0.72	2.74
[g/dl]	C-group	x	29.32	37.20	34.56	42.36	45.88
		SD	11.32	4.12	2.67	0.66	2.35
<31.0;34.0>		*P*	*	*	≤0.001	≤0.001	≤0.05

*Not significant difference ($P \geq 0.05$); *P* = significant difference ($P < 0.05$); S = supplemented; C = control; x = mean value; SD = standard deviation WBC = white blood cells; RBC = red blood cells; HGB = haemoglobin; HCT = haematocrit; PLT = platelets; MCV = mean corpuscular volume; MCH = mean corpuscular haemoglobin ; MCHC = mean corpuscular haemoglobin concentration

POKUS I

BIOCHEMIE

Tabulka 24. Hladina **celkové bílkoviny** v krvi krav

CELKOVÁ BÍLKOVINA [g/l]								
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
TP [g/l]	POKUS	x	69.09	76.53	73.04	72.59	74.17	74.34
		SD	2.49	1.99	1.28	1.12	1.19	3.10
	KONTROLA	x	67.25	76.30	73.16	73.45	74.51	74.83
		SD	3.04	2.62	1.48	1.21	0.92	1.54
		P	*	*	*	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl $P > 0.05$; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 25. Hladina **albuminu** v krvi krav

ALBUMIN [g/l]								
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
ALB [g/l]	POKUS	x	34.36	35.04	33.63	33.22	33.53	33.35
		SD	1.07	0.74	0.47	0.77	0.59	1.46
	KONTROLA	x	34.20	34.51	33.77	33.83	33.82	33.44
		SD	1.00	0.99	0.51	0.70	0.50	0.78
		P	*	*	*	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl $P > 0.05$; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 26. Hladina **močoviny** v krvi krav

MOČOVINA [mmol/l]								
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
UREA [mmol/l]	POKUS	x	3.93	3.46	4.45	5.11	5.03	5.28
		SD	0.19	0.22	0.32	0.20	0.31	0.37
	KONTROLA	x	3.77	3.32	4.24	5.35	5.14	5.45
		SD	0.19	0.23	0.21	0.28	0.35	0.34
		P	≤ 0,05	*	≤ 0,05	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl $P > 0.05$; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 27. Hladina **glukózy** v krevním séru krav

			GLUKÓZA [mmol/l]					
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
Glu [mmol/l]	POKUS	x	3.72	3.96	3.09	2.99	3.11	3.13
		SD	0.15	0.15	0.09	0.10	0.08	0.04
	KONTROLA	x	3.58	4.17	3.12	2.98	3.15	3.19
		SD	0.24	0.41	0.13	0.09	0.09	0.03
		P	*	*	*	*	*	≤ 0,01

* statisticky nevýznamný rozdíl *P* >0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 28. Hladina **bilirubinu** v krevním séru krav

			BILIRUBIN [µmol/l]					
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
BIL [µmol/l]	POKUS	x	3.56	5.96	4.13	3.98	3.71	3.29
		SD	0.39	0.57	0.36	0.21	0.47	0.42
	KONTROLA	x	3.37	5.61	3.73	3.66	3.85	3.65
		SD	0.45	0.98	0.38	0.45	0.26	0.31
		P	*	*	≤ 0,05	≤ 0,05	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P* >0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 29. Aktivita enzymu **AST** v krevním séru krav

			ASPARTÁT-AMINO-TRANSFERÁZA [µkat/l]					
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
AST [µkat/l]	POKUS	x	1.38	1.46	1.49	1.52	1.38	1.43
		SD	0.04	0.04	0.07	0.08	0.26	0.05
	KONTROLA	x	1.39	1.47	1.52	1.57	1.39	1.42
		SD	0.04	0.03	0.07	0.07	0.03	0.04
		P	*	*	*	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P* >0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost

Tabulka 30. Aktivita enzymu **GMT** v krevním séru krav

			GAMA-GLUTAMYL-TRANSFERÁZA [µkat/l]					
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
GGT (GMT) [µkat/l]	POKUS	x	0.24	0.26	0.38	0.40	0.34	0.34
		SD	0.03	0.03	0.09	0.07	0.05	0.04
	KONTROLA	x	0.25	0.31	0.42	0.42	0.40	0.39
		SD	0.05	0.04	0.07	0.06	0.05	0.03
		P	*	≤ 0,01	*	*	≤ 0,01	≤ 0,001

* statisticky nevýznamný rozdíl *P* >0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 31. Aktivita enzymu **ALP** v krevním séru krav

			ALKALICKÁ FOSFATÁZA [µkat/l]					
			21d a.p.	partus	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
ALP [µkat/l]	POKUS	x	0.36	0.40	0.60	0.63	0.52	0.53
		SD	0.07	0.07	0.10	0.10	0.07	0.05
	KONTROLA	x	0.34	0.38	0.56	0.67	0.58	0.59
		SD	0.05	0.05	0.10	0.07	0.10	0.08
		P	*	*	*	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl $P > 0.05$; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 31 a. Hladina hormonu **THYROXINU T_4** v krevním séru krav

			THYROXIN [nmol/l]					
			21d a.p.	partus	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
T4 [nmol/l]	POKUS	x	78.09	78.85	72.78	63.44	47.94	39.69
		SD	7.16	4.79	6.22	3.94	8.43	4.23
	KONTROLA	x	83.78	83.60	72.34	61.89	45.27	37.88
		SD	8.70	4.11	3.74	5.98	6.61	3.66
		P	*	≤ 0,05	*	≤ 0,05	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl $P > 0.05$; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Biochemický profil krav v jednotlivých měsících

Tabulka 32.

Biochemický profil krav vysokobřezích krav 21 dní a.p.

		CB g/l	Albumin g/l	Urea mmol/l	Glu mmol/l	Bilirubin µmol/l	AST µkat/l	GMT µkat/l	ALP µkat/l	T4 nmol/l
POKUS	x	69.09	34.36	3.93	3.72	3.56	1.38	0.24	0.36	78.09
	SD	2.49	1.07	0.19	0.15	0.39	0.04	0.03	0.07	7.16
KONTROLA	x	67.25	34.20	3.77	3.58	3.37	1.39	0.25	0.34	83.78
	SD	3.04	1.00	0.19	0.24	0.45	0.04	0.05	0.05	8.70
	P	*	*	*	*	*	*	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl $P > 0.05$; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 33.

Biochemický profil krav v den porodu

		CB g/l	Albumin g/l	Urea mmol/l	Glu mmol/l	Bilirubin µmol/l	AST µkat/l	GMT µkat/l	ALP µkat/l	T4 nmol/l
POKUS	x	76.53	35.04	3.46	3.96	5.96	1.46	0.26	0.40	78.85
	SD	1.99	0.74	0.22	0.15	0.57	0.04	0.03	0.07	4.79
KONTROLA	x	76.30	34.51	3.32	4.17	5.61	1.47	0.31	0.38	83.60
	SD	2.62	0.99	0.23	0.41	0.98	0.03	0.04	0.05	4.11
	P	*	*	*	*	*	*	**≤ 0,01**	*	**≤ 0,05**

* statisticky nevýznamný rozdíl $P > 0.05$; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 34.

Biochemický profil krav 1 měsíc p.p.

		CB g/l	Albumin g/l	Urea mmol/l	Glu mmol/l	Bilirubin µmol/l	AST µkat/l	GMT µkat/l	ALP µkat/l	T4 nmol/l
POKUS	x	73.04	33.63	4.45	3.09	4.13	1.49	0.38	0.60	72.78
	SD	1.28	0.47	0.32	0.09	0.36	0.07	0.09	0.10	6.22
KONTROLA	x	73.16	33.77	4.24	3.12	3.73	1.52	0.42	0.56	72.34
	SD	1.48	0.51	0.21	0.13	0.38	0.07	0.07	0.10	3.74
	P	*	*	*	*	**≤ 0,05**	*	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P* >0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 35.

Biochemický profil krav 1 měsíc p.p.

		CB g/l	Albumin g/l	Urea mmol/l	Glu mmol/l	Bilirubin µmol/l	AST µkat/l	GMT µkat/l	ALP µkat/l	T4 nmol/l
POKUS	x	73.04	33.63	4.45	3.09	4.13	1.49	0.38	0.60	72.78
	SD	1.28	0.47	0.32	0.09	0.36	0.07	0.09	0.10	6.22
KONTROLA	x	73.16	33.77	4.24	3.12	3.73	1.52	0.42	0.56	72.34
	SD	1.48	0.51	0.21	0.13	0.38	0.07	0.07	0.10	3.74
	P	*	*	*	*	**≤ 0,05**	*	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P* >0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 36.

Biochemický profil krav 3 měsíce p.p.

		CB g/l	Albumin g/l	Urea mmol/l	Glu mmol/l	Bilirubin µmol/l	AST µkat/l	GMT µkat/l	ALP µkat/l	T4 nmol/l
POKUS	x	74.17	33.53	5.03	3.11	3.71	1.38	0.34	0.52	47.94
	SD	1.19	0.59	0.31	0.08	0.47	0.26	0.05	0.07	8.43
KONTROLA	x	74.51	33.82	5.14	3.15	3.85	1.39	0.40	0.58	45.27
	SD	0.92	0.50	0.35	0.09	0.26	0.03	0.05	0.10	6.61
	P	*	*	*	*	*	*	**≤ 0,01**	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P* >0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 37.

Biochemický profil krav 4 měsíce p.p.

		CB g/l	Albumin g/l	Urea mmol/l	Glu mmol/l	Bilirubin µmol/l	AST µkat/l	GMT µkat/l	ALP µkat/l	T4 nmol/l
POKUS	x	74.34	33.35	5.28	3.13	3.29	1.43	0.34	0.53	39.69
	SD	3.10	1.46	0.37	0.04	0.42	0.05	0.04	0.05	4.23
KONTROLA	x	74.83	33.44	5.45	3.19	3.65	1.42	0.39	0.59	37.88
	SD	1.54	0.78	0.34	0.03	0.31	0.04	0.03	0.08	3.66
	P	*	*	*	**≤ 0,01**	*	*	**≤ 0,001**	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P* >0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 37 a. Souhrn biochemického profilu krav – 21 dní a.p. – 120 dní p.p. (In: *Polish Journal of Veterinary Sciences*)

Parameter Unit Physiological range			21d a.p.	partus	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
TP [g/l] <60;80>	S-group	x	69.09	76.53	73.04	72.59	74.17	74.34
		SD	2.49	1.99	1.28	1.12	1.19	3.10
	C-group	x	67.25	76.30	73.16	73.45	74.51	74.83
		SD	3.04	2.62	1.48	1.21	0.92	1.54
		P	*	*	*	*	*	*
ALB [g/l] <30;40>	S-group	x	34.36	35.04	33.63	33.22	33.53	33.35
		SD	1.07	0.74	0.47	0.77	0.59	1.46
	C-group	x	34.20	34.51	33.77	33.83	33.82	33.44
		SD	1.00	0.99	0.51	0.70	0.50	0.78
		P	*	*	*	*	*	*
UREA [mmol/l] <3.3;5.0>	S-group	x	3.93	3.46	4.45	5.11	5.03	5.28
		SD	0.19	0.22	0.32	0.20	0.31	0.37
	C-group	x	3.77	3.32	4.24	5.35	5.14	5.45
		SD	0.19	0.23	0.21	0.28	0.35	0.34
		P	≤ 0,05	*	≤ 0,05	*	*	*
GLU [mmol/l] <2.2;3.3>	S-group	x	3.72	3.96	3.09	2.99	3.11	3.13
		SD	0.15	0.15	0.09	0.10	0.08	0.04
	C-group	x	3.58	4.17	3.12	2.98	3.15	3.19
		SD	0.24	0.41	0.13	0.09	0.09	0.03
		P	*	*	*	*	*	≤ 0,01
BIL [µmol/l] ≤ 8,5	S-group	x	3.56	5.96	4.13	3.98	3.71	3.29
		SD	0.39	0.57	0.36	0.21	0.47	0.42
	C-group	x	3.37	5.61	3.73	3.66	3.85	3.65
		SD	0.45	0.98	0.38	0.45	0.26	0.31
		P	*	*	≤ 0,05	≤ 0,05	*	*
AST [µkat/l] ≤1.334	S-group	x	1.38	1.46	1.49	1.52	1.38	1.43
		SD	0.04	0.04	0.07	0.08	0.26	0.05
	C-group	x	1.39	1.47	1.52	1.57	1.39	1.42
		SD	0.04	0.03	0.07	0.07	0.03	0.04
		P	*	*	*	*	*	*
GGT [µkat/l] ≤0.834	S-group	x	0.24	0.26	0.38	0.40	0.34	0.34
		SD	0.03	0.03	0.09	0.07	0.05	0.04
	C-group	x	0.25	0.31	0.42	0.42	0.40	0.39
		SD	0.05	0.04	0.07	0.06	0.05	0.03
		P	*	≤ 0,01	*	*	≤ 0,01	≤ 0,001
ALP [µkat/l] ≤0.834	S-group	x	0.36	0.40	0.60	0.63	0.52	0.53
		SD	0.07	0.07	0.10	0.10	0.07	0.05
	C-group	x	0.34	0.38	0.56	0.67	0.58	0.59
		SD	0.05	0.05	0.10	0.07	0.10	0.08
		P	*	*	*	*	*	*
T_4 [nmol/l] <49;106>	S-group	x	78.09	78.85	72.78	63.44	47.94	39.69
		SD	7.16	4.79	6.22	3.94	8.43	4.23
	C-group	x	83.78	83.60	72.34	61.89	45.27	37.88
		SD	8.70	4.11	3.74	5.98	6.61	3.66
		P	*	≤ 0,05	*	≤ 0,05	*	*

*Not significant difference; *P* = significant difference (*P* <0.05); S = supplemented; C = control; x = mean value; SD = standard deviation; a.p. = ante partum; p.p. = post partum; TP = total protein; ALB = albumin; BIL = bilirubin; AST = aspartate aminotransferase; GGT = gamma glutamyl transferase; ALP = alanine aminotransferase; T4 = thyroxin

POKUS I – MINERÁLNÍ LÁTKY

Tabulka 38. Koncentrace **sodíku** v krevní séru krav

SODÍK [mmol/l]								
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
Na [mmol/l]	POKUS	x	143.50	148.10	144.20	144.40	145.50	144.60
		SD	2.74	1.62	1.53	1.82	1.67	2.14
	KONTROLA	x	143.20	146.90	144.40	144.60	145.10	143.60
		SD	2.44	2.54	2.01	1.87	1.78	1.82
		P	*	*	*	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P*>0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 39. Koncentrace **draslíku** v krevní séru krav

DRASLÍK [mmol/l]								
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
K [mmol/l]	POKUS	x	4.43	4.30	4.36	4.50	4.54	4.53
		SD	0.16	0.12	0.09	0.07	0.12	0.20
	KONTROLA	x	4.36	4.29	4.52	4.52	4.50	4.56
		SD	0.13	0.12	0.10	0.13	0.14	0.10
		P	*	*	≤ 0,01	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P*>0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 40. Koncentrace **vápníku** v krevním séru krav

VÁPNÍK [mmol/l]								
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
Ca [mmol/l]	POKUS	x	2.40	2.12	2.30	2.36	2.37	2.37
		SD	0.07	0.12	0.05	0.02	0.05	0.03
	KONTROLA	x	2.49	2.13	2.32	2.35	2.38	2.40
		SD	0.06	0.11	0.05	0.04	0.03	0.03
		P	*	*	*	*	*	≤ 0,05

* statisticky nevýznamný rozdíl *P*>0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 41. Koncentrace **fosforu** v krevní séru krav

FOSFOR [mmol/l]								
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
P [mmol/l]	POKUS	x	1.95	1.82	2.02	2.02	2.05	2.08
		SD	0.07	0.08	0.06	0.06	0.04	0.06
	KONTROLA	x	1.96	1.86	2.04	2.04	2.07	2.07
		SD	0.09	0.06	0.07	0.07	0.05	0.06
		P	*	*	*	*	≤ 0,05	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P*>0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 42. Koncentrace **hořčíku** v krevní séru krav

			HOŘČÍK [mmol/l]					
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
Mg [mmol/l]	POKUS	x	0.97	0.93	0.97	0.95	0.98	1.02
		SD	0.08	0.05	0.03	0.03	0.04	0.05
	KONTROLA	x	0.96	0.91	0.98	0.94	0.96	1.00
		SD	0.05	0.04	0.05	0.02	0.04	0.05
		P	*	≤ 0,05	*	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P* >0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 43. Koncentrace **zinku** v krevní séru krav

			ZINEK [µmol/l]					
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
Zn [µmol/l]	POKUS	x	10.28	11.09	13.34	14.38	14.76	15.15
		SD	1.23	0.80	0.78	0.78	0.91	0.89
	KONTROLA	x	10.39	9.56	11.21	11.30	11.02	10.70
		SD	1.17	0.92	1.21	1.06	1.13	1.04
		P	*	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001

* statisticky nevýznamný rozdíl *P* >0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická

Tabulka 44. Koncentrace **mědi** v krevní séru krav

			MĚĎ [µmol/l]					
			21d a.p.	porod	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
Cu [µmol/l]	POKUS	x	12.04	11.21	13.15	13.01	13.29	12.62
		SD	0.98	0.86	0.91	0.35	0.57	0.88
	KONTROLA	x	11.72	11.05	12.99	13.00	13.09	13.10
		SD	0.82	0.87	0.83	1.01	0.81	1.05
		P	*	*	*	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P* >0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 45. Koncentrace **manganu** v krevní séru krav

			MANGAN [µg/l]					
			21d a.p.	partus	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
Mn [µg/l]	S-group	x	8.34	8.25	8.04	8.61	8.55	9.91
		SD	0.91	0.53	0.30	0.68	0.59	1.28
	C-group	x	8.33	8.07	8.32	9.01	10.12	10.60
		SD	1.28	0.92	0.39	0.63	1.08	1.21
		P	*	*	≤ 0,05	*	≤ 0,001	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P* >0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 46. Koncentrace **selenu** v krevní séru krav

			SELEN [µg/l]					
			21d a.p.	partus	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
Se [µg/l]	POKUS	x	105.59	99.02	103.17	104.03	102.89	105.99
		SD	10.63	5.44	6.87	8.70	9.07	7.75
	KONTROLA	x	102.47	92.67	102.13	103.53	102.69	105.21
		SD	13.69	8.15	8.98	10.11	7.33	7.85
		P	*	*	*	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl $P>0.05$; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Minerálních profilů krav v jednotlivých měsících

Tabulka 47.

Minerální profil krav vysokobřezích krav 21 dní a.p

		Na mmol/l	K mmol/l	Ca mmol/l	P mmol/l	Mg mmol/l	Zn µmol/l	Cu µmol/l	Mn µg/l	Se µg/l
POKUS	x	143.50	4.43	2.40	1.95	0.97	10.28	12.04	8.34	105.59
	SD	2.74	0.16	0.07	0.07	0.08	1.23	0.98	0.91	10.63
KONTROLA	x	143.20	4.36	2.49	1.96	0.96	10.39	11.72	8.33	102.47
	SD	2.44	0.13	0.06	0.09	0.05	1.17	0.82	1.28	13.69
	P	*	*	*	*	*	*	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl $P>0.05$; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 48.

Minerální profil krav vysokobřezích krav v den porodu

		Na mmol/l	K mmol/l	Ca mmol/l	P mmol/l	Mg mmol/l	Zn µmol/l	Cu µmol/l	Mn µg/l	Se µg/l
POKUS	x	148.10	4.30	2.12	1.82	0.97	11.09	11.21	8.25	99.02
	SD	1.62	0.12	0.12	0.08	0.08	0.80	0.86	0.53	5.44
KONTROLA	x	146.90	4.29	2.13	1.86	0.91	9.56	11.05	8.07	92.67
	SD	2.54	0.12	0.11	0.06	0.04	0.92	0.87	0.92	8.15
	P	*	*	*	*	**≤ 0,05**	**≤ 0,01**	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl $P>0.05$; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 49.

Minerální profil krav 1 měsíc p.p.

		Na mmol/l	K mmol/l	Ca mmol/l	P mmol/l	Mg mmol/l	Zn µmol/l	Cu µmol/l	Mn µg/l	Se µg/l
POKUS	x	144.20	4.36	2.30	2.02	0.97	13.34	13.15	8.04	103.17
	SD	1.53	0.09	0.05	0.06	0.03	0.78	0.91	0.30	6.87
KONTROLA	x	144.40	4.52	2.32	2.04	0.98	11.21	12.99	8.32	102.13
	SD	2.01	0.10	0.05	0.07	0.05	1.21	0.83	0.39	8.98
	P	*	**≤ 0,001**	*	*	*	**≤ 0,001**	*	**≤ 0,05**	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P*>0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 50.

Minerální profil krav 2 měsíce p.p.

		Na mmol/l	K mmol/l	Ca mmol/l	P mmol/l	Mg mmol/l	Zn µmol/l	Cu µmol/l	Mn µg/l	Se µg/l
POKUS	x	144.40	4.50	2.36	2.02	0.97	14.38	13.01	8.61	104.03
	SD	1.82	0.07	0.02	0.06	0.03	0.78	0.35	0.68	8.70
KONTROLA	x	144.60	4.52	2.35	2.04	0.98	11.30	13.00	9.01	103.53
	SD	1.87	0.13	0.04	0.07	0.05	1.06	1.01	0.63	10.11
	P	*	*	*	*	*	**≤ 0,001**	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P*>0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 51.

Minerální profil krav 3 měsíce p.p.

		Na mmol/l	K mmol/l	Ca mmol/l	P mmol/l	Mg mmol/l	Zn µmol/l	Cu µmol/l	Mn µg/l	Se µg/l
POKUS	x	145.50	4.54	2.37	2.05	0.93	14.76	13.29	8.55	102.89
	SD	1.67	0.12	0.05	0.04	0.04	0.91	0.57	0.59	9.07
KONTROLA	x	145.10	4.50	2.38	2.07	0.96	11.02	13.09	10.12	102.69
	SD	1.78	0.14	0.03	0.05	0.04	1.13	0.81	1.08	7.33
	P	*	*	*	**≤ 0,05**	*	**≤ 0,001**	*	**≤ 0,001**	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P*>0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 52.

Minerální profil krav 4 měsíce p.p.

		Na mmol/l	K mmol/l	Ca mmol/l	P mmol/l	Mg mmol/l	Zn µmol/l	Cu µmol/l	Mn µg/l	Se µg/l
POKUS	x	144.60	4.53	2.37	2.08	0.97	15.15	12.62	9.91	105.99
	SD	2.14	0.20	0.03	0.06	0.06	0.89	0.88	1.28	7.75
KONTROLA	x	143.60	4.56	2.40	2.07	1.00	10.70	13.10	10.60	105.21
	SD	1.82	0.10	0.03	0.06	0.05	1.04	1.05	1.21	7.85
	P	*	*	**≤ 0,05**	*	*	**≤ 0,001**	*	*	*

* statisticky nevýznamný rozdíl *P*>0.05; x = aritmetický průměr souboru; SD = směrodatná odchylka; *P* = statistická významnost rozdílu

Tabulka 52 a. Souhrn minerálního profilu krav – 21 dní a.p. – 120 dní p.p.
(In: *Polish Journal of Veterinary Sciences*)

Parameter Unit Physiological range			21d a.p.	partus	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
Na [mmol/l] <135;150>	S-group	x	143.50	148.10	144.20	144.40	145.50	144.60
		SD	2.74	1.62	1.53	1.82	1.67	2.14
	C-group	x	143.20	146.90	144.40	144.60	145.10	143.60
		SD	2.44	2.54	2.01	1.87	1.78	1.82
		P	*	*	*	*	*	*
K [mmol/l] <4.0;5.0>	S-group	x	4.43	4.30	4.36	4.50	4.54	4.53
		SD	0.16	0.12	0.09	0.07	0.12	0.20
	C-group	x	4.36	4.29	4.52	4.52	4.50	4.56
		SD	0.13	0.12	0.10	0.13	0.14	0.10
		P	*	*	≤ 0,01	*	*	*
Ca [mmol/l] <2.0;3.0>	S-group	x	2.40	2.12	2.30	2.36	2.37	2.37
		SD	0.07	0.12	0.05	0.02	0.05	0.03
	C-group	x	2.49	2.13	2.32	2.35	2.38	2.40
		SD	0.06	0.11	0.05	0.04	0.03	0.03
		P	*	*	*	*	*	≤ 0,05
P [mmol/l] <1.6;2.3>	S-group	x	1.95	1.82	2.02	2.02	2.05	2.08
		SD	0.07	0.08	0.06	0.06	0.04	0.06
	C-group	x	1.96	1.86	2.04	2.04	2.07	2.07
		SD	0.09	0.06	0.07	0.07	0.05	0.06
		P	*	*	*	*	≤ 0,05	*
Mg [mmol/l] <0.70;1.77>	S-group	x	0.97	0.93	0.97	0.95	0.98	1.02
		SD	0.08	0.05	0.03	0.03	0.04	0.05
	C-group	x	0.96	0.91	0.98	0.94	0.96	1.00
		SD	0.05	0.04	0.05	0.02	0.04	0.05
		P	*	≤ 0,05	*	*	*	*
Zn [µmol/l] <12.2;26.0>	S-group	x	10.28	11.09	13.34	14.38	14.76	15.15
		SD	1.23	0.80	0.78	0.78	0.91	0.89
	C-group	x	10.39	9.56	11.21	11.30	11.02	10.70
		SD	1.17	0.92	1.21	1.06	1.13	1.04
		P	*	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001
Cu [µmol/l] <8.0;39.0>	S-group	x	12.04	11.21	13.15	13.01	13.29	12.62
		SD	0.98	0.86	0.91	0.35	0.57	0.88
	C-group	x	11.72	11.05	12.99	13.00	13.09	13.10
		SD	0.82	0.87	0.83	1.01	0.81	1.05
		P	*	*	*	*	*	*
Mn [µg/l] <7.0;19.0>	S-group	x	8.34	8.25	8.04	8.61	8.55	9.91
		SD	0.91	0.53	0.30	0.68	0.59	1.28
	C-group	x	8.33	8.07	8.32	9.01	10.12	10.60
		SD	1.28	0.92	0.39	0.63	1.08	1.21
		P	*	*	≤ 0,05	*	≤ 0,001	*
Se [µg/l] <92-112;247>	S-group	x	105.59	99.02	103.17	104.03	102.89	105.99
		SD	10.63	5.44	6.87	8.70	9.07	7.75
	C-group	x	102.47	92.67	102.13	103.53	102.69	105.21
		SD	13.69	8.15	8.98	10.11	7.33	7.85
		P	*	*	*	*	*	*

*Not significant difference; P = significant difference (P<0.05); S = supplemented; C = control; x = mean value; SD = standard deviation; a.p. = ante partum; p.p. = postpartum; Na = sodium; K = potassium; Ca = calcium; P = phosphorus; Mg = magnesium; Zn = zinc; Cu = copper; Mn = manganese; Se = selenium

POKUS II

Tabulka 53. Biochemické parametry v krevního séra TELAT

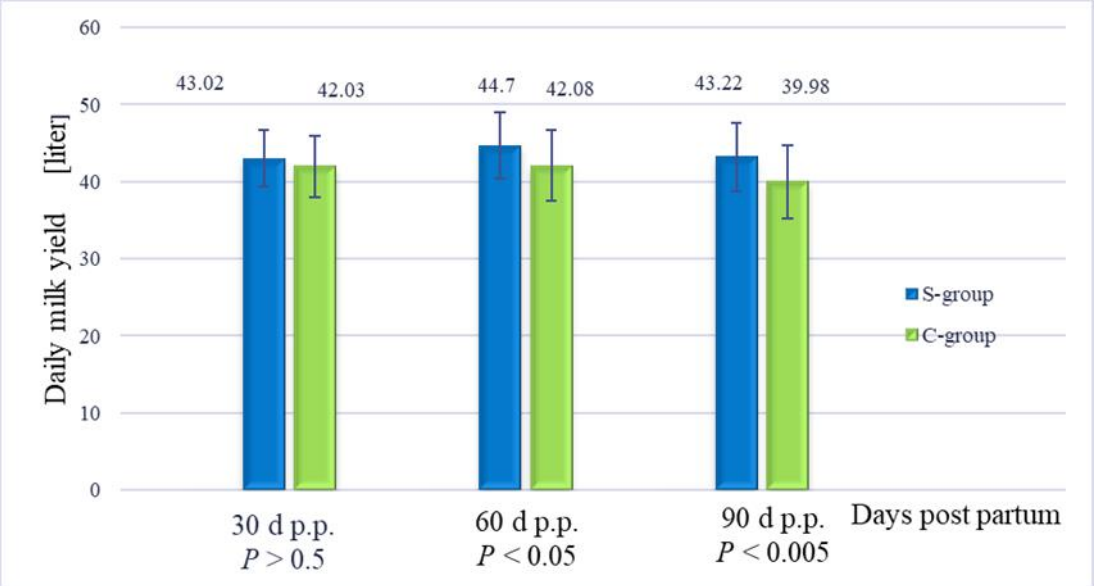
Výsledky parametrů krevního séra TELAT							
parametr	referenční hodnota	jednotka		Den 7		Den 90	
				POKUS	KONTROLA	POKUS	KONTROLA
celková bílkovina	50 -70	g/l	x	57.52	**58.48**	**68.47***	65.94*
			SD	2.61	1.50	1.87	2.42
albumin	30,3 - 42	g/l	x	**30.55**	30.53	**35,95****	32.73**
			SD	1.68	1.45	1.40	1.04
močovina	2,5 -6,6	mmol/l	x	**4.37**	4.23	**2.92****	2.48**
			SD	0.38	0.50	0.30	0.21
ALP	max 20	µkat/l	x	10.56	**11.82**	7.10**	**9.06****
			SD	1.99	1.48	1.30	1.65
SOD		U/ml	x	**487.92**	456.39	**471.26**	426.10
			SD	22.87	28.67	29.69	33.55
vitamin A	> 0,7	µmol/l	x	1.26**	**1.30**	2.37**	**2.55**
			SD	0.15	0.23	0.60	0.48
vitamin E	> 0,64	µmol/l	x	**7.30**	7.07	**2.97**	2.65
			SD	1.65	1.35	0.55	0.37
Cu	12,2 - 18,9	µmol/l	x	10.98	**11.35**	**10,80***	9.88*
			SD	1.29	1.38	1.24	1.20
Zn	12,6 - 45,9	µmol/l	x	**15.36***	13.74*	**14.27****	11.25**
			SD	0.83	2.26	1.16	2.52
IgG	> 18	g/l	x	**14.51**	7.46	**27.77***	24.31*
			SD	1.08	0.69	3.97	1.70
* $P \leq 0.05$; **P≤0.01; x=střední hodnota; SD=směrodatná odchylka							

8.3 GRAFY

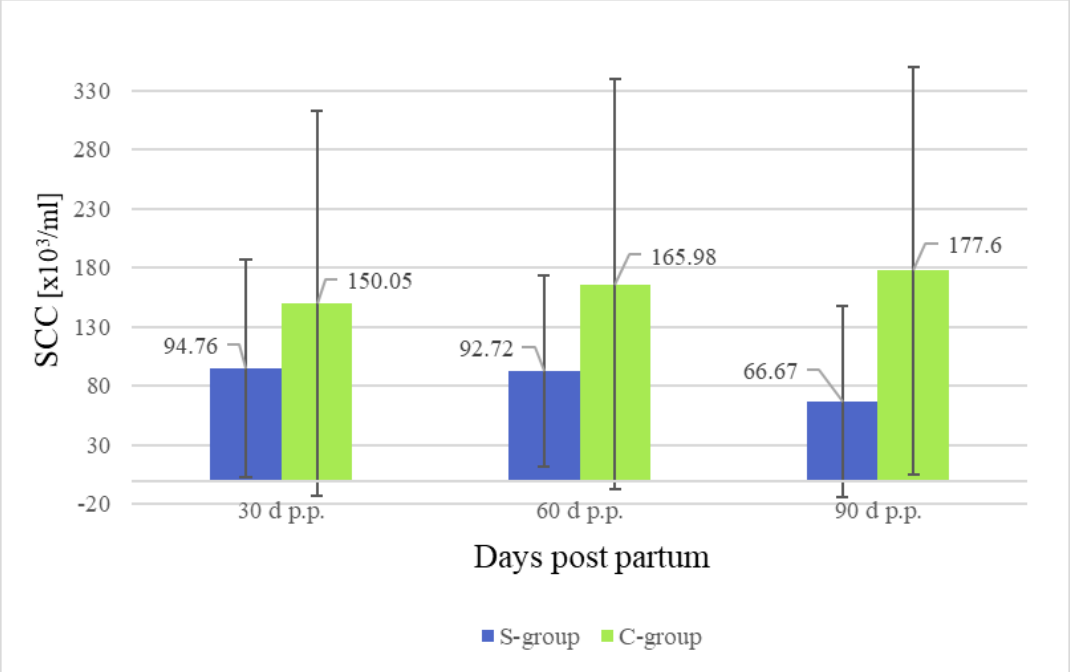
POKUS I

UŽITKOVOST

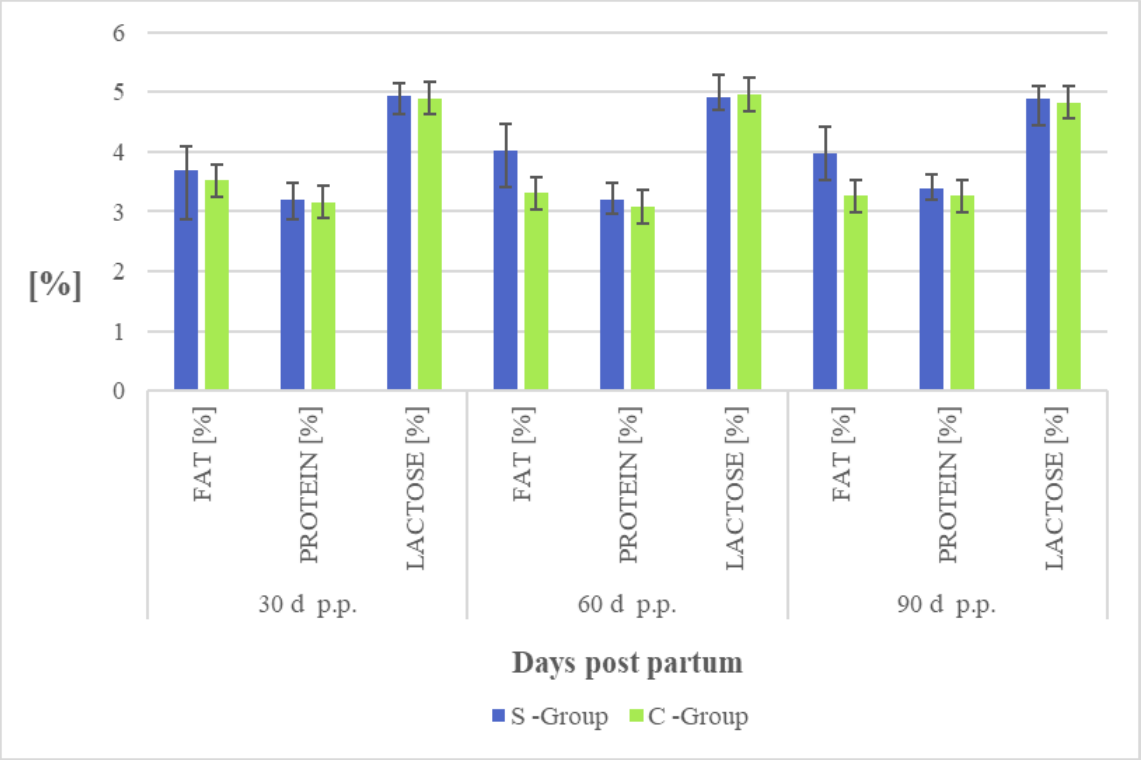
Graf 1. Průměrná denní dojivost [kg/d] během prvních tří měsíců laktace



Graf 2. Počet somatických buněk [SCC x 103/ml] během prvních tří měsíců laktace



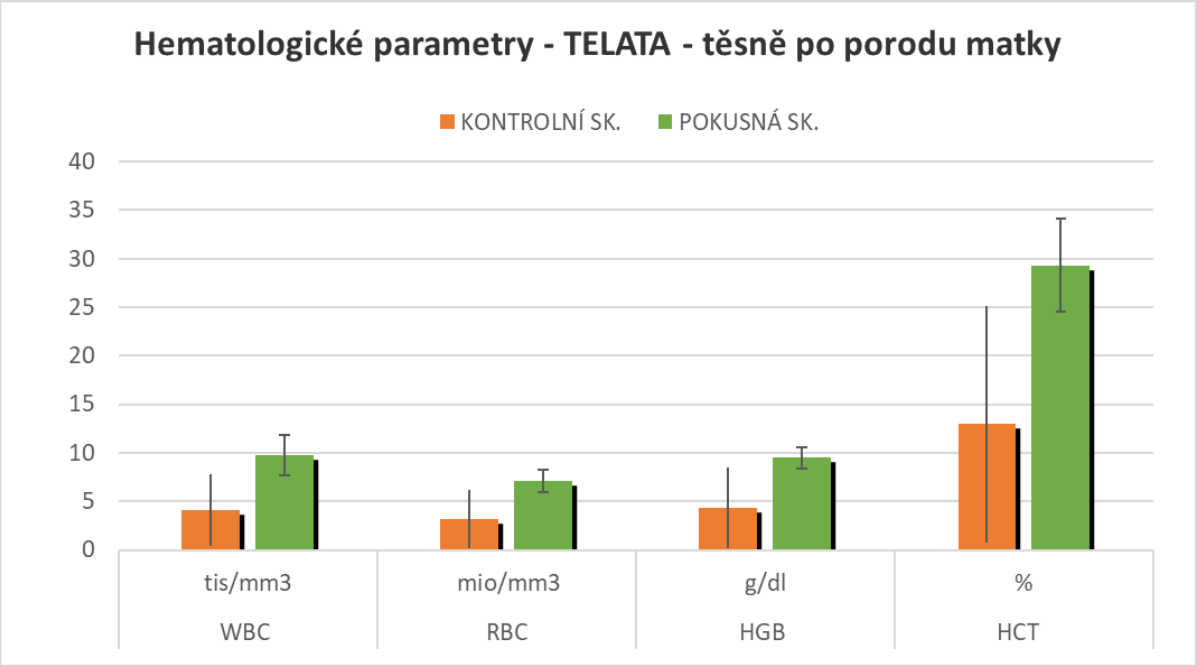
Graf 3. Komponenty mléka – procentuální zastoupení tuku, proteinu a laktózy 30., 60. a 90. den laktace



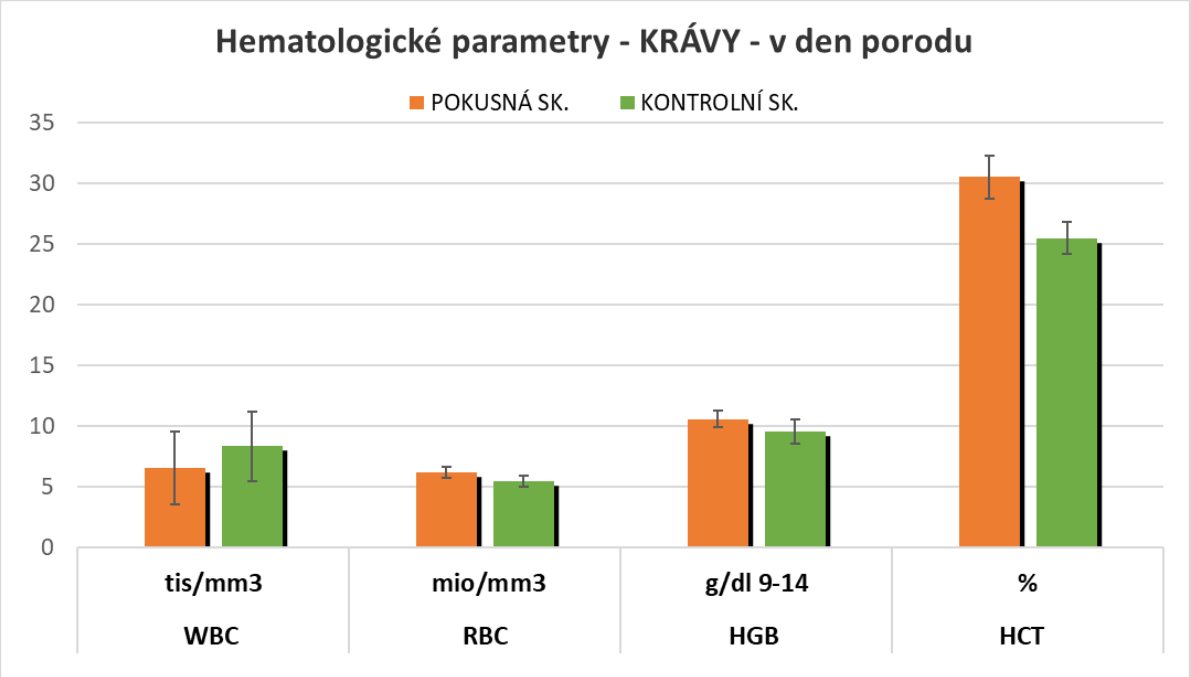
POKUS I

HEMATOLOGIE

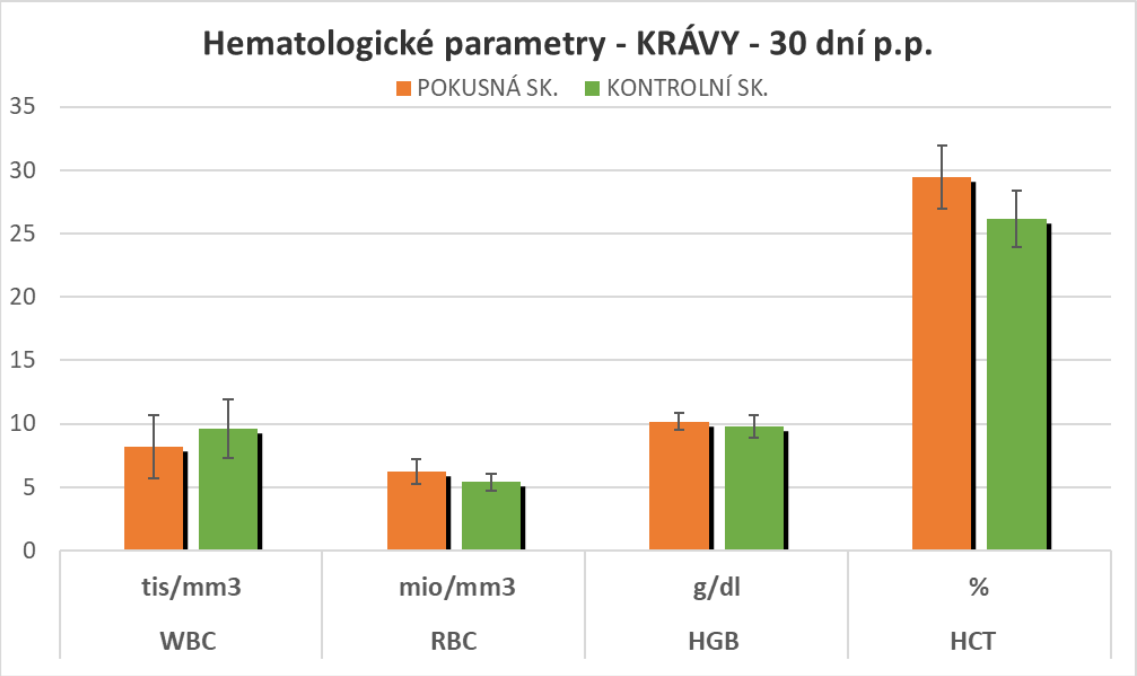
Graf 4.



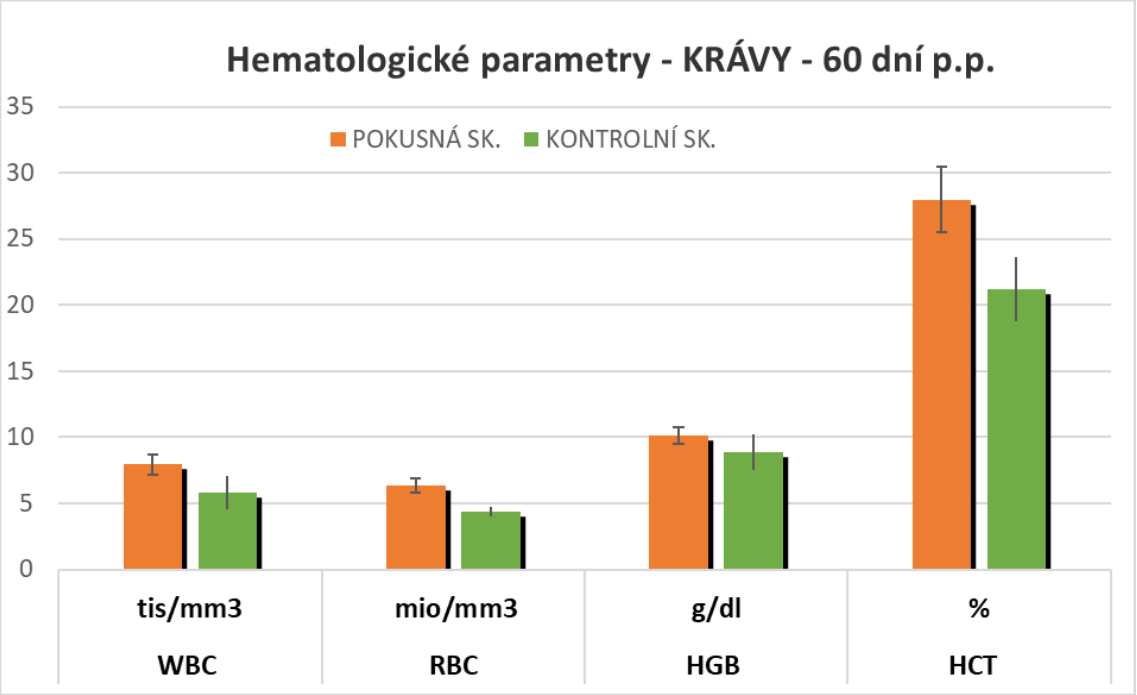
Graf 5.



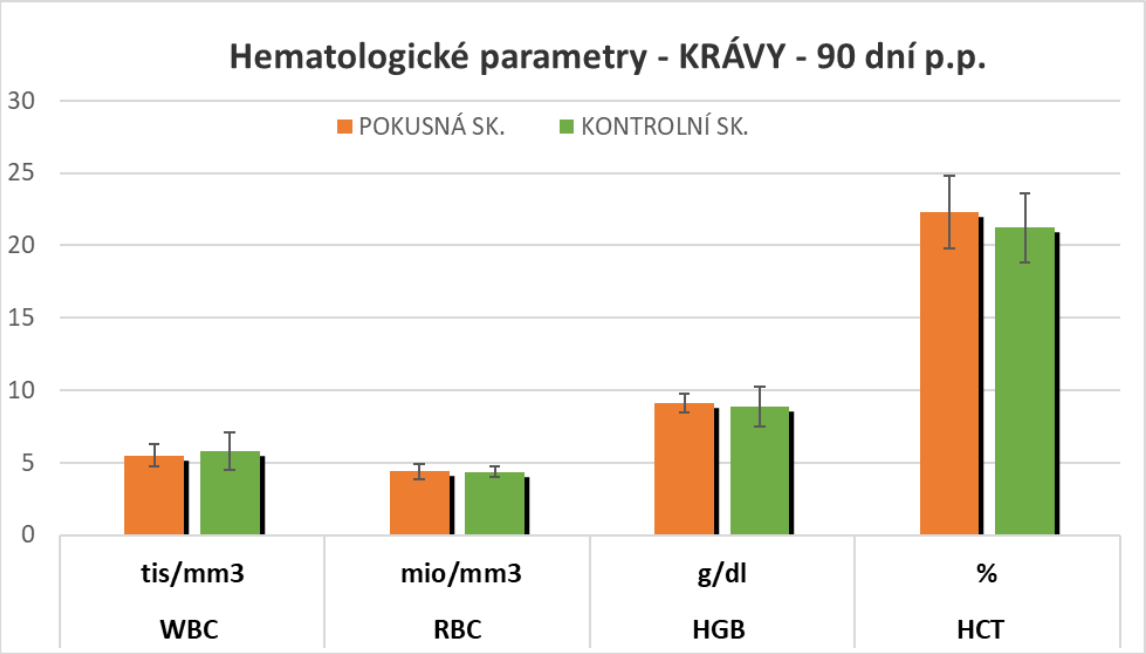
Graf 6.


Hematologické parametry - KRÁVY - 30 dní p.p.
POKUSNÁ SK.
KONTROLNÍ SK.
35
30
25
20
15
10
5
0
tis/mm3
WBC
mio/mm3
RBC
g/dl
HGB
%
HCT

Graf 7.


Hematologické parametry - KRÁVY - 60 dní p.p.
POKUSNÁ SK.
KONTROLNÍ SK.
35
30
25
20
15
10
5
0
tis/mm3
WBC
mio/mm3
RBC
g/dl
HGB
%
HCT

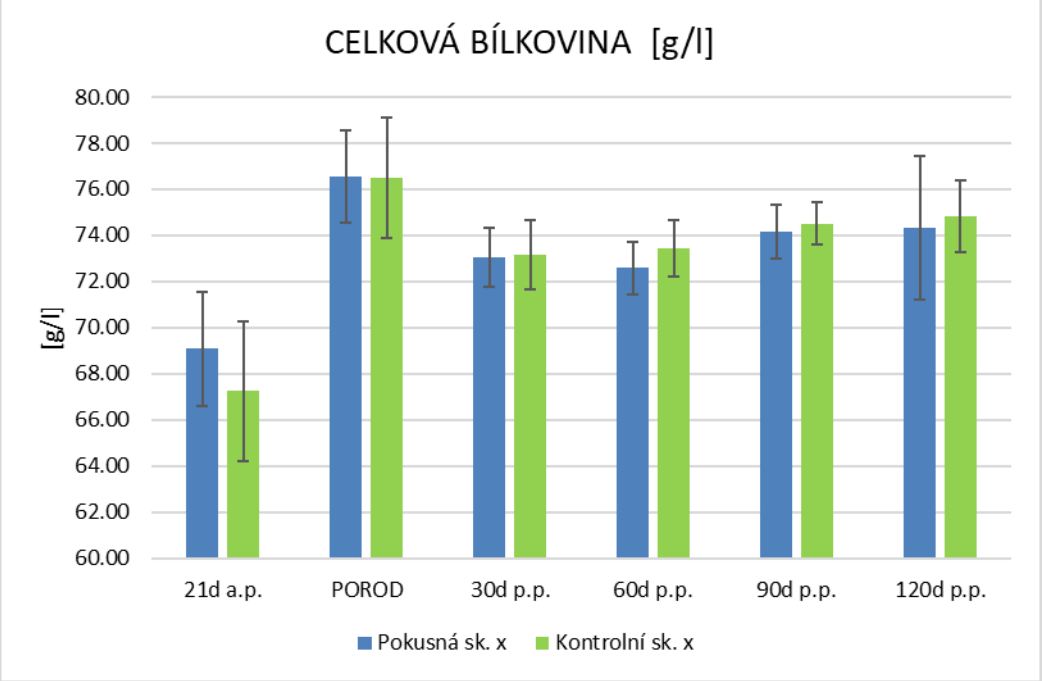
Graf 8. Hematologické parametry – KRAV - 90 dní p.p.



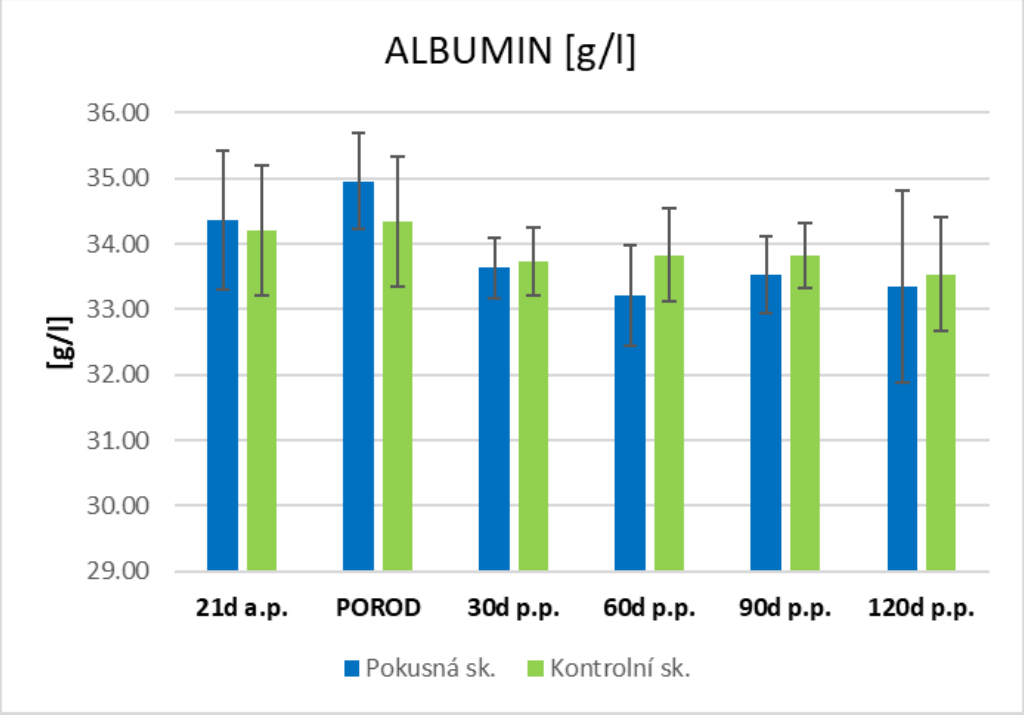
POKUS I

BIOCHEMIE

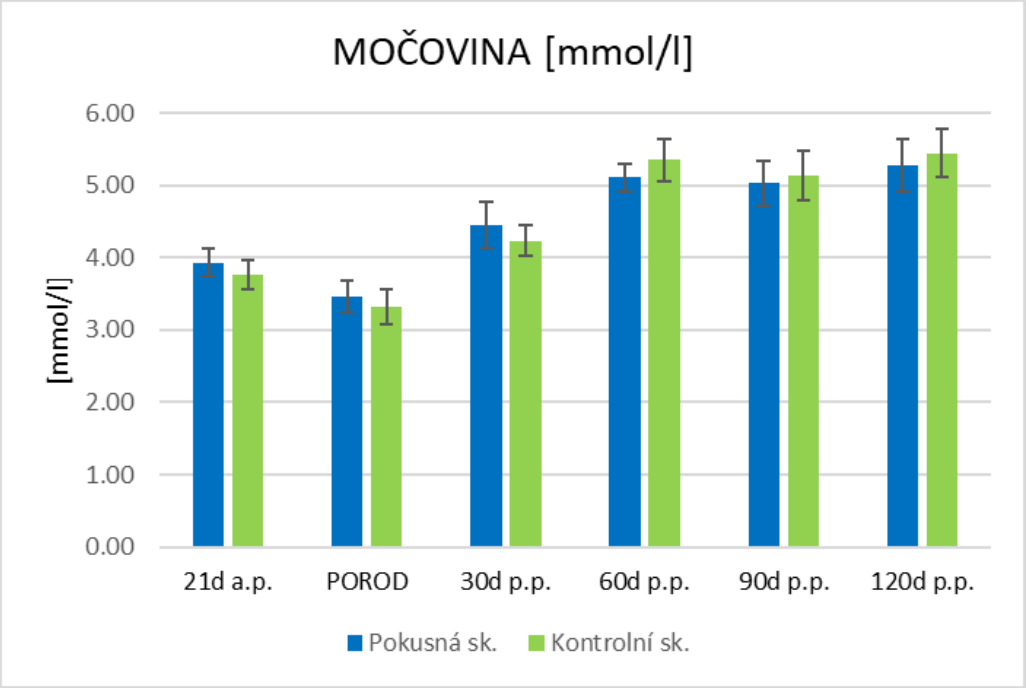
Graf 9. Hladina celkové bílkoviny v krevním séru krav během období rané laktace



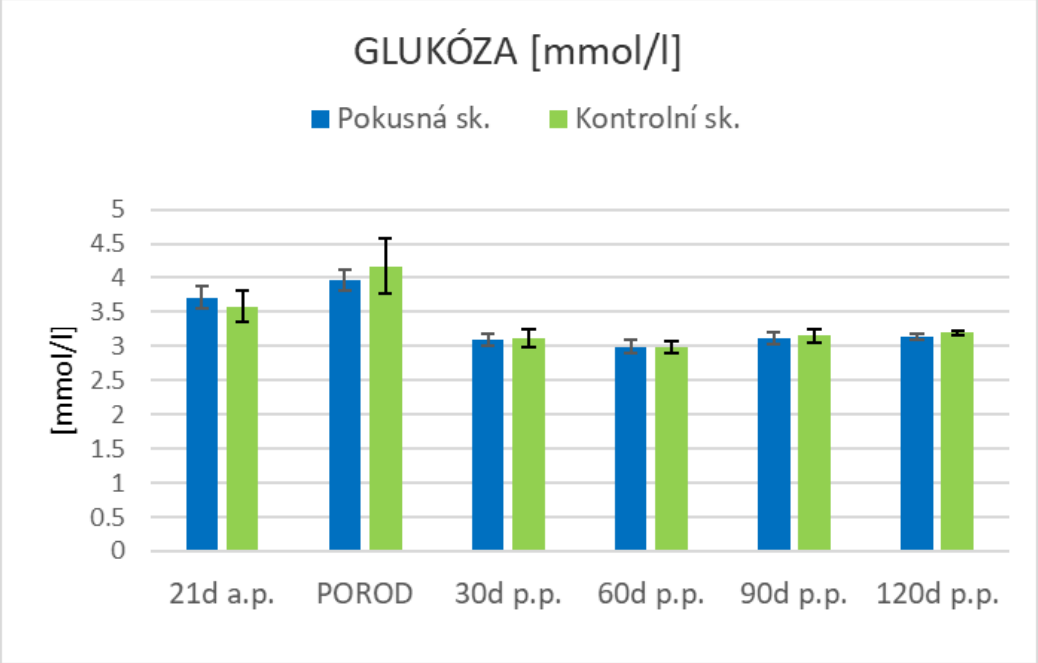
Graf 10. Hladina albuminu v krevním séru krav během období rané laktace



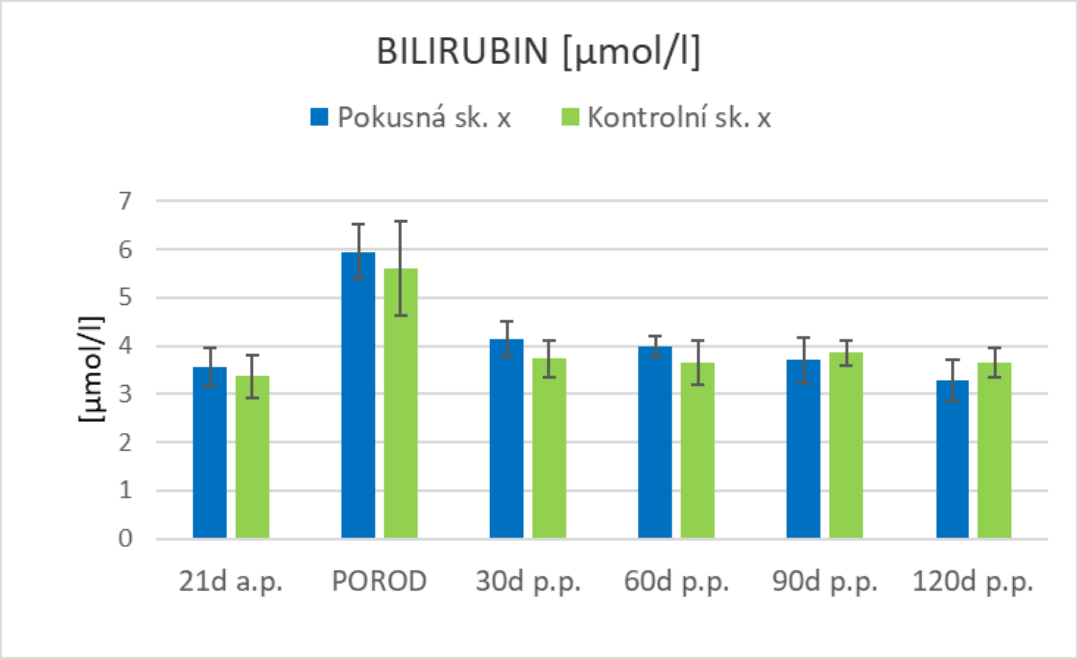
Graf 11. Hladina močoviny v krevním séru krav během období rané laktace



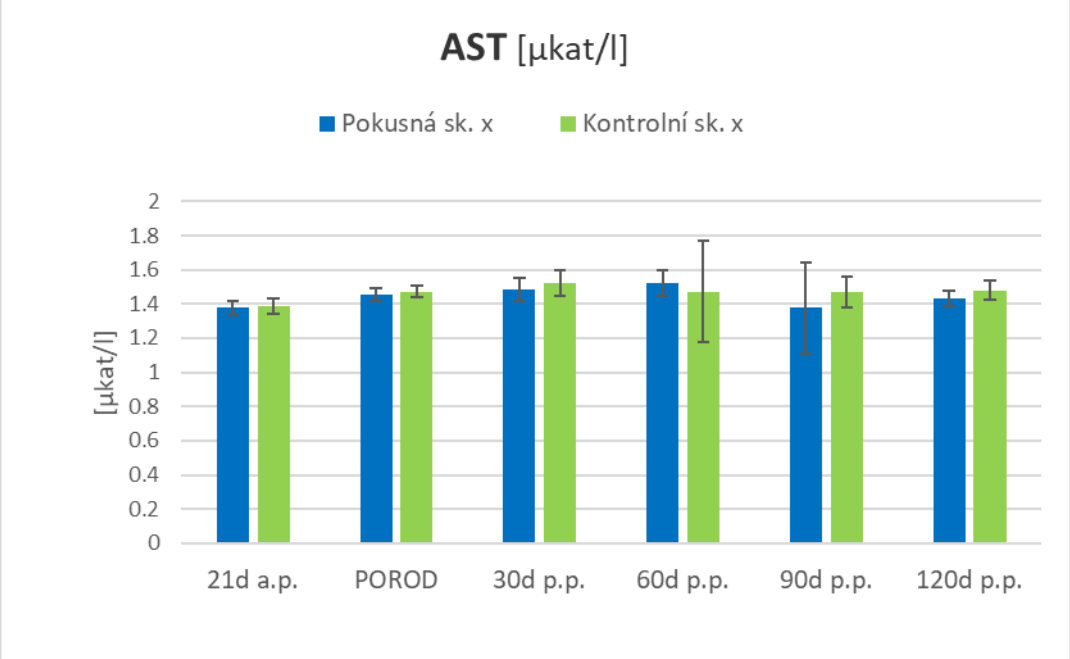
Graf 12. Hladina glukózy v krevním séru krav během období rané laktace



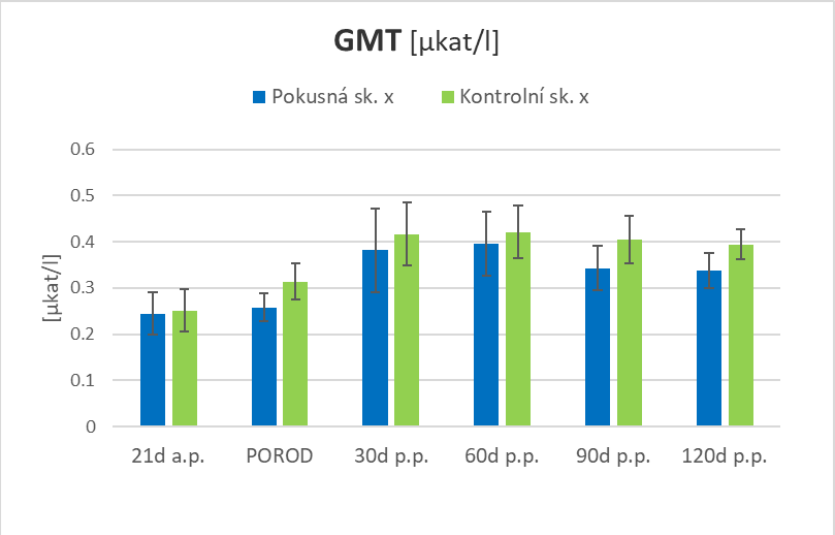
Graf 13. Hladina bilirubinu v krevním séru krav během období rané laktace



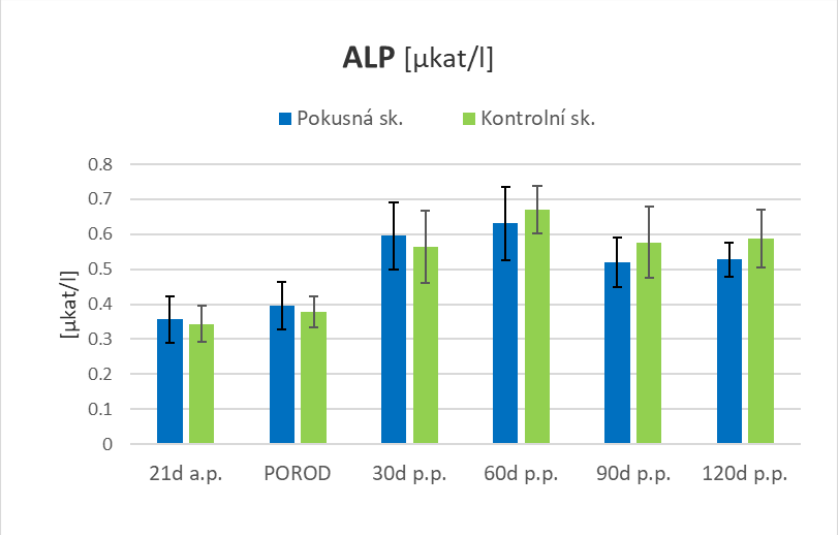
Graf 14. Aktivita enzymu AST v krevním séru krav během období rané laktace



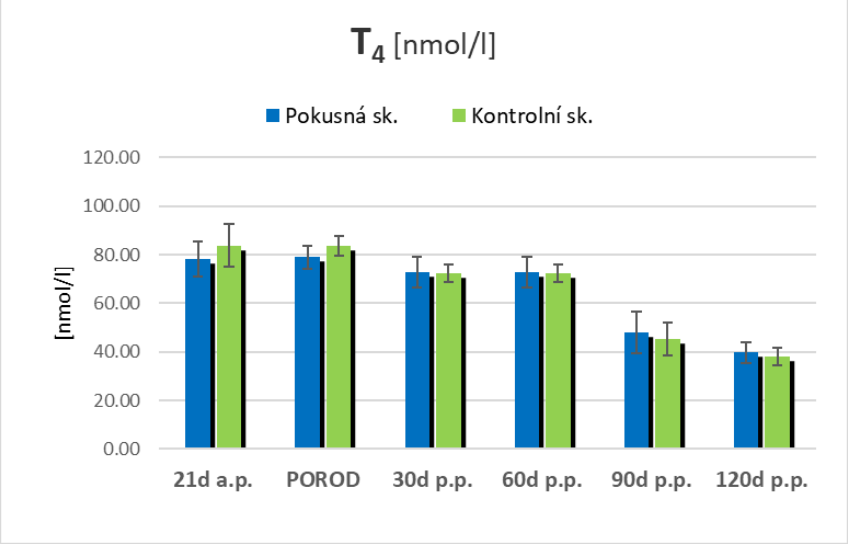
Graf 15. Aktivita enzymu GMT v krevním séru krav během období rané laktace



Graf 16. Aktivita enzymu ALP v krevním séru krav během období rané laktace



Graf 16a. Hladina hormonu T4 v krevním séru krav během období rané laktace

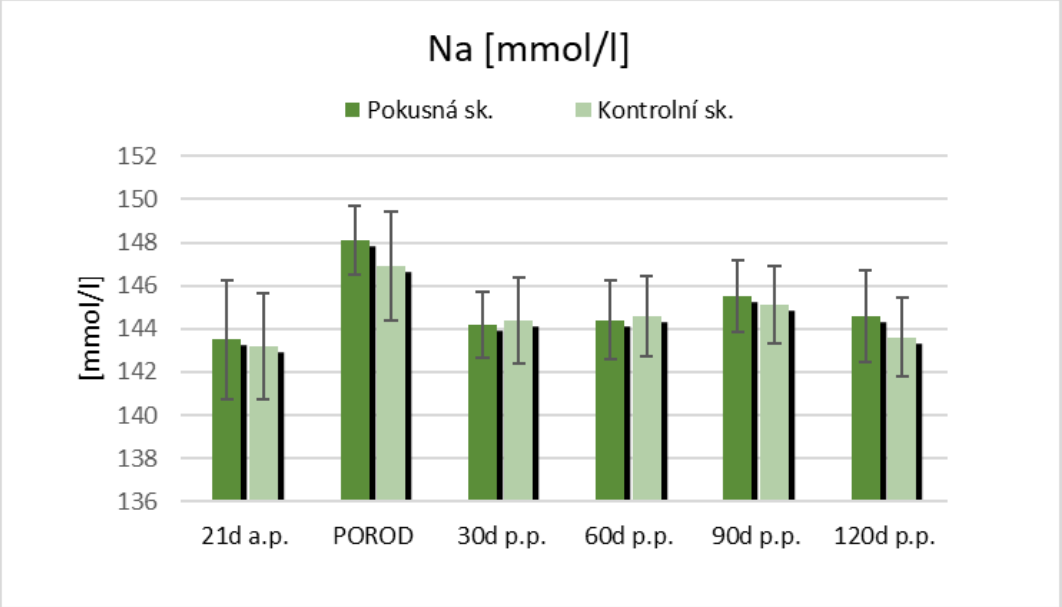


POKUS I

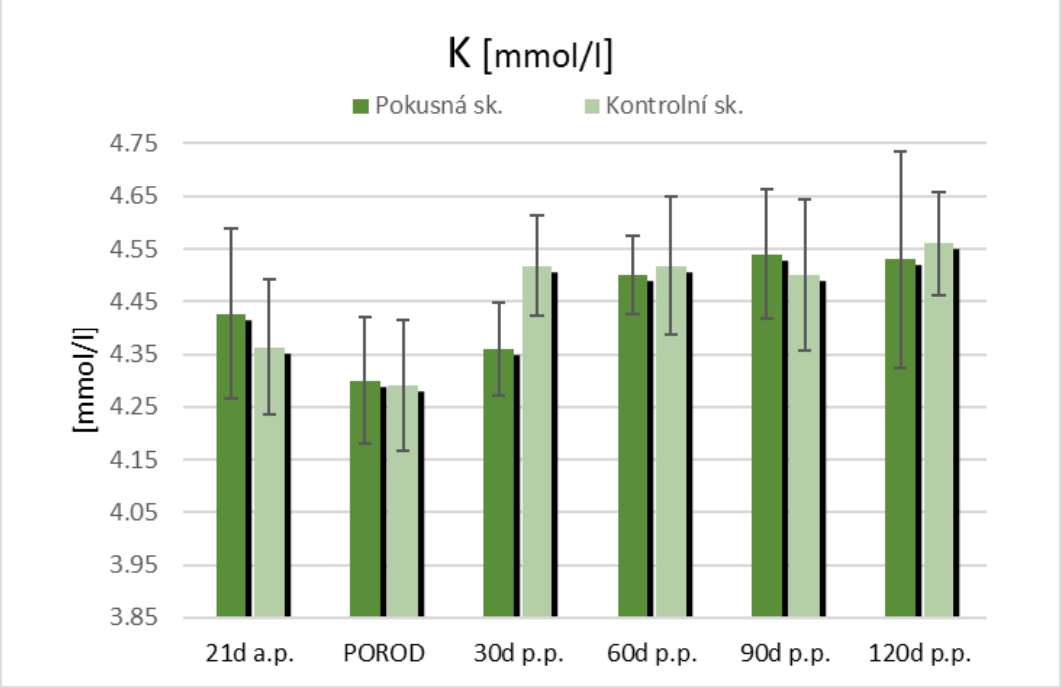
MINERÁLY

GRAFY MINERÁLNÍCH LÁTEK V KREVNÍM SÉRU KRAV

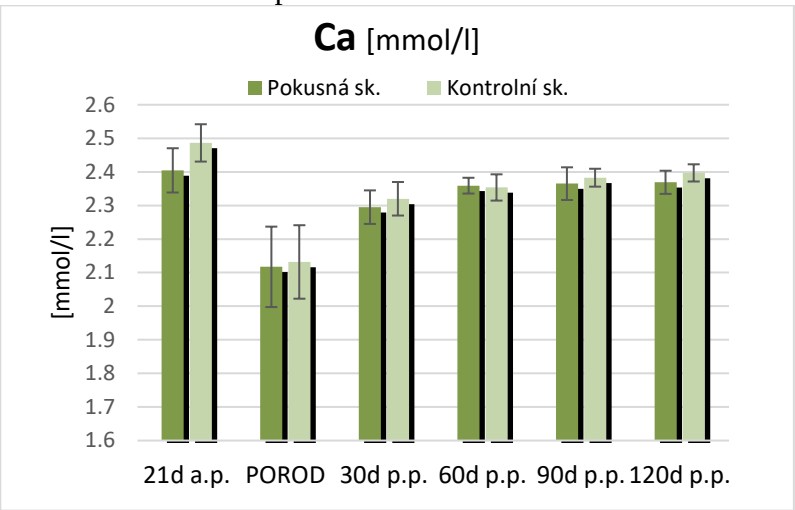
Graf 17. Hladina sodíku v krevním séru krav



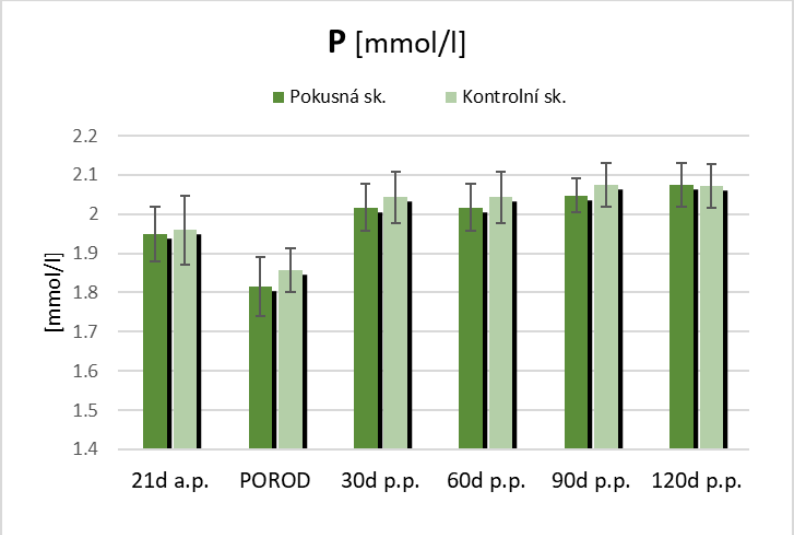
Graf 18. Hladina draslíku v krevním séru krav



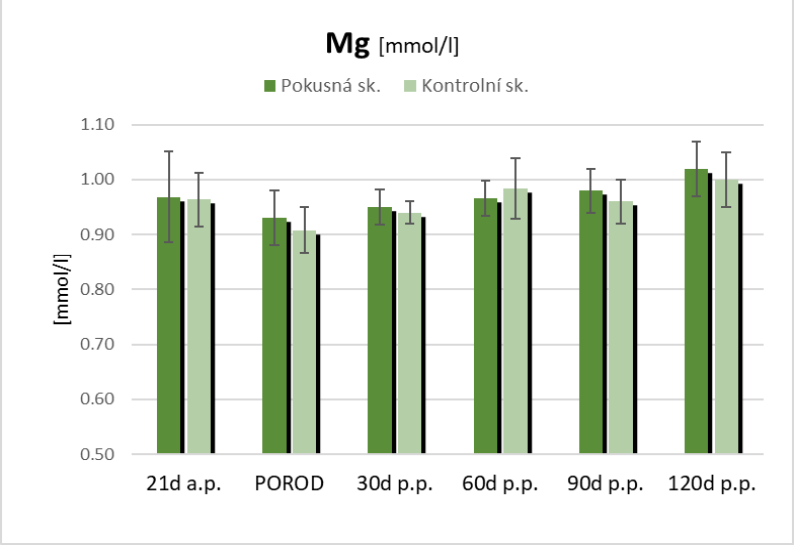
Graf 19. Hladina vápníku v krevním séru krav



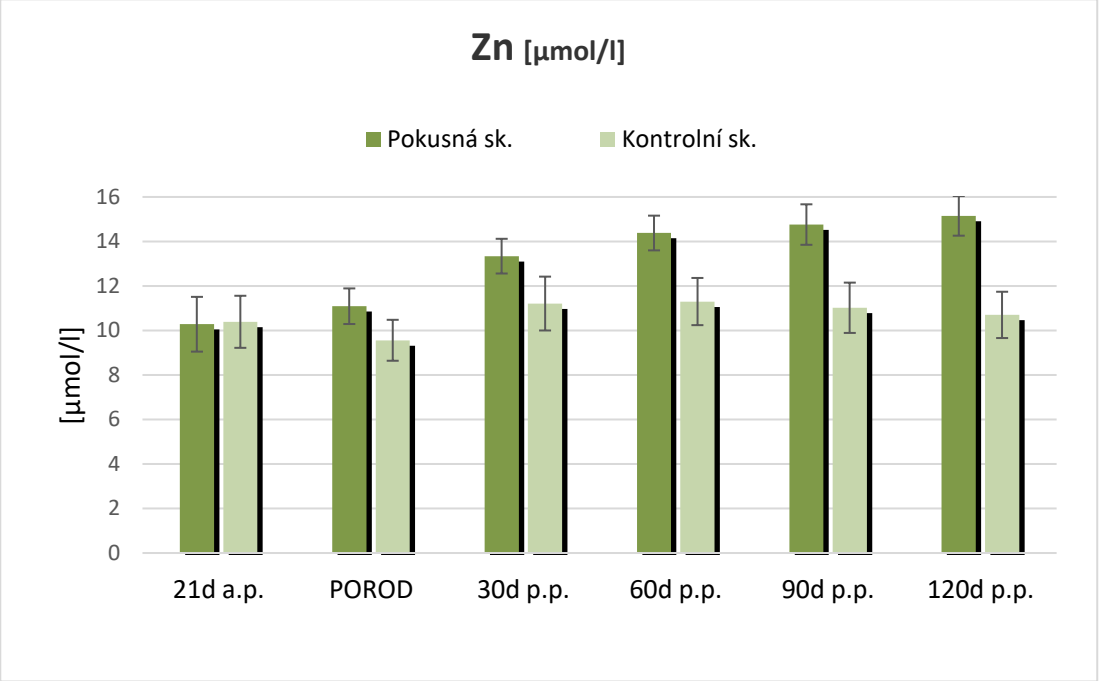
Graf 20. Hladina fosforu v krevním séru krav



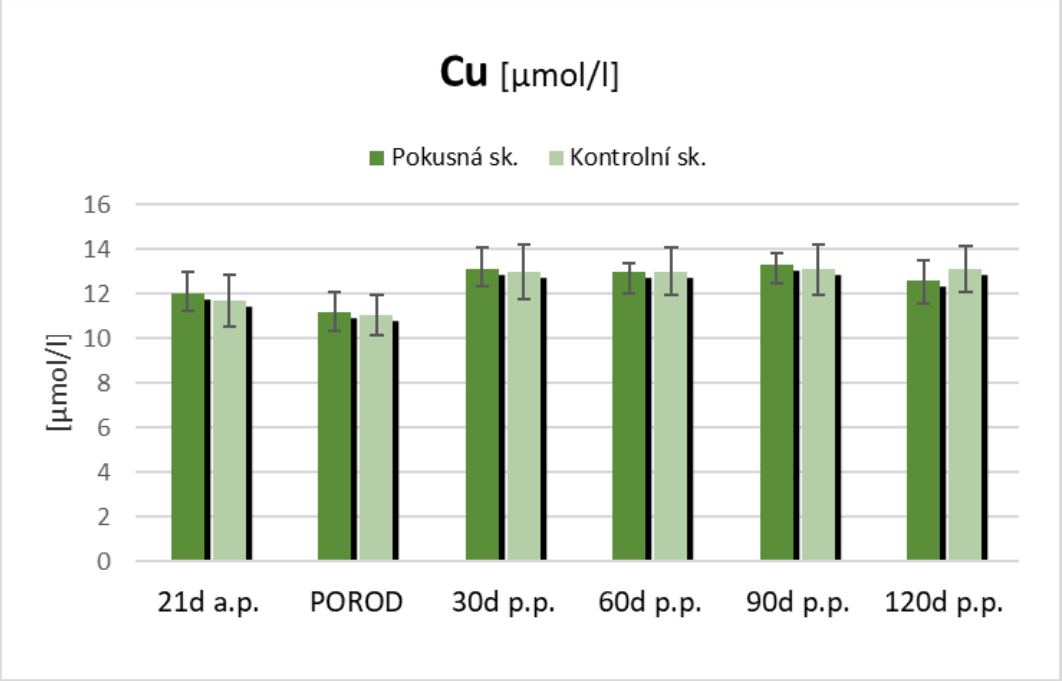
Graf 21. Hladina hořčíku v krevním séru krav



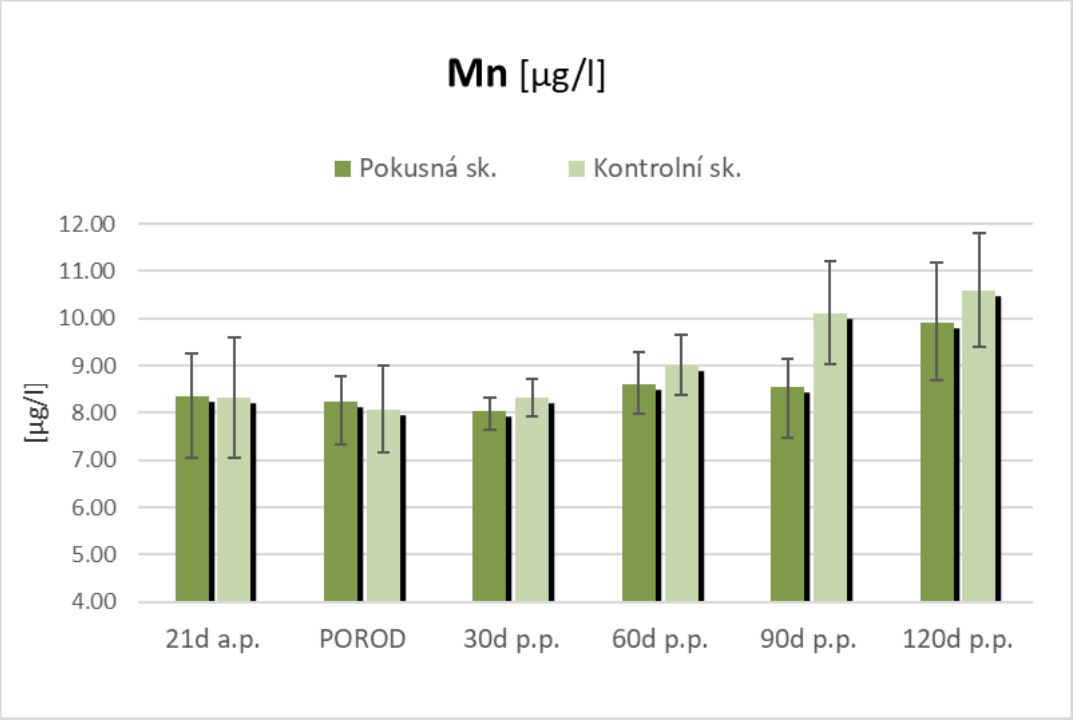
Graf 22. Hladina zinku v krevním séru krav



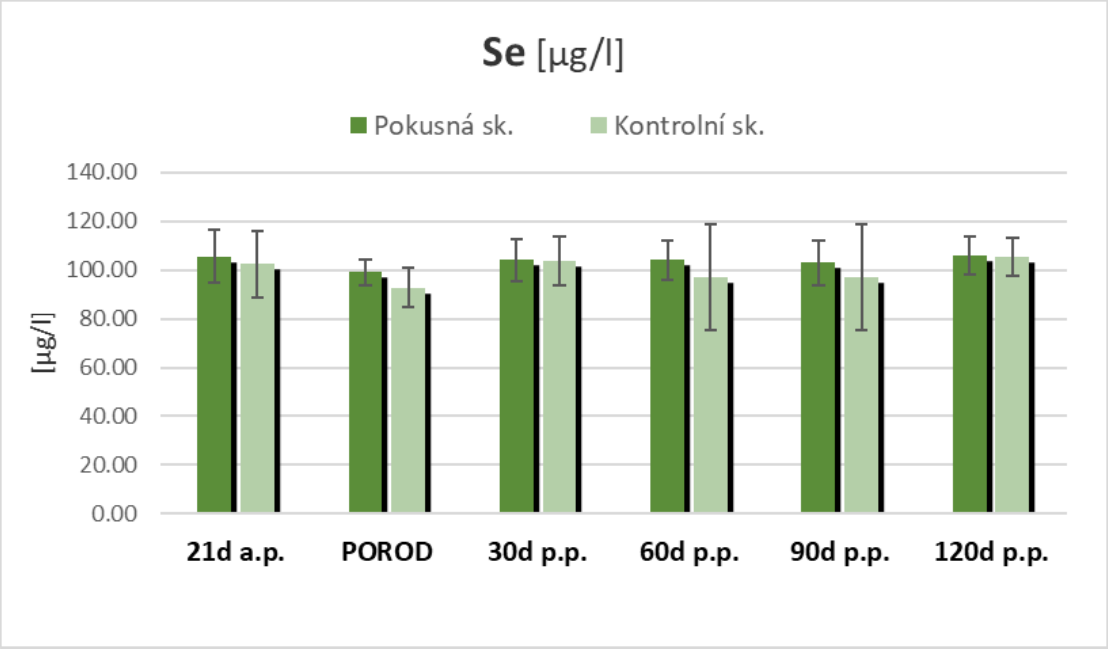
Graf 23. Hladina mědi v krevním séru krav



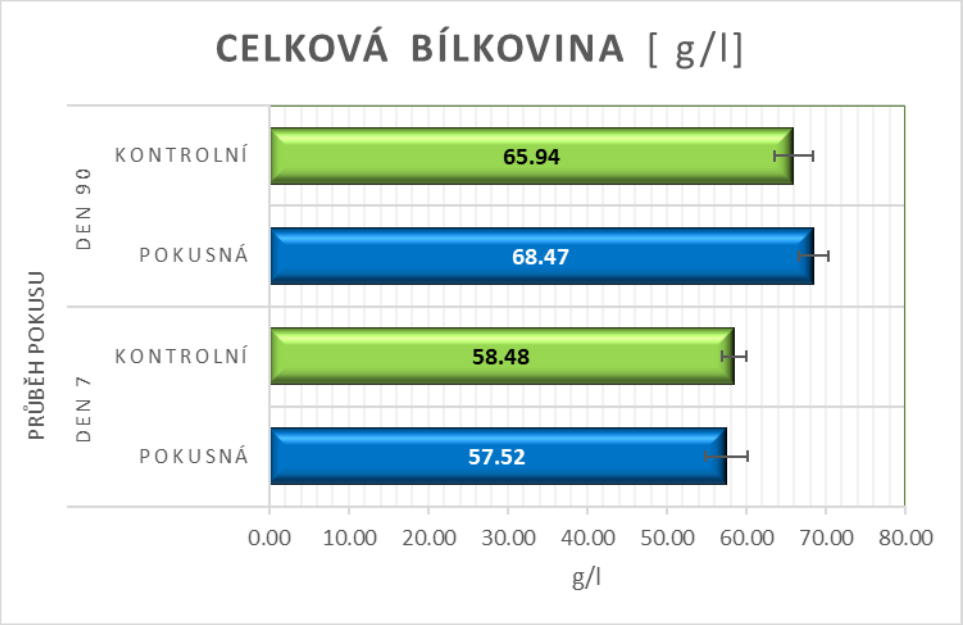
Graf 24. Hladina manganu v krevním séru krav



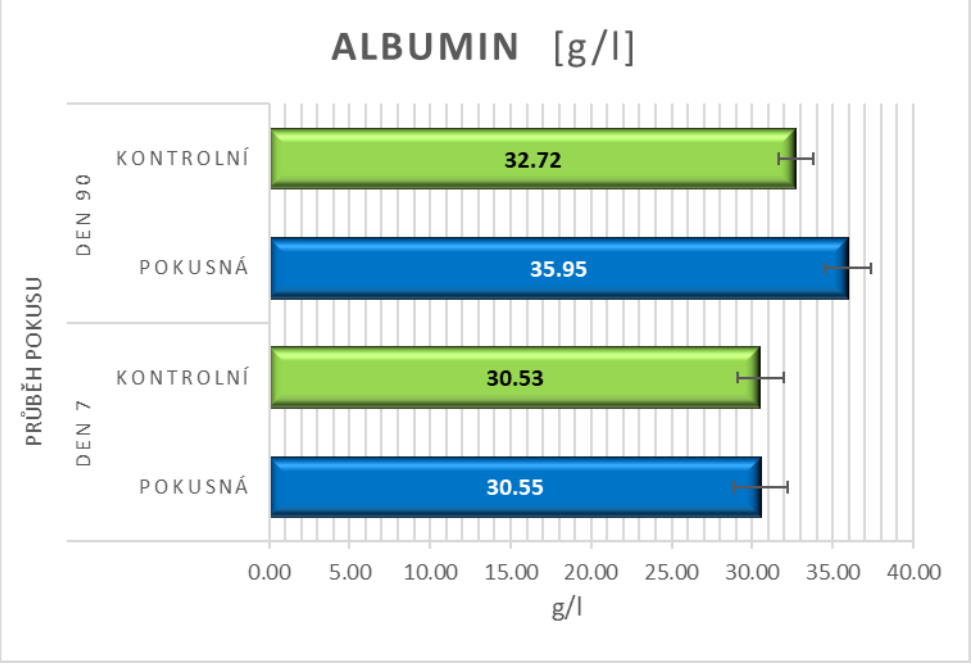
Graf 25. Hladina selenu v krevním séru krav



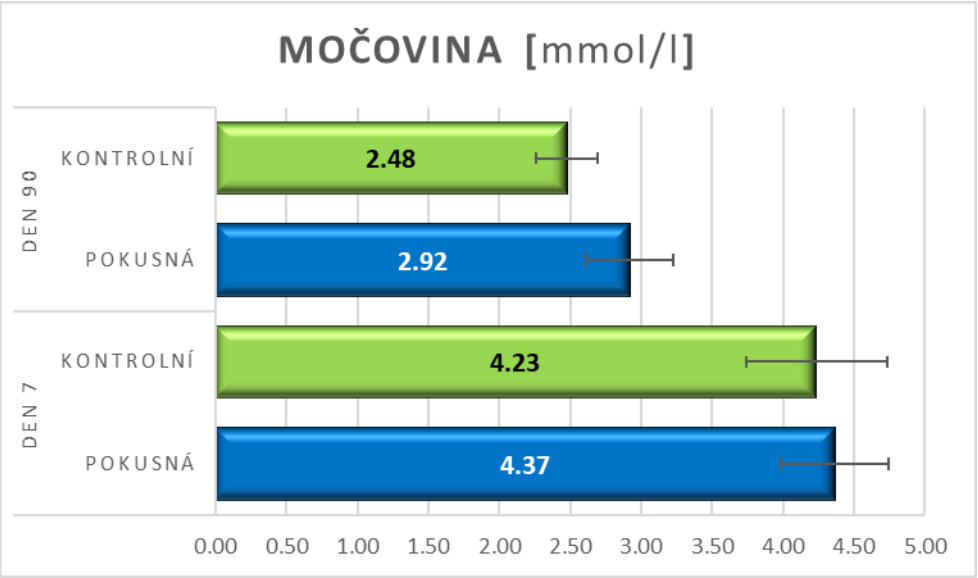
Graf 26. Hladina celkové bílkoviny v krevním séru TELAT – den 7. a den 90.



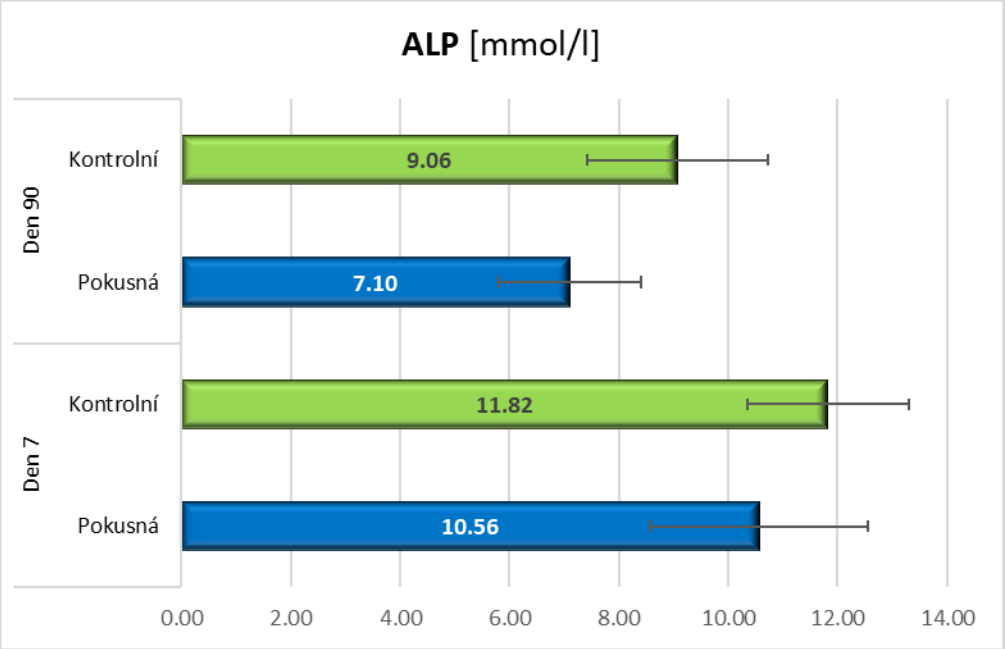
Graf 27. Hladina albuminu v krevním séru TELAT – den 7. a den 90.



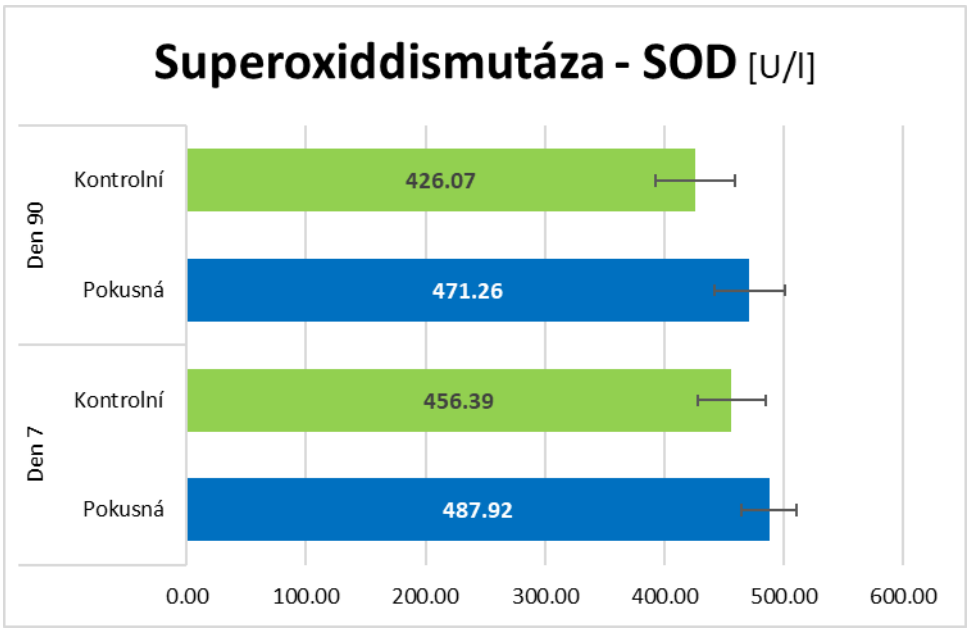
Graf 28. Hladina močoviny v krevním séru TELAT – 7. den a den 90.



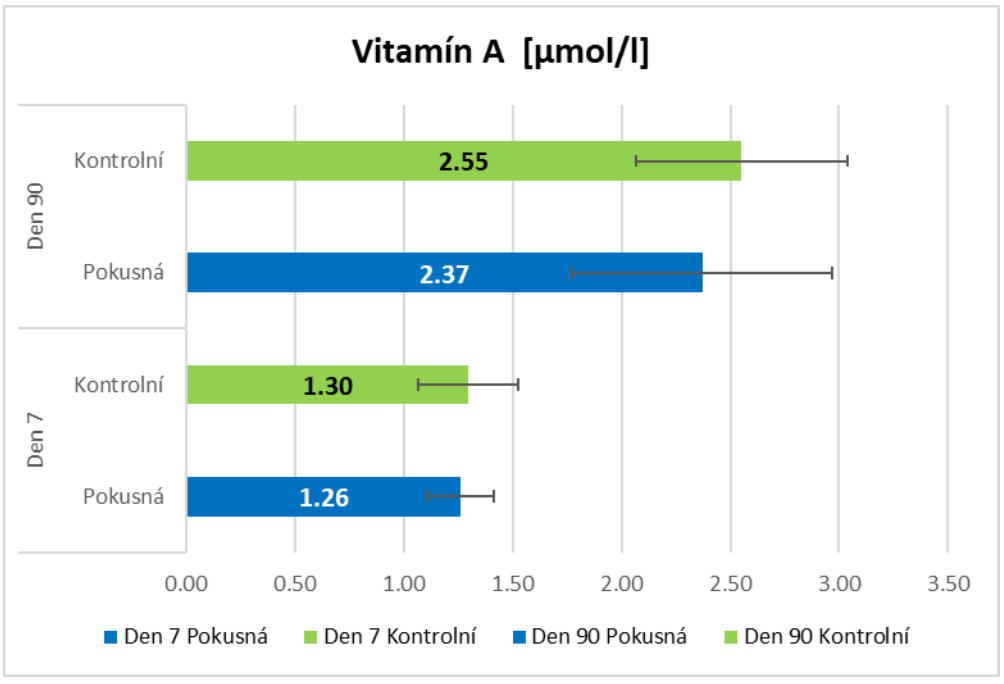
Graf 29. Aktivita enzymu alkalická fosfatáza ALP v krvi TELAT – den 7. a den 90



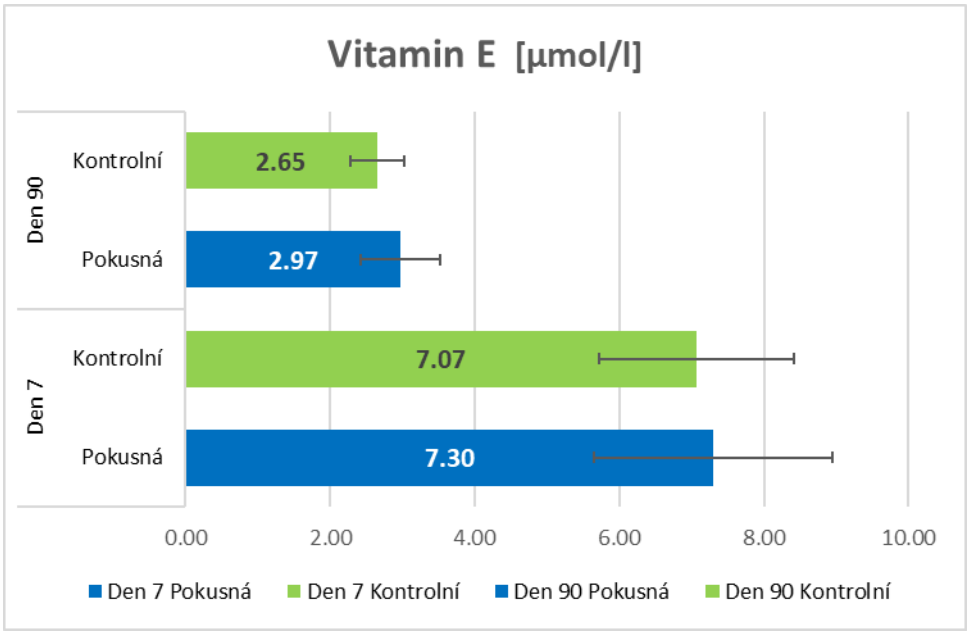
Graf 30. Aktivita enzymu superoxiddismutáza SOD v krvi TELAT – den 7. a den 90.



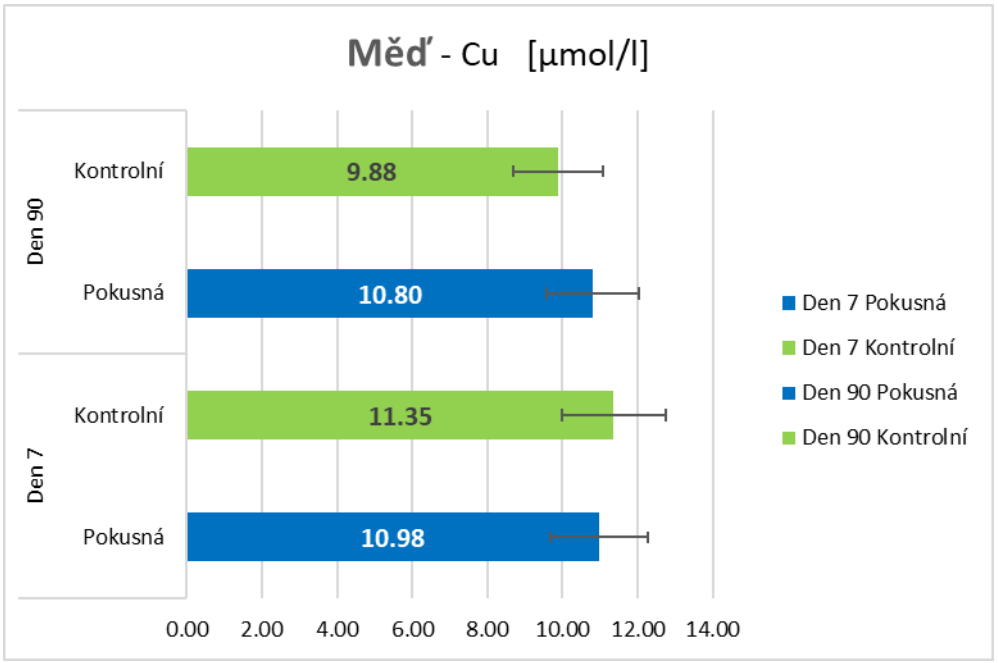
Graf 31. Koncentrace vitaminu A v krevním séru telat – den 7. a den 90.



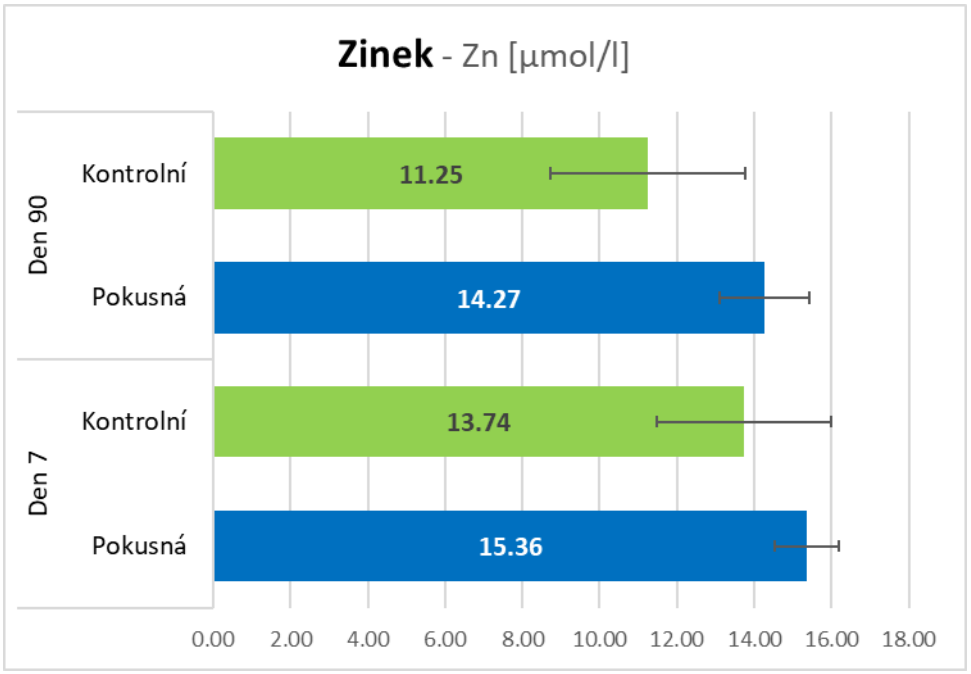
Graf 32. Koncentrace vitaminu E v krevním séru telat – den 7. a den 90.



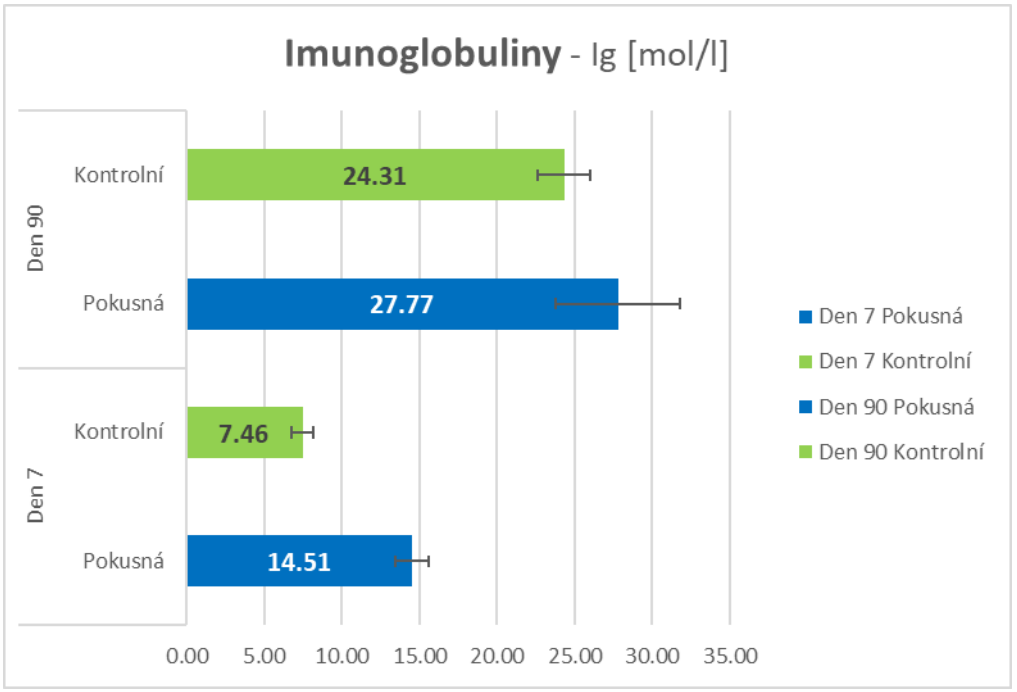
Graf 33. Koncentrace mědi v krevním séru telat – den 7. a den 90.



Graf 34. Koncentrace zinku v krevním séru telat – den 7. a den 90.



Graf 35. Hladina celkových imunoglobulinů v krvi telat – den 7. a den 90.



ACTA VET. BRNO 2016, 85: 049–054; doi:10.2754/avb201685010049

Effects of organic zinc supplementation in weaned calves

Sylva Dresler[1], Josef Illek[2], Ladislav Zeman[1]

[1]Mendel University in Brno, Faculty of Agronomy, Department of Animal Nutrition and Forage Production, Brno, Czech Republic
[2]University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Large Animal Clinical Laboratory, Brno, Czech Republic

Received June 27, 2014
Accepted April 1, 2015

Abstract

The aim of the study was to investigate the effect of organic zinc supplementation in calves on serum zinc (Zn) concentrations, selected metabolic profile indicators and serum immunoglobulin (Ig) concentrations. The trial included 2 groups (n = 10) of weaned female calves. The Zn-Methionin calves (group Zn-Met) were supplemented with 30 mg Zn-Met/kg dry matter (DM)/day (BIOPLEX® Zn, Alltech, USA) for 90 days; the control calves (group C) received the same diet without organic zinc supplementation. Compared to the control group, organic Zn treatment significantly increased serum Zn concentration ($P < 0.05$), superoxide dismutase (SOD) activity ($P < 0.01$) and total Ig ($P < 0.01$) in the group Zn-Met at the beginning (7 days from the start of Zn-Met supplementation) of the trial. At the end of the trial (day 90) serum total protein (TP) ($P < 0.05$), albumin ($P < 0.01$), urea ($P < 0.01$), SOD ($P < 0.01$), copper (Cu) ($P < 0.05$), Zn ($P < 0.01$) and Ig ($P < 0.05$) concentrations were significantly higher in the Zn-Met calves. In the control group alkaline phosphatase (ALP) activity was significantly ($P < 0.01$) higher on day 90. A positive correlation between zinc concentrations, ALP, and SOD activities in serum, and a negative correlation between zinc and copper concentrations were demonstrated. Dietary Zn-Met supplementation in calves markedly influenced the metabolic profile and serum immunoglobulin concentrations. Compared to the control group, the Zn supplemented group showed a significantly ($P < 0.05$) lower ALP and significantly greater SOD serum activity ($P < 0.01$) at the end of the trial. Total Ig concentrations were significantly higher in the Zn treated group (day 7: $P < 0.01$ vs. day 90: $P < 0.05$).

Trace element, biochemical indicator, immune response, SOD, cattle

The enzyme activity and gene expression of proteins influenced by zinc as an essential trace element that plays structural and catalytic roles in over 300 enzymes and transcription factors (Lipscomb and Sträter 1996; Illek 2003; Suttle 2010) affect reproduction, growth, milk production, and the immune system of animals (Illek 1987; Chesters 1997; Andrieu 2008). Zinc sources of greater bioavailability such as zinc methionine (Zn-Met) (Wedekind et al. 1992; Kincaid et al. 1997) can increase concentrations of Zn in tissues such as thymus, bone marrow (Heilig et al. 2014), and serum (Cousins and Leinart 1988) more markedly than traditional Zn sources. The role of Zn as an antioxidant and its importance for cell replication and proliferation are the two most direct connections between Zn and the immune function (Spears and Weiss 2008; Nojiri et al. 2011). Therefore, the objective of this study was to assess the effect of zinc supplementation on serum Zn concentrations, metabolic profile indicators and serum immunoglobulin concentrations.

Materials and Methods

The study was performed in a herd of 300 Holstein cows with a mean milk yield of 9,318 kg per 305 day lactation (mean fat content 3.79%; mean protein content 3.31%). In total there were 236 calves: 110 pre-weaning (milk replacer fed) and 126 post-weaning. Calf loss due to mortality reached 3.4%. The calves did not show

Address for correspondence:
Doc. MVDr. Josef Illek, DrSc., Dipl. ECBHM
Large Animal Clinical Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine
University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno
Palackého třída 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic

Phone: +420 731 512 909
E-mail: illekj@vfu.cz
http://actavet.vfu.cz/

any clinical signs of Zn deficiency. During the whole pre-weaning period the calves were housed in individual pens. Twice a day they received 4 litres of Lactosan® (Schaumann, Germany) milk replacer (40 mg Zn/kg DM as $ZnSO_4$), and Calf Starter Feed MLSTEL® (Farmtec, a.s., Czech Republic), (30 mg Zn/kg DM, 22% CP). They had free access to meadow hay and water *ad libitum* between meals. The calves were weaned at 8 weeks of age. The trial included 20 weaned female calves, randomly allocated into 2 separately housed groups of 10 animals. The diet consisted of Calf Starter Feed 2 (19.5 % CP, 30 mg Zn/ kg DM), meadow hay and water *ad libitum*. After a 21 day adaptation period the experimental Zn supplementation was launched. The zinc treated calves (group Zn-Met) (n = 10) received an organic zinc source (Zn-Met) for 3 months, at 30 mg Zn-Met/kg DM/day (BIOPLEX® Zn, Alltech, USA). The control calves (group C) (n = 10) received the same diet without organic zinc supplementation. During the experimental period, the general health status of calves was monitored.

At the beginning and end of the experiment, i.e. on days 7 and 90 of Zn-Met supplementation, blood samples were taken from the jugular vein of calves in both groups for biochemical and immunological analyses (serum concentrations of total protein [TP], albumin [ALB], urea, alkaline phosphatase [ALP], superoxide dismutase [SOD], vitamin A, vitamin E, copper [Cu], zinc [Zn], and total immunoglobulin [Ig]). The metabolic profile indicators, microelements Cu and Zn (by atomic absorption spectrophotometry AAS), vitamin A and E (by spectrofluorometry), and total serum immunoglobulin (by turbidimetry) concentrations were analyzed with commercial biochemical kits with the Hitachi 917 analyzer following the manufacturer's instructions (F. Hoffmann-La Roche, Germany) in Vetlabfarm s.r.o., Brno, Czech Republic. The decisive criterion for the diagnosis of Zn deficiency in calves is a decreased serum Zn concentration. Zinc concentrations lower than 12 µmol/l were regarded as deficient, Zn concentrations within the range of 12–18 µmol/l were considered to be the optimum Zn status. Zinc concentrations higher than 18 µmol/l were regarded as indicating a slightly excessive Zn supply. Raw data were statistically analyzed using Microsoft EXCEL® and Statistica®; the data sets were compared by two-choice Student's *t*-test with equal or unequal variance. The correlation was expressed by correlation coefficient and its significance was evaluated by Student's *t*-test. The value of $P \leq 0.05$ was considered as significant, $P \leq 0.01$ as highly significant.

Results

At the beginning of the experimental period two indicators were outside the physiological range. Both the supplemented (Zn-Met) and the control group showed low serum copper and total immunoglobulin concentrations. Significant differences in Ig ($P \leq 0.01$), Zn ($P \leq 0.05$) and SOD ($P \leq 0.01$) concentrations were demonstrated on day 7. The zinc supplemented group showed higher concentrations of the three indicators than the control group.

At the end of the trial (day 90) the Zn-Met (P) and control (C) calves showed significant differences in following indicators: TP ($P \leq 0.05$), albumin ($P \leq 0.01$), urea ($P \leq 0.01$), ALP ($P \leq 0.01$), SOD ($P \leq 0.01$), copper ($P \leq 0.05$), zinc ($P \leq 0.01$), and total Ig ($P \leq 0.05$). Serum urea and Zn levels in the control group, and Cu concentration in both the groups were outside the physiological ranges. Total protein, albumin (P: ($P \leq 0.05$), immunoglobulins, and vitamin A showed a significant increase ($P \leq 0.01$). Urea ($P \leq 0.01$), ALP ($P \leq 0.01$), SOD ($P \leq 0.05$), vitamin E ($P \leq 0.01$) and Zn ($P \leq 0.05$) concentrations were decreased in both groups. Initial and final values are summarized in Table 1.

The experimental calves did not show any clinical signs of Zn deficiency or other diseases at the beginning or at the end of the trial.

Serum total protein (TP) and albumin concentrations increased with age of the calves. Both experimental groups showed significant differences in the initial and final concentrations of TP. The Zn-Met group showed slightly higher final TP and albumin concentrations than group C (TP: $P \leq 0.05$, albumin: $P \leq 0.01$).

At the end of the trial period there was a significant difference between the initial and final urea concentrations both in the control ($P \leq 0.01$) and the Zn-Met ($P \leq 0.01$) group. A significant final difference ($P \leq 0.01$) in final urea concentrations between the groups was observed. Group C showed a greater drop below the lower limit of the physiological range than the group Zn-Met.

Alkaline phosphatase and SOD activities decreased with age of the calves. There was a significant difference between the groups. The final ALP activity was significantly higher in group C compared to Zn-Met ($P \leq 0.01$). The measurements performed at the beginning and end of trial revealed a significant drop ($P \leq 0.01$) in serum ALP activity in each group.

Table 1. Biochemical indicators of calves on days 7 and 90 of the trial.

Indicator	Reference values	Unit		Day 7		Day 90	
				Zn-Met	C	Zn-Met	C
Total protein (TP)	50–70	g/l	x	57.52	58.48	68.47*	65.94*
			SD	2.61	1.5	1.87	2.42
Albumin	30.3–42	g/l	x	30.55	30.53	35.95**	32.73**
			SD	1.68	1.45	1.4	1.04
Urea	2.5–6.6	mmol/l	x	4.37	4.23	2.92**	2.48**
			SD	0.38	0.5	0.3	0.21
Alkaline phosphatase (ALP)	max 20	µkat/l	x	10.56	11.82	7.1**	9.06**
			SD	1.99	1.48	1.3	1.65
Superoxide dismutase (SOD)	-	U/ml	x	487.92**	456.39**	471.26**	426.1**
			SD	22.87	28.67	29.69	33.55
Vitamin A	> 0.7	µmol/l	x	1.26	1.3	2.37	2.55
			SD	0.15	0.23	0.6	0.48
Vitamin E	> 0.64	µmol/l	x	7.3	7.07	2.97	2.65
			SD	1.65	1.35	0.55	0.37
Copper (Cu)	12.2–18.9	µmol/l	x	10.98	11.35	10.8*	9.88*
			SD	1.29	1.38	1.24	1.2
Zinc (Zn)	12.6–45.9	µmol/l	x	15.36*	13.74*	14.27**	11.25**
			SD	0.83	2.26	1.16	2.52
Total immunoglobulin (Ig)	> 12	g/l	x	14.51**	7.46**	27.77*	24.31*
			SD	1.08	0.69	3.97	1.7

*significant difference a t$P < 0.05$, **highly significant difference at $P < 0.01$, SD = standard deviation, x = mean value

Both ALP and SOD are Zn-depended enzymes, therefore we investigated the relationship between these two indicators. Significantly positive correlation of ALP activity and serum Zn concentration was demonstrated by regression analysis as r = 0.389, ($P \leq 0.01$), which may imply a favourable influence of Zn-Met on serum ALP activity. We found significant differences between the initial and final SOD values in each group (P: $P \leq 0.01$ vs. C: $P \leq 0.003$) and a significantly positive correlation coefficient r = 0.279 ($P \leq 0.05$). A more pronounced drop of SOD in group C is shown in Table 1.

The differences between the experimental groups in the initial and final concentrations of vitamin A and E (days 7 and 90, respectively) were not significant. However, there was a significant increase ($P \leq 0.01$) from the initial to final plasma vitamin A concentration in each group (Table 1). Vitamin E concentrations were significantly decreased ($P \leq 0.01$) in both groups. The Zn-Met group tended to show higher initial and final vitamin E concentrations compared to group C.

All calves showed marginal copper deficiency throughout the trial. Initial and final serum Cu concentrations in both experimental groups were outside the physiological range (Table 1). A significantly negative correlation between Zn and Cu concentrations reflects the suppressive effect of increasing Zn concentrations on Cu concentrations that were decreasing in both the groups at the same rate; r = -0.493; ($P \leq 0.05$).

By evaluating serum Zn concentration we found significant differences in serum Zn concentrations in Zn-Met and control calves on day 7 ($P \leq 0.05$) and day 90 ($P \leq 0.01$). During the trial a significant drop ($P \leq 0.05$) in serum Zn concentrations occurred in group C. The final serum Zn concentration was below the physiological range in group C, whereas in the Zn-Met group it was high above the lower physiological limit. The Zn-Met group showed a decrease as well, but non-significant.

During the trial there was a significant increase in total serum Ig in each group ($P \leq 0.01$). On day 7, in neither group total Ig values reached the lower limit of physiological range (>18 g/l). The Zn-Met group showed significantly higher serum Ig concentrations than group C both at the beginning and the end (day 7: $P \leq 0.01$, day 90: $P \leq 0.05$), with final serum Ig concentrations being more increased than the initial ones.

Discussion

During the 90-day trial we observed a physiological TP increase, qualified as normoproteinaemia that is to be achieved at the age of 3–4 months (Dirksen et al. 2006). Another effect we observed was the reduction of Zn-dependent ALP activity with increasing age. Generally, growing animals show higher ALP activity because of the bone isoenzyme ALP activity. Zinc is involved in bone mineralization and calcium mobilization. Positively correlated ALP activity is decreased in Zn deficient animals (Heilig et al. 2014). At the end of the trial the control calves were marginally Zn deficient, although ALP activity was higher compared to the Zn supplemented group. Spears (1989) demonstrated an increased ALP activity in heifers supplemented with organic and inorganic Zn sources. A decrease in ALP activity at the end of this trial was smaller in group C. Andrieu (2008) reported that Zn deficiency leads to a decreased ALP activity in cattle. Heilig et al. (2014) found reduced serum Zn and ALP concentrations in milk fever cows compared to a healthy control group. However, the ALP activity is influenced by many other factors and in cattle it shows great individual variability (Dirksen et al. 2006; Chesters 1997). Therefore, ALP is not recommended as a suitable indicator of Zn concentration in the body status of the animal (NRC 2001).

The increase in vitamin A concentrations and decrease in vitamin E concentrations could be associated with dietary changes. Vitamin A concentration in group C tended to be higher on days 7 and 90. Dang et al. (2013) demonstrated a positive effect of Zn/Cu/vitamin E micronutrient supplementation on the phagocytic activity of neutrophils, modulated immune cell function, and enhancement of their production in peripartum cows. A significant ($P < 0.01$) increase in the B lymphocyte proliferation was observed in the Zn supplemented group and Zn/Cu/vitE supplemented cows on day 15 pre-calving, as well as in the copper-supplemented group of cows during the *post partum* period ($P < 0.01$). This confirms that it is vital to provide sufficient amounts of copper and safeguard the optimal function of the antioxidant system in cattle.

A drop of in urea concentrations below the physiological limit in the control calves at the end of the trial was surprising. Otherwise, the calves were prosperous. The reason for the serum urea drop could be an insufficient dietary crude protein (CP) supply. Spears (1989) explained a serum urea drop in heifers supplemented with Zn-Met by higher amino acid utilization for protein synthesis. Also Kessler et al. (2003) reported a serum urea drop in fattening bulls.

Unlike in this study, Kessler et al. (2003) did not observe any significant differences in metabolic serum indicators (TP, ALB, ALP) between the C and Zn-Met supplemented groups at the end of their trial. The regression analysis demonstrated a positive correlation between Zn and SOD concentrations in serum. As compared to the control calves, the Zn-supplemented group showed significantly higher Zn concentrations and SOD activity in serum; a similar drop in each indicator was demonstrated. Singh and Singha (2003) and Nojiri et al. (2011) reported a positive effect of Zn supplementation on SOD activity as well. A previously known negative correlation between serum Zn and Cu concentrations was demonstrated. Similar results were reported by Sikka et al. (2002).

The supplementation of Zn-Met showed a significant effect on serum Ig concentrations in Zn-supplemented calves. Similarly, Droke et al. (1998) and Dang et al. (2013)

demonstrated the positive effect of Zn, Cu, and vitamin E supplementation on the immune response in cattle, and so did Chirase and Greene (2001) who compared organic Zn-Met with zinc oxide (ZnO) supplementation in calves infected with infectious bovine rhinotracheitis. Kincaid et al. (1997) did not demonstrate any effects of Zn-Met, Zn-Lys and ZnO supplementation on the cytotoxic activity and phagocytic activity of neutrophils. Spears and Kegley (2002) were not successful either. Sikka et al. (2002) reported a significant positive interaction between serum zinc concentration and vitamin A/D/E supplementation, and higher total Ig concentrations in buffalo calves supplemented with Zn, Cu, Ca, Mg, Cu, Mn, Fe, Na, Cl, Co, I, and F without vitamin A/D/E treatment compared to calves treated with all the micronutrients. Their dams were supplemented *pre partum* with vitamins A, D, and E. In our study a significant positive correlation between serum Zn and serum total Ig concentrations was demonstrated. Engle et al. (1997) reported a more pronounced cell response in marginally Zn deficient calves supplemented with Zn-Met and Zn-Lys than in calves supplemented with $ZnSO_4$. Nemec et al. (2014) reported a greater improvement of the immune status in lactating cows receiving organic Zn compared to those supplemented with inorganic Zn, Cu, and Mn sources. The neutrophil phagocytosis was positively affected in the group supplemented with chelated minerals.

Our results suggest that Zn-Met supplementation favourably influenced serum Zn concentrations. Souza et al. (2007) demonstrated a significantly higher retention of zinc in rats treated with Zn-Met compared to those given zinc sulphate ($ZnSO_4$) and zinc oxide (ZnO), which indicates an increase in Zn bioavailability reflected in its higher retention in the body.

The results of the experiment showed a favourable effect of the organic Zn source (Zn-Met, Bioplex®) supplementation of calves on serum Zn concentrations, total serum Ig concentrations, SOD activity, and serum TP and albumin concentrations. A positive correlation between Zn concentrations and ALP and SOD activities and a negative correlation between Zn and Cu concentrations were demonstrated. Serum Zn concentrations were slowly decreasing during the experimental period in both groups. The control group showed a highly significant drop in Zn concentrations. Significant differences in serum TP and albumin related to the calves' age were observed. In the Zn-Met supplemented group a significantly smaller SOD activity drop was observed at the end of the trial period. Initial and final total immunoglobulin concentrations were higher in the Zn treated group.

Acknowledgements

This work was supported by the grant of Ministry of Agriculture of the Czech Republic NAZV GJ1210144.

References

Andrieu S 2008: Is there a role for organic trace element supplements in transition cow health? Vet J **176**: 77-83

Chesters JK 1997: Zinc. In: O'Dell BS, Sunde RA (Eds): Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements. Marcel Dekker, New York, 185 p.

Chirase NK, Greene L 2001: Dietary zinc and manganese sources administered from fetal stage onwards affect immune response of transit stressed and virus infected offspring steers calves. Anim Feed Sci Technol **93**: 217-228

Cousins RJ, Leinart AS 1988: Tissue-specific regulation of zinc metabolism and metallothionein genes by interleukin 1. Faseb J **2**: 2884-2890

Dang AK, Prasad S, Pal S, Mukherjee J, Sandeep IVR, Mutoni G, Pathan MM, Jamwal M, Kapila R, Kapila S, Kaur H, Dixit S, Mohanty AK, Prakash BS 2013: Effect of supplementation of vitamin E, copper and zinc on the *in vitro* phagocytic activity and lymphocyte proliferation index of peripartum Sahiwal (*Bos indicus*) cows. J Anim Physiol Anim Nutr **97**: 315-321

Dirksen G, Gründer HD, Stöber M 2006: Internal Medicine and Surgery of Cattle (in German), 5. Aufl., Parey Verlag, Stuttgart, 1325 p.

Droke EA, Gengelbach GP, Spears JW 1998: Influence of level and source (inorganic vs. organic) of zinc supplementation on immune function in growing lambs. Asian-Australas J Anim Sci **11**: 139-144

Engle TE, Nockels CF, Kimberling CV, Weaber DL, Johnson AB 1997: Zinc repletion with organic or inorganic forms of zinc and protein turnover in marginally zinc deficient calves. J Anim Sci **75**: 3074-3081

Heilig M, Bäuml D, Fürll M 2014: Importance of trace elements zinc and iron in cattle milk fever (in German). Tierärztl Prax **42**: 199-208

Illek J 1987: The incidence and diagnosis, therapy and prevention of cobalt, manganese, copper and zinc deficiency in cattle (in Czech). Doctoral thesis, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Czech Republic, 330 p.

Illek J 2003: The function of trace elements (in Czech). In: Jelinek P, Koudela K (Eds): Physiology of farm animals (in Czech). Mendel University Brno, Czech Republic pp. 180-188.

Kessler J, Morel I, Dufey PA, Gutzwiller A, Stern A, Geyer H 2003: Effects of organic zinc sources on performance, zinc status and carcass, meat and claw quality in fattening bulls. Livest Prod Sci **81**: 161-171

Kincaid RL, Chew BP, Cronrath JD 1997: Zinc oxide and amino acids as sources of dietary zinc for calves: effects on uptake and immunity. J Dairy Sci **80**: 1381-1388

Lipscomb WL, Sträter N 1996: Recent advances in zinc enzymology. Chem Rev **96**: 2237-3042

Nemec LM, Richards JD, Atwell CA, Diaz DE, Zanton GI, Gressley TF 2014: Immune responses in lactating Holstein cows supplemented with Cu, Mn and Zn as sulfates or methionine hydroxyl analogue chelates. J Dairy Sci **95**: 4568-4577

Nojiri H, Saita Y, Morikawa D, Kobayashi K, Tsuda C, Miyazaki T, Saito M, Marumo K, Yonezawa I, Kaneko K, Shirasawa T, Shimizu T 2011: Cytoplasmic superoxide causes bone fragility owing to low-turnover osteoporosis and impaired collagen crossing-linking. J Boner Miner Res **26**: 2682-2694

NRC (National Research Council) 2001: Nutrient Requirements of Domestic Animals, Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th edn. National Academy Press, Washington DC, 381 p.

Sikka P, Lall D, Arora U, Sethi RK 2002: Growth and passive immunity in response to micronutrient supplementation in new-born calves of Murray buffalo given fat soluble vitamins during late pregnancy. Livest Prod Sci **75**: 301-311

Singh C, Singha SPS 2003: Effect of zinc administration on the activities of some Zn-metalloenzymes in pre-ruminant buffalo calves. Indian J Anim Sci **73**: 36-39

Spears JW 1989: Zinc methionine for ruminants: Relative bioavailability of zinc in lambs and effect of growth and performance of growing heifers. J Anim Sci **67**: 835-843

Spears JW, Kegley EB 2002: Effect of zinc source (zinc oxide vs. zinc proteinate) and level on performance, carcass and immune response of growing and finishing steers. J Anim Sci **80**: 2747-2752

Spears JW, Weiss P 2008: Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. Vet J **176**: 70-76

Souza AR de, Martins LP, De Faria LC, Martins MEP, Fereira RN, Da Silva AML, Gil ES, da Conceição EC 2007: Studies on the bioavailability of zinc in rats supplemented with two different zinc-methionine compounds. Lat Am J Pharm **26**: 825-830

Suttle NF 2010: Zinc. In: Suttle NF 2010 (Eds): The Mineral Nutrition of Livestock, 4th edn. CABI International, Wallingford, UK, 579 p.

Wedekind KJ, Horton AE, Baker DE 1992: Methodology for assessing zinc bioavailability: efficacy estimates for zinc methionine, zinc sulfate and zinc oxide. J Anim Sci **70**: 178-197

FOLIA VETERINARIA
www.uvm.sk

FOLIA VETERINARIA, 53, 1: SUPPLEMENTUM, 262-271, 2009

EFFECT OF ORGANIC ZINC SUPPLEMENTATION ON WEANED CALVES

Dresler, S., Povolna, L., Illek, J., Zeman, L.

Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Czech Republic, Faculty of Agronomy
Department of Animal Nutrition and Forage Production
Zemedelska 1, Brno
The Czech republic

sylva.dresler@centrum.cz

ABSTRACT

The aim of the study was to investigate the effect of organic zinc (Zn) supplementation in marginally Zn deficient calves and assess the effect of zinc supplementation on plasma Zn levels, average daily weight gain (ADWG), selected metabolic profile (blood chemistry) parameters and serum immunoglobulin levels. The trial included 18 weaned female calves, allocated into 2 groups (n=9). Zinc treated calves (P group) received 100mg Zn-Met / calf/day (BIOPLEX® Zn, Alltech) for 3 months and the Control calves (K group) the same diet without Zn supplementation. In the Zn-Met supplemented calves there was significantly higher ADWG than in the unsupplemented control calves. Organic Zn supplementation increased plasma Zn levels and ADWG (1.14 kg vs. 1.05 kg - Control). A positive correlation between Zn levels and ALP and SOD activities in plasma, and a negative correlation between Zn and Cu levels was demonstrated. Zn supplementation in calves did not markedly influence metabolic profile, nor serum immunoglobulin levels. Significant changes in metabolic profile parameters were observed only in association with the calf age. As compared with the Control group, there were in the Zn supplemented group a significantly smaller ALP activity decrease and a significantly greater SOD plasma concentration decrease at the end of the trial period. Final total immunoglobulin levels were higher in the Zn supplemented group than in the Control group, but the difference was statistically significant.

Key words: calves; immunoglobulin; metabolic profile; weight gain; zinc

INTRODUCTION

The enzyme activity and gene expression of proteins influenced by zinc, as an essential trace element that plays structural and catalytic roles in over 300 enzymes and transcription factors (18), affect reproduction, growth, milk production and the immune system of the animals (2). Zinc sources of greater bioavailability, such as zinc methionine (Zn-Met) compared to traditional Zn sources (16, 36) can increase the concentration of Zn in tissues, such as thymus, bone marrow and plasma (1). The role of Zn as an antioxidant (i.e., SOD) and the importace of Zn to cell replication and proliferation are the two most direct connections between Zn and immune function (32). Therefore, the objectives of this research were to assess the effect of zinc supplementation on plasma Zn levels, average daily weight gain (ADWG), selected metabolic profile parameters and serum immunoglobulin levels.

MATERIAL AND METHODS

Animals and diets

In the large calf house there was 630 Holstein cows, mean milk yield per 305 day lactation was 9.115 kg (mean fat - 3.82 %, mean protein - 3.35 %). Reproduction efficiency was poor (150 days open; 2.2 inseminations per one conception - insemination index; 430 days calving to calving interval; 88 days calving to first service interval; 32 % conception rate after the 1st service). Out of 236 calves, 110 were pre-weaning (milk replacer fed) and 126 were post-weaning. ADWG was about 0.82 kg. Losses in calves due to mortality reached 6.12 %. The calves did not show clinical signs of Zn deficiency.

For the whole pre-weaning period the calves were housed in individual pens. Twice a day they received 2 litres of Lactosan milk replacer, and Calf Starter Feed 1 (22 % CP, 30 mg Zn. kg^{-1} DM). They had free access to meadow hey and water ad libitum between the meals. The calves were weaned at 8 weeks of age.

The trial included 18 weaned female calves, randomly allocated into 2 separately housed groups of 9 animals. The diet consisted of Calf Starter Feed 2 (19.5 % CP, 30 mg Zn. kg^{-1} DM), meadow hey and water ad libitum. After 14 day adaptation period, the calves in both the groups were individually weighted and experimental Zn supplementation was launched. The Zn treated calves (P group) (n=9) received organic zinc source (Zn-Met) for 3 months, at a dose 100mg Zn-Met /calf/ day (BIOPLEX® Zn, Alltech). The Control calves (K group) (n=9) received the same diet without organic zinc source supplementation.

During the experimental period, the general health status of calves was monitored. At the beginning and end of the trial, the calves were weighted and withdrawn blood samples to analyze chosen plasma values and serum immunoglobulin levels.

Sampling and laboratory analysis

At the beginning and end of the experiment, i.e. 90 days after the beginning of Zn supplementation, calves in both treatments were withdrawn blood from the jugular vein for blood chemistry and immunology analyses(Total protein, albumin, urea, alanine amino transferase (ALP), superoxide dismutase (SOD), vitamin A, vitamin E, copper, zinc levels in plasma, total immunoglobulin levels in serum). The metabolic profile parameters were analyzed with the COBAS MIRA S analyzer, microelements by atomic absorption spectrophotometry (AAS) with the device ATOMSPEK H 1551, vitamin A and E by fluorometry and total serum immunoglobulin levels by the zinc-sulphate turbidimetry, using the spectrophotometer at 590 nm wavelength. The decisive criterion for the diagnosis of Zn deficiency in calves is a decreased plasma Zn level. Zn levels lower than 12 $\mu mol.l^{-1}$ were regarded as deficient, Zn levels within the range of 12–18 $\mu mol.l^{-1}$ were considered as optimum Zn status. Zn levels over 18 $\mu mol.l^{-1}$ were regarded to indicate a slightly excessive Zn supply.

Statistical methods

The raw data were statistically analyzed using Microsoft EXCEL and KyPlot and files were compared by a two choice paired t-test for the median value and two-choice t-test with equal of unequal variance. Correlations of biochemical parameters were expressed by correlation coefficient, and statistical significance of correlation was evaluated by t-test. For the control of data analysis, non-parametric tests were used, e.g. the Wilcoxon test. As statistically significant, the $P < 0.05$ was considered, $P < 0.01$ as highly significant.

RESULTS

General health status of calves was without visible disease signs at the beginning the trial period. The experimental calves did not show clinical signs of Zn deficiency, neither at the beginning nor at the end of the trial. In the control group, one calf died during the experimental period due to acute rumen tympany.

When we compared the Zn supplemented calves with the control ones, we received a statistically significant difference ($P < 0.05$). The calves supplemented with Zn - Met had ADWG of 1.14 kg, whereas the control calves of 1.05 kg, as shown in the Fig. 1.

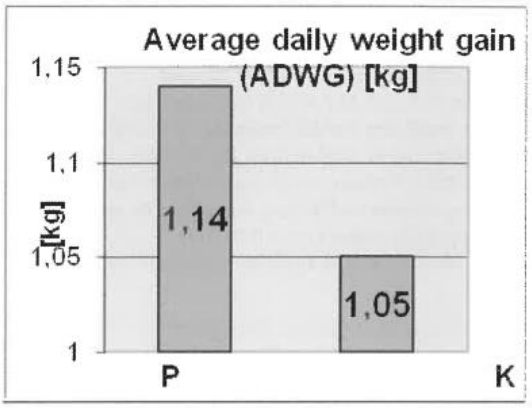


Fig. 1. Average daily weight gain (ADWG) in kg

Blood chemistry parameters: In both the experimental groups, low total protein and copper levels and increased plasma ALP were found. These parameters were outside the physiological ranges.

After the experimental period, both the Zn supplemented and control calves showed significant differences in most parameters under study. Total protein, albumin and vitamin A showed a highly significant increase. Urea, ALP, SOD, vitamin E, copper and zinc levels were decreased. At the end of experimental period, no significant differences in blood chemistry parameters between the experimental groups were found. Initial and final values are summarized in Tables 1 and 2.

With an increasing age of calves, total protein and albumin levels were increasing. Both the experimental groups showed highly significant differences between the initial and final levels. The Zn supplemented group (P) showed slightly higher final TP (68.3 ± 2.95 $g.l^{-1}$) and albumin (32.59 ± 2.06 $g.l^{-1}$) levels than the control group (K) (TP 66.58 ± 2.53 $g.l^{-1}$and Alb 32.43 ± 1.2 $g.l^{-1}$), but the differences were not significant.

Surprisingly, at the end of the trial period there was a highly significant difference in urea levels from the initial levels both in the Control ($P < 0.01$) and Zn treated ($P << 0.01$) groups. The Zn supplemented group showed a deeper drop and higher statistical significance (from 4.23 ± 0.62 $mmol.l^{-1}$ to 2.25 ± 0.42 $mmol.l^{-1}$). In the Control group, the decrease was smaller (from 4.52 ± 0.84 $mmol.l^{-1}$ to 2.34 ± 0.28 $mmol.l^{-1}$).

Tables 1 and 2 show that there was a significant increase in plasma vitamin A levels from the initial to final values in both the experimental groups. On the contrary, vitamin E levels showed a significant decrease to a value lower than 3 $\mu mol.l^{-1}$. The Zn supplemented group showed a non-significantly higher vitamin E level (2.91 ± 0.68 $\mu mol.l^{-1}$) than the Control group (2.48 ± 0.24 $\mu mol.l^{-1}$).

Plasma ALP and SOD activities decreased during the experimental period, but ALP activity was still higher than the reference physiological value. There was a non-significant numerical difference between the Zn-supplemented and control groups. The final ALP activity in the control group was higher than in the Zn-supplemented group (5.34 ± 2.60 μkat.l^{-1} vs. 5.09 ± 1.42 μkat.l^{-1}, respectively). However, the comparison of the groups at the beginning and end of the trial revealed a significant ($P < 0.01$) drop in plasma ALP activity in the Zn-supplemented group. This may imply that Zn-Met favourably influenced plasma ALP activity. The enzyme ALP contains Zn, therefore we investigated the relationship between the two parameters. A highly significant correlation between ALP activity and plasma Zn level was found by the regression analysis ($P = 0.00371$).

The amount of SOD (containing Zn too) decreased with the increasing age of calves. We found statistically significant differences between the initial and final SOD values in both groups (P; $P < 0.05$ and K; $P < 0.01$). We received the correlation coefficient $r = 0.399806$ and statistical significance of $P = 0.02585$. The positive correlation (ALP activity increases with increasing plasma Zn) is shown in Fig. 2 and between SOD and Zn in Fig. 3. A more pronounced drop of SOD in the Zn-supplemented group is shown in Tables 1 and 2.

Fig. 2 and 3. The correlation between plasma Zn (μmol/l) levels and SOD activity (U/ml) or ALP activity (μkat/l)

Initial and final plasma Cu levels in both the experimental groups were below the physiological range (Tables 1 and 2). Beside marginal Zn deficiency the calves probably had marginal copper deficiency. Between Zn and Cu levels, a significant regression relationship was found ($P = 0.029941$). The value of

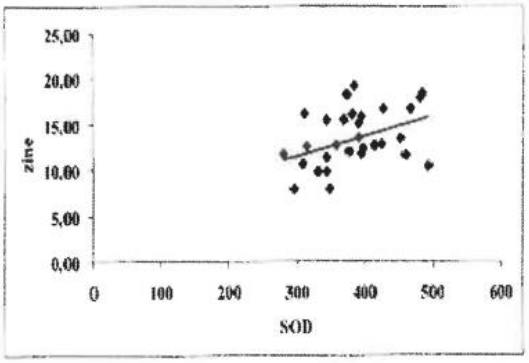


Fig. 2. The correlation between plasma Zn (μmol.l^{-1}) levels and SOD activity (U.ml^{-1})

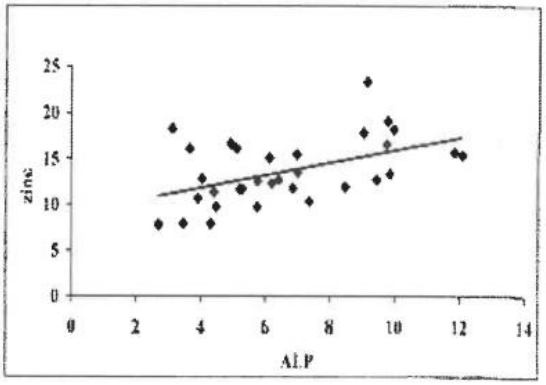


Fig. 3. The correlation between plasma Zn (μmol.l^{-1}) levels and ALP activity (μkat.l^{-1})

Table 1 and 2. Blood chemistry parameters in the Zn-supplemented group (P) and control group (K) at the beginning (Day 0) and end of the trial (Day 90)

Group P	x	SD	Cv [%]	Group K	x	sd	Cv [%]
Total Protein (g.l^{-1}) Day 0	56.02**	6.81	12.16	**Total Protein (g.l^{-1})**	59.82**	4.12	6.89
Day 90	68.31	2.95	4.31	Day0(μmol.l^{-1})Day 90	66.58	2.53	3.80
Albumin (g.l^{-1}) Day 0	30.71*	1.33	4.32	**Albumin (g.l^{-1})** Day 0	30.33**	1.83	6.05
Day 90	32.59	2.06	6.33	Day 90	32.43	1.21	3.72
Urea (mmol.l^{-1}) Day 0	4.23**	0.62	14.56	**Urea (mmol.l^{-1})** Day 0	4.52**	0.84	18.55
Day 90	2.25	0.42	18.85	Day 90	2.34	0.28	11.91
ALP (μkat.l^{-1}) Day 0	7.66*	1.80	23.48	**ALP (μkat.l^{-1})** Day 0	7.77**	2.64	33.95
Day 90	5.09	1.42	27.88	Day 90	5.34	2.60	48.59
Vit. A (μmol.l^{-1}) Day 0	1.23**	0.15	12.23	**Vit. A (μmol.l^{-1})** Day 0	1.35**	0.36	26.42
Day 90	2.32	0.79	33.89	Day 90	2.37	0.31	13.09
Vit. E (μmol.l^{-1}) Day 0	7.45**	1.23	16.51	**Vit. E (μmol.l^{-1})** Day 0	7.13**	2.31	32.39
Day 90	2.91	0.68	23.37	Day 90	2.37	0.24	9.68
SOD (U.ml^{-1}) Day 0	391.16**	42.35	10.83	**SOD (U.ml^{-1})** Day 0	440.22**	44.14	10.03
Day 90	350.80	39.69	11.32	Day 90	356.73	47.22	13.24
Cu (μmol.l^{-1}) Day 0	10.95	1.60	14.58	**Cu (μmol.l^{-1})** Day 0	11.46	2.03	17.70
Day 90	10.47	1.39	13.32	Day 90	10.39	1.17	11.24
Zn (μmol.l^{-1}) Day 0	15.32	3.59	23.43	**Zn(μmol.l^{-1}))** Day 0	14.95	3.08	20.60
Day 90	12.52	2..76	22.04	Day 90	11.34	3.09	27.03

** highly significant difference between the initial (Day 0) and final (Day 90) values
* significant difference between the initial (Day 0) and final (Day 90) values

correlation coefficient r = -0.5264 (with minus sign), describes the fact that with increasing Zn levels, Cu levels decreased, both in Zn-supplemented and control calves.

The levels of total serum immunoglobulins in each calf were rather varied. The values ranged from 2.0 $g.l^{-1}$ to 22.9 $g.l^{-1}$. At the end of the trial, total Ig levels were similar in all the calves. During the trial there was a significant increase of total serum Ig both the groups ($P < 0.01$). The Zn-Met supplemented group showed significantly higher mean final serum Ig (27.54 ± 1.82 $g.l^{-1}$) than the control group (26.78 ± 1.72 $g.l^{-1}$). But this finding does not imply that Zn influenced total serum Ig levels.

Table 3. Total serum immunoglobulin levels ($g.l^{-1}$) in the Zn-supplemented (P) and control (K) groups at the beginning (Day 0) and end (Day 90) of the trial

Group/blood sampling		Day 0	Day 90
P (n=9)	x	14.73**	27.54
	SD	5.43	1.82
	CV	36.86	6.61
K (n=9)	x	7.57**	26.78
	SD	5.13	1.72
	CV	67.77	6.42

** highly significant difference ($P < 0.01$) between the initial (Day 0) and final (Day 90) values

Table 4. Plasma Zn levels ($\mu mol.l^{-1}$) in calves supplemented with Zn-Met (P) and control calves (K) at the beginning (Day 0) and the end (Day 90) of the trial

Group / blood sampling		Day 0	Day 90
P (n=9)	x	14.95**	11.43**
	SD	3.08	3.09
K (n=9)	x	15.32	12.52
	SD	3.59	2.76

** highly significant difference ($P < 0.01$) between the initial (Day 0) and final (Day 90) values

By assessing plasma Zn levels in all the calves under study it was found that 18 % calves were Zn deficient, 23.5 % showed marginal Zn status and 35 % optimum Zn status and 23.5 % showed plasma Zn levels exceeding the reference physiological range. During the trial there was a significant drop ($P < 0.01$) in plasma Zn levels. The Zn-supplemented group showed a decrease but not statistically significant ($P < 0.2$). Final Zn levels in the control group were bellow the physiological range (11.34 $\mu mol.l^{-1}$), whereas in the Zn-supplemented group were above the lower limit (12.52 $\mu mol.l^{-1}$). This suggests that Zn-Met supplementation favourably influenced plasma Zn levels.

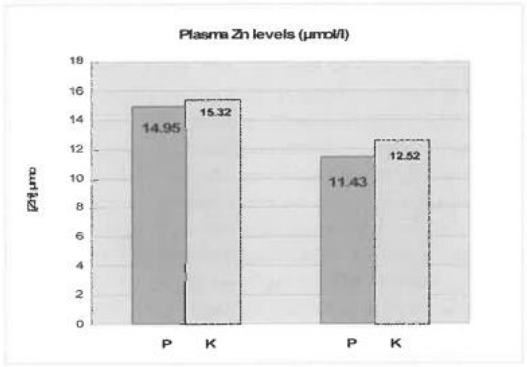


Fig. 4. Plasma Zn levels in calves supplemented with Zn-Met (P) and control calves (K); Day 0; Day 90

DISCUSSION

This experiment was focused on the effect of Zn-Met (blood chemistry/metabolic profile, average daily weight gain, total serum Ig) in marginally Zn deficient calves with no clinical signs of Zn deficiency. In animals with clinical signs of Zn deficiency, the percentage of Zn resorption is higher (21). In younger calves, 50 % Zn absorption was reported, whereas in older calves only 30 % (23). Both the above-mentioned facts (older calves without deficiency signs) might have influences the results of the trial because this type of trials with younger calves or with calves with clinical signs of Zn deficiency is reported to give more favourable results. Kessler *et al.* (15) did not find significantly positive effect of organic and inorganic Zn supplementation in fattening bulls on ADWG, metabolic profile and immune response.

The organic Zn (Zn-Met) supplementation to marginally Zn deficient calves without clinical signs increased plasma Zn levels and average daily weight gain in growing calves. M. Huerta *et al.* (10) demonstrate the the effects of growth implants and dietary source of Zn on growth, concentration of Zn in liver and serum and immune function in heifers and steers. He describes, that growth implants affect metabolism and alter Zn needs of cattle. Growth implants increased ADG of heifers fed the control diet or the diet with ZnSO4 but not the diet containing Zn-Met. However, the ADG of non-implanted heifers was significantly improved by added Zn-Met but not ZnSO4. Implanted steers had increased ADG when fed ZnSO4, however, nonimplanted steers performed better with Zn-Met. Growth implants (Synovex) increased the response of IgG to vaccination.

At the beginning of the trial we observed low levels of total protein that achieved physiological values at the end of the trial. We consider this increase as physiological. After the birth this value is about 50 $g.l^{-1}$ and normoproteinemia is achieved at the age of 3-4 months. If hypoproteinemia persist, it is a sign insufficient dietary protein supply, liver or kidney disorders of impaired protein absorption in the gut (17).

Another common sign which we have also observed is

increased ALP activity. In growing animals it is twice as high as in mature animals, for which bone isoenzyme ALP is responsible. Its activity increases with bone activity, or liver, skeleton or tumorous disease (20). Spears (30) demonstrated increased ALP activity in heifers supplemented with organic and inorganic Zn sources, which supports our results (a decrease in ALP activity in the end of the trial was smaller in Zn-Met supplemented calves. On the other hand it was demonstrated that Zn deficiency decreases ALP activity in mice. In addition to a highly significant relationship between ALP and Zn, ALP activity is influenced by many other factors. ALP activity in cattle shows a great individual variability (13). Therefore ALP does not appear to be a suitable indicator of Zn concentration in the body (24).

The increase in vitamin A levels and decrease in vitamin E levels is probably associated with dietary changes, because the first sampling was carried out immediately after the weaning.

A decrease in urea concentrations under the physiological level in all the calves under study at the end of the trial was surprising. The calves were prosperous and had adequate weight gains. The reason for the drop in urea levels is usually insufficient dietary crude protein supply. The calves had received milk replacer and calf starter 1 before the beginning of the trial. During the trial period they were fed calf starter 2 and meadow hey. All the feeds used provided were sufficient sources of CP, reported similar plasma urea drop in fattening bulls but they did not make comments about it. Spears (1989) explained plasma urea drop in heifers supplemented with Zn-Met by a higher amino acid utilization for protein synthesis.

Similarly to our study, Kessler *et al.* (14) did not observe significant differences between blood chemical parameters (TP, Alb, ALP) between the control and supplemented groups at the end of their trial. The regression analysis demonstrated a positive correlation between Zn and SOD levels in plasma. Therefore we expected a higher SOD activity in Zn-supplemented calves, similarly to the findings of Singh and Singha (29). The Zn-supplemented group that showed higher plasma Zn levels, however, showed a greater SOD drop than the control calves. This can be explained by the fact that SOD contains both Zn and Cu. Because of the negative correlation between CU and Zn, the Zn-supplemented group showed a greater decrease in SOD, due to lower Cu concentrations. A negative correlation between Zn and Cu concentrations we demonstrated confirmed the antagonistic relationship between the two elements which is generally known. Similar results were reported by Sikka *et al.* (28).

For the determination of total serum Ig levels we used the turbidimetric method. The Ig levels we found are closely correlated with IgG levels and less closely with other Ig classes' levels. The rests did not show a significant effect of Zn-Met on serum Ig levels in Zn-supplemented calves. The experiment was influenced by initial concentrations of total Ig. At the time of the first sampling, a great variability in total Ig levels among individual calves was noted. This effect could have been caused by many factors such as contact of the animals with infectious agents. Similarly, Kincaid *et al.* (16) did not demonstrate the effect of Zn supplementation on the immunity when they monitored the effect of Zn-Met, Zn-Lys and ZnO on other immune response parameters (e.g. cytotoxic activity, ability of neutrophils to fagocytize bacteria). Neither Spearse and Kegley (31) were successful.

There are several studies demonstrating positive effects of Zn on the immune response. Chirase and Greene (3) reported that Zn-Met supplementation resulted in significantly higher antibody titres in IBR virus challenged calves than ZnO supplementation. Sikka *et al.* (28) described higher Ig levels in buffalo calves supplemented with Zn and other microelements. Unlike this study, they demonstrated a significant positive correlation between Zn and serum total Ig levels. Another way how to study this effect is an intradermal administration of fytohemaglutinine and monitoring of skin reaction. Engle *et al.* (7) found in marginally Zn deficient calves a smaller cel response after fytogemaglutinine administration. Calves supplemented with Zn-Met and Zn-Lys showed a m ore pronounced cell response than the calves supplemented with $ZnSO_4$.

It seems that sufficient Zn levels in raw materials have a greater impact in the immunity than supplementary Zn. Many researchers reported a lower immune response in calves, lambs and mice with Zn deficiency (1, 5, 8, 27).

CONCLUSIONS

The results of the experiment indicate that the organic Zn (Zn-Met, Bioplex) supplementation to marginally Zn deficient calves without clinical signs increased plasma Zn levels and average daily weight gain in growing calves which is of economic significance. A positive correlation between Zn levels and ALP and SOD activities in plasma, and a negative correlation between Zn and Cu levels was demonstrated. Unfortunately, in this trial the effect of Zn on serum immunoglobulin levels was not demonstrated.

In the Zn-Met supplemented calves there was significantly higher ADWG than in the unsupplemented control calves (1.14 kg vs. 1.05 kg, respectively).

Plasma Zn levels were slowly decreasing during the experimental period in both the groups. The Control group showed a highly significant drop in Zn levels, the initial and final plasma Zn levels were 14.95 $\mu mol.l^{-1}$ (± 3.00) and 11.34 $\mu mol.l^{-1}l$ (± 0.90), respectively. In the Zn supplemented group did not show a significant decrease, the initial level of 15.32 $\mu mol.l^{-1}$ (± 3.59) dropped down to the final level of 12.52 $\mu mol.l^{-1}$ (± 2.76).

Zn supplementation in calves with marginal Zn deficiency did not markedly influence metabolic profile nor serum immunoglobulin levels. Significant differences in metabolic profile parameters were observed only in association with the calf age. In the Zn supplemented group there was a significantly smaller ALP activity decrease and a significantly greater SOD plasma concentration decrease at the end of the trial period. Final total immunoglobulin levels were higher in the Zn supplemented group, but the difference was not statistically significant.

REFERENCES

1. Cousins, R. J., Leinart, A. S., 1988: Tissue-specific regulation of zinc metabolism and metallothionein genes by interleukin-1. *FASEB J.*, 2, 2884-2890.

2. Chesters, J.K., 1997: Zinc. In: O'Dell, B. S., Sunde, R. A. (Eds.), *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements*. Marcel Dekker, New York, p. 185.

3. Chirase, N. K., Greene, L., 2001: Dietary zinc and manganese sources administered from fetal stage onwards affect immune response of transit stressed and virus infected offspring steers calves, *Anim. Feed Sci. Technol.*, 93, 217-228.

4. Dirksen, G., Gründer, H. D., Stöber, M., 2006: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, 5. Aufl., Parey Verlag.

5. Droke, E. A., Gengelbach, G. P., Spears, J. W., 1998: Influence of level and source (inorganic vs. organic) of zinc supplementation on immune function in growing lambs, (abstract). *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 11, 139-144.

6. Dryden G., 2008: *Animal Nutrition Science*. CAB International, Cambridge, USA.

7. Engle, T. E., Nockels, C. F., Kimberling, C. V., Weaber, D. L., Johnson, A. B., 1997: Zinc repletion with organic or inorganic forms of zinc and protein turnover in marginally zinc deficient calves. *J. Anim. Sci.*, 75, 3074-3081.

8. Hidiroglou, M., 1979: Trace element deficiencies and fertility in ruminants. *Journal of Dietary Science*, 62, 1195-1206.

9. huerta, M., Kincaid, R. L., Cronrath, J. D., Busboom J., Johnson, A. B., Swenson, C. K., 2002: Interaction of dietary zinc and growth implants on weight gain, carcass traits and zinc in tissues of growing beef steers and heifers. *Animal Feed Science and Technology*, 95, 15-32.

10. Illek, J., 1987: *Výskyt a diagnostika, terapie a prevence karenci kobaltu, manganu, mědi a zinku u skotu.* Doktorská disertační práce. Vysoká škola veterinární Brno, 330 s.

11. Illek, J., Becvar, O., Lokajova, E., Matejicek, M., 2000: Stopove prvky ve vyzive skotu - zinek. *Krmivarstvi*, 6, 30.

12. Jelinek, P., Koudela, K., 2003: *Fyziologie hospodářských zvířat*, MZLU Brno, 414 s.

13. Kessler, J., Morel, I., Dufey, P. A., 2001: Organische Zinkverbindungen in der Munimast. AGRARForschung, 8, 376-381.

14. Kessler, J., Morel, I., Dufey, P. A., Grutzwiller, A., Stern, A., Geyer, H., 2003: Effect of organic zinc sources on performance, zinc status and carcass, meat and claw quality in fattening bulls. *Livest. Prod. Sci.*, 81, 161-171.

15. Kincaid, R. L., Chew, B. P., Cronrath, J. D., 1997: Zinc oxide and amino acids as sources of dietary zinc for calves: effects on uptake and immunity. *J. Dairy Sci.*, 80, 1381-1388.

16. Kováč, G., 2001: *Choroby hovadzieho dobytka*. Vydavatelstvi M&M, Prešov, 874 s.

17. Lipscomb, W. L., Sträter, N., 1996: Recent advances in zinc enzymology. *Chem. Rev.*, 96, 2237-3042.

18. Mandal, G. P., Dass R. S., Garg, A. K., Varshney, V. P., Mondal, A. B., 2008: Effect of zinc supplementation from inorganic and organic sources on growth and blood biochemical profile in crossbred calves. *Journal Of Animal And Feed Sciences*, 17, 147-156.

19. Löffler, G., 2000: *Basiswissen Biochemie*, 4.Aufl., 507 S., Springer Verlag, Berlin.

20. Miller, W. J., Blackmon D. M., Gentry, R. P., Pate, F. M., 1991: Zinc Absorption, Metabolism, and Endogenous Excretion in Zinc-Deficient and Normal Calves over an Extended Time. *J. Dairy Sci.*, 74, 3535-3543.

21. Nockels, Ch. F., 1996: Antioxidants improve cattle stress immunity following. *Animal Feed Science Technology*, 62, 59-68.

22. NRC, 2000: Nutrient Requirements of Domestic Animals, *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th Edition. National Academy Press, Washington DC.

23. NRC, 2001: Nutrient Requirements of Domestic Animals, *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th Edition. National Academy Press, Washington DC.

24. Pleban, P. A., Numerof, B. S., Wirth, F. H., 1985: Trace element metabolism in the fetus and neonate. *CLin. Endocrinol. Metab.*, 14, 545-66.

25. Shankar, A. H., Prasad, A., 1998: Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. *Am. J. Clin. Nutr.*, 68, 447S-463S.

26. Sikka, P., Lall, D., Arora, U., Sethi, R. K., 2002: Growth and passive immunity in response to micronutrient supplementation in new-born calves of Murray buffalo given fat soluble vitamins during late pregnancy. *Livest. Prod. Sci.*, 75, 301-311.

27. Singh, C., Singha, S. P. S., 2003: Effect of zinc administration on the activities of some Zn-metalloenzymes in pre-ruminant buffalo calves. *Indian J. Anim. Sci.* 73, 36-39.

28. SPEARS, J. W., 1989: Zinc methionine for ruminants: Relative bioavailability of zinc in lambs and effect of growth and performance of growing heifers. *J. Anim. Sci.*, 67, 835-843.

29. Spears, J. W., Kegley, E. B., 2002: Effect of zinc source (zinc oxide vs. zinc proteinate) and level on performance, carcass and immune response of growing and finishing steers. *J. Anim. Sci.*, 80, 2747-2752.

30. Spears, J. W., Weiss, P., 2008: Role of antioxidants and trace elements in health and imunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176, 70-76.

31. De Souza, A. R., Martins, L. P., De Faria, L. C., Martins, M. E. P., Fereira, R. N., Da Silva, A. M. L., Gil. E. S., Da Conceicao, E. C., 2007: Studies on the bioavailability of zinc in rats supplementated with two different zinc-methionine compounds. *Latin American Journal Of Pharmacy*, 26, 825-830.

32. Underwood, E. J., Suttle, N. F., 1999: *The Mineral Nutrition of Livestock*. 3rd edn. CAB International, Wallingford, UK.

33. Wedekind, K. J., Horton˝ , A. E., Baker, D. E., 1992: Methodology for assessing zinc bioavailability: efficacy estimates for zinc methionine, zinc sulfate and zinc oxide. *J. Anim. Sci.*, 70, 178-197.

10th Jubilee Middle European Buiatrics Congress

held within the framework of the 60th anniversary of the
University of Veterinary Medicine in Košice
3 - 6 June, 2009

Proceedings of posters

The papers published had not undergone language correction and had not been subject to peer review process

Košice, The Slovak Republic

Folia Veterinaria 53, 1, Supplementum, LIII – 2009

Influence of Organic Zinc Source on Lactation Performance and Somatic Cell Count of Dairy Cows

Josef Illek[1], Sylva Dresler[2], Miloslav Šoch[2], Naděžda Kernerová[2], Kristýna Šimák Líbalová[2], Eliška Zevlová[2], Nikola Havrdová[2]

[2]*University of Veterinary Sciences Brno, Faculty of Veterinary Medicine, Brno, Czech Republic*
[2]*University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Agriculture and Technology, Department of Animal Husbandry Sciences, České Budějovice, Czech Republic*

Abstract

The objective of the current trial was to evaluate the effect of organically chelated Zinc – Methionine (Zn-Met) supplementation on lactation performance of dairy cattle - milk yield (MY), milk components and somatic cell count (SCC) - in the early lactation.

Eighty multiparous cows received two treatments (n = 40 per group) from 21 days prepartum throughout 14 weeks post partum (p.p.). Treatments consisted of 1) supplemental Zn-Met (Bioplex® Zn, Alltech, USA) at the dose of 30 mg Zn/kg dry matter (DM) of total mixed ration (TMR) for the supplemented (S) group and 2) the basal TMR without supplementation – for the control (C) group.

Daily MY of Zn supplemented cows was in 30 days p.p. not significantly affected ($P>0.05$) by treatment. After 60 days the MY of the S-group was significantly higher (S: 44.70 ± 4.24 kg vs. C: 42.08 ± 4.60 kg respectively); ($P<0.05$). 90 d p.p. there was highly significant difference ($P<0.005$) as well (S: 43.22 ± 4.47 kg vs. C: 39.98 ± 4.80 kg). Supplemented cows also produced significantly more milk fat and milk protein then the C-group on days 60 and 90 of the trial. There is a statistically significant drop and decreasing trend in SCC in S-group during the entire trial. Milk quality and udder health are positively affected by Zn-Met treatment. This has significant implication for veterinary practice in an era of antibiotic reduction.

Keywords: *trace elements, cattle, milk quality*

Introduction

Trace element deficiencies of minerals such as zinc (Zn), copper (Cu), manganese (Mn) or cobalt (Co) have been observed and studied for many years. They play very important roles in protein synthesis, vitamin metabolism, tissue connectivity, immune system, hormone regulation, appetite regulation, growth, fertility, quality of skin and claw integrity (Hidiroglou 1979; Illek 1987; Miller et al. 1988; Shankar and Prasad 1998; NRC 2001; Illek 2003; Tomlinson et al. 2004; Slavík et al. 2006; Dresler et al. 2016; Weiss 2017; Chen 2020; Guimaraes et al. 2022). Zinc is a microelement, which has an essential function for health and performance by livestock. Zinc supplementation has effect on cattle performance and health, such as fertility, lactation, claw integrity and immunity (Neathery 1973; Malcolm-Callis et al. 2000; Spears and Kegley 2002; Kellogg et al. 2004; Kincaid and Socha 2004; Nocek et al. 2006; Griffiths et al. 2007; Siciliano-Jones et al. 2008; Pavlík et al. 2010; Machado et al. 2013; Horst et al. 2019).

Zinc is an integral part of many enzyme systems, or it works as an enzyme activator. It affects milk production, reproduction, immune system, and the growth of the animals through

1 **Address for correspondence:**
TÄ (MVDr.) Sylva Dresler
Department of Animal Husbandry Sciences
Faculty of Agriculture and Technology
University of South Bohemia in České Budějovice
Studentská 1668, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

Phone: +49-9137-3690412
E-mail: sylva.dresler@gmail.com
http://www.fzt.jcu.cz

the enzyme activity and gene expression of proteins influenced by zinc (Chesters 1997). Zinc plays catalytic and structural roles in over 300 enzymes and transcription factors (Lipscomb and Sträter 1996). Function of metalloenzymes such as carbonic anhydrase, lactate dehydrogenase, alcohol dehydrogenase, alkaline phosphatase, carbonic anhydrase, Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD), carboxypeptidase-A, -B or DNA-, RNA-polymerase is negatively influenced by zinc deficiency (Miller and Miller 1962; Kirchgessner et al. 1975; Chesters 1992; Chahabra and Arora 1993; Underwood and Suttle 1999; Illek 2003; Chen et al. 2020).

Zinc as a part of insulin affects the activity of some hormones such as glucagon or corticotropin; that is the way how zinc intervenes in protein and energetic metabolism (Illek 2003).

Zinc has two most direct connections to the immune function, the role of Zn as an antioxidant, i.e., SOD and the importance of Zn to cell replication and proliferation (Droke et al. 1998; Spears and Weiss 2008; Nagalakshmi et al. 2009; Dresler et al. 2016; Chen et al. 2020; Alhussien et al. 2021). Zinc is essential for leukocyte creation and function; it has an influence on antibody creation and phagocytosis and is important in the cell apoptosis process (Droke and Spears 1993; Illek 2003). Corinthas et al. (2010) reported about a positive effect of organic source of Zn on SCC, but no effect on antioxidant enzymes – Zn/Cu-SOD, glutathione peroxidase (GSH-Px). However, Chen et al. (2020) compared four different Zn-Met treatments (0, 20, 40, 60 mg/kg of dry matter (DM) and reported a significant increase in Zn/Cu-SOD and total antioxidant capacity in cows supplemented with >40 mg of Zn/kg of DM compared to the control group. Similarly, Dresler et al. (2016) demonstrated the positive effect of Zn-Met on SOD activity in weaned calves. Zinc status in dairy cows is essential in keratinization within the teat canal, so that teat health is related to zinc (Andrieu 2007). Compared to traditional feeding of inorganic sources of Zn (oxide, sulphate), organically bound Zn has higher bioavailability (Wedekind et al. 1992; Kincaid and Socha 2004; Caldera et al. 2019) and can increase Zn concentration in tissues (Ivanišinová et al. 2016) and plasma or reduce SCC in milk respectively (Cousins 2006; Illek et al. 2007; Wang et al. 2013; Neja et al. 2016). Whitaker et al. (1997) reported about the influence of Zn on immune system and therefore higher SCC and mastitis rates in Zn deficient dairy cows. Hansen (1992) reported about the zinc supplementation of 2.5 g Zn proteinate/day, which caused a great decrease of SCC of $100x10^3$/ml by herds with high SCC in average ($400x10^3$/ml). Kellogg et al. (2004) and Sobhanirad et al. (2010) experienced a reduced SCC in cows treated with Zn-Met. Nocek (2006) reported about similar reproductive and health performance by cows supplemented 100% of National Research Council (NRC) 2001 requirements (Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition, NRC, Washington, D.C.) of complexed trace minerals as cows fed the same elements in inorganic form. However, milk yield and milk solid amount were higher. Krebs (1998) confirms the increased need for zinc during lactation compared to pregnancy, especially in the first postpartal weeks. In the study of Kováč et al. (2007), there was obtained, that high SCC correlates to two acute phase proteins, such as haptoglobin and serum amyloid A in serum and milk, as a mastitis marker. Egyedy et al. (2022) confirm, that cows with high SCC prior to drying off have a higher incidence of periparturient disease, associated with immunosuppression (mastitis, metritis, ketosis, retained placenta, and lameness), lower content of milk solids and milk yield than healthy cows.

Therefore, the objectives of this research were to assess the effect of organic zinc supplementation on milk yield, the quality of milk (milk solids) and SCC as a mammary health indicator.

Material end methods

The study was conducted in a free-stall barn on a commercial farm with 400 Holstein dairy cows in VOS Zemědělců a.s. Velké Opatovice, Czech Republic. The previous lactation 305-d

mature equivalent milk yield amounted 9247 kg up to 10150 kg. In the last 12 months before the experiment the average SCC was 286, milk fat 3.77 % and milk protein 3.30 %.

Eighty multiparous Holstein-Friesian dairy cows (40 cows per treatment) were randomly allocated to one of two treatments – S-group and C-group. The experiment lasted four months (21d pre partum up to the end of the 3rd month of lactation). A basal mixed ration for all the cows included a mixture of roughage and production concentrate (Table 1, Table 2). The diet was formulated to meet NRC 2021 requirements for dairy cattle. All cows were given the same basal TMR. Zinc concentration in TMR was 37 mg Zn/kg DM. In average 21 days prior calving all cows of thee zinc supplemented group (S-group) were given 30 mg Zn-Met/kg DM (Bioplex® Zn, Alltech, USA) for 90 days post partum (p.p.). The cows of the control group (C-group) were fed the same diet without any additional Zn source. The experimental cows were given 334 - 724 mg/head/d, according to the DM intake (dry off - 11.32kg; bevor calving - 15.12kg; lactation start - 20.11kg; milk production – 24.13kg DM TMR/day), to provide 100% of NRC recommended supply.

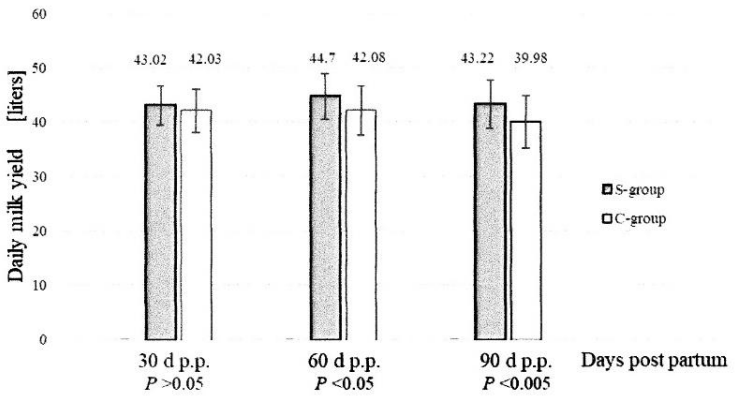
All cows were milked twice a day and the milk weight was recorded automatically every day. The individual milk samples were taken twice a month to test milk components and somatic cell count. Milk was sampled and analyzed according to the standard procedure for milk solids (milk protein, lactose, and milk fat) determination ČSN EN ISO 8968-4 (570528), ČSN ISO 22662 (570524), ČSN ISO 488 (570517) and for SCC determination ČSN EN ISO 13366-2 (570531), the fluor-opto-electronic method for cell-counting on milk. The evening and morning samples were preserved and analyzed in the laboratory VOS Zemědělců a.s., Velké Opatovice, Czech Republic) with Fossomatic™ (Hilleroed, Denmark) device.

All obtained results were processed by a statistical analysis using Microsoft-Office-365® Excel® software (Microsoft Corp., Redmond, USA). The different sets of data were compared by a two-choice paired Student's *t*-test for the median value and two-choice t-test with equal of unequal variance respectively. As statistically significant, the value of $P \leq 0.05$ was considered, $P \leq 0.01$ as highly significant.

Results

From the first day post calving up to the last day of 3 months trial the daily milk yield was recorded. Cows fed Zn-Met (S-Group) tended to produce more milk than the control C-group in all 3 months (Fig. 1, Table 3).

Figure 1. Effect of zinc supplementation on milk yield over 90 days trial period



S-group = supplemented group, C-group = control group
p.p. = post partum, d = days, *P* = significant difference ($P<0.05$)

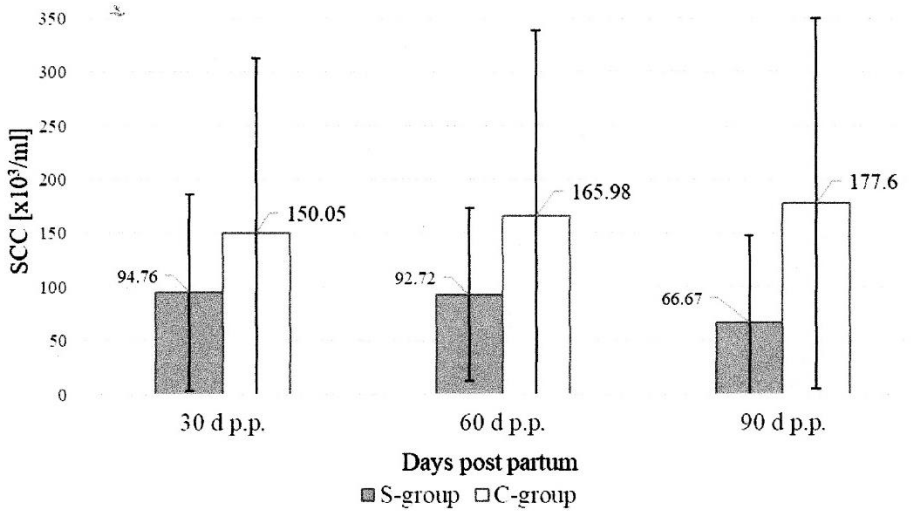
Table 3. Daily milk yield [liters] in the first 3 months of lactation

		30 d p.p.	60 d p.p.	90 d p.p.
X	S-group	43.02	44.70	43.22
SD		3.62	4.24	4.47
X	C-group	42.03	42.08	39.98
SD		3.98	4.60	4.80
	P-value	>0.05	<0.05	<0.005

SD standard deviation, x = mean value, *P* = significant difference (*P*<0.05)
S-group = supplemented group, C-group = control group, p.p. = post partum

The daily milk yield of cows fed recommended Zn supply (100 % NRC) in organic form was in 30 days post calving not affected (*P*>0.10) by treatment. In 60 days, the difference of the average milk yield S-group was more than 2 liters higher compared to control cows (*P*<0.05). At the end of the trial, 90 days p.p., there was a highly significant difference (*P*<0.005) in the lactation performance (+8%) in the S-group as well.

Figure 2. Somatic cell count



S-group = supplemented group, C-group = control group
SCC = somatic cell count, p.p. = post partum

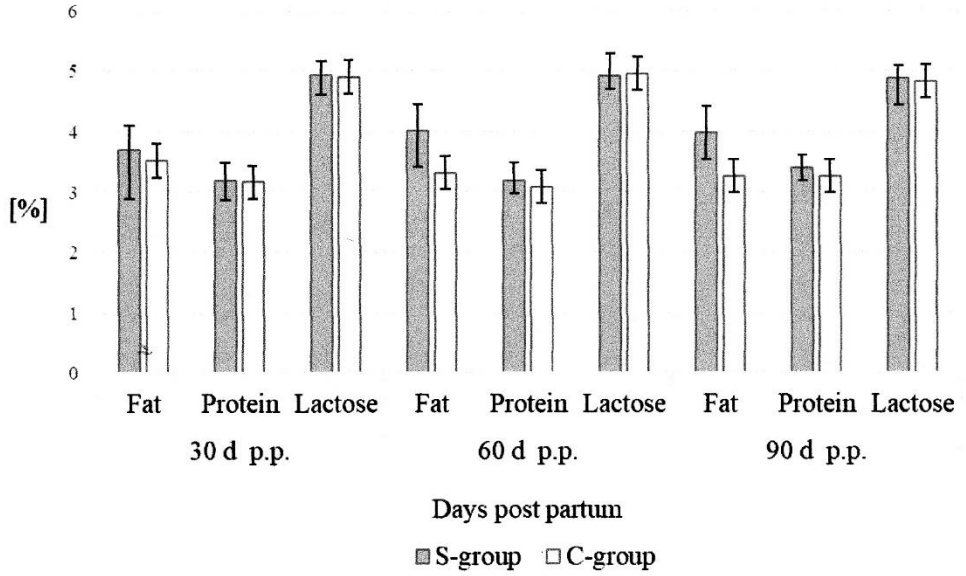
Table 4. SCC [x10³/ml] in 30–90 d p.p.

		30 d p.p.	60 d p.p.	90 d p.p.
X	S-group	94.76	92.72	66.67
SD		91.62	80.55	81.12
X	C-group	150.05	165.98	177.60
SD		162.61	173.09	172.33
	P-value	<0.05	<0.05	<0.001

SD = standard deviation; X = mean value; *P* = significant difference (*P*<0.05); S-group = supplemented group; C-group = control group; p.p. = post partum; SCC = somatic cell count

SCC in the C-group were in all three months of the trial higher than in the cows of the S-group (Fig. 2., Table 4.). There was significant difference in all three months of lactation. In the first and the second month for cows receiving the organic Zn supplementation (S-group) SCC was significantly lower ($P<0.05$) than those of C-group and at the end of the trial. In 90 days of lactation, the organically S-group has lower somatic cell count, the difference was highly statistically significant ($P<0.001$).

Figure 3. Milk components in 30-, 60- and 90-days p.p.



p.p. = post partum, S-group = supplemented group, C-group = control group

Table 5. Milk components [%]

		30 d p.p.			60 d p.p.			90 d p.p.		
		Fat	Protein	Lactose	Fat	Protein	Lactose	Fat	Protein	Lactose
X	S – group	3.69	3.19	4.93	4.01	3.19	4.91	3.98	3.39	4.88
SD		0.41	0.30	0.23	0.45	0.30	0.38	0.45	0.22	0.22
X	C-group	3.52	3.16	4.90	3.31	3.08	4.96	3.26	3.26	4.83
SD		0.81	0.32	0.31	0.59	0.22	0.20	0.45	0.20	0.44
	P-value	*	*	*	$P<0.01$	$P<0.05$	*	$P<0.01$	$P<0.01$	*

*Not significant = $P>0.05$; SD = standard deviation; x = mean value; P = significant difference ($P<0.05$)
S = supplemented, C = control; p.p. = post partum

Milk composition seems to be affected by the supplementation of organically bound zinc as well (Fig. 3, Table 5). In the first 30 days post-partum there is no significant difference in the milk solids amount ($P>0.1$). But in the second and the third month of lactation (after 60 and 90 days of trial) there is statistically significant difference in protein and fat content in milk. 60 days post-partum the amount of milk fat ($P<0.01$) and milk protein ($P<0.05$) were higher in

zinc S-group of cows and 90 days post-partum was the difference in average protein and fat amount (both $P<0.01$).

Discussion

The lactation performance seems to be positive affected by the organic zinc supplementation in the most tested parameters in our trial. The daily milk yield in the supplemented group tended to increase during the entire experimental period. At the same time the SCC tended to decrease compared to the control group, which showed the opposite tendency in both parameters. Similar result was reported by Nocek et al. (2006), in his research SCC of cows supplemented by (100% NRC) complexed zinc source was 46.5% lower than SCC of those supplemented by (100% NRC) inorganic zinc and 47.7% lower than those supplemented by (75% NRC) organic zinc. In contrast, no positive effect on milk composition and milk yield by level or source of mineral supplementation is reported by Kincaid and Socha (2004), however, the significant increase of IgG in colostrum was reported in cows treated with organic Zn. There is no increase of lactation performance observed in the study of Uchida et al. (2001). Kincaid and Socha (2004) observed higher lactation performance in peak lactation, but not at the early lactation. Janů et al. (2007) reported about an increase of SCC with increasing milk yield in similar high yielding herd (10.000 liter/lactation) like the S-group in our trial. The decrease of SCC in the Zn S-group may report about a positive impact of Zn/Met on the mammary gland health. Kinal et al. (2005a) described a positive effect of organic zinc supplementation in the form of a decrease in SCC only in cows with high SCC. Singh et al. (2019) noticed a benefit of concurrent supplementation with zinc sulfate ($ZnSO_4$) and biotin on hoof health, milk yield and milk solids comparing clinically lame cows and non-lame healthy cows. The increase of the milk protein and the decrease of SCC in their study could have been related to an improvement of hoof health.

According to Moore et al. (1988) and Cope et al. (2009), (30-50% NRC 2001), an addition of the organic form of Zn did not affect milk composition and SCC, whereas the milk yield increased (Cope et al. (2009). An increase in milk yield was achieved by Kinal et al. (2005b) in cows treated with zinc chelates, a 20-30% reduction in SCC was additionally observed. Positive effect of 100% NRC complexed zinc supplementation on protein and fat or milk yield is reported by Kellogg (2003), Kellogg (2004), Kinal et al. (2005a), Nocek (2006) and Chen et al. (2020). Uchida et al. (2001) reported about higher content of milk protein after complexed zinc supplementation as well; the milk fat amount stayed unaffected. Similarly to our study, Ballantine et al. (2002) compared organic and inorganic sources of Zn, Mn, Cu and Co 21 days pre calving to 250 days p.p., to determine the effect of these trace (TE) elements on reproduction, and lactation performance of dairy cattle as well as on incidence and severity of claw disorders. Osorio et al. (2016) confirmed the positive response in milk yield and milk protein in cows fed organic TE (Zn, Cu, Mn, Co), which could be explained by the beneficial effects of TE combination on postpartal DM intake driven by better liver and immune function because of better antioxidant status. The organic source treatment increased the milk yield, improved all parameters of reproduction performance, and decreased claw lesions. Also, Kellogg (2003) reported about a positive effect of organic form of TE on reproduction performance, milk yield increase and SCC decrease.

Conclusion

The organic zinc supplementation at the recommended level has significantly positive effect on daily milk yield, milk components, such as milk fat and milk protein, and SCC of dairy cows in early lactation. The positive impact of Zn-Met on mammary gland health and milk quality is very important, especially in times, where the reduce of antibiotics plays the key role in the veterinary practice.

Acknowledgments:
Funding:
This research was funded by National Agency for Agricultural Research – QK1910174, QK1910438 and QK21020304.

Institutional Review Board Statement:
All study procedures were approved in accordance with the "Act on the protection of animals used for scientific purposes" of the Czech Republic. This act is in accordance with the EU Directive (No. 2010/63/EU) on the protection of animals used for scientific purposes and with the decision of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, No. 22036/2019-MZE-18134.

References

Alhussien MN, Tiwari S, Panda BSK, Pandey Y, Lathwal SS, Dang AK 2021: Supplementation of antioxidant micronutrients reduces stress and improves immune function/response in periparturient dairy cows and their calves. J Trace Elem Med Bio **65**: 126718

Andrieu S 2008: Is there a role for organic trace element supplements in transition cow health? Vet J **176**(1): 77-83

Ballantine HT, Socha MT, Tomlinson DJ, Johnson AB, Fielding AS, Shearer JK, Van Amstel SR 2002: Effects of feeding complexed to zinc, manganese, copper, and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction, and lactation performance. Prof Anim Sci **18**: 211-218

Caldera E, Weigel B, Kucharczyk VN, Sellins KS, Archibeque SL, Wagner JJ, Han H, Spears JW, Engle TE 2019: Trace mineral source influences ruminal distribution of copper and zinc and their binding strength to ruminal digesta. J Anim Sci **97**(4): 1852-1864

Charabra A, Arora SP 1993: Effect of vitamin A and zinc supplement on alcohol dehydrogenase and superoxide dismutase activities of goat tissues. Indian J Anim Sci **63**: 334-338

Chen F, Li Y, Shen Y, Guo Y, Zhao X, Li Q, Cao Y, Zhang X, Li Y, Wang Z, Gao Y, Li J 2020: Effects of prepartum zinc-methionine supplementation on feed digestibility, rumen fermentation patterns, immunity status, and passive transfer of immunity in dairy cows. J Dairy Sci **103**: 8976-8985

Chesters JK 1992: Trace elements – gene interactions. Nutr Rev **50**: 217-223

Chesters JK 1997: Zinc. In: O'Dell BS, Sunde RA (Eds.), Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements. Marcel Dekker, New York, 185 p.

Cope CM, Mackenzie AM, Wilde D, Sinclair LA 2009: Effects of level and form of dietary zinc on dairy cow performance and health. J Dairy Sci **92**: 2128-2135

Cortinhas CS, Botaro BG, Sucupira MCA, Renno FP, Santos MV 2010: Antioxidant enzymes and somatic cell count in dairy cows fed with organic source of zinc, copper, and selenium. Livest Sci **127**(1): 84-87

Cousins RJ 2006: Zinc. In: Bowman BA, Russell RM, eds. Present Knowledge in Nutrition. 9th ed, Vol. 1. Washington, D.C.: ILSI Press: 445-457

Dresler S, Illek J, Zeman L 2016: Effects of organic zinc supplementation in weaned calves. Acta Vet Brno **85**: 049-054

Droke EA, Spears JW 1993: In vitro and in vivo immunological measurements in growing lambs fed diets deficient, marginal, or adequate in zinc. J Nutr Immunol **2**: 71-90

Droke EA, Gengelbach GP, Spears JW 1998: Influence of level and source (inorganic vs. organic) of zinc supplementation on immune function in growing lambs. Asian-Australas J Anim Sci **11**: 139-144

Egyedy A, Rosales EB, Ametaj BN 2022: Association of High Somatic Cell Counts Prior to Dry off to the Incidence of Periparturient Diseases in Holstein Dairy Cows. Vet Sci: **9**(11): 624

Ferguson JD, Tomlinson D, Socha M 2004: Effects of inorganic and organic (4-PlexR) trace mineral supplementation on milk production and reproduction. J Diary Sci **87**(1): 117

Griffiths LM, Loefler SH, Socha MT, Tomlinson DJ, Johnson AB 2007: Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. Anim Feed Sci Technol **137**: 69-83

Guimaraes O, Wagner JJ, Spears JW, Brandao VLN, Engle TE 2022: Trace mineral source influences digestion, ruminal fermentation, and ruminal copper, zinc, and manganese distribution in steers fed a diet suitable for lactating dairy cows. Animal **16**(4): 100500

Hansen R 1992: Effects of Bioplex Zinc Supplements on somatic cell counts in three high producting dairy herds. Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Proceedings of Alltech's 8th Annual Symposium, Nicholasville (KY) USA, 55-57

Hidiroglou M 1979: Trace element deficiencies and fertility in ruminants. J Dairy Sci **62**(8): 1195-1206

Horst EA, Mayorga EJ, Al-Qaisi M, Abeyta MA, Goetz BM, Ramirez Ramirez HA, Kleinschmit DH, Baumgard LH 2019: Effects of dietary zinc source on the metabolic and immunological response to lipopolysaccharide in lactating Holstein dairy cows. J Dairy Sci **102**: 11681-11700

Illek J 1987: The incidence and diagnosis, therapy and prevention of cobalt, manganese, copper, and zinc deficiency in cattle (in Czech). Doctoral thesis, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Czech Republic, 330 p.

Illek J 2003: The function of trace elements (in Czech). In: Jelinek P, Koudela K (Eds.): Physiology of farm animals (in Czech). Mendel University Brno, Czech Republic pp. 180-188

Illek J, Batova A, Kumprechtova D 2007: Effect of Bioplex organic zinc supplementation on somatic cell counts. Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Proceedings of Alltech's 23rd Annu. Symp., Lexington (KY) USA (Suppl.1), 71

Ivanišinová O, Grešáková Ľ, Ryzner M, Oceľová V, Čobanová K 2016: Effects of feed supplementation with various zinc sources on mineral concentration and selected antioxidant indices in tissues and plasma of broiler chickens. Acta Vet Brno **85**: 285-291

Janů L, Hanuš O, Frelich J, Macek A, Zajíčková I, Genčurová V, Jedelská R 2007: Influences of different milk yields of Holstein cows on milk quality indicators in the Czech Republic. Acta Vet Brno **76**: 553-561

Kellogg DW, Socha MT, Tomlinson DJ, Johnson AB 2003: Review: Effects of feeding cobalt glucoheptonate and metal specific amino acid complexes of zinc, manganese and copper on lactation and reproductive performance of dairy cows. Prof Anim Sci **19**: 1-9

Kellogg DW, Tomlinson DJ, Socha MT, Johnson AB 2004: Review: Effects of zinc methionine complex on milk production and somatic cell count of dairy cows: Twelve-trial summary. Prof Anim Sci **20**: 295-301

Kinal S, Bodarski R, Korniewicz A, Nicpon J, Slupczynska M 2005a: Application of organic forms of zinc, copper, and manganese in the first three months of dairy cow lactation and their effect on the yield, composition, and quality of milk. Bull Vet Inst Pulawy **49**(4): 423-426

Kinal S, Komiewiez A, Jamroz D, Zieminski R, Slupezynska M 2005b: Dietary effects of zinc, copper and manganese chelates and sulphates on dairy cows. J Food Agric Environ **3**: 168-172

Kincaid RL 2000: Assessment of trace mineral status of ruminants: A review. J Anim Sci **77**: 1-10

Kincaid RL, Socha MT 2004: Inorganic versus complexed trace mineral supplements on performance of dairy cows. Prof Anim Sci **20**: 66-73

Kirchgessner M, Schwarz WA, Roth HP 1975: Activity of the alkaline phosphatase in the serum and bones of zinc-deficient and zinc-replenished cows (in German). Z Tierphysiol Tierernahr Futtermittelkd **36**(4): 191-200

Kováč G, Popelková M, Tkáčiková Ľ, Burdová O, Ihnát O 2007: Interrelationship between somatic cell count and acute phase proteins in serum and milk of dairy cows. Acta Vet Brno **76**: 51-57

Krebs NF 1998: Zinc supplementation during lactation. Am J Clin Nutr **68**: 509-512

Lipscomb WL, Sträter N 1996: Recent advances in zinc enzymology. Chem Rev **96**: 2237-3042

Machado VS, Bicalho MLS, Pereira RV, Caixeta LS, Knauer WA, Oikonomou G, Gilbert RO, Bicalho RC 2013: Effect of an injectable trace element supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on health and production of lactating cows. Vet J **197**: 451-456

Malcom-Callis KJ, Duff GC, Gunter SA, Kegley EB, Vermeire DA 2000: Effects of supplemental zinc concentration and source on performance, carcass characteristics, and serum values in finishing beef steers. J Anim Sci **78**: 2801-2808

Miller WJ, Amos HE, Gentry RP, Blackmon DM, Durrance RM, Crowe CT, Fielding AS, Neathery MW 1989: Long-term feeding of high zinc sulfate diets to lactating and gestating dairy cows. J Dairy Sci **72**: 1499-1508

Miller JK, Miller WJ 1962: Experimental zinc deficiency and recovery of calves. J Nutr **76**: 467-474

Moore CL, Walker PM, Jones MA, Webb JM 1988: Zinc methionine supplementation for dairy cows. J Dairy Sci **71**(1): 152

Nagalakshmi D, Dhanalakshmi K, Himabindu D 2009: Effect of dose and source of supplemental zinc on immune response and oxidative enzymes in lambs. Vet Res Commun **33**(7): 631-644

Neathery MW, Miller WJ, Blackmon DM, Gentry RP 1973: Performance and milk zinc from low intake in Holstein cows. J Dairy Sci **56**: 212-217

Neja W, Bogucki M, Jankowska M, Sawa A 2016: Effect of cow cleanliness in different housing systems on somatic cell count in milk. Acta Vet Brno **85**: 055-061

Nocek JE, Socha MT, Tomlinson DJ 2006: The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. J Dairy Sci **89**: 2679-2693

NRC 2001: Nutrient Requirements of Domestic Animals, Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Edition. National Research Council, National Academy Press, Washington, D.C. 385 p.

Osorio JS, Trevisi E, Li C, Drackley JK, Socha MT, Loor JJ 2016: Supplementing Zn, Mn, and Cu from amino acid complexes and Co from cobalt glucoheptonate during the peripartal period benefits postpartal cow performance and blood neutrophil function. J Dairy Sci **99**: 1868-1883

Pavlík A, Jelínek P, Matějíček M, Illek J 2010: Blood plasma metabolic profile of Aberdeen Angus bulls during postnatal ontogenesis. Acta Vet Brno **79**: 419-429

Shankar AH, Prasad A 1998: Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. Am J Clin Nutr **68**: 447S-463S

Siciliano-Jones JL, Socha MT, Tomlinson MT, De Frain JM 2008: Effect of Trace Mineral Source on Lactation Performance, Claw Integrity, and Fertility of Dairy Cattle. J Dairy Sci **91**: 1985-1995

Singh A, Randhawa SS, Singh RS 2019: The effect of biotin and zinc supplementation on dairy cow hoof health and milk quality. Vet Arhiv **89**: 799-820

Slavík P, Illek J, Zelený T 2006: Zinc and copper status of beef cattle in the Šumava region, Czech Republic. Acta Vet Brno **75**: 485-488

Sobhanirad, S, Carlson D, Kashani RB 2010: Effect of zinc methionine or zinc sulfate supplementation on milk production and composition of milk in lactating dairy cows. Biol Trace Elem Res **136**: 48-54

Spears JW, Kegley EB 2002: Effect of zinc source (zinc oxide vs. zinc proteinate) and level on performance, carcass, and immune response of growing and finishing steers. J Anim Sci **80**: 2747-2752

Spears JW, Weiss P 2008: Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows, Vet J **176**(1): 70-76

Tomlinson DJ, Mülling CH, Fakler TM 2004: Formation of keratins in the bovine claw: Roles of hormones, minerals, and vitamins in functional claw integrity. J Dairy Sci **87**: 797-809

Uchida K, Mandebvu P, Ballard CS, Sniffen CJ, Carter MP 2001: Effect of feeding a combination of zinc, manganese and copper amino acid complexes, and cobalt glucoheptonate on performance of early lactation high producing dairy cows. Anim Feed Sci Tech **93**: 193-203

Underwood EJ, Suttle NF 1999: The Mineral Nutrition of Livestock, 3rd edn. CAB International, Wallingford, UK, 614 pp

Wang RL, Liang JG, Lu L, Zhang LY, Li SF, Luo XG 2013: Effect of zinc source on performance, zinc status, immune response, and rumen fermentation of lactating cows. Biol Trace Elem Res **152**: 16-24

Wedekind KJ, Horton AE, Baker DE 1992: Methodology for assessing zinc bioavailability: Efficacy estimates for zinc methionine, zinc sulfate and zinc oxide. J Anim Sci **70**: 178-197

Weiss WP 2017: A 100-Year Review: From ascorbic acid to zinc—mineral and vitamin nutrition of dairy cows. J Dairy Sci **100**: 10045-10060

Whitaker DA, Eayres HF, Aitchison K, Kelly JM 1997: No effect of a dietary zinc proteinate on clinical mastitis, infection rate, recovery rate and somatic cell count in dairy cows. Vet J **153**(2): 197-203

Polish Journal of Veterinary Sciences

Original article

Effect of Organic Zinc Supplementation on Hematological, Mineral and Metabolic Profile in Dairy Cows in Early Lactation

Sylva Dresler[1], Josef Illek[2], Karolina Cebulska[3], Miloslav Šoch[1]

[1]*Department of Animal Husbandry Sciences, Faculty of Agriculture and Technology, University of South Bohemia in České Budějovice, Czech Republic*

[2]*Clinic of Ruminant and Swine Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Veterinary Sciences Brno, Czech Republic*

[3]*Department of Internal Diseases with Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland*

Abstract

The aim of the current trial was to evaluate the effect of organically chelated zinc - methionin (Zn-Met) supplementation (30mg Zn /kg DM TMR) on hematological, biochemical, and mineral profile of dairy cows in early lactation (21 d a.p. – 90 d p.p.). Twenty dairy cows were randomly allocated to one of two dietary treatments in a randomized design. Animals in group C were treated as control (no zinc supplementation); whereas animals in group S supplemented with organic Zn, respectively.

Zn-Met supplementation had a significant effect on hematological parameters. White blood cell (WBC) counts 60 days p.p. and red blood cell (RBC) count, hemoglobin concentration (HGB), hematocrit level (HCT) and platelet count (PLT) on calving day, 30th- and 60th- day p.p were significantly higher in cows fed Zn than in the control (C-) group. In calves from supplemented mothers, there was a significant increase in RBC ($P \leq 0.001$), HCT ($P \leq 0.01$) and MCV ($P \leq 0.05$).

There was no difference in other parameters among the groups, except of the highly significant difference in Zn concentration in blood serum of the S-group during the entire experimental time. The results obtained confirm the beneficial effect on serum zinc level and hematological parameters with no negative effects of NRC recommended Zn concentration on mineral and biochemical parameters.

Keywords: *trace elements, zinc, hematocrit, biochemical parameters*

1 **Address for correspondence:**
TÄ (MVDr.) Sylva Dresler
Department of Animal Husbandry Sciences
Faculty of Agriculture and Technology
University of South Bohemia in České Budějovice
Studentská 1668, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

Phone: +49-9137-3690412
E-mail:sylva.dresler@gmail.com
http://www.fzt.jcu.cz

Introduction

The prepartal dry off and early lactation are the most difficult periods for a dairy cow. The first 100 days of lactation is the phase of maximal milk production, high-yielding dairy cows face a negative energy balance and often suffer from ketosis, which is the most economically significant production disease. Many dairy cows, develop typically a primary ketosis, which is a manifestation of carbohydrate metabolism disorders during 2-6 postpartal weeks. Excess or lack of protein, deficiency of trace elements and vitamins, lack of coarse fiber, imbalance between intake and energy need after birth, high content of ketogenic substances in the ration, all contribute to the emergence of ketosis in this critical postpartal period. At the same time, the consumption of glucose for the formation of lactose is high, the reserves are small, and there is an intensive breakdown of proteins and fats in the liver, with the production of ketone bodies, which results in degeneration of the parenchymatous organs, especially the liver (Dirksen et al 2006; Jagoš et al. 1985). The level of mineral substances and their proportions have an impact of the prevention of production diseases in cows, which tend to be more common in older dairy cows. Furthermore, feeding of corn silage as basis of total mixed ration (TMR) of dairy cattle often face with an insufficient concentration of microelements in the feed ration, which causes withdrawal conditions in highly pregnant cows, ending in negative effect on fetal development (Ballantine 2002; Kellogg et al. 2004; Cope et al. 2009; Kinal et al. 2014; Caldera 2019).

Supplemental zinc (Zn) is usually added to mixed rations of farm animal diets in two different forms. Compared to inorganic forms such as Zn-oxide or Zn-sulphate, the organic form of Zn is absorbed efficiently and retained in the tissue to enhance growth, reproduction, performance, improve health and immunity (Spears 1996; Horst et al. 2019; Alhussien et al. 2021). National Research Council (NRC 2001) recommended the level 40–60 mg of Zn/kg dry matter (DM) of total mixed ration (TMR) for dairy cows as necessary. Some researchers have reported high concentrations of some organic Zn sources appear to show higher absorption than those from inorganic zinc sources. The inorganic sources of trace elements like are not sufficiently absorbed and retained (Spears, 2003). Trace element deficiencies of zinc, copper, manganese, or cobalt have been observed for many years. These minerals play very important roles in in vitamin and hormone regulation, protein synthesis, carbohydrate metabolism, tissue connectivity, immune system, appetite regulation, fertility, reproduction or growth (Chen 2020; Weiss 2017; Osorio et al. 2016; Suttle 2010; Dirksen et al. 2006; Chen 2005; NRC 2001; Droke et al. 1998; Chesters 1997; Miller et al. 1988). Many authors demonstrate beneficent effects of zinc on cattle lactation and reproductive performance, fertility, claw integrity of dairy cattle and calves (Neathery 1973; Malcolm-Callis et al. 2000; NRC 2001; Spears et al. 2002; Kellogg et al. 2004; Kincaid and Socha 2004; Nocek et al. 2006; Griffiths et al. 2007; Siciliano-Jones et al. 2008; Machado et al. 2013; Dresler et al. 2016).

It is known from the interaction principles of individual mineral substances that zinc and e.g., iron is in an antagonistic relationship, just like zinc and copper or zinc and calcium (Hamilton et al. 1979). Because copper has a significant effect on hematopoiesis, iron, as a structural component of hemoglobin in red blood cells, is associated with the development of anemia and zinc is significantly involved in the optimal state of immunological processes in the body (Nagalakshmi et al. 2009, Żarczyńska et al. 2021), it is possible to observe how the composition of the feed ration contributes to the health of the body (Choi and Kim 2005). With this experiment, it is possible to trace how the hematocrit develops as a parameter monitoring anemia (Kardawa. 2020), inflammation, dehydration, diarrhea (Brown et al. 1978, Giugliano

and Millward 1984). In high-producing dairy cows, the value of hemoglobin and hematocrit is lower, on the contrary, in dehydrated cows it is increased (). For a more objective assessment of specific cases, it would be necessary to evaluate other blood parameters in the context of the clinical examination of each animal, which is not possible within the scope of this study.

Interactions of trace elements with other minerals, enzymes, hormones are the point of interest of many studies. Calcium (Ca) is known to interact with the red cell membrane, decreasing permeability and increasing hemoglobin retention. Zinc, as an opponent of calcium, seems to counteract the retention of hemoglobin in the erythrocyte membrane. Ca may play an important role in the pathogenesis of irreversibly sickled cells, zinc may improve the filterability of sickle cells (Dash et al. 1974). The metabolism of zinc and thyroid hormones thyroxine T3, T4 and thyroid stimulating hormone (TSH) are closely interlinked (Ambookenet al. 2013). Zinc is another element that is needed for the synthesis of thyroid hormones. A zinc deficiency can lead to hypothyroidism and because thyroid hormones are required for the absorption of zinc, hypothyroidism can lead to a zinc deficiency. During thyroid hormones supplementation is profitable to take zinc supplement too (Chen et al. 2010). The formation of insoluble complexes with calcium, fiber, and phytates markedly decrease the intestinal absorption of zinc. Compared to plasma or serum zinc level, there are other tissues, where the concentration of zinc is a more reliable indicator of chronic zinc deficiency, like hair, liver or bone tissue (Gude 2011). It seems likely that zinc is essential for the biological functioning of thyroid hormone and related receptors. The active form of thyroxine - T3 can be initiated precisely by binding to the T3-receptor containing two zinc atoms in the core of its target tissue. T3 receptors lose their ability to bind to DNA, when zinc is removed by chelation (Freake et al. 2001; Miyamoto et al. 1991). Cebulska et al. (2021) investigated the extend of heavy metal contamination of the environment by determination of concentrations of heavy metals (selenium, zinc, copper, and cadmium) in the liver of selected wild animal species (red fox, wild boar, red deer) in Poland and reported about not exceeded standard safe values for consumers.

Yokus and Cakir (2006) reported about seasonal and physiological variations of copper, zinc, magnesium (Mg), iron (Fe), sodium (NA), chlorine (Cl), potassium (K), calcium (Ca), phosphorus (P), urea, alkaline phosphatase (ALP), creatinine (CR), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), cholesterol, albumin, globulin, lactate dehydrogenase (LDH), and total protein (TP) concentrations in cattle. They have evaluated, that some parameters differ according to physiological and seasonal conditions like ALP, copper, magnesium, and potassium concentrations, copper concentration is increased through the pregnancy, another parameters are not influenced neither by the seasonal nor the physiologic variations (zinc, iron, sodium, chlorine, calcium, urea, creatinine, albumin, and globulin values).

The purpose of the current study was to evaluate the effect of supplementing Zn-Met source on serum Zn, Cu, Mn, Se status, mineral profile (Na, K, Ca, P, Mg), hematological and biochemical parameters in dairy cows in early lactation and their newborn calves, to ascertain the utility of these parameters, as a biochemical marker to determine the bioavailability of Zn from different sources.

Material end methods

Experimental design

The experiment was carried out in the VOS agricultural farm in Velké Opatovice, Czech Republic in accordance with the Animal Protection Act No. 246/1992 Coll. Twenty Holstein-Friesian dairy cows (10 animals in a group) were randomly divided into one of two groups according to productivity, age and number of lactation – supplemented (S) and control (C) group for the experimental period from day 21 ante partum (a.p.) until the end of the third month of lactation, 90th day post-partum (p.p.). Holstein cows were placed in free group housing of 40 animals after calving due to the same metabolic needs under the same microclimatic conditions. the animals of the two balanced groups were kept in groups. During the lactation period, there were 40 dairy cows in one group. All animals had ad libitum access to the mixed feed ration (TMR). The base TMR contained 37 mg Zn/kg DM. The exact Ingredient composition is showed in Tab.1 and Tab. 1a, respectively.

Table 1. Ingredient composition of basal TMR for individual periods of the experiment

	Dry cows	**Pre-fresh cows**	**Fresh cows**	**Lactating cows**
Ingredients	TMR 1 [kg]	TMR 2 [kg]	TMR 3 [kg]	TMR 4 [kg]
alfalfa haylage	10	8	9	11
pea haylage	4	5	7	7
corn silage	6	10	14	14
corn LKS*	0	2	4	6
corn CCM*	4	3	3	3
leaven	0	3	3	3
meadow hay	3.5	1.5	2	2
feed straw	3	1	1	1
concentrate	1	3.5	4.5	7.5
pea corn	0	0.3	0.5	0.5
barley groats	0	2	2	3
Mineral mix *Table 1a	0	0.16	0.16	0.16
Monofos Ca-P	0.25	0	0	0
feed sugar	0	0	0	0.3

*CCM=corn cob mix, LKS=Liesch Kolben Silage

Table 1a. Composition of Mineral mixture for cattle- in 1kg; DM = 95%

Calcium [%]	19.5	Copper [mg/kg]	460	Iodine [mg/kg]	15
Phosphorus [%]	10	Zinc [mg/kg]	470	Vitamin A [IU]/kg	800000
Sodium [%]	4.8	Manganese [mg/kg]	480	Vitamin D3 [IU]/kg	80000
Magnese [%]	5	Cobalt [mg/kg]	57	Vitamin E [IU]/kg	8000

Mikrop M®; Mikrop Čebín, Czech Republic

The nutrient composition was count according to the nutritional requirements of each stage of gravidity or lactation, respectively, due to dry matter intake (Tab. 2).

Table 2. Nutrient composition of ad libitum - TMR in individual periods of the experiment

			Dry off	Pre-fresh cows	Fresh cows	Lactating cows I.
Dry matter		g	11320.0	15120.0	20112.0	24132.0
Crude protein		g	1472.0	2088.0	4132.0	4382.0
PDI - N		g	826.0	1356.0	2488.0	2574.0
PDI - E		g	721.1	1204.0	2412.0	2612.0
Crude fat		g	245.2	312.2	885.3	988.3
Crude fibre		g	3135.0	2865.8	3365.0	3268.0
Starch		g	1523.0	2516.0	4472.2	4922.3
Non-fibre Carbohydrate		g	122.0	622.3	1021.0	1132.0
NEL		MJ	58.1	90.3	169.3	178.6
Crude Ash		g	926.0	954.6	1785.0	1836.0
Calcium Ca		g	112.3	124.6	228.3	248.6
Phosphorus	P	g	58.2	82.1	112.5	121.6
Sodium	Na	g	18.3	29.6	80.4	92.8
Potasium	K	g	186.2	224.6	328.8	362.0
Magnesium	Mg	g	33.1	48.6	74.6	75.3
Copper	Cu	mg	512.0	588.6	865.2	886.2
Manganese	Mn	mg	1623.0	2132.0	2432.0	2632.0
Zinc	Zn	mg	1682.0	2136.0	2965.0	3236.0
Selenium	Se	mg	12.1	14.3	18.4	19.5
Iodine	I	mg	16.3	36.2	54.1	55.3
Vitamín A		IU	183.0	235132.0	321452.0	365.3
Vitamín D		IU	3216.0	41125.0	64521.0	66856.0
Vitamín E		IU	660.0	1236.0	1265.0	1321.0
Niacin		mg	3134.0	6325.0	9865.0	10328.0

Supplementation with an organic form of zinc

The supplementation plan is showed in Tab. 3, the trial lasted from the 21st day before the planned parturition up to 90th day post partum (p.p.). The experimental group was fed organic zinc bound to the amino acid methionine (Zn-Met) (BIOPLEX Zn® Alltech, USA) at a dose of 30 mg per kg of dry matter (DM) of TMR. The dosage of 1.5% - premix of Zn-Met was controlled by the amount of dry matter received in individual periods (Table 3.).

Table 3. Plan of Zn-Met supplementation in individual periods of the experiment

Premix Zn-Met = 1.5% = 15000 mg Zn/kg Supplementation = 30 mg Zn / kg DM TMR				
	Dry matter intake kg/head/day	Zinc mg/head/day	Premix g/head/day	Premix per Group g/10 heads/day
Dry off	11.32	340	22.7	227
Pre-Fresh Cows	15.12	454	30.3	303
Fresh Cows	20.11	604	40.3	403
Lactating Cows I	24.13	724	48.3	483

Blood sample collection and analysis

For the hematological analysis venous blood samples were collected at the beginning of the trial, at the day of calving, at 30th, 60th day post partum (p.p.) and at the end of the Zn-Met addition, on 90th day p.p. The newborn calves were involved in the trial on the day of birth, during the first 2 hours after birth, before the first drinking of colostrum. The median caudalis vein was chosen for blood sampling in mothers, the jugular vein in newborn calves. The blood collection for the biochemical and mineral profile was performed on 21st day ante partum (a.p.), 30th, 60th, 90th and 120th day p.p. (one month after Zn-Met addition). For hematological examinations plastic sample tubes with an integrated needle - 27 mm length, Ø 1.2 mm (Hemos®-type II; Gama Group a.s., Brno, Czech Republic) were used, including 0.08 ml anticoagulant (Heparin-Natrium-5000-ratiopharm®). For biochemical and mineral examinations, the second blood sample was taken using tubes without additives for serum.

Hematology

In the laboratory of the Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics at Mendel University in Brno, Czech Republic, following hematological parameters were measured in blood samples of the whole blood on the Element HT5 device (Scil animal care company GmbH, Viernheim, Germany): the number of erythrocytes (RBC), leukocytes (WBC) and platelets (PLT), hemoglobin concentration (HGB), hematocrit value (HKT) and erythrocyte indices (MCV, MCH, MCHC). Three analytic methods are used for 15 μL of aspired heparinized full blood: laser-assisted flow cytometry for the detection of WBC, the impedance method for the detection of RBC and PLT, and the colorimetric measurement for HGB.

Blood chemistry and mineral parameters

Blood samples in were centrifuged at a speed of 3000/min for 10 minutes. The serum was separated and frozen at a temperature of -20°C to collect the minimum number of samples required for the biochemical sets of the Roche Hitachi 917 Disk Chemistry Analyzer (F. Hoffmann-La Roche; Basel, Switzerland) in the laboratory VETLABFARM s.r.o., Brno, Czech Republic. The device works on the principle of two-stage spectrophotometric analysis. The samples are placed in the five-position racks of the analyzer reservoirs. Measuring cuvettes are placed in a circle in a water bath in 37 °C. Automated stations suck the reaction mixture from the individual cuvettes, the sample and reagent are mixed for photometry. The following selected parameters were tested: total protein (CB), albumin (ALB), urea (UREA), glucose (GLU), bilirubin (BIL), alkaline phosphatase (ALP), aspartate-aminotransferase (AST), gamma-glutamyl-transferase (GMT or GGT) and thyroxine (T_4). The macroelements sodium (Na), potassium (K), calcium (Ca), phosphorus (P), magnesium (Mg) and the microelements zinc (Zn), copper (Cu), manganese (Mn) and selenium (Se) were determined by the method of atomic absorption spectrophotometry (AAS).

Data analysis

Raw data were statistically analyzed using Microsoft EXCEL® (Microsoft Office, Microsoft Corporation, Washington, USA) and Statistica™ (Dell Software,Inc., Round Rock, USA); the data sets were compared by two-choice Student's *t*-test with equal or unequal variance. The correlation was expressed by correlation coefficient and its significance was evaluated by Student's *t*-test. The value of $P \leq 0.05$ was considered as significant, $P \leq 0.01$ and $P \leq 0.001$ as highly significant.

Results

Table 4. Hematological parameter in calves and their mothers

Parameter Unit Physiol. range			Calves Day of Birth	Cows Partrus	Cows 30 d p.p.	Cows 60 d p.p.	Cows 90 d p.p.
WBC	S-group	x	9.34	6.54	8.18	7.95	5.49
		SD	2.26	3.00	2.52	0.75	0.78
[10^3/mm^3]	C-group	x	7.34	8.35	9.58	5.95	5.82
		SD	2.85	2.83	2.31	0.86	1.29
<5.0;10.0>		*P*	*	*	≤0.05	≤0.01	*
RBC	S-group	x	7.05	6.20	6.22	6.34	4.41
		SD	1.26	0.44	0.97	0.52	0.52
[10^6/mm^3]	C-group	x	4.78	5.47	5.40	4.81	4.37
		SD	1.17	0.49	0.67	0.31	0.35
<5.0;10.0>		*P*	≤0.001	≤0.01	≤0.05	≤0.001	*
HGB	S-group	x	9.38	10.60	10.16	10.12	9.09
		SD	1.30	0.68	0.68	0.68	0.66
[g/dl]	C-group	x	8.25	9.53	9.81	9.29	8.86
		SD	1.35	1.00	0.88	0.78	1.37
<9.0;14.0>		*P*	*	≤0.01	≤0.01	≤0.05	*
HCT	S-group	x	29.28	30.56	29.47	27.98	22.32
		SD	5.29	1.77	2.50	2.24	1.97
[%]	C-group	x	22.12	25.52	26.17	21.96	21.22
		SD	5.85	1.33	1.81	1.81	2.41
<28.0;38.0>		*P*	≤0.01	≤0.001	≤0.01	≤0.01	≤0.01
PLT	S-group	x	321.90	353.10	320.20	324.30	416.00
		SD	75.95	111.77	65.94	58.82	68.85
[10^3/mm^3]	C-group	x	309.08	233.33	296.37	296.27	340.00
		SD	71.14	99.74	61.78	48.22	105.91
<300;800>		*P*	*	≤0.01	≤0.05	≤0.05	*
MCV	S-group	x	41.50	49.42	48.10	44.26	53.40
		SD	1.64	4.25	4.62	3.70	3.03
[fl]	C-group	x	39.40	47.10	44.02	45.64	48.25
		SD	2.30	2.94	2.80	2.62	2.69
<46.0;65.0>		*P*	≤0.05	*	≤0.05	*	≤0.01
MCH	S-group	x	13.43	17.12	14.85	16.04	23.80
		SD	0.81	1.25	1.57	1.30	1.78
[pg]	C-group	x	15.41	17.91	15.85	19.35	22.11
		SD	3.37	2.54	1.35	1.05	1.56
<11.0;17.0>		*P*	*	*	*	≤0.001	*
MCHC	S-group	x	32.34	34.68	30.87	36.30	42.80
		SD	2.29	1.72	0.58	0.72	2.74
[g/dl]	C-group	x	29.32	37.20	34.56	42.36	45.88
		SD	11.32	4.12	2.67	0.66	2.35
<31.0;34.0>		*P*	*	*	≤0.001	≤0.001	≤0.05

*Not significant difference ($P \geq 0.05$); *P* = significant difference ($P < 0.05$); S = supplemented; C = control; x = mean value; SD = standard deviation WBC = white blood cells; RBC = red blood cells; HGB = haemoglobin; HCT = haematocrit; PLT = platelets; MCV = mean corpuscular volume; MCH = mean corpuscular haemoglobin ; MCHC = mean corpuscular haemoglobin concentration

Table 5. Biochemical parameters in dairy cows prepartal and during early lactation

Parameter Unit Physiological range			21d a.p.	partus	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
TP [g/l] <60;80>	S-group	x	69.09	76.53	73.04	72.59	74.17	74.34
		SD	2.49	1.99	1.28	1.12	1.19	3.10
	C-group	x	67.25	76.30	73.16	73.45	74.51	74.83
		SD	3.04	2.62	1.48	1.21	0.92	1.54
		P	*	*	*	*	*	*
ALB [g/l] <30;40>	S-group	x	34.36	35.04	33.63	33.22	33.53	33.35
		SD	1.07	0.74	0.47	0.77	0.59	1.46
	C-group	x	34.20	34.51	33.77	33.83	33.82	33.44
		SD	1.00	0.99	0.51	0.70	0.50	0.78
		P	*	*	*	*	*	*
UREA [mmol/l] <3.3;5.0>	S-group	x	3.93	3.46	4.45	5.11	5.03	5.28
		SD	0.19	0.22	0.32	0.20	0.31	0.37
	C-group	x	3.77	3.32	4.24	5.35	5.14	5.45
		SD	0.19	0.23	0.21	0.28	0.35	0.34
		P	≤ 0,05	*	≤ 0,05	*	*	*
GLU [mmol/l] <2.2;3.3>	S-group	x	3.72	3.96	3.09	2.99	3.11	3.13
		SD	0.15	0.15	0.09	0.10	0.08	0.04
	C-group	x	3.58	4.17	3.12	2.98	3.15	3.19
		SD	0.24	0.41	0.13	0.09	0.09	0.03
		P	*	*	*	*	*	≤ 0,01
BIL [µmol/l] ≤ 8,5	S-group	x	3.56	5.96	4.13	3.98	3.71	3.29
		SD	0.39	0.57	0.36	0.21	0.47	0.42
	C-group	x	3.37	5.61	3.73	3.66	3.85	3.65
		SD	0.45	0.98	0.38	0.45	0.26	0.31
		P	*	*	≤ 0,05	≤ 0,05	*	*
AST [µkat/l] ≤1.334	S-group	x	1.38	1.46	1.49	1.52	1.38	1.43
		SD	0.04	0.04	0.07	0.08	0.26	0.05
	C-group	x	1.39	1.47	1.52	1.57	1.39	1.42
		SD	0.04	0.03	0.07	0.07	0.03	0.04
		P	*	*	*	*	*	*
GGT [µkat/l] ≤0.834	S-group	x	0.24	0.26	0.38	0.40	0.34	0.34
		SD	0.03	0.03	0.09	0.07	0.05	0.04
	C-group	x	0.25	0.31	0.42	0.42	0.40	0.39
		SD	0.05	0.04	0.07	0.06	0.05	0.03
		P	*	≤ 0,01	*	*	≤ 0,01	≤ 0,001
ALP [µkat/l] ≤0.834	S-group	x	0.36	0.40	0.60	0.63	0.52	0.53
		SD	0.07	0.07	0.10	0.10	0.07	0.05
	C-group	x	0.34	0.38	0.56	0.67	0.58	0.59
		SD	0.05	0.05	0.10	0.07	0.10	0.08
		P	*	*	*	*	*	*
T_4 [nmol/l] <49;106>	S-group	x	78.09	78.85	72.78	63.44	47.94	39.69
		SD	7.16	4.79	6.22	3.94	8.43	4.23
	C-group	x	83.78	83.60	72.34	61.89	45.27	37.88
		SD	8.70	4.11	3.74	5.98	6.61	3.66
		P	*	≤ 0,05	*	≤ 0,05	*	*

*Not significant difference; *P* = significant difference ($P<0.05$); S = supplemented; C = control; x = mean value; SD = standard deviation; a.p. = ante partum; p.p. = post partum; TP = total protein; ALB = albumin; BIL = bilirubin; AST = aspartate aminotransferase; GGT = gamma glutamyl transferase; ALP = alanine aminotransferase; T4 = thyroxin

Table 6. Mineral profile in dairy cows prepartal and during early lactation

Parameter Unit Physiological range			21d a.p.	partus	30d p.p.	60d p.p.	90d p.p.	120d p.p.
Na [mmol/l] <135;150>	S-group	x	143.50	148.10	144.20	144.40	145.50	144.60
		SD	2.74	1.62	1.53	1.82	1.67	2.14
	C-group	x	143.20	146.90	144.40	144.60	145.10	143.60
		SD	2.44	2.54	2.01	1.87	1.78	1.82
		P	*	*	*	*	*	*
K [mmol/l] <4.0;5.0>	S-group	x	4.43	4.30	4.36	4.50	4.54	4.53
		SD	0.16	0.12	0.09	0.07	0.12	0.20
	C-group	x	4.36	4.29	4.52	4.52	4.50	4.56
		SD	0.13	0.12	0.10	0.13	0.14	0.10
		P	*	*	≤ 0,01	*	*	*
Ca [mmol/l] <2.0;3.0>	S-group	x	2.40	2.12	2.30	2.36	2.37	2.37
		SD	0.07	0.12	0.05	0.02	0.05	0.03
	C-group	x	2.49	2.13	2.32	2.35	2.38	2.40
		SD	0.06	0.11	0.05	0.04	0.03	0.03
		P	*	*	*	*	*	≤ 0,05
P [mmol/l] <1.6;2.3>	S-group	x	1.95	1.82	2.02	2.02	2.05	2.08
		SD	0.07	0.08	0.06	0.06	0.04	0.06
	C-group	x	1.96	1.86	2.04	2.04	2.07	2.07
		SD	0.09	0.06	0.07	0.07	0.05	0.06
		P	*	*	*	*	≤ 0,05	*
Mg [mmol/l] <0.70;1.77>	S-group	x	0.97	0.93	0.97	0.95	0.98	1.02
		SD	0.08	0.05	0.03	0.03	0.04	0.05
	C-group	x	0.96	0.91	0.98	0.94	0.96	1.00
		SD	0.05	0.04	0.05	0.02	0.04	0.05
		P	*	≤ 0,05	*	*	*	*
Zn [µmol/l] <12.2;26.0>	S-group	x	10.28	11.09	13.34	14.38	14.76	15.15
		SD	1.23	0.80	0.78	0.78	0.91	0.89
	C-group	x	10.39	9.56	11.21	11.30	11.02	10.70
		SD	1.17	0.92	1.21	1.06	1.13	1.04
		P	*	≤ 0,01	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001	≤ 0,001
Cu [µmol/l] <8.0;39.0>	S-group	x	12.04	11.21	13.15	13.01	13.29	12.62
		SD	0.98	0.86	0.91	0.35	0.57	0.88
	C-group	x	11.72	11.05	12.99	13.00	13.09	13.10
		SD	0.82	0.87	0.83	1.01	0.81	1.05
		P	*	*	*	*	*	*
Mn [µg/l] <7.0;19.0>	S-group	x	8.34	8.25	8.04	8.61	8.55	9.91
		SD	0.91	0.53	0.30	0.68	0.59	1.28
	C-group	x	8.33	8.07	8.32	9.01	10.12	10.60
		SD	1.28	0.92	0.39	0.63	1.08	1.21
		P	*	*	≤ 0,05	*	≤ 0,001	*
Se [µg/l] <92-112;247>	S-group	x	105.59	99.02	103.17	104.03	102.89	105.99
		SD	10.63	5.44	6.87	8.70	9.07	7.75
	C-group	x	102.47	92.67	102.13	103.53	102.69	105.21
		SD	13.69	8.15	8.98	10.11	7.33	7.85
		P	*	*	*	*	*	*

*Not significant difference; P = significant difference (P<0.05); S = supplemented; C = control; x= mean value; SD = standard deviation; a.p. = ante partum; p.p. = postpartum; Na = sodium; K = potassium; Ca = calcium; P = phosphorus; Mg = magnesium; Zn = zinc; Cu = copper; Mn = manganese; Se = selenium

Hematological profile

Total mathematical-statistical characteristics of the hematological values studied are given in Tab. 4. Hematological parameters RBC ($P \leq 0.001$), HCT ($P \leq 0.01$) and MCV ($P \leq 0.05$) of newborn calves showed significantly higher values in the experimental (S) group. The number of WBC of the control (C) group was outside the physiological range. Its sublimit level is related to the too low value of RBC, HGB, HCT, PLT and all erythrocyte indices. The supplemented group of calves does not show these features of leukocytopenia and anemia just after birth.

In comparison with the hematological parameters of cows of the control group on the day of delivery, which are in the physiological range (WBC, RBC, HGB, PLT, MCV), the hematocrit value of the control group is too low and even significantly lower ($P \leq 0.01$) than the value of the experimental group, which is normal on this day. RBC, HGB, HCT and PLT values show statistically significantly higher levels in the zinc-supplemented group in the next 90 days, i.e., for the entire rest of the trial period.

Thirty days p.p., the C-group showed lower values of RBC ($P \leq 0.05$), HGB ($P \leq 0.01$), HCT ($P \leq 0.01$), PLT ($P \leq 0.05$), MCV ($P \leq 0.01$) and MCHC ($P \leq 0.01$). HCT was below the reference minimum and HGB was within the norm at the same time in the C-group. While the WBC level of the experimental group is within the norm, the control group is close to the upper limit of the physiological range.

On 60th day p.p., the hematological values of the C-group dairy cows return to the reference optimum. The HCT value of the S-group is significantly higher ($P \leq 0.01$) compared to the control animals, which are below the reference minimum. In our experiment, two months after delivery, we also found significantly higher values in HGB ($P \leq 0.05$), PLT ($P \leq 0.05$), MCH ($P \leq 0.001$) and MCHC ($P \leq 0.001$). WBC were measured higher in S-group than those of the control ($P \leq 0.01$). Both groups were within the reference range.

In the last month of the trial, 90 days p.p., many parameters were decreased under the reference limit RBC, HCT or at the lowest limit – WBC, HGB in both groups. HCT was significantly higher in S-group ($P \leq 0.01$), MCV as well ($P \leq 0.01$), on contrary, MCHC was currently lower ($P \leq 0.05$).

Biochemical profile and Mineral profile (Tab.5 and 6)

The concentrations of total protein in blood serum were at the same level in both groups throughout the entire experimental period, no significant differences between groups were found. The lowest value was measured 21 d a.p., the highest on the day of calving, and then the values of both groups slowly decreased.

Discussion

All measured biochemical and parameters (Tab. 5, Tab. 6) correspond to the physiological course of these parameters in the period around calving and early lactation during the first three postpartal months. Kovačević et al. (2021) reported in their study about dispersion of reference intervals for hematological, biochemical and mineral parameters in cows in early lactation and a great range and magnitude of intraindividual variation in healthy individuals. Some parameters showed large intraindividual variation probably due to metabolic rearrangement and stress response in early lactating cows. Metabolic rearrangement is characterized by lipolysis and increased hepatocyte load (AST, ALT, GGT), and stress leads to

a change in the leukogram of cows (WBC, NEU, LY) high variability for these parameters may be a consequence of magnitude change in the value of these parameters in the weeks after calving. Macro-elements (Ca, P and Mg) showed low intraindividual variation in the trial of Kovačević et al. (2021), because of homeostatic mechanisms after calving maintain their concentration in a narrow range of values.

The direct relationship between zinc concentration in blood serum and hematological parameters was subjected to correlation analysis. A direct linear relationship (r_{xy}=Zn;HCT)) was found between Zn levels and HCT r = 0.281. The correlation coefficient between serum Zn concentration and RBC was recorded as r = 0.210, which is just above the established minimum limit (r = 0.2). A direct linear dependence could be observed in the case of the effect of Zn concentration on the amount of hemoglobin r = 0.465. For the other hematological parameters, the correlation coefficient was lower than r = 0.2, so neither a direct nor an indirect relationship was confirmed. Šrejberová et al. (2006) and Hussein (2018) observed the correlation dependence of zinc and copper concentration in blood plasma on hematological parameters of sheep and cattle. She concluded that direct and indirect linear dependencies were found in dairy cattle and less so in sheep, mainly in cases where one of the mineral substances is in deficit or excess in the body. Hussein (2018) tested in 75 sheep with clinical signs of zinc and copper deficiency in Iraq and compared them to the control without symptoms. The hematological parameters showed significant decrease P<(0.05) in RBC, HGB, HCT, and no difference in MCV and MCHC, which means normocytic normochromic anemia. The same effect was evaluated in our trial too. In his study, Kincaid (1999) evaluated the differences between methods for diagnosing microelement deficiencies in ruminants and concluded that metallothionein or RBC concentration in the blood is a suitable indicator for zinc deficiency, as their levels hardly change during infection. As other indicators of zinc saturation, he mentions the concentration of zinc in lymphocytes, neutrophils, granulocytes or blood platelets.

Considering that zinc is contained in the blood as part of enzymes in erythrocytes, platelets and is bound to albumin and globulin (Underwood et Suttle 1999; Milne et al. 1985), the values of HGB, HCT, RBC and PLT should be higher in the supplemented group. Our results confirm this thesis. Significantly higher values of RBC, HGB, HCT and PLT of cows of S-group on the day of parturition, 30th, 60th day p.p. and demonstrably higher values of RBC and HCT in newborn calves of Zn-supplemented mothers confirm the results of several earlier studies (Mattioli et al 2019; Sobhanirad et Naserian 2012). The HCT value is highly positively correlated with the HGB concentration (Šoch et al., 2011), which also corresponds to our results. Cope et al. (2009) observed the effect of zinc chelate supplementation on the same hematological parameters of cows as our experiment but did not find any demonstrable difference in the RBC and WBC among four groups supplemented for 14 weeks with a low or NRC (2001) recommended dose of Zn in organic and inorganic form. Kleckowski et al. (1995) in his work captures the negative effect of insufficient supply of zinc and copper to the body on the number of red blood cells, hemoglobin concentration and hematocrit value of cows and calves. Šoch et al. (2010) deals with the relationship between microelements and hematological parameters in cows. According to the experimental results of their observation, not only the concentration of zinc and copper in the blood plasma depends, but also the corresponding hematological parameters fluctuate depending on the altitude, the health status of the organism, the content of microelements in the ration, race, age, sex of animals and climatic conditions of breeding. They do not confirm the assumption that the concentration of hemoglobin will rise in

proportion to increasing altitude. The highest concentration of zinc and hemoglobin in the blood of Holstein cows was measured at an altitude of 550 m above sea level.

Application of Zn-Met significantly increased the level of bilirubin in S-group on 30th and 60th d p.p. There was no directly positive effect of Zn addition manifested on total protein, albumin, GLU concentration and AST, GGT, ALP activity in serum, throughout the entire experimental period. 120 d p.p. there was a decrease of liver enzymes activity of AST, ALP and GGT. ALP was higher, as expected, in S-group in the first 3 months of the trial, then in the C-group on 60-120th d p.p., but not significantly. which did not confirm the expected impact of Zn-Met supplementation. Nagalakshmi *et al.* (2099) reported increased ($P<0.01$) alkaline phosphatase (ALP) aktivity, on 75 d of trial in Zn proteinate supplemented lambs with 15 ppm Zn added to basal diet containing 29.28 ppm Zn.

21days a.p. and 30 days p.p. there is a significant increase in blood urea in Zn-Met group ($P\leq0.05$). Four months p.p., both groups showed values above the physiological maximum, which can be related to the high content of crude protein in the ration. At the day of birth there was a significant increase in Zn ($P\leq0.01$) and Mg concentration ($P\leq0.05$) in blood serum in S-group. 30 days p.p. there was a significant reduction of K ($P\leq0.01$) and Mn ($P\leq0.05$) levels and an increase in the Zn level in S-group. 60 days p.p. Zn was significantly higher ($P\leq0.001$) in S-group. 90 days p.p. there were shown three statistically relevant differences in Zn ($P\leq0.001$), P ($P\leq0.05$) and Mn ($P\leq0.001$) concentration. At the end of the experiment there was an increase in Zn levels ($P\leq0.001$) and decreased of Ca concentration ($P\leq0.05$) in the S-group.

The positive correlation of Zn and Mg confirmed significantly increase of Mg ($P\leq0.05$) at 0 days p.p. in S-group. The Zn-Met supplementation had significant influence on Zn level in blood serum ($P\leq0.01$, $P\leq0.001$), observed in S-group from parturition up to the end of the experiment. The increasing trend of Zn concentration in S-group corresponds to increasing Zn-Met supplementation according to DM intake in early lactation. The other studies reported positive effect of organic Zn addition on Zn serum concentration (Dresler et al. 2016, Sobhanirad et Naserian 2012, Kinal et al. 2011). There were also significant changes in K, Mn, and P levels. There was a significant decrease in Ca concentration ($P\leq0.05$) and Zn increase ($P\leq0.001$) in S-group on 120th d p.p. The Ca decrease may be related to the known antagonism Ca:Zn. The other elements (Na, Cu and Se) demonstrated no changes.

Conclusion

It was confirmed in the current study, that organic zinc supplementation (Zn-Met) at the recommended level (NRC 2001) has a significantly positive effects on Zn level in blood serum, hematological parameters RBC, HCT, HGB and PLT in calves and cows during the entire experimental period. The biochemical and other mineral levels were not significantly affected.

Acknowledgments

Funding:
This research was funded by the ITA VFU project No. 14, 2022.

Institutional Review Board Statement:
All study procedures were approved in accordance with the "Act on the protection of animals used for scientific purposes" of the Czech Republic. This act is in accordance with the EU Directive (No. 2010/63/EU) on the protection of animals used for scientific purposes and with the decision of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, No. 22036/2019-MZE-18134.

References

Alhussien MN, Tiwari S, Panda BSK, Pandey Y, Lathwal SS, Dang AK (2021) Supplementation of antioxidant micronutrients reduces stress and improves immune function/response in periparturient dairy cows and their calves. *J Trace Elem Med Bio* 65: 126718.

Ambooken B, Binitha MP, Sarita S (2013) Zinc Deficiency Associated with Hypothyroidism: An Overlooked Cause of Severe Alopecia. *Int J Trichology* 5(1): 40–42.

Ballantine HT, Socha MT, Tomlinson DJ, Johnson AB, Fielding AS, Shearer JK, Van Amstel SR (2002) Effect of feeding complexed to zinc, manganese, copper and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction and lactation performance. *Prof Anim Sci* 18: 211-218.

Brown ED, Chan W, Smith Jr. JC (1978) Bone Mineralization During a Developing Zinc Deficiency. *Proc Soc Exp Biol Med* 157: 211–214.

Caldera E, Weigel B, Kucharczyk VN, Sellins KS, Archibeque SL, Wagner JJ, Han H, Spears JW, Engle TE 2019: Trace mineral source influences ruminal distribution of copper and zinc and their binding strength to ruminal digesta. *J Anim Sci* 97(4): 1852-1864.

Cebulska K, Sobiech P, Tobolski D, Wysocka D, Janiszewski P, Zalewski D, Gugolek A, Illek, J (2021) Comparison of the content of selected heavy metals in the liver tissue of the wild boar (Sus scrofa), red fox (Vulpes vulpes) and red deer (Cervus elaphus), living in north-eastern Poland. *Pol J Vet Sci* 24(3): 425-432.

Chen SM, Kuo CD, Ho LT, Liao JF (2005) Effect of hypothyroidism on intestinal zinc absorption and renal zinc disposal in five-sixths nephrectomized rats. *Jpn J Physiol* 55: 211–219.

Chen F, Li Y, Shen Y, Guo Y, Zhao X, Li Q, Cao Y, Zhang X, Li Y, Wang Z, Gao Y, Li J 2020: Effects of prepartum zinc-methionine supplementation on feed digestibility, rumen fermentation patterns, immunity status, and passive transfer of immunity in dairy cows. *J Dairy Sci* 103: 8976-8985.

Chesters JK (1997) Zinc. In: O'Dell BS, Sunde RA (Eds.), Handbook of Nutritionally Essential 260 Mineral Elements. Marcel Dekker, New York, 185 p.

Choi JW, Kim SK (2005) Relationships of Lead, Copper, Zinc, and Cadmium Levels versus Hematopoiesis and Iron Parameters in Healthy Adolescents. *Ann Clin Lab Sci* 35 (4): 428-434

Dash S, Brewer GJ, Oelshlegel FJ (1974) Effect of zinc on heamoglobin binding by red blood cell memranes. *Nature* 250: 251-252.

Dirksen G, Gründer H D, Stöber M; Baumgartner W, Braun U, Doll K, Fürll M, Giese W, Haas L, Hoffmann W, Klee W, Köstlin R, Kümper H, Laiblin CH, Martig J, Moenning V, Mülling CH, Pohlenz J, Rademacher G, Renner E, Scholz H, Stanek CH, Staufenbiel R, Steiner A, Stöber M, Straub OCh, Trautwein G (2006) Internal medicine and surgery of cattle (in German). 5.Ed. Parey Verlag, Thieme Verlagsgruppe, Berlin. ISBN 978-3-8304-4169-4. pp 1325.

Dresler S, Illek J, Zeman L (2016) Effects of organic zinc supplementation in weaned calves. *Acta Vet Brno* 85: 049-054.

El-Maghraby MM, Mahmoud AE (2021) Clinical, hematological, and biochemical studies on hypozincemia in neonatal calves in Egypt. Vet World 14(2): 314-318.

Freake HC, Govoni KE, Guda K, Huang C, Zinn SA (2001) Actions and interactions of thyroid hormone and zinc status in growing rats. *J Nutr* 131: 1135–1141.

Griffiths LM, Loefler SH, Socha MT, Tomlinson DJ, Johnson AB (2007) Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. *Anim Feed Sci Technol 137*: 69-83.

Giugliano R and Millward D (1984) Growth and zinc homeostasis in the severely Zn-deficient rat. Br J Nutr 52: 545–560.

Gude D (2011) Tracing elements in hair. *Int J Trichology* 3: 132–133.

Hamilton RP, Fox MRS, Fry jr. BE, Jones AOL, Jacobs RM (1979) Zinc interference with copper, iron and manganese in young japanese quail. *J Food Sci* 44(3): 738-741.

Horst EA, Mayorga EJ, Al-Qaisi M, Abeyta MA, Goetz BM, Ramirez Ramirez HA, Kleinschmit DH, Baumgard LH (2019) Effects of dietary zinc source on the metabolic and immunological response to lipopolysaccharide in lactating Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 102: 11681-11700.

Hussein AN (2018) The effect of zinc and copper deficiency on hematological parameters, oxidative stress, and antioxidants levels in the sheep. Bas J Vet Res 16(2): 344-355.

Jagoš P, Bouda J, Hejlíček K, Hojovec J, Kozumplík J, Kudláč E, Roztočil V, Veselý Z (1985) *Diagnosis, therapy and prevention of cattle diseases (in Czech).* 1. Ed. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, Czech Republic. pp. 472.

Kardaya D, Dihansih E, Sudrajat D (2020). Flushing diets influence on blood mineral and haematological profile of late-pregnant cows under extensivegrazing. Adv Anim Vet Sci 8(12): 1310-1317.

Kellogg DW, Tomlinson DJ, Socha MT, Johnson AB (2004) Review: Effects of zinc methionine complex on milk production and somatic cell count of dairy cows: Twelve-trial summary. *Prof Anim Sci* 20: 295-301

Kinal S, Twardoń J, Bednarski M, Preś J, Bodarski R, Słupczyńska M, Ochota M, Dejneka GJ (2011) The influence of administration of biotin and zinc chelate (Zn-methionine) to cows in the first and second trimester of lactation on their health and productivity. *Pol J Vet Sci* 14(1): 103-110.

Kincaid RL and Socha MT (2004) Inorganic versus complexed trace mineral supplements on performance of dairy cows. *Prof Anim Sci* 20: 66-73.

Kovačević V, Cincović MR, Belić B, Đoković R, Lakić I, Radinović M, Potkonjak A (2021) Biological variations of hematologic and biochemical parameters in cows during early lactation. *Pol J Vet Sci* 24(1): 119–125.

Kleczkowski M, Klucinski W, Sikora J, Sitarska E, Winnicka A, Ładysz R, Ziekan P, Wojewoda J, Skowronski M (1995) The effect of the low concentration of copper, zinc, molybdenum, selenum, sulphur in the fodder on selected hematological parameters and glutathione peroxidase activity in calves and cows. *Mengen-und Spurenelemente*. 15, Arbeitstagung: 400-407.

Machado VS, Bicalho MLS, Pereira RV, Caixeta LS, Knauer WA, Oikonomou G, Gilbert RO, Bicalho RC (2013) Effect of an injectable trace element supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on health and production of lactating cows. *Vet J* 197: 451-456.

Malcom-Callis KJ, Duff GC, Gunter SA, Kegley EB, Vermeire DA (2000) Effects of supplemental zinc concentration and source on performance, carcass characteristics, and serum values in finishing beef steers. *J Anim Sci* 78: 2801-2808.

Mattioli GA, Rosa DE, Turic E, Testa JA, Lizarraga RM, Fazzio LE. Effect of Injectable Copper and Zinc Supplementation on Weight, Hematological Parameters, and Immune Response in Pre-weaning Beef Calves. Biol Trace Elem Res. 2019 Jun;189(2):456-462.

Milne DB, Ralston NV and Wallwork JC (1985) Zinc content of cellular components of blood: methods for cell separation and analysis evaluated. Clin Chem 31: 65-69.

Miyamoto T, Sakurai A, DeGroot L (1991) Effects of zinc and other divalent metals on deoxyribonucleic acid binding and hormone-binding activity of human a1 thyroid hormone receptor expressed in Escherichia coli. *Endocrinology* 129: 3027–3033.

Mohajeri M, Norouzian MA, Mohseni M, Alfalzadeh A (2014) Changes of blood metals, hematology and hepatic enzyme activities in lactating cows reared in the vicincity of a lead-zinc smelter. *Bull environ contam toxicol* 92(6): 693-697.

Mullur R, Liu YY, Brent G (2014) Thyroid hormone regulation of Metabolism. *Physiol Rev* 94: 355–382.

Nagalakshmi D, Dhanalakshmi K, Himabindu D (2009) Effect of dose and source of supplemental zinc on immune response and oxidative enzymes in lambs. *Vet Res Commun* 33(7): 631-644.

Neathery MW, Miller WJ, Blackmon DM, Gentry RP (1973) Performance and milk zinc from low intake in Holstein cows. *J Dairy Sci* 56: 212-217.

Nocek JE, Socha MT, Tomlinson DJ (2006) The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. *J Dairy Sci* 89: 2679-2693.

NRC (2001) Nutrient Requirements of Domestic Animals, Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Edition rev. Ed. National Academies Press, Washington DC.; 408.

Osorio JS, Trevisi E, Li C, Drackley JK, Socha MT, Loor JJ (2016) Supplementing Zn, Mn, and Cu from amino acid complexes and Co from cobalt glucoheptonate during the peripartal period benefits postpartal cow performance and blood neutrophil function. *J Dairy Sci* 99: 1868-1883.

Sobhanirad S *et* Naserian AA (2012) Effects of high dietary zinc concentration and zinc sources on hematology and biochemistry of blood serum in Holstein dairy cows. *Anim Feed Sci Tech* 177: 242-246

Spears JW (1996) Organic trace minerals in ruminant nutrition. *Anim Feed Sci Technol* 58: 151-163.

Spears JW, Kegley EB 2002: Effect of zinc source (zinc oxide vs. zinc proteinate) and level on performance, carcass, and immune response of growing and finishing steers. *J Anim Sci* 80: 2747-2752.

Siciliano-Jones JL, Socha MT, Tomlinson MT, De Frain JM (2008) Effect of Trace Mineral Source on Lactation Performance, Claw Integrity, and Fertility of Dairy Cattle. *J Dairy Sci* 91: 1985-1995.

Šoch M, Šrejberová P, Brouček J. (2006) The relationship of copper and zinc with hematological parameters in beef cattle. *Journal of animal science* 84(Suppl.1): 165-165.

Šoch M, Broucek J, Vydrova P, Travnicek J, Raabova M, Uhrincat M (2010): Effect of Enviromental and Management Factors on Hematological and Trace Blood Elements of Cows. *Slovak J Anim Sci* 43(4): 195-204.

Šrejberová P, Šoch M, Brouček J (2008) Relationship between copper and zinc on selected hematological parameters in beef and dairy cattle. *Slovak J Anim Sci* 41: 42-45.

Triggiani V, Tafaro E, Giagulli VA, Sabbà C, Resta F, Licchelli B, Guastamacchia E (2009) Role of iodine, selenium and other micronutrients in thyroid function and disorders. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 9(3): 277-94.

Underwood EJ and Suttle NF (1999) Mineral Nutrition of Livestock. 3rd Edn. CAB Imternational, Wallingford, 614 pp.

Yokus B and Cakir UD (2006) Seasonal and physiological variations in serum chemistry and mineral concentrations in cattle. *Biol Trace Elem Res* 109: 255-266.

Żarczyńska et al. (2021) Effect of a single, oral administration of selenitetriglycerides, at two dose rates, on blood selenium status and haematological and biochemical parameters in Holstein Friesian calves. *Irish Vet J* 74:11

veterinářství

Odborný a stavovský měsíčník pro veterinární lékaře

Professional and technical monthly magazine dealing with veterinary surgeons´ work

www.vetweb.cz

XIth Middle European Buiatrics Congress

&

5th Symposium of the European College of Bovine Health Management

ECBHM
European College of Bovine Health Management

Congress Proceedings



17–19 June, 2010
Brno, Czech Republic

Supplementum, LX, 2010, 1

modifies cardiovascular responses in newborn sheep. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 292:2234–2240.

JESSEN TH, WEBER RE, FERMI G. 1991: Adaptation of bird hemoglobins to high altitudes: Demonstration of molecular mechanism by protein engineering. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:6519–6522.

KHALED NF, ILLEK J, GAJDŮŠEK S. 1999: Interactions between nutrition, blood metabolic profile and milk composition in dairy goats. Acta Vet. Brno, 68:253–258.

KOTTFEROVA J, KORENEKOVA B. 1997: Comparison of the occurrence of risk elements in bulls and dairy cows coming from the fallout region of a metallurgical plant on the territory of Slovakia. Arch. Tierz. 40:309–316.

LAVEN RA, SMITH SL. 2008: Copper deficiency in sheep: An assessment of the relationship between concentrations of copper in serum and plasma. New Zealand Veterinary Journal, 56:334–338.

LOMINADZE D, SAARI JT, PERCIVAL SS. 2004: Proinflammatory effects of copper deficiency on neutrophils and lung endothelial cells. Immunol. and Cell Biol. 82:231–238.

SAHIN T, CIMTAY I, AKSOY G. 2001: Effects of copper sulphate administration on body weight gain and some blood parameters in lambs. Turkish J. Vet. Anim. Sci. 25:933–938.

SOMMER A, CERESNAKOVA Z, FRYDRYCH O. 1994: Nutrient requirement and nutrients value of feeds for cattle, sheep and goats. VUZV Nitra, 116 p.

STORZ JF, MORIYAMA H. 2008: Mechanisms of hemoglobin adaptation. High Altitude Med. & Biol. 9:148–157.

ŠOCH M, ŠREJBEROVÁ P, BROUČEK J. 2006: The relationship of copper and zinc with hematological parameters in beef cattle. J. Anim. Sci. Vol. 84, Suppl. 1/ J. Dairy Sci. Vol. 89, Suppl. 1: p. 165.

TRIPATHI MK, MONDAL D, KARIM SA. 2008: Growth, haematology, blood constituents and immunological status of lambs fed graded levels of animal feed grade damaged wheat as substitute of maize. J. Anim. Physiol. Anim. Nutrit. 92:75–85.

WEBER RE. 2007: High-altitude adaptations in vertebrate hemoglobins. Respirat. Physiol. & Neurobiol. 158:132–142.

The Effect of Organic Zinc Supplementation on Lactation Performance and Somatic Cell Count of Cows of H breed

S. DRESLER[1], J. ILLEK[2], L. ZEMAN[1]

[1]Mendel University in Brno, Department of Animal Nutrition and Forage Production, Brno Czech Republic; **sylva.dresler@centrum.cz**

[2]University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Faculty of Veterinary Medicine, Brno, Czech Republic

ABSTRACT

The aim of the current trial was to evaluate the effect of organically chelated zinc (Zn-Met) supplementation on lactation performance of dairy cattle during the first three months of lactation and to assess the effect of zinc supplementation on milk yield, milk components (milk protein, milk fat, lactose) and somatic cell count (SCC).

Eighty multiparous cows were assigned to a study at approximately 21 d pre partum to determine the effect of organicly bound zinc source on lactation performance (milk yield, milk solids – protein, fat) and somatic cell count. Cows received treatments from 21 days prepartum throughout 14 wk postpartum. Treatments consisted of 1) supplemental Zn provided in organic form Zinc–Methionine (Zn-Met) (Bioplex®, Alltech) at the dose of 30 mg Zn/kg DM of TMR (540 - 660 mg of Zn daily per head) (supplemented – S-group) and 2) the basal total mixed ration (TMR) without any supplementation (control–C-group). The individual milk samples were collected every month to test milk components and somatic cell count (SCC). Milk was sampled and analyzed according to the standard procedure for (SCC) determination.

Daily milk yield of Zn supplemented cows was in 30 days post calving not significantly affected (P>0.10) by treatment (S: 43,02±3,62 kg vs. P: 42.03±3.98 kg). After 60 days the milk yield in the S-group amounted to 44.70±4.24 kg and 42.08±4.60 in cows of control group. The difference was statistically significant (P<0,05). In 90 d of lactation there was higher milk yield in the S-group as well (43.22±4.47 kg vs. 39.98±4.80 kg). The difference was highly statistically significant (P<0,005). Cows fed the Zn-Met (S-Group) diet also produced more milk and protein and then cows fed the other diet (C-Group). in the second and the third month of lactation (after 60 and 90 days of trial) there is statistically significant difference in protein and fat percentage in milk.

In conclusion, the organic zinc supplementation at the recommended level has significantly positive effect on daily milk yield, milk components, such as milk fat and milk protein, and SCC of dairy cows in early lactation.

Key words: *zinc, dairy cattle, SCC*

MATERIAL END METHODS

The study was conducted in a free-stall barn on a commercial farm with 400 Holstein dairy cows in Velke Opatovice, Czech Republic. The previous lactation 305-d mature equivalent milk yield amounted 9247 kg up to 10150 kg. In the last

12 months before the experiment the average somatic cell count was 286, milk fat 3.77% and milk protein 3.30%.

Eighty multiparous Holstein-Friesian dairy cows (40 cows per treatment) ware randomly allocated to one of two treatments – S–group (Supplemented) and C–group (Control). The experiment lasted four months (21d pre partum up to the end of the 3rd month of lactation). A basal mixed ration for all the cows included meadow hey, alfalfa-grass heylage, corn silage, lupine silage, straw, canned wheat and production concentrate and molasses + propylenglycol (Table 1., Table 2.) All cows were given the same basal total mixed ration (TMR), Zn concentration in TMR was 37 mg Zn/kg on dry matter basis (DM). In average 21 days prior calving all cows of thee zinc treated group (S-group) were given 30 mg Zn-Met/kg DM (Bioplex®, Alltech Inc, USA) for 90 days post partum and cows of the control group (C-group) was fed the same diet without organic Zn supplementation. Cows were given either 540–660 mg/d (to provide 100% of NRC recommended supply) or the basal mixed ration without any additional Zinc.

Table 1: Ingredients of basal diet

Ingredient	Kg DM/ d per head
Alfalfa-grass heylage	4,8
Corn silage	4,2
CCM corn silage	0,78
Lupina heylage	1,5
Meadowhey	1,7
Straw	0,85
Whaet	1,7
Production concentrate	4
Melavit (molasses + propylenglycol)	0,88

Table 2: Ingredients of Production Concentrat

Ingredient	G/kg	Ingredient	Mg/kg
Ca	14,8	Fe	194,5
P	9	Cu	62,52
Na	15,6	Co	1,13
K	13,9	Mn	376,75
Cl	8,5	Zn	395,28
Mg	4,8	J	5,88
NaCl	2	Se	1,17

All cows were milked two times a daily and the milk weight was recorded automatically every day. The individual milk samples were collected every month to test milk components and somatic cell count. Milk was sampled and analyzed according to the standard procedure for somatic cell count (SCC) determination CSN ENISO 13366-3/1998. The evening and morning samples were preserved and analyzed in laboratory by Fossomatic.

All obtained results were processed by a statistical analysis using Microsoft Office EXCEL. The different sets of data ware compared by a two choice paired t-test for the median value and two-choice t-test with equal of unequal variance respectively. As statistically significant, the $p<0.05$ was considered, $p<0.01$ as highly significant.

INTRODUCTION

Trace element deficiencies of minerals such as zinc, copper, manganese or cobalt and have been observed and studied for many years, they have very important roles in protein synthesis, vitamin metabolism, tissue connectivity, immune system, hormone regulation, appetite regulation, growth, fertility, quality of skin and skin derivates integrity (Illek 1987, Illek 2003, Miller et al, 1988, NRC 2001). Zinc is a microelement, that has an essential function for health and performance by livestock. Zinc supplementation has affect on cattle performance and health, such as fertility, lactation, claw integrity and immunity (Siciliano et al. 2008, Griffiths et al. 2007, Kellogg et al. 2004, Malcolm-Callis et al. 2000, NRC 2001, SPEARS et al. 2002, Kincaid 2004, Nocek et al. 2006, Neathery 1973). Zinc is a an integral part of many enzyme systems or it works as an enzyme activator. It affects milk production, reproduction, immune system and the growth of the animals through the enzyme activity and gene expression of proteins influenced by zinc (Chesters, 1997). Zinc plays catalytic and structural roles in over 300 enzymes and transcription factors (Lipscomb and Sträter, 1996). Function of metaloenzymes such as carbonic anhydrase, lactate dehydrogenase, alcohol dehydrogenase, alkaline phosphatase, carbonic anhydrase, Cu/Zn-superoxide dismutase, carboxypeptidase-A,-B or DNA-, RNA-polymerase is negatively influenced by zinc deficiency (Miller,Miller 1962, Kirchgessener et al. 1975, Chahabra, Arora 1993, Chesters 1992, Illek 2003, Underwood, Suttle 1999). Zinc affects activity of some hormones such as glucagon or corticotrophin, it is a part of insulin and that's the way how zinc intervenes in protein and energetic metabolism (Illek 2003). Zinc has two most direct connections to the immune function, the role of Zn as an antioxidant (i.e., SOD) and the importance of Zn to cell replication and proliferation (Spears and Weiss, 2008). Zinc is essential for leukocyte creation and function, it has an influence on antibody creation and phagocytosis and is important in the cell apoptosis process (Droke, Spears 1993; Illek 2003,). Corinthas et al. (2010) reported about a positive effect of organic source of Zn on SCC, but no effect on antioxidant enzymes (ZnCuSOD, GSH-Px, CP). Zinc status in dairy cows is essential in keratinisation within the teat canal, so that teat health is related to zinc (Andrieu, 2007). Compared to traditional feeding of inorganic sources of Zn (oxide, sulphate), organically bound Zn has greater bioavailability (Wedekind et al., 1992; Kincaid, Socha 2004) and can increase Zn concentration in tissues and plasma, reduce SCC in milk (Cousins et al. 1988, Illek, 2007). Whitaker et al. (1997) reported about the influence of Zn on immune system and therefore higher SCC and mastitis rates in Zn deficient dairy cows. Hansen (1992) reported about the zinc supplementation of 2.5 g Zn proteinate/ day, that caused a great decrease of SCC of 100x103 SCC/ml by herds with high SCC in average (400x103 SCC/ml). Nocek (2006) reported about similar reproductive and health performance by cows supplemented 100% of NRC (2001) requirements of complexed trace minerals as cows fed the same elements in inorganic form. Milk and component yields were however higher. Therefore, the objectives of this research were to assess the effect of organic zinc supplementation on milk yield, the quality of the milk (milk solids) and SCC in milk.

RESULTS AND DISCUSSION

From the first day post calving up to the last day of 3 months trial the daily milk yield was recorded. Cows fed Zn-Met (S-Group) tended to produce more milk in all 3 months than the control C-group (Figure 1). Daily milk yield of cows fed recommended (100% NRC) Zn supply in organic form was in 30 days post calving not affected (P>0.10) by treatment. The average milk yield was in the S-group 43.02±3.62 kg, in the C-group 42.03±3.98 kg. After 60 days the milk yield amounted to 44.70±4.24 kg and 42.08±4.60 in cows of control group. The difference was statistically significant P<0.05. Also In the third month of lactation there was higher milk yield in the supplemented group as well (43.22±4.47 kg vs. 39.98±4.80 kg). The difference was highly statistically significant (P<0.005). In the study of Uchida et al. (2001) there is no increase of lactation performance observed, Kincaid and Socha (2004) observed higher lactation performance in peak lactation, but not at the early lactation.

Figure 1: Effect of zinc supplementation on milk yield over 90 days trial period

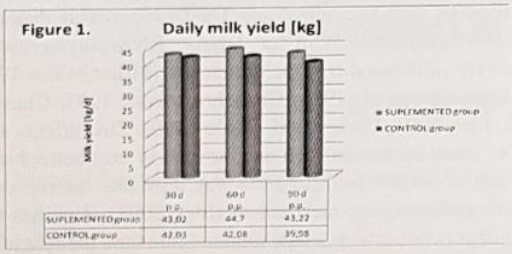


Table 3. Daily milk yield in first 3 months of lactation

		30 d p.p.	60 d p.p.	90 d p.p.
S-group	X	43.02	44.7	43.22
	SD	3.62	4.24	4.47
C-group	x	42.03	42.08	39.98
	SD	3.98	4.6	4.8
p - value		>0.5	<0.05	<0.005

Somatic cell count (SCC) in the control group (C-group) were in all three months of the trial higher than in the cows of the supplemented group (S-group) (Figure 2., Table 4.). There was no significant difference in the first month of lactation (P>0.5). But in the second month for cows receiving the organic Zn supplementation (S-group) SCC significantly lower (P<0.05) than those of control group and at the end of the trial, after 90 days of lactation, the organically supplemented group has lower somatic cell count, the difference was highly statistically significant (P<0.001). SCC in the supplemented group tended to decrease in this three months of trial, the control group had the opposite tendency. Similar result was reported by Nocek et al. (2006), in his research SCC of cows supplemented by (100% NRC) complexed zinc source was 46.5% lower than SCC of those supplemented by (100% NRC) inorganic zinc and 47.7% lower than those supplemented by (75% NRC) organic zinc.

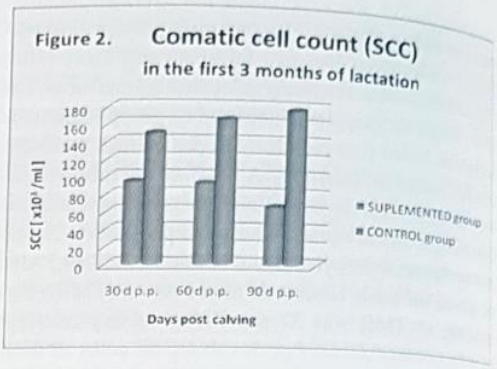


Table 4. SCC [x10³ / ml] in 30-90 d p.p.

		30 d p.p.	60 d p.p.	90 d p.p.
S-group	X	94.76	92.72	66.67
	SD	91.62	80.55	81.12
C-group	x	150.05	165.98	177.6
	SD	162.61	173.09	172.33
p - value		>0.5	<0.05	<0.001

Milk composition appears to be affected by organically bound zinc supplementation as well (Figure 3, Table 5). In the first 30 days post partum there is no significant difference in the milk solids amount (P>0,1). But in the second and the third month of lactation (after 60 and 90 days of trial) there is statistically significant difference in protein and fat percentage in milk. 60 days post partum the amount of milk fat (P<0,01) and milk protein (P<0,05) were higher in zinc supplemented group of cows and 90 days post partum was the difference in average protein and fat amount (both P<0,01).

Positive effect of 100% NRC complexed zinc supplementation on protein and fat amount in milk are reported by Kellogg (2004), Nocek (2006), no positive effect on milk composition by level or source of mineral supplementation is reported by Ballantine et al. 2002, Kellogg 2003, Uchida et al. Kincaid and Socha reported about higher amount of milk protein after complexed zinc supplementation as well.

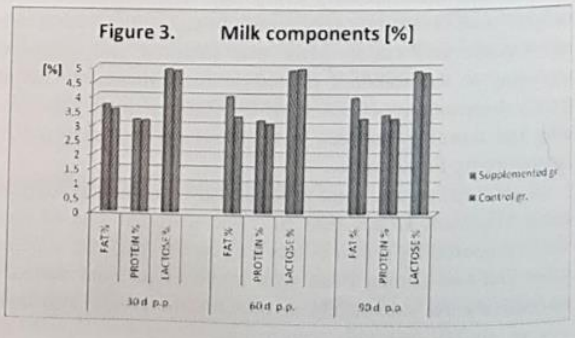


Table 5. Milk components [%]

		30 d p.p.			60 d p.p.			90 d p.p.		
		FAT %	PROT.%	LACT. %	FAT %	PROT. %	LACT. %	FAT %	PROT. %	LACT. %
S -Group	x	3.69	3.19	4.93	4.01	3.19	4.91	3.98	3.39	4.88
	SD	0.41	0.3	0.23	0.45	0.3	0.38	0.45	0.22	0.22
C - Group	x	3.52	3.16	4.9	3.31	3.08	4.96	3.26	3.26	4.83
	SD	0.81	0.32	0.31	0.59	0.22	0.2	0.45	0.2	0.44

CONCLUSION

The organic zinc supplementation at the recommended level has significantly positive effect on daily milk yield, milk components, such as milk fat and milk protein, and SCC of dairy cows in early lactation.

RERERENCES

ANDRIEU S (2007): Is there a role for organic trace element supplements in transition cow health? The Veterinary Journal, 176: 183

BALLANTINE HT, SOCHA MT, TOMLINSON DJ, JOHNSON AB, FIELDING AS, SHEARER JK, VAN AMSTEL SR (2002), Effect of feeding complexed to zinc, manganese, copper and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction and lactation performance. Prof. Anim. Sci. 18:211–218.

CHARABRA A, ARORA SP (1993): Effect of vitamin A and zinc supplement on alcohol dehydrogenase and superoxide dismutase activities of goat tissues. In: Indian Journal of Animal Science 63, 334–338.

CHESTERS JK (1992): Trace elements – gene interactions. In: Nutrition Reviews 50, 217–223.

CHESTERS JK, (1997). Zinc. In: O'DELL, B.S., SUNDE, R.A. (Eds.), Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements. Marcel Dekker, New York, p. 185.

CORTINHAS CS, BOTARO DB, SUCUPIRAMCA, RENNO FP, SANTOS MV (2010), Antioxidant enzymes and somatic cell count in dairy cows fed with organic source of zinc, copper and selenium, In: Livestock Science 127 (1), 84–87

COPE C. M., MACKENZIE A. M., WILDE D., SINCLAIR L. A. (2009), Effects of level and form of dietary zinc on dairy cow performance and health. In: J. Dairy Sci. 92:2128–2135

De FRAIN J. M., M. T. SOCHA, D. J. TOMLINSON, D. KLUTH (2009), Effect of Complexed Trace Minerals on the Performance of Lactating Dairy Cows on a Commercial Dairy. In: Prof. Anim. Sci. 25 (6): 709–715

DIRKSEN G., GRÜNDER H.D., STÖBER M., (2006), Innere Medizin und Chirurgie des Rindes, 5. Aufl., Parey Verlag

DROKE EA, SPEARS JW (1993), In vitro and in vivo immunological measurements in growing lambs fed diets deficient, marginal or adequate in zinc. In: J. Nutr. Immunol. 2, 71.

DROKE E.A., GENGELBACH G.P., SPEARS J.W., (1998), Influence of level and source (inorganic vs. organic) of zinc supplementation on immune function in growing lambs, (abstract) In: Asian-Australas. J. Anim. Sci. 11: 139–144

DRYDEN G., Animal Nutrition Science (2008), CAB International, Cambridge, USA

FERGUSON JD, TOMLINSON D, SOCHA M (2004) Effects of inorganic and organic (4-PlexR) trace mineral supplementation on milk production and reproduction. J. Diary Sci. 87 (Suppl. 1): 117 (Abstr.)

GRIFFITHS LM, LOEFLER SH, SOCHA MT, TOMLINSON DJ, JOHNSON AB (2007) Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. In: Anim. Feed Sci. Technol. 137:69–83.

HANSEN R. (1992), Effects of Bioplex Zinc Supplements on somatic cell counts in three high producting dairy herds, In: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Proceedings of Alltech's 8th Annual Symposium, Nicholasville (KY) USA, 55–57.

HIDIROGLOU M, Trace element deficiencies and fertility in ruminants (1979), Journal of Dietary Science, Vol. 62, (8), 1195–1206

ILLEK J., (1987), Výskyt a diagnostika, terapie a prevence karenci kobaltu, manganu, mědi a zinku u skotu. Doktorská disertační práce. Vysoká škola veterinární Brno, 330s.

ILLEK J., BECVAR O., LOKAJOVA E., MATEJICEK M., (2000): Stopove prvky ve vyzive skotu – zinek. Krmivarstvi 6: 30

ILLEK J. (2003), Funkce mikroelementu. In: Jelinek P, Koudela et al.: Fyziologie hospodarskych zvirat. Mendelova zemedelska a lesnicka universita Brno, 180–188.

ILLEK J, BATOVA A, KUMPRECHTOVA D (2007), Effect of Bioplex organic zinc supplementation on somatic cell counts, In: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Proceedings of Alltech's 23rd Annu. Symp., Lexington (KY) USA (Suppl.1), 71.

KELLOGG DW, SOCHA MT, TOMLINSON DJ, JOHNSON AB (2003). Review: Effects of feeding cobalt glucoheptonate and metal specific amino acid complexes of zinc, manganese and copper on lactation and reproductive performance of dairy cows. In: Prof. Anim. Sci. 19: 1–9.

KELLOGG DW, TOMLINSON DJ, SOCHA MT, JOHNSON AB (2004). Review: Effects of zinc methionine

complex on milk production and somatic cell count of dairy cows: Twelve-trial summary. In: Prof. Anim. Sci. 20: 295–301

KIRCHGESSNER M., SCHWARY WA, ROTH HP: Zur Aktivität der alkalischen Phosphatase in Serum und Knochen von Zink depletierten und repletierten Kühen. In: Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde ä (35), 191–200.

KINAL S, BODARSKI R, KORNIEWICZ A, NICPON J, SLUPCZYNSKA M. (2005), Application of organic forms of zinc, copper and manganese in the first three months of dairy cow lactation and their effect on the yield, composition and quality of milk. In: Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 49 (4): 423–426

KINAL S, KOMIEWIEZ A, JAMROZ D, ZIEMINSKI R, SLUPEZYNSKA M (2005), Dietary effects of zinc, copper and manganese chelates and sulphates on dairy cows. J. Food Agric. Environ. 3:168–172.

KINCAID RL (2000) Assessment of trace mineral status of ruminants: A review. J. Anim. Sci. 77(E. Suppl.):1–10.

KINCAID RL, SOCHA MT (2004), Inorganic versus complexed trace mineral supplements on performance of dairy cows. Prof. Anim. Sci. 20:66–73

KREBS N F (1998), Zinc supplementation during lactation. In: Am. J. Clin. Nutr. 68(Suppl.):509–512.

LIPSCOMB W.L., STRÄTER N., (1996). Recent advances in zinc enzymology. Chem. Rev. 96, 2237–3042.

LÖFFLER G., (2000) Basiswissen Biochemie, 4.Aufl., 507 S., Springer Verlag, Berlin

LÖFFLER G., (2000) Basiswissen Biochemie, 4.Aufl., 507 S., Springer Verlag, Berlin

MALCOM-CALLIS KJ, DUFF GC, GUNTER SA, KEGLEY EB, VERMEIRE DA (2000), Effects of supplemental zinc concentration and source on performance, carcass characteristics, and serum values in finishing beef steers. J. Anim. Sci. 78:2801–2808

MILLER WJ, AMOS HE, GENTRY RP, BLACKMON DM, DURRANCE RM, CROWE CT, FIELDING AS, NEATHERY MW (1989). Long-term feeding of high zinc sulfate diets to lactating and gestating dairy cows. J. Dairy Sci. 72:1499–1508

MILLER JK, MILLER WJ (1962): Experimental zinc deficiency and recovery of calves. In: Journal of Nutrition 76, 467–474.

MOORE CL, WALKER PM, JONES MA, WEBB JM (1988), Zinc methionine supplementation for dairy cows. J. Dairy Sci. 71(Suppl. 1):152. (Abstr.).

NAGALAKSHMI D., DHANALAKSHMI K., HIMABINDU D. (2009), Effect of dose and source of supplemental zinc on immune response and oxidative enzymes in lambs, In: Veterinary Research Communications 33–7, 631–644

NEATHERY MW, MILLER WJ, BLACKMON DM, GENTRY RP (1973), Performance and milk zinc from low intake in Holstein cows. J. Dairy Sci. 56:212–217.

NOCEK J. E., SOCHA M. T., TOMLINSON D. J (2006), The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. In: J. Dairy Sci. 89:2679–2693.

NRC (2001): Nutrient Requirements of Domestic Animals, Nutrient Requirements of Diary Cattle. 7th Edition. National

SHANKAR A.H., PRASAD A., (1998) Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. In: Am. J. Clin. Nutr. 68: 447S–463S

SICILIANO-JONES JL, SOCHA MT, TOMLINSON MT, De FRAIN JM (2008), Effect of Trace Mineral Source on Lactation Performance, Claw Integrity, and Fertility of Dairy Cattle, In: J. Dairy Sci. 2008. 91:1985–1995

SPEARS J.W., KEGLEY E.B., (2002), Effect of zinc source (zinc oxide vs. zinc proteinate) and level on performance, carcass and immune response of growing and finishing steers, In: J. Anim. Sci. 80, 2747–2752

SPEARS J.W., WEISS P., (2008), Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows, In: The Veterinary Journal 176, 70–76

TOMLINSON D J, C. H. Mülling, and T. M. Fakler. (2004), Formation of keratins in the bovine claw: Roles of hormones, minerals, and vitamins in functional claw integrity. In: J. Dairy Sci. 87:797–809.

UCHIDA K, MANDEBVU P, BALLARD CS, SNIFFEN CJ, CARTER MP (2001), Effect of feeding a combination of zinc, manganese and copper amino acid complexes, and cobalt glucoheptonate on performance of early lactation high producing dairy cows, In: Animal Feed Science and Technology 93, 193–203.

UNDERWOOD E.J., SUTTLE N.F. (1999), The Mineral Nutrition of Livestock, 3rd edn. CAB International, Wallingford, UK

WEDEKIND K.J., HORTON A.E., BAKER D.E., (1992). Methodology for assessing zinc bioavailability: Efficacy estimates for zinc methionine, zinc sulfate and zinc oxide. J. Anim. Sci. 70, 178–197.

This research was supported by grant no. VZ MSM 6215648905