



## "مقاله پژوهشی"

# پاسخ رشد و بررسی ایمنی هومورال در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با اسیدهای آلی و زئولیت پوشش داده شده با نانوذرات نقره در شرایط تنش گرمایی

اعظم عباسی<sup>۱</sup>، سیدرضا هاشمی<sup>۲</sup>، سعید حسنی<sup>۳</sup> و مریم ابراهیمی<sup>۴</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران  
۲- استادیار دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران (نویسنده مسؤول: hashemi711@yahoo.co.uk)  
۳- استاد دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران  
۴- مرکز تحقیقات سلامت فرآورده‌های غذایی، دارویی و طبیعی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران  
تاریخ دریافت: ۹۹/۱۲/۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۲۲  
صفحه: ۱۱۳ تا ۱۲۳

## چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثر اسید آلی (بایوترونیک) و زئولیت پوشش داده شده با نانوذرات نقره بر عملکرد و پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی با استفاده از تعداد ۳۷۵ قطعه جوجه گوشتی یک روزه‌ی سویه کاب ۵۰۰ در ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار و با استفاده از طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) جیره شاهد، ۲) جیره ۱ درصد زئولیت بدون پوشش، ۳) جیره ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانو نقره، ۴) جیره یک گرم بر کیلوگرم اسیدهای آلی ۵) جیره ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با نانونقره و یک گرم بر کیلوگرم اسید آلی بود. تنش گرمایی در هفته ششم در دامی ۳۴ درجه سانتی‌گراد اعمال شد. شاخص‌های عملکردی جوجه‌ها به صورت دوره‌ای اندازه‌گیری شدند. به منظور ارزیابی تیترا آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی و تعداد و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در پایان هفته‌های سوم، چهارم، پنجم و ششم دوره پرورش از جوجه‌ها خون‌گیری شد. نتایج نشان داد تغذیه‌ی جیره غذایی حاوی نانونقره به همراه اسید آلی در مقایسه با جیره‌ی حاوی اسیدهای آلی و جیره‌ی شاهد، سبب کاهش وزن جوجه‌های گوشتی در دوره رشد (روزهای ۴۲-۲۱ پرورش) شد ( $p < 0/05$ ). همچنین در کل دوره پرورشی (۴۲-۱ روزگی)، ضریب تبدیل خوراک در جیره غذایی حاوی زئولیت پوشش داده شده با نانوذرات نقره نسبت به شاهد، جیره حاوی زئولیت بدون پوشش و جیره حاوی اسیدهای آلی به طور معنی‌داری بالاتر بود ( $p < 0/05$ ). با این حال نتایج حاصل از آزمایش هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری را بین تمام تیمارهای آزمایشی روی سیستم ایمنی نشان نداد ( $p > 0/05$ ). با توجه به نتایج آزمایش سطوح استفاده شده نانوذرات نقره و اسید آلی تأثیر سویی بر سیستم ایمنی جوجه‌ها نداشته است اما جیره نانوذرات نقره منجر به افزایش ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌ها گردید.

واژه‌های کلیدی: اسید آلی، تنش گرمایی، جوجه گوشتی، سیستم ایمنی، نانونقره

## مقدمه

نقره در خوراک باعث بهبود وزن‌گیری، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک می‌شود (۱۱). مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهند که نانوذرات نقره دارای اثرات سایتوتوکسیک و ایمونوتوکسیک بوده (۵۵) و در درمان برخی از بیماری‌های ویروسی مانند نیوکاسل و آنفلوآنزا نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳). همچنین اسیدهای آلی افزودنی‌های دیگری هستند که از طریق کاهش رشد قارچ‌ها و جلوگیری از تولید میکوتوکسین‌ها و اثر بر جمعیت باکتریایی، می‌توانند از طریق حذف باکتری‌های بیماری‌زای حساس به اسید آلی و در نتیجه غالب شدن لاکتوباسیل‌ها در روده بر روی سیستم ایمنی اثرگذار باشند و در نتیجه سبب ایجاد ایمنی مؤثر و مطلوب گردند (۲۰). همچنین بیان شده است که استفاده از مکمل اسیدهای آلی در جیره طیور سبب افزایش عملکرد می‌گردد (۵۱). از طرف دیگر، زئولیت زیست ماده‌ای فعال با تخلخل بالایی است که در چند سال اخیر پژوهش‌های بسیاری بر روی کاربردهای متنوع آن در علوم مختلف انجام شده است. زئولیت‌ها مواد خوراکی، زیست سازگار و غیرسمی هستند که دارای ویژگی‌های منحصر به فردی همچون داشتن ساختار شبیه غربال مولکول (Molecular sieving)، جذب آب و یا قابلیت تبادل یونی هستند که این خواص دلیلی برای

امروزه استفاده از افزودنی‌های خوراکی در تغذیه طیور امری متداول بوده و نتیجه آن بهبود عملکرد و سلامتی طیور می‌باشد. با وجود مصرف نسبتاً گسترده و جهانی آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در صنعت دامپروری، نگرانی‌های ناشی از وجود بقایای این مواد در فرآورده‌های دامی و تهدید سلامت مصرف کنندگان، باعث محدودیت و متعاقباً ممنوعیت استفاده از این مواد در صنعت دام و طیور گردید (۲۸). از این‌رو جامعه‌ی جهانی جهت دستیابی به عملکرد مطلوب و حفظ سلامتی و بهداشت طیور همواره به دنبال یافتن جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد است. یکی از جایگزین‌های نوین، نانو ذرات نقره است. نانونقره از طریق کنترل عوامل بیماری‌زا در عرصه‌های گوناگون پزشکی، دامپزشکی، کشاورزی و دامپروری کاربرد دارد (۱۰). با کاهش اندازه‌ی ذرات نقره، سطح تماس آن افزایش می‌یابد. افزایش نسبت سطح به حجم، واکنش‌پذیری نانوذرات را به شدت افزایش می‌دهد و به نوبه خود سبب اثرگذاری بهتر می‌شود (۴۴). تأثیر مثبت نانوذرات نقره به عنوان افزودنی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی گزارش شده است (۷). همچنین گزارش شده است که وجود نانوذرات

گوشتی تغذیه شده با اسیدهای آلی و زئولیت پوشش داده شده با نانو نقره در شرایط تنش گرمایی بود.

### مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۳۷۵ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه کاب ۵۰۰ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۵ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) جیره پایه، (۲) جیره پایه حاوی ۱ درصد زئولیت، (۳) جیره پایه حاوی ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانو نقره، (۴) جیره پایه حاوی یک گرم بر کیلوگرم اسید آلی (۵) جیره پایه حاوی ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانونقره و یک گرم بر کیلوگرم اسید آلی بود. اسید آلی مورد استفاده در این پژوهش محصولی از شرکت بایومین های ایتوک فردا<sup>۲</sup> (Biotronic® SE Forte) از کشور اتریش بوده و ترکیبات آن شامل اسید فرمیک و اسید پروپیونیک می‌باشد. جهت تهیه نانوذرات نقره پوشش داده شده بر زئولیت با درصد مورد نیاز ابتدا هر کیلو زئولیت در آب مقطر توسط دستگاه همزن به مدت یک ساعت هم زده شد و pH آن در محدوده ۵-۷ ثابت نگه داشته شد و سپس نانو نقره آماده با درصد مورد نظر پس از تنظیم pH (۶/۸-۶/۶) به زئولیت اضافه شد و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و فشار دو اتمسفر مخلوط کردن آن‌ها ادامه یافت و تثبیت کننده‌های مورد نظر تا تغییر رنگ به قهوه‌ای اضافه گردید پس از ته‌نشین شدن، ماده‌ی ته‌نشین شده در دمای محیط و به دور از نور خورشید خشک گردید (۴۹). ترکیب جیره آزمایش مطابق با راهنمای سویه کاب تهیه شد (جدول ۱). آب و خوراک به صورت آزاد در اختیار پرندوها قرار گرفت. به منظور اعمال تنش گرمایی از روز ۳۵ تا ۴۲ دوره پرورش دمای سالن روزانه ۴ ساعت از ساعت ۱۲ الی ۱۶ در دمای ۳۴ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. برنامه بهداشتی و واکسیناسیون جوجه‌ها مطابق توصیه‌های اداره دامپزشکی منطقه انجام شد (جدول ۲). در پایان هر هفته، مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک محاسبه گردید. برای ارزیابی پاسخ ایمنی جوجه‌ها، گلبول قرمز گوسفندی (Sheep Red Blood Cell) به جوجه‌های مورد نظر تزریق شد بدین منظور برای تهیه سوسپانسیون، خون‌گیری از سیاهرگ وداج گوسفند در لوله آغشته به EDTA (Ethylene diamine tetra acetic acid) انجام شد. سپس خون جمع آوری شده سه مرتبه با سرعت ۲۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار مدل (Germany, HERMLE, Z 323) سانتریفیوژ شد و پلت تحتانی با محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد شستشو داده شد تا نهایتاً سوسپانسیون ۵ درصد SRBC تهیه شد. در روزهای ۲۸ و ۳۵ دوره آزمایشی از هر تکرار دو پرند انتخاب و به میزان ۰/۲ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد SRBC به عضله سینه جوجه‌ها تزریق گردید و سپس برای تعیین تیترا آنتی‌بادی علیه SRBC در ۳۵ و ۴۲ روزگی (۷ روز پس از تزریق) خون‌گیری از سیاهرگ زیر بال همان پرندگان انجام گردید. برای جدا کردن سرم، نمونه‌های خون در سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ rpm به

کابردهای متنوع‌شان در حوزه‌های مختلف پزشکی است (۳۸). یکی از مهم‌ترین خواص زئولیت تبادل یونی هوشمندانه آن است، به طوری که عناصر جدول مندلیف را می‌توان به آن متصل و آن‌ها را وارد بدن کرد. به عبارت دیگر از زئولیت می‌توان به عنوان حامل عناصر ضروری و رفع مشکل کمبودها استفاده کرد. از سوی دیگر ساختمان کریستالی زئولیت به گونه‌ای است که در صورت ترکیب یا تثبیت با ماده‌ای دیگر، مواد شیمیایی اولیه خودش تجزیه نمی‌شود و به این دلیل زئولیت را "ترکیب دائمی" می‌نامند (۱۴). دانشمندان و محققین بسیاری از خاصیت عدم تغییر پذیری شیمیایی ساختار زئولیت بهره برده و از زئولیت به عنوان حامل دارورسانی هدفمند در علوم پزشکی و داروسازی استفاده می‌کنند. ظرفیت انتخاب‌پذیری، جذب و رهایش کنترل شده متعاقب یون‌ها توسط زئولیت موجب شده است که در علم پزشکی از زئولیت‌ها به عنوان حامل معدنی داروها استفاده گردد که از خاصیت رهایش یا ترکیب شدن فعال و با سرعت کنترل شده با داروها برخوردار می‌باشند (۳۲). در پژوهش انجام شده استفاده از زئولیت به عنوان ماده حامل جهت نانو نقره مورد تایید قرار گرفته است و اثرات مفید آن در پژوهش‌های طیور تایید شده است (۵۰، ۱۵). تنش حرارتی به دلیل اثرات منفی که منجر به ضررهای اقتصادی می‌شود یکی از نگرانی‌های عمده در صنعت پرورش طیور به شمار می‌آید. پرندگان در ناحیه‌ای از درجه حرارت محیط به نام ناحیه آسایش حرارتی (۲۳-۲۱°C) با صرف کمترین مقدار انرژی، درجه حرارت بدن خود را ثابت نگه می‌دارند در درجه حرارت بالاتر از این ناحیه حرارتی پرندگان دچار تنش گرمایی و به تبع آن دچار افزایش دمای بدن می‌شوند (۲۷). تنش گرمایی از عوامل کاهنده راندمان تولید در طیور و به ویژه در جوجه‌های گوشتی محسوب شده و دارای اثر منفی بر مصرف خوراک، افزایش وزن بدن، تعداد لنفوسیت‌های خون و میزان ترشح پادتن در جوجه‌ها می‌باشد (۳۶). همچنین تنش گرمایی سبب کاهش فعالیت ماکروفاژها و کاهش ترشح پادتن بر ضد گلبول قرمز گوسفندی (Sheep Red Blood Cell) و تضعیف سیستم ایمنی می‌گردد (۱۳). علاوه بر این تنش حرارتی به دلیل تضعیف سیستم ایمنی باعث کاهش پاسخ‌های ایمنی در جوجه‌ها در مواجهه با برخی از عوامل تنش‌زا و بیماری‌زا و در نهایت موجب کاهش عملکرد و افزایش در تلفات آن‌ها خواهد شد. گزارش شده است درجه حرارت بالای محیط تولید رادیکال‌های آزاد را در سیستم فیزیولوژی پرند پرده افزایش می‌دهد و باعث بروز تنش اکسایشی<sup>۱</sup> در پرند می‌شود (۳۳). تنش گرمایی با تأثیر بر سیستم اعصاب سمپاتیک موجب آزداسازی کاتکول‌آمین‌ها شده و به دنبال آن منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و آغاز تنش اکسایشی در سلول‌ها می‌شود (۳۱). اگرچه تحقیقاتی در مورد اثر نانوذرات نقره بر عملکرد و سایر صفات طیور انجام شده است ولی با توجه به تحقیقات اندک در رابطه با اثر نانوذرات نقره بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی، هدف از این آزمایش بررسی پاسخ رشد و ایمنی هومورال جوجه‌های

مدت ۷ دقیقه قرار داده شد و سپس سرم جدا شده در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  تا مراحل بعدی آزمایش نگهداری شد (۲۵). اندازه‌گیری تیتراژ آنتی SRBC تام و آنتی بادی مقاوم به ۲-مرکاپتو اتانول (IgY) از طریق آزمایش هم‌گلوتیناسیون و به روش چپما و همکاران (۱۸) انجام گردید در این روش میزان IgM از تفاضل بین تیتراژ آنتی بادی کل (تیتراژ SRBC) و تیتراژ مقاوم به ۲-مرکاپتو اتانول IgY محاسبه شد (۱۸). برای اندازه‌گیری تیتراژ آنتی بادی علیه نیوکاسل در روزهای ۲۸، ۳۵ (۷ و ۱۴ روز پس از مصرف واکسن نیوکاسل سویه B1 به روش قطره چشمی) و ۴۲ و تیتراژ آنتی بادی علیه گامبورو در روزهای ۲۸، ۳۵ (۷ و ۱۴ روز پس از مصرف واکسن گامبورو سویه IBD071IR به روش قطره چشمی) و ۴۲ دوره پرورش از هر تکرار دو پرندۀ انتخاب و خون‌گیری از سیه‌هرگ زیر بال جوجه‌ها صورت گرفت. برای جدا کردن سرم، نمونه‌های خون در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ rpm به مدت ۷ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس نمونه‌های سرم جدا شده به سرعت برای انجام مراحل بعدی آزمایش به آزمایشگاه اداره دامپزشکی استان گلستان، منتقل شدند. میزان تیتراژ آنتی بادی علیه نیوکاسل به روش ممانعت از هم‌گلوتیناسیون (Hemagglutination inhibition) HI و گامبورو به روش الایزا (ELISA) با استفاده از IDEX-IBD-ELISA Kit

بررسی نسبت هتروفیل به لنفوسیت در روزهای ۲۸، ۳۵ و ۴۲ دوره پرورش، دو پرندۀ از هر تکرار انتخاب و خون‌گیری شد و سپس نمونه مورد نظر برای تهیه گسترش خونی و اندازه‌گیری نسبت هتروفیل به لنفوسیت به لوله آغشته به EDTA منتقل گردید. برای شمارش و تعیین نسبت هتروفیل به لنفوسیت به عنوان شاخص تنش از روش رنگ‌آمیزی گیمسای استفاده شد و برای به دست آوردن نسبت هتروفیل به لنفوسیت از هر لام ۱۰۰ گلبول سفید (هتروفیل و لنفوسیت) شمارش گردید و سپس نسبت هتروفیل به لنفوسیت محاسبه شد (۱۷). در پایان دوره پرورش، از هر واحد آزمایشی دو قطعه جوجه که از نظر وزنی به میانگین وزن آن واحد آزمایشی نزدیک بودند، انتخاب و وزن کشی شدند و پس از کشتار وزن اندام‌های لنفی (بوس فابریسیوس و طحال) با ترازوی دیجیتالی (Germany, gf600) با دقت یک هزارم گرم اندازه‌گیری شدند. داده‌های مربوط به صفات عملکردی و سیستم ایمنی در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM توسط نرم افزار SAS (Statistical Analysis System) (۴۶)، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید.

جدول ۱- ترکیب و آنالیز جیره‌های آزمایشی (بر حسب درصد ماده خشک)<sup>۱</sup>

اجزای جیره غذایی	جیره آغازین (۱-۲۱)	جیره رشد (۲۲-۴۲)	جیره آغازین (۱-۲۱)	جیره رشد (۲۲-۴۲)
ذرت	۵۳/۷	۵۷/۵۵	۵۸/۵۸	۵۸/۵۸
کنجاله سویا	۳۹/۵۳	۳۴/۳۹	۳۸/۸۷	۳۸/۸۷
اسید آلی	۰	۰	۱	۱
نانو نقره پوشش داده شده بر زئولیت	۰	۰	۰/۵	۰/۵
روغن سویا	۳	۴/۱۱	۳/۴۱	۳/۴۱
دی کلسیم فسفات	۱/۴۷	۱/۹	۱/۹	۱/۹
سنگ آهک	۱/۱۹	۱/۲۸	۱/۲۹	۱/۲۹
نمک	۰/۴۳	۰/۳۳	۰/۳۲	۰/۳۲
مکمل ویتامینی ۲	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی ۲	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
DL متیونین	۰/۱۳	۰/۵	۰/۵	۰/۵
L لیزین	۰/۶	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۱۳
آنالیز مواد مغذی				
انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری بر کیلوگرم)	۳۹۵۰	۳۰۵۰	۳۹۵۰	۳۰۵۰
پروتئین خام (درصد)	۲۱/۲	۱۹/۶	۱۹/۶	۱۹/۶
کلسیم (درصد)	۰/۹۲	۰/۸۶	۰/۸۶	۰/۸۶
فسفر (درصد)	۰/۴۱	۰/۳۳	۰/۳۳	۰/۳۳
سدیم (درصد)	۰/۱۸	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴
لیزین (درصد)	۱/۱	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۵
متیونین (درصد)	۰/۴۷	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶
سیستئین (درصد)	۰/۳۶	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۳۷
آرژنین (درصد)	۳۹۵۰	۳۰۵۰	۳۹۵۰	۳۰۵۰
ترئونین (درصد)	۲۱/۲	۱۹/۶	۱۹/۶	۱۹/۶

جیره پایه بر اساس راهنمای سویه کاب تهیه شده است.

<sup>۲</sup> هر کیلوگرم خوراک حاوی: ویتامین A، ۰/۴۵ میلی‌گرم؛ کوله کلسیفرول، ۰/۰۰۵ میلی‌گرم؛ ویتامین E، ۶/۷ میلی‌گرم؛ ریوفلاوین، ۳/۵ میلی‌گرم؛ پانتوتیک اسید، ۱۰ میلی‌گرم؛ نیاسین ۳۰ میلی‌گرم؛ کولین کلرید، ۱۰۰۰ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۰/۵ میلی‌گرم؛ تیامین، ۱/۵ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، ۰/۳ میلی‌گرم؛ آهن، ۸۰ میلی‌گرم؛ روی، ۴۰ میلی‌گرم؛ منگنز، ۶۰ میلی‌گرم؛ ید، ۰/۱۸ میلی‌گرم؛ مس، ۸ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ کوبالامین، ۱۵ میکروگرم.

جدول ۲- برنامه واکسیناسیون جوجه‌ها

روز (سن)	نوع واکسن	روش واکسیناسیون
۱	برونشیت	اسپری
۱۴	گامبورو	قطره چشمی
۲۱	نیوکاسل	قطره چشمی

Table 2. Chicken vaccination program

## نتایج و بحث

اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات عملکردی شامل افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های گوشتی در جدول شماره ۱-۳ نشان داده شده است. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد جیره غذایی حاوی نانونقره به همراه اسید آلی در مقایسه با جیره‌های اسیدهای آلی و شاهد سبب کاهش وزن جوجه‌های گوشتی در روزهای ۲۱-۴۲ دوره پرورش در مقایسه با تیمار شاهد شد ( $p < 0.05$ ). همچنین در کل دوره پرورشی (۱-۴۲ روزگی) ضریب تبدیل خوراک در گروه تغذیه شده با جیره حاوی زئولیت پوشش داده شده با نانونقره نسبت به گروه‌های تغذیه شده با جیره شاهد، جیره حاوی زئولیت بدون پوشش و جیره حاوی اسیدهای آلی به طور معنی‌داری بالاتر بود ( $p < 0.05$ ). چندین مطالعه پیشین نشان داده است که استفاده از نانوذرات نقره هیچ تأثیر معنی‌داری بر روی صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی از جمله مصرف خوراک، وزن بدن و میزان ضریب تبدیل خوراک ندارد (۲۹۶). علاوه بر این گزارش شده است که استفاده از سطوح ۴، ۸ و ۱۲ قسمت در میلیون نانوذرات نقره در جیره تأثیری منفی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی داشته است (۴). در مقابل احمدی (۷)، نتیجه گرفت که نانو ذرات نقره به میزان ۹۰۰ قسمت در میلیون در جیره باعث افزایش معنی‌دار وزن زنده جوجه‌ها و همچنین کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک نسبت به گروه شاهد شد. در گزارش اندی و همکاران (۱۱) وجود نانوذرات نقره در جیره باعث بهبود وزن‌گیری، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک شد. با این حال، با این حال دلیل بالا بودن ضریب تبدیل در جیره نانو نقره در مقایسه با سایر تیمارها در این آزمایش می‌تواند به دلیل پیوند نانو ذرات نقره با اجزاء جیره باشد که می‌تواند منجر به اختلال در هضم شده و یا جذب مواد مغذی به بدن را مختل کند (۵۷). روش‌هایی که موجب اختلال در هضم یا جذب مواد

مغذی هنگام استفاده از نانو ذرات در خوراک می‌شود، هنوز شناخته نشده است ولی ایجاد محدودیت در شکسته شدن پروتئین‌ها مهمترین فرضیه‌ای است که محققین در حال بررسی آن هستند (۴۷). نتایج برخی از آزمایشات حاکی از آن است که مصرف اسیدهای آلی هیچ‌گونه تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات عملکردی جوجه‌های گوشتی ندارد (۱۲). بر اساس نتایج حاصل از آزمایشات اکبری و همکاران (۸)، استفاده از اسیدهای آلی در جیره جوجه‌های گوشتی هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری بر خصوصیات عملکردی جوجه‌های گوشتی از جمله خوراک مصرفی، وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک نشان نداد. همچنین لی و همکاران (۳۴)، گزارش کردند ترکیبات محرک رشد نظیر پروبیوتیک‌ها، اسیدهای آلی و آنتی‌بیوتیک‌ها بر عملکرد جوجه‌های گوشتی بی‌تأثیرند. از طرفی برخی از محققین بیان داشتند که استفاده از مکمل اسیدهای آلی در سطح مناسب سبب بهبود افزایش وزن بدن جوجه‌های گوشتی می‌گردد که این امر ناشی از بهبود هضم و جذب خوراک، بهبود فلور میکروبی مفید روده، کاهش تولید مواد سمی، کاهش وقوع عفونت‌ها و تعدیل پاسخ سیستم ایمنی طیور به هنگام استفاده از مکمل اسیدهای آلی درجیره می‌باشد (۲). عدم تحت تأثیر قرار گرفتن عملکرد در اثر مصرف اسیدهای آلی در پژوهش حاضر، نشان می‌دهد که آثار مفید فوق در ارتباط با سطح استفاده شده از اسید آلی، یا وجود نداشته‌اند و یا در صورت وجود، اثر آن‌ها به اندازه‌ای کم بوده که نتوانسته است عملکرد را تحت تأثیر قرار دهد. از سوی دیگر، از آنجایی که سطوح استفاده شده از اسیدهای آلی در این آزمایش، هیچ‌گونه اثر منفی بر عملکرد پرنده‌ها در مقایسه با گروه شاهد نداشت، ممکن است که با افزایش سطوح اسیدهای آلی مورد استفاده در جیره، آثار فوق قوی‌تر شده، به گونه‌ای که عملکرد را تحت تأثیر قرار دهند.

جدول ۱-۳ اثر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات عملکردی در طول پرورش در جوجه‌های گوشتی

Table 3.1. Effect of experimental treatments on performance characteristics during the experimental period in broilers

تیمارهای آزمایشی	C	Z	N	A	NA	خطای استاندارد میانگین	سطح احتمال معنی‌داری
افزایش وزن (گرم)							
روز ۱ تا ۲۱ دوره پرورش	۶۸۷/۹۱	۶۹۵/۵۵	۶۹۱/۴۸	۶۸۷/۳۱	۶۹۷/۲۰	۱۰/۲۰	۰/۸۴
روز ۲۲ تا ۴۲ دوره پرورش	۱۵۶۲/۱۳ <sup>a</sup>	۱۵۳۷/۴۷ <sup>ab</sup>	۱۵۱۹/۹۹ <sup>ab</sup>	۱۵۵۲/۲۱ <sup>a</sup>	۱۴۶۱/۹۶ <sup>b</sup>	۲۷/۰۸	۰/۰۴۳
روز ۱ تا ۴۲ دوره پرورش	۲۲۷۲/۰۹	۲۲۴۶/۱۲	۲۲۱۱/۳۷	۲۲۶۲/۷۲	۲۱۹۴/۵۷	۳۸/۸۱	۰/۱۳۷
خوراک مصرفی (گرم)							
روز ۱ تا ۲۱ دوره پرورش	۱۱۲۲/۲۷	۱۱۴۱/۲۱	۱۱۳۸/۳۲	۱۱۵۲/۶۹	۱۱۳۹/۱۱	۱۴/۶۲	۰/۷۲۱
روز ۲۲ تا ۴۲ دوره پرورش	۳۷۶۰/۲۸	۳۷۰۱/۲۶	۳۶۹۱/۲۸	۳۵۸۸/۵۳	۳۶۴۲/۵۶	۴۳/۲۴	۰/۱۴۳
روز ۱ تا ۴۲ دوره پرورش	۴۷۸۱/۴۶	۴۷۱۵/۷۸	۴۷۵۱/۲۱	۴۷۵۵/۶۳	۴۷۲۹/۵۴	۵۴/۰۸	۰/۲۲۷
ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم)							
روز ۱ تا ۲۱ دوره پرورش	۱/۶۳۲	۱/۶۴۳	۱/۶۴۸	۱/۶۷۱	۱/۶۳۷	۰/۱۳	۰/۳۹۸
روز ۲۲ تا ۴۲ دوره پرورش	۲/۴۱	۲/۴۰	۲/۴۴	۲/۳۵	۲/۴۹	۰/۰۲۸	۰/۰۵۳
روز ۱ تا ۴۲ دوره پرورش	۲/۱۰۹ <sup>b</sup>	۲/۰۸۲ <sup>b</sup>	۲/۱۹۲ <sup>a</sup>	۲/۱۰۳ <sup>b</sup>	۲/۱۵۴ <sup>ab</sup>	۰/۰۲۱	۰/۰۴۸

C: جیره پایه، Z: جیره پایه حاوی ۱ درصد زئولیت، N: جیره پایه حاوی ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانوذرات نقره، A: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی، NA: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی و ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانوذرات نقره.

<sup>a</sup>جوجه‌ها از روز ۳۵ دوره پرورش تا روز ۴۲ به مدت ۴ ساعت روزانه تحت تنش گرمایی ۳۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

<sup>a-b</sup>: میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار هستند ( $p < 0.05$ ).

بدن و ضریب تبدیل غذایی) تأثیر معنی‌دار ندارد (۳۵). در حالیکه در تحقیقاتی دیگر بیان شده است که مصرف اسید آلی موجب بهبود معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی (۵۳)، افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی (۲۳) و کاهش سرعت عبور مواد خوراکی از دستگاه گوارش و بهبود جذب (۵۴) نسبت به تیمار شاهد شده است. عدم تأثیر مفید افزودنی‌های فوق (نانوذرات نقره و اسیدهای آلی) در این تحقیق در هفته ششم (اعمال تنش)، بر صفات عملکردی می‌تواند به دلیل تأثیر استرس گرمایی باشد. زیرا استرس گرمایی سبب کاهش مصرف خوراک، کاهش رشد، کاهش کیفیت لاشه، افزایش تلفات، افزایش ضریب تبدیل و کاهش عملکرد طیور می‌شود (۲۲).

اثر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات عملکردی در هفته اعمال تنش گرمایی در جوجه‌های گوشتی در جدول ۲-۳ نشان داده شده است. با توجه به نتایج این جدول، تأثیر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات عملکردی در هفته اعمال تنش گرمایی معنی‌دار نمی‌باشد ( $p > 0.05$ ). نتایج مشاهده شده در این تحقیق با نتایج احمدی و کردستانی (۵) و زرگران اصفهانی و همکاران (۵۶) مطابقت دارد که همگی بیان کرده‌اند استفاده از نانوذرات نقره، تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات عملکردی جوجه‌های گوشتی از جمله خوراک مصرفی، وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک ندارد. گزارش شده است که استفاده از اسیدهای آروگانیک بر خصوصیات عملکردی جوجه‌های گوشتی (خوراک مصرفی، افزایش وزن

جدول ۲-۳ اثر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات عملکردی در هفته اعمال تنش گرمایی در جوجه‌های گوشتی  
Table 3.2. Effect of experimental treatments on performance characteristics in the week of applying heat stress in broilers

تیمارهای آزمایشی	C	Z	N	A	NA	خطای استاندارد میانگین	سطح احتمال معنی داری
افزایش وزن (گرم)							
هفته ششم	۵۹۸/۸۵	۶۱۱/۷۲	۵۳۶/۶۰	۵۸۹/۳۹	۵۴۶/۵۵	۲۶/۹۴	۰/۲۳
خوراک مصرفی (گرم)							
هفته ششم	۱۵۰۲/۰۵	۱۴۵۶/۶۲	۱۴۹۰/۲۰	۱۳۹۴/۱۰	۱۳۹۷/۵۵	۴۰/۰۲	۰/۲۱
ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم)							
هفته ششم	۲/۵۲	۲/۳۹	۲/۷۸	۲/۳۸	۲/۵۷	۰/۱۱	۰/۱۲

C: جیره پایه، Z: جیره پایه حاوی ۱ درصد زئولیت، N: جیره پایه حاوی ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانوذرات نقره، A: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی، NA: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی و ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانوذرات نقره. \*جوجه‌ها از روز ۳۵ دوره پرورش تا روز ۴۲ به مدت ۴ ساعت روزانه تحت تنش گرمایی ۳۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. <sup>a,b</sup>: میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار هستند ( $p < 0.05$ ).

جوجه‌های گوشتی تأثیری بر تیترا آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC)، IgG و IgM نداشت. در حالی که بر اساس نتایج آزمایش نجف‌زاده و همکاران (۳۹) و پاندا و همکاران (۴۰)، میزان پادتن علیه گلبول قرمز گوسفندی در گروه‌های حاوی اسید آلی در جیره در مقایسه با گروه بدون افزودنی به طور معنی‌داری بالا بود که این نتایج مغایر با یافته پژوهش حاضر می‌باشد. اگرچه اثر افزودنی‌های فوق بر میزان تیترا آنتی‌بادی علیه SRBC معنی‌دار نبود، اما با افزایش سن جوجه‌ها سیستم ایمنی آن‌ها تکامل بیشتری یافته و سلول‌های خاطره تولید شده در پاسخ ایمنی اولیه موجب تقویت تولید آنتی‌بادی در پاسخ ایمنی ثانویه می‌شوند (۳۹). بنابراین می‌توان انتظار داشت که پاسخ ثانویه نسبت به اولیه شدیدتر باشد که نتایج مندرج در جدول در رابطه با Anti SRBC و IgG مبین این موضوع می‌باشد.

با توجه به نتایج جدول شماره ۴، اثر تیمارهای آزمایشی بر تیترا آنتی‌بادی علیه SRBC و ایمونوگلوبولین‌های Y و M در روزهای ۳۵ و ۴۲ دوره پرورش معنی‌دار نمی‌باشد ( $p > 0.05$ ). میزان آنتی‌بادی‌های به وجود آمده بر علیه SRBC نشان‌دهنده وضعیت سیستم ایمنی هومورال است. در عدم انطباق با نتایج حاضر پیندا و همکاران (۴۱)، گزارش کردند که استفاده از نانوذرات نقره موجب کاهش غلظت IgG در جوجه‌های گوشتی شد، در حالی که تزریق درون تخم مرغی نانوذرات نقره تأثیر معنی‌داری بر غلظت IgG و IgM سرم جوجه‌ها نداشت. افزودن اسیدهای آلی به جیره نیز تأثیر معنی‌داری بر میزان آنتی‌بادی‌های به وجود آمده بر علیه SRBC در مقایسه با گروه شاهد نداشت. این یافته با نتایج میربابایی لنگرودی و همکاران (۳۷)، همسو می‌باشد که گزارش کرده‌اند، استفاده از مکمل اسید آلی در جیره‌ی

پاسخ رشد و بررسی ایمنی هومورال در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با اسیدهای آلی و ژئولیت پوشش داده شده ..... ۱۱۸

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر تیترا آنتی‌بادی علیه SRBC و ایمونوگلوبولین‌های G و M در روزهای ۳۵ و ۴۲ آزمایش  
Table 4. Effect of experimental treatments on antibody titer against SRBC and G and M immunoglobulins on days 35 and 42 of the experiment

تیمارهای آزمایشی	C	Z	N	A	NA	خطای استاندارد میانگین	سطح احتمال معنی داری
روز ۳۵ دوره پرورش							
Anti-SRBC	۷/۸۰	۷/۴۰	۷/۸۰	۵/۶۰	۵/۲۰	۰/۶۶	۰/۰۶
IgM	۲/۴۰	۲/۲۰	۳/۲۰	۱/۶۰	۲/۴۰	۰/۷۲	۰/۶۵
IgG	۵/۴۰	۵/۲۰	۴/۶۰	۴/۰۰	۳/۴۰	۰/۶۰	۰/۱۴
روز ۴۲ دوره پرورش							
Anti-SRBC	۹/۲۰	۶/۸۰	۸/۸۰	۷/۸۰	۸/۰۰	۰/۶۷	۰/۱۴
IgM	۲/۴۰	۱/۲۰	۱/۸۰	۱/۰۰	۱/۶۰	۰/۳۴	۰/۰۷
IgG	۷/۰۰	۵/۶۰	۷/۰۰	۶/۲۰	۶/۴۰	۰/۶۰	۰/۴۶

C: جیره پایه، Z: جیره پایه حاوی ۱ درصد ژئولیت، N: جیره پایه حاوی ۱ درصد ژئولیت پوشش داده شده با ۵/۰ درصد نانوذرات نقره، A: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی، NA: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی و ۱ درصد ژئولیت پوشش داده شده با ۵/۰ درصد نانوذرات نقره.  
\*جوجه‌ها از روز ۳۵ دوره پرورش تا روز ۴۲ به مدت ۴ ساعت روزانه تحت تنش گرمایی ۳۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

و به عبارتی باعث حذف رقابتی باکتری‌های بیماری‌زا از طریق کاهش حساسیت نسبت به بیماری‌ها و در نتیجه باعث افزایش مقاومت و تاثیر مثبت در تحریک سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌شوند (۵۶). نتایج تحقیقات رامارائو و همکاران (۴۲)، نشان داد که استفاده از مخلوط تجاری اسید آلی در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی سبب افزایش پاسخ سیستم ایمنی آن‌ها علیه آنتی‌ژن بیماری نیوکاسل و گامبورو شد. این در حالی است که نتایج آزمایشات روغنی و همکاران (۴۵) نشان داد که افزودن ۰/۱ درصد اسید آلی فورماسین به جیره‌ی جوجه‌های گوشتی سبب افزایش تیترا آنتی‌بادی علیه نیوکاسل شده، در حالی که تیترا آنتی‌بادی علیه واکسن گامبورو را کاهش می‌دهد. تاثیر اسیدهای آلی بر سیستم ایمنی هنوز به میزان زیادی ناشناخته باقی مانده است، اما به طور کلی می‌توان بیان نمود که اسیدهای آلی با بهبود هضم و جذب مواد غذایی و همچنین با کاهش باکتری‌های مضر که موجب کاهش عفونت‌های تحت بالینی در طیور می‌شوند، می‌توانند در راستای کمک به سیستم ایمنی عمل نمایند.

اثر تیمارهای آزمایشی بر تیترا آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و گامبورو به ترتیب در جداول شماره ۵ و ۶ ارائه شده است. با توجه به نتایج این جدول‌ها، تاثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان تیترا آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و گامبورو معنی‌دار نمی‌باشد ( $p > 0.05$ ). مطالعات صورت گرفته هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در محیط زنده نشان می‌دهند که نانوذرات نقره دارای اثرات سایتوتوکسیک و ایمونوتوکسیک می‌باشند (۵۵). به طوری که در درمان برخی از بیماری‌های ویروسی مانند نیوکاسل و آنفلوآنزا نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳). مطابق با آزمایشات اکیرا و همکاران (۹)، نانوذرات نقره تولید سایتوکاین‌های دخیل در سیستم ایمنی را مختل می‌کنند. اگرچه خاصیت آنتی‌باکتریال و آنتی‌بیوتیکی نانونقره در مقالات متعددی به اثبات رسیده است ولی با توجه به تحقیقات اندک انجام شده در رابطه با اثر بخشی این نانوذرات و عدم معنی‌دار بودن آن بر تیترا آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و گامبورو نیاز به تحقیقات جامع‌تری در این زمینه می‌باشد. اسیدهای آلی از طریق کاهش pH روده، میکروارگانیسم‌های مضر را کاهش و میکروارگانیسم‌های مفید را افزایش می‌دهند

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر تیترا آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل در روزهای ۲۸، ۳۵ و ۴۲ آزمایش  
Table 5. Effect of experimental treatments on antibody titer against Newcastle virus on days 28, 35 and 42 of the experiment

تیمارهای آزمایشی	C	Z	N	A	NA	خطای استاندارد میانگین	سطح احتمال معنی داری
روز ۲۸ دوره پرورش	۰/۶۳	۳/۴۰	۳/۴۰	۳/۸۰	۲/۲۰	۲/۴۰	۰/۲۹
روز ۳۵ دوره پرورش	۰/۷۵	۴/۶۰	۴/۵۰	۴/۵۰	۳/۱۰	۳/۱۰	۰/۶۴
روز ۴۲ دوره پرورش	۰/۶۶	۳/۹۰	۳/۷۰	۴/۳۰	۴/۵۰	۳/۹۰	۰/۹۴

C: جیره پایه، Z: جیره پایه حاوی ۱ درصد ژئولیت، N: جیره پایه حاوی ۱ درصد ژئولیت پوشش داده شده با ۵/۰ درصد نانوذرات نقره، A: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی، NA: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی و ۱ درصد ژئولیت پوشش داده شده با ۵/۰ درصد نانوذرات نقره.  
\*جوجه‌ها از روز ۳۵ دوره پرورش تا روز ۴۲ به مدت ۴ ساعت روزانه تحت تنش گرمایی ۳۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

جدول ۶- اثر تیمارهای آزمایشی بر تیترا آنتی‌بادی علیه ویروس گامبورو در روزهای ۲۱، ۲۸ و ۴۲ آزمایش  
Table 6. Effect of experimental treatments on antibody titer against Gamboro virus on days 21, 28 and 42 of the experiment

تیمارهای آزمایشی	C	Z	N	A	NA	خطای استاندارد میانگین	سطح احتمال معنی داری
روز ۲۱ دوره پرورش	۱۰۰/۴۰	۹۱/۰۰	۱۳۶/۶۰	۵۶/۲۰	۶۷/۲۰	۴۰/۴۵	۰/۶۶
روز ۲۸ دوره پرورش	۲۹۳۲/۲۰	۲۸۰۶/۰۰	۳۰۸۱/۲۰	۱۷۸۰/۰۰	۲۵۰۹/۴۰	۵۲۲/۳۳	۰/۴۴
روز ۴۲ دوره پرورش	۵۴۹۵/۰۰	۴۲۴۶/۰۰	۳۷۷۶/۰۰	۴۷۲۸/۰۰	۴۱۲۴/۰۰	۰/۷۷	۰/۹۴

C: جیره پایه، Z: جیره پایه حاوی ۱ درصد ژئولیت، N: جیره پایه حاوی ۱ درصد ژئولیت پوشش داده شده با ۵/۰ درصد نانوذرات نقره، A: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی، NA: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی و ۱ درصد ژئولیت پوشش داده شده با ۵/۰ درصد نانوذرات نقره.  
\*جوجه‌ها از روز ۳۵ دوره پرورش تا روز ۴۲ به مدت ۴ ساعت روزانه تحت تنش گرمایی ۳۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

هتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها کاهش می‌یابند (۴۸). بیان شده است که استفاده از نانوذرات نقره می‌تواند باعث وقوع تنش اکسیداتیو و بروز مسمومیت گردد (۱۶). بر اساس نتایج آزمایش ابراهیمی و همکاران (۲۱)، استفاده از اسید آلی در جیره‌ی جوجه‌های گوشتی سبب کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت شده است، اما این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد. همچنین به گزارش مهدوی و ترکی (۳۵)، نیز جیره‌ی حاوی اسید بوتیریک اثاثیر معنی‌داری بر شمار گلبول‌های سفید خون نداشت.

اثر تیمارهای آزمایشی بر تعداد هتروفیل و لنفوسیت و نسبت آن‌ها در جدول شماره ۷ گزارش شده است. داده‌های حاصل از آزمایش نشان می‌دهد که تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر صفات فوق نداشتند ( $p > 0.05$ ). نسبت هتروفیل‌ها به لنفوسیت‌ها شاخص مهمی در ارزیابی سطح ایمنی بدن می‌باشد و هر چقدر این نسبت بیشتر باشد، به همین مقدار نیز سطح ایمنی بدن بالا بوده و احتمال مقاومت در مقابل عوامل بیماری‌زا بهبود می‌یابد (۵۲). شرایط بیماری و تنش سبب افزایش شمار هتروفیل‌ها شده و همچنین ضمن افزایش تعداد

جدول ۷- اثر تیمارهای آزمایشی بر تعداد هتروفیل و لنفوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در روزهای ۲۸، ۳۵ و ۴۲ آزمایش\*

Table 7. Effect of experimental treatments on the number of heterophils and lymphocytes and the ratio of heterophils to lymphocytes on days 28, 35 and 42 of the experiment

تیمارهای آزمایشی	C	Z	N	A	NA	خطای استاندارد میانگین	سطح احتمال معنی داری
روز ۲۸ دوره پرورش							
هتروفیل (درصد)	۳۷/۸	۲۳/۸	۲۹/۰	۲۸/۴	۲۲/۶	۴/۴۳	۰/۷۹
لنفوسیت (درصد)	۷۲/۲	۷۶/۲	۷۱/۰	۷۱/۶	۷۷/۴	۴/۴۳	۰/۷۹
نسبت هتروفیل به لنفوسیت (درصد)	۰/۳۴	۰/۳۵	۰/۴۳	۰/۴۱	۰/۳۰	۰/۰۸	۰/۷۴
روز ۳۵ دوره پرورش							
هتروفیل (درصد)	۳۲/۸	۳۷/۰	۳۷/۴	۳۸/۴	۳۹/۰	۴/۲۵	۰/۸۵
لنفوسیت (درصد)	۶۷/۲	۶۳/۰	۶۲/۶	۶۱/۶	۶۱/۰	۴/۲۵	۰/۸۵
نسبت هتروفیل به لنفوسیت (درصد)	۰/۵۱	۰/۶۲	۰/۶۴	۰/۶۲	۰/۶۵	۰/۱۰	۰/۸۸
روز ۴۲* دوره پرورش							
هتروفیل (درصد)	۴۰/۸	۳۸/۶	۴۱/۲	۴۲/۶	۴۲/۶	۳/۱۹	۰/۹۰
لنفوسیت (درصد)	۵۹/۲	۶۱/۴	۵۸/۸	۵۷/۴	۵۷/۴	۳/۱۹	۰/۹۰
نسبت هتروفیل به لنفوسیت (درصد)	۰/۷۰	۰/۶۵	۰/۷۳	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۰۹	۰/۹۳

C: جیره پایه، Z: جیره پایه حاوی ۱ درصد زئولیت، N: جیره پایه حاوی ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانوذرات نقره، A: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی، NA: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی و ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانوذرات نقره. \*جوجه‌ها از روز ۳۵ دوره پرورش تا روز ۴۲ به مدت ۴ ساعت روزانه تحت تنش گرمایی ۳۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

لنفوسیت‌های B را تحت تاثیر قرار دهد. تحقیقات نشان داده که افزودن اسیدهای آلی از جمله اسید سیتریک منجر به افزایش تعداد سلول‌های مشارکت‌کننده در ایمنی در فولیکول‌های بورس فابریسیوس در جوجه‌های گوشتی شده و وزن بورس را افزایش می‌دهد (۲۶). همچنین عبدالفتاح و همکاران (۱)، نیز گزارش کردند که استفاده از اسیدهای آلی در جوجه‌های گوشتی وزن بورس فابریسیوس را افزایش داد. افزایش در وزن اندام‌های مرتبط با سیستم ایمنی یک شاخص کارکرد مطلوب برای سیستم ایمنی محسوب می‌شود. از طرفی مطابق با آزمایش رت و هوف (۴۳)، افزودن اسید آلی به جیره جوجه‌های گوشتی تاثیر معنی‌داری بر وزن طحال نداشت. همچنین با توجه به نتیجه‌ی آرایش مهدوی و ترکی (۳۵)، جیره‌ی حاوی بوتیریک اسید تاثیر معنی‌داری بر وزن بورس فابریسیوس و طحال نداشت که مطابق با نتیجه تحقیق حاضر می‌باشد.

اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن اندام‌های لنفاوی (بورس فابریسیوس و طحال)، در جدول شماره ۸ ارائه شده است. نتایج حاکی از عدم معنی‌داری اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن اندام‌های لنفاوی می‌باشد ( $p > 0.05$ ). در آزمایش اندی و همکاران (۱۱)، نشان داده شد که نقره و به خصوص نانوذرات نقره باعث افزایش وزن بورس فابریسیوس و طحال در جوجه‌های گوشتی خواهند شد. افزایش وزن طحال می‌تواند نشان‌دهنده بروز التهاب در حیوان بوده و بنابراین پیشنهاد شده است که نانوذرات نقره دارای واکنش التهابی داخلی بر روی جوجه‌ها می‌باشد (۳۰). همچنین بر اساس گزارش گروزدیک و ساوس (۲۴)، افزودن ۱۰ قسمت در میلیون (ppm)، نانونقره به جیره سبب کاهش اندازه و تعداد فولیکول‌های بورس فابریسیوس می‌شود. از آنجایی که بورس فابریسیوس نخستین جایگاه مهاجرت و تکثیر لنفوسیت‌های B می‌باشد بنابراین کاهش اندازه بورس فابریسیوس می‌تواند تولید

جدول ۸- اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی اندام‌های لنفاوی در روز ۴۲\* آزمایش

Table 8. The effect of experimental treatments on the relative weight of lymphatic organs on day 42 of the experiment

تیمارهای آزمایشی	C	Z	N	A	NA	خطای استاندارد	سطح احتمال
معنی داری						میانگین	
روز ۴۲* دوره پرورش							
بورس فابریسیوس	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۶	۰/۱۲	۰/۰۲	۰/۶۲
طحال	۰/۰۹	۰/۱۲	۰/۰۷	۰/۰۹	۰/۱۰	۰/۰۱	۰/۰۹

C: جیره پایه، Z: جیره پایه حاوی ۱ درصد زئولیت، N: جیره پایه حاوی ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانوذرات نقره، A: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی، NA: جیره پایه حاوی یک گرم در هر کیلوگرم اسید آلی و ۱ درصد زئولیت پوشش داده شده با ۰/۵ درصد نانوذرات نقره. \*جوجه‌ها از روز ۳۰ دوره پرورش تا روز ۴۲ به مدت ۱۲ ساعت روزانه تحت تنش گرمایی ۳۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

## نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج آزمایش حاضر سطوح استفاده شده نانوذرات نقره و اسید آلی در این تأثیر سوپی بر سیستم ایمنی جوجه‌ها نداشته است، اما جیره نانوذرات نقره منجر به افزایش ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌ها گردید. با توجه به این واقعیت که تنش گرمایی موجب افزایش رادیکال‌های آزاد، ایجاد تنش اکسایشی و ناپایداری سیستم ایمنی می‌گردد، لذا اثرات تیمار نانوذرات نقره و اسیدهای آلی در شرایط تنش حرارتی بررسی گردید تا میزان تغییرات سیستم ایمنی طیور سنجیده شود. بر اساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر، نانوذرات نقره با توجه به دوز مورد استفاده (دوز ۵۰ قسمت در میلیون) چه در شرایط نرمال و چه در شرایط اعمال تنش حرارتی منجر به تضعیف و یا آسیب سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی نگردیده است. با این حال با توجه به اثرات ضد و

نقیض نانوقره بر سیستم ایمنی و پژوهش‌های اندک در این راستا نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه، به خصوص بیومارکرهای سیستم ایمنی می‌باشد.

## تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر داریوش داودی عضو انجمن فناوری نانو و موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی ایران به جهت حمایت‌های ایشان در راستای تهیه نانوقره پوشش داده شده بر زئولیت قدردانی می‌شود. همچنین از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به منظور در اختیار نهادن امکانات لازم برای اجرای این طرح تشکر به عمل می‌آید.

## تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع وجود ندارد.

## منابع

1. Abdel- Fattah, S., A. Sanhoury, N. Mednay and F. Abdel-Azim. 2008. Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. *International Journal of Poultry Science*, 7: 215-222.
2. Abdo, M. and A. Zeinb. 2004. Efficacy of acetic acid in improving the utilization of low protein-low energy broiler diets. *Egypt Poultry Science*, 24: 123-141.
3. Ahari, H., F. Dastmalchi, Y. Ghezelloo, R. Paykan, M. Fotovat and J. Rahmanny. 2008. The application of silver nanoparticles to the reduction of bacterial contamination in poultry and animal production. *Food Manufacturing Efficiency*, 2: 49-53.
4. Ahmadi, F. and F. Rahimi. 2011. Factors affecting quality and quantity of egg production in laying hens: A review. *World Applied Sciences Journal*, 12: 372-384.
5. Ahmadi, F. and A.H. Kurdestany. 2010. The Impact of silver nano particles on growth performance, lymphoid organs and oxidative stress indicators in broiler chicks. *Global Veterinaria*, 5: 366-370.
6. Ahmadi, F., M. Mohammadi Khah, J. Saman, A. Zarneshan, L. Akradi and P. Sa lehifar. 2013. The effect of dietary silver nanoparticles on performance, immune organs and lipid serum of broiler chickens during starter period. *International Journal of Biosciences*, 3: 95-100.
7. Ahmadi, J. 2009. Application of different levels of silver nanoparticles in food on the performance and some blood parameters of broiler chickens. *World Applied Sciences Journal*, 7: 24-27.
8. Akbari, M.R., H. Kermnshahi and A.GH. Kelidri. 2004. Investigation of adding acetic acid in drinking water on yield, growth indices and ilium microbial population of broiler chickens. *Journal of Agricultural Science and Technology and Natural Resources*, 3: 139-147.
9. Akira, S., S. Uematsu and O. Takeuchi. 2006. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 124: 783-801.
10. Akradi, L., I. Sohrabi Haghdost, A.N. Djeddi and P. Mortazavi. 2012. Histopathologic and apoptotic effect of nanosilver in liver of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*. 22: 6207-6211.
11. Andi, M.A., H. Mohsen and A. Farhad. 2011. Effects of feed type with /without nanosil on cumulative performance, relative organ weight and some blood parameters of broilers. *Global Veterinaria*, 7: 605-609.
12. Barbosa Fascina, V., J. Roberto Sartori, E. Gonzales, F. Barros de Carvalho, I. Mailinch Gonçalves Pereira deSouza, G. do Valle Polycarpo, A. Cristina Stradiotti and V. Cristina Pelícia. 2012. Phytogetic additives and organic acids in broiler chicken diets. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41: 2189-2197.

13. Bartlett, J.R. and M.O. Smith. 2003. Effects of different levels of zinc on the performance and immune competence of broilers under heat stress. *Poultry Science*, 82: 1580-1588.
14. Bedi, R.S., G. Chow, J. Wang, L. Zanello and Y. Yan. 2012. Bioactive materials for regenerative medicine: zeolite-hydroxyapatite bone mimetic coatings. *Advanced Engineering Materials*, 14: 200-206.
15. Bolandi, N., S.H. Hashemi, D. Davoodi, B. Dastar, S. Hassani and O. Ashayerizadeh. 2017. Investigation of the effect of zeolite coating with nanosilver particles on performance and efficiency of energy and protein utilization in broilers. *Iranian Journal of Animal Sciences*, 84(1): 69-75.
16. Bradley, G.L. T.F. Savage and K.I. Timm. 1994. The effects of supplementing diets with *Saccharomyces cerevisiae* var. bouldardi on male poultry performance and ileal morphology. *Poultry Science*, 73: 1766-1770.
17. Campo, J.L. and S.G. Davila. 2002. Changes in heterophil to lymphocyte ratio of heat-stressed chickens in response to dietary supplementation several related stress agents. *Archive fur Geflugelkunde*, 66: 80-84.
18. Cheema, M.A., M.A. Qureshi and G.B. Havenstein. 2003. A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 random bred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poultry Science*, 82: 1519-1529.
19. Dong, X.F., W.W. Gao, J.M. Tong, H.Q. Jia, R.N. Sa and Q. Zhang. 2007. Effect of polysavone (alfalfa extract) on abdominal fat deposition and immunity in broiler chickens. *Poultry Science*, 86: 1955-1959.
20. Dorman, H.J.D. and S.G. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 308-316.
21. Ebrahimi, H., S.H. Rahimi and P. Khaki. 2015. The effect of organic acid, probiotic and *Echinacea purpurea* usage on gastrointestinal microflora and immune system of broiler chickens. *Journal of Veterinary Research*, 3: 293-299.
22. Esteve-Garcia, E. and S. Mack. 2000. The effect of DL-methionine and betaine on growth performance and carcass characteristics in broilers. *Animal Feed Science Technology*, 87: 151-159.
23. Ghazalah, A.A. A.M. Atta, K. Elkloub, M.E. Moustafa and R.F. Shata. 2011. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, nutrients digestibility and health of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*, 10: 176-184.
24. Grodzik, M. and E. Sawosz. 2006. The influence of silver nanoparticles on chicken embryo development and bursa of fabricius morphology. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 15: 111-114.
25. Haghighi, H.R., J. Gong, C.E. Gyles, M.A. Hayes, B. Sanei, H. Parvizi Gisavi, J.R. Chambers and S. Sharif. 2005. Modulation of antibody-mediated immune response by probiotics in chickens. *Clinical and Vaccine Immunology*, 12: 1387-1392.
26. Haque, M., S. Islam, M.A. Akbar, R. Chowdhury, M.R. Karim and B.W. Kemppainen. 2010. Effect of dietary citric acid, flavomycin and their combination on the performance, tibia ash and immune status of broiler. *Animal Science*, 90: 57-63.
27. Hashemi, S.H., B. Dastar, S. Hassani and Y.J. Ahangari. 2007. Growth performance, body temperature and blood proteins in broilers in response to betaine supplement and dietary protein level under heat stress. *Journal Agricultural Sciences and Natural Resources*, 14(2): 137-148.
28. Hashemi, S.R. and H. Davoodi. 2011. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary Research Communications*, 35: 180-169.
29. Hassanabadi, A., H. Hajati and L. Bahreini. 2012. The effects of nano-silver on performance, carcass characteristics, immune system and intestinal microflora of broiler chickens. *Proc 3<sup>rd</sup> International Veterinary Congress*. Tehran, Iran.
30. Kalavathy, R., N. Abdullah, S. Jalaludin and Y.W. Ho. 2003. Effects of *Lactobacillus* cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. *British Poultry Science*, 44: 139-144.
31. Kim, S., J.E. Choi, J. Choi, K.H. Chung, K. Park, K. Yi and D.Y. Ryu. 2009. Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicology in Vitro*, 23: 1076-1084.
32. Krajišnik, D., R. Stepanović-Petrović, M. Tomić, A. Micov, S. Ibrić and J. Milić. 2014. Application of artificial neural networks in prediction of diclofenac sodium release from drug-modified zeolites physical mixtures and antiedematous activity assessment. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103: 1085-1094.
33. Lara, L.J. and M.H. Rostagno. 2013. Impact of heat stress on poultry production. *Animals*, 3: 356-369.
34. Lee, S.J. S.S. Kim, O.S. Suh, J.C. Na, S.H. Lee and S.B. Chung. 1993. Effect of dietary antibiotics and probiotics on the performance of broiler. *Journal of Agricultural Science*, 35: 539-548.
35. Mahdavi, R. and M. Torki. 2009. Study on usage period of dietary protected butyric acid on performance, carcass characteristics, serum metabolite levels and humoral immune response of broiler chickens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8: 1702-1709.

36. Mashaly, M.M., G.L. Hendricks, M.A. Kalama, A.E. Gehad, A.O. Abbas and P.H. Patterson. 2004. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poultry Science*, 83: 889-894.
37. Mirbabaie Langaroui, N., M. Mohammadi and M. Aoostaei Alimehr. 2012. Effect of Probiotic and Formic Acid on Immune System of Broilers. *Iranian Journal of Animal Science*, 4: 449-456.
38. Mohammadkhani, B., H. Tabesh, B. Houshmand and B. Mohammadkhani. 2016. Investigation on novel applications of zeolites in advanced medical sciences. *Research on Medicine*, 4: 96-108.
39. Najafzadeh, A., H. Darmani Kuhi, M. Roostaei Ali-mehr and N. Ghavi Hossein-Zadeh. 2014. Effect of chicory extract and Ultimate acid on performance, carcass characteristics and immune system of broiler chickens. *Animal Production Research*, 3: 11-20.
40. Panda, A.K., M.R. Reddy, S.V. Rama Rao, M.V.L.N. Raju and N.K. Paraharaj. 2000. Growth, carcass characteristics, immunocomponence and response to *Escherchia coli* of broiler fed diets with various level of probiotic. *Archiv fur Geflugelkunde*, 64: 152-156.
41. Pineda, L., A. Chwalibog, E. Sawosz, C.R. Engberg, J. Elnif, A. Hotowy, F. Sawosz, Y. Gao, A. Ali and H. Sepehri Moghaddam. 2012. Effect of silver nanoparticles on growth performance, metabolism and microbial profile of broiler chickens. *Archive Animal Nutrition*, 66: 416-429.
42. Ramarao, S.V., M.R. Reddy, M.V.L.N. Raju and A.K. Panda. 2004. Growth, nutrient utilization and immunocompetence in broiler chicken fed probiotic, gut acidifier and antibacterial compounds. *Indian journal Poultry Science*, 39: 125-130.
43. Rath, N.C. and G.R. Huff. 2006. Effects of humic acid on broiler chickens. *Poultry Science*, 85: 410-414.
44. Roshanai, K., M.H. Razavian, R. Ahmadi, N. Heidarieh, M.B. Masaeemanesh. 2012. The Effect of Silvernano Oral Consumption on some Hormonal, Hematological and Urine Parameters of Vistar Rats. *Qom University of Medical Sciences Journal*, 6(3): 65-70.
45. Rowghani, E., M. Arab and A. Akbarian. 2007. Effects of a probiotic and other feed additives on performance and immune response of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*, 6: 261-265.
46. SAS. 2005. SAS/STAT Software, Release 9.1. SAS Institute, Inc, Cary, NC.
47. Senjen, R. 2007. Nanosilver—a threat to soil, water and human health. *Friends of the Earth Australia*.
48. Siegel, H.S. 1995. Stress, strains and resistance. *British Poultry Science*, 36: 3-22.
49. Smaili, M. 2016. The effect of adding nano silver coated on zeolite in the diet on economic performance, blood parameters, liver enzymes, oxidative enzymes, morphology, gastrointestinal microbiology and carcass composition of broilers. Master Thesis. Faculty of Animal Sciences. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
50. Smaili, M., S.R. Hashemi, D. Davoodi, Y. Jafari Ahangari, S. Hassani and A. Shabani. 2017. Effect of supplementing diet with zeolite coated with silver nanoparticles on performance, intestinal morphology characteristics and ilium microbial population of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science*, 4: 579-588.
51. Soltan, M.A. 2008. Effect of dietary organic acid supplementation on egg production, egg quality and some blood serum parameters in laying hens. *International Poultry Science*, 7: 613-621.
52. Sturkie, P.D. 1995. *Avian physiology*. 4th ed. Springer Verlag. New York. Pages, 115-270.
53. Taher pour K., H. Moravej, M. Shivazad, M. Adibmoradi and B. Yakhchali. 2009. Effect of dietary probiotic, prebiotic and butyric acid glycerides on performance and serum composition in broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 8: 2329-2334.
54. Thabet, M.T., B. Amro, A. Genaidy and G.S. Kirk. 2010. An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: A systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Science Total Environment*, 408: 999-1006.
55. Trop, M., M. Novak, S. Rodl, B. Hellbom, W. Kroell and W. Goessler. 2006. Silver coated dressing Acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient. *The Journal of trauma*, 60: 648-52.
56. Waldroup, A. and W. Kanis. 1995. Performance characteristics and microbiological aspects of broiler fed diets supplemented with organic acids. *Journal of Food Protection*, 58: 482-489.
57. Zargaran Isfahani, M., S.D. Sharifi, A. Barin abnd A. Afzalzadeh. 2010. Effect of silver nanoparticles on performance and carcass characteristics of broilers. *Journal of Animal Science*, 41(2): 137-143.

## Growth Response and Humoral Immunity of Broiler Chickens Fed Organic Acids and Zeolite Coated with Silver Nanoparticles under Heat Stress Conditions

Azam Abbasi<sup>1</sup>, Seyed Raza Hashemi<sup>2</sup>, Saeed Hassani<sup>3</sup> and Maryam Ebrahimi<sup>4</sup>

1- Graduated M.Sc. Student, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Golestan, Iran

2- Assistant Professor, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Golestan, Iran (Corresponding Author: hashemi711@yahoo.co.uk)

3- Professor, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Golestan, Iran

4- Health Research Center for Food, Pharmaceutical and Natural Products, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

Received: February 27, 2021

Accepted: June 12, 2021

### Abstract

This study was designed to evaluate the effect of organic acid (Biotronic) and silver nanoparticles coated on zeolite on performance and humoral immune response of broiler chickens under heat stress conditions using a total of 375 one day-old broiler chicks (Cobb 500). Chicks were allocated to five treatments, five replicates and 15 chicks per each replicate using a completely randomized design. Treatments included: (1) control (2) 1% Uncoated zeolite, (3) zeolite-coated with 0.5% silver nanoparticles, (4) 1 g/kg organic acids and (5) zeolite-coated with 0.5% of silver nanoparticles and 1g/kg organic acids. Heat stress was exposed at 34° C in sixth week. Chicken's performance indices were measured periodically. Blood samples were taken to determine antibody response, sheep red blood cells (SRBC) and heterophile to lymphocyte ratio at the end of the third, fourth, fifth and sixth weeks. The results of experiment indicated that diet containing Nano silver with organic acid decreased broiler body weight compared with the control and organic acids treatment at growth period (days 42-21 of breeding) ( $p < 0.05$ ). Also feed conversion ratio was significantly higher in the Nano silver coated on zeolite treatment than control treatment, zeolite and organic acids groups in the whole experimental periods (1-24 days) ( $p < 0.05$ ). However, the results of the experiment showed no significant differences between all treatments on immune system ( $p > 0.05$ ). In conclusion, the use of Nano silver and organic acid at the above levels had no effect on immune system, but the diet of silver nanoparticles increased the feed conversion ratio in chickens.

**Keywords:** Broiler chicken, Heat stress, Immune system, Nano silver, Organic acid