

UDC 636. 36.257

Interconnection of biochemical indices in blood of cows and heifers with birth defects

A. G. Seredzhimova

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Article info

Received 15.10.2019
Received in revised form
Accepted 08.11.2019
15.11.2019

Sumy National Agrarian
University,
160, Gerasim Kondratiev
St., Sumy, Sumy region,
40010
E-mail:
achekanne@gmail.com

Seredzhimova, A. G. (2019). Interconnection of biochemical indices in blood of cows and heifers with birth defects. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 4, 139-147. doi: 10.31890/vttp.2019.04.27.

The main essential factor in obtaining a sufficient number of viable litters is the prevention of pregnancy and childbirth pathology in cows. It is known that birth is a complex physiological process, which requires the coordinated activity of virtually all organs and systems of the body. This, in turn, requires a positive energy balance and clear neuro-humoral regulation. The guarantee of the latter is full feeding, which includes optimal mineral supply of cows during the dry period, childbirth and postpartum period.

The aim of research was to link the lack of balance of microelements and pathology of the second and third stages of parturition of cows. To develop prognostic tests for the signification of birth pathology on the basis of the interconnection between micro- and microelement imbalances and some biochemical indices of cow blood.

In the first phase of research we have formed 2 groups of cows and 2 groups of heifers. All animals were of Simmental breed. The first group of cows - 16 heads, aged 5 years, weighing 550 ± 50 kg, afterwards had pathological parturitions, the second group of cows - 27 heads were the same age and had the same weight. Heifers were two years old, weighing about $400 \pm 27,5$ kg. Groups of heifers were formed in the same way: 1 group (5 heads) had further pathological parturition, 2 group (7 heads) - were physiologically calved.

2-4 days before the expected delivery, all animals were sampled from the tail vein and blood serum. Blood plasma (to study the content of micro- and macronutrients) was selected in a syringe with heparin as an anticoagulant ohm.

In the second stage of the research, the obtained data were analyzed and test was developed to predict pathological birth in cows and heifers.

According to the research, the content of zinc in the group, with observed pathological birth was at the level of $70,27 \pm 4,81 \mu\text{g} \%$, which is significantly lower than in the group of cows, that afterwards had a physiological course of parturition.

A similar trend was observed for us regarding iron content.

The enzymatic activity of the liver should also be taken into account. Thus, in the group with further pathological parturition, in the period of late dryness, the creatinine level was significantly increased – $125,81 \pm 5,06$ versus $109,62 \pm 3,21 \mu\text{mol/l}$ ($P < 0,01$), AST - $106,0 \pm 8,72$ U/l $77,67 \pm 7,48$ U/l ($P < 0,01$).

However, the ALT, on the contrary, was lower in the first group $16,81 \pm 1,42$ U/l than in the second group $20,86 \pm 1,39$ U/l ($P < 0,05$).

That is why the Deritis Index in the first group was by 1,8 times higher than in the second group.

Particular attention, in our opinion, deserves the indicators of calcium, phosphorus and their ratio

We have found that the calcium in the serum of animals in group 1 was by 1,38 times lower than in group 2, where the level of this mineral was within the physiological norm .

Regarding the level of phosphorus, we have not established significant differences in its concentration in the blood of both groups. However, their ratio was significantly different and amounted to $1,08 \pm 0,11$ in group 1, $1,37 \pm 0,07$ in group 2 ($P < 0,03$).

Also it should be marked the significant difference in lipoprotein levels in the serum of cows. Thus, in the 1st group this indicator was at the level of $1259,13 \pm 78,7$ mg%, in the 2nd group – $866,95 \pm 56,21$ mg% ($P < 0,001$).

Keywords: cow, pathological parturition, micro- and macroelements.

Взаимосвязь биохимических показателей крови коров и нетелей с патологией родов

А. Г. Середжимова

Сумской национальный аграрный университет, Сумы, Украина

Основным существенным фактором в получении достаточного количества жизнеспособных телят является профилактика патологии беременности и родов у коров.

Целью работы было связать отсутствие баланса микроэлементов и патологии второй и третьей стадии родов у коров. Разработать прогностические тесты для выявления патологии родов на основе взаимосвязи между микро- и микроэлементными дисбалансами и некоторыми биохимическими показателями крови коров.

На первом этапе исследований мы сформировали 2 группы коров и 2 группы телок. Все животные были симментальской породы. Первая группа коров (6 голов) в возрасте 5 лет, весом 550 ± 50 кг, впоследствии имела патологические роды, вторая группа коров (27 голов) была того же возраста и имела тот же вес. Телкам было два года, весом $400 \pm 27,5$ кг. Группы телок были сформированы таким же образом: 1 группа (5 голов) имела в дальнейшем патологические роды, 2 группа (7 голов) – отел протекал физиологически.

На втором этапе исследования полученные данные были проанализированы, и был разработан тест для прогнозирования патологических родов у коров и телок.

Согласно исследованию, содержание цинка в группе, где наблюдались патологические роды, находилось на уровне $70,27 \pm 4,81$ мкг%, что значительно ниже, чем в группе коров, которая впоследствии имела физиологическое течение родов.

Ферментативная активность печени также информативна. Так, в группе, где в последствии наблюдались патологические роды, в период позднего сухостоя уровень креатинина был значительно повышен - $125,81 \pm 5,06$ против $109,62 \pm 3,21$ мкмоль/л ($P < 0,01$), АСТ - $106,0 \pm 8,72$ Ед/л $77,67 \pm 7,48$ Ед/л ($P < 0,01$).

Именно поэтому индекс де Ритуса в первой группе был в 1,8 раза выше, чем во второй группе.

Мы обнаружили, что уровень кальция в сыворотке животных в группе 1 был в 1,38 раза ниже, чем в группе 2, где уровень этого минерала находился в пределах референтного уровня.

Что касается уровня фосфора, нами не установлено значительных различий в его концентрации в крови обеих групп. Однако их соотношение достоверно отличалось и составило $1,08 \pm 0,11$ в группе 1, $1,37 \pm 0,07$ в группе 2 ($P < 0,03$).

Также следует отметить значительную разницу в уровнях липопротеинов в сыворотке крови коров. Так, в 1-й группе этот показатель находился на уровне $1259,13 \pm 78,7$ мг%, во 2-й группе - $866,95 \pm 56,21$ мг% ($P 0,001$).

Ключевые слова: корова, патологические роды, микро- и макроэлементы.

Зв'язок вмісту біохімічних показників крові у корів та нетелей із патологією родів

А. Г. Середжимова

Сумський національний аграрний університет, Суми, Україна

У статті представлені дані досліджень з прогнозування розвитку патології родів у корів і нетелей. Проведено дослідження за вмістом окремих мікро-, макроелементів, ферментів печінки, показників білкового обміну з метою розробки тесту з прогнозування виникнення патології родів у корів і нетелей.

Ключові слова: корова, патологічні роди, мікро- та макроелементи

Вступ

Актуальність теми. Основним невід'ємним фактором отримання достатньої кількості життєздатного приплоду є профілактика патології вагітності та родів у корів. Як відомо, роди є складним фізіологічним процесом, при якому необхідна злагоджена діяльність практично всіх органів і систем організму. Це, в свою чергу, потребує позитивного енергетичного балансу та чіткої нейрон-гуморальної регуляції. Запорукою останньої є повноцінна годівля, що включає в себе оптимальне енергетичне, білкове, вітамінне та мінеральне забезпечення корів у сухостійний та післяродовий періоди (Vobe, Young, & Beitz, 2004).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Перебіг порушення обміну речовин у продуктивних тварин у більшості випадків прихований, без клінічних симптомів (субклінічна форма). Проте тривалі, хоча й незначні порушення обміну призводять до зниження відтворювальної здатності, зменшення продуктивності, погіршення якості продукції, спричиняють виникнення та розвиток інших захворювань, у тому числі й інфекційних (Kravtsiv, 2000).

На ґрунті нестачі макро- і мікроелементів досить поширеним захворюванням серед худоби є ензоотична остеодистрофія (ЕО) (Pu, Chen, & Xue, 2016; Zhou, Xue, & Yang, 2013). Ряд вчених (Berger, 1996; Khan, 2003; Goswami, Bhar, Jadhav, Joardar, & Ram, 2005) етіології виникненню ензоотичних хвороб тварин в західній біогеохімічній зоні надають ролі в цих процесах вмісту мінеральних речовин, зокрема мікроелементів в ґрунтах і кормах. Поряд з цим багато питань етіології, патогенезу, діагностики, профілактики і лікування ЕО худоби вимагають уточнення, доповнення і нових розробок (Alonso et al., 2004; Blanco-Penedo, Shore, Miranda, Benedito, & López-Alonso, 2009; Tame, 2012). На сьогодні ще недостатньо проводиться вивчення чинників етіології окремих ланок обміну речовин та процесів, які з'ясовують ключові механізми розвитку ЕО (López-Alonso, & Miranda, 2012).

Постанова проблеми у загальному вигляді. Недостатній мінеральний баланс організму має суттєвий вплив на роботу всіх систем і органів, зокрема і органів статевої системи корів. У господарствах, особливо із великою кількістю тварин, досить поширеним є патологія родів, зокрема другої та третьої

стадій. Це спричиняє значні економічні збитки, що складаються із недоотримання приплоду та збільшення періоду від отелення до осіменіння та запліднення.

Мета роботи. Встановити взаємозв'язки із недостатністю балансу мікроелементів та патологією другої та третьої стадії родів у корів. Розробити прогностичні тести виникнення патології родів на основі взаємозв'язків дисбалансу мікро- та макроелементів та деяких біохімічних показників крові корів.

Матеріал та методи досліджень

На першому етапі досліджень нами було сформовано 2 групи корів та 2 групи нетелей. Усі тварини були симентальської породи. Перша група корів у кількості 16 голів, віком 5 років, вагою 550 ± 50 кг, що у подальшому мали патологічні роди, друга група корів у кількості 27 голів були того ж віку та мали таку ж вагу. Нетелі були дворічного віку, вагою близько $400 \pm 27,5$ кг. Групи нетелей були сформовані аналогічно: 1 група (5 голів) мали в подальшому патологічні роди, 2 група (7 голів) – телились фізіологічно.

За 2-4 доби до передбачуваних родів в усіх тварин було відібрано кров із підхвостової вени та виготовлено сироватку (для визначення проби Вельтмана, загального білку, альбумінів, глобулінів, креатиніну, АСТ, АЛТ, Лузної фосфатази, глюкози, каротину, загальних ліпопротеїдів, вітамінів, А та Е) крові. Плазму крові (для дослідження вмісту мікро- та макроелементів) відбирали у шприці з гепарином, як антикоагулянт. Кров центрифугували ($3.000 \text{ об / хв} \times 15-30 \text{ хв}$) і відокремлену плазму зберігали при -20°C до аналізу. Мінерали плазми, включаючи Кальцій (Ca), Магній (Mg), Мідь (Cu), Цинк (Zn) та Залізо (Fe), Кобальт (Co), Марганець (Mn), неорганічний Фосфор (P), Калій (K), Натрій (Na) визначали за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра (Perkin Elmer Corp.) за методикою Akhtaretal та біохімічного аналізатора типу Humalyzer 2000 у сироватці крові визначали активність лузної фосфатази (ЛФ), вміст неорганічного Фосфору та загального Кальцію.

Статистичний аналіз. Дані піддавали статистичному аналізу за допомогою програмного забезпечення SPSS та розроблено односторонній

дисперсійний аналіз (ANOVA). Статистичну значимість між середніми значеннями перевіряли при рівні $p < 0,05$ (7,8).

На другому етапі досліджень проаналізовано отримані дані та розроблено тест для прогнозування патологічних родів у корів та нетелей.

Результати та їх обговорення

Результати отриманих нами даних вказують на певне їх прогностично-діагностичне значення щодо перебігу отелення та післятотельного періоду у корів.

Таблиця 1

Стан білкового обміну у корів дослідної та контрольної груп

Показник	1 група	2 група	P<
Загальний білок, г/л	$74,19 \pm 3,06$	$75,52 \pm 2,8$	0,76
Альбуміни, г/л	$31,13 \pm 1,22$	$33,19 \pm 1,16$	0,225
Глобуліни, г/л	$43,06 \pm 2,56$	$42,33 \pm 2,44$	0,84
Білковий коефіцієнт, од.	$0,76 \pm 0,05$	$0,85 \pm 0,06$	0,26

З даних таблиці видно, що рівень загального білку в двох групах достовірно не відрізнялися, проте, слід зауважити, що даний показник знаходиться на рівні нижньої межі референтних показників.

Також заслуговує на увагу те, що ми отримали дані, які вказують на підвищення білкового коефіцієнту. Це, на нашу думку, може бути спричинено знизженням кількості α - та γ -глобулінів, що може вказувати на функціональне порушення роботи печінки, спричинене токсикозом пізнього сухостійного періоду. Проте, існують дані авторів, що вказують на подібну зміну показників білкового обміну через згодовування кормів, що містять мікотоксини (Blanco-Penedo et al., 2010; López-Alonso, 2008).

Також слід взяти до уваги ферментативну активність печінки. Так, у групі, де в подальшому спостерігали патологічні роди у період пізнього сухостою достовірно був підвищений рівень креатиніну – $125,81 \pm 5,06$ проти $109,62 \pm 3,21$ мкмоль/л ($P < 0,01$), АСТ – $106,0 \pm 8,72$ Од/л проти $77,67 \pm 7,48$ Од/л ($P < 0,01$).

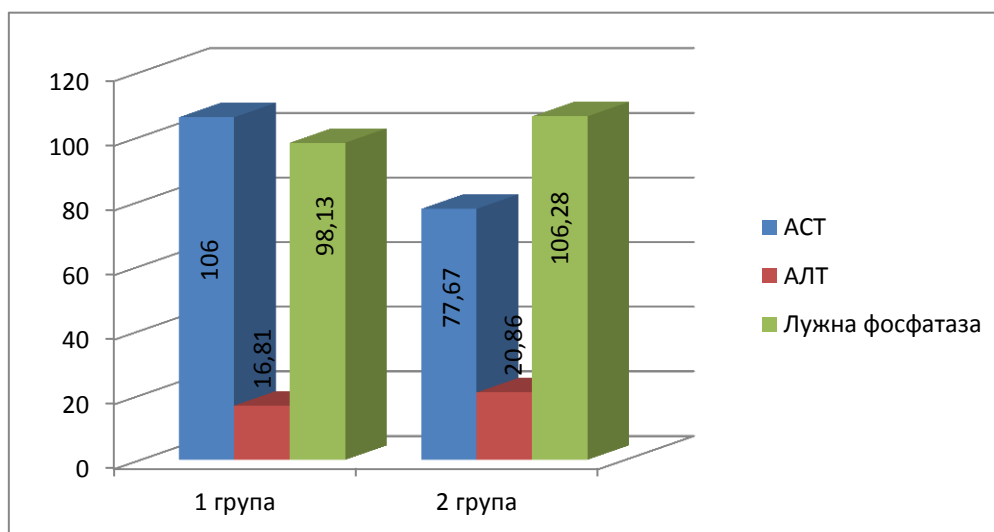


Рис 1. Ферментативна активність печінки

Проте, показник АЛТ навпаки був меншим у першій групі $16,81 \pm 1,42$ Од/л, ніж у другій групі $20,86 \pm 1,39$ Од/л ($P < 0,05$).

Саме тому Індекс де Рітца у першій групі був у 1,8 рази вищим, ніж у другій групі.

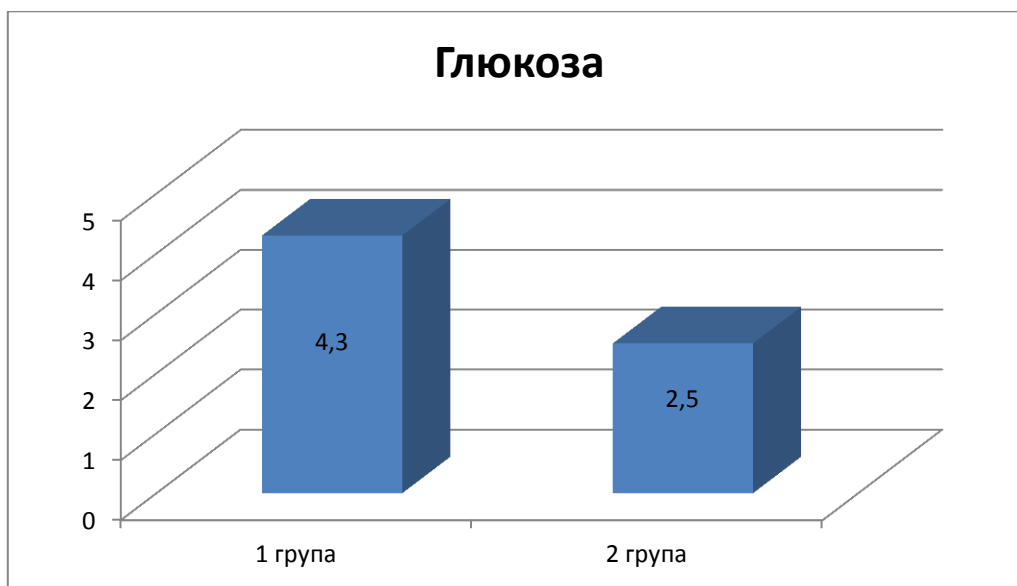


Рис. 2. Вміст глюкози

Також заслуговує уваги достовірна різниця рівня ліпопротеїдів у сироватці крові корів. Так у 1-й

групі цей показник був на рівні $1259,13 \pm 78,7$ мг% у 2-й групі - $866,95 \pm 56,21$ мг% ($P < 0,001$).

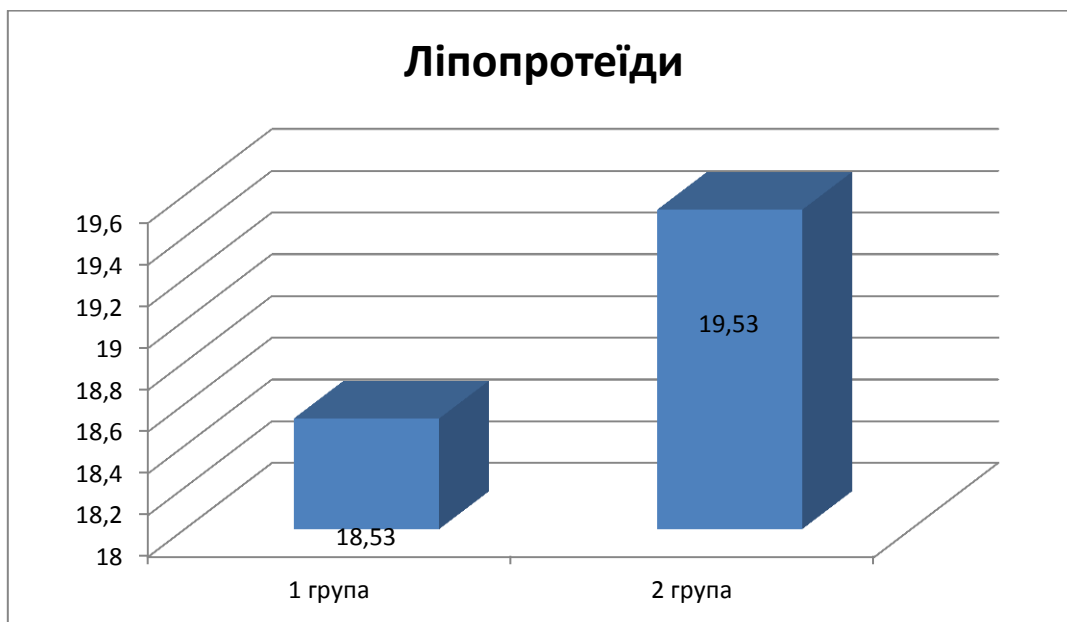


Рис. 3. Вміст ліпопротеїдів

Таблиця 2

Стан вітамінного обміну			
Показники	1 група	2 група	3 група
Каротин, мкг%	$263,25 \pm 10,11$	$297,67 \pm 10,76$	0,025
Вітамін А, мкг/100 мл	$18,53 \pm 1,8$	$19,53 \pm 0,83$	0,62
Вітамін Е, мкг/мл	$2,52 \pm 0,26$	$3,25 \pm 0,37$	0,12

Аналізуючи показники вмісту Міді у крові обох груп, слід вказати, що достовірно вищими були показники у групі, де спостерігали патологічні роди, що на нашу думку пов'язано із інтенсивним використанням Міді під час розвитку запальних процесів, оскільки на думку деяких авторів Мідь є антиоксидантом непрямої дії, впливає на обмін вуглеводів та мінеральних речовин. Мідь має виражені протизапальні властивості та бактеріостатичну дію, пом'якшує прояви аутоімунних захворювань. Дефіцит Міді негативно впливає на ліпідний склад плазми крові та призводить до розвитку гіперхолестеринемії та атеросклерозу (Sakuma et al., 1996; García-Vaquero, López-Alonso, Benedito, & Miranda, 2012; Bidewell et al., 2012).

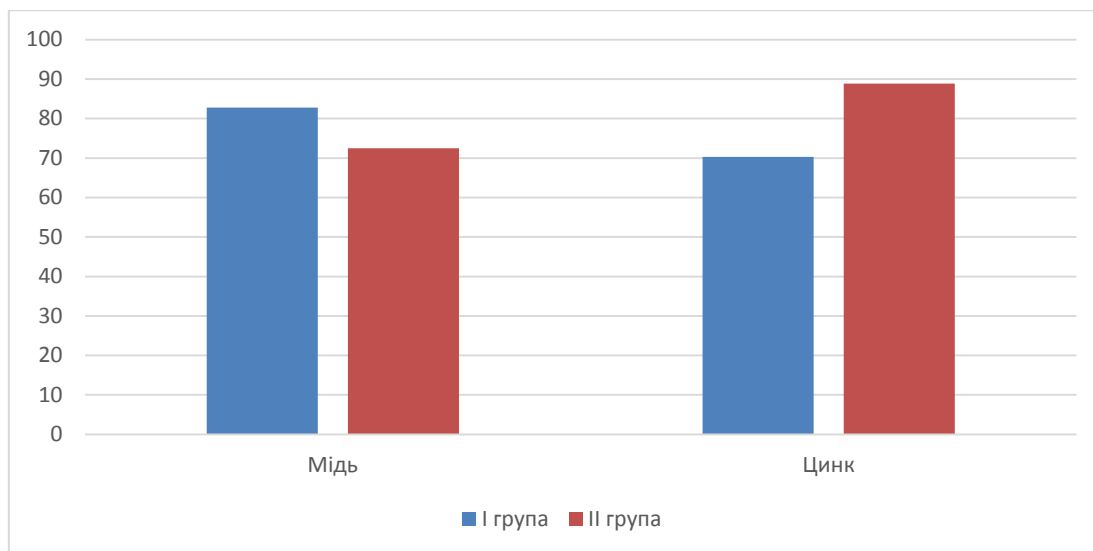


Рис. 4. Вміст міді та цинку

Інші автори вказують на те, що Мідь як складова церулоплазміну може опосередковано впливати на перебіг запальних реакцій (Spears, & Weiss, 2014).

За даними дослідженнями вміст Цинку у групі, де спостерігали патологічні роди був на рівні $70,27 \pm 4,81$ мкг%, що достовірно нижче, ніж у групі корів, які в подальшому мали фізіологічний перебіг родів. Відомо, що цинк через контроль каскаду перетворень арахідонової кислоти бере участь в утворенні простагландинів, зокрема $F2\alpha$, (St-Pierre, & Weiss 2015, Lund, & Algers, 2003), що безпосередньо впливає на перебіг родового процесу.

Аналогічна тенденція була нами отримана щодо вмісту заліза. Так за ускладненого перебігу

отелення його вміст становив $20,32 \pm 1,89$ мкмоль/л, що у 1,36 рази менше, ніж у корів без патології. Деякі автори вказують на знижений рівень вмісту заліза в крові наприкінці вагітності, пояснюючи це депонуванням його в організмі плоду (Sakuma et al., 1996). Проте, інші автори вказують на компенсоване зниження заліза у крові, що не виходить на нижню межу референтних показників. І зазначають, що знижений вміст заліза може розвиватися через втрату його здатності накопичуватися у м'язовій тканині в складі міоглобіну (Blanco-Penedo, 2010). Що на нашу думку може слугувати сприятливим фактором прояву патологій родів, особливо 2-ї їх стадії.

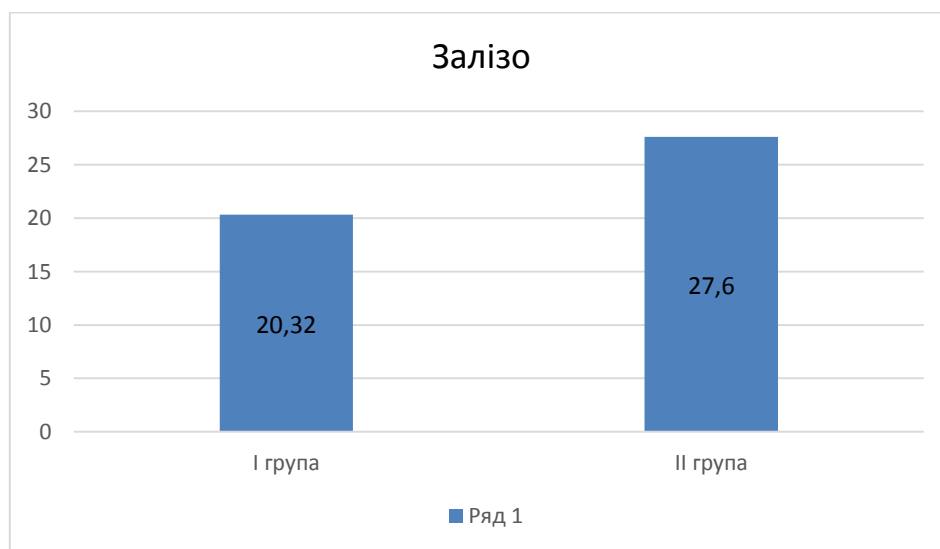


Рис. 5. Вміст Заліза у дослідних групах корів

Особливу увагу, на нашу думку, заслуговує показники рівня Кальцію, Фосфору та їх співвідношення. Існує величезна кількість публікацій, в яких повідомляється, що рівень Кальцію та Фосфору є надзвичайно важливими.

Ряд авторів зазначають, що недостатня кількість Кальцію, Фосфору та їх співвідношення негативно впливає на відтворну функцію загалом (Hoffman, Moore, Vanegas, & Wenz, 2014) та на перебіг родів, зокрема, що пояснюють активною участю

Кальцію у статичному скороченні м'язів (Pu, Chen, & Xue, 2016).

Нами було встановлено, що рівень Кальцію у сироватці крові тварин 1-ї групи був у 1,38 рази нижчим, ніж у 2 групі, де рівень даного мінералу був у межах референтних значень.

Щодо рівня Фосфору нами не було встановлено достовірних відмінностей його концентрації в крові обох груп. Проте, їх співвідношення

достовірно відрізнялося і склало в 1 групі $1,08 \pm 0,11$, у 2-й - $1,37 \pm 0,07$ ($P < 0,03$).

Уміст інших мікроелементів таких як Кобальт ($4,54 \pm 0,41$ – $4,61 \pm 0,51$ мкг%) і Марганець ($1,79 \pm 0,21$ –

$1,80 \pm 0,39$ мкг%) коливався у межах референтних показників.

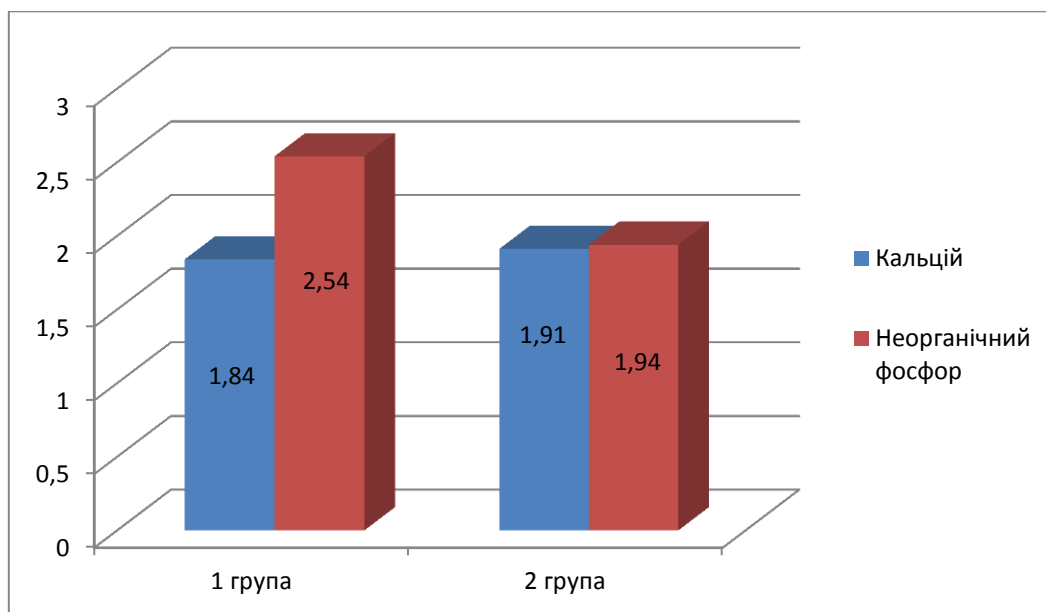


Рис. 6. Порівняння вмісту Кальцію та Фосфору в сироватці крові у дослідних групах корів.

Також слід зауважити, що нами не було встановлено суттєвих відмінностей у концентраціях таких речовин як Магній, Калій, Натрій, вітамін А, вітамін Е.

Досліджуючи аналогічні показники у крові нетелей безпосередньо перед родами нами були отримані подібні результати (рисунки 7-12).

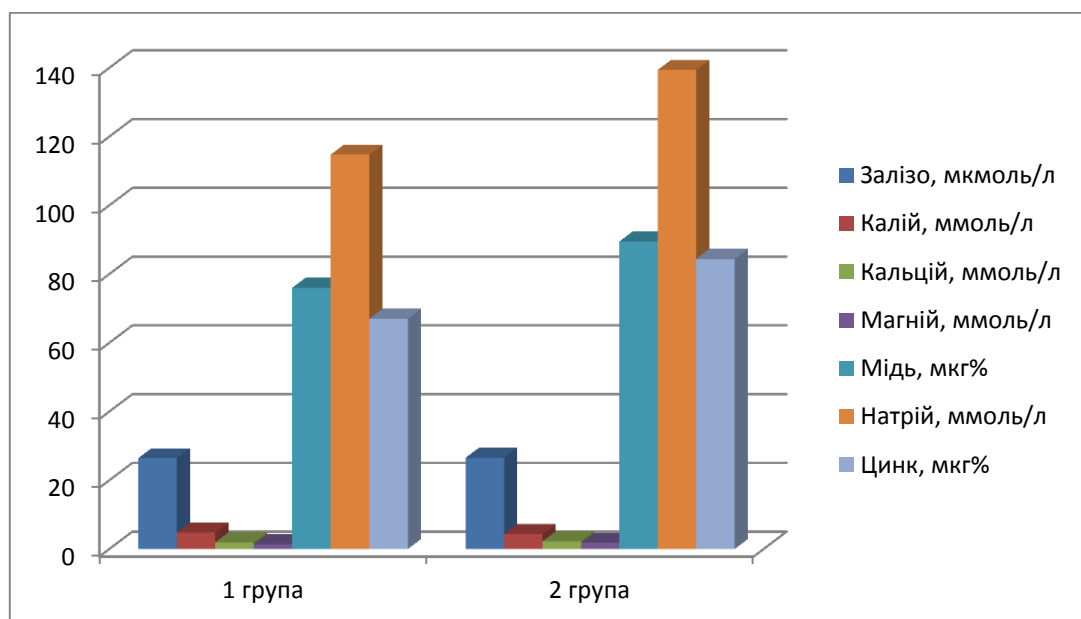


Рис. 7. Вміст мікроелементів у крові нетелей

На рисунку 7 показано динаміку мікроелементів у групах нетелей, що в подальшому мали патологію родів (перша група) та ті, в яких перебіг

отелення був без ускладнень. Так у першій групі можна бачити достовірно нижчі показники практично всіх мікро- та макроелементів.

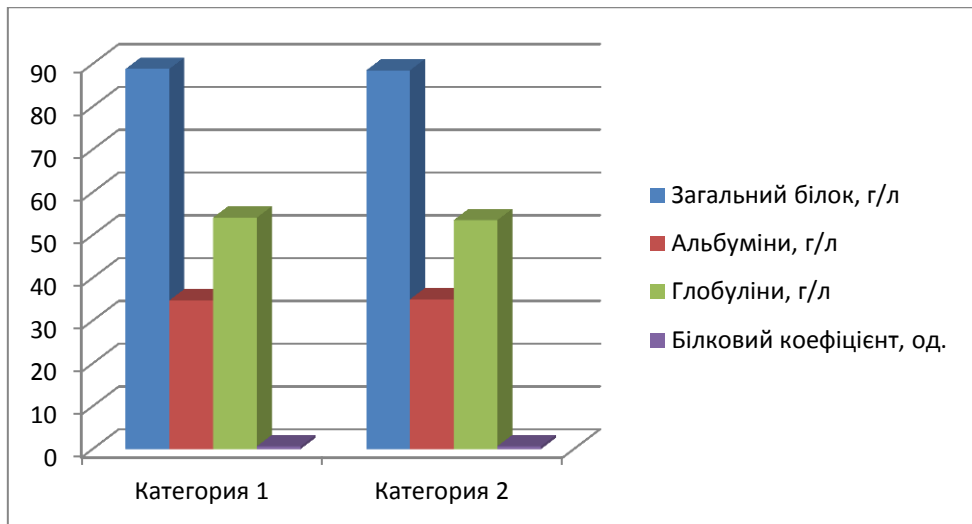


Рис. 8 Показники білкового обміну у нетелей

З рисунку 8 видно, що показники білкового обміну у нетелей обох груп достовірно не відрізнялися.

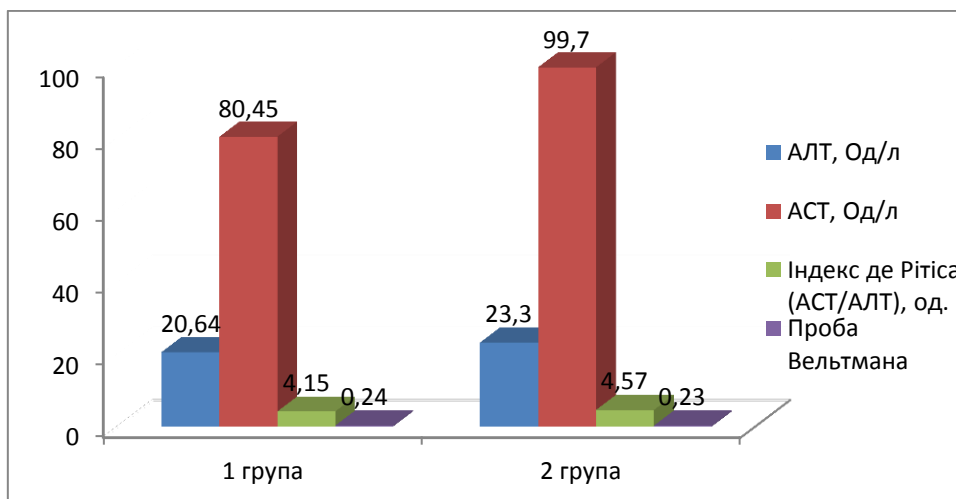


Рис. 9 Динаміка печінкових проб

З рисунку 9 видно, що показники печінкових проб у нетелів 1 групи були нижчими, ніж у тварин, в яких перебіг отелу був фізіологічним.

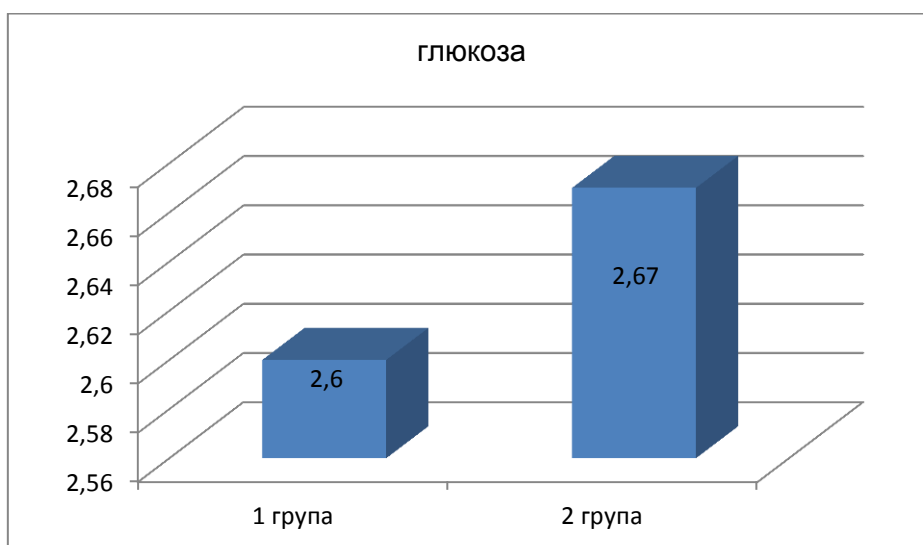


Рис. 10. Динаміка глюкози у нетелей

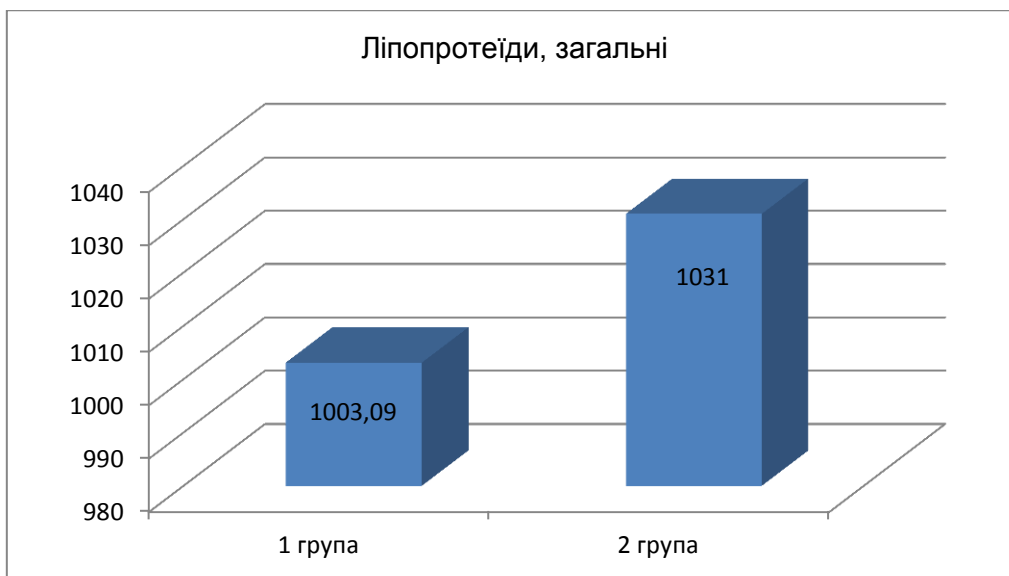


Рис. 11. Динаміка глюкози у нетелей

Виходячи із вище викладеного нами було розроблено прогностичний тест, що заснований на рівні біохімічних показників перед родами (за 2-4 доби) у корів та нетелей. Ці дані представлено у таблиці 3.

Таблиця 3.

Рівень показників, що вказують на можливість розвитку патології родів

Показник	Корови	Нетелі	Різниця $\leq \geq$
Кальцій, ммоль/л	1,84±0,05	1,92±0,04	≤
Залізо, мкмоль/л	20,32±1,89	26,42±1,11	≤
Глюкоза, ммоль/л	2,21±0,05	2,60±0,13	≤
Цинк, мкг%	70,27±4,81	67,02±6,06	≤
Креатинін, мкмоль/л	125,81±5,06	108,82±8,16	≤
Ca/P, од	1,08±0,11	0,98±0,06	≤
Ліпопротеїдизаг., мг%	1259,13±78,7	1003,09±86,32	≥
Індекс де Рітиса (АСТ/АЛТ), од.	7,02±0,87	4,15±0,40	≥
АСТ, Од/л	106,00±8,72	80,45±3,42	≥
АЛТ, Од/л	16,81±1,42	20,64±1,53	≥
Мідь, мкг%	82,08±4,01	76,03±4,81	≥

Так, якщо у сироватці крові рівень Кальцію, Заліза, Глюкози, Цинку, Креатиніну та відношення Кальцію до Фосфору нижчі або дорівнюють зазначеним у таблиці показникам разом із підвищеними показниками ліпопротеїдів, Індексу де Рітиса, (АСТ/АЛТ), АСТ, АЛТ, Міді, то це вказує на високу ймовірність патологічного перебігу отелення.

Висновки

1. Розроблено прогностичний тест на основі біохімічних показників сироватки та плазми крові щодо ймовірності виникнення патології родів.
2. При рівні Кальцію, Заліза, Глюкози, Цинку, Креатиніну та відношення Кальцію до Фосфору нижчі або дорівнюють зазначеним у таблиці показникам разом із підвищеними показниками ліпопротеїдів, Індексу де Рітиса, (АСТ/АЛТ), АСТ, АЛТ, Міді, то це вказує на високу ймовірність патологічного перебігу отелення.

Перспективи подальших досліджень.

Планується в подальшому розробити прогностичні тести виникнення післяродової і гінекологічної патології та методи їх профілактики.

References

Alonso, M. L., Montaña, F. P., Miranda, M., Castillo, C., Hernández, J., & Benedito, J. L. (2004). Interactions between toxic (As, Cd, Hg and Pb) and nutritional

essential (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Zn) elements in the tissues of cattle from NW Spain. *BioMetals*, 17(4), 389–397. doi:10.1023/b:biom.0000029434.89679.a2.

Berger, L. L. (1996). Variation in the Trace Mineral Content of Feedstuffs. *The Professional Animal Scientist*, 12(1), 1-5. doi: 10.15232/s1080-7446(15)32473-6.

Bidewell, C. A., Drew, J. R., Payne, J. H., Sayers, A. R., Higgins, R. J., & Livesey, C.T. (2012). Case study of copper poisoning in a British dairy herd. *Vet Rec.*, 5, 170(18), 464. doi: 10.1136/vr.100267.

Blanco-Penedo, I., López-Alonso, M., Miranda, M., Hernández, J., Prieto, F., & Shore, R. F. (2010). Non-essential and essential trace element concentrations in meat from cattle reared under organic, intensive or conventional production systems. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 27(1), 36–42. doi: 10.1080/02652030903161598.

Blanco-Penedo, I., Shore, R. F., Miranda, M., Benedito, J. L., & López-Alonso, M. (2009). Factors affecting trace element status in calves in NW Spain. *Livestock Science*, 123(2-3), 198–208. doi: 10.1016/j.livsci.2008.11.011.

Bobe, G., Young, J. W., & Beitz, D. C. (2004). Invited Review: Pathology, Etiology, Prevention, and Treatment of Fatty Liver in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, 87, 3105–3124. Retrieved from <https://pdfs.semanticscholar.org/28ce/536995f08f8db4147669700e689b6e251d2d.pdf>

- García-Vaquero, M., López-Alonso, M., Benedito, J. L., & Miranda, M. (2012). Histochemistry evaluation of the oxidative stress and the antioxidant status in Cu supplemented cattle. *Animal*, 6(9), 1435–1443. doi: [10.1017/S1751731112000535](https://doi.org/10.1017/S1751731112000535).
- Goswami, T. K., Bhar, R., Jadhav, S. E., Joardar, S. N., & Ram, G. C. (2005). Role of dietary zinc as a nutritional immunomodulator. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 18, 439-452. doi: [10.5713/ajas.2005.439](https://doi.org/10.5713/ajas.2005.439).
- Hoffman, A. C., Moore, D. A., Vanegas, J., & Wenz, J. R. (2014). Association of abnormal hind-limb postures and back arch with gait abnormality in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97(4), 2178–2185. doi: [10.3168/jds.2013-7528](https://doi.org/10.3168/jds.2013-7528).
- Khan, Z. I. (2003). Effect of seasonal variation on the availability of macro-and micro, nutrients to animals (sheep and goats) through forage from soil. *Ph.D Thesis Uni. Agric. Faisalabad, Pakistan*.
- Kravtsiv, R. I. (2000). Problemy mikroelementnoho zhyvlennia tvaryn i ptytsi, yakosti vyroblenoi produktsii, profilaktyky mikroelementoziv ta shliakhy yikh vyrishennia. *Naukovyi visnyk LDAVM*, 2(2), 4, 86-91. (in Ukraine)
- López-Alonso, M. (2008). Evaluation of chronic hepatic copper accumulation in cattle. *Micronutrients and Health Research. Nova Science*. 207–226.
- López-Alonso, M., & Miranda, M. (2012). Implications of excessive livestock mineral supplementation on environmental pollution and human health. *Trace Elements: Environmental Sources, Geochemistry and Human Health. Nova Science*, 40–53.
- Lund, V., & Algers, B. (2003). Research on animal health and welfare in organic farming—a literature review. *Livestock Production Science*, 80(1-2), 55–68. doi: [10.1016/S0301-6226\(02\)00321-4](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00321-4).
- Pu, F, Chen, N, & Xue, S. (2016). Calcium intake, calcium homeostasis and health. *Food Science and Human Wellness*, 5(1), 8-16. doi: [10.1016/j.fshw.2016.01.001](https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.01.001).
- Sakuma, S., Fujimoto, Y., Miyata, Y., Ohno, M., Nishida, H., & Fujita, T. (1996). Effects of Fe²⁺; Zn²⁺; Cu²⁺ and Se⁴⁺ on the synthesis and catabolism of prostaglandins in rabbit gastric antral mucosa. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 54, 193–197. doi: [10.1016/S0952-3278\(96\)90016-2](https://doi.org/10.1016/S0952-3278(96)90016-2).
- Spears, J., & Weiss, W. (2014). INVITED REVIEW: Mineral and vitamin nutrition in ruminants 1. *The Professional Animal Scientist*, 30, 180-191. doi: [10.15232/S1080-7446\(15\)30103-0](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30103-0).
- St-Pierre, N. R., & Weiss, W. P. (2015). Partitioning variation in nutrient composition data of common feeds and mixed diets on commercial dairy farms. *J. Dairy Sci.*, 98, 5004–5015. doi: [10.3168/jds.2015-9431](https://doi.org/10.3168/jds.2015-9431).
- Tame, M. J. (2012). Management of trace elements and vitamins in organic ruminant livestock nutrition in the context of the whole farm system. Retrieved from <https://core.ac.uk/download/pdf/10927146.pdf>.
- Zhou, Y., Xue, S., & Yang, J. J. (2013). Calciomics: integrative studies of Ca²⁺-binding proteins and their interactomes in biological systems. *Metallomics*, 5(1), 29-42. doi: [10.1039/c2mt20009k](https://doi.org/10.1039/c2mt20009k).