

## ارزیابی عملکرد، سیستم ایمنی و خصوصیات آنتیاکسیدانی سرم در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های بر پایه گندم حاوی سطوح مختلف نانو اکسید روی از ۱ تا ۲۱ روزگی

بنت الهدا محمدی<sup>۱</sup> و محمدرضا اکبری<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۱۴

<sup>۱</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

<sup>۲</sup> استادیار گروه علوم دامی دانشگاه شهرکرد

\* مسئول مکاتبه: Email: akbari-m@agr.sku.ac.ir

### چکیده

زمینه مطالعاتی: روی یک عنصر حیاتی برای رشد و فرآیندهای فیزیولوژیک مختلف در حیوانات است. هدف: این آزمایش به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف نانو اکسید روی (ZONPs) در جیره‌های بر پایه گندم بر عملکرد و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی انجام شد. روش کار: تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه خروس گوشتی یکروزه سویه راس ۳۰۸ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۴ تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل یک جیره بر پایه گندم (شاهد، فاقد روی در مکمل معدنی مورد استفاده) و جیره‌های مکمل شده با ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی از منبع ZONPs بود. به منظور بررسی عملکرد جوجه‌ها، خوراک مصرفی و افزایش وزن جوجه‌ها بطور هفتگی اندازه‌گیری و ضریب تبدیل محاسبه شد. جهت بررسی پاسخ ایمنی همورال، تزریق گلبول‌های قرمز خون گوسفند (SRBC) در سن ۷ روزگی صورت گرفت. هفت و ۱۴ روز پس از تزریق، خونگیری انجام شد و میزان تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC تعیین گردید. جهت بررسی پاسخ ازدیاد حساسیت بازویلی پوستی (CBH)، در روز ۲۰ آزمایش تزریق فیتوهم‌گلوتینین (PHA-P) به مقدار ۱/۰ میلی‌لیتر بین پوست انگشتان پا صورت گرفت و تغییر ایجاد شده در ضخامت پوست اندازه‌گیری شد. جهت بررسی وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم خون، غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در نمونه‌های گرفته شده در سن ۲۱ روزگی (۲ پرنده از هر تکرار) اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری ویسکوزیته شیرابه هضمی، در روز ۲۱ از هر تکرار دو پرنده کشته شده و محتویات ژئنوم و ایلئوم نمونه‌گیری شد. نتایج: افزودن ۸۰ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم جیره سبب افزایش مصرف خوراک در دوره‌های ۱ تا ۷ و ۱ تا ۱۴ روزگی، در مقایسه با تیمار شاهد شد ( $P < 0.05$ ). همچنین، افزودن ۸۰ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم جیره سبب کاهش ویسکوزیته محتویات ژئنوم و ایلئوم، افزایش تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC در ۱۴ روز پس از تزریق، و کاهش غلظت سرمی مالون‌دی‌آلدهید در مقایسه با تیمار شاهد شد ( $P < 0.05$ ). از سوی دیگر، افزودن ۶۰ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم جیره سبب افزایش پاسخ CBH در مقایسه با تیمار شاهد، در ۱۲ ساعت بعد از تزریق شد ( $P < 0.05$ ). نتیجه‌گیری نهایی: با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که افزودن روی از منبع ZONPs در مقدار ۶۰ تا ۸۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره، می‌تواند در تقویت سیستم ایمنی و افزایش مقاومت آنتی‌اکسیدانی سرم خون جوجه‌های گوشتی موثر باشد.

واژگان کلیدی: نانو روی، عملکرد، سیستم ایمنی، مالون‌دی‌آلدهید، جوجه‌ای گوشتی

و در بسیاری از عملکردهای آنزیمی و سوخت و ساز در بدن حیوانات شرکت می‌کند (پراساد و کوکوک، ۲۰۰۲).

در اثر استفاده از جیره‌های غنی از پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای (NSP) نظیر جیره‌های بر پایه گندم، آسیب‌های فراوانی به بافت پوششی روده کوچک و فلور میکروبی آن وارد شده و ارتفاع پرزها کاهش می‌یابد که علت اصلی کاهش سطح جذب می‌باشد (شکوری و همکاران، ۲۰۰۶). روی در حفظ بافت پوششی موثر می‌باشد و در همانندسازی و رشد سلول‌ها و تکثیر سلولی اثر دارد و با حضور در آنزیم‌هایی که در سنتز DNA نقش دارند در تقسیم سلولی موثر است (پارک و همکاران، ۲۰۰۴). فلز روی برای سلامت بافت پوششی اپیتلیال، محافظت از سلول‌ها، تکثیر سلولی و انتقال و استفاده از ویتامین A (ویتامین A) موثر بر حفظ بافت پوششی روده و حفاظت از آن بسیار مهم است (فاکلر و همکاران، ۲۰۰۲). این عنصر به طرق مختلفی شامل شرکت در ساختار کروماتین و RNA غشاهای بیولوژیک، همانندسازی DNA، ترجمه DNA و از طریق فعالیت فاکتور ترجمه و پلی‌مرازهای DNA و RNA و نیز شرکت در ترمیم DNA و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول در بیان ژن و ثبات ژنتیکی نقش دارد (کمب و همکاران، ۲۰۱۵).

هدف از اجرای این آزمایش بررسی اثر سطوح مختلف نانواکسید روی در جیره‌های بر پایه‌ی گندم بر عملکرد، پاسخ ایمنی هومورال و سلولی و برخی از خصوصیات آنتی اکسیدانی سرم جوجه‌های گوشتی بود.

### مواد و روش‌ها

تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه (راس ۳۰۸) با میانگین وزنی  $41 \pm 1$  گرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار آزمایشی که هر یک دارای ۴ تکرار ۱۰ قطعه‌ای بود، به ۲۴ جایگاه بسته با ابعاد  $1/2 \times 0/8$  متر تخصیص یافت. جیره پایه بر اساس اطلاعات

### مقدمه

امروزه استفاده از مکمل‌ها و افزودنی‌های خوراکی جهت بهبود رشد، تولید مطلوب و افزایش بهره‌وری خوراک در حیوانات امری متدال شده است.

در چند سال اخیر محققان با استفاده از علوم فناوری نانو و برای دستیابی به اثرات مثبت در تولید، محصولاتی را به عنوان مواد افزودنی در تغذیه حیوانات تولید کرده‌اند که از جمله می‌توان نانو نقره، نانو سلنیوم و نانو اکسید روی را نام برد (زرگران اصفهانی و همکاران، ۲۰۱۰ و راجدران، ۲۰۱۲).

روی یک عنصر حیاتی برای عملکرد بهتر سیستم ایمنی در حیوانات است و کمبود آن باعث کاهش سیستم ایمنی سلولی شده و برای رشد و فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف اهمیت دارد (والراونس، ۱۹۷۹). از آنجایی که بخشی از روی موجود در خوراک طیور به صورت باند شده با اسید فایتیک است و در محیط روده به شکل توده‌های کم محلول در می‌آید، ضرورت حفظ تعادل این عنصر در جیره طیور لازم می‌باشد. در بیشتر جیره‌های تنظیم شده برای طیور جهت تأمین احتیاجات، عنصر روی به جیره اضافه می‌شود (فوردیس، ۱۹۸۷). روی به عنوان کوفاکتوری برای آنزیم‌های کبدی مانند: آلانین آمینوترانسفاران، گاما گلوتامیل ترانسفاراز و آسپارتات آمینوترانسفاراز می‌باشد (بنت و همکاران، ۲۰۰۱). این عنصر از طریق مشارکت در فعالیت آنزیم‌های مربوطه در سنتز و شکستن کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک دخالت دارد (جهانیان و همکاران، ۲۰۰۸). دامنه احتیاجات روی برای اهداف مختلف از ۱۰/۶ تا ۱۰۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره در منابع مختلف گزارش شده است (باتال و همکاران، ۲۰۰۱). کاهش سطح روی در پلاسمما باعث ایجاد اختلال در وظایف فیزیولوژیک بدن و انواع بیماری‌های کبدی مانند سیروزیس و هپاتیت می‌شود (سیژر و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین روی برای فعالیت بیش از ۳۰۰ تا ۲۵۰ آنزیم مورد نیاز است

سانتریفیوژ گردید. در نهایت، جذب نوری مایع بالایی در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتری اندازه گیری گردید.

جهت بررسی پاسخ ایمنی همورال، در این آزمایش از گلbul‌های قرمز خون گوسفند (SRBC) به عنوان آنتیژن استفاده شد. محلول ۲ درصد SRBC در سن ۷ روزگی به ماهیچه ران دو پرنده از هر تکرار تزریق شد. هفت و ۱۴ روز پس از تزریق، خونگیری از سیاه‌گرگ برآکیال همان پرنده‌گان انجام شد و میزان تیتر آنتی‌بادی SRBC در سرم بدست آمده، با استفاده از روش سنجش مستقیم هماگلوتیناسیون تعیین گردید (حقیقی و همکاران، ۲۰۰۵). جهت بیان نتایج<sup>۲</sup> معکوس ضریب رقت در آخرین چاهکی که در آن اگلوتیناسیون مشاهده شد به عنوان تیتر آنتی‌بادی تولیده شده بر علیه SRBC گزارش شد.

به منظور بررسی پاسخ ایمنی سلولی، تست حساسیت بازوپیلی پوست (CBH) در سن ۲۰ روزگی انجام شد. جهت این کار، از هر تکرار دو پرنده به صورت تصادفی انتخاب و میزان ۱/۰ میلی‌لیتر از محلول فیتوهماگلوتینین (PHA-P)، بهارافشان، تهران، ایران) در بافر نمکی فسفاته (PBS) با غلظت ۱ میکروگرم در میکرولیتر به پای راست هر پرنده، بین انگشت سوم و چهارم تزریق شد. جهت تصحیح برای پاسخ به PBS تنها، به طور همزمان در هر پرنده میزان ۱/۰ میلی‌لیتر محلول PBS به پوست بین انگشت سوم و چهارم پای چپ تزریق شد. در ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تزریق، میزان تورم حاصل اندازه‌گیری شد. پاسخ CBH از تفاصل میزان ضخامت پوست پای راست از ضخامت پوست پای چپ بعد از تزریق، محاسبه شد.

NRC (۱۹۹۴) متوازن گردید و برای کلیه گروه‌ها در طی دوره پرورش (۱۱ تا ۲۱ روزگی) یکسان بوده و تنها در مقدار نانو اکسید روی افزودنی متفاوت بود (جدول ۱). تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش به ترتیب عبارت بودند از: ۱) جیره بر پایه گندم و فاقد روی افزودنی (شاهد؛ ۲) جیره بر پایه گندم همراه با ۲۰ میلی‌گرم نانو روی در هر کیلوگرم؛ ۳) جیره بر پایه گندم همراه با ۴۰ میلی‌گرم نانو روی در هر کیلوگرم؛ ۴) جیره بر پایه گندم همراه با ۶۰ میلی‌گرم نانو روی در هر کیلوگرم؛ ۵) جیره بر پایه گندم همراه با ۸۰ میلی‌گرم نانو روی در هر کیلوگرم؛ و ۶) جیره بر پایه گندم همراه با ۱۰۰ میلی‌گرم نانو روی در هر کیلوگرم. مکمل معدنی مورد استفاده در تهیه جیره پایه فاقد روی بود و برای فراهم کردن سطوح روی مورد بررسی، از نانو اکسید روی (ZONPs) ۸۸ درصد روی استفاده شد. در کل دوره آزمایش در هر شباهه روز ۲۳ ساعت نور و یک ساعت تاریکی تأمین شد و آب و غذا در کل دوره بطور آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. جهت بررسی عملکرد جوجه‌ها، مقدار مصرف خوارک و افزایش وزن به صورت هفتگی اندازه‌گیری و ضریب تبدیل محاسبه گردید.

به منظور بررسی وضعیت آنتیاکسیدانی سرم خون، غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در نمونه‌های سرمی بدست آمده در سن ۲۱ روزگی (۲ پرنده از هر تکرار) بر اساس روش تشریح شده توسط سیاه‌تیری و همکاران (۲۰۱۵) اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، ۰/۵ میلی لیتر پلاسماء، ۲/۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید (۲۰٪) و ۱ میلی لیتر تیوباربیتوریک اسید (۶۷٪) با هم مخلوط شده و روی حمام آبی با دمای ۹۵ درجه سانتی گردد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد. پس از سرد شدن، ۴ میلی لیتر بوتانول (۹۵٪) اضافه شده و پس از مخلوط کردن به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰g

<sup>۱</sup> Zinc oxide nanoparticles

به منظور اندازه گیری ویسکوزیته شیرابه هضمی، پس از جمع آوری محتویات ژنوم و ایلئوم و قرار دادن لوله‌های حاوی محتویات درون بین، نمونه‌ها به آزمایشگاه انتقال داده شدند. پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰ rpm، شیرابه محتویات جدا شده و با استفاده از دستگاه ویسکومتر دیجیتال (USA Brookfield DV-II<sup>+</sup>pro) ویسکوزیته هر یک از نمونه‌ها اندازه گیری شد.

اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از روش مدل‌های خطی عمومی (GLM) نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (SAS ۲۰۰۲). معنی‌داری اختلاف میان میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح  $\alpha=0.05$  امتحان گردید (دانکن ۱۹۵۵).

### نتایج و بحث

نتایج مربوط به خوراک مصرفی، افزایش وزن، و ضریب تبدیل خوراک در تیمارهای تحت آزمون برای دوره‌های ۱ تا ۷ روزگی، ۱ تا ۱۴ روزگی و ۱ تا ۲۱ روزگی به ترتیب در جدول ۲، جدول ۳، و جدول ۴ نشان داده شده است. افزودن ۸۰ میلی گرم روی از منبع نانو اکسید روی به هر کیلوگرم جیره پایه گندم (تیمار ۵) در مقایسه با تیمار ۱ (فاقد مکمل روی) در دوره ۱ تا ۷ و ۱ تا ۱۴ روزگی منجر به افزایش مصرف خوراک شد ( $P<0.05$ ). در بین سایر تیمارها از نظر خوراک مصرفی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P>0.05$ ). در دوره ۱ تا ۷ روزگی، افزودن ۴۰ و ۸۰ میلی گرم روی از منبع نانو اکسید روی به هر کیلوگرم جیره (تیمارهای ۳ و ۵) سبب افزایش وزن بیشتر در مقایسه با تیمار شاهد (فاقد مکمل روی) شد ( $P<0.05$ ). در دوره ۱ تا ۱۴ روزگی و همچنین در کل دوره پرورش (۱ تا ۲۱ روزگی)، تیمارهای مختلف با تیمار شاهد از نظر افزایش وزن تفاوت معنی داری نداشتند ( $P>0.05$ ). همچنین، میانگین ضریب تبدیل خوراک در

جدول ۱- ترکیب جیره دوره آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی)

Table 1- Composition of the experimental diet

مواد خوارکی ingredients	درصد (%)
گندم Wheat	53.75
کنجاله‌ای سویا (۴۴٪) Soybean meal (44% CP)	36.54
روغن سویا Soybean oil	5.58
پودر صدف oyster shell	1.39
دی‌کلسیم فسفات DCP	1.59
نمک Salt	0.24
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	0.17
-متیونین DL-methionine	0.24
مکمل ویتامینی* Vitamin premix*	0.25
مکمل معدنی** Mineral premix**	0.25
ترکیب مواد مغذی (محاسبه شده) Composition of nutrients (calculated)	
3000 (Kcal/Kg) ME	
21.56 (%.) CP	
1 (%.) Ca	
0.45 (%.) Av. P	
0.18 (%.) Na	
1.15 (%.) Lysine	
0.9 (%.) Met + Cys	
0.45 (%.) Zn	

\*Provides per kg of diet: all-trans-retinyl acetate, 2.72 mg; cholecalciferol, 0.05 mg; all-rac- $\alpha$ -tocopherol acetate, 4 mg; menadione (menadione sodium bisulphate), 2 mg; thiamine (thiamine mononitrate), 1.8 mg; riboflavin, 6.6 mg; Niacin, 9.8 mg; Ca-pantothenate, 29.7 mg; pyridoxine, 1.18 mg; folic acid, 1 mg; Cobalamin, 0.015 mg; D-biotin, 0.1 mg; choline chloride, 500 mg.

\*\*Provides per kg of diet: 76 mg Mn (as  $MnO_2$ ); 40 mg Fe (as  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ); 4 mg Cu (as  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ); 0.64 mg I (as NaI); 0.2 mg Se (as  $Na_2SeO_3 \cdot 5H_2O$ ).

دارد و جیره‌های دارای کمبود روی، منجر به کاهش اشتها می‌شوند که نتیجه‌ی آن کاهش خوراک مصرفی و وزن بدن می‌باشد. همچنین، ساهین و همکاران (۲۰۰۵) نیز بیان کردند که کمبود روی در حیوانات با کاهش مصرف خوراک، کاهش رشد، سطوح پایین گرددش هورمون رشد و فاکتور ۱ رشد شبه انسولین مرتبط می‌باشد. از سوی دیگر، پیمنتال و همکاران (۱۹۹۱) بیان کردند که عنصر روی هیچ تاثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشته نداشته است.

تیمارهای تحت آزمون در دوره‌ی ۱ تا ۱۴ و ۱ تا ۲۱ روزگی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ( $P > 0.05$ ). انسمینگر و همکاران (۱۹۹۰) بیان نمودند که کمبود روی منجر به کاهش مصرف خوراک می‌گردد. هوآنگ و همکاران (۲۰۰۷) نیز بیان کردند که کمبود روی منجر به کاهش اشتها و مصرف خوراک می‌شود. از سوی دیگر، بارتلت و اسمیت (۲۰۰۳) بیان کردند که سطوح مختلف روی جیره بر ضریب تبدیل غذایی تأثیر معنی‌داری ندارد. سوانینکل و همکاران (۱۹۹۴) بیان کردند که میزان روی جیره به طور معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک روزانه تأثیر

**جدول ۲- خوراک مصرفی (گرم) جوجه‌های گوشته تغذیه شده با جیره‌های بر پایه گندم حاوی سطوح مختلف روی از منبع نانو اکسید روی**

**Table 2- Effect of different levels of supplemental Zn as ZONPs in a wheat-based diet on feed intake (g) of broiler chickens**

دوره (روز)	جیره‌های آزمایشی						SEM**	P value
	T <sub>1</sub> *	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>		
1-7	80 <sup>b</sup>	88 <sup>ab</sup>	88 <sup>ab</sup>	83 <sup>ab</sup>	99 <sup>a</sup>	86 <sup>ab</sup>	5.6	0.08
1-14	384 <sup>b</sup>	400 <sup>ab</sup>	451 <sup>ab</sup>	399 <sup>ab</sup>	460 <sup>a</sup>	391 <sup>ab</sup>	19.3	0.04
1-21	959 <sup>ab</sup>	951 <sup>ab</sup>	1033 <sup>a</sup>	922 <sup>ab</sup>	1025 <sup>a</sup>	911 <sup>b</sup>	29.9	0.05

<sup>ab</sup> حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه‌ی وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Means in the same row with different superscript differ significantly ( $P < 0.05$ ).

\*T<sub>1</sub>, with no supplemental Zn; T<sub>2</sub>, with 20 ppm supplemental Zn; T<sub>3</sub>, with 40 ppm supplemental Zn; T<sub>4</sub>, with 60 ppm supplemental Zn; T<sub>5</sub>, with 80 ppm supplemental Zn; T<sub>6</sub>, with 100 ppm supplemental Zn.

\*\*Standard error of means.

**جدول ۳- افزایش وزن (گرم) در جوجه‌های گوشته تغذیه شده با جیره‌های بر پایه گندم حاوی سطوح مختلف روی از منبع نانو اکسید روی**

**Table 3- Effect of different levels of supplemental Zn as ZONPs in a wheat-based diet on weight gain (g) of broiler chickens**

دوره (روز)	جیره‌های آزمایشی						SEM**	P value
	T <sub>1</sub> *	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>		
1-7	71 <sup>b,c</sup>	77 <sup>ab</sup>	79 <sup>a</sup>	67 <sup>c</sup>	78 <sup>a</sup>	67 <sup>c</sup>	2.1	<0.01
1-14	277 <sup>ab</sup>	284 <sup>ab</sup>	297 <sup>a</sup>	278 <sup>ab</sup>	291 <sup>a</sup>	262 <sup>b</sup>	7.1	0.05
1-21	581 <sup>ab</sup>	608 <sup>ab</sup>	635 <sup>a</sup>	621 <sup>ab</sup>	617 <sup>ab</sup>	555 <sup>b</sup>	20.3	0.06

<sup>abc</sup> حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه‌ی وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Means in the same row with different superscript differ significantly ( $P < 0.05$ ).

\*T<sub>1</sub>, with no supplemental Zn; T<sub>2</sub>, with 20 ppm supplemental Zn; T<sub>3</sub>, with 40 ppm supplemental Zn; T<sub>4</sub>, with 60 ppm supplemental Zn; T<sub>5</sub>, with 80 ppm supplemental Zn; T<sub>6</sub>, with 100 ppm supplemental Zn.

\*\*Standard error of means.

افزودن روی به میزان ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره از منبع نانو اکسید روی (تیماره)، منجر به افزایش پاسخ SRBC در مقایسه با تیمار شاهد و سایر تیمارها در ۱۴ روز پس از تزریق آنتی‌ژن گردید ( $P<0.05$ ). این نتایج همسو با نتایج ساندر و همکاران (۲۰۰۸) است که گزارش کردند افزودن ۸۰ میلی‌گرم روی (از منبع سولفات روی) به هر کیلوگرم جیره سبب بهبود پاسخهای ایمنی همورال و سلولی در جوجه‌های گوشته شد. بارتلت و اسمیت (۲۰۰۲) نیز بیان کردند که جوجه‌های گوشته دریافت کننده سطوح بالای روی، تیتر آنتی‌بادی اولیه و ثانویه، توانایی فاگوسیتوزی، و همچنین وزن اندام‌های لنفی بالاتری داشتند.

احمدی و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که نانو ذرات اکسید روی سبب افزایش وزن بدن، کاهش مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل غذایی شده است و علت آن را به خواص فیزیکی و شیمیایی این ذرات نسبت دادند. این محققان بیان داشتند که نانو ذرات اکسید روی را تا سطح ۳۰ تا ۹۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از جیره جوجه‌های گوشته می‌توان استفاده نمود.

نتایج مربوط به پاسخ سیستم ایمنی همورال در تیمارهای مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. از لحاظ پاسخ به آنتی‌ژن SRBC هیچ گونه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف در ۷ روز پس از تزریق آنتی‌ژن مشاهده نشد ( $P>0.05$ ). در عین حال،

#### جدول ۴- ضریب تبدیل در جوجه‌های گوشته تغذیه شده با جیره‌های بر پایه گندم حاوی سطوح مختلف روی از منبع نانو اکسید روی

**Table 4- Effect of different levels of supplemental Zn as ZONPs in a wheat-based diet on FCR of broiler chickens**

Days of age	جیره‌های آزمایشی						SEM**	P value
	T <sub>1</sub> *	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>		
1-7	1.12	1.33	1.19	1.23	1.28	1.29	0.061	0.34
1-14	1.39	1.41	1.52	1.43	1.58	1.53	0.066	0.37
1-21	1.68	1.58	1.63	1.47	1.67	1.69	0.069	0.30

\*T<sub>1</sub>, with no supplemental Zn; T<sub>2</sub>, with 20 ppm supplemental Zn; T<sub>3</sub>, with 40 ppm supplemental Zn; T<sub>4</sub>, with 60 ppm supplemental Zn; T<sub>5</sub>, with 80 ppm supplemental Zn; T<sub>6</sub>, with 100 ppm supplemental Zn.

\*\*Standard error of means.

عفونتها تغییر دهن. از بین این مواد معدنی، عنصر روی نقش مهمی در عملکرد سیستم ایمنی ایفا می‌کند (هگازی و آداجی ۲۰۰۰). روی برای عملکرد طبیعی سیستم ایمنی به وسیله افزایش سلول‌های T ضروری است و تولید نوتروفیل‌ها و آنتی‌بادی‌ها را افزایش می‌دهد (کید و همکاران ۱۹۹۶). روی به وسیله اثر بر تیروزین کیناز که یک پروتئین ضروری در مراحل اولیه فعالیت لنفوцит‌ها است، نیز بر سیستم ایمنی تأثیر می‌گذارد (والش و همکاران ۱۹۹۴).

تأثیر افزودن سطوح مختلف نانو اکسید روی به جیره بر پایه گندم بر غلظت MDA سرم جوجه‌های گوشته در جدول ۶ نشان داده شده است. افزودن روی از منبع

نتایج مربوط به پاسخ CBH در جدول ۵ نشان داده شده است. افزودن ۶۰ میلی‌گرم روی از منبع نانو اکسید روی به هر کیلوگرم جیره بر پایه گندم (تیمار ۴) منجر به افزایش پاسخ CBH در ۱۲ ساعت پس از تزریق در مقایسه با تیمار شاهد شد ( $P<0.05$ ). در عین حال، افزودن روی در سطوح مورد استفاده در این آزمایش به جیره بر پایه گندم، تغییری در پاسخ PHA اندازه‌گیری شده در ۲۴ ساعت پس از تزریق نیافرید (ایجاد نکرد ( $P>0.05$ )). برخی مواد مغذی از جمله مواد معدنی جیره قادرند تظاهر ژن‌های مسئول پاسخ ایمنی را از طریق ایجاد تغییر در میزان بلوغ سیستم ایمنی و همچنین میزان آنتی‌بادی‌های تولید شده در برابر

موجب افزایش آسیب‌های اکسیداتیو غشاء سلول به دلیل افزایش رادیکال‌های آزاد در سلول می‌گردد (پراساد و کوکوک ۲۰۰۲). عنصر روی تولید متالوتیونین که یک عامل موثر در پاکسازی رادیکال‌های هیدروکسیل است را تحریک کرده و از این طریق در کاهش تولید رادیکال‌های آزاد نقش اساسی دارد (پراساد و کوکوک ۲۰۰۲). مکمل روی موجب کاهش غلظت MDA در جوجه‌های گوشتی تحت شرایط استرس گرمایی شده و نقش مهمی در سرکوبی رادیکال‌های آزاد داشته است (بارتلت و اسمیت، ۲۰۰۳). احمدی و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که سطح ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو اکسید روی موجب کاهش غلظت MDA در جیره بر پایه ذرت در جوجه‌های گوشتی شد.

نانواکسید روی به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به هر کیلوگرم جیره بر پایه گندم (تیمار ۶) سبب کاهش غلظت MDA سرم در مقایسه با تیمار شاهد گردید ( $P<0.05$ ). در بین سایر تیمارها از نظر این شاخص تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P>0.05$ ). از جمله روش‌های بررسی میزان اکسیداسیون لیپیدها، تعیین میزان حساسیت آنها نسبت به اکسیداسیون و تعیین مقدار محصولات بدست آمده از فرآیند فوق است که یکی از این محصولات مالون دی آلهید (MDA) می‌باشد. میزان MDA به عنوان شاخصی از آسیب اکسیداتیو مورد توجه است (نتو و همکاران، ۲۰۰۶). عنصر روی جهت عملکرد متابولیکی و فعالیت ۲۵۰ تا ۳۰۰ آنزیم در بدن لازم است و از مهمترین ویژگی‌های آن خاصیت آنتیاکسیدانی آن است. کمبود روی در جیره غذایی

**جدول ۵- پاسخ SRBC (معکوس ضربی رقت) و پاسخ CBH (میکرومتر) در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های بر پایه گندم حاوی سطوح مختلف روی از منبع نانو اکسید روی**

**Table 5- Effect of different levels of supplemental Zn as ZONPs in a wheat-based diet on antibody titers against SRBC antigen ( $\log_2$  of reciprocal dilution factor) and CBH response ( $\mu\text{m}$ ) in broiler chickens**

	جیره‌های آزمایشی						SEM**	P value
	T <sub>1</sub> *	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>		
تیتر آنتی‌بادی کل علیه SRBC								
۷ روز پس از تزریق	2.5	2.6	2.7	2.4	2.5	2.5	0.21	0.53
7 days post injection								
۱۴ روز پس از تزریق	2.9 <sup>b</sup>	3.0 <sup>b</sup>	2.9 <sup>b</sup>	3.0 <sup>b</sup>	4.1 <sup>a</sup>	3.5 <sup>ab</sup>	0.28	0.04
14 days post injection								
پاسخ CBH								
۱۲ ساعت پس از تزریق	385 <sup>b</sup>	445 <sup>ab</sup>	506 <sup>ab</sup>	972 <sup>a</sup>	705 <sup>ab</sup>	522 <sup>ab</sup>	149.1	0.07
12 hrs post injection								
۲۴ ساعت پس از تزریق	402	350	720	577	378	336	148.8	0.45
24 hrs post injection								

<sup>ab</sup> حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه‌ی وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ( $P<0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Means in the same row with different superscript differ significantly ( $P<0.05$ ).

\*T<sub>1</sub>, with no supplemental Zn; T<sub>2</sub>, with 20 ppm supplemental Zn; T<sub>3</sub>, with 40 ppm supplemental Zn; T<sub>4</sub>, with 60 ppm supplemental Zn; T<sub>5</sub>, with 80 ppm supplemental Zn; T<sub>6</sub>, with 100 ppm supplemental Zn.

\*\*Standard error of means.

روی از منبع نانو اکسید روی به جیره‌ی بر پایه گندم در سطح ۸۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره (تیمار ۵)

جدول ۶ ویسکوزیته مواد هضمی ژرنو姆 و ایلئوم در تیمارهای مختلف آزمایشی را نشان می‌دهد. افزودن

(هاچبرگ و همکاران ۲۰۰۵ و هدمن و همکاران ۲۰۰۶). در ارتباط با اثر روی بر بافت پوششی روده، شاو و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که مکمل کردن جیره جوجه‌های گوشتی با ۱۲۰ میلی‌گرم روی در هر کیلوگرم از منبع سولفات روی منجر به بهبود سلامت روده از طریق کاهش شاخص آپاپتوتیک، بهبود شاخص تکثیر انتروسیت‌ها و افزایش طول پرزها و همچنین نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ایلئوم جوجه‌های آلوده شده به سالمونلا گردید. همچنین، افزودن سطوح بالای روی به جیره بچه خوکها (۲۴۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و از منبع اکسید روی) منجر به افزایش تعداد سلول‌های گابلت محتوى موسین اسیدی و خنثی گردیده است (لیو و همکاران ۲۰۱۴). چنین اثراتی هنگام افزودن زایلاناز به جیره جوجه‌های گوشتی نیز مشاهده شده است (شارما و همکاران ۱۹۹۷).

منجر به کاهش ویسکوزیته مواد هضمی ژرزنوم و ایلئوم در مقایسه با تیمار ۱ (فاقد مکمل روی) گردید ( $P<0.05$ ). سطوح بالای NSP خصوصاً آرابینوزایلان‌ها در جیره‌های بر پایه گندم منجر به افزایش ویسکوزیته مواد هضمی در روده شده که این امر خصوصیات ریخت شناختی روده را به طور منفی تحت تأثیر قرار می‌دهد (لانگوت و همکاران ۱۹۹۹). ویسکوزیته بالای شیرابه هضمی دارای اثرات منفی بر بافت پوششی دستگاه گوارش بوده به طوری که منجر به کاهش ارتفاع پرزها و در مقابل افزایش عمق کریپت‌ها می‌شود که این امر دلیل کاهش هضم و جذب مواد مغذی می‌باشد (چاکت و آنیسون ۱۹۹۲). اثر روی در بهبود ویسکوزیته محتویات ژرزنوم و ایلئوم در این آزمایش را می‌توان به اثرات مثبت این عنصر در نگهداری بافت پوششی و بهبود فعالیت آنزیم‌های هضمی نسبت داد.

**جدول ۶- غلظت مالون دی‌آلدهید (MDA) (میکرومول بر لیتر) سرم و ویسکوزیته (cp) محتویات ژرزنوم و ایلئوم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های بر پایه گندم حاوی سطوح مختلف روی از منبع نانو اکسید روی (اندازه کیری شده در ۲۱ روزگی)**

**Table 6- Effect of different levels of supplemental Zn as ZONPs in a wheat-based diet on serum MDA concentration ( $\mu\text{mol/l}$ ) and jejunal and ileal digesta viscosity (cp) in broiler chickens (measured on 21 d of age)**

	جیره‌های آزمایشی						SEM**	P value
	T <sub>1</sub> *	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>		
(مالون دی‌آلدهید (MDA) ویسکوزیته)	0.26 <sup>a</sup>	0.21 <sup>ab</sup>	0.16 <sup>ab</sup>	0.18 <sup>ab</sup>	0.19 <sup>ab</sup>	0.10 <sup>b</sup>	0.032	0.05
ژرزنوم	20 <sup>a</sup>	12 <sup>ab</sup>	17 <sup>ab</sup>	17 <sup>ab</sup>	9 <sup>b</sup>	16 <sup>ab</sup>	2.5	0.04
Jejunum	21 <sup>a</sup>	18 <sup>ab</sup>	20 <sup>a</sup>	18 <sup>a</sup>	5 <sup>b</sup>	19 <sup>ab</sup>	4.0	0.05
ایلئوم								
Ileum								

<sup>a,b</sup> حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه‌ی وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ( $P<0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Means in the same row with different superscript differ significantly ( $P<0.05$ ).

\*T<sub>1</sub>, with no supplemental Zn; T<sub>2</sub>, with 20 ppm supplemental Zn; T<sub>3</sub>, with 40 ppm supplemental Zn; T<sub>4</sub>, with 60 ppm supplemental Zn; T<sub>5</sub>, with 80 ppm supplemental Zn; T<sub>6</sub>, with 100 ppm supplemental Zn.

\*\*Standard error of means.

افزایش وزن جوجه‌های گوشتی شد ولی بر ضربت تبدیل اثری نداشت. سطوح ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم روی از منبع نانو اکسید روی هم جهت تقویت سیستم ایمنی

**نتیجه‌گیری**  
به طور کلی سطح ۴۰ میلی‌گرم روی از منبع نانو اکسید روی در این آزمایش موجب افزایش مصرف خوراک و

بودن کاربرد نانو مواد در تغذیه طیور سایر آزمایشات در این زمینه مورد نیاز می‌باشد.

#### تقدیر و تشکر

از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد به خاطر تأمین هزینه‌های این پژوهش قدردانی می‌گردد.

سلولی و هموزال در جوجه‌های گوشتی مصرف کننده جیره‌های بر پایه گندم، کافی به نظر می‌رسد. در عین حال، جهت بروز خصوصیات آنتیاکسیدانی سرم در این آزمایش، به سطوح بالاتر روی (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) نیاز بود. در این آزمایش اثر منفی در ارتباط با کاربرد نانو اکسید روی در تغذیه جوجه‌های گوشتی مشاهده نشد؛ لکن جهت اطمینان از بی‌خطر

#### منابع مورد استفاده

- Ahmadi F, Ebrahimnezhad Y, Maher N and Ghiasi Ghalehkandi J, 2013. The effects of zinc oxide nanoparticle on performance, digestive organs and serum lipid concentration in broiler chickens during starter period. International Journal of Biosciences 7: 23-29.
- Bartlett JR and Smith MO, 2003. Effects of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broilers under heat stress. Poultry Science 82: 1580-1588.
- Batal AB, Parr TM and Baker DH, 2001. Zinc bioavailability in tetrabasic zinc chloride and the dietary zinc requirement of young chicks fed a soy concentrate diet. Poultry Science 80: 87- 90.
- Bennet PM, Jepson PD, Law RJ, Jones BR, Kuiken T, Baker JR, Rogan E and Kirkwood JK, 2001. Exposure to heavy metals and infectious disease mortality in harbour porpoises from England and Wales. Environmental Pollution 112: 33-40.
- Cesur S, Cebeci SA, Kavas GO, Aksaray S and Tezeren V, 2005. Serum copper and zinc concentrations in patients with chronic hepatitis. British Journal of Infection Control 51: 38-40.
- Choct M and Annison G, 1992. Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens: roles of viscosity and gut microflora. British Poultry Science 33: 821-834.
- Duncan DB, 1955. Multiple range and multiple F tests. Biometrics 11: 1-42.
- Ensminger ME, Old Field JE and Heinemann WW, 1990. Feeds and Nutrition. The Ensminger Publishing Company, Clovis, CA, page: 8-120.
- Fakler T, Ward I and Kuhl HJ, 2002. Zinc aminoacid complexes (availa Zn) improve layer production and egg quality. Poultry Science 81: 218-235.
- Fordyce EJ, Forbs RM, Robbins KR and Erdman JW, 1987. Phytate $\times$ calcium/zinc molar ratios, are they predictive of zinc bioavailability? Journal of Food Sciences 52: 421-428.
- Haghghi HR, Gong J, Gyles CL, Hayes MA, Sanei B, Parvizi P, Gisavi H, Chambers JR and Sharif S, 2005. Modulation of antibody-mediated immune response by probiotics in chickens. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 12: 1387-1392.
- Headman MS, Jensen BB and Paulsen HD, 2006. Influence of dietary zinc and copper on digestive enzyme activity and intestinal morphology in weaned pigs. Journal of Animal Science 84: 3310-3320.
- Hegazy SM and Aadachi Y, 2000. Comparision of the effects of dietary selenium and zinc supplementation on growth and immune response between chick groups that were inoculated with salmonella and aflatoxin or salmonella. Poultry Science 79: 331-335.
- Højberg O, Canibe N, Poulsen HD, Hedemann MS and Jensen BB, 2005. Influence of dietary zinc oxide and copper sulfate on the gastrointestinal ecosystem in newly weaned piglets. Applied Environmental Microbiology 71: 2267-2277.
- Huang YL, Luo XG and Liu B, 2007. An optimal dietary zinc level of broiler chicks fed a corn-soybean meal diet. Poultry Science 86: 2582-2589.
- Jahanian R, Moghaddam HN and Rezaei A, 2008. Improved broiler chick performance by dietary supplementation of organic zinc sources. Asian-Australian Journal of Animal Science 21: 1348-1354.

- Kambe T, Tsuji T, Hashimoto A and Itsumura N, 2015. The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. *Physiological Reviews* 95:749-784.
- Kidd MT, Ferket PR and Qureshi MA, 1996. Zinc metabolism with special reference to its role in immunity. *Worlds Poultry Science J* 52: 309-323.
- Langhout DJ, Schutte JB, Van Leeuwen P, Wiebenga J and Tamminga S, 1999. Effect of dietary high- and low-methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology of the small intestinal wall of broiler chicks. *British Poultry Science* 40: 340-347.
- Liu P, Pieper R, Rieger J, Vahjen W, Davin R, Plendl J, Meyer W and Zentek J, 2014. Effect of dietary zinc oxide on morphological characteristics, mucin composition and gene expression in the colon of weaned piglets. *PLOS ONE* 9: e91091.
- National Research Council, 1994. Nutrient Requirements of poultry. 9<sup>th</sup> revised ed. National Academic press. Washington DC.
- Neto ADA, Prisco JT, Filhog E, Abreu CEB and Filho EG, 2006. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leave and roots of salt-tolerant and salt sensitive maize genotypes. *Environmental and Experimental Botany* 56: 87-94.
- Park SY, Birkhold SG, Kubena LF, Nisbet DJ and Ricke SC, 2004. Review on the role of dietary zinc in poultry nutrition, immunity, and reproduction. *Biological Trace Element Research* 101: 147-163.
- Pimental JL, Cook ME and Greger JL, 1991. Immune response of chicks fed various levels of zinc. *Poultry Science* 70: 947-954.
- Prasad AS and Kueuk O, 2002. Zinc in cancer prevention. *Cancer and Metastasis Reviews* 21: 291-295.
- Rajendran D, 2013. Application of nano minerals in animal production systems. *Research Journal of Biotechnology* 8: 1-3.
- Sahin K, Smith MO, Onderci M, Sahin N, Gursu MF and Kueuk O, 2005. Supplementation of zinc from organic or inorganic Source improves performance and antioxidant status of heat-distressed quail. *Poultry Science* 84: 882-887.
- SAS Institute, 2002. SAS User's guide. Version 9.1. SAS Institute. Inc. Cary. NC.
- Shakouri MD, Kermanshahi H and Mohsenzadeh M, 2006. Effect of different non starch polysaccharides in semi purified diets on performance and intestinal microflora of young broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science* 5: 557-561.
- Shao Y, Lei Z, Yuan J, Yang Y, Guo Y and Zhang B, 2014. Effect of zinc on growth performance, gut morphometry, and cecal microbial community in broilers challenged with salmonella enterica serovar Typhimurium. *Journal of Microbiology* 52: 1002-1011.
- Sharma R, Fernandez F, Hinton M and Schumachera U, 1997. The influence of diet on the mucin carbohydrates in the chick intestinal tract. *Cellular and Molecular Life Sciences* 53: 935-942.
- Siahtiri S, Akbari MR, Khajali F and Hassanpour H, 2015. Effect of dietary dried or fresh ground garlic on growth performance and pulmonary hypertensive response in broiler chickens fed on high energy diets and reared at high altitude. *Research in Animal Nutrition* 1: 29-37.
- Sunder GS, Panda AK, Gopinath NCS, Rama Rao SV, Raju MVNL, Reddy MR and Kumar CV, 2008. Effects of higher levels of zinc supplementation on performance, mineral availability, and immune competence in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research* 17: 79-86.
- Swinkels JW, Kornegayand ET and Verstegen MW, 1994. Biology of zinc and biological value of dietary organic zinc complexes and chelates. *Nutrition Research* 7: 129-149.
- Walravens PA, 1979. Zinc metabolism and its implications in clinical medicine (Clinical Nutrition Symposium). *The Western Journal of Medicine* 130: 133-142.
- Walsh CT, Sandstead HH, Prasad AS, Newbern PM and Fraker PJ, 1994. Zinc: health effects and research priorities for the 1990s. *Environmental Health Perspectives* 102: 5-46.
- Zargaran Esfahani H, Sharifi SD, Barin A and Afzal Zadeh A, 2010. Influence of silver nanoparticles on performance and carcass properties of broiler chicks. *Iranian Journal of Animal Science* 41: 137-143.

## Effects of zinc oxide nanoparticles on immune system function, antioxidant status, and performance of broiler chickens fed wheat-based diets

B Mohammadi<sup>1</sup> and MR Akbari<sup>2\*</sup>

Received: June 28, 2016

Accepted: December 04, 2016

<sup>1</sup>MSc Student, Department of Animal Science, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

<sup>2</sup>Assistant Professor, Department of Animal Science, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

\*Corresponding author Email: akbari-m@agr.sku.ac.ir

**Introduction:** Using supplements and additives for growth enhancement and improved production is currently a routine method in animal production. Recently, several mineral supplements using nanotechnology has been developed for use in animal production systems such as Nano-silver, Nano-selenium, and Nano-zinc oxide. Zinc is an essential nutrient for growth and different physiological functions in animals. Since, a considerable part of zinc in poultry feeds is as the form of compounded with phytic acid which is not easily available in gastrointestinal tract, maintaining a good balance of this element in poultry diets is essential. In most of the diets formulated for poultry, zinc is supplemented in order to meet the requirements. Zinc requirements for poultry has been reported from 10 mg/kg to 100 mg/kg of the diet for different purposes in different literatures. Zinc is essential for the optimum activity of about 300 enzymes and is incorporated in many different metabolic pathways in the body. Using high NSP rations in poultry nutrition such as wheat based diets, causes considerable injury to intestinal epithelium which is related to a reduction in nutrients absorption. Zinc as an essential nutrient is effective in maintaining intestinal wall health and integrity. This experiment was conducted to evaluate the effects of a wheat-based diet (WBD) supplemented with different levels of zinc (Zn) in the form of zinc oxide nanoparticles (ZONPs) on performance and immune system of broiler chickens.

**Material and methods:** A total of 240 day-old Ross 308 male broiler chicks in a completely randomized design with 4 replicates of 10 chicks per each were used. Six dietary treatments were prepared as follow: a WBD without Zn supplement in mineral premix as control, and 5 WBD supplemented with 20, 40, 60, 80, and 100 mg/kg Zn from the source of ZONPs, respectively. The basal diet was formulated to meet minimum requirements as described by NRC (1994). The used lighting program was as 23 h light/1 h darkness in each 24 h period. Feed and water were freely available during the entire period of the experiment. Feed intake (FI), body weight gains (BWG), and feed conversion ratio (FCR) were recorded weekly. Sheep red blood cells (SRBC) (2% V/V) as an antigen was injected to thigh muscle on 7 days of age. Seven and 14 days after injection, blood samples were collected via brachial vein and antibody titers against SRBC were measured in obtained serum. For this,  $\log_2$  of the reciprocal of the dilution factor corresponding to the last well in which hemagglutination inhibition was visible, were recorded as antibody titer. In order to evaluate cutaneous basophil hypersensitivity (CBH) response, on day 20, 8 chicks per treatment were randomly selected and 0.1 ml phytohemagglutinin-p (PHA-P) dissolved in phosphate buffered saline (PBS, 1 µg in 1 µl) were injected subcutaneously between toe web of left leg. Simultaneously, PBS (0.1 ml) alone was injected to toe web of the right leg. Twelve and 24 hours after injection, the thickness of the toe webs were measured and recorded. The response to CBH was calculated by subtracting the thickness of the web in the right leg from the thickness of the web in the left leg. On day 21, serum samples of 2 chicks from each replicate were collected for malondialdehyde (MDA) measurement. Two chicks from each replicate were randomly selected on day 21, euthanized and jejunal and ileal digesta were sampled for viscosity measurement.

**Results and discussion:** Supplementation of the WBD with 80 mg Zn/kg in the form of ZONPs, caused a significant increase in FI for periods of 1 to 7 and 1 to 14 days of age compared to control

group ( $p<0.05$ ). Also, supplementation of the WBD with 80 mg Zn/kg in the form of ZONPs, caused a significant increase in anti-SRBC titer on 14 days post injection, and decreased serum MDA concentration and jejunal and ileal digesta viscosity, compared to control group ( $p<0.05$ ). Furthermore, supplementation of the WBD with 60 mg Zn/kg in the form of ZONPs, significantly increased CBH response compared to control group ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** Overall, it can be concluded that supplementation of the WBD with 60 to 80 mg Zn/kg from the source of ZONPs, would improve immune system and serum antioxidant properties of broiler chickens.

**Keywords:** Broilers, Immune response, malondialdehyde, Performance, Zinc oxide nanoparticles