



"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^۱، سیدرضا هاشمی^۲، سعید حسنی^۳ و مریم ابراهیمی^۴

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 مسوول: hashemi711@yahoo.co.uk)
۳- استاد دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران
۴- مرکز تحقیقات سلامت فرآورده های 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 (با یوترونیک) 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 نانوقره 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 نانوقره 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 نانوقره 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، نانوقره

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 مایکوتوکسین‌ها 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 زیست‌ماده‌ای 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، زیست‌سازگار 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 مصرف‌کنندگان، 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. نانوقره 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

مدت ۷ دقیقه قرار داده شد و سپس سرم جدا شده در دمای 20°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 گامبور در روزهای ۲۱، ۲۸ (۷) و ۱۴ روز پس از مصرف واکسن گامبور سویه IBD071IR به روش قطره چشمی) و ۴۲ دوره پرورش از هر تکرار دو پرنده انتخاب و خون‌گیری از سایه‌رگ 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 گامبور به روش الیزا (ELISA) با استفاده از IDEX-IBD-ELISA Kit

بررسی نسبت هتروفیل به لنفوسیت در روزهای ۲۸، ۳۵ و ۴۲ دوره پرورش، دو پرنده 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 دیجیتال (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)^۱

اجزا 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	۳۰/۸۷	۳۰/۸۷
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)	۲۹۵۰	۳۰۵۰	۳۰۵۰	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	۰/۳۶	۰/۳۶	۰/۳۶
آرژنین (درصد)	۲۹۵۰	۳۰۵۰	۳۰۵۰	۳۰۵۰
ترئونین (درصد)	۲۱/۲	۱۹/۶	۱۹/۶	۱۹/۶

جیره پایه بر اساس راهنمای سویه کاب تهیه شده است.

^۲ 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	گامبور	قطره چشمی
۲۱	نیوکاسل	قطره چشمی

نتایج و بحث

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 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 پرندگان 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.

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 نانوقره 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 نانوقره نسبت به گروه‌های تغذیه شده با جیره شاهد، جیره حاوی زئولیت بدون پوشش و جیره حاوی اسیدهای آلی به‌طور 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

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	۱۵۶۲/۱۱۳ ^a	۱۵۳۷/۴۷ ^{ab}	۱۵۱۹/۹۹ ^{ab}	۱۵۵۲/۲۱ ^a	۱۴۶۱/۹۶ ^b	۲۷/۰۸	۰/۰۴۳
روز ۱ تا ۴۲ دوره پرورش	۲۲۷۲/۰۹	۲۲۴۶/۱۲	۲۲۱۱/۳۷	۲۲۶۲/۷۲	۲۱۹۴/۵۷	۳۸/۸۱	۰/۱۲۷
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	۳۷۶/۰۲۸	۳۷۰/۱/۲۶	۳۶۹/۱/۲۸	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	۰/۰۱۳	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 ^d	۲/۰۸۲ ^d	۲/۱۹۲ ^a	۲/۱۰۳ ^d	۲/۱۵۴ ^{ab}	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. جوجه‌ها از روز ۳۵ دوره پرورش تا روز ۴۲ به مدت ۴ ساعت روزانه تحت تنش گرمایی ۳۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. ^{a-b}: میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p < 0.05$).

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

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

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.

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 نانوذرات نقره 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

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

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.

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

سطح احتمال معنی داری	خطای استاندارد میانگین	NA	A	N	Z	C	تیمارهای آزمایشی
۰/۶۶	۴۰/۴۵	۶۷/۲۰	۵۶/۲۰	۱۳۶/۶۰	۹۱/۰۰	۱۰۰/۴۰	روز ۲۱ دوره پرورش
۰/۴۴	۵۲۲/۲۳	۲۵۰۹/۴۰	۱۷۸۰/۰۰	۳۰۸۱/۲۰	۲۸۰۶/۰۰	۳۹۳۲/۲۰	روز ۲۸ دوره پرورش
۰/۹۴	۰/۷۷	۴۱۲۴/۰۰	۴۷۲۸/۰۰	۳۷۷۶/۰۰	۴۲۴۶/۰۰	۵۴۹۵/۰۰	روز ۴۲ دوره پرورش

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.

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

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

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 گروودزیک و ساوس (۲۴)، افزودن ۱۰ قسمت در میلیون (ppm)، نانوذرات نقره 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

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. Maseaemanesh. 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 Abbasi¹, Seyed Raza Hashemi², Saeed Hassani³ and Maryam Ebrahimi⁴

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